



Etude de la mesure spectrophotométrique niveau 2



Travaux des Actions Académiques Mutualisées

Niveau

- Première STL-Biotechnologies

Thème du programme

- **Biotechnologies** : Séparation, identification et dosages des biomolécules
- **M.I.** Utilisation des appareils de mesure

Situations pédagogiques

- **En autonomie: pour réviser la séance d' AT de Biotechnologies** : Présentation de la spectrophotométrie.
- **Découverte et analyse du spectrophotomètre à l'aide d'une animation.**

Liens internet

- fiche de présentation: <http://www.micromega-hatier.com/demo/simulateurs.asp>
- logiciel: <http://www.micromega-hatier.com/demo/DSMHTS.exe>

Compétences B2i

- **Domaine 1 : s'approprier un environnement informatique de travail**
- **Domaine 3 : créer, produire, traiter, exploiter des données**
- **Domaine 4 : s'informer et se documenter**

Matériels TICE

- Un poste PC
- Une connexion internet
- Logiciel de traitement de texte et tableur

Mots clés

- **Spectrophotométrie, dosage, spectrophotomètre, absorption, monochromateur, spectre**

Approfondir



Votre avis nous intéresse, merci de répondre à notre enquête concernant ce scénario.

Elève, cliquer [ici](#).

Professeur, cliquer [ici](#).



Activité n° 1 Spectre d'absorption du bleu de bromothymol

Objectifs

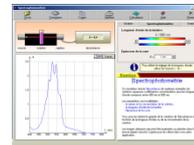
- Obtenir et interpréter le spectre d'absorption du bleu de bromothymol

Durée conseillée

- 10 minutes

Consignes

- Cliquer sur l'image pour accéder à la fiche d'installation du logiciel de spectrophotométrie. Télécharger et installer l'application en suivant les instructions données.
- Répondre aux questions ci-dessous en utilisant comme support de réponse un document de type traitement de texte.



Questions



- 1- Au lancement, l'application trace automatiquement le spectre de la solution par défaut (permanganate de potassium). Sélectionner l'onglet « solution » et choisir la solution de bleu de bromothymol.

Effacer la courbe actuelle grâce à l'icône  à côté du bouton « tracer ». Tracer le spectre d'absorption à l'aide du bouton « tracer ». La configuration actuelle permet-elle de visualiser l'intégralité du spectre ?

- 2- Dans l'onglet « solution », trouver le paramètre à modifier pour obtenir à l'écran le spectre complet.
- 3- Repérer sur le logiciel, à l'aide de la souris, la longueur d'onde maximale. Grâce au bouton « copier », copier le graphe du spectre dans un document Word et annoter par une flèche le pic et sa longueur d'onde.



Activité n° 2 Influence de l'épaisseur de solution traversée par le faisceau

Objectifs

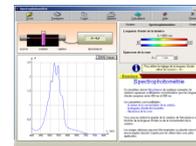
- Comprendre l'influence de l'épaisseur de solution traversée par le faisceau sur l'absorbance: Approche de la loi de Beer-Lambert

Durée conseillée

- 5 minutes

Consigne

- identique à l'activité N°1



Questions

- 1- En gardant comme solution le bleu de bromothymol, dans l'onglet « spectrophotomètre », choisir « 0,5cm » comme largeur de cuve et superposer le nouveau spectre au précédent.
- 2- A l'aide du pointeur de la souris, déterminer les absorbances au λ_{\max} pour les 2 largeurs de cuve. Que constatez-vous ?



Activité n° 3 Influence de la concentration sur l'absorbance

Objectifs

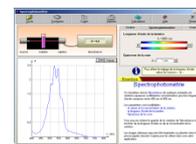
- Comprendre l'influence de la concentration de la solution traversée par le faisceau sur l'absorbance: Approche de la loi de Beer-Lambert

Durée conseillée

- 15 minutes

Consigne

- identique à l'activité N°1



Questions

- 1- Toujours avec la même solution, dans l'onglet « spectrophotomètre » régler la largeur de la cuve sur « 1cm » puis effacer les courbes.
- 2- Dans l'onglet « solution », régler la concentration de la solution sur $0,0001 \text{ mol.L}^{-1}$ puis tracer le spectre. Superposer un deuxième spectre à partir d'une solution à $0,0002 \text{ mol.L}^{-1}$.
- 3- A l'aide du pointeur de la souris, déterminer les absorbances au λ_{max} pour les 2 concentrations. Que constatez-vous ?



Activité n° 4 Loi de Beer-Lambert

Objectifs

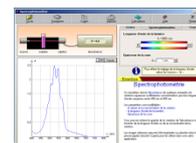
- Tracer le graphe $A = f(C)$

Durée conseillée

- 20 minutes

Consigne

- identique à l'activité N°1



Questions

1. Sur l'onglet « Spectrophotomètre » déplacer le curseur et sélectionner la longueur d'onde correspondante à l'absorbance maximale du BBT.
2. Dans l'onglet « graphe » sélectionner la puce « Absorbance en fonction de la concentration » et à l'aide des boutons placer la limite du graphe à $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, puis tracer le graphe.
3. Quel genre de courbe obtient-on ? Qu'en déduire ?
4. La loi de Beer-Lambert présente une constante ϵ que l'on peut obtenir en calculant la pente de ce graphe. En prenant deux points sur la courbe calculer la valeur de cette constante.
5. En fonction des paramètres observés dans les activités 2, 3 et 4 déduire une formule approchée de la loi de Beer-Lambert. Cette loi relie l'absorbance A aux autres grandeurs d'entrée.
6. Vérifier la formule proposée en sélectionnant un point sur la courbe à l'aide du curseur, réaliser l'application numérique et vérifier que l'absorbance obtenue correspond à celle du graphique.



Votre avis nous intéresse, merci de répondre à notre enquête concernant ce scénario.

Elève, cliquer [ici](#).

Professeur, cliquer [ici](#).