

# Activité expérimentale

## Réalisation d'un spectrophotomètre avec un microcontrôleur

**OBJECTIF : NOUS SOUHAITONS DETERMINER LA CONCENTRATION EN BLEU DE PATENTÉ (COLORANT) D'UNE SOLUTION POUR BAIN DE BOUCHE (ALODONT).**

### Partie I : réalisation des solutions étalons par dilution

#### Matériel à disposition :

- Pipette graduée de 5 mL
- Pipettes jaugées de 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL
- Fiole jaugée de 50,0 mL avec bouchon
- Propipette
- Bêchers
- Solution de concentration  $1,0 \times 10^{-5}$  mol/L en bleu de patenté
- Solution de concentration  $1,0 \times 10^{-3}$  mol/L en bleu de patenté
- Eau distillée

#### Questions :

À partir de la solution de concentration  $1,0 \times 10^{-5}$  mol · L<sup>-1</sup>, nous souhaitons réaliser une gamme étalon dont les concentrations sont les suivantes :  $5,0 \times 10^{-6}$  mol · L<sup>-1</sup>,  $4,0 \times 10^{-6}$  mol · L<sup>-1</sup>,  $3,0 \times 10^{-6}$  mol · L<sup>-1</sup>,  $2,0 \times 10^{-6}$  mol · L<sup>-1</sup>,  $1,0 \times 10^{-6}$  mol · L<sup>-1</sup>,  $5,0 \times 10^{-7}$  mol · L<sup>-1</sup>.

1. A partir du matériel disponible, proposer un protocole pour réaliser ces solutions.

→ *Après accord du professeur, réaliser les solutions attribuées à votre groupe. Puis, écrivez vos noms et la concentration sur la fiole jaugée. Mettez vos solutions à disposition de la classe sur la paillasse professeur.*

1. Proposer un encadrement rapide de la concentration en bleu de patenté de la solution d'alodont grâce à l'échelle de teinte.

## Partie II : réalisation des mesures et exploitation des résultats

Document 1 : protocole expérimental d'étalonnage pour les spectrophotomètres du lycée.

### PARTIE I : MISE EN PLACE DU DISPOSITIF.

- Brancher le spectrophotomètre au module Orphy GTS2.
- Ouvrir le logiciel « Spectro CCD ».

### PARTIE II : REALISATION DE L'ÉTALONNAGE DE L'APPAREIL.

- Placer la cuve remplie de solvant dans l'encart prévu à cet effet dans le spectrophotomètre, puis cliquer sur " Référence ".
- Ajouter le filtre noir et cliquer sur " Noir ".
- Remplacer le filtre noir par un filtre vert et cliquer sur " Vert ".
- Enfin cliquer sur " Fermer ".
- Cliquer sur « mode » en haut à droite de la fenêtre du logiciel, choisir « clavier ».
- Régler la longueur d'onde de travail et cliquer quelque part pour que la modification soit prise en compte.

Document 2 : protocole expérimentale de réalisation des mesures.

### PARTIE III : REALISATION DE LA COURBE D'ETALONNAGE.

- Remplir une cuve propre de la première solution de concentration connue.
- La placer dans l'emplacement prévu à cet effet.
- Mettre délicatement le couvercle.
- Relever l'absorbance et noter la concentration correspondante dans *Regressi*.
- Recommencer pour toutes les solutions de concentrations connues.
- Avec le logiciel *Regressi*, réaliser la courbe représentant l'absorbance A en fonction de la concentration C :  $A=f(C)$ .

### PARTIE IV : DETERMINATION DE LA CONCENTRATION INCONNUE.

- Remplir une cuve propre de la solution de concentration inconnue.
- La placer dans l'emplacement prévu à cet effet.
- Mettre délicatement le couvercle.
- Relever l'absorbance.
- Grâce à la courbe réalisée précédemment, retrouver à quelle concentration correspond l'absorbance A trouvée.
- Une fois vos mesures terminées, débrancher le câble reliant la carte à l'ordinateur.

Document 3 : loi de Beer-Lambert.

Lorsque la concentration est assez faible, une relation mathématique permet de relier l'absorbance et la concentration :

$$A_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} \times l \times C$$

Avec  $A_{\lambda}$  : l'absorbance à la longueur d'onde  $\lambda$  (sans unité)

$\varepsilon_{\lambda}$  : le coefficient d'extinction molaire (L/mol.cm)

l : la longueur de la cuve (cm)

C : la concentration en soluté (mol/L)

*Remarque : le coefficient d'extinction molaire pour une longueur d'onde donnée  $\lambda$  ne dépend que de la nature de la solution (soluté et solvant).*

**Questions :**

1. D'après la loi de Beer-Lambert, quel type de courbe devrait être obtenue ?

Linéaire

Affine

Parabolique

Autre

→ Réaliser l'étalonnage du spectrophotomètre du lycée.

→ Réaliser les mesures avec le spectrophotomètre du lycée et enregistrer le graphique obtenu sur votre session.

2. La courbe obtenue correspond-t-elle à ce que vous aviez prévue à la question 1 ?

3. Quelle est la concentration en bleu de patenté de l'alodont ?

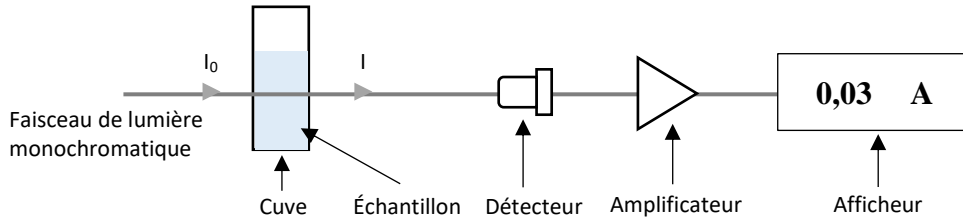
→ Réaliser une mesure de l'absorbance de la solution de bleu de patenté concentrée disponible sur le bureau ( $c(\text{bleu de patenté}) = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

4. Que remarque-t-on avec la solution de bleu de patenté concentrée ?

## Partie III : Réalisation d'un spectrophotomètre

### Document 1 : principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre.

Une solution colorée absorbe certaines radiations du spectre de la lumière blanche. L'absorbance  $A_\lambda$  est la capacité d'une espèce chimique colorée à absorber une radiation monochromatique de longueur d'onde  $\lambda$ . Un spectrophotomètre est un appareil qui calcule l'absorbance  $A_\lambda$  d'une solution colorée, pour une longueur d'onde  $\lambda$  donnée, grâce aux mesures récupérées par un capteur (souvent une photodiode).

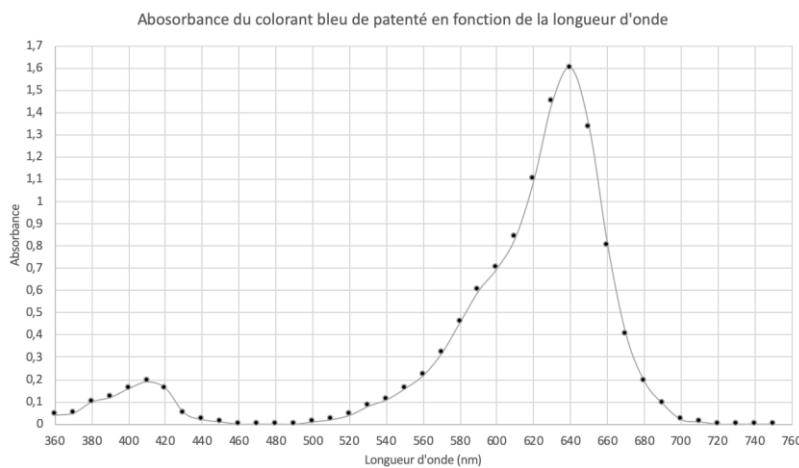


Pour cela, le spectrophotomètre se sert de la relation mathématique reliant l'absorbance  $A_\lambda$  à l'intensité lumineuse avant la cuve  $I_0$  et après la cuve  $I$  :

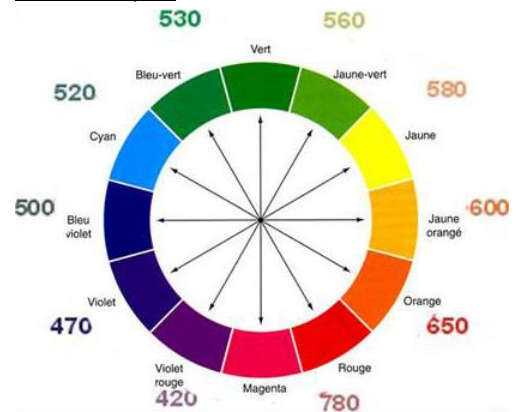
$$A_\lambda = \log_{10} \left( \frac{I_0}{I} \right) - A_{\text{blanc}}$$

L'absorbance à blanc nommée  $A_{\text{blanc}}$  ci-dessus correspond à l'absorbance de la cuve qui est donc soustraite à l'absorbance pour n'avoir que l'absorbance de l'espèce chimique étudiée.

### Document 2 : absorbance du colorant bleu de patenté en fonction de la longueur d'onde .



### Document 3 : cercle chromatique.



[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Disque\\_chromatic.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Disque_chromatic.jpg)

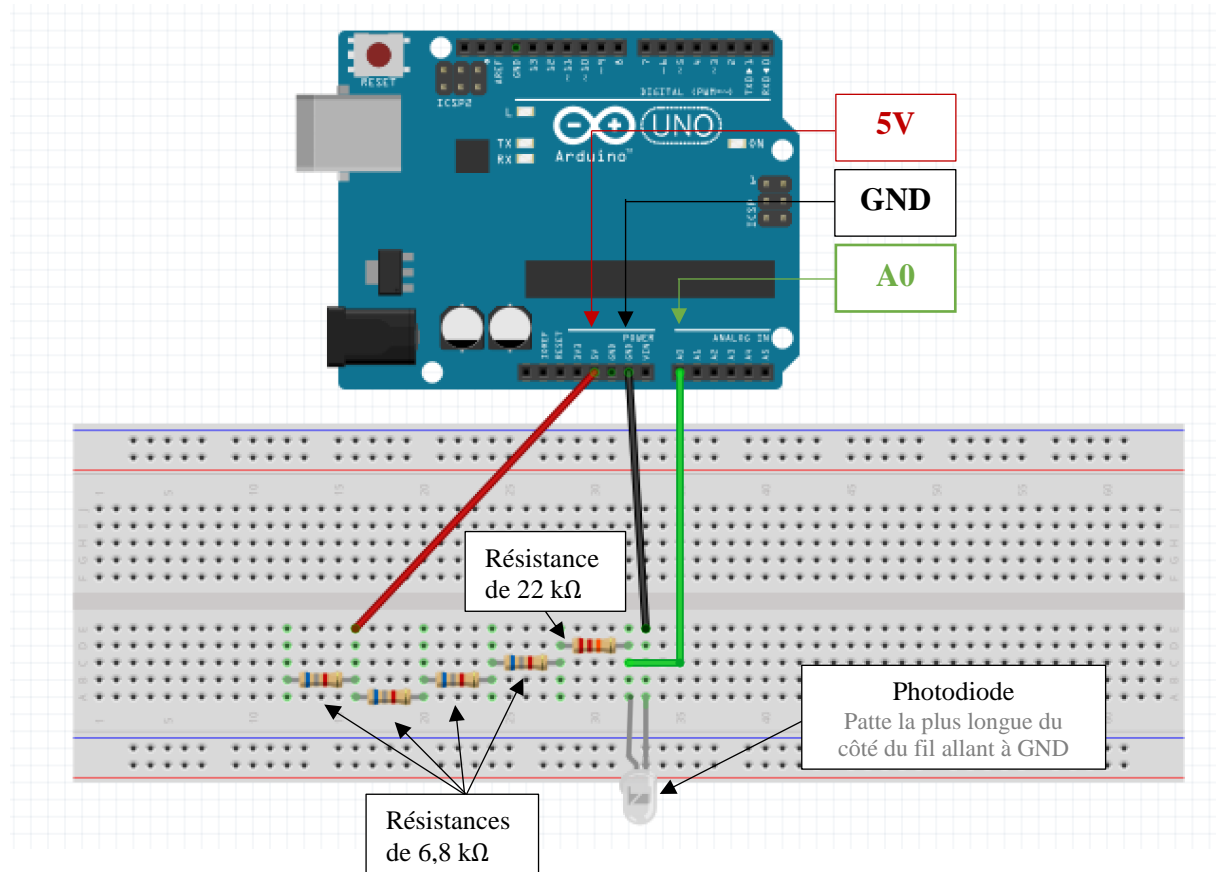
### Questions :

- Plus la solution est concentrée, plus l'absorbance est :
 

Petite
 Grande
- La longueur d'onde choisie pour réaliser des mesures avec un spectrophotomètre est la longueur d'onde appelée  $\lambda_{\text{max}}$  pour laquelle l'absorbance de l'espèce étudiée est maximale.
  - Retrouver la longueur d'onde de travail  $\lambda_{\text{max}}$  pour le bleu de patenté. Justifier avec un tracé sur le graphique du document 2.
  - A quelle couleur cela correspond-il ?
  - A partir du cercle chromatique, prévoir la couleur de la solution.
  - Quel laser parmi ceux proposés ci-dessous paraît le plus adapté ? Justifier.

Couleur du faisceau lumineux	Longueur d'onde (nm)
Bleu	405
Vert	532
Rouge	650

Grâce à un microcontrôleur, il est possible de fabriquer un spectrophotomètre simple. Celui-ci sera réalisé lors de la séance de travaux pratiques.



3. Proposer un schéma de l'ensemble du dispositif qu'il faudra mettre en place pour créer un spectrophotomètre avec un microcontrôleur.

## Partie IV : Écriture du programme

### Document 1 : écriture d'un programme en langage arduino : exemple du programme « spectro\_simple ».

```
spectro_simple | Arduino 1.6.12

spectro_simple
1 #include "math.h" // inclure la bibliothèque math.h (pour la fonction log10 ici)
2
3 int photodiode = A0; // la photodiode est sur la PIN A0
4
5 double mesure; // déclaration de la variable mesure
6 float tension; // déclaration de la variable tension
7 float tension0 = 0.0; // déclaration de la valeur de la tension avant la cuve
8 double absorbanceBLANC = 0.0; // déclaration de la variable absorbanceBLANC
9 double absorbance; // déclaration de la variable absorbance
10
11
12 void setup() { // début de la fonction "setup" qui s'exécute une seule fois
13   pinMode(photodiode, INPUT); //photodiode est une entrée
14   Serial.begin(9600); // initialiser la communication entre la carte et l'ordinateur
15 }
16
17
18 void loop() { // début de la fonction "loop" qui s'exécute en boucle tant que la carte est relié à une alimentation
19
20 // Partie I : calcul de la tension
21   mesure = analogRead(photodiode); // lire la valeur numérique récupérée par la photodiode
22   tension = (5.0*mesure)/1023.0; // calcul de la tension en volt (V)
23   Serial.print("Tension : "); //afficher le texte entre "" ici : Tension
24   Serial.print(tension); // afficher la valeur de la variable tension sur le moniteur série
25   Serial.println(" V"); //afficher le texte entre "" ici : V puis sauter une ligne
26
27 // Partie II : calcul de l'absorbance
28
29
30   delay(1500); // attendre 1500 ms soit 1,5 s
31 }
```

#### Remarques importantes :

- les majuscules, minuscules et la ponctuation ont une importance en programmation. Lors de l'écriture, il faut donc faire attention de les respecter.
- Les commentaires (texte après « // ») permettent au programmeur de noter ce qu'il veut pour s'en rappeler ou expliquer à d'autres utilisateurs qui utiliseront son programme.

### Document 2 : fonctionnement d'un microcôntroleur.

Un microcôntroleur attribue une valeur numérique entre 0 et 1023 à une valeur analogique mesurée avec un capteur comme une photodiode. Grâce à un calcul, on peut retrouver la valeur de la tension mesurée puisqu'on sait que la valeur maximale est de 1023 et que cette valeur correspond à la tension maximale, souvent 5 volts.

Valeur numérique	Tension (V)
1023	5V
mesure	?

$$? = \frac{5V \times \text{mesure}}{1023}$$

### Document 3 : lien entre absorbance et tension aux bornes de la photodiode.

Le rapport des intensités lumineuses  $\frac{I_0}{I}$  est égal au rapport des tensions aux bornes de la photodiode  $\frac{U}{U_0}$ . On peut donc écrire  $\frac{I_0}{I} = \frac{U}{U_0}$ .

#### Questions :

1. Réécrire la relation mathématique de l'absorbance vue dans la première partie en fonction de la tension aux bornes de la photodiode.
2. Associer chaque grandeur physique de la relation mathématique du document 1 aux noms des variables présentes dans le programme « spectro\_simple ».
3. En prenant exemple sur la partie I du calcul de la tension, écrire la partie II du programme qui permet de calculer et d'afficher l'absorbance.

## Partie V : réalisation des mesures et exploitation des résultats avec le spectrophotomètre réalisé

Document 1 : protocole expérimentale d'étalonnage pour les spectrophotomètres réalisés.

### PARTIE I : MISE EN PLACE DU DISPOSITIF.

- Réaliser le montage de la partie I (**ne pas brancher la carte à l'ordinateur tant que le professeur n'a pas validé !**).
- Placer le laser de manière à ce que le faisceau éclaire la photodiode.
- Ouvrir le programme « spectro\_simple ».
- **Téléverser** le programme sur la carte.



Remarque : si un problème de téléversement se présente, il est probable que ce soit à cause d'un problème de port. Allez dans « Outils » puis « Ports » et enfin cliquer sur le port où se trouve le microcontrôleur. Téléversez de nouveau.

- Dans le logiciel Arduino, aller dans « Outil » et cliquer sur « Moniteur série ».
- Test : vérifier que la valeur de la tension varie en fonction de l'éclairement grâce à une lampe.
- Lorsque le laser éclaire la photodiode, la valeur de la tension doit être comprises entre 0,5 V et 1,0 V. Si ce n'est pas le cas, augmenter ou diminuer la tension en déplaçant le fil relié à 5 V de manière à ajouter ou enlever de la résistance dans le circuit.

### PARTIE II : REALISATION DE L'ÉTALONNAGE DE L'APPAREIL.

- Relever la valeur de la tension lorsque rien ne se trouve sur le passage entre le laser et la photodiode : cette valeur peut être approximée à  $U_0$ .
- Dans le programme, remplacer la valeur attribuée à la variable correspondant à  $U_0$  par la valeur trouvée.
- Rajouter les lignes de code déterminées dans la partie II, question 3 puis téléverser.
- Relever la valeur de la tension lorsqu'une cuve du solvant est placée sur le passage entre le laser et la photodiode : cette valeur correspond à  $A_{\text{blanc}}$ .
- Dans le programme, remplacer la valeur attribuée à la variable correspondant à  $A_{\text{blanc}}$  par la valeur trouvée puis téléverser.

Document 2 : protocole expérimentale de réalisation des mesures.

### PARTIE III : REALISATION DE LA COURBE D'ÉTALONNAGE.

- Remplir une cuve propre de la première solution de concentration connue.
- La placer dans l'emplacement prévu à cet effet.
- Mettre délicatement le couvercle.
- Relever l'absorbance et noter la concentration correspondante dans *Regressi*.
- Recommencer pour toutes les solutions de concentrations connues.
- Avec le logiciel *Regressi*, réaliser la courbe représentant l'absorbance  $A$  en fonction de la concentration  $C$  :  $A = f(C)$ .

### PARTIE IV : DETERMINATION DE LA CONCENTRATION INCONNUE.

- Remplir une cuve propre de la solution de concentration inconnue.
- La placer dans l'emplacement prévu à cet effet.
- Mettre délicatement le couvercle.
- Relever l'absorbance.
- Grâce à la courbe réalisée précédemment, retrouver à quelle concentration correspond l'absorbance  $A$  trouvée.
- Une fois vos mesures terminées, débrancher le câble reliant la carte à l'ordinateur.

**Questions :**

1. Rappel : Quel type de courbe devrait être obtenue selon la loi de Beer-Lambert ?

→ Réaliser l'étalonnage du spectrophotomètre réalisé.

→ Réaliser les mesures avec le spectrophotomètre réalisé et enregistrer le graphique obtenu sur le même graphique que celui de la semaine précédente.

2. La courbe obtenue correspond-t-elle à ce que vous aviez prévu à la question 1 ?
3. Quelle est la concentration en bleu de patenté de l'alodont ?
4. Comparer les mesures obtenues avec les deux spectrophotomètres.

→ Réaliser une mesure de l'absorbance de la solution de bleu de patenté concentrée disponible sur le bureau ( $c(\text{bleu de patenté}) = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

5. Que remarque-t-on avec la solution de bleu de patenté concentrée ?
6. Donner des pistes possibles pour l'amélioration du spectrophotomètre fabriqué.

**Pour aller plus loin :**

7. Mets en place les améliorations pour le spectrophotomètre réalisé que tu as proposées à la question 5.