



SPECTROPHOTOMETRE BECKMAN DU 640

Niveau :

1^{ère} année de BTS systèmes photoniques.

Objectifs:

En possession des documents et des informations techniques complémentaires nécessaires, l'élève doit être capable de mettre en œuvre un système de contrôle dimensionnel par caméra intelligente et de déterminer le cadencement maximal des mesures.

- → Compétence C1.5 : Simuler et valider les solutions techniques
- → Compétence C3.2 : Valider un système
- → Compétence C2.3 : Régler le système
- \rightarrow Compétences C3.1: Mettre en œuvre un système optique.

Forme :

TP de 6 heures, par binôme ou trinôme.

Pré-requis :

- Lecture de dossiers ressources.
- Connaissance en mathématiques, optique, mécanique et électronique.

Méthode :

On donne :	On demande :	On évalue :
 Un sujet de T.P., Un dossier technique. Les logiciels associés au TP Tout le matériel nécessaire à la mise en œuvre du système. 	 De faire l'analyse fonctionnelle du système. De mettre en œuvre le système. D'analyser les performances du système. 	 La compréhension du principe de la spectrophotométrie. La mise en œuvre du système. L'analyse des résultats obtenus lors de la mise œuvre du système. L'attitude, l'autonomie. Le résultat obtenu. Le respect des règles de sécurité La présentation du compte rendu.



SPECTROPHOTOMETRE BECKMAN DU 640

Mettre l'appareil en marche (interrupteur ON/OFF à l'arrière) dès le début de la séance. Après initialisation, allumer les sources visibles et UV par un clic sur VIS_OFF et UV_OFF dans la barre de menu en bas de page.

1. Éléments à votre disposition

1.1. Matériel		
	Liste du matériel	
Voir cadre 1.	Spectrophotomètres Beckman DU640	Liste des logiciels
	Miroirs de laser He-Ne	DU640
	Filtre de densité	Excel
	Eau distillée	
	Solutions de sulfate de cuivre	cadre 2.
I.Z. LOGICIEIS	Cuves quartz et plastique	
Voir cadre 2.	Micropipettes avec embouts	
	Support multi-cuvettes	Liste de la documentation
	Boîtier électronique	Dossier technique
	Micro-ordinateur	Dossier teermique
	Imprimante	
1.3. Documentation Voir cadre 3	cadre 1.	cadre 3.

2. Présentation du contexte

Un spectrophotomètre est un appareil capable de mesurer la proportion de lumière transmise ou absorbée par un échantillon sur une certaine gamme de longueurs d'onde. Il est constitué d'une source de lumière et d'un réseau de diffraction qui permet de sélectionner une longueur d'onde qui va éclairer l'échantillon. La puissance lumineuse I_t transmise par l'échantillon est alors mesurée. En la comparant à la puissance lumineuse I₀ mesurée en l'absence d'échantillon, on en déduit le **coefficient de transmission** T = I_t/I₀ sans unité. On exprime souvent T en pourcents : $%T = I_t/I_0*100\%$.

On exprime souvent la façon dont l'échantillon absorbe la lumière à l'aide de l'**absorbance** A = log(1/T). L'absorbance A est parfois appelée aussi **densité optique** DO. Elle augmente de 1 si T est divisé par 10. A est sans unité.

L'intérêt du spectrophotomètre est qu'il permet de déterminer la concentration d'une substance chimique grâce à la mesure de l'absorbance de cette substance : plus elle est concentrée, plus l'absorbance est grande. Pour les concentrations assez faibles, la **loi de Beer-Lambert** est vérifiée : A=ɛ{c où } est la longueur de l'échantillon traversée par la lumière en cm, c la concentration en mol.L⁻¹ et ϵ le coefficient d'absorption molaire en cm.L.mol⁻¹. Si on connaît A, ϵ et ℓ pour une longueur d'onde donnée, on peut en déduire la concentration c.

La mesure de A pour une solution se fait de la manière suivante : on effectue tout d'abord un « blanc » en mesurant la puissance transmise par une cuve contenant seulement du solvant (la substance à analyser est absente), puis on fait une mesure de la puissance transmise par une cuve contenant le solvant et l'espèce à analyser. Comme la cuve et le solvant absorbent la lumière, il est nécessaire de les inclure dans le blanc.

Problématique :

On se propose de découvrir et de se familiariser avec le fonctionnement d'un spectrophotomètre. Un tel instrument permet de déterminer le taux d'absorption ou de transmission de la lumière par un objet en fonction de la longueur d'onde. L'objectif est de vérifier la loi de Beer-Lambert dans des solutions de sulfate de cuivre, et d'en déduire leur concentration.



Beckman

3. Analyse du système :

3.1. Simulation

Ouvrir le logiciel *spectro.* Dans "solution" choisir "sulfate de cuivre" puis fixer la concentration à $0,1 \text{ mol.}L^{-1}$ (cadre 4).

Demander le graphe de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde.

Relever l'absorbance à 700, 750 et 800 nm, voir *ta-bleau 1*.

Relever l'absorbance pour les concentrations indiquées et compléter le tableau 2 (attention à

Solution	Spectrophotomètre	Graphe			
Nature de la sol	ution				
Solution de sulfat	e de cuivre	•			
Concentration (de 10 ⁻⁶ mol·L ⁻¹ à 10 ⁻¹ mol·L ⁻¹)					
	c = 0,1 m	ol · L ⁻¹			

Cadre 4: Simulation avec spectro.

λ (nm)	700	750	800
А			

Demander l'absorbance en fonction de la concentration à 800 nm pour une concentration $C_0 = 0,1 \text{ mol}.L^{-1}$

tableau 1 : Absorbance= $f(\lambda)$ par simulation.

C (X 10 ⁻¹ mol.L ⁻¹)	0,125	0,25	0,5	0,67	1,0
А					

tableau 2 : Absorbance = f(C) (simulation).

3.2. Logiciel DU640

l'unité de C dans le tableau).

Le logiciel *DU640* mis à votre disposition permet l'acquisition des mesures par le PC via le port série.

Ouvrir le logiciel et cliquer sur Port série/Sélectionner et connecter. La boîte de dialogue Connexion DU640 au port série (voir cadre 5) doit toujours être ouverte pendant les acquisitions.



Cadre 5 : Connexion du DU640 via le port série.

UV Source Visible Source Source Slits Grating Filters

Cadre 6 : Schéma de principe de l'appareil.

S.T.S Systèmes Photoniques - Lycée Jean Mermoz - 68300 SAINT-LOUIS 3/7

3.3. Le spectrophotomètre Beckman

3.3.1. Description de l'appareil

Observer dans le dossier technique les photos du spectromètre Beckman DU64 dont la partie optique est semblable à celle du DU640. Voir aussi "*Généralités sur les spectrophotomètres*".

Retrouver par une analyse visuelle les éléments figurant cadre 6.

Appeler un professeur de physique et décrire le montage optique de l'appareil en précisant la fonction de chaque élément.

TP2A



3.3.2. Sensibilité et dynamique du capteur

Quand A augmente de 1 unité, c'est que l'intensité It mesurée à été divisée par 10. On est donc limité par la sensibilité mais aussi par la linéarité du détecteur, c'est à dire par la "dynamique" du capteur.

Par quel facteur est multipliée l'intensité électrique fournie par le capteur quand la D.O ou A passe de 3 à 0 (à condition que la réponse reste linéaire) ?

Rechercher dans "*Spécifications techniques DU640*" du dossier technique le domaine d'absorbances mesurables.

3.3.3. Pouvoir de résolution, précision

Si le réseau, le monochromateur, le détecteur sont de bonne qualité, on pourra repérer des absorbances différentes même pour deux longueurs d'onde voisines.

La résolution ne sera plus limitée alors que par l'écart entre deux acquisitions : à 1200 nm/mn, une acquisition est faite tous les nm ; à 600 nm/mn, une acquisition est faite tous les 0,5 nm.

Ceci définit le pouvoir de résolution de l'appareil.

Rechercher dans "*Spécifications techniques DU640*" du dossier technique quelle est la meilleure résolution en longueur d'onde possible. A quelle vitesse de scan cela correspond-il ?

3.3.4. Domaine spectral d'utilisation – Les sources

Dans le DU64, la source tungstène est utilisée de 200 à 324 nm et la source deutérium de 325 à 900 nm. Le DU640 est utilisable de 190 à 1100 nm dans l'U.V, le visible, et le proche I.R (Voir "*Schéma optique du DU640*" dans le dossier technique) mais les faisceaux sont combinés.

3.3.5. Modes d'acquisition et « blanc »

Lire "*Modes d'acquisition des données*" et "*Principe d'un blanc*" du dossier technique. Quels sont les modes d'acquisitions possibles ? Quelles sont les étapes réalisées pendant un "blanc" ?

4. Mise en œuvre du système :

4.1. Calibration du spectrophotomètre Beckman DU 640

Vérifier tout d'abord que l'option communication du DU640 est configurée comme représenté *page 5 du dossier technique* ceci permettra le transfert des courbes dans le PC connecté au Beckman.

Procéder à la calibration de l'appareil :

1. "Calibrate λ "

A partir du menu principal, aller dans "DIAGNOSTICS" puis "Calibrate λ ". Le système recherche la raie 656.1 nm du deutérium. La position du réseau pour cette longueur d'onde est enregistrée.

2. "Scan Gain"

Cette étape n'est pas nécessaire pour les acquisitions à venir.

3. "Blank"

Lire "*Principe du blanc*" du dossier technique pour connaître les étapes réalisées lors de l'opération.

Lorsqu'on veut étudier l'absorbance d'une substance à une certaine longueur d'onde, on effectue tout d'abord un blanc. Pour étudier l'absorbance du sulfate de cuivre, on le dilue dans l'eau et on place la solution dans une cuvette neuve. Pour effectuer le blanc correspondant à cette opération, que faut-il mettre dans le porte-cuve (attention au sens de la cuvette et des portes cuvettes) ?



4.2. Procédure « Wavelength Scan » : absorbance d'un filtre de densité optique

L'opération comportera successivement :

- 1. Clic sur "WAVELENGTH SCAN" à partir du menu principal.
- 2. L'étendue du scan : de 200 nm (Start wl) à 1100 nm (End wl).
- 3. Vérifier le type d'acquisition "ABS" (Absorbance), la vitesse de scan 1200 nm/mn, le nombre d'échantillons "none", le porte échantillons doit être vide (retirer le support à six cuvettes s'il est présent (*cadre 7*)).
- 4. L'étendue du domaine d'absorbance : de 0 à 2,5 affichés en ordonnée.
- 5. Le blanc : clic sur "BLANK" dans le menu permanent de bas de page.
- Disposer le filtre de densité D.O = 1 dans le support d'échantillons. Le placer pour qu'il couvre la position des cuvettes 1 et 2.
- 7. Vérifier que le logiciel DU640 est en attente d'acquérir la série 0 (sélectionner et connecter le port série).
- 8. Clic sur "ReadSample" pour démarrer l'acquisition.

Ces opérations sont suivies par l'affichage du spectrographe d'absorption sur le moniteur du DU640 puis le transfert des données vers l'ordinateur et le graphe de l'absorbance (ou D.O) en fonction de la longueur d'onde.

Sauvegarder l'acquisition sous DO.bec.

4.3. Procédure « Wavelength Scan » : transmission d'un miroir de cavité d'un laser He-Ne

Le miroir a une longueur d'onde passante voisine de 633 nm. On cherchera à mesurer son coefficient de transmission et sa bande passante.

- La procédure est semblable à celle utilisée pour la DO avec les modifications suivantes :
- 1. Le mode d'acquisition "%T"
- 2. L'étendue du scan : 400 à 700 nm
- 3. L'étendue du domaine de transmission : 0 à 100%.

Déterminer la longueur d'onde pour laquelle la transmission est minimale. Comparer à la longueur d'onde d'un laser He-Ne rouge. Dans quel domaine de longueur d'onde la transmission est-elle la plus grande ? Cela correspond-il à la couleur vue par transmission de la lumière blanche à travers le miroir ?

Sauvegarder l'acquisition sous *Miroir.bec* et noter la longueur d'onde centrale (c'est-à-dire celle du minimum de transmission).

4.4. Procédure « RediRead »

Nous allons vérifier la valeur de l'absorbance A pour les longueurs d'onde 250 ; 300 ; 400 ; 500 ; 800 nm des cuvettes en quartz et en plastique qui seront utilisées pour analyser des solutions.

- 1. Clic sur "RediRead" dans le menu permanent.
- 2. Renseigner la fenêtre qui s'ouvre avec la valeur des longueurs d'onde
- 3. Vérifier le mode "ABS" (clic sur "%T" si c'est le mode affiché pour passer à "ABS")
- Placer une cuvette en plastique en 1^{ère} position dans le porte cuvettes et une cuvette en quartz en 2ème position. Placer le tout dans le support d'échantillons.
- 5. Avant de faire le "blanc", clic sur "DEVICES" dans le menu permanent pour déplacer le support d'échantillons en position 3 (ou toute autre position vide) : ainsi le faisceau ne traversera pas les cuvettes pendant le blanc.
- 6. "ReadBlank"
- 7. Déplacer le support de cuvette en position 1. Le faisceau traverse la cuvette en plastique.
- 8. "ReadSample"
- 9. Déplacer le support en position 2
- 10. "ReadSample"

Rq : Le transfert des données vers le PC ne se fait pas en mode "RediRead". Faire un tableau des résultats sous *Excel* : *Cuvettes.xls*.



4.5. Etude de l'absorbance de solutions de sulfate de cuivre (CuSO4)

Préparer 5 cuvettes en plastique neuves et verser dans chacune à l'aide d'une pipette, 1 ml de solution de concentration C₀, 2C₀/3, C₀/2, C₀/4, C₀/8 (une solution par cuvette). Préparer une 6^{ème} cuvette avec de l'eau distillée.

Attention :

Veillez à ne pas souiller les solutions. Changer impérativement l'embout de la pipette quand vous prélevez une solution, le même embout servant exclusivement à la même solution.

On utilisera encore le mode "Wavelength scan" avec les conditions suivantes :

- 1. Étendue du scan : 400 à 1100 nm
- 2. "ScanSpeed" : 1200 nm/mn
- 3. "ABS" de 0 à 2,5
- 4. "Sampling device : Auto smplr". Prévoir 5 échantillons.
- 5. "Overlay scans : Yes" permettra de superposer les graphes.
- 6. Préparer le logiciel DU640 pour le transfert des données.

Placer les cuvettes dans le porte cuvettes en respectant bien l'ordre : cuvette N°1 = C_0 ; N°2 = $2C_0/3$...; N°5 = $C_0/8$. La cuvette N°6 servira pour le "blanc". Placer le tout dans le porte-échantillons.

Clic sur "DEVICES" pour déplacer le support d'échantillon en N°6 puis "BLANK".

"ReadSamples" lance l'acquisition automatique.

Montrer vos acquisitions à un professeur.

Faire une sortie imprimante du spectrographe. Sauvegarder l'acqusition sous SW_CUSO4.bec.

4.6. Procédure « Fixed Wavelength » ATTENTION QUE SE SOIT LA SERIE 1

- 1. Clic sur "FIXED WAVELENGTH" à partir du menu principal.
- 2. "Sampling device" permet de prévoir les acquisitions sur 5 cuvettes.
- Choisir les longueurs d'ondes dans la fenêtre "Parameters": 700 nm; 750 nm; 800 nm. Inscrire "Yes" dans la colonne "Use" des longueurs d'onde sélectionnées et « No » pour les autres.
- 4. Faire le "blanc" sur la cuvette N°6.
- 5. Préparer le transfert des données.
- 6. Lancer "ReadSamples".

dans le tableau 4.

Noter le tableau des résultats affichés sur le moniteur du spectromètre (*tableau 3*).

N° de cuvette	Concen- tration C	Concen- tration relative x	A à λ1 = 700 nm	A à λ₂ = 750 nm	A à λ₃ = 800 nm
1	C ₀	1			
2	2C ₀ /3	2/3			
3	C ₀ /2	1/2			
4	C ₀ /4	1/4			
5	C ₀ /8	1/8			

Tableau 3. Absorbance en fonction de la concentration.

Remarque : Afin de simplifier la lecture des

valeurs dans le logiciel DU640, Faire Graphe/Fixed Wavelength/Paramètres standards et cocher uniquement Visualiser les mesures.

Montrer vos acquisitions à un professeur.

Sauvegarder l'acquisition sous *FW_CUSO4.bec*. Faire un tableau des résultats : *FW_CUSO4_A.xls*.

5. Analyse des performances du système :

5.1. « Fixed Wavelength » avec calcul de la concentration

D'après la loi de Beer A = $\epsilon \ell C$ il suffit d'affecter un facteur $\frac{1}{\epsilon \ell}$ à l'absorbance A pour obtenir la concentration C. Ces coefficients sont indiqués

CuSO ₄	700 nm	750 nm	800 nm
εℓ (mol ^{−1} L)	7,0	10,8	12,5
1/εℓ (mmol.L ⁻¹)	143	95,2	80,0

Tableau 4 : $\epsilon \ell$ (pour ℓ = 1,0 cm) pour une solution CuSO₄.

S.T.S Systèmes Photoniques - Lycée Jean Mermoz - 68300 SAINT-LOUIS



Reprendre la procédure et les acquisitions faites en **4.6** en inscrivant les coefficients dans la colonne "Factor" de la fenêtre "Parameters". Compléter avec "Units : mMol/L" puis "Use : Yes".

vos ac	quisitions	à un p	rofesseur.
un	tableau	des	résultats :
04_C.	xls comm	e illus	tré dans le
	vos ac un 04_C.	vos acquisitions un tableau O4_C.xls comm	vos acquisitions à un p un tableau des <i>O4_C.xls</i> comme illus

5.2. Loi de Beer-Lambert

• Tracer sous *Excel* dans *FW_CUSO4_A.xls* le graphe de l'absorbance A en fonction de la concentration relative x $(x = \frac{C}{C_0})$ pour

N° de cu- vette	Concen- tration C	Concen- tration relative x	Concentra- tion C mmol/L (à 700 nm)	C mmol/L (à 750 nm)	C mmol/L (à 800 nm)
1	C ₀	1			
2	2C ₀ /3	2/3			
3	C ₀ /2	1/2			
4	C ₀ /4	1/4			
5	C ₀ /8	1/8			

Tableau 5 : Calcul des concentrations des solutions.

chaque longueur d'onde. La loi de Beer-Lambert $A = \epsilon \ell C = \epsilon \ell C_0 x$ est-elle vérifiée ? (c'est-à-dire la courbe représentant A en fonction de x est-elle une droite passant par l'origine ?)

- Tracer les DMC et relever pour chacune d'elles la pente εℓC₀ (appelée coefficient d'extinction de Beer).
- Déterminer, à partir des 3 pentes et des valeurs de εl (tableau 4) la valeur de la concentration C₀ de la solution mère. Comparer aux résultats trouvés FW_CUSO4_C.xls.

5.3. Observation des spectres

• Observer le spectrographe de transmission du miroir de laser He-Ne. Déterminer le domaine de longueur d'onde où il réfléchit bien et son coefficient de transmission minimum.

• Observer le spectrographe de transmission du miroir. Correspond-il à un bon miroir de laser He-Ne (coefficient de réflexion élevé à 633 nm) ?

- Observer l'absorption des cuvettes à différentes longueurs d'onde. Pourquoi ne peut-on pas utiliser des cuvettes en plastique dans le domaine UV ?
- Observer le spectre d'absorption d'une solution de sulfate de cuivre. Expliquer la coloration de la solution.

5.4. Comparaison des résultats trouvés avec ceux attendus

En principe, pour les solutions de sulfate de cuivre, $C_0 = 0,1$ mol / L. En déduire les concentrations théoriques de chaque solution, et comparer avec vos résultats. Quelles sont les sources possibles de l'écart observé ?