

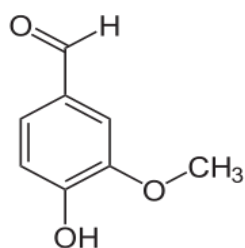
## TP 1 - Spectroscopie UV-visible

### Etude de l'éthylvanilline

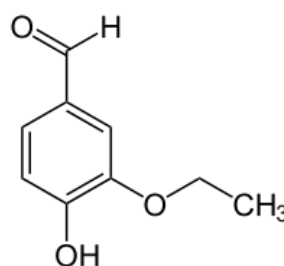
#### I/ Les arômes de vanille

La vanilline, composant naturel de la gousse de vanille, est à l'origine de l'odeur caractéristique de la vanille. Elle est largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire, mais aussi dans les parfums, les cosmétiques et les détergents. La vanilline est aussi produite par voie de synthèse et est alors appelée arôme synthétique. Il est à différencier de l'éthylvanilline.

L'éthylvanilline est une molécule qui ressemble beaucoup à la vanilline de par sa structure. Elle est encore appelée, à tort, « arôme artificiel de vanille » ; en effet, il a été mis en évidence en 2009 la présence de l'éthylvanilline à l'état naturel dans une variété de vanille : la Vanille de Tahiti (*vanilla tahitensis*). L'éthylvanilline présente l'avantage d'avoir un pouvoir aromatique quatre fois plus puissant que celui de la vanilline et un coût de fabrication plus faible.



Vanilline  
 $C_8H_8O_3$   
 $M = 152,15 \text{ g/mol}$



Éthylvanilline  
 $C_9H_{10}O_3$   
 $M = 166,17 \text{ g/mol}$

Dans le commerce, on trouve différents types de sucres aromatisés à la vanille. Lorsqu'un sucre contient de la vanilline, il est dit « vanillé ». Il s'agit en général de l'arôme naturel, extrait des gousses de vanille. Lorsque le sucre contient de l'éthylvanilline, il est dit « vanilliné ».

L'objectif de ce TP est de doser l'éthylvanilline contenue dans un sachet de sucre vanilliné par spectrophotométrie UV, avec la méthode des ajouts dosés.

#### II/ Rappels sur la spectroscopie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible

La spectrométrie UV-visible consiste à stimuler un échantillon avec un rayonnement allant du proche UV au très proche infrarouge, soit de 180 à 1100 nm environ, correspondant à des énergies allant de 100 à 1000 kJ/mol. Ces énergies permettent le passage d'un électron de valence d'un niveau fondamental à un niveau excité, par absorption d'un quantum d'énergie.

Une partie du rayonnement émis est absorbée par le composé, et l'appareil mesure l'intensité du rayonnement transmis après avoir traversé la cuve d'échantillonnage. L'atténuation de l'intensité du rayonnement, c'est-à-dire l'absorption du rayonnement (noté  $A$ , absorbance), est proportionnelle à la concentration des molécules absorbantes (notée  $c$ ) et à la longueur du trajet d'absorption (notée  $l$ ) selon la loi de Beer-Lambert :  $A = \epsilon cl$ . Le coefficient  $\epsilon$  est appelé coefficient d'absorption molaire et est exprimé en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ .

L'atténuation du signal n'est pas seulement due au composé : il y a des pertes dues à la réflexion sur les parois de la cuve et à la diffusion de la lumière dans la solution. Ces effets sont corrigés en faisant le « blanc » avec la cuve et le solvant utilisés.

Dans les molécules organiques, les électrons impliqués dans des liaisons doubles ou triples (liaisons  $\pi$ ) sont moins fortement liés car plus hauts en énergie que les électrons appartenant à des liaisons simples (liaisons  $\sigma$ ). Ils sont donc plus facilement excitables par un rayonnement. Les molécules possédant des groupements fonctionnels insaturés présentent donc en général des bandes d'absorption exploitables en spectrophotométrie UV-visible. Ces groupements sont appelés chromophores. Chaque chromophore présente des transitions électroniques qui lui sont caractéristiques, auxquelles sont associées une longueur d'onde et un coefficient d'absorption molaire au maximum d'absorption. Les seules transitions exploitables par spectrophotométrie UV-visible sont les transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  (intenses car permises par les règles de sélection) et les transitions  $n \rightarrow \pi^*$  (moins intenses car interdites). Les autres types de transition ( $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \sigma^*$ ) sont en dessous de la fenêtre d'exploitation de l'appareil.

La présence de substituants sur la molécule, autres que les groupements insaturés, absorbent peu dans la région UV-visible mais ont une influence sur l'absorption, longueur d'onde et coefficient d'absorption molaire, du composé. Ce sont les groupements auxochromes. Lorsque la longueur d'onde du maximum d'absorption est augmentée, l'effet est dit bathochrome ; l'effet inverse est appelé hypsochrome. Lorsque l'absorption augmente au maximum d'absorption, l'effet est dit hyperchrome ; l'effet inverse est appelé hypochrome.

La conjugaison dans une molécule a aussi un effet sur l'absorption de la molécule : elle a un effet bathochrome et hyperchrome sur le maximum d'absorption des transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  et  $n \rightarrow \pi^*$ .

Par ailleurs, le solvant dans lequel se trouve la molécule a aussi, selon sa polarité, des conséquences sur la position et l'intensité des pics. Un solvant plus polaire pourra en effet entraîner un effet batho-, hypso-, hyper- ou hypochrome selon le type de transitions concernée.

### III/ Manipulation

**1. A réaliser dès le début de la séance :** un seul binôme se charge de préparer la solution mère de sucre vanilliné pour toute la séance. Pour cela, peser exactement le contenu d'un sachet de sucre vanilliné. Introduire le sucre dans une fiole jaugée de 100 mL et NE PAS compléter jusqu'au trait de jauge. En effet, le sucre ne va pas réussir à se dissoudre totalement. Verser de la soude à  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  et s'arrêter avant le début du col de la fiole par exemple. Mettre la solution au bain à ultrasons pendant 30 min. Laisser refroidir jusqu'à température ambiante. Si tout le sucre est dissous et la solution revenue à température ambiante, la fiole peut à présent être complétée jusqu'au trait de jauge. Indiquer sur la fiole la masse exacte du contenu du sachet de sucre vanilliné.

#### 2. Spectre UV de l'éthylvanilline.

Une solution mère d'éthylvanilline vous est fournie (100 mg dans 100 mL de soude à 0,1 M)

- Préparer cinq solutions filles identiques d'éthylvanilline : prélever 100  $\mu\text{L}$  de solution mère d'éthylvanilline, les introduire dans une fiole de 25 mL et compléter au trait de jauge avec le solvant.
- Faire le « blanc » du spectrophotomètre avec une cuve (1 cm) remplie de solvant.
- Réaliser le spectre de ces solutions entre 220 et 420 nm. Pointer la longueur d'onde ( $\lambda_{\text{max}}$ ) et l'absorbance (A) au niveau du maximum d'absorption, puis imprimer les cinq spectres superposés. En déduire le nombre de décimales à garder pour l'absorbance pour la suite du TP.

Q1. Identifier sur la molécule le chromophore responsable de l'absorption et la nature des transitions possibles.

Q2. Déterminer la longueur d'onde du maximum d'absorption ( $\lambda_{\text{max}}$ ) et le coefficient d'absorption molaire de l'éthylvanilline à cette longueur d'onde.

a- En déduire la nature de la transition observée.

b- Comparer le  $\lambda_{\text{max}}$  avec la valeur prédite par les tables de Woodward. Justifier l'utilisation de ces tables et commenter les écarts observés.

Q3. A partir des mesures effectuées sur les 5 solutions, déterminer la précision de votre analyse et le nombre de décimales à conserver pour l'absorbance pour la suite de votre TP.

#### 3. Détermination des volumes à prélever pour les ajouts dosés

Q4. À partir des résultats obtenus précédemment, déterminer 8 volumes à prélever en solution mère d'éthylvanilline de sorte à échelonner les absorbances de 0 à environ 1 (le volume n°1 est égal à 0). Détailler le calcul du volume n°8.

#### 4. Dosage du sucre vanillé par la méthode des ajouts dosés

- Préparer les 8 solutions filles : introduire dans toutes les fioles 100  $\mu\text{L}$  de solution mère de sucre vanillé (préparée par un binôme pour tout le groupe). Puis, ajouter dans les 8 fioles les 8 volumes de solution mère d'éthylvanilline déterminés dans la question 3 (dans la fiole n°1 il n'y a pas d'ajout). Compléter les fioles au trait de jauge avec le solvant.

- Réaliser les spectres des 8 solutions filles. Relever sur chaque spectre l'absorbance au  $\lambda_{\text{max}}$ . Imprimer les 8 spectres superposés.

Q5. Déduire des volumes d'éthylvanilline ajoutés les masses d'éthylvanilline ajoutées dans toutes les fioles. Détailler un calcul.

Q6. Rassembler dans un tableau les volumes prélevés lors de la préparation des solutions filles, les masses ajoutées d'éthylvanilline et les absorbances relevées à  $\lambda_{\text{max}}$ .

Fiole n°	1	2	3	4	5	6	7	8
$V_{\text{sol}^\circ \text{ mère sucre}} (\mu\text{L})$	100	100	100	100	100	100	100	100
$V_{\text{sol}^\circ \text{ mère éthyl}} (\mu\text{L})$	0							
NaOH 0,1 M	QSP 25 mL							
$m_{\text{éthyl, aj}} ( )$	0							
A								

#### 5. Exploitation des mesures (seuil de risque 1%)

Q7. Tracer le graphique représentant l'absorbance en fonction de la masse ajoutée en éthylvanilline sur papier millimétré. Démarrer l'axe des abscisses à - 50  $\mu\text{g}$ .

Q8. Donner la valeur de la masse ajoutée correspondant à la limite de linéarité (LL) si cela est possible.

Q9. À partir des points expérimentaux appartenant au domaine de linéarité, vérifier l'existence d'une corrélation linéaire en utilisant la RLS/MMCC.

Q10. Vérifier que la droite de régression déterminée par la RLS/MMCC ne passe pas par l'origine.

Q11. Déterminer l'équation de la droite de régression linéaire ; la tracer sur le graphique puis la prolonger jusqu'à couper l'axe des abscisses.

Q12. Tracer sur le graphique les droites d'incertitude. Conclure et déterminer l'équation de ces deux droites.

Q13. Déterminer les limites de détection (LD) et de quantification (LQ).

Q14. Déterminer la masse en éthylvanilline qui provient du sucre vanillé dans les fioles de 25 mL et vérifier qu'elle soit au-dessus des limites de détection et de quantification. En déduire la masse d'éthylvanilline contenue dans les 100 mL de solution mère de sucre vanillé (c'est à dire dans le sachet de sucre). En déduire le pourcentage massique d'éthylvanilline contenue dans le sucre vanillé.

Q15. À partir des équations des droites d'incertitude, déterminer la masse minimale et la masse maximale d'éthylvanilline contenue dans la solution fille puis en déduire l'incertitude sur la masse calculée et la précision du résultat annoncé.