

Spectrophotométrie

Fiche n°

I Aspect théorique

1) Interaction lumière-matière (rappels)

Lorsque la lumière traverse une substance, elle est en partie **absorbée** et en partie **transmise**. Une substance colorée absorbe dans le visible du spectre des radiations électromagnétiques : $400 \text{ nm} < \lambda < 800 \text{ nm}$.

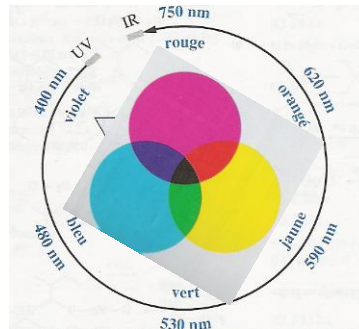
Les radiations absorbées ont généralement la couleur **complémentaire** de celle de la solution traversée. Deux couleurs complémentaires se font face sur l'étoile des couleurs suivantes (d'après Hachette et Nathan) :



spectre de la lumière blanche



spectre de la lumière blanche après traversée d'une solution de diode (d'après Hatier)



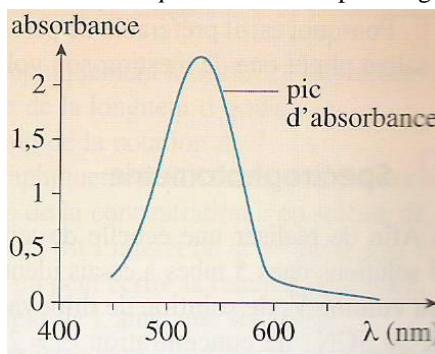
2) Absorbance

La grandeur physique qui traduit l'absorption des radiations par une solution s'appelle **l'absorbance** et est notée A . C'est une grandeur **sans unité**.

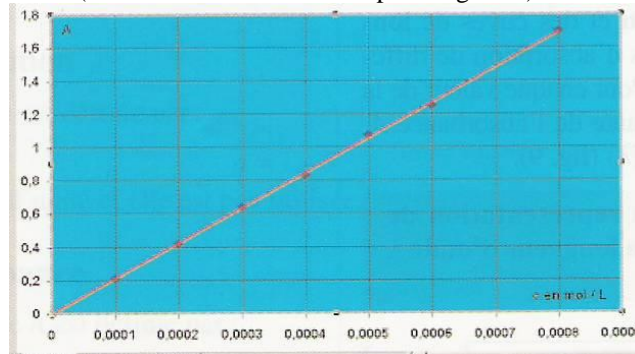
L'absorbance A dépend de :

- **l'espèce qui absorbe (sa nature donc il faut spécifier sa formule chimique)**
- **la concentration de cette espèce absorbante**
- **la longueur de solution traversée par le faisceau**
- **la longueur d'onde du faisceau utilisé**
- **la température.**

Exemple : solution de permanganate de potassium (la couleur est due aux ions permanganate)



allure du graphe $A = f(\lambda)$ (d'après Hatier)



allure du graphe $A = f(c)$ (d'après Nathan)

Le graphe de gauche est le **spectre** de l'espèce. Il a été obtenu en ne faisant varier que le paramètre longueur d'onde du faisceau utilisé donc après avoir choisi une espèce, une concentration, une longueur de solution traversée et une température bien précises.

Pour les concentrations « usuelles » ($10^{-5} < c < 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ environ), on montre expérimentalement (graphe de droite) que l'absorbance, pour une solution d'espèce absorbante donnée, à longueur d'onde fixe, à épaisseur de solution traversée fixe, à température fixe, est **proportionnelle à la concentration c en espèce absorbante de la solution**. On montre aussi que A est **proportionnelle à la longueur de cuve traversée l** .

$$A = \epsilon_{\text{esp}, \lambda} * l * c$$

(Loi de Beer-Lambert, 1852)

c en mol.L^{-1} , l souvent en cm A sans unité et $\epsilon_{\text{esp}, \lambda}$ ainsi en $\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

$\epsilon_{\text{esp}, \lambda}$ est appelée **coefficient d'absorption molaire de l'espèce « esp » à la longueur d'onde λ** (d'où les deux indices).

II Aspect pratique

1) Le spectrophotomètre

L'appareil qui permet de mesurer l'absorbance s'appelle un **spectrophotomètre**. La solution à étudier est placée dans une **cuve de spectrophotométrie** qui a en général une épaisseur de 1 cm. La longueur d'onde de la radiation avec laquelle on travaille doit être choisie avant la mesure.

La cuve est placée dans un compartiment que l'on referme lors de la mesure qui ne doit pas être perturbée par la lumière extérieure. Un faisceau incident monochromatique (c'est-à-dire **ne comportant qu'une seule longueur d'onde**) arrive sur la cuve et la traverse. C'est l'intensité du faisceau émergent qui est analysée.

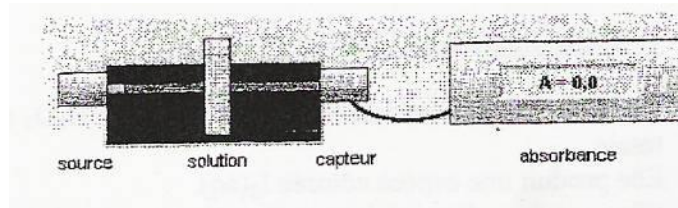


schéma d'un spectrophotomètre

Les parois de la cuve et les espèces en solution autres que l'espèce étudiée, absorbent aussi une partie du faisceau. Pour ne pas enregistrer cette absorbance, on doit au préalable de toute mesure « **faire le blanc** » ou « **faire le zéro d'absorbance** » : une cuve remplie de solution dépourvue de l'espèce étudiée seul est analysée ; l'absorbance correspondante doit d'abord être enregistrée pour ensuite être soustraite automatiquement aux mesures effectuées qui suivent.

2) Réalisation

Manipulation des cuves :

Il faut manipuler les cuves en les remplissant aux 2/3 et en les saisissant avec les doigts sur les parois (souvent striées ou opaques) qui ne sont pas traversées par le faisceau (le sens du faisceau est toujours indiqué sur les appareils, en tenir compte à chaque fois) ; ne surtout pas renverser leur contenu dans l'enceinte de mesure ; ne pas oublier de fermer l'enceinte lors d'une mesure ou du blanc (paroi coulissante pour le spectrophotomètre, cache en plastique pour le colorimètre).

- choisir et préciser la longueur d'onde à laquelle on travaille en l'enregistrant dans l'appareil pour le spectrophotomètre, choisir un seul type de cuve également.
- remplir d'abord une cuve avec la solution sans l'espèce étudiée et la placer dans le spectrophotomètre pour « faire le blanc »,
- remplir une autre cuve avec la solution à étudier et mesurer l'absorbance,
- **refaire « un blanc » entre chaque nouvelle mesure.**

3) Exemples d'utilisation

a) Caractérisation

Le tracé complet du graphique de l'absorbance d'une espèce en fonction de la longueur d'onde, $A = f(\lambda)$, permet de caractériser l'espèce (c'est le **spectre** de l'espèce). On travaille dans ce cas à concentration, température et largeur de cuve fixes.

b) Dosage

En utilisant la courbe d'étalonnage $A = f(c)$ ou directement le coefficient k , on peut déduire la concentration d'une solution connaissant son absorbance. Il s'agit **d'un dosage qui n'est pas un titrage**.

c) Cinétique

Le suivi temporel ($A = f(t)$) d'une transformation au cours de laquelle il y a apparition ou disparition d'une espèce E colorée et donc variation de sa concentration $[E]$, nous permet de remonter au graphe $[E] = f(t)$ puis à celui $x = f(t)$ en utilisant l'équation et le tableau d'avancement de la réaction associée.