

# 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 :  $400 \text{ nm} < \lambda < 800 \text{ nm}$ .

La couleur perçue d'une solution correspond à **la synthèse additive de toutes les couleurs transmises par la solution**. La solution a ainsi, généralement, la couleur **complémentaire** de celle des radiations absorbées. Deux couleurs complémentaires se font face sur la ronde des couleurs (à droite) :



spectre de la lumière blanche

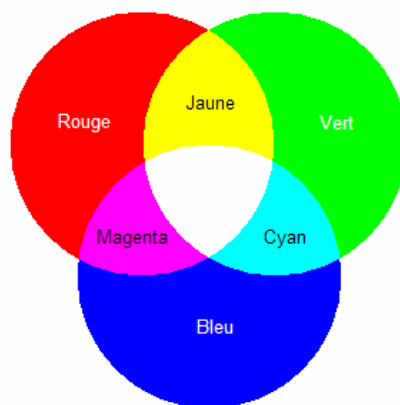


spectre de la lumière blanche

après traversée d'une solution

de diode (d'après Hatier) : une partie du vert et une partie du bleu a disparu

Ces deux couleurs ont été absorbées donc le rouge est principalement transmis : la solution de diode apparaît bien rouge-orangé



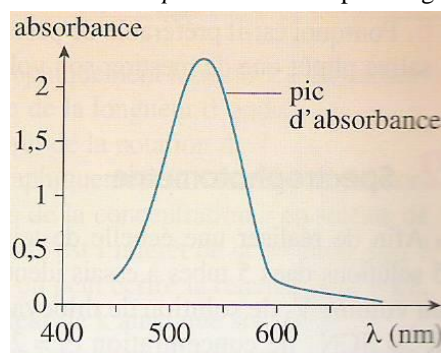
### 2) Absorbance

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

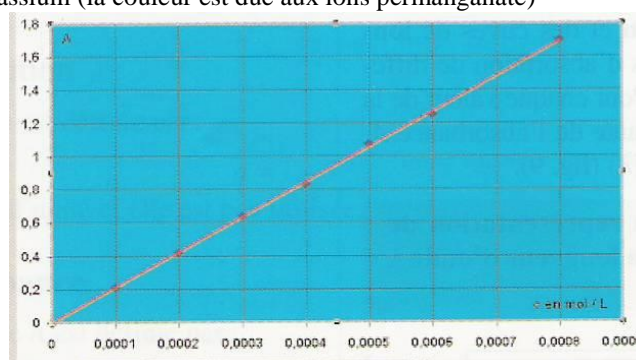
L'absorbance A dépend de :

- **l'espèce qui absorbe (sa nature donc il faut spécifier sa formule chimique)**
- **la concentration en solution 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)

La loi de Beer-Lambert indique que, pour les concentrations « usuelles » ( $10^{-5} < c < 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$  environ), l'absorbance, pour une solution d'espèce absorbante donnée, à longueur d'onde fixe, est **proportionnelle** à l'épaisseur de solution traversée et est **proportionnelle** à la concentration en espèce absorbante de la solution :

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

(Loi de Beer-Lambert, 1852)

c en  $\text{mol.L}^{-1}$ , 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  $\lambda$**  (d'où les deux indices).

*Remarque* : dans le cas de plusieurs espèces absorbantes, l'absorbance totale enregistrée est égale à la somme des absorbances individuelles.

## II Aspect pratique

### 1) Le spectrophotomètre / le colorimètre

L'appareil qui permet de mesurer l'absorbance s'appelle un spectrophotomètre. La solution à étudiée 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.

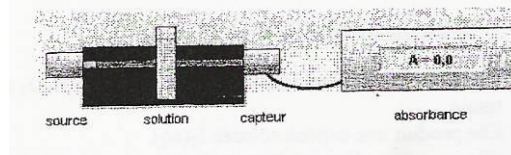


schéma d'un spectrophotomètre

Les parois de la cuve et le solvant (et autres espèces non étudiées) absorbent 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 du même mélange mais sans l'espèce à étudier est analysée ; l'absorbance correspondante doit d'abord être enregistrée pour ensuite être soustraite automatiquement aux mesures effectuées qui suivent.

### 2) Réalisation

**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,
- remplir d'abord une cuve avec le mélange sans l'espèce à analyser et la placer dans le spectrophotomètre pour « faire le blanc »,
- remplir une autre cuve avec la solution à étudier (donc avec l'espèce intéressante) 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 par étalonnage

En utilisant la courbe d'étalonnage  $A = f(c)$  tracée à partir de solutions étalons dont on a mesuré l'absorbance, ou directement le coefficient  $k$  (ou le coefficient d'absorption molaire et la largeur de cuve utilisée), on peut déduire la concentration en une espèce colorée d'une solution connaissant son absorbance. Il s'agit d'un dosage qui n'est pas un **titrage**.

#### c) Cinétique chimique

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.