

SPECTROMETRIE D'ABSORPTION DE L'ULTRAVIOLET ET DU VISIBLE

1. LE DOMAINE SPECTRAL UV-VIS ET L'ORIGINE DES ABSORPTIONS

Ce domaine spectral est divisé en trois plages de longueurs d'onde appelées *proche UV* (185-400 nm), *visible* (400-700 nm) et *très proche infrarouge* (700-1 100 nm). La plupart des spectromètres vont de 185 à 900 nm. La limite inférieure des appareils dépend à la fois de la nature des matériaux optiques utilisés et de la présence ou non sur le trajet optique de l'air ambiant, sachant que le dioxygène et la vapeur d'eau absorbent de manière intense en dessous de 190 nm. Quelques instruments, à condition d'opérer sous vide, peuvent atteindre 150 nm avec des échantillons pris à l'état gazeux. C'est le domaine de l'*ultraviolet du vide*.

L'absorption lumineuse a pour origine l'interaction des photons de la source lumineuse avec les ions ou molécules de l'échantillon. Ainsi lorsqu'une molécule isolée absorbe un photon de l'UV/Visible, l'énergie correspondante est captée par un ou plusieurs de ses électrons superficiels.

$$\Delta E_{\text{tot.}} = \Delta E_{\text{rot.}} + \Delta E_{\text{vib.}} + \Delta E_{\text{élec.}} \quad (1)$$

(avec $\Delta E_{\text{élec.}} > \Delta E_{\text{vib.}} > \Delta E_{\text{rot.}}$)

E_{tot} : l'énergie mécanique totale de la molécule.

$E_{\text{élec}}$: énergie électronique

E_{rot} : l'énergie de rotation

E_{vib} : l'énergie de vibration.

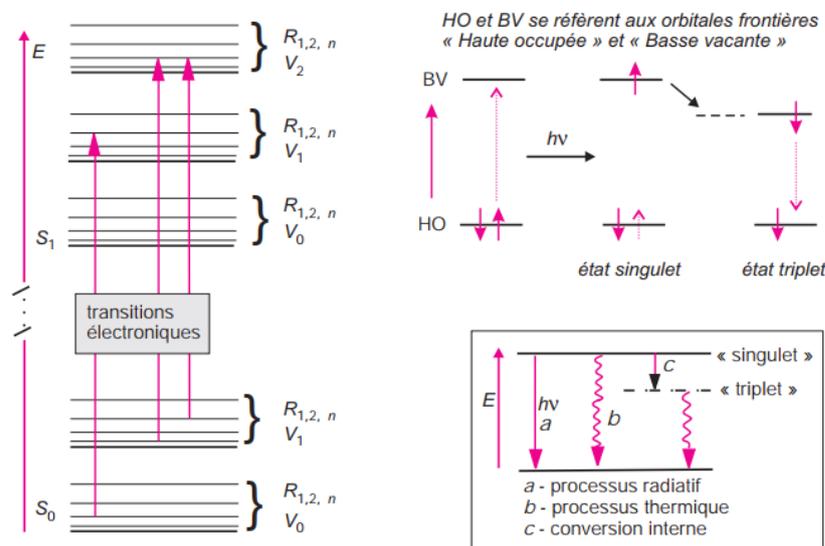


Figure .1 Quantification de l'énergie d'une molécule.

2. LE SPECTRE UV-VIS

Les spectromètres UV/Visible permettent d'obtenir le spectre des composés examinés sous la forme d'un tracé de la transmittance, ou de l'absorbance, en fonction des longueurs d'onde repérées en abscisses, ici en nanomètres (fig.2).

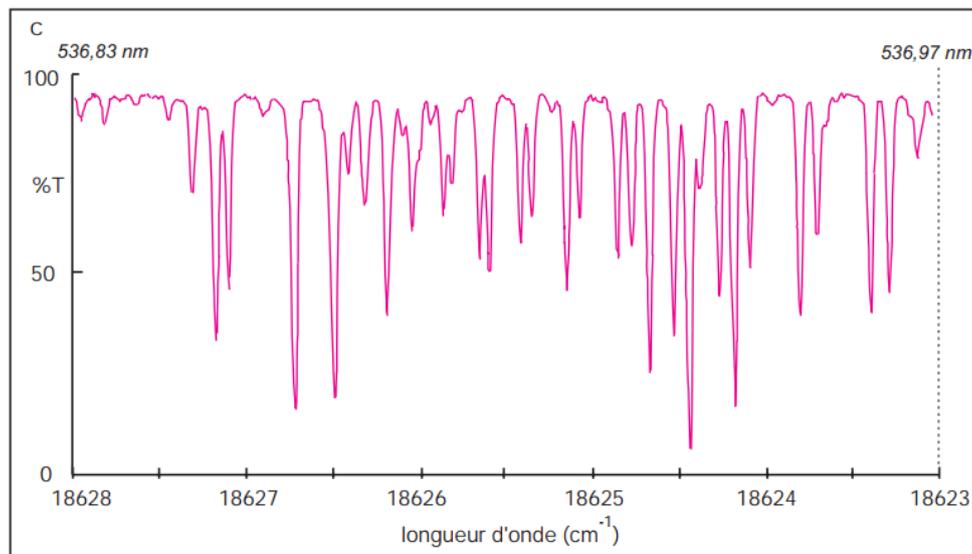
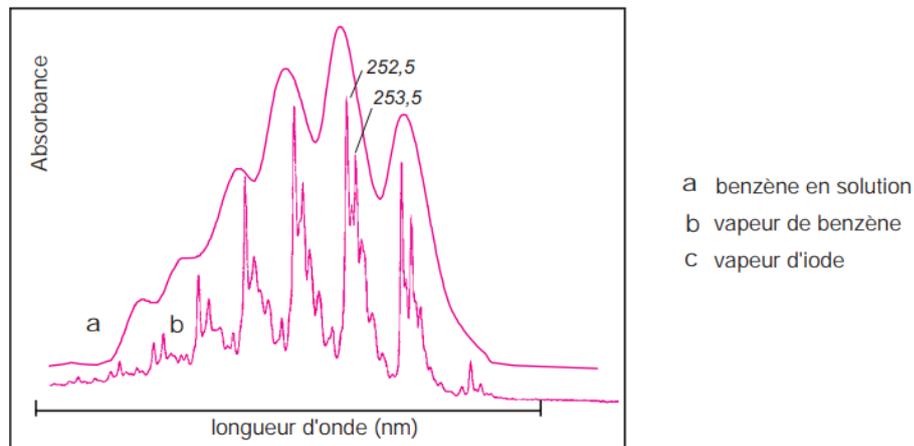


Figure .2 Trois aspects différents des spectres rencontrés dans l'UV/Visible.

La *transmittance* T est exprimée par un nombre fractionnaire ou sous forme de pourcentage :

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \text{ou} \quad \%T = \frac{I}{I_0} \times 100 \quad (.2)$$

T : la *transmittance* T

I : l'intensité lumineuse transmise

I_0 : l'intensité incidente.

L'*absorbance* est la grandeur définie par : $A = -\log T$

3 TRANSITIONS ÉLECTRONIQUES DES COMPOSÉS ORGANIQUES

3.1 Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$

Elle apparaît dans le lointain UV car le saut d'un électron d'une OM liante σ dans une OM antiliante σ^* demande beaucoup d'énergie.

Exemple : *hexane (à l'état gazeux)* : $\lambda_{\max} = 135 \text{ nm}$ ($\epsilon = 10\,000$).

3.2 Transition $n \rightarrow \sigma^*$

Le saut d'un électron d'un doublet n des atomes O, N, S, Cl.. dans une OM σ^* conduit à une transition d'intensité moyenne qui se situe vers 180 nm pour les alcools, vers 190 nm pour les éthers ou les dérivés halogénés et vers 220 nm pour les amines (fig.3).

3.3 Transition $n \rightarrow \pi^*$

Cette transition peu intense résulte du passage d'un électron d'une OM non liante de type n à une OM antiliante π^* .

Exemple : *éthanal* : $\lambda = 293 \text{ nm}$ ($\epsilon = 12$, dans l'éthanol comme solvant).

3.4 Transition $\pi \rightarrow \pi^*$

Les composés qui possèdent une double liaison éthylénique isolée conduisent à une forte bande d'absorption vers 170 nm, dont la position dépend de la présence de substituants hétéroatomiques.

Exemple : *éthylène* : $\lambda_{\max} = 165 \text{ nm}$ ($\epsilon = 16\,000$).

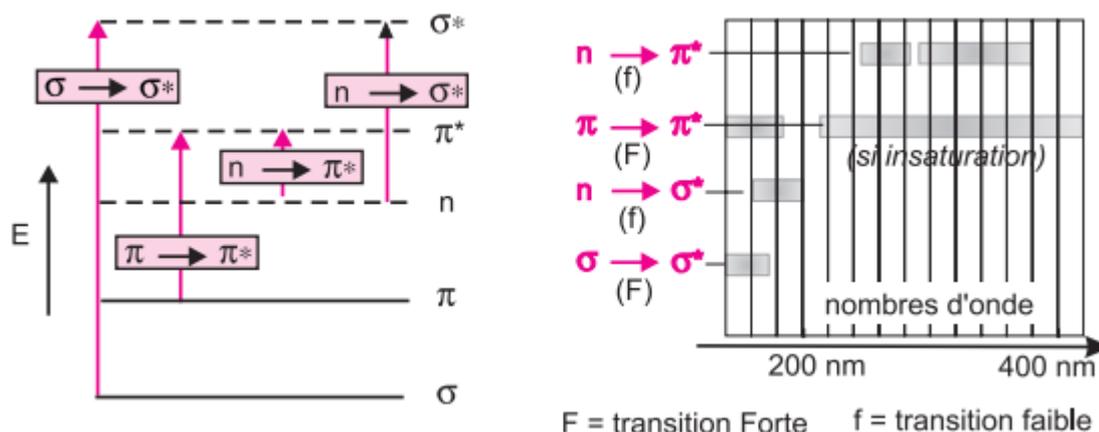


Figure .4 Comparatif des transitions les plus souvent rencontrées dans les composés organiques simples.

Transition $d \rightarrow d$. De nombreux sels inorganiques, comportant des électrons engagés dans des orbitales moléculaires d , conduisent à des transitions de faible absorptivité situées dans le domaine visible, responsables de colorations.

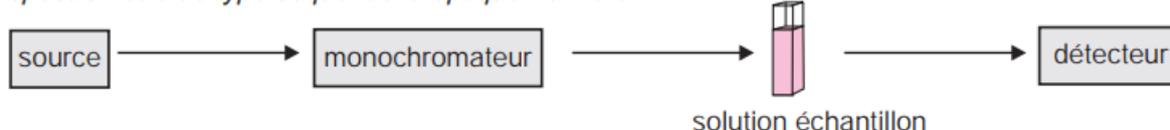
4 GROUPEMENTS CHROMOPHORES

Les groupes fonctionnels des composés organiques (cétones, amines, dérivés nitrés, etc.) responsables de l'absorption en UV/VIS sont appelés *groupements chromophores* (tab. 9.1). Une espèce formée d'un squelette carboné transparent dans le proche UV et porteur d'un ou de plusieurs chromophores constitue un chromogène.

7 INSTRUMENTATION DANS L'UV/VISIBLE

Un spectrophotomètre est conçu autour de trois modules : ceux de la *source* et du *système dispersif* (souvent conçu comme un monochromateur), qui constituent la partie optique et celui qui est responsable de la détection (fig.10). L'ensemble est réuni dans un bâti unique. Un compartiment échantillon est inséré sur le trajet optique après ou avant le système dispersif selon la conception du montage.

spectromètre de type séquentiel à optique normale



spectromètre de type simultané à optique inverse

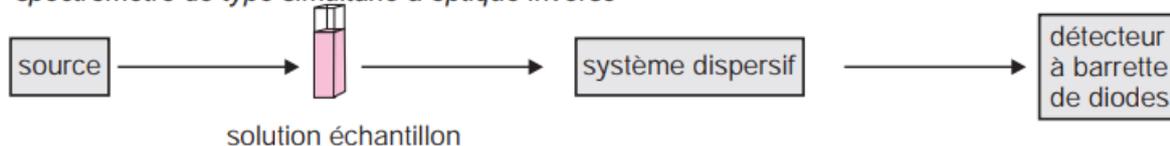


Figure10 Instrumentation dans l'UV/Visible.

7.1 Sources lumineuses

On ne connaît pas de source lumineuse continue pouvant couvrir efficacement la totalité de la gamme spectrale concernée. C'est la raison pour laquelle beaucoup de spectromètres comportent deux lampes à usage de sources, l'une pour la partie du proche UV et l'autre pour la partie s'étendant vers le visible (fig.11). On trouve généralement réunies :

- ▶ Une *lampe à arc au deutérium* sous moyenne pression pour la partie UV (< 350 nm).
- ▶ Une *lampe à incandescence* avec un filament de tungstène et une enveloppe de verre de silice (quartz) pour la partie visible du spectre et au-delà (à partir de 350 nm). Elle contient une petite quantité d'iode, pour augmenter sa durée (lampe QTH). Cette source est maintenant souvent remplacée par une *lampe à arc xénon*, plus énergétique et qui de ce fait est choisie comme source unique par les constructeurs lorsqu'il s'agit d'un appareil de routine allant de 300 à 1 100 nm

7.2 Systèmes dispersifs

- ▶ *Appareils séquentiels*. Les radiations émises par la source sont dispersées par un réseau plan ou concave qui fait partie d'un montage appelé monochromateur. Ce dispositif permet d'extraire de la lumière émise par la source, un domaine étroit de son spectre d'émission.

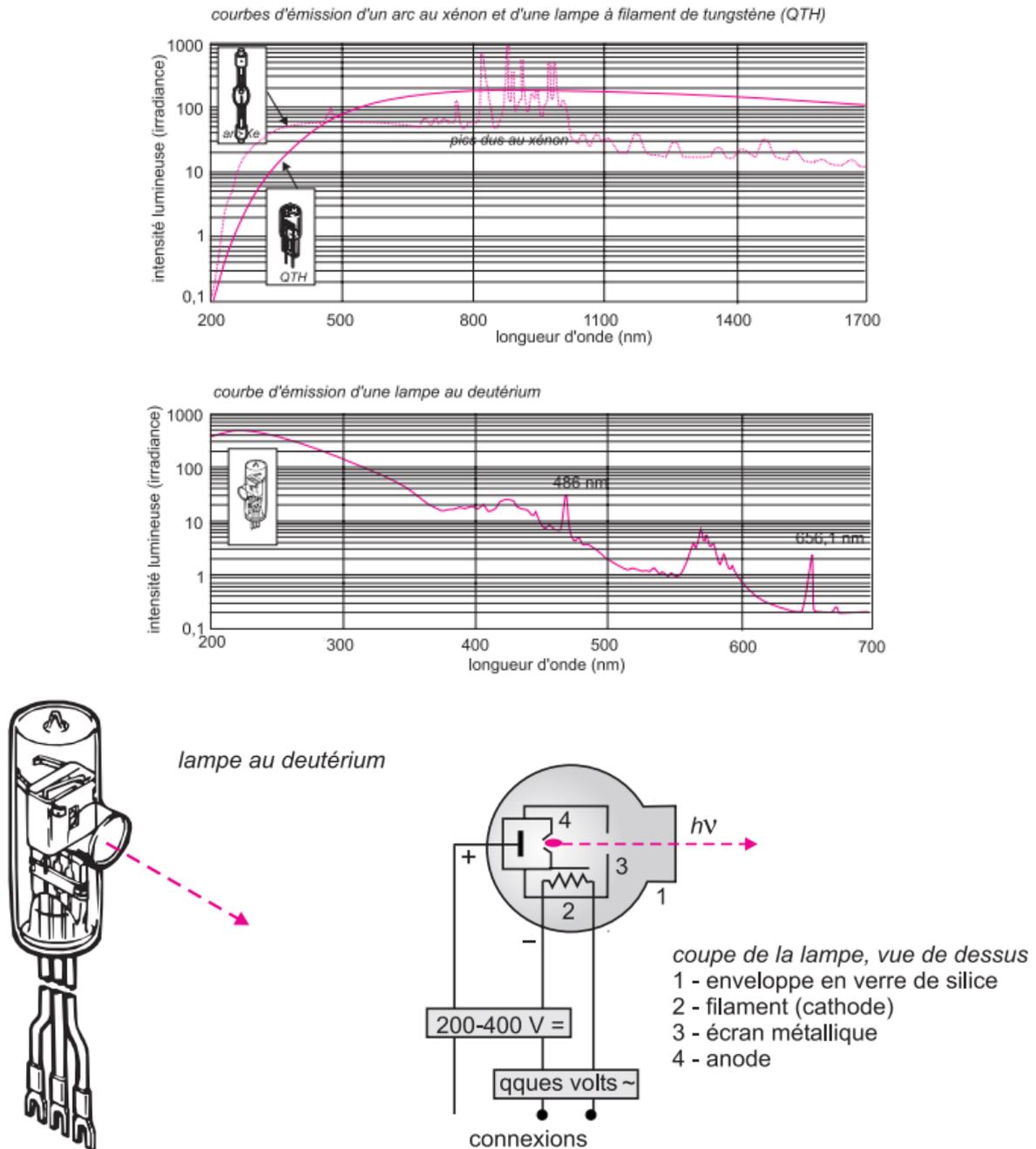


Figure.11 Spectres d'émission de différents types de sources dans l'UV-Visible.

► *Appareils simultanés.* Cette catégorie d'appareils comporte simplement un réseau situé après le compartiment échantillon pour diffracter les radiations transmises. Ils fonctionnent suivant le principe des spectrographes (fig.10).

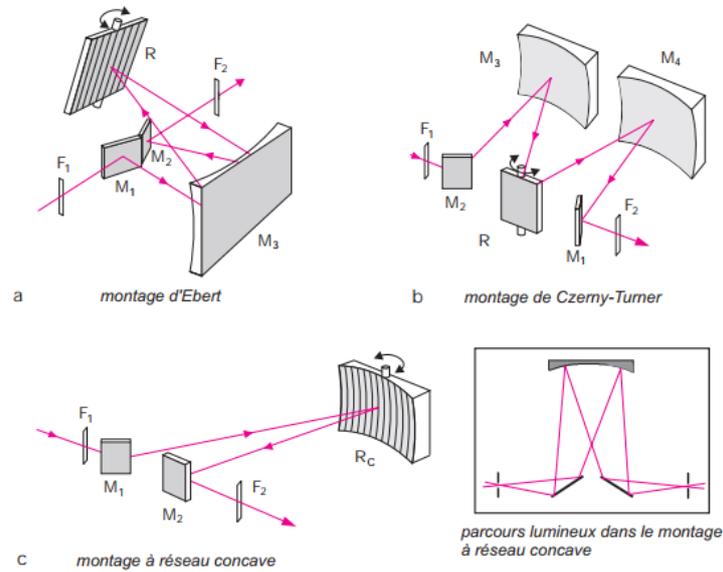


Figure .12 Monochromateurs à réseau.

7.3 Détecteurs

Le détecteur convertit en un signal électrique l'intensité de la radiation lumineuse qui l'atteint. Sa sensibilité dépend de la longueur d'onde. On utilise soit un tube photomultiplicateur soit un semi-conducteur (détecteur à transfert de charge ou photodiode au silicium).

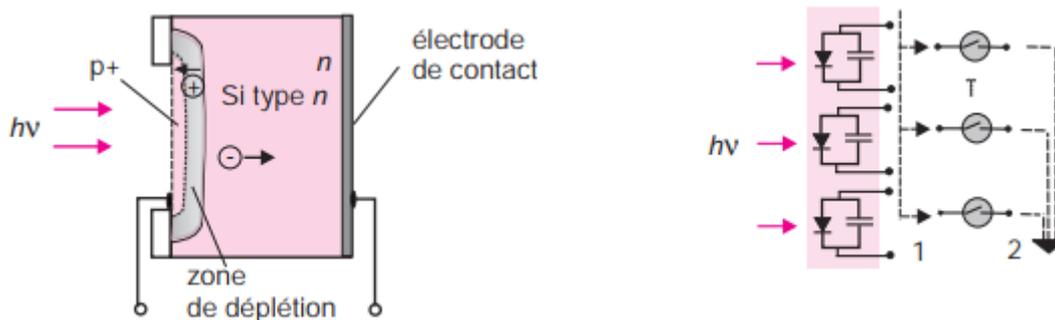


Figure .13 Photodiode au silicium et barrette de diodes (détecteurs CCD - charged coupled device).

8. LES DIFFÉRENTES CONFIGURATIONS DES SPECTROMÈTRES UV/VIS

8.1. Spectromètres à optique monofaisceau, de type monocanal

Beaucoup de dosages de routine sont effectués à longueur d'onde fixe avec des photomètres simples munis de filtres interférentiels interchangeables ou de monochromateurs simples. La mesure de transmittance (ou d'absorbance) exige de comparer à la même longueur d'onde le signal de la source avant et après traversée de la solution échantillon.

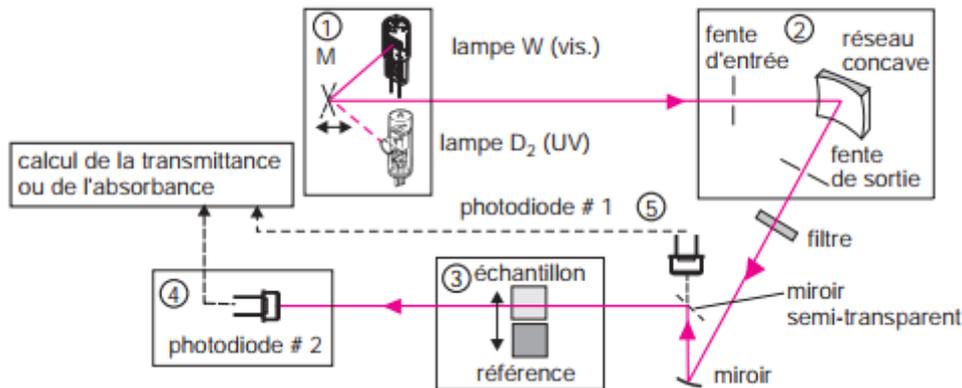


Figure 14 Schéma optique simplifié d'un spectrophotomètre simple faisceau de mode séquentiel.

8.2 Appareils à optique inversée, de type multicanaux

Ce type d'appareil est apparenté aux spectrographes dans la mesure où il permet l'observation instantanée de toute l'étendue du spectre par emploi d'un détecteur composé d'un alignement de photodiodes miniaturisées, dont le nombre peut atteindre 2 000 (fig.15).

8.3 Spectromètres à optique double faisceau (type séquentiel)

Les meilleurs spectrophotomètres dans ce domaine restent encore les appareils à deux faisceaux dont l'un traverse l'échantillon et l'autre sert de parcours de référence. Deux miroirs tournants en forme de secteurs, synchronisés avec le mouvement *pas à pas* du réseau, permettent au détecteur de comparer exactement pour la même longueur d'onde les intensités transmises par l'une ou l'autre des deux voies (fig.16).

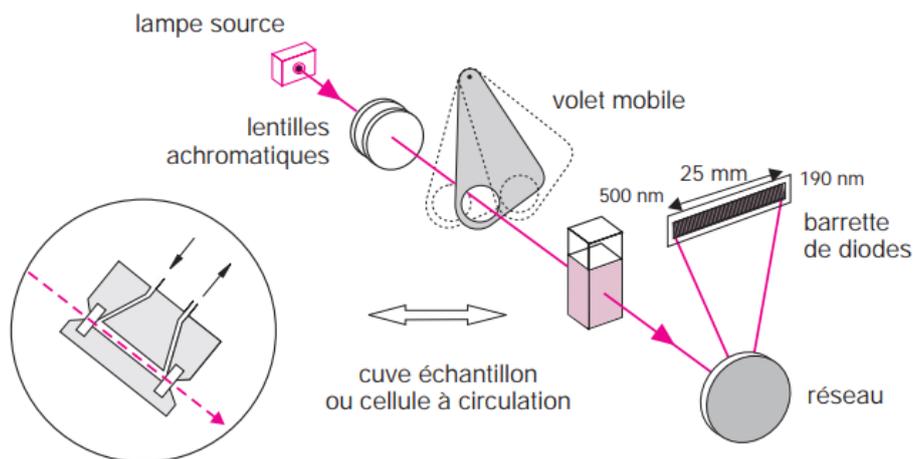


Figure .15 Schéma optique d'un spectrophotomètre simple faisceau illustrant le mode simultané (spectromètre à barrette de diodes).

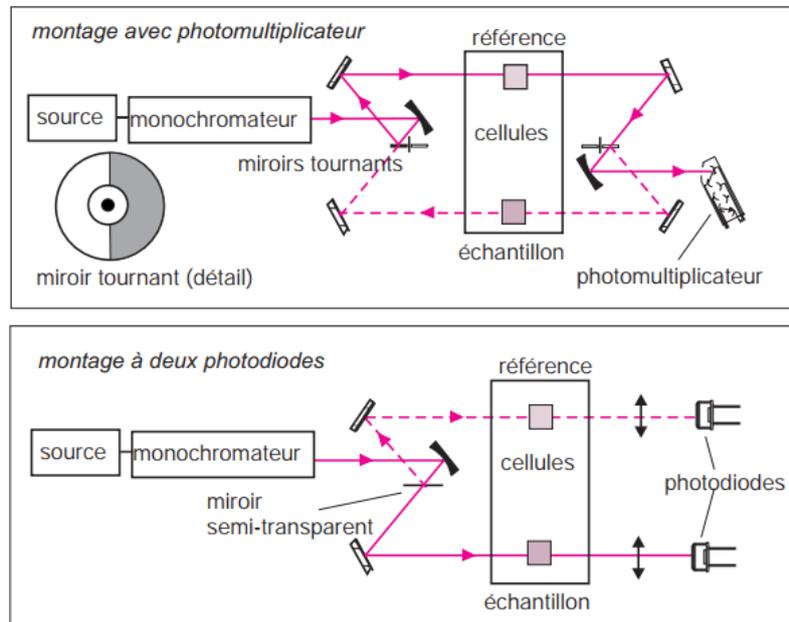


Figure .16 Parcours optique de deux appareils à double faisceau, entre la sortie du monochromateur et le détecteur

9 ANALYSE QUANTITATIVE : LOIS DE L'ABSORPTION MOLÉCULAIRE

9.1 Loi de Beer et Lambert

L'UV/Visible est largement exploité en analyse quantitative, depuis fort longtemps dans le domaine du visible. Les mesures reposent sur la loi de Beer et Lambert qui relie dans certaines conditions, l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution.

$$A = \varepsilon_{\lambda} \ell c \quad (4)$$

A : l'absorbance

l : est l'épaisseur (en cm) de la solution traversée,

c : concentration molaire

ε_{λ} le coefficient d'absorption molaire (L·mol⁻¹·cm⁻¹)

λ : la longueur d'onde à laquelle on fait la mesure.

$$-\frac{dI}{dx} = k I_X \quad (5)$$

k : le coefficient d'absorption.

$$[\text{Ln } I_x]_{I_0}^I = -k [x]_0^{\ell} \quad (6)$$

soit
$$\text{Ln } \frac{I}{I_0} = -k \cdot \ell \quad (7)$$

ou encore :
$$I = I_0 e^{-k\ell} \quad (8)$$

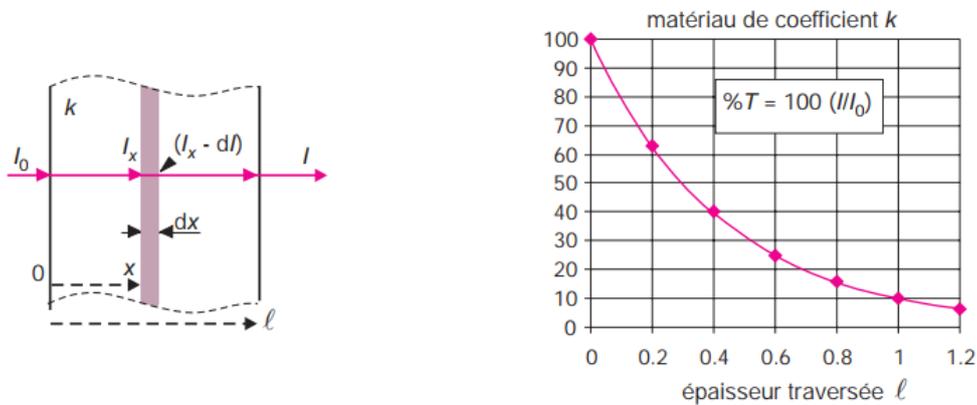


Figure 18 Absorption de la lumière par un matériau homogène, et représentation du % de transmittance en fonction de l'épaisseur traversée.

$$k = k' \cdot c \quad (9)$$

$$A = \log \frac{I_0}{I} \quad \text{ou} \quad A = \log \frac{1}{T} \quad \text{ou} \quad A = \log \frac{100}{T\%} \quad \text{ou} \quad A = 2 - \log T\% \quad (10)$$

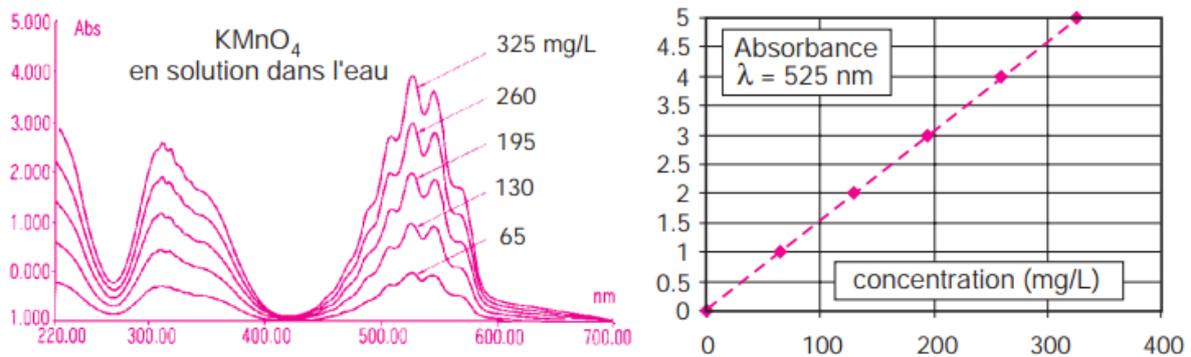
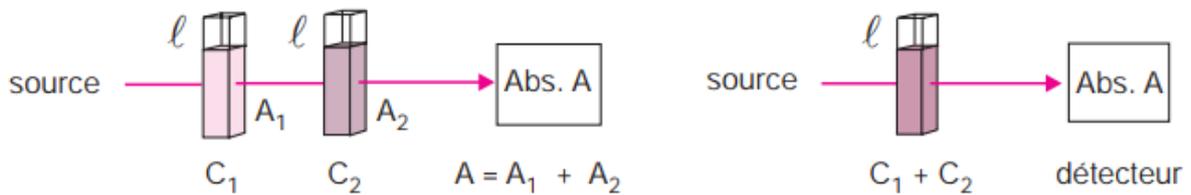


Figure 19 Illustration de la loi de Beer et Lambert.

Cette loi, qui ne concerne que la fraction de la lumière absorbée, est vérifiée dans les conditions suivantes :

- la lumière utilisée doit être monochromatique ;
- les concentrations doivent être faibles ;
- la solution ne doit être ni fluorescente ni hétérogène ;
- le soluté ne doit pas donner lieu à des transformations photochimiques ;
- le soluté ne doit pas donner des associations variables avec le solvant.

9.2 Additivité des absorbances



$$A = A_1 + A_2 = \ell(\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2) \quad (11)$$

$$A_I = \varepsilon_A \ell c_A + \varepsilon_B \ell c_B = \varepsilon \ell (c_A + c_B) \quad (12)$$

Tous les spectres des mélanges A + B formés au cours du temps passeront donc par le point **I**, appelé point isobestique, où l'absorbance A conservera la même valeur.

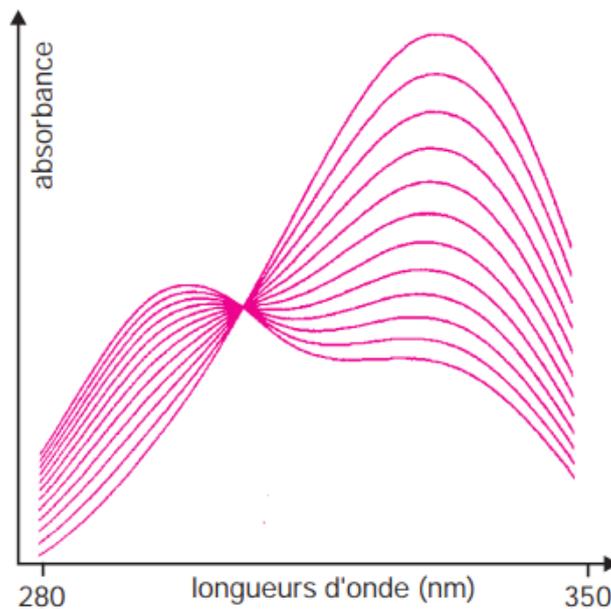


Figure .21 Point isobestique.

10 MÉTHODES UTILISÉES EN ANALYSE QUANTITATIVE

Les deux situations qui se présentent le plus souvent sont les suivantes :

► *Le composé à doser est présent dans une matrice dont certains constituants absorbent dans le même domaine spectral* : la mesure directe de l'absorbance due au seul composé est donc impossible (fig.22a). Pour contourner cette difficulté, on transforme de façon spécifique le composé par une réaction totale en un dérivé dont la courbe d'absorption se situe dans une région libre de toute interférence avec la matrice (fig.22, courbe b).

► Le composé à doser n'a pas de chromophore exploitable à l'état brut : on fait apparaître, ici encore, un chromophore de remplacement en dérivant l'espèce initiale suivant le même principe (fig.22, courbes c et d).

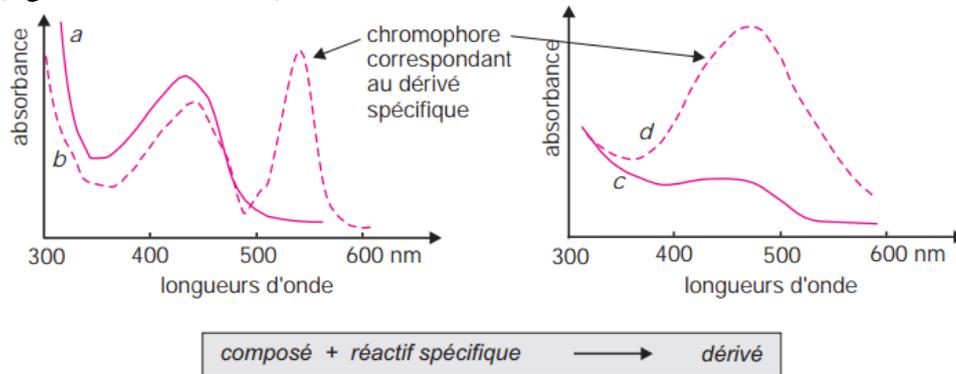


Figure .22 Illustration de deux situations fréquemment rencontrées.

11 ANALYSE D'UN SEUL ANALYTE ET CONTRÔLE DE PURETÉ

On applique alors la formule suivante pour calculer c_X :

$$c_X = c_R \frac{A_X}{A_R} \quad (13)$$

c_X : la concentration de la solution inconnue.

c_R : la concentration de la solution connue.

A_R : absorbance de la solution connue

A_X : absorbance de la solution inconnue

La courbe d'étalonnage $A = f(c)$

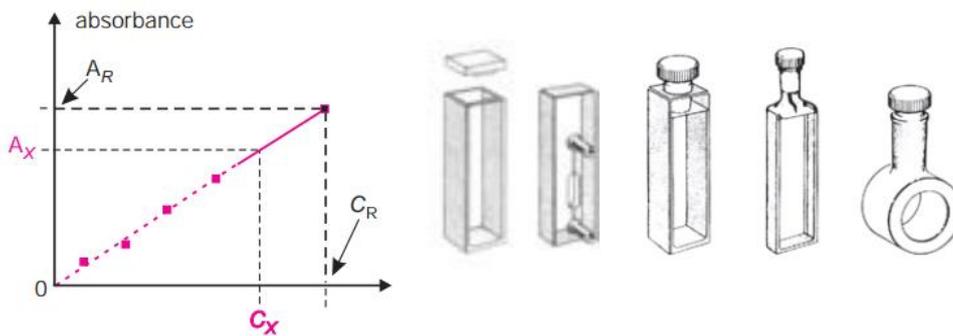


Figure .23 Courbe d'étalonnage et cuves classiques en verre optique ou en verre de silice.

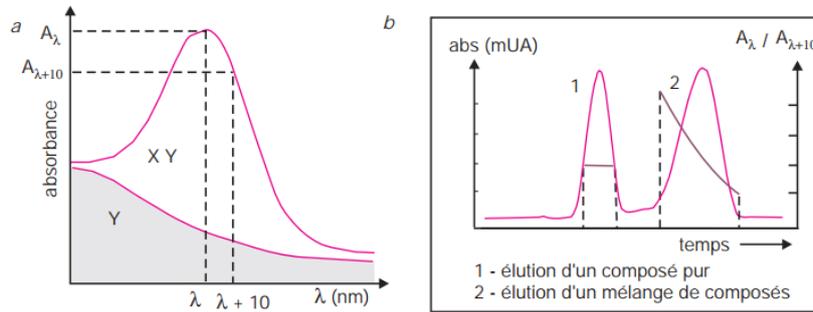


Figure .24 Analyse de confirmation.

12 ANALYSE MULTICOMPOSANTS (MCA)

12.1 Méthode algébrique de base

Soit un mélange de trois composés a, b, c en solution (conc. c_a , c_b , c_c). On mesure les absorbances de cette solution à trois longueurs d'onde λ_1 , λ_2 et λ_3 , soit A_1 , A_2 et A_3 .

$$\begin{aligned} \text{à } \lambda_1 & \quad A_1 = \varepsilon_a^1 c_a + \varepsilon_b^1 c_b + \varepsilon_c^1 c_c \\ \text{à } \lambda_2 & \quad A_2 = \varepsilon_a^2 c_a + \varepsilon_b^2 c_b + \varepsilon_c^2 c_c \\ \text{à } \lambda_3 & \quad A_3 = \varepsilon_a^3 c_a + \varepsilon_b^3 c_b + \varepsilon_c^3 c_c \end{aligned}$$

$$\begin{bmatrix} c_1 \\ c_2 \\ c_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A_1 \\ A_2 \\ A_3 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \varepsilon_a^1 & \varepsilon_b^1 & \varepsilon_c^1 \\ \varepsilon_a^2 & \varepsilon_b^2 & \varepsilon_c^2 \\ \varepsilon_a^3 & \varepsilon_b^3 & \varepsilon_c^3 \end{bmatrix}^{-1} \quad (14)$$

9.12.2 Régression linéaire multilongueurs d'onde (méthode MLRA)

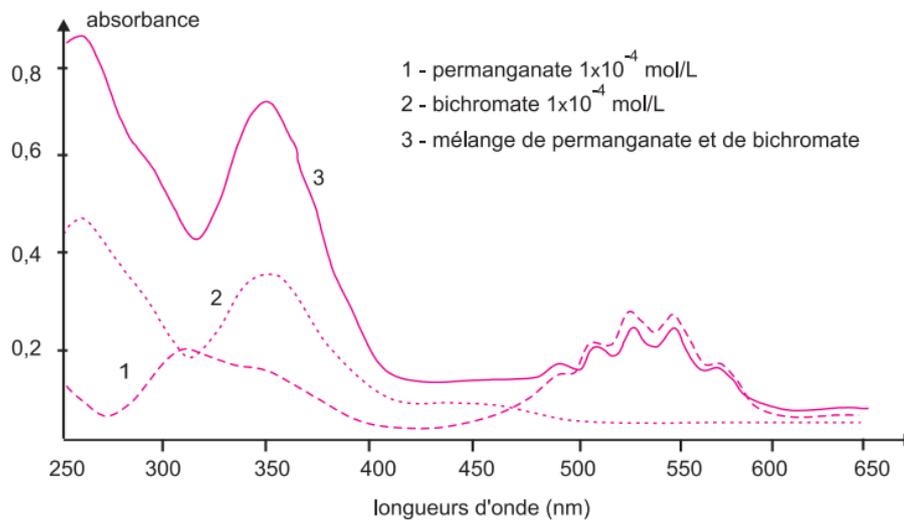


Figure .25 Analyse multicomposants.

$$A = \varepsilon_a \ell c_a + \varepsilon_b \ell c_b \quad (9.15)$$

Pour chacun des deux spectres de référence, on a, en supposant que l'épaisseur des cellules de mesure est $\ell = 1 \text{ cm}$:

– pour le composé a $A_{\text{réf.a}} = \varepsilon_a \cdot c_{\text{réf.a}}$ (9.16)

– pour le composé b $A_{\text{réf.b}} = \varepsilon_b \cdot c_{\text{réf.b}}$ (9.17)

Ces deux expressions permettent de calculer les coefficients d'absorption ε de chaque constituant pur, à chaque longueur d'onde considérée. On peut donc ré-écrire 9.15 sous la forme :

$$A = \frac{A_{\text{réf.a}}}{c_{\text{réf.a}}} c_a + \frac{A_{\text{réf.b}}}{c_{\text{réf.b}}} c_b \quad (9.18)$$

En divisant le premier membre par $A_{\text{réf.a}}$, on aura pour chaque longueur d'onde :

$$\left(\frac{A}{A_{\text{réf.a}}} \right) = \frac{c_a}{c_{\text{réf.a}}} + \frac{c_b}{c_{\text{réf.b}}} \cdot \left(\frac{A_{\text{réf.b}}}{A_{\text{réf.a}}} \right) \quad (9.19)$$

12.3 Déconvolution

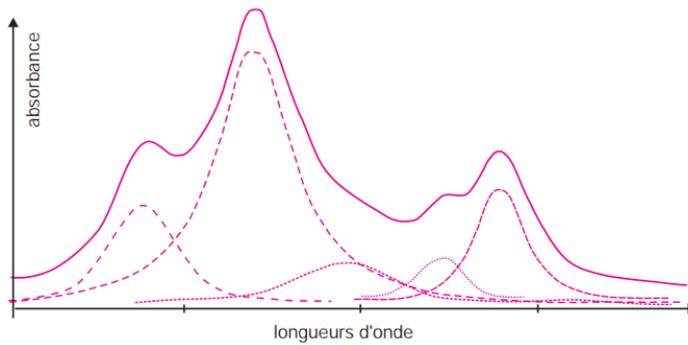


Figure .26 Déconvolution de courbe spectrale.

13 MÉTHODES DE CORRECTION DE LIGNE DE BASE

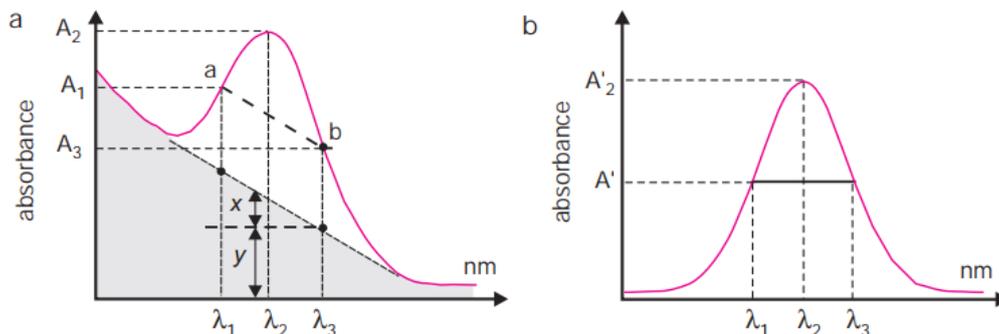


Figure .27 Illustration se rapportant aux calculs de la méthode de Morton et Stubbs.