
Partie II : Spectroscopie d'absorption dans l'UV-Visible

1. Introduction

La spectroscopie ultraviolet-visible est un procédé de dosage qu'une méthode de détermination de structures. Non destructive et rapide, cette spectroscopie est largement répandue en travaux pratique de chimie ainsi qu'en analyse chimique ou biochimique. Par exemple le dosage des ions nitrate dans les eaux de piscine ou la détermination de la pureté de l'ADN et de certaines protéines après leur extraction. Cette technique peut être également utilisée pour le contrôle de qualité ou le suivi de la cinétique d'une réaction, la détermination des constantes de dissociation des acides ou des constantes de complexation, la détermination des masses molaires, etc.

La région ultraviolette (UV) du spectre électromagnétique s'étend de 190 à 400 nm, alors que la région visible (la lumière) s'étend de 400 à 750 nm, voire 800 nm.

2. Absorption des photons dans l'UV-visible

L'absorption par une molécule d'un photon UV-visible de fréquence ν lui fait gagner une énergie $E = h \nu$ (h la constante de Planck = $6,63 \cdot 10^{-34}$ J.s), de telle sorte qu'elle va modifier l'énergie électronique de la molécule.

Un électron des couches externes des atomes formant cette molécule passera de niveau d'énergie électronique E_0 (état fondamental) à un niveau électronique E_1 (état excité).

3. Niveaux d'énergie des atomes et des molécules

Les atomes et les molécules peuvent emmagasiner de l'énergie et la restituer ensuite au milieu extérieur.

Lorsqu'une molécule n'a emmagasiné aucune quantité d'énergie, on dit qu'elle est à l'état fondamental, dans le cas contraire elle est à l'état excité (figure 4).

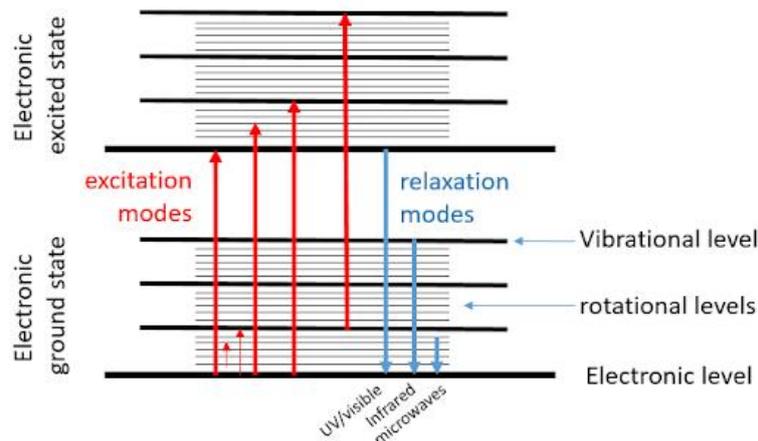


Figure 4: Diagramme énergétique des molécules.

Les molécules sont composées d'atomes qui sont constamment animés de mouvement de vibration au tour de la position d'équilibre. La molécule possède suite à ces mouvements des énergies de vibration E_v et de rotation E_r . Les électrons possèdent, d'une part une énergie électronique E_e qui dépend de l'orbital qu'ils occupent. Toutes ces énergies sont quantifiées.

Les niveaux d'énergie électroniques d'une molécule contiennent plusieurs sous-niveaux d'énergie vibrationnelle ($V_0, V_1, V_2, V_3, \dots$), eux-mêmes divisés en nombreux niveaux d'énergie rotationnelle ($R_0, R_1, R_2, R_3, \dots$).

Le diagramme énergétique d'une molécule est donc plus complexe que celui d'un atome (figure 5).

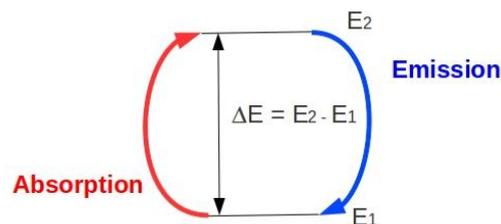


Figure 5: Schéma de l'absorption et de l'émission pour un atome.

Une molécule possède par ailleurs une énergie de translation E_t , mais celle-ci n'est pas quantifiée.

Ainsi, l'énergie totale d'une molécule peut se mettre sous la forme de la somme suivante :

$$E_T = E_e + E_v + E_r + E_t$$

4. Spectres d'absorption moléculaire

Un spectre UV-visible est un graphe représentant l'absorbance de la solution (A) en fonction des longueurs d'onde λ . La longueur d'onde la plus élevée de la bande (λ_{\max}) correspond au passage du sous niveau de plus haute énergie de l'état électronique fondamentale vers le sous niveau électronique de plus faible énergie de l'état excité.

Le spectre d'absorption d'une molécule est un spectre de bandes, tandis que celui d'un atome est un spectre de raie (figure 6).

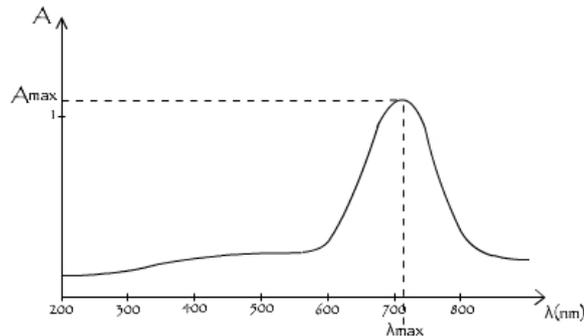


Figure 6: Spectre UV-visible d'une molécule.

Remarque

La longueur d'onde maximale peut être déplacée par la présence de groupements voisins (effets hypso et bathochrome) ou modulée (effets hypo et hyperchrome) (figure 7).

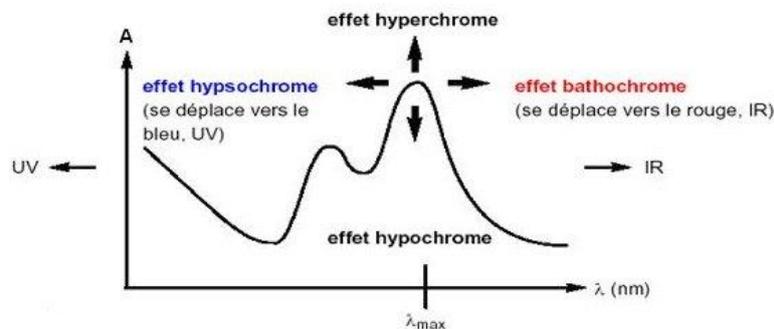


Figure 7 : Déplacement des longueurs d'onde maximales.

5. Transitions électroniques des molécules

- Les électrons engagés dans une liaison peuvent occuper les orbitales σ ou π (orbitales liantes).
- Les électrons des doublets libres (non engagés dans les liaisons) occupent les orbitales n (orbitales non liantes).
- Les états excités correspondent aux orbitales σ^* ou π^* (orbitales anti-liantes) (figure 8).

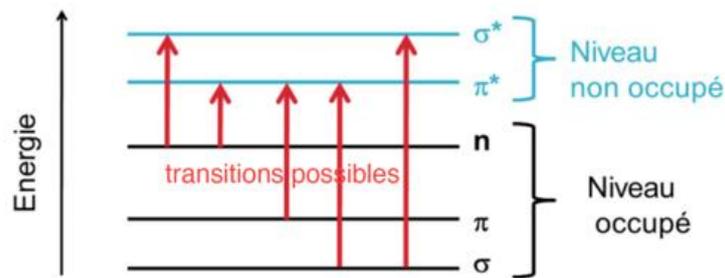


Figure 8: Probabilités de transitions électroniques.

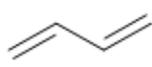
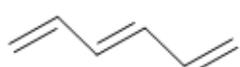
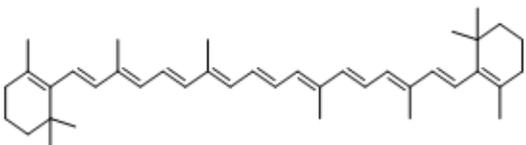
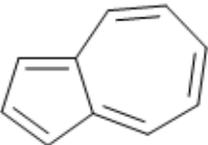
6. Chromophores

Pour qu'une molécule absorbe dans l'UV, elle doit être un chromophore. On appelle chromophore un groupe d'atomes présentant une absorption dans l'UV ou le visible : liaison C-H, C = C, fonction alcool, cétone, cycle benzénique, etc.

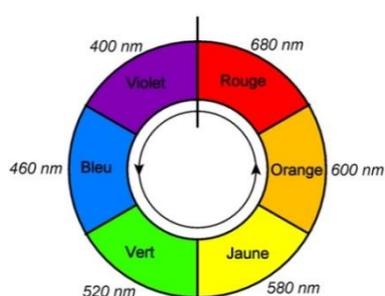
L'analyse de spectre de nombreuses molécules différentes a montré qu'un même chromophore, absorbe avec la même intensité, à la même longueur d'onde, à condition qu'il n'y ait pas d'influence intra ou inter moléculaire.

Les spectres UV-visible peuvent nous renseigner sur l'étendue de la conjugaison au sein de la molécule c'est-à-dire plus il y a des liaisons conjuguées, plus la longueur d'onde λ_{\max} est grande (tableau II).

Tableau II : Valeurs λ_{max} de quelques systèmes conjugués.

QUELQUES VALEURS DE λ_{MAX} POUR L'ETHENE ET DES SYSTEMES PI CONJUGUES		
Structure moléculaire	Nom	λ_{max}
	Ethène	171nm
	Buta-1,3-diène	220nm
	Hexa-1,3,5-triène	257nm
	β -carotène	Orangé 455nm et 485nm
	Azulène	Bleu foncé 696nm

Si λ_{max} devient suffisamment grande pour qu'elle se situe dans le domaine du visible, la molécule apparaît colorée de la couleur complémentaire à celle absorbée (figure 9).

**Figure 9** : Roue chromatique.

Une solution de β -carotène (comporte un large domaine de délocalisation électronique) absorbe dans le bleu, elle ne laisse passer que les radiations peu absorbées et apparaît alors de sa couleur complémentaire, l'orange (figure 10).

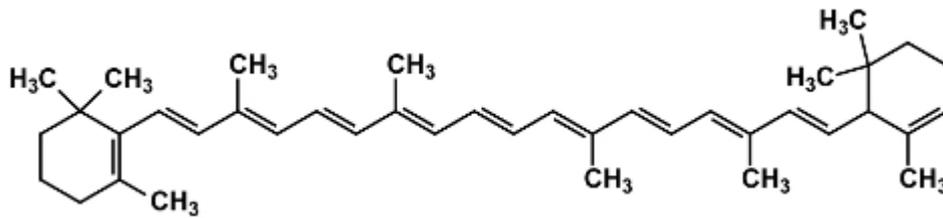


Figure 10: Représentation du β -carotène.

7. Étude quantitative de l'absorption moléculaire

7.1. Mise en évidence de l'absorption moléculaire

Quand un rayonnement traverse une solution d'une substance S placée dans une cuve (figure 11), trois cas se présentent :

- le premier cas : $I = 0$ la solution est opaque
- le deuxième cas : $I = I_0$ la solution est complètement transparente
- le deuxième cas : $I < I_0$, due aux causes suivantes :
 - les photons du rayonnement incident ont pu être absorbés par le substrat de la solution ;
 - d'autres particules ont pu diffuser le rayonnement dans toutes les directions ;
 - la cuve a pu réfléchir le rayonnement.

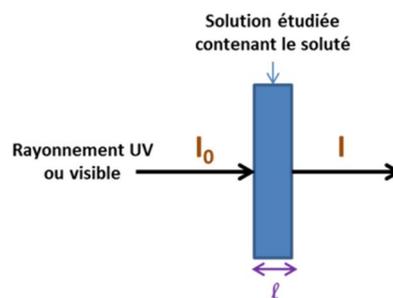


Figure 11 : Absorption d'un rayonnement UV-visible par une solution.

7.2. Loi de Beer-Lambert

Le terme absorbance veut dire aussi extinction ou bien densité optique. Elle mesure la capacité d'un milieu à absorber le rayonnement qui le traverse.

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

Tel que :

I_0 est l'intensité du rayonnement incident et I est celle du rayonnement transmis.

La transmittance est définie par :

$$T = \frac{I}{I_0}$$

A est relié à T dans la formule suivante :

$$A_{\lambda} = -\log_{10} \frac{I}{I_0} = -\log_{10} T$$

Notons que l'absorbance et la transmittance sont des grandeurs sans unité.

Considérons un rayonnement monochromatique de flux I_0 traversant une longueur l d'une solution d'une substance S dans un solvant non absorbant à cette longueur et de concentration molaire volumique qui est égale à C .

Le flux absorbé (I_{abs}) dépend :

- du flux incident I_0
- de la concentration du soluté dans la solution C
- et de l'épaisseur de la cuve l (le chemin optique)

A petite échelle I_{abs} dépend également de dl , de la concentration et de I_0 .

Ainsi, $dI = K \cdot dl \cdot C \cdot I$

Après intégration, nous allons trouver :

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

Tel que ϵ est le coefficient d'extinction molaire.

L'absorbance d'une solution d'une substance dans un solvant non absorbant est proportionnelle à la concentration de ce substrat et à l'épaisseur l qui est le trajet optique.

7.3. Coefficient d'absorbance molaire

Le coefficient d'extinction molaire s'exprime en $L \cdot cm^{-1} \cdot mol^{-1}$. Parfois dans certaines solutions, la concentration molaire n'est pas connue, on ne connaît que la concentration massique (en g/L). ϵ est alors exprimé en $L \cdot cm^{-1} \cdot g^{-1}$ et on l'appelle coefficient d'absorption massique.

dépend de :

- la substance qui absorbe et de longueur d'onde ;
- pH du milieu et du solvant, et de la température.

7.4. Conditions de la validité de la loi de Beer-Lambert

Pour que la loi de Beer-Lambert reste valable, il faut respecter les conditions suivantes :

- la concentration doit être faible. Souvent, le domaine de linéarité ne dépasse pas quelques nmol/L. On le contrôle en réalisant une courbe d'étalonnage (vu en TP) ;
- le monochromatisme doit être rigoureux si l'on veut calculer ϵ à une longueur d'onde précise, ou si l'on veut utiliser la valeur de ϵ pour calculer une concentration à partir d'une mesure d'absorbance ;
- le milieu doit être ni trouble, ni fluorescent.

8. Additivité des absorbances

Dans le cas où la solution à étudier contient plusieurs espèces absorbantes, l'absorbance mesurée à une longueur d'onde donnée est la somme des absorbances des espèces prises séparément, à condition que ces dernières n'interagissent pas l'une sur l'autre (figure 12).

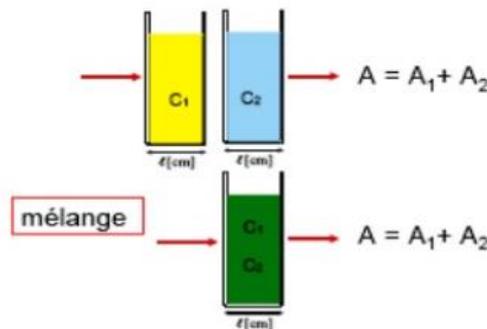


Figure 12: Additivité des absorbances.

9. Appareillage

L'étude des absorptions nécessite l'utilisation d'un appareil appelé spectromètre. Les spectromètres UV-visible comportent une source de lumière suivie d'un monochromateur, d'un compartiment pour placer les échantillons, puis d'un dispositif de réception associé à un dispositif de traitement des données permettant au final de tracer le spectre (figure 13).

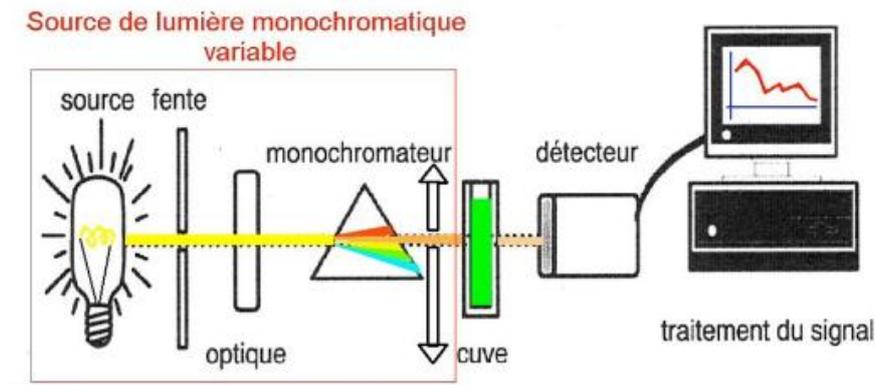


Figure 13: Schéma d'un spectromètre UV-visible.

9.1. Source de rayonnement

Le rôle de la source de rayonnement est de fournir la radiation lumineuse.

Exemple :

- Lampe à décharge au deutérium (190 à 400 nm)
- Lampe à filament de tungstène (350 à 800 nm)
- Lampe à décharge au Xénon (UV-visible) (300 à 1100 nm)

9.2. Monochromateur

Le monochromateur a pour rôle de disperser le rayonnement polychromatique provenant de la source et d'obtenir des radiations monochromatiques.

9.3. Cuve

Elle contient l'échantillon. La longueur de la cuve est définie, généralement 1 cm de trajet optique et une section carrée, elle doit être transparente aux radiations étudiées. Dans le commerce, il existe différentes cuves adaptées aux différents domaines spectraux rencontrés (plastique pour le visible, quartz de plus ou moins bonne qualité pour l'UV).

9.4. Détecteur

Le détecteur a pour but de convertir l'intensité de la radiation lumineuse qui l'atteint en un signal électrique qui lui est proportionnel. Un simple facteur d'échelle permet alors d'obtenir le signal photométrique. Deux catégories coexistent pour cette gamme spectrale : les photomultiplicateurs et les photodiodes.

9.5. Enregistreur

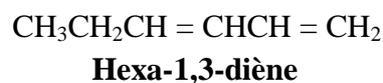
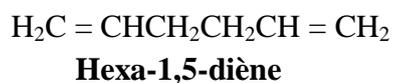
L'enregistreur ou outil de traitement du signal permet de tracer un spectre d'absorption de l'échantillon.

Remarque

Pour ce qui est du solvant, son influence est neutralisée en réalisant un blanc, c'est-à-dire en mesurant l'intensité du rayonnement transmis après traversée de la cuve ne contenant que du solvant. Les échantillons doivent être transparents afin d'éviter tout phénomène de diffusion : ne pourront être analysées que les solutions limpides dans des cuves propres.

Exercices**Exercice 1**

Le hexa-1,5-diène et le hexa-1,3-diène sont isomères. Comment les différenciez-vous par spectroscopie UV ?

**Corrigé**

Le hexa-1,3-diène est un diène conjugué, alors que le hexa-1,5-diène ne l'est pas. Seul l'isomère conjugué présente une absorption UV aux environs de 200 nm.

Exercice 2

On veut déterminer la teneur d'un composé alimentaire en vitamine A (notée A) et carotène (notée B). A partir de 10 g du composé alimentaire, on a obtenu 25 cm³ d'une solution chloroformique S. On mesure les densités optiques (les absorbances) à 2 longueurs d'onde différentes ($\lambda_1 = 328$ nm et $\lambda_2 = 458$ nm), dans la même cuve ($l = 1$ cm), de la solution S et de deux solutions de référence S₁ et S₂ contenant respectivement 10 mg de A par litre de solvant et 10 mg de B par litre de solvant. En déduire la teneur en A et en B du corps étudié.

	S	S1	S2
A (λ_1)	0,530	1,550	0,340
A (λ_2)	0,480	0,000	2,200

Corrigé

Dans 10 g du composé, il existe m_A g de A et m_B g de B. Dans 25 cm³ de la solution S, on obtient les concentrations massiques (en g. L⁻¹) :

$$C_A = m_A/0,025 \quad \text{et} \quad C_B = m_B/0,025.$$

Notons les solutions de référence C_A^0 et C_B^0 :

$$C_A^0 = C_B^0 = 10 \cdot 10^{-3}/1 = 0,01 \text{ g L}^{-1}.$$

D'après la loi de Beer-Lambert et la loi d'additivité des absorbances,

$$A = \sum_i \epsilon_i C_i$$

- à λ_1 fixée, $A_{1(S)} = \epsilon_{1A} C_A + \epsilon_{1B} C_B$,

$$A_{1(S1)} = \epsilon_{1A} C_A^0,$$

$$A_{1(S2)} = \epsilon_{1B} C_B^0,$$

Soit:
$$A_{1(S)} = A_{1(S1)} C_A / C_A^0 + A_{1(S2)} C_B / C_B^0 \quad (1)$$

- à λ_2 fixée,
$$A_{2(S)} = A_{2(S1)} C_A / C_A^0 + A_{2(S2)} C_B / C_B^0. \quad (2)$$

Puisque $A_{2(S1)}$ est nulle, nous déduisons,

- de (2), $C_B = C_B^0 A_{2(S)} / A_{2(S2)} = 2,18 \cdot 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ $m_B = 5,45 \cdot 10^{-5} \text{ g}$

- puis de (1), $C_A = 2,94 \cdot 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ $m_A = 7,35 \cdot 10^{-5} \text{ g}$