

Fiche technique

Spectroscopie UV-visible

I. Intérêts & principe du spectrophotomètre

La spectroscopie UV-visible peut être mise à profit pour deux applications principales :

- la caractérisation d'une matière absorbant dans ce domaine de longueur d'onde ; on détermine l'absorbance de la matière (liquide en général) en fonction de la longueur d'onde du rayonnement imposé et on trace un spectre qui est caractéristique de la substance et peut donc servir à son identification ;
- la détermination de concentration d'espèces absorbantes en solution ; on met à profit la loi de Beer-Lambert qui relie absorbance et concentration d'une espèce à une longueur d'onde fixée, souvent celle du maximum d'absorbance (déterminé à l'aide d'un spectre). On procède en général à l'aide d'une gamme étalon.

On utilise un spectrophotomètre, dispositif muni d'une lampe éclairant une large gamme de longueurs d'onde. Le faisceau passe à travers un système dispersif (prisme ou réseau par exemple) dont l'orientation permet de sélectionner la longueur d'onde qui traversera effectivement l'échantillon. On mesure l'intensité sortant de l'échantillon I et on la compare à celle entrant dans l'échantillon I_0 . On définit ainsi l'absorbance (ou densité optique) :

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

II. Protocole

Dans tous les cas, on réalise un spectre, soit qu'il soit intéressant en-soi, soit qu'il permette d'identifier la longueur d'onde du maximum d'absorbance. Pour s'affranchir des absorptions du solvant et d'éventuelles autres substances du milieu, on réalise un blanc, *i.e.* le spectre de la solution sans la substance d'intérêt. Ce blanc est ensuite soustrait (automatiquement) au spectre de la solution complète pour n'obtenir que le spectre de la substance d'intérêt.

Les solutions sont placées dans des cuves placées sur le chemin du rayon lumineux dans le spectrophotomètre. Attention, elles ne doivent pas absorber le rayonnement : si on travaille dans l'UV, on utilisera des cuves en quartz, pas en plastique. En toute rigueur, il faut utiliser la même cuve pour le blanc et pour la mesure. Une fois la cuve en place, on effectue le balayage en longueur d'onde (sur le blanc, puis sur l'échantillon d'intérêt) : le protocole est à adapter en fonction de l'appareil. Il ne faut pas laisser de trace de doigt sur les faces de la cuve qui seront traversées par le faisceau !

Une fois la longueur d'onde du maximum d'absorbance déterminée, on peut réaliser une gamme étalon : il s'agit d'un graphique reportant l'absorbance en fonction de la concentration de l'espèce absorbante. Ce graphe permet par la suite de déterminer des concentrations par une mesure d'absorbance d'une solution quelconque.

La gamme étalon se réalise à l'aide de solutions de concentrations connues (réalisée avec précision, avec de la verrerie jaugée). Après avoir effectué un blanc à la longueur d'onde choisie, on mesure l'absorbance de la série de solution en appliquant les mêmes précautions que précédemment. La seule différence vient du fait qu'on ne fait plus varier la longueur d'onde.

III. Pour aller plus loin

- *Loi de Beer-Lambert*

Lorsqu'on réalise une gamme étalon, on observe souvent une évolution linéaire de l'absorbance avec la concentration. La loi de Beer-Lambert est alors vérifiée. Pour un ensemble de substances absorbantes à la longueur d'onde λ , indicées i , on a l'expression :

$$A = \sum_i \varepsilon_i l c_i$$

où ε_i est le coefficient d'extinction molaire de la substance i (qui dépend de λ et de la température), l est la longueur de cuve traversée par le faisceau et c_i la concentration de la substance i .

La loi de Beer-Lambert se vérifie pour des solutions limpides (pas de particules en suspension), non fluorescentes, sans réaction chimique sous l'effet de la lumière et pour des concentrations suffisamment faible pour que l'absorbance ne dépasse pas l'unité.

- *Pourquoi se placer à la longueur d'onde du maximum d'absorbance ?*

On réalise les mesures d'absorbance pour la détermination de concentration à la longueur d'onde du maximum d'absorbance pour minimiser les erreurs de mesure. En effet, la longueur d'onde envoyé sur l'échantillon est définie avec une certaine marge d'erreur : le pouvoir dispersif du spectrophotomètre n'est pas infini. Pour une plage de longueur d'onde de largeur $\Delta\lambda$, la plage d'absorbance ΔA est plus étroite que pour une longueur d'onde quelconque :

