

SPECTROPHOTOMÉTRIE UV VISIBLE

Rappel

Région	Longueur d'onde	Energie d'excitation	Type d'excitation
Ultraviolet lointain	100-200nm	286-143kcal	électronique
proche	200-350nm	143-82kcal	électronique
Visible	350-800nm	82-36kcal	électronique

I-THEORIE DE L'ABSORBANCE

Une solution est colorée car les espèces qu'elle contient absorbent certaines longueurs d'onde du spectre de la lumière visible. Si une espèce est vue violette (mélange de bleu et de rouge), elle a donc absorbé la lumière jaune. Une espèce rouge absorbe donc dans le bleu et le jaune...

Une espèce peut être incolore pour deux raisons : elle n'absorbe pas dans le visible (mais elle absorbe dans d'autres domaines du spectre) ou elle absorbe à peu près continûment dans tout le spectre du visible, et notre œil ne perçoit pas les légères différences en fonction des longueurs d'onde.

Les photons sont absorbés par les électrons qui changent de niveau électronique dans la molécule (ou l'ion) : c'est une **transition électronique**. Le même phénomène peut se produire dans le domaine de l'UV. La molécule est alors incolore à l'œil, mais des transitions électroniques ont bien eu lieu.

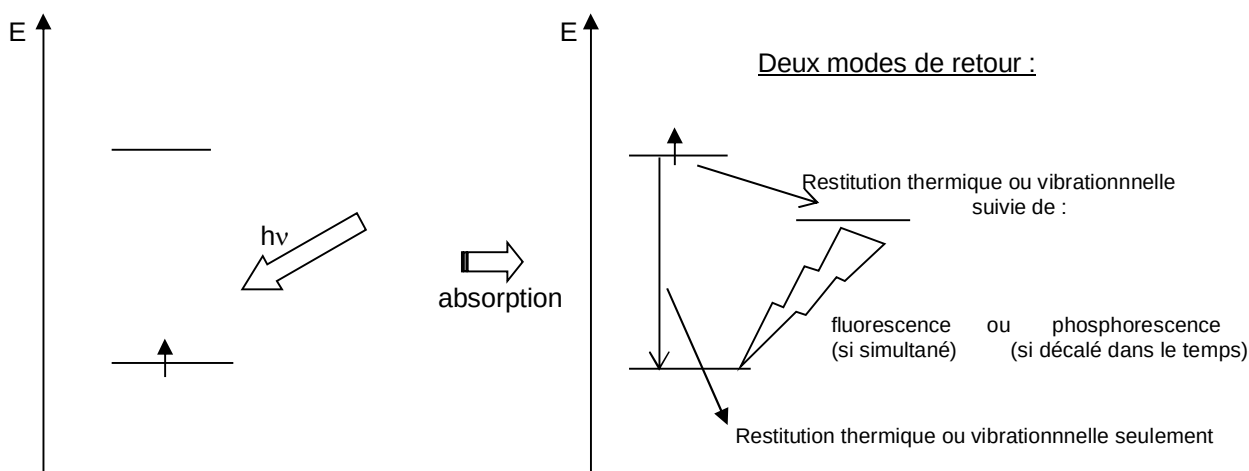
Ces absorptions donnent des **spectres de bande** autour de la longueur d'onde caractéristique de la différence d'énergie entre les deux niveaux électroniques.

Après absorption, les électrons retournent à leur niveau le plus stable :

Si ce retour se fait pendant l'absorption, avec restitution d'un photon de nature différente de celui absorbé (car une partie de l'énergie absorbée est restituée sous une autre forme (thermique ou vibrations)) : c'est la **fluorescence**. Vos feutres fluo n'émettent rien dans le noir.

Si ce retour se fait après l'absorption, avec restitution d'un photon de nature différente de celui absorbé (car une partie de l'énergie absorbée est restituée sous une autre forme (thermique ou vibrations)) : c'est la **phosphorescence**.

Dans la majorité des cas ce retour se fait par une restitution de l'énergie sous d'autres formes que lumineuses, de façon invisible au sens propre du terme.



Cas de molécules organiques

Les modèles décrivant les molécules par les OM montrent que certains niveaux « calculés » sont occupés alors que d'autres, plus haut en énergie, sont vides. Si un photon a l'énergie exactement égale à la différence d'énergie entre un niveau occupé et un niveau vide, alors ce photon est absorbé, et l'électron amené à un niveau plus élevé.

Les calculs montrent que lorsqu'une molécule est conjuguée, les OM décrivant son système π sont partiellement remplies en général. Plus la chaîne de conjugaison est longue, **donc plus les OM π sont nombreuses, plus elles sont proches en énergie**. La transition électronique entre deux niveaux demande alors un photon dont la longueur d'onde se situe dans le visible. C'est l'effet **bathochrome** de la conjugaison.

Ainsi, les molécules organiques conjuguées sur une courte chaîne de délocalisation sont incolores mais absorbent dans l'UV alors que les molécules organiques conjuguées sur une longue chaîne de délocalisation sont colorées et absorbent donc dans le visible.

Si la chaîne de délocalisation est modifiée, par un proton fixé ou enlevé, ou par l'addition d'un groupe sur la molécule, ou par la complexation d'une partie de la chaîne de conjugaison avec un ion métallique, alors la longueur d'onde d'absorption est modifiée. Même un changement de solvant peut avoir un effet sur la longueur d'onde absorbée.

On appelle les groupes introduits dans une molécule dans le but de changer leur coloration, des groupes **chromophores**, très utilisés dans la conception de colorants.

L'effet sur la couleur d'un proton fixé ou enlevé à la molécule lui donne des propriétés d'**indicateur coloré A/B**.

Dans un solvant donné, pour une molécule dans un état donné, les longueurs d'onde d'absorption sont fixées, caractéristiques de la molécule, permettant une caractérisation tout à fait fiable de la molécule.

Cas d'espèces ioniques minérales

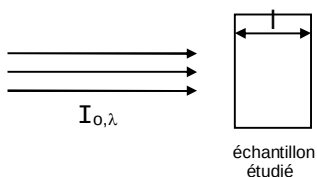
Les OA permettent de décrire les ions isolés. Toutefois, nous ne les observons jamais isolés. Dans l'eau, les ions sont en réalité sous forme d'un complexe généralement octaédrique $M(H_2O)_6^{n+}$. Les niveaux d'énergies de tels systèmes seront étudiés en fin d'année, mais on conçoit que si les orbitales d des ions métalliques sont perturbées par complexation, avec levée de dégénérescence (niveaux d'énergie différents pour les 5 OA d) alors des transitions peuvent apparaître => couleur des ions métalliques, différente selon les ligands.

II-UTILISATION EN CHIMIE ANALYTIQUE (DOSAGES)

On montre que la capacité d'une solution à absorber de la lumière obéit à la **loi de Beer-Lambert** :

Si on appelle absorbance noté $A_\lambda = \log \frac{I_{0,\lambda}}{I_\lambda} > 0$ où I_λ = intensité résiduelle $< I_{0,\lambda}$

$I_{0,\lambda}$ = intensité incidente
(à la longueur d'onde λ)



ATTENTION: domaine de validité de Beer-Lambert :
 $A < 1$ (à 1,5) (soit $I_\lambda > I_{0,\lambda} / 10$ (à 30))
ie : la solution ne doit pas être "trop sombre"

Alors

$$A_\lambda = \sum_i (\epsilon_{\lambda,i} \cdot l \cdot c_i)$$

$\epsilon_{\lambda,i}$ = coef. d'absorption molaire

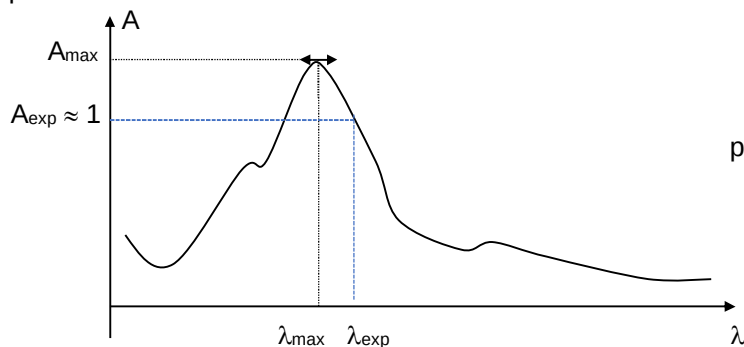
l = longueur de la cuve

c_i = concentration de l'espèce i

Toute solution contient du solvant + des espèces éventuellement colorées. En spectrophotométrie nous souhaitons toujours nous débarrasser de l'absorption du solvant. Pour ce faire le Zéro de l'appareil sera toujours fait sur une cuve à solvant **à chacune des longueurs d'onde de travail** (en effet les solvants même incolores absorbent différemment selon la longueur d'onde, voir plus haut)

Tracé d'un spectre

Le tracé d'un spectre consiste à balayer le spectre des longueurs d'onde du visible (ou de l'UV selon les cas) et à mesurer pour toutes ces longueurs d'onde l'absorbance de la solution, le zéro étant fait sur le solvant. On obtient un spectre d'allure suivante :



par exemple on choisit $\lambda_{\max}$ si $A_{\max} < 1,5$

mais on choisit $\lambda_{\exp} / A_{\exp} \approx 1$ si $A_{\max} > 1,5$

Courbe d'étalonnage

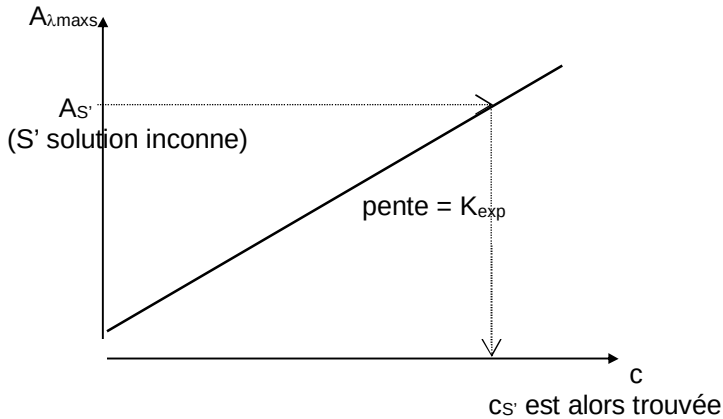
Supposons que la solution ne contienne qu'une espèce absorbante de concentration c :

$$A_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} \cdot l \cdot c$$

En particulier à λ_{exp} :

$$A_{\lambda_{\text{exp}}} = \varepsilon_{\lambda_{\text{exp}}} \cdot l \cdot c = K_{\lambda_{\text{exp}}} \cdot c$$

Si nous travaillons alors à λ_{exp} pour des solutions de concentrations variables et parfaitement connues, avec précision, comme A est proportionnel à c , nous pouvons de ces mesures tracer une droite, appelée droite d'étalonnage. Comme nous travaillons à λ_{exp} optimal, la droite est tracée **avec un coefficient de proportionnalité conséquent**, donnant une grande **sensibilité** à la technique.



Cette droite appelée **courbe d'étalonnage** permet alors à partir de la mesure de l'absorbance d'une solution inconnue d'en déterminer la concentration : $c_{S'} = \frac{A_{S'}}{K_{\text{exp}}}$

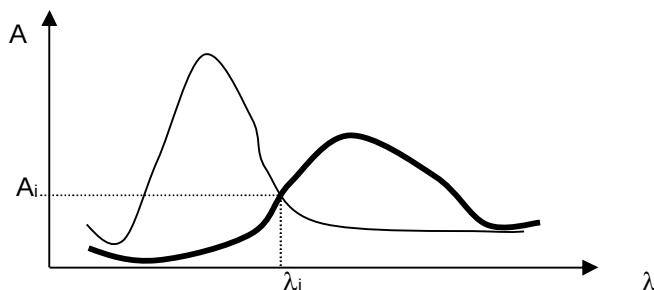
Le tracé d'une courbe d'étalonnage à λ_{exp} permet de gagner en précision dans la détermination du coefficient K_{exp} . MAIS

- 1) On peut travailler à toute longueur d'onde $\neq \lambda_{\text{max}}$
- 2) On peut déterminer K à partir d'une seule solution (avec une précision moindre).

Solutions aux colorants multiples

Si des solutions contiennent plusieurs espèces colorantes, les études se mènent au cas par cas : un résultat est intéressant:

Soient deux espèces colorées A et B présentant les spectres suivants, tracés pour une même concentration c_0 :



Cas particulier : Si $\varepsilon_A(\lambda_i) = \varepsilon_B(\lambda_i) = \varepsilon$
l'absorbance de ces mélanges à λ_i :
 $A = \varepsilon \cdot C_A \cdot l + \varepsilon \cdot C_B \cdot l = \varepsilon \cdot l \cdot (C_A + C_B) = \varepsilon \cdot C_0 \cdot l = A_i$
 A_i est indépendant de C_A et C_B
pourvu que C_A et $C_B = C_0$
Le point de coordonnées (A_i, λ_i) est appelé point isobestique
(L'intérêt du pt isobestique... est esthétique...)

Imaginons alors des solutions de mélange de A et B, telles que $C_A + C_B = C_0$, C_A et C_B étant variables : typiquement un indicateur coloré A / B, à des pH différents.

Exprimons l'absorbance de ces mélanges à $\lambda \neq \lambda_i$ selon les pH :

A un pH quelconque (pH) $\Rightarrow C_A = C_0 - C_B$ ou $C_B = C_0 - C_A$:

$$\Rightarrow A_{\lambda}(\text{pH}) = \varepsilon_A(\lambda) \cdot C_A \cdot l + \varepsilon_B(\lambda) \cdot C_B \cdot l = l \cdot (\varepsilon_A(\lambda) \cdot C_A + \varepsilon_B(\lambda) \cdot C_B) = l \cdot (\varepsilon_A(\lambda) \cdot (C_0 - C_B) + \varepsilon_B(\lambda) \cdot C_B) = l \cdot (\varepsilon_A(\lambda) \cdot C_0 + (\varepsilon_B(\lambda) - \varepsilon_A(\lambda)) \cdot C_B)$$

A un pH très acide (noté pH_{acide}) $\Rightarrow C_0 = C_A$, $C_B = 0$,

$$\Rightarrow A_{\lambda}(\text{pH}_{\text{acide}}) = l \cdot (\varepsilon_A(\lambda) \cdot C_0) \Rightarrow A_{\lambda}(\text{pH}_{\text{acide}}) - A_{\lambda}(\text{pH}) = l \cdot (\varepsilon_A(\lambda) - \varepsilon_B(\lambda)) \cdot (C_0 - C_A) = l \cdot (\varepsilon_A(\lambda) - \varepsilon_B(\lambda)) \cdot [B]$$

A un pH très basique (noté pH_{basique}) $\Rightarrow C_0 = C_B$, $C_A = 0$

$$\Rightarrow A_{\lambda}(\text{pH}_{\text{basique}}) = l \cdot (\varepsilon_B(\lambda) \cdot C_0) \Rightarrow A_{\lambda}(\text{pH}_{\text{basique}}) - A_{\lambda}(\text{pH}) = l \cdot (\varepsilon_B(\lambda) - \varepsilon_A(\lambda)) \cdot (C_0 - C_B) = l \cdot (\varepsilon_B(\lambda) - \varepsilon_A(\lambda)) \cdot [A]$$

$$\text{De sorte que } pH = pK_A + \log \left(\frac{[B]}{[A]} \right) = pK_A + \log \left(\frac{A_{\lambda}(\text{pH}_{\text{acide}}) - A_{\lambda}(\text{pH})}{A_{\lambda}(\text{pH}) - A_{\lambda}(\text{pH}_{\text{basique}})} \right)$$

Ainsi, en traçant $pH = f \left[\log \left(\frac{A_{\lambda}(\text{pH}_{\text{acide}}) - A_{\lambda}(\text{pH})}{A_{\lambda}(\text{pH}) - A_{\lambda}(\text{pH}_{\text{basique}})} \right) \right]$, on obtient une droite d'ordonnée à l'origine qui vaut pK_A
(voir TP spectrophotométrie TPC1, détermination d'un pK_A d'un indicateur coloré)