

1. Notions de base

1.1. Spectre électromagnétique

Le rayonnement électromagnétique se présente sous la forme d'onde électromagnétique qui se propage dans le vide à la même vitesse que celle de la lumière. Seule une partie de ces ondes est visible. L'ensemble de ces ondes, visibles ou non, forme ce qu'on appelle le spectre électromagnétique. Le rayonnement électromagnétique peut être caractérisé par sa longueur d'onde λ , par le nombre d'onde $\tilde{\nu}$ ou encore par la fréquence ν :

Le spectre électromagnétique (figure 1) s'étend des radiofréquences de plus basse énergie (ou de plus grande longueur d'onde) au rayonnement Gamma de haute énergie (ou de petite longueur d'onde). Le rayonnement électromagnétique dans le domaine UV-VIS s'exprime par sa longueur d'onde λ , en nm. Le domaine UV s'étend de 10 à 390 nm, celui du visible de 390 à 770 nm (du bleu au rouge) et celui de l'infrarouge (IR) du 780 nm à 1mm. Cependant, l'unité spectrale utilisée pour la spectroscopie IR est le nombre d'onde $\tilde{\nu}$, exprimé en cm^{-1} .

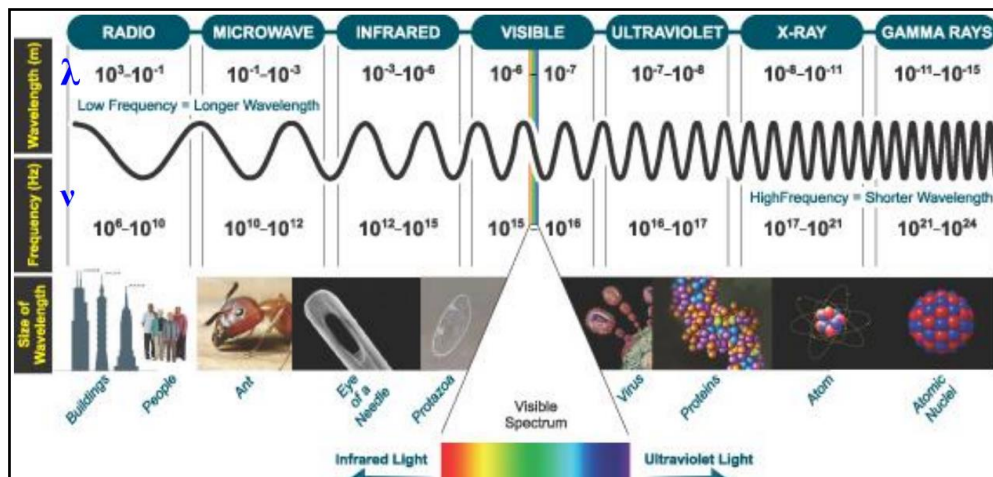


Figure 1. Le spectre électromagnétique.

A chacun des domaines particuliers du rayonnement électromagnétique, ou presque, correspond un type de spectroscopie qui repose sur une interaction particulière de la matière avec ce rayonnement (figure 2). Ainsi pour le domaine :

- Des γ et des RX, le rayonnement est extrêmement énergétique et il va pouvoir affecter les électrons des orbitales atomiques de noyau. Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie γ et dans la fluorescence X.

- Des UV et du visible, le rayonnement est énergétique et il va pouvoir affecter les électrons des orbitales atomiques périphériques et/ou des orbitales moléculaires. Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie d'émission atomique (SEA), la spectroscopie d'absorption atomique (SAA) et la spectroscopie moléculaire (UV-VIS).
- De l'IR, le rayonnement est faiblement énergétique et ne peut affecter principalement que les modes de vibration des molécules. Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie IR et la spectroscopie Raman.
- Des radio, finalement, le rayonnement est très faiblement énergétique et ne peut affecter que les modes de rotation des molécules, modification d'états de spin électronique (résonance paramagnétique électronique, RPE) et modification d'états de spin nucléaire (résonance magnétique nucléaire, RMN).

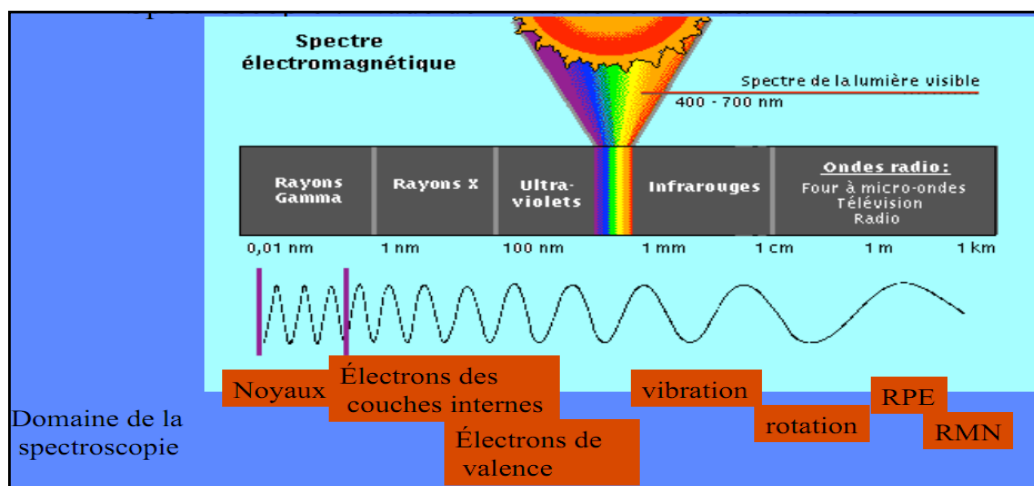


Figure 2. Domaine de la spectroscopie.

1.2. Spectroscopie

La spectroscopie est l'étude des interactions d'un rayonnement électromagnétique avec la matière (atomes, molécules, ions...)

Il est possible d'interpréter les résultats de cette interaction pour en déduire des informations quant à la structure atomique et moléculaire de la matière irradiée et/ou pour doser cette matière.

2. Spectrométrie UV-VIS

2.1. Définition

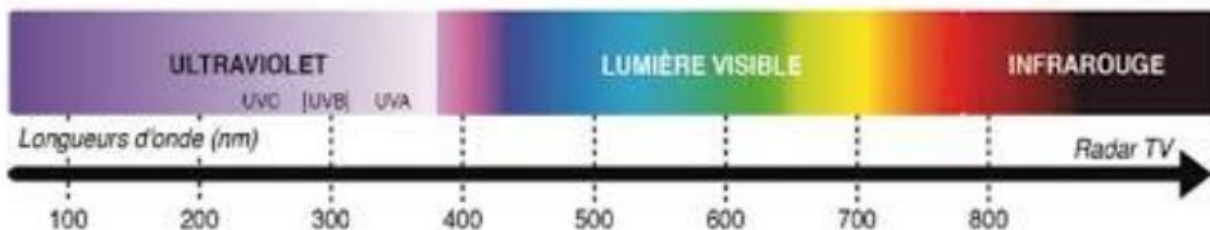
La spectrophotométrie est une méthode d'analyse qui permet de déterminer l'absorbance d'une substance chimique, c'est-à-dire sa capacité à absorber la lumière qui la traverse.

L'absorbance d'une substance chimique dépend de la nature et de la concentration de cette substance ainsi que de la longueur d'onde.

Un **spectrophotomètre** (**spectromètre**, ou spectroscopie) est un appareil qui permet d'effectuer une mesure spectrométrique de l'absorbance d'une substance chimique à une longueur d'onde donnée ou pour une plage de longueurs d'ondes judicieusement choisie.

2.2. Principe

La spectrophotométrie UV-VIS repose sur l'interaction de la lumière (rayonnement électromagnétique) et de la matière (les électrons des orbitales moléculaires) dans le domaine UV et visible (UV : 200-400, VIS : 400-800 nm). Cette partie du spectre est relativement pauvre en informations sur la structure des composés moléculaires. En revanche, l'absorbance des composés dans UV et le visible est exploitée en analyse quantitative par application de la loi de Beer-Lambert.



2.3. Appareillage

Le spectrophotomètre UV-visible est constitué des éléments suivants :

➤ Source de lumière monochromatique :

Visible : Lampe à incandescence à Tungstène et iode.

UV : Lampe à arc à Deutérium, ou mercure.

UV et visible : lampe à arc en atmosphère de xénon

➤ Monochromateur : sélection de la longueur d'onde. Il comprend classiquement :

Une fente d'entrée permettant l'atteinte par un fin faisceau polychromatique.

Un système dispersif de type réseau.

Une fente de sortie

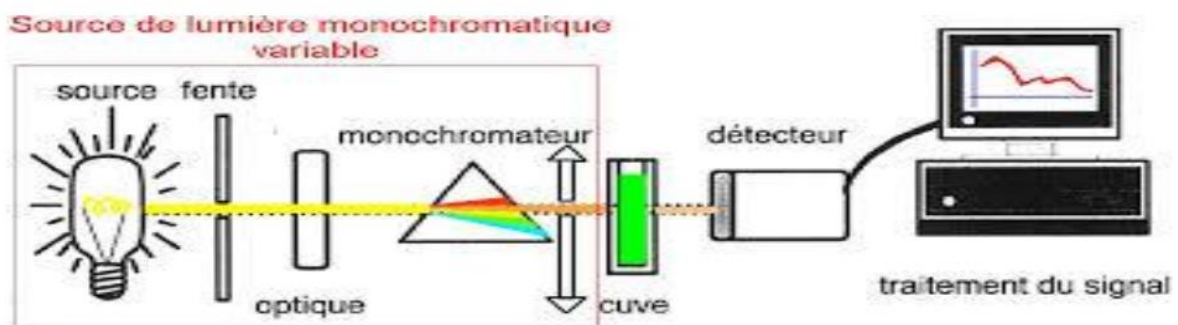
Les spectrophotomètres à éclairage polychromatique et système dispersif placé après l'échantillon puis capteur à barrette de diodes ne nécessitent pas de motorisation.

➤ Cuve

Visible : Verre, polystyrène

UV : Quartz

➤ Détecteur : Le principe de base du détecteur est de transformer en courant électrique ou en tension le signal optique reçu. Il s'agit donc de compter les photons reçus par longueur d'onde en utilisant l'effet photoélectrique.



2.4. Principe du fonctionnement et la loi de Beer-Lambert

La spectroscopie UV-Visible se réalise à l'aide d'un spectrophotomètre.

Lorsque la cuve contenant la solution est placée dans un spectroscope, elle reçoit un rayonnement d'intensité I_0 . Une partie de cette lumière incidente notée I_0 est absorbée par le milieu et le reste est transmise I . L'intensité transmise (I) du rayonnement issu de la cuve est donc inférieure à l'intensité du rayonnement incidente (I_0). À partir de la mesure de l'intensité de la lumière transmise (I), l'appareil donne l'absorbance (A). l'appareil donne l'absorbance (A) selon la formule suivante : $A = \log(I_0 / I)$

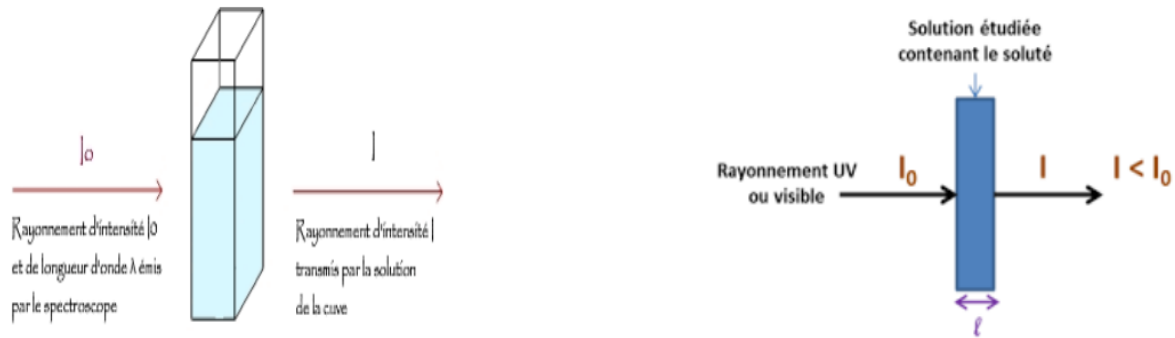


Figure 4. Schéma de principe de lecture d'un échantillon en spectroscopie UV-visible

La loi de Beer-Lambert nous apprend que l'absorbance est proportionnelle à la concentration d'une solution. Une mesure de l'absorbance peut donc permettre de remonter à la concentration d'une solution. Elle est donnée par la loi de Beer-Lambert :

$$A = \log(I_0/I) = \epsilon l C.$$

A : absorbance autrefois appelée densité optique (D.O.) (sans unité)

ϵ : est le coefficient d'extinction molaire (L.mol⁻¹.cm⁻¹).

l: est la largeur (épaisseur) de cuve en cm

C: est la concentration de la solution (mol.L⁻¹)