

Ch.P2 Spectrométrie

Dans ce chapitre

I. Absorption de lumière par les solutions	2
I.1. Absorbance d'une solution	2
I.2. Spectre d'absorption	3
I.3. Couleur et absorption	3
I.4. Loi de Beer-Lambert	3
I.5. Rôle du blanc	4
I.6. Principe du spectrophotomètre	5
I.7. Dosage en spectrophotométrie UV-visible	5
II. Fluorescence	6
II.1. Description du phénomène	6
II.2. Spectrofluorimétrie	7
III. Spectrométrie infra-rouge	7
III.1. Niveaux d'énergie des molécules	7
III.2. Allure générale d'un spectre IR	8
III.3. Tables spectroscopiques IR	8
III.4. Exemple d'interprétation d'un spectre IR	9

I. Absorption de lumière par les solutions

I.1. Absorbance d'une solution

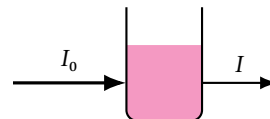
La couleur de la plupart des espèces chimiques en solution est due au fait que ces espèces **absorbent** une partie de la lumière ambiante.

Lorsque on regarde une solution colorée, la lumière colorée a traversé la solution avant d'arriver jusqu'à l'œil.

Si la solution **n'absorbe pas** de lumière visible, elle nous apparaît **incolor** ; si elle **absorbe** une partie de la lumière visible, elle nous apparaît **colorée**.



Le faisceau dirigé vers la solution possède une intensité lumineuse I_0 . La solution absorbe une partie de l'énergie lumineuse; le faisceau émerge avec une intensité I inférieure à I_0 .



Intensité incidente : intensité (I_0) du faisceau **arrivant** sur la solution.

Intensité transmise : intensité (I) du faisceau **sortant** de la solution.

Transmittance (T) : rapport de l'intensité transmise sur l'intensité incidente.

$$T = \frac{I}{I_0} \leq 1$$

$$A = -\log T = \log\left(\frac{1}{T}\right)$$

Pour calculer l'**absorbance** A , on utilise la formule de définition ci-contre.

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) \geq 0$$

L'absorbance est une grandeur :

- sans unité
- positive
- d'autant plus élevée que l'intensité lumineuse a diminué
- les valeurs maximales d'absorbance augmentent avec la performance des spectrophotomètres. Ordre de grandeur : jusqu'à 3 environ.

Pour réaliser les mesures, le **spectrophotomètre** envoie un faisceau lumineux d'intensité I_0 connue; il **mesure** l'intensité I à la sortie de l'échantillon.

La connaissance des valeurs de I_0 et de I permet de calculer l'absorbance.

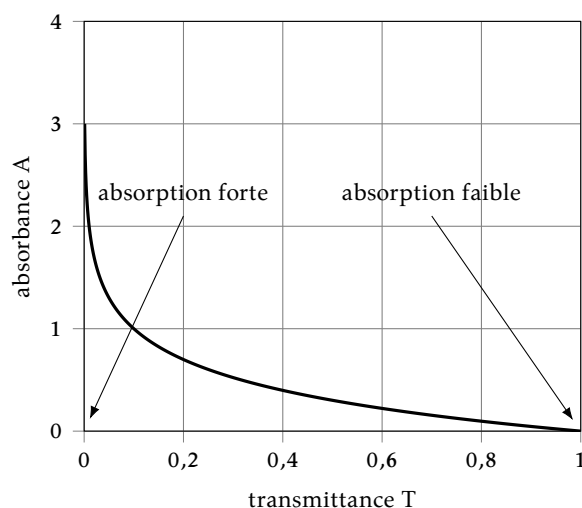


FIG. 1 – L'absorbance varie en sens inverse de la transmittance. Pour des solutions presque opaques : $T \rightarrow 0$ et $A \rightarrow \infty$.

I.2. Spectre d'absorption

Animation en ligne : <https://dgxy.link/absorb>

Une substance colorée n'absorbe pas autant toutes les couleurs du domaine visible : pour une espèce donnée, *l'absorbance dépend de la longueur d'onde de la lumière*.

Le **spectre d'absorption** d'une espèce est le graphique représentant l'absorbance en fonction de la longueur d'onde.

La grande majorité des substances colorées présente un spectre avec **un pic** dans le domaine visible.

Il est caractérisé par la valeur de λ_{max} : c'est la longueur d'onde du maximum du pic.

Plus l'absorbance est élevée, plus la couleur est intense.

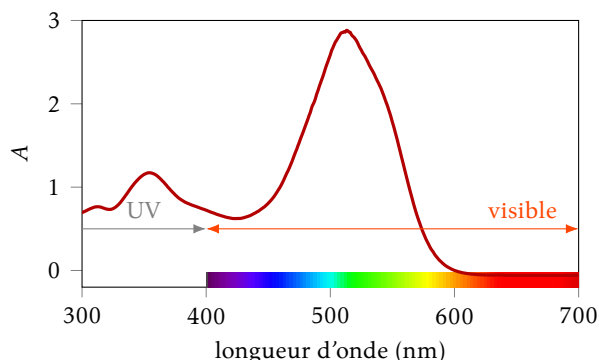


FIG. 2 – Spectre d'absorption du rouge Ponceau, un colorant alimentaire. Son maximum d'absorption est dans le vert.

I.3. Couleur et absorption

Si le pic du spectre est suffisamment étroit, on peut dire que le soluté coloré absorbe une couleur spécifique. Cependant, **la couleur absorbée n'est pas la couleur de la solution** (FIG. 2).

Une règle approximative est de dire que **la couleur de la solution est la couleur complémentaire de la couleur absorbée**.

Sur un cercle chromatique, deux couleurs **diamétralement opposées** sont complémentaires.

Exemples.

Le diiode, de couleur jaune-orange, absorbe dans le bleu.

L'ion permanganate, de couleur rose-violette, absorbe dans le vert.

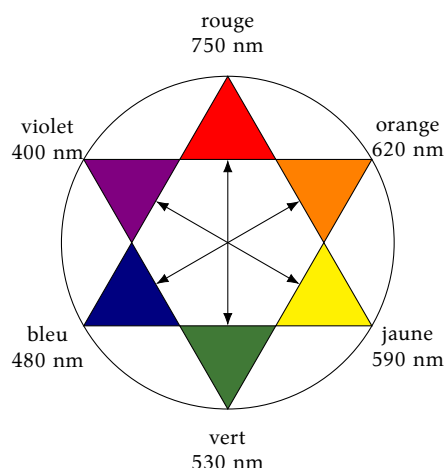


FIG. 3 – Le **cercle chromatique** ou roue des couleurs, tel que présenté dans des sujets d'exams.

I.4. Loi de Beer-Lambert

L'absorbance dépend des paramètres suivants :

- la nature du soluté
- l'épaisseur l de solution traversée
- la concentration C du soluté
- la longueur d'onde λ

loi de Beer-Lambert :

$$A = \varepsilon \times l \times C$$

ε : coefficient d'extinction molaire ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Il dépend de la longueur d'onde.

l : (cm) C : $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Le coefficient $\varepsilon_{(\lambda)}$ indique la capacité d'un soluté à absorber la lumière, pour une concentration et une épaisseur de solution données.

Plus ε est élevé, plus la couleur de la solution est intense (à l et C données). ε peut varier de 1 (ou moins) pour les solutés pâles, à plusieurs dizaines de milliers pour les solutés aux couleurs très intenses.

ε est parfois exprimé dans une unité différente : $\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, pour être compatible avec une concentration *massique* en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. On l'appelle alors parfois « coefficient d'extinction *spécifique* ».

La loi de Beer-Lambert traduit une **proportionnalité** de l'absorbance avec la **concentration**. Cette loi n'est cependant valable que dans les conditions indiquées ci-contre :

(Il n'y a pas de valeur de concentration limite, car elle est variable selon les solutés).

Conditions de validité de Beer-Lambert

- solution **limpide** (pas de trouble, pas de solide en suspension...)
- concentration suffisamment **faible**
- faisceau **monochromatique**
- **absence** de phénomène de **fluorescence**

Le tracé d'une **courbe d'étalonnage** (idéalement, une droite d'étalonnage) donne plusieurs informations précieuses :

- on peut constater la limite de validité de la loi (zone linéaire)
- dans la zone linéaire, la **pente de la droite** de régression est égale au **coefficient** ε , si l'épaisseur de solution vaut 1 cm.

En effet :

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot C$$

$$A = \text{pente} \cdot C$$

$$\text{donc : } \text{pente} = \varepsilon \cdot l$$

L'épaisseur de solution l est la largeur de la cuve dans laquelle l'échantillon est placé. La valeur courante est $l = 1 \text{ cm}$.

Dans les limites de validité, la loi de Beer-Lambert est **additive** : si plusieurs solutés absorbent la lumière à une même longueur d'onde, l'absorbance est la somme des contributions de chaque soluté :
Quand on veut doser un soluté, il faut donc être sûr que c'est le seul en solution.

$$A = A_1 + A_2 \dots$$

$$= \varepsilon_1 \cdot l \cdot C_1 + \varepsilon_2 \cdot l \cdot C_2 \dots$$

1.5. Rôle du blanc

Quand on fait une mesure d'absorbance, le faisceau traverse **la cuve, le solvant et le soluté**. Seule l'absorption par le soluté est recherchée, mais la mesure donne l'*absorbance totale* de ces 3 éléments.

Pour supprimer l'effet de la cuve et du solvant, on doit au préalable **faire un blanc** : c'est-à-dire mesurer l'absorbance de la cuve et du solvant *sans le soluté*. Ensuite, lors de la mesure de l'échantillon, l'appareil soustrait automatiquement l'absorbance du blanc.

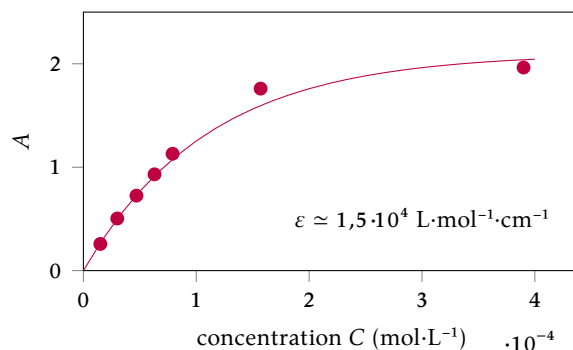
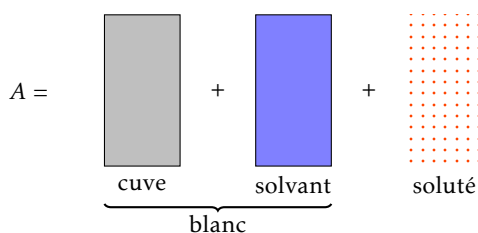


FIG. 4 – Courbe d'étalonnage de la phénolphthaléine à 552 nm. La loi de Beer-Lambert n'est valable que pour les premiers points (faible concentration).



I.6. Principe du spectrophotomètre

Un spectrophotomètre comporte :

- une ou plusieurs sources lumineuses, couvrant les domaines UV et visible ;
- un monochromateur permettant de sélectionner une longueur d'onde ;
- un emplacement pour une ou plusieurs cuves ;
- des capteurs photosensibles (photodiodes) pour les mesures d'intensité lumineuse.

Selon les modèles, le trajet suivi par la lumière peut varier. La Fig. 5 donne un exemple de spectrophotomètre à double faisceau.

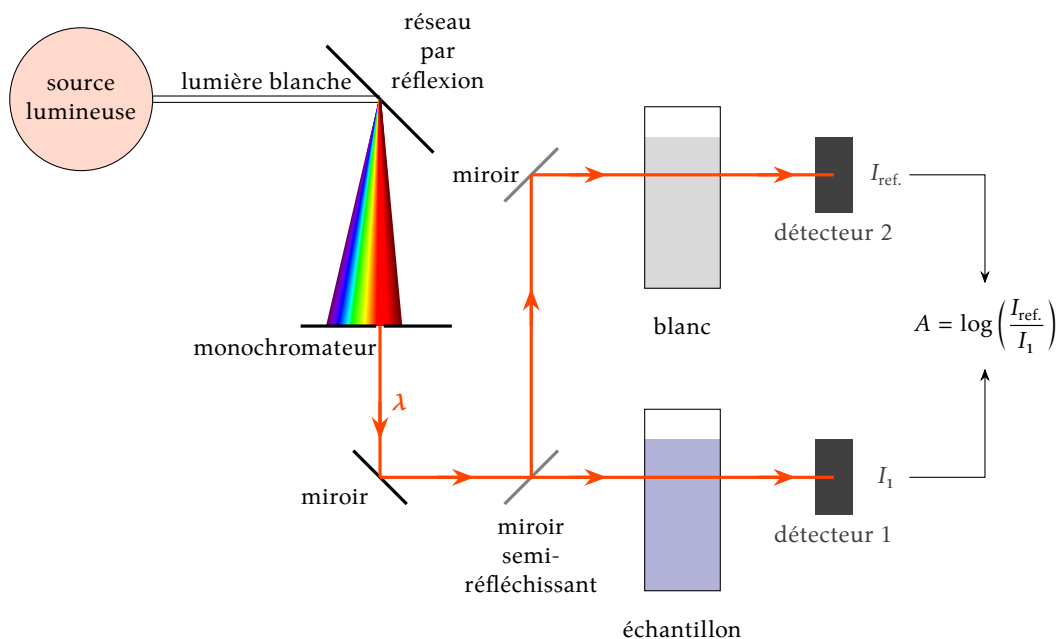
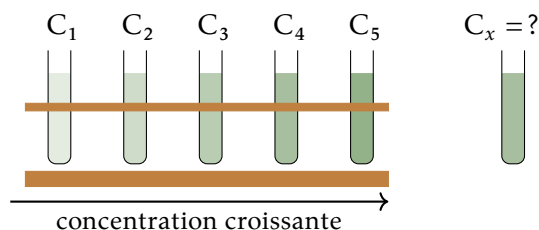


FIG. 5 – Principe de la mesure d'absorbance dans un spectrophotomètre à double faisceau. Le miroir semi-réfléchissant transmet une partie du faisceau lumineux vers l'échantillon, et une autre partie vers le blanc.

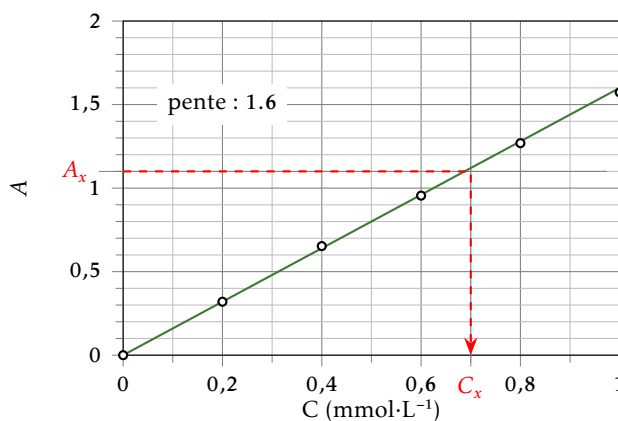
I.7. Dosage en spectrophotométrie UV-visible

Le dosage spectrophotométrique consiste à mesurer l'absorbance d'une solution contenant une espèce chimique, afin d'en déduire la concentration de cette espèce.

Au préalable, il faut avoir tracé une **droite d'étalonnage** pour cette espèce, à partir d'une **gamme de solutions de concentration croissante**.



Le fait d'avoir une relation linéaire entre A et C (loi de Beer-Lambert) permet de lire la concentration même en interpolant entre deux points de l'étalonnage.





Important.

Les mesures d'absorbance doivent être effectuées à la longueur d'onde λ_{max} (maximum d'absorbance).

Les deux principales raisons sont :

— la **précision** des mesures — la **sensibilité** des mesures

Il est donc nécessaire au préalable de **déterminer la valeur de λ_{max}** , en traçant un **spectre d'absorption** du soluté.

Autres remarques.

- La technique peut être employée pour tout soluté absorbant dans les domaines du **visible** et de l'**ultra-violet**. La capacité d'absorption de lumière UV-visible par les molécules est liée aux groupes d'atomes qu'elles comportent.
- La rapidité des mesures rend cette technique très efficace pour déterminer les **vitesse de réactions** (voir chapitre Cinétique). Pendant la transformation chimique, on mesure l'absorbance d'un réactif ou d'un produit coloré.
- Le verre absorbe la lumière UV, il n'est pas possible d'utiliser des cuves en verre pour faire des mesures dans l'UV. On utilise des cuves en quartz ou en plastique transparent aux UV.
- on peut doser des substances n'absorbant pas dans le visible ni dans l'UV, en les associant avec des substances absorbantes, ou en les transformant en substances absorbantes.

II. Fluorescence

II.1. Description du phénomène

Définition

La fluorescence est la propriété de certaines molécules de **réémettre** de la lumière après en avoir **absorbé**.

De telles espèces chimiques sont appelées des **fluorophores**. L'énergie du photon réémis est **toujours inférieure** à celle du photon absorbé, par conséquent sa **longueur d'onde est toujours plus élevée** que celle du photon absorbé.

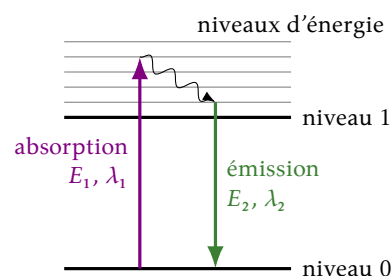


FIG. 6 – Description de la fluorescence avec les niveaux d'énergie.

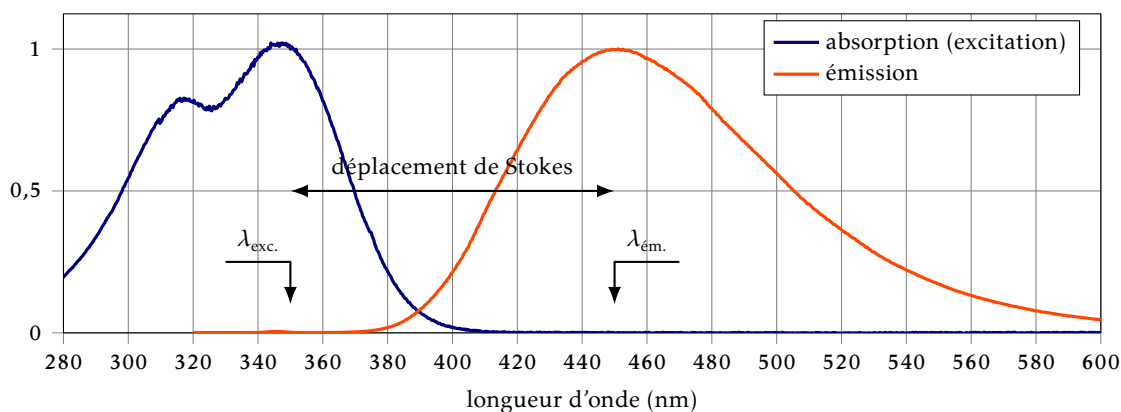


FIG. 7 – Spectre de la quinine. La différence de longueur d'onde est appelé **déplacement de Stokes**.

II.2. Spectrofluorimétrie

On peut réaliser des mesures de spectrofluorimétrie dans un spectrophotomètre spécialisé, appelé **spectrofluorimètre**.

Un faisceau incident est envoyé dans la solution fluorescente. L'intensité du faisceau transmis est mesurée dans la même direction (mesure d'absorbance classique). La solution émet par fluorescence dans toutes les directions. Pour que le faisceau transmis ne gêne pas la mesure, l'intensité de la lumière émise par fluorescence est mesurée par une autre photodiode dans une direction perpendiculaire.

Ce dispositif permet d'enregistrer simultanément le **spectre d'absorption** et le **spectre de fluorescence**, que l'on représente sur un même graphique.

L'intensité de la lumière émise est **proportionnelle à la concentration** du fluorophore (loi du type $I = K \cdot C$). On peut donc déterminer des concentrations par étalonnage. La spectrofluorimétrie est une technique **sélective**, et bien plus **sensible** que la spectrophotométrie d'absorption : elle permet de doser des substances à des concentrations inférieures à $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Elle est utilisée dans le domaine biomédical.

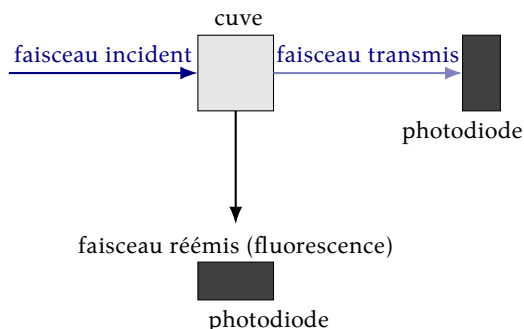


FIG. 8 – Principe de la mesure dans un spectrofluorimètre.

III. Spectrométrie infra-rouge

III.1. Niveaux d'énergie des molécules

De par leurs liaisons, les molécules ont des mouvements de **rotation** et de **vibration**.

Ces mouvements contribuent à l'agitation thermique des molécules dans la matière.

Une molécule donnée peut adopter un nombre fini d'états énergétiques liés à ces mouvements. Ces états sont représentés par des **niveaux d'énergie** rotationnels et vibrationnels.

Les molécules peuvent **absorber** ou **émettre** de l'énergie pour passer d'un état à un autre.

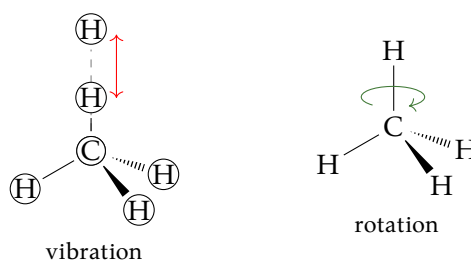


FIG. 9 – **Vibration** : les liaisons s'allongent et se raccourcissent, comme des élastiques.

Rotation : la molécule tourne autour d'une liaison.

En spectroscopie infrarouge, on utilise le **nombre d'onde** (σ) au lieu de la longueur d'onde, pour distinguer les ondes électromagnétiques. Le nombre d'onde est l'inverse de la longueur d'onde. Par conséquent, ces deux grandeurs sont **inversement proportionnelles**. Le nombre d'onde est habituellement exprimé en cm^{-1} .

Les ordres de grandeur des énergies séparant les niveaux sont :

- de $\approx 800 \text{ nm}$ à $\approx 10 \text{ }\mu\text{m}$ pour les vibrations (l'essentiel des bandes étudiées).
- de $\approx 10 \text{ }\mu\text{m}$ à $\approx 10 \text{ cm}$ pour les rotations (moins étudiées en infrarouge).

Par conséquent, la spectroscopie infrarouge utilise le domaine infrarouge moyen.

$$\sigma = \frac{1}{\lambda}$$

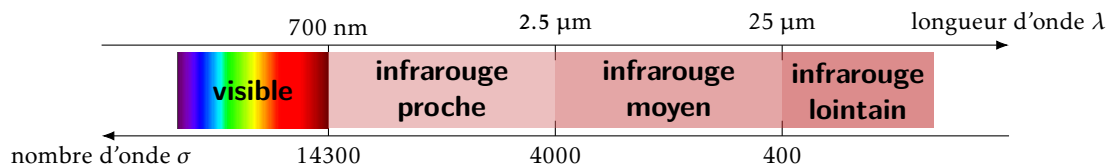


FIG. 10 – Le domaine infrarouge.

La spectroscopie infrarouge est un outil permettant de **connaître les groupes fonctionnels** présents dans un composé à analyser.

III.2. Allure générale d'un spectre IR

- en abscisses : le nombre d'onde, en cm^{-1} , usuellement *croissant vers la gauche*.
- en ordonnées : la **transmittance** (en %) : plus la transmittance est *faible*, plus l'onde est *absorbée* par la molécule. On voit donc des *pics d'absorption inversés*.
- la zone comprise entre 500 et 1500 cm^{-1} environ est caractéristique de la molécule (on parle de carte d'identité, de signature, ou d'empreinte digitale de la molécule) : cette zone n'est pas interprétée.
- la zone comprise entre 1500 et 3500 cm^{-1} environ est caractéristique des *liaisons* : c'est la zone que l'on interprète pour connaître la structure de la molécule.

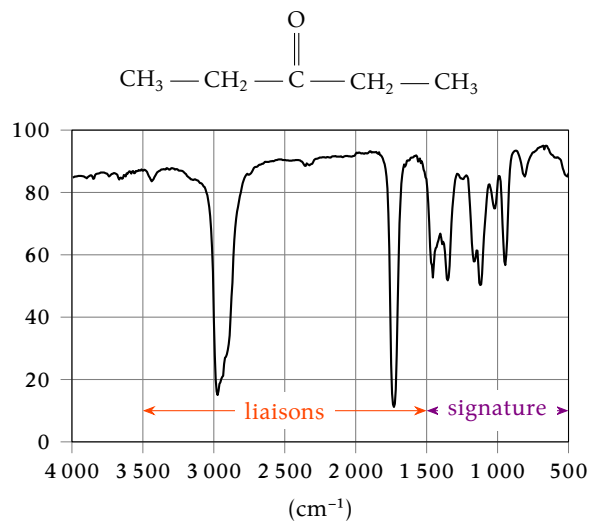


FIG. 11 – Spectre IR de la pentan-3-one.

III.3. Tables spectroscopiques IR

La FIG. 12 donne les zones où l'on rencontre les principales liaisons rencontrées dans les molécules organiques.

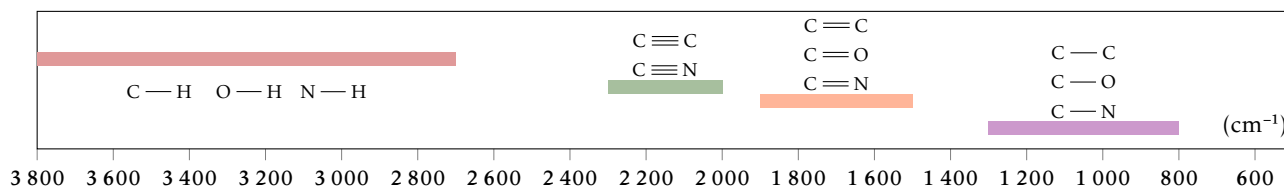


FIG. 12 – Plages de nombre d'ondes selon le type de liaisons.

Les valeurs caractéristiques des liaisons ne sont pas à mémoriser ; elles sont fournies dans des tables (TAB. 1 ci-dessous).

C—H	C=C	C—O	C=O	O—H _(g)	O—H _(l)	N—H
≈ 3000	≈ 1650	≈ 1200	≈ 1750	≈ 3600	≈ 3300	≈ 3300
faible			forte	fine	très large	

TAB. 1 – Nombres d'onde caractéristiques (cm^{-1}) des liaisons les plus courantes. Les tables précisent parfois la forme des pics d'absorption (absorption forte ou faible, pic large ou étroit).

Les liaisons O—H et N—H des alcools et des amines changent d'aspect selon que le spectre IR a été réalisé en phase liquide ou gazeuse :

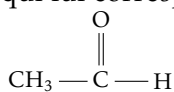
- en phase gazeuse, ces liaisons absorbent faiblement avec un pic fin.
- en phase liquide, en raison de l'implication de ces liaisons dans des **liaisons hydrogène**, de longueurs variables, on observe un pic très large, avec un nombre d'onde plus élevé.

Remarque.

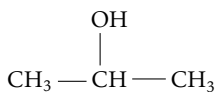
Il est possible qu'une **même liaison** donne lieu à plusieurs pics à des endroits **différents** du spectre.

III.4. Exemple d'interprétation d'un spectre IR

On donne les formules de 3 composés, ainsi que 3 spectres IR. Attribuer chaque spectre à la molécule qui lui correspond.



éthanal



propan-2-ol



butadiène

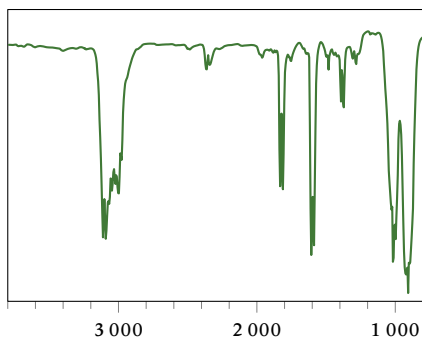


FIG. 13 – Spectre (A)

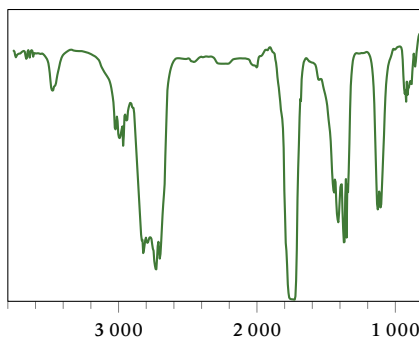


FIG. 14 – Spectre (B)

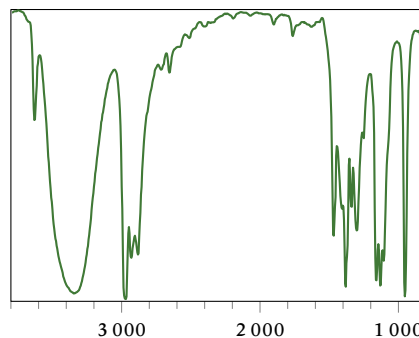


FIG. 15 – Spectre (C)

