

## Cours Spectrométrie UV-Visible

### Quelques définitions

**Spectroscopie** : terme général qui est utilisé pour décrire des méthodes d'analyse basée sur l'absorption, l'émission ou la fluorescence de certaines molécules.

**Spectrométrie** : méthode qui met en œuvre un élément dispersif.

**Méthodes spectroscopiques** : méthodes basées sur l'interaction des radiations.

**Spectre** : graphique qui représente l'absorption, l'émission ou la fluorescence en fonction de la longueur (ou du nombre d'onde pour l'IR)

**Spectre continu** : bande continue de longueur d'onde (soleil)

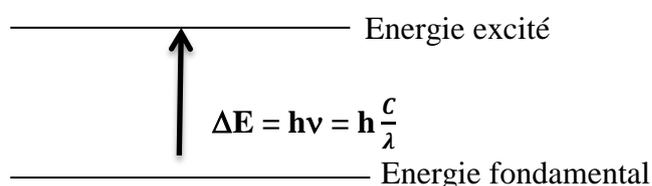
**Spectre discontinu** : spectre de raies (les atomes) ; spectres de bandes (les molécules).

### I. Spectroscopie d'absorption UV-Visible

Etude des interactions entre la matière et un rayonnement électromagnétique.

Une molécule absorbera une radiation de fréquence  $\nu$  s'il existe des transitions nécessitant une énergie

:  $\Delta E = h\nu$       ou  $h = 6,62 \cdot 10^{-34} \text{ J/s}$  (cste de planck)

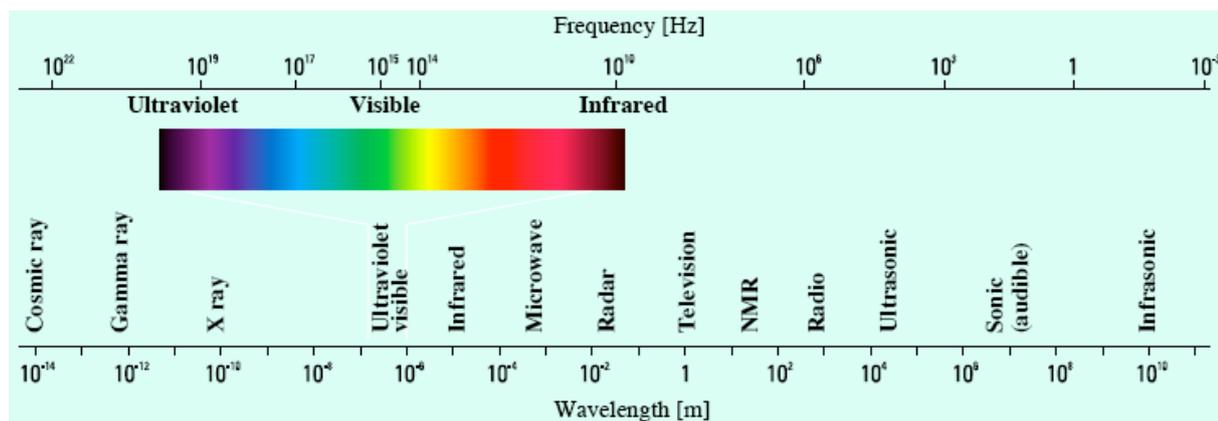


$\nu$  : Fréquence

$\lambda$  : Longueur d'onde

Absorption d'un rayonnement dans le domaine de l'UV-Visible : excitation d'électrons de valence.

## II. Le spectre électromagnétique

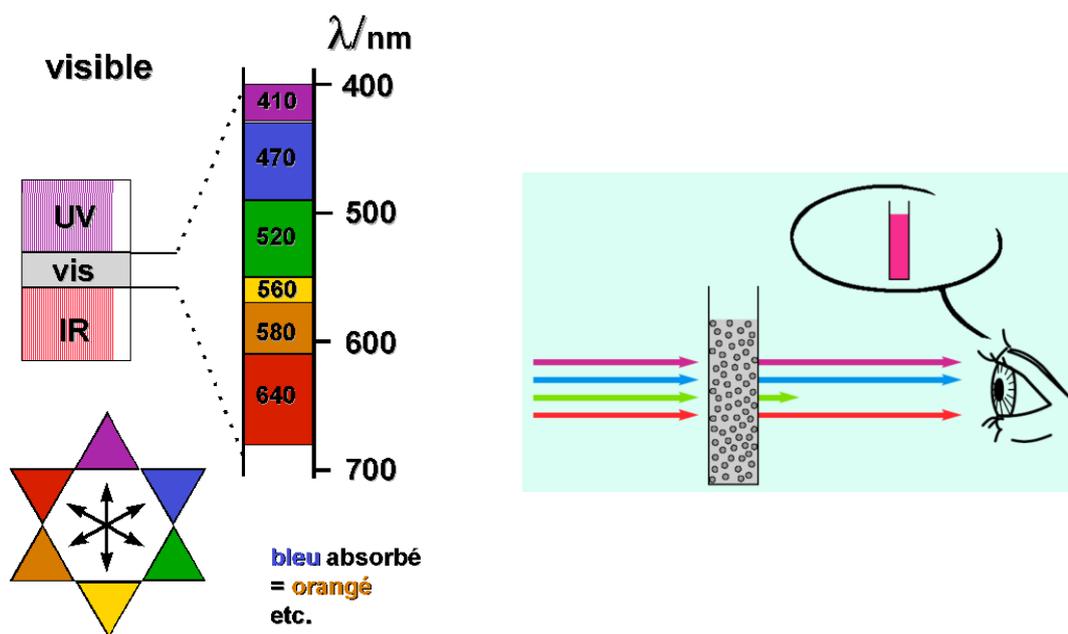


Excitation d'électrons de valence

190-400 nm : proche **UV**

400-700 nm : **Visible**

700-1100 nm : très proche IR



## III. Transitions Électroniques des composés organiques

Les composés de la chimie organique forment l'essentiel des études faites en UV/visible. Les transitions observées ont pour origine les électrons des liaisons **s** ou **p** et les doublets non-liants **n** des atomes tels H, C, N, O. Chaque fois qu'il en est possible, on indique pour toute bande d'absorption sa nature en relation avec les orbitales moléculaires (OM) concernées et le coefficient d'absorption molaire  $\epsilon$  ( $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) calculé au maximum de la bande d'absorption.

### 1- Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$

Elle apparaît dans le lointain UV car le saut d'un électron d'une OM liante  $\sigma$  dans une OM antiliante  $\sigma^*$  demande beaucoup d'énergie. C'est pourquoi les hydrocarbures saturés qui ne présentent que des liaisons de ce type, sont transparents dans le proche UV

Exemple : *hexane* (à l'état gazeux) :  $\lambda_{\max} = 135 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 10\,000$ ).

Le cyclohexane et l'heptane sont utilisés comme solvants dans le proche UV. À 200 nm l'absorbance  $A$  d'une épaisseur de 1 cm d'heptane est égale à 1. Malheureusement, le pouvoir de solvation de ces solvants est insuffisant pour dissoudre de nombreux composés polaires.

De même, la transparence de l'eau dans le proche UV ( $A = 0,01$  pour  $l = 1 \text{ cm}$ , à  $\lambda = 190 \text{ nm}$ ) est due au fait qu'il ne peut y avoir que des transitions  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  et  $n \rightarrow \sigma^*$

### 2- Transition $n \rightarrow \sigma^*$

Le saut d'un électron d'un doublet  $n$  des atomes O, N, S, Cl. dans une OM  $\sigma^*$  conduit à une transition d'intensité moyenne qui se situe vers 180 nm pour les alcools, vers 190 nm pour les éthers ou les dérivés halogénés et vers 220 nm pour les amines.

Exemples : *méthanol* :  $\lambda_{\max} = 183 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 50$ ) ; *éther* :  $\lambda_{\max} = 190 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 2\,000$ )

*éthylamine* :  $\lambda_{\max} = 210 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 800$ ) ; *chloro-1-butane* :  $\lambda_{\max} = 179 \text{ nm}$

### 3- Transition $n \rightarrow \pi^*$

Cette transition peu intense résulte du passage d'un électron d'une OM non liante de type  $n$  à une OM antiliante  $\pi^*$ . On la rencontre pour les molécules comportant un hétéroatome porteur de doublets électroniques libres et appartenant à un système insaturé. La plus connue est celle qui correspond à la bande carbonyle, facilement observable, située entre 270 et 295 nm. Le coefficient d'absorption molaire est faible.

Exemple : *éthano* :  $\lambda_{\max} = 293 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 12$ , dans l'éthanol comme solvant).

### 4- Transition $\pi \rightarrow \pi^*$

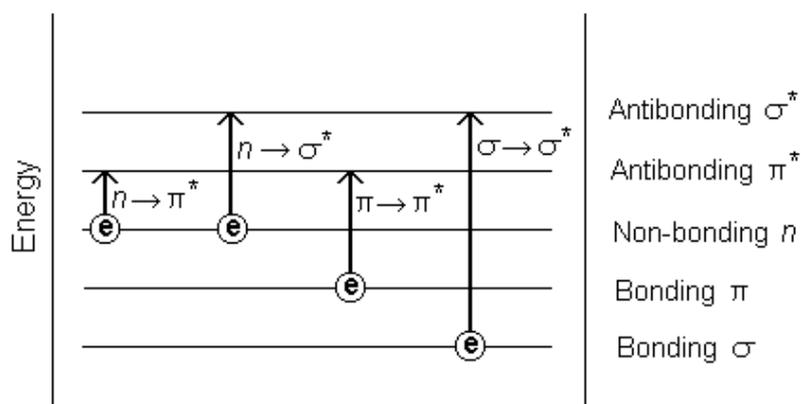
Les composés qui possèdent une double liaison éthylénique isolée conduisent à une forte bande d'absorption vers 170 nm, dont la position dépend de la présence de substituants hétéroatomiques.

Exemple : *éthylène* :  $\lambda_{\max} = 165 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 16\,000$ ).

Un composé transparent dans un domaine spectral, lorsqu'il est pris à l'état isolé, peut devenir absorbant s'il est mis en présence d'une espèce avec laquelle il interagit par un mécanisme du type *donneur-accepteur* (D-A). Ce phénomène est lié au passage d'un électron appartenant à une orbitale liante du donneur (qui devient un cation radicalaire) vers une orbitale vacante de l'accepteur (devenu un anion radicalaire) de niveau énergétique proche. La position de la bande d'absorption sur le spectre est fonction du *potentiel d'ionisation* du donneur et de l'*affinité électronique* de l'accepteur ; la valeur de  $\epsilon$  est en général très grande.

## 5-Transition $d \rightarrow d$

De nombreux sels inorganiques, comportant des électrons engagés dans des orbitales moléculaires  $d$ , conduisent à des transitions de faible absorptivité situées dans le domaine visible, responsables de colorations. Ainsi les solutions des sels métalliques de titane  $(\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_6)^{+++}$  ou de cuivre  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{++}$  sont bleues, le permanganate de potassium donne des solutions violettes, etc..



## IV. Groupements Chromophores

Les groupes fonctionnels des composés organiques (cétones, amines, dérivés nitrés, etc.) responsables de l'absorption en UV/VIS sont appelés *groupements chromophores*. Une espèce formée d'un squelette carboné transparent dans le proche UV et porteur d'un ou de plusieurs chromophores constitue un chromogène.

Nom	Chromophore	$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{max}}$ ( $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )
amine	$-\text{NH}_2$	195	3 000
oxime	$=\text{NOH}$	190	5 000
nitro	$-\text{NO}_2$	210	3 000
nitrite	$-\text{ONO}$	230	1 500
nitrate	$-\text{ONO}_2$	270	12
nitroso	$-\text{N}=\text{O}$	300	100

**Chromophores isolés** : pour une série de molécules possédant le même chromophore, la position et l'intensité des bandes d'absorption restent sensiblement constantes. Si une molécule possède plusieurs chromophores isolés, c'est-à-dire n'interagissant pas l'un sur l'autre parce que séparés par au moins deux liaisons simples, on observe la superposition des effets de chacun des chromophores individuels.

**Chromophores des systèmes conjugués** : quand les chromophores interagissent l'un sur l'autre, le spectre d'absorption est déplacé vers les grandes longueurs d'onde (*effet bathochrome*) avec augmentation de l'intensité d'absorption (*effet hyperchrome*). Un cas particulier est celui des systèmes conjugués, c'est-à-dire des structures organiques comportant plusieurs chromophores insaturés séparés entre eux par une liaison simple. Le spectre est alors fortement perturbé par rapport à la simple superposition des effets produits par les chromophores isolés. Plus le nombre d'atomes de carbone, sur lequel le système conjugué s'étend est élevé, plus l'écart entre le niveau des orbitales frontières diminue. Cela se traduit par un effet bathochrome très important.

## v. Effet de l'environnement sur les transitions

**Groupe chromophore** : groupement insaturé covalent responsable de l'absorption.

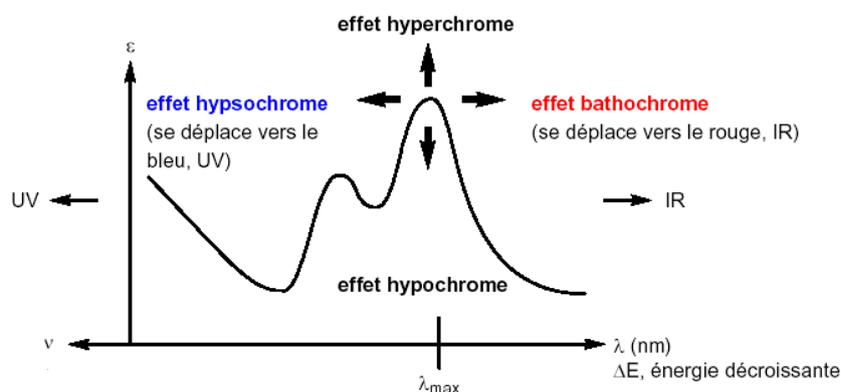
Exemples : C=C, C=O, C=N, C≡C, C≡N...

**Effet bathochrome (*red shift*)**: déplacement des bandes d'absorption vers les grandes longueurs d'onde.

**Effet hypsochrome (*blue shift*)**: déplacement des bandes d'absorption vers les courtes longueurs d'onde.

**Effet hyperchrome** : augmentation de l'intensité d'absorption.

**Effet hypochrome** : diminution de l'intensité d'absorption.

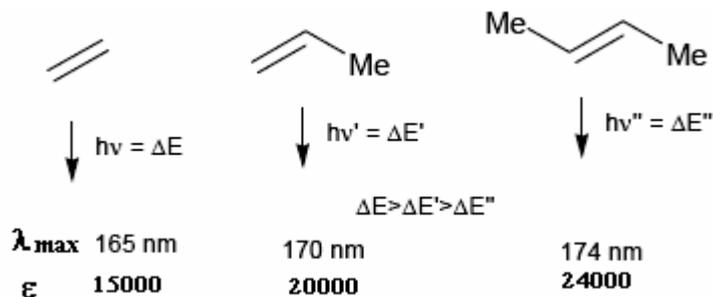


### a) Effet du pH

Le pH du milieu dans lequel est dissous l'analyte peut avoir un effet important sur le spectre. Parmi les composés qui manifestent cet effet de manière spectaculaire, on trouve les indicateurs colorés dont le changement de couleur est mis à profit au cours de dosages acidimétriques. C'est ainsi qu'on peut repérer les points d'équivalence.

### b) Effet de la substitution

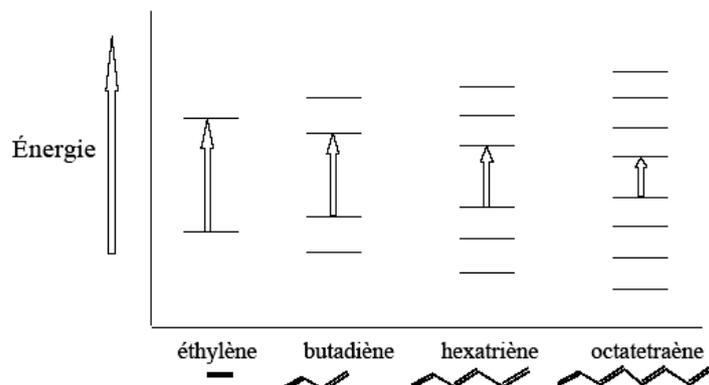
La position de la bande d'absorption dépend de la présence ou non de substituants sur le groupement chromophore. Par exemple, plus le groupe éthylénique est substitué, plus la bande d'absorption due à la transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  est déplacée vers le visible : effet bathochrome.



Pour les substituants à effet mésomère (auxochromes) portés par un chromophore C=C ou C=O, les paires d'électrons non-appariées peuvent participer à la résonance, augmentant la conjugaison d'une molécule : -OH, -OR, -X, -NH<sub>2</sub>, ... d'où des effets bathochrome et hyperchrome.

### c) Effet de la conjugaison

L'enchaînement d'insaturations entraîne la délocalisation des électrons  $\pi$ . Cette délocalisation qui traduit la facilité des électrons à se mouvoir le long de la molécule est accompagnée d'un rapprochement des niveaux d'énergies.



Il en découle un effet bathochrome et un effet hyperchrome sur la bande d'absorption correspondant à la transition  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

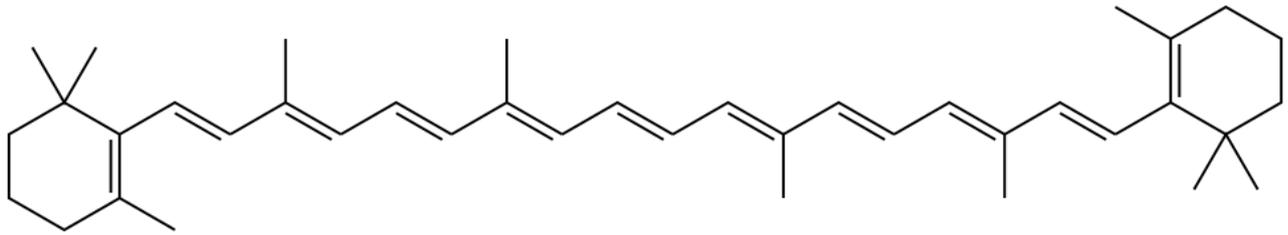
Composé	$\lambda_{\max}$	$\epsilon_{\max}$
Ethylène	165	15000
Buta-1, 3-diène	217	20900

Le même effet est observé sur la transition  $n \rightarrow \pi^*$ .

Composés	transition $\pi \rightarrow \pi^*$	transition $n \rightarrow \pi^*$
Propanone	188 nm	279 nm
Méthyl isobutylocétone	236 nm	315 nm

**Remarque :** Le déplacement bathochrome est à l'origine de la couleur de nombreux composés naturels dont les formules semi-développées présentent des chromophores conjugués étendus.

Ainsi la couleur orangée du  $\beta$ -carotène (formule ci-dessous), provient de la réunion de onze doubles liaisons conjuguées:  $\lambda_{\max} = 497$  et  $466$  nm (dans le chloroforme)

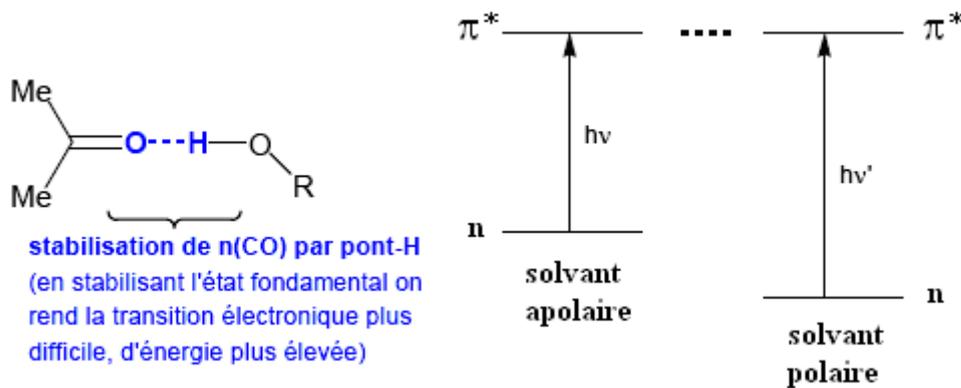


Pour les aromatiques polynucléaires, plus le nombre de cycles condensés augmente, plus l'absorption se déplace vers de plus grandes longueurs d'onde jusqu'à ce qu'elle atteigne la région du visible.

#### d) Effet de solvant

La position, l'intensité et la forme des bandes d'absorption des composés en solution dépendent du solvant. Ces changements traduisent les interactions physiques soluté-solvant qui modifient la différence d'énergie entre état fondamental et état excité.

**Cas de la transition  $n \rightarrow \pi^*$  :** Ex. du groupement carbonyle des fonctions cétones.



Avant l'absorption, la liaison  $\delta^+\text{C}=\text{O}^{\delta-}$  est stabilisée par un solvant polaire. Il faut plus d'énergie pour provoquer la transition  $\Rightarrow \lambda$  **diminue par augmentation de la polarité du solvant.**

**Cas de la transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  :** Si l'état excité est plus polaire que l'état fondamental, c'est la forme excitée qui est stabilisée par un solvant polaire.  $\Delta E$  diminue  $\Rightarrow \lambda$  **augmente par augmentation de la polarité du solvant.**

**Par augmentation de la polarité du solvant :**

Transition  $n \rightarrow \pi^*$  : effet hypsochrome

Transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  : effet bathochrome

## VI. Techniques Expérimentales

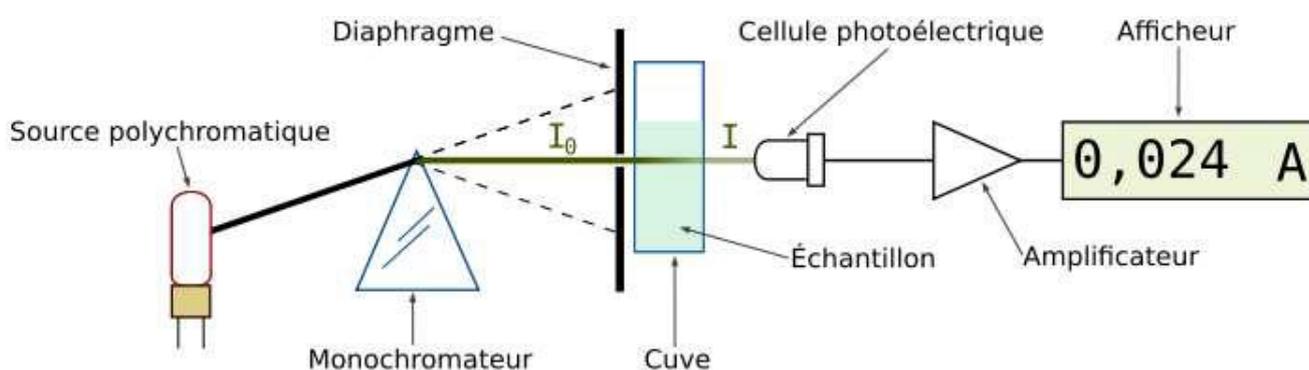
### 1 - Appareillage

L'étude des absorptions nécessite l'utilisation d'un appareil appelé spectromètre.

Un spectrophotomètre UV-visible est constitué de :

✓ d'une **source de lumière blanche**

- ✓ d'un **monochromateur** permettant de sélectionner une radiation monochromatique de longueur d'onde précise.
  - ✓ d'un **séparateur de faisceau**. En sortie du séparateur, un faisceau traverse la cuve contenant le solvant (généralement de l'eau distillée), un second faisceau traverse la solution à analyser.
  - ✓ d'un **détecteur** Le détecteur est un tube photomultiplicateur qui convertit la lumière reçue en courant. Ce type de détecteurs est de plus en plus remplacé par des photodiodes (semi-conducteurs) plus sensibles.
- Le détecteur est relié à un enregistreur qui permet de tracer un spectre d'absorption de l'échantillon analysé.
- La figure suivante représente le schéma de principe d'un *spectromètre d'absorption UV- visible double*



## 2-Echantillonnage

Les composés peuvent être étudiés dans divers états physiques (gazeux, liquide, solide ...). La plupart du temps, l'étude se fait en solution.

### 2.1 - Solvants

Pour l'étude en solution, le composé doit être dissous dans un solvant convenablement choisi : il doit dissoudre le produit et être transparent (n'absorbe pas) dans la région examinée

### 2.2 - Cellules

La solution à étudier doit être placée dans une cellule ou cuve.

Les cellules de mesure sont généralement des tubes parallélépipédiques de 1x1 cm de côté et 4 à 5 cm de hauteur. Elles sont en quartz pour le domaine UV-visible. Le verre est réservé aux mesures dans le domaine visible uniquement.

Le spectre UV-Visible est le tracé de A (absorbance) en fonction de  $\lambda$  (en nm) Bande d'absorption caractérisée par :

sa position  $\lambda_{max}$  (nm) et son intensité  $\epsilon_{max}$  ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ) ou coefficient d'absorption molaire

**Loi de Beer-Lambert :**  $A = \epsilon lc = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \log\left(\frac{1}{T}\right)$

T : transmittance

## VII. Intérêts de la spectroscopie UV-Visible

- large domaine d'applications (Chimie minérale, organique, biochimie), 90% des analyses médicales
- analyses **quantitatives** (loi de Beer-Lambert)
- grande sensibilité : limite de détection  $\approx 10^{-5}$  M
- précision : 1 - 5% erreur
- simplicité, rapidité.

### 1 - Analyse qualitative

Le spectre UV ou visible ne permet pas l'identification d'un produit mais celle du groupement chromophore qu'il contient.

### 2 - Analyse quantitative

L'analyse quantitative par la spectrométrie UV-visible est très employée grâce à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert. Ces mesures ont des applications dans divers domaines :

- En laboratoire :
- Suivi de la cinétique d'une réaction
- Mesure des constantes de dissociation d'acides et de bases ou des constantes de complexation.
- Détermination de la composition d'un mélange (benzène dans le cyclohexane)
- Etude d'isomérisation cis-trans ou de tautomérie
- Police scientifique
- Expertise judiciaire
- Environnement :
- Ozone dans l'air des villes
- Métaux lourds dans l'eau
- Mesure du phénol dans l'eau (à la bande 200-300 nm)
- Matière organique, matières en suspension, nitrates contenus dans l'eau
- Lutte antidopage
- Agroalimentaire
- Mesure des couleurs
- Pharmacie :
- Dosage du fer dans un médicament
- Dosage des molécules actives dans une préparation pharmaceutique
- Parfums et cosmétiques : les crèmes solaires contiennent des filtres UV ou « écrans solaires ».

## Exemple 1

**6 → Étudier un spectre UV-visible**

L'indigo, dont le spectre UV-visible en solution aqueuse est donné ci-contre, est un colorant provenant des feuilles de l'indigotier.

1. Dans quels domaines du spectre la solution d'indigo absorbe-t-elle ?
2. Justifier le fait que l'indigo soit une substance colorée.
3. À quelle longueur d'onde se situe le maximum d'absorbance d'une solution d'indigo ? Dans quelle zone du spectre électromagnétique se situe-t-elle ?

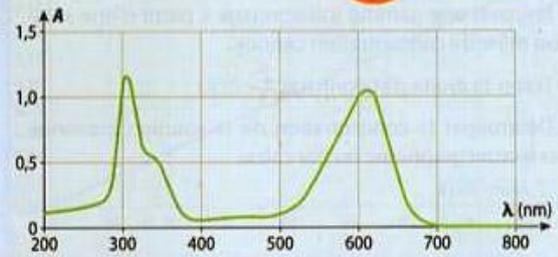
**Solution rédigée**

1. La solution d'indigo absorbe à la fois dans l'UV (longueurs d'onde inférieures à 400 nm) et le visible (longueur d'ondes entre 400 et 750 nm) mais pas dans le proche infrarouge (longueur d'onde au-delà de 750 nm).
2. La molécule absorbe une partie des rayonnements du domaine du visible, elle est donc colorante.
3. Le maximum d'absorbance se situe à la longueur d'onde  $\lambda = 320$  nm. Elle se situe dans l'UV.

**Point méthode**

→ **Comment se repérer dans un spectre UV-visible ?**  
Tracer une ligne verticale positionnée à la longueur d'onde  $\lambda = 400$  nm, et une seconde ligne verticale positionnée à  $\lambda = 750$  nm. Ces deux lignes partagent le spectre en 3 parties : UV/visible/IR.

→ **Comment savoir si une substance est colorée ?**  
Sur le spectre UV-visible, repérer le domaine du visible : 400-750 nm. Si l'absorbance de la solution est non nulle pour certaines longueurs d'onde de ce domaine (ou si la transmittance n'est pas égale à 100 %), elle est colorée.



## Exemple 2

Une eau polluée contient du chrome ( $M = 52 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) à la concentration massique d'environ 0,1 ppm. On choisit, pour son dosage, le complexe  $\text{Cr}^{\text{VI}}$  avec le diphénylcarbazide ( $\lambda_{\text{max}} = 540 \text{ nm}$ ,  $\epsilon_{\text{max}} = 41\,700 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ).

Proposer une valeur du trajet optique de la cuve pour que l'absorbance soit de l'ordre de 0,40.

## Exemple 3

Les peintures et vernis extérieurs doivent être protégés de l'effet des radiations solaires pour ralentir leur dégradation (photolyse et réactions photochimiques).

Quelle doit être la concentration, en  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , d'un additif UV ( $M$ ) pour que 90 % du rayonnement soit absorbé sur une épaisseur de 0,3 mm ?

Données :  $M = 500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  ;  $\epsilon_{\text{max}} = 15\,000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  pour  $\lambda_{\text{max}} = 350 \text{ nm}$ .

## Références :

- [1] F. ROUESSAC., A. ROUESSAC. -Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes. Cours et exercices corrigés. 1<sup>er</sup> Cycle/Licence Pharmacie. 6<sup>ème</sup> édition. DUNOD, Paris 2004.
- [2] D.A. SKOOG., D.M. WEST., F.J. HOLLER. -Fundamental of Analytical Chemistry (7 th Int. Ed), Saunders College Publishing, 1996.
- [3] T.R SREEKRISHAN, T.R. TYAGI.-Heavy metal leaching from sewage sludge's: A Techno-Economic Evaluation of the Process options 2005.
- [4] J.VANDEGANS., A-M. KERSABIEC., M. HOENIG.-Technique de l'ingénieur. Traité d'analyse et caractérisation. P2825 .p1-27. 2006.
- [5] P.GALEZ. -Mesures physiques Techniques spectrométriques et nucléaires, Absorption atomique et émission de flamme. 2006.