

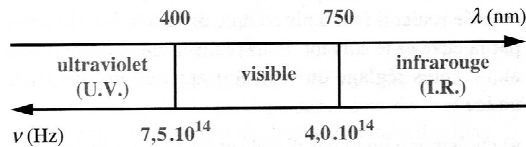
Spectrophotométrie

1 INTERACTION LUMIÈRE - MATIÈRE

La **spectrophotométrie** est l'étude quantitative des interactions entre la lumière et la matière.

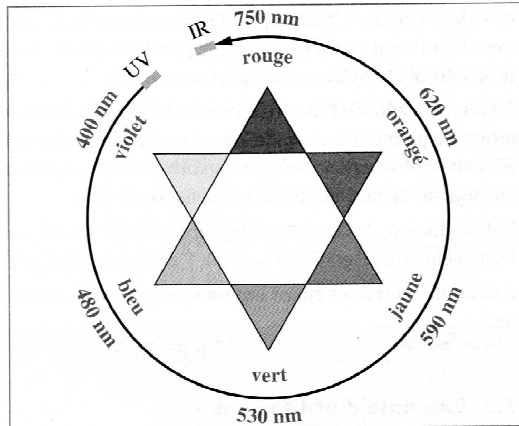
Lorsque de la lumière traverse une substance, elle est en partie **transmise** et en partie **absorbée**.

Une substance colorée absorbe dans le domaine visible du spectre des radiations électromagnétiques (doc. 1) : $400 \text{ nm} < \lambda < 750 \text{ nm}$.



Doc. 1. Domaines et caractéristiques des ondes électromagnétiques.

Les radiations absorbées ont généralement la couleur complémentaire de celle de la solution traversée (doc. 2).



Doc. 2. Étoile des couleurs complémentaires : deux couleurs complémentaires sont diamétralement opposées.

2 LOI DE BEER - LAMBERT

2.1. Énoncé

Les lois régissant l'absorption de la lumière par une substance colorée ont été formulées en 1730 par J.H. LAMBERT et généralisées aux solutions par A. BEER en 1852.

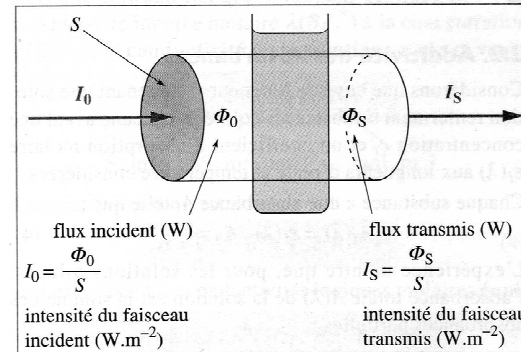
Soit une cuve de longueur ℓ contenant une solution d'une substance colorée à la concentration c . Un faisceau de lumière monochromatique de longueur d'onde λ traverse cette solution ; soit $I_0(\lambda)$, l'intensité lumineuse de ce faisceau à l'entrée de la cuve et $I(\lambda)$, son intensité à la sortie (doc. 3). L'absorption de cette lumière par la solution peut être caractérisée par deux grandeurs : la **transmittance** et l'**absorbance**.

■ La **transmittance T** donne le pourcentage de lumière de lumière que transmet la solution :

$$T(\lambda) = \frac{\Phi_S(\lambda)}{\Phi_0(\lambda)} = \frac{I_S(\lambda)}{I_0(\lambda)} \quad (1)$$

■ L'**absorbance A**, souvent encore appelée *densité optique*, est définie par :

$$A(\lambda) = \log_{10} \frac{1}{T(\lambda)} = \log_{10} \frac{I_0(\lambda)}{I_S(\lambda)} \quad (2)$$



Doc. 3. Intensité $I(\lambda)$ et flux lumineux $\Phi(\lambda)$.

L'expérience montre que pour une solution peu concentrée en substance absorbante, l'absorbance $A(\lambda)$ est, à une température donnée, proportionnelle à la longueur de la cuve ℓ et à la concentration c de la substance, ce que traduit la **loi de Beer-Lambert** (doc. 4) :

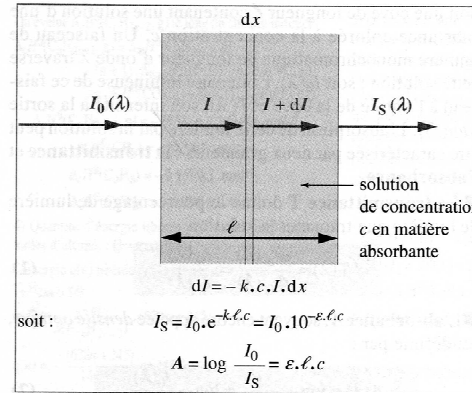
$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) \cdot \ell \cdot c \quad (3)$$

$\varepsilon(\lambda)$ est le **coefficient d'absorption molaire** ou *absorbance linéique molaire* de la substance considérée. Ce coefficient dépend de :

- la nature de la substance ;
- la longueur d'onde de la lumière ;
- la nature du solvant ;
- la température.

L'absorbance est une grandeur sans dimension ; dans les unités cohérentes du Système International, ℓ est une longueur exprimée en m, la concentration est en $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$, aussi $\varepsilon(\lambda)$ s'exprime-t-il en $\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$.

Remarque : Lorsque la longueur est en cm, la concentration en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\varepsilon(\lambda)$ s'exprime en $\text{cm}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$.



Doc. 4. Loi de Beer-Lambert.

2.2. Additivité des absorbances

Considérons une cuve de longueur ℓ contenant une solution renfermant n substances colorées, chacune ayant une concentration c_i et un coefficient d'absorption molaire $\varepsilon_i(\lambda)$ aux longueurs d'onde et température considérées.

Chaque substance a une absorbance A_i telle que :

$$A_i(\lambda) = \varepsilon_i(\lambda) \cdot \ell \cdot c_i \quad (4)$$

L'expérience montre que, pour les solutions diluées, l'absorbance totale $A(\lambda)$ de la solution est la somme des absorbances partielles :

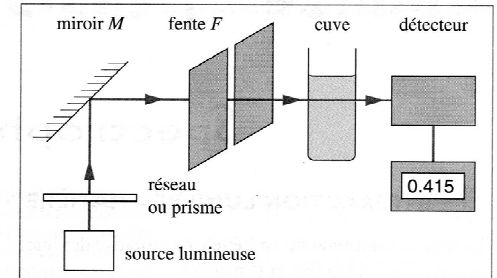
$$A(\lambda) = \sum_{i=1}^{i=n} A_i(\lambda) = \ell \cdot \sum_{i=1}^{i=n} \varepsilon_i(\lambda) \cdot c_i \quad (5)$$

3 MESURES SPECTROPHOTOMÉTRIQUES

3.1. Le spectrophotomètre

Le document 5 présente le schéma de principe d'un spectrophotomètre monofaisceau, appareil généralement présent dans les laboratoires.

La rotation du miroir M permet de choisir la longueur d'onde de la lumière qui va traverser la cuve, après traversée de la fente F .



Doc. 5. Schéma de principe d'un spectrophotomètre monofaisceau.

3.2. Réalisation de mesures

Afin d'étudier l'absorption de la lumière par la substance colorée seule, il faut tenir compte de la lumière absorbée par la cuve et le solvant. Pour réaliser une mesure il faut alors, après réglage du zéro de l'appareil en suivant la notice :

- choisir une longueur d'onde et les filtres appropriés ;
- remplir aux deux tiers, la cuve avec le solvant en veillant à ce que ses parois soient bien propres, la placer dans le spectrophotomètre et régler la transmittance sur 1,00 ou l'absorbance sur 0,00 ;

- vider la cuve, la rincer, puis la remplir aux deux tiers avec la solution étudiée, sécher ses parois, la placer dans le spectrophotomètre et lire la valeur affichée.

La remise à zéro de l'absorbance avec le solvant, doit être effectuée pour toute nouvelle longueur d'onde λ , les coefficients d'absorption molaire du solvant et du matériau constituant la cuve dépendant, eux aussi, de λ .

Si l'on dispose de deux cuves rigoureusement identiques, l'une peut être réservée au solvant, l'autre à la solution.

Attention : certaines cuves ont un sens passant à respecter.

3.3. Exemple d'utilisations

Un spectrophotomètre permet, par exemple :

- d'étudier le spectre d'absorption d'une solution colorée c'est-à-dire de tracer le graphe $A(\lambda) = f(\lambda)$, et de le comparer à des spectres connus ;
- de déterminer la concentration d'une substance colorée dans une solution après étalonnage avec des solutions de concentrations connues ;
- de suivre à tout instant la concentration d'une substance colorée, réactif ou produit au cours d'une réaction lente...