

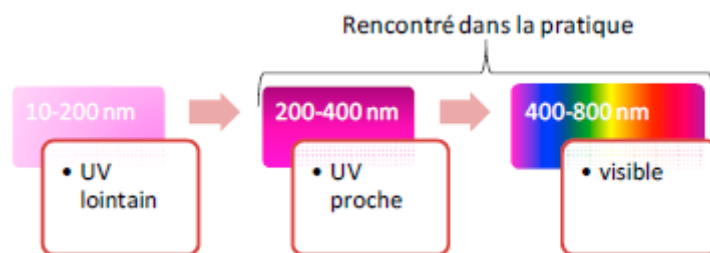
La Spectroscopie d'absorption UV-Vis

I. Introduction

La spectrométrie UV-visible est le plus souvent employé en analyse quantitative par application de la loi de Beer-Lambert. Cette technique trouve son champ d'application dans le domaine organique et ainsi que dans le domaine inorganique d'où son intérêt quant à son utilisation dans le domaine pharmaceutique (dosage des principes actifs de médicaments).

II. Domaine énergétique

Le domaine UV-vis s'étend de 800 à 10 nm environ. Mais dans la pratique, on se limite seulement au domaine du proche UV au visible (200-800 nm).



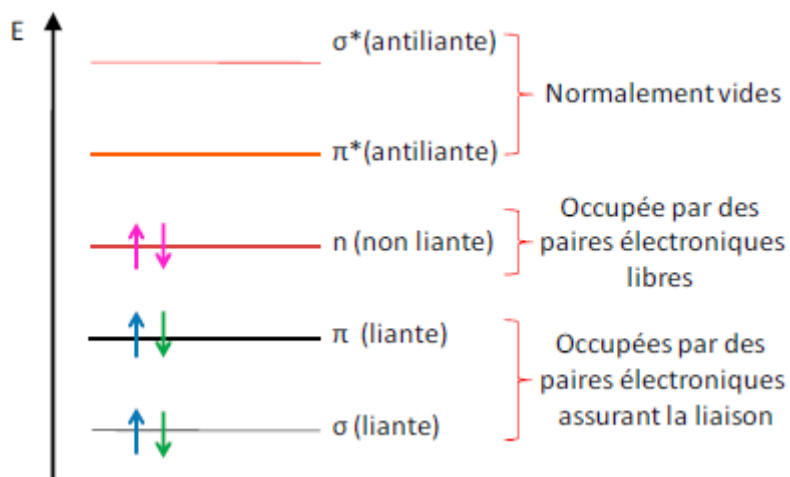
Les appareils courants fonctionnent à partir de 200 nanomètres donc le lointain UV n'est pas accessible aux mesures dans ces conditions.

II.1. propriétés de l'absorption UV

- **210-280 nm** : propriété bactéricide (désinfections) UV-C.
- **280-315nm** : favorise la production de la vitamine D qui est antirachitique (assimilation du calcium) UV-B
- **315-400 nm** : favorise la pigmentation de la peau UV-A.

III. Théorie UV/VISIBLE

Rappelons le diagramme simplifié d'une molécule (celui-ci représente les niveaux énergétiques électronique d'une molécule de façon simple).



Ordre énergétique des orbitales moléculaires (ordre croissant)

IV. Types des transitions électroniques envisageables

Comme dans le cas des transitions électroniques atomiques, ce type de transition est gouverné par des règles de transition électroniques (moléculaires). Il existe quatre types de transitions électroniques (il y en a d'autres !) qui peuvent avoir lieu au sein des molécules quand celles-ci absorbent certaines radiations UV-vis.

Type d'électrons rencontrés σ , π et n (doublet non liant).

Les caractéristiques de ces électrons :

électron (σ) : caractérisent les liaisons saturées (fortement liées)

électron (π) : caractérisent les liaisons insaturées faiblement liées)

électron (n) : doublet non Liant.

IV.1. Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$

Cette transition demande beaucoup d'énergie vue la grande stabilité qu'offre l'orbitale σ aux électrons qui l'occupent. La bande d'absorption correspondante se situe dans l'UV lointain (vers 130 nm). La majorité des composés organiques montrent de telle transition.

(non exploitable par les appareils usuels car trop énergétique si $\lambda < 200 \text{ nm}$).

Exemple : méthane (vers 125 nm).

IV.2. Transition $n \rightarrow \sigma^*$

Ce type de transition est observé pour les molécules ayant un doublet n d'un hétéroatome comme les alcools, les amines, dérivés halogénés.... Cette transition donne une bande d'absorption d'intensité moyenne qui se situe à l'extrême limite du proche UV (vers 200 nm) (exploitable par les appareils usuels si $\lambda \geq 200 \text{ nm}$).

Exemple : Méthanol (vers 180 nm).

IV.3. Transition $\pi \rightarrow \pi^*$

Ce type de transition se produit dans les molécules ayant une double liaison. Cette transition donne une bande d'intensité forte (165-200 nm). La transition $\pi \rightarrow \pi^*$ est une transition largement modulable (effet bathochrome).

Exploitable pour les longueurs d'onde $\lambda > 200 \text{ nm}$ lorsqu'elles apparaissent dans les molécules conjuguées elles portent le nom de bande K (C=C-C=C).

IV.4. Transition $n \rightarrow \pi^*$

Ce type de transitions se produit dans les molécules ayant un hétéroatome porteur de doublets électroniques libres appartenant à un système insaturé (270-280 nm).

Exploitable par des appareils courants et ont leur origine dans le groupement tels que C=O, N=O, N=N, etc... elle présente un faible coefficient d'absorption ϵ ($\epsilon_{max} < 100$) on les appelle bandes R quel que soit le type de molécule.

Exemple : carbonyle.

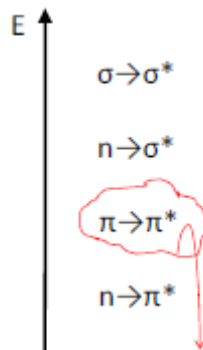
Exemple d'étude : représenter les transitions $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$, pour les molécules suivantes CH_4 , CH_3Cl , C_2H_4 et $\text{H}_2\text{-C=O}$.

Remarques

1. Les transitions $\sigma \rightarrow \sigma^*$ et $n \rightarrow \sigma^*$ ne sont pas exploitables pour des raisons techniques.
2. Les transitions $n \rightarrow \pi^*$ nécessitent un peu d'énergie, mais l'absorption est également faible et l'énergie de transition augmente en présence des solvants polaires. Par conséquent, cette transition est rarement utilisée dans les analyses quantitatives.
3. La transition la plus fréquemment utilisée est la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ pour les raisons suivantes :
 - a. L'absorption lors de la transition est relativement élevée (grande sensibilité) ;
 - b. L'énergie nécessaire est modéré, beaucoup moins que l'énergie de dissociation.

IV.5. Ordre énergétique des transitions électroniques

Pour qu'une transition électronique puisse ait lieu, il lui faut fournir de l'énergie. Cette énergie est spécifique pour chaque transition.



IV.6. Perception des couleurs

- La couleur aperçue est le complémentaire de ce qui est absorbé.
- Lorsqu'une espèce chimique n'absorbe que dans un seul domaine de longueurs d'onde du visible, sa couleur est la couleur complémentaire de celle des radiations absorbées.
- Lorsqu'une espèce chimique absorbe plusieurs domaines de longueurs d'onde, sa couleur résulte de la synthèse additive des couleurs complémentaires des radiations absorbées.
- Une espèce incolore n'absorbe aucune radiation du spectre visible.

Longueur d'onde (nm)	Couleur absorbée	Complémentaire
380-435	Violet	Jaune-Vert
435-480	Bleu	Jaune
480-490	Bleu verdâtres	Orange
490-500	Vert-bleu	Rouge
500-560	Vert	Rouge-Pourpre
560-580	Jaune-vert	pourpre
580-595	Jaune	Bleu
595-650	Orange	Bleu verdâtre
650-780	Rouge	Vert-Bleu

V. Propriété de transitions

V.1. chromophore

En sens générale, un chromophore est caractéristique d'une transition électronique donnée il sera donc caractéristique par λ_{\max} et ϵ_{\max} . le chromophore sera donc saturé ou insaturé (selon la structure de la molécule). Dans la majeure partie des cas, le chromophore est lié par l'insaturation (détectable par les appareils courants), par exemple : C=O, C=N, N=N etc....

Autrement, un chromophore est la partie de la molécule qui contient les électrons impliqués dans une transition donnant lieu à une absorption.

Molécule	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max} (l.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
CH ₄	122 ($\sigma \rightarrow \sigma^*$)	Fort
C ₂ H ₄	170 ($\pi \rightarrow \pi^*$)	15000
C ₆ H ₆	200 ($\pi \rightarrow \pi^*$)	8000
CH ₃ Br	204 ($n \rightarrow \pi^*$)	200
CH ₃ -C=O-CH ₃	280 ($n \rightarrow \pi^*$)	15
	190 ($\pi \rightarrow \pi^*$)	1100
	156 ($\sigma \rightarrow \sigma^*$)	fort
Azo (N=N)	350	11

V.2. Groupement auxochrome

Un groupement auxochrome n'absorbe pas la lumière par soi-même, à moins qu'il soit attaché à un groupement chromophore. Dans ce cas, il peut modifier soit la position de l'absorption (λ_{\max}) ou l'intensité de l'absorption (I_{\max}). Cela résulte des interactions qui s'établissent entre les doublets électroniques libres portés par un atome du groupement auxochrome (N, O, S...) et les électrons formant la liaison π du groupement chromophore (généralement augmentent la résonance). Comme groupements auxochromes, on trouve -OH, -NH₂, -NO₂, les halogènes(-X).

V.3. Effet bathochrome

Déplacement des bandes d'absorption vers les grandes longueurs d'ondes.

C=C (174 nm) ; C=C-C=C (220 nm) ; C=C-C=C-C=C (258 nm).

Cela est dû à la délocalisation électronique qui facilite les transitions énergétiques en réservant les niveaux entre eux. Lorsque n augmente n supérieur à 10 alors l'absorption se produit dans le visible.

V.4. Effet hypsochrome (L'inverse de l'effet bathochrome)

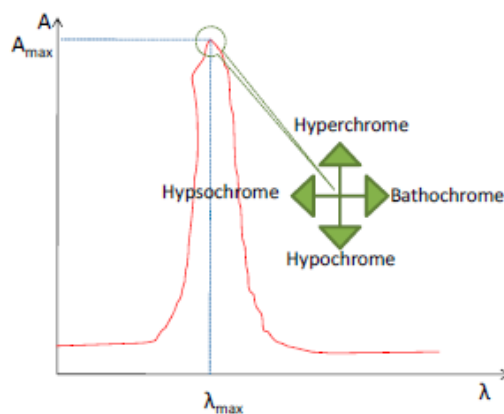
Déplacement des bandes d'absorption vers les courtes (faible) longueurs d'ondes.

V.5. Effet hyperchrome

Augmentation de l'intensité d'absorption.

V.6. Effet hypochrome

Diminution de l'intensité d'absorption.



Variation du λ_{\max} et A_{\max} et la terminologie correspondante.

VI. Loi de l'absorption (Beer-Lambert)

L'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée est proportionnelle à sa concentration et à la distance parcourue par le rayonnement :

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) \times l \times C$$

C : concentration de l'espèce dissoute en solution (analyte)

l : largeur de la cuve (chemin parcouru par la lumière)

ε_{\max} : coefficient d'absorption molaire (caractérise vraiment l'intensité de l'absorption de l'espèce à λ_{\max}).

A : Absorbance ou densité optique D_0

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

Remarque :

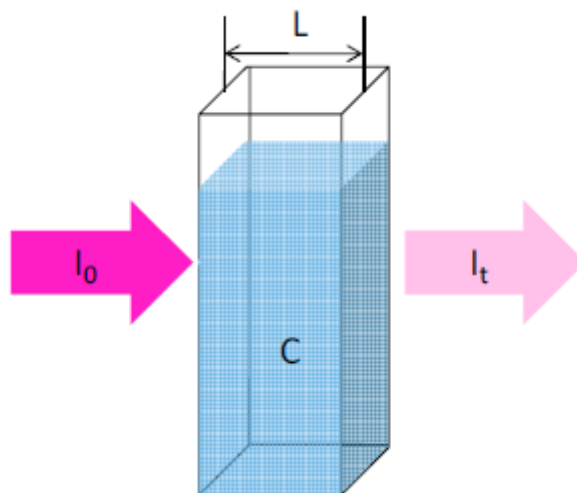
Il existe une corrélation entre l'absorbance et la transmittance (T) (en l'exprime souvent en pourcentage):

$$A = -\log (T)$$

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

I : lumière transmise

I_0 : lumière incidente.



Cuve contenant une solution traversée par un rayonnement UV-vis.

VI.1. Conditions d'utilisation de la loi de Beer-Lambert

Les conditions sont les suivants :

- la lumière doit être monochromatique
- les solutions utilisées ne doivent pas être colloïdale. ce qui éviterait les pertes du rayonnement par réflexion ou diffusion.
- les solutions doivent être diluées $C < 10^{-2}M$
- la nature de la substance à analyser ne doit pas varier avec la concentration (dissociation polymérisation etc...).

VI.2. additivité de la loi de Beer-Lambert

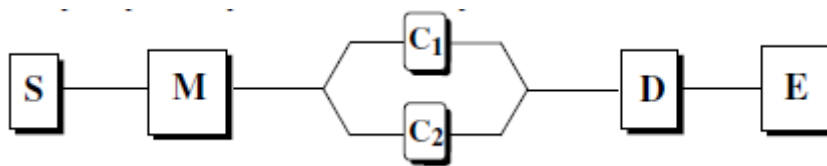
Si l'on a un mélange de substance c'est $C_1, C_2 \dots C_n$ et que celui-ci est traversé par un rayonnement monochromatique alors la densité optique totale de ce mélange est égal à la somme des densités optique (ou absorbance) partielles due à chaque substance.

$$(D_0)_T = (D_0)_1 + (D_0)_2 + (D_0)_3 + \dots + (D_0)_n$$

$$(D_0)_T = \epsilon_1 C_1 l_1 + \epsilon_2 C_2 l_2 + \epsilon_3 C_3 l_3 + \dots + \epsilon_n C_n l_n.$$

VII. Appareillage

Le schéma de principe d'un spectromètre UV est représenté ci-dessous :



S (source) : on distingue le mono faisceau et le double faisceau. Il balaie la plage de longueur d'onde de 200 à 800 nm.

M : monochromateur (prisme ou réseau).

C₁ et C₂ : cellule de référence et d'analyse respectivement.

UV : cellule en quartz

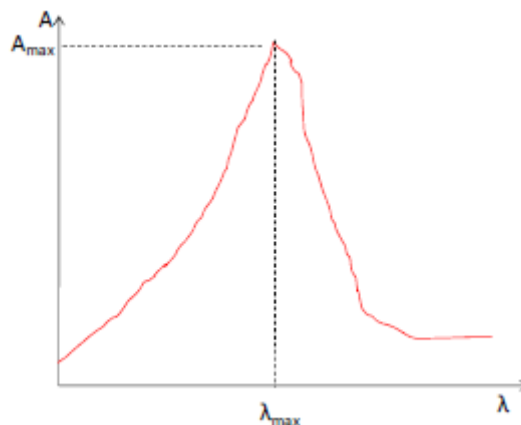
Visible : cellule en quartz ou verre.

D : Détecteur ; transforme l'énergie radiante en courant électrique mesurable par effet photoélectrique.

E : enregistrement du spectre.

VII.1. Procédure et présentation des spectres

Un échantillon à analyser est placé dans une cuve (liquide) et soumis à un rayonnement monochromatique UV-vis de longueur d'onde λ soit fixe (pour avoir l'absorbance à une longueur d'onde bien déterminée) ou variable (pour tracer un spectre). L'appareil compare alors les deux faisceaux d'intensités respectives I_t et I_0 et trace le spectre UV-vis : $A=f(\lambda)$. Dans le cas échéant, il fournit des valeurs de l'absorbance. Un spectre d'absorption UV-vis est un graphique représentant en abscisses la longueur d'onde et en ordonnée l'intensité de l'absorbance.



Spectre typique d'absorption UV-vis.

Le spectre peut contenir une ou plusieurs bandes d'absorption et chaque bande est caractérisée par :

- L'abscisse de son maximum : λ_{max}
- La valeur du coefficient d'absorption molaire ϵ_{max} au maximum de l'absorbance A_{max} .

VIII. Application

VIII.1. Analyse qualitative et quantitative

VIII.1.1. Analyse qualitative

Les spectres UV-vis fournissent généralement peu de renseignements sur la structure moléculaire des composés.

VIII.1.2. Analyse quantitative (dosage)

L'analyse quantitative par la spectroscopie UV-vis est très employée (beaucoup plus que l'analyse qualitative) grâce à l'application de la loi de Beer-Lambert.

« La concentration d'un analyte peut être déterminée par la mesure de son absorbance ».

Deux cas sont envisageables :

- a) l'analyte à étudier absorbe dans le domaine UV-vis
- b) l'analyte à étudier n'absorbe pas dans le domaine UV-vis. Dans ce cas, on peut le faire réagir avec un réactif chromophore pour former un produit absorbant. (Cette réaction de dérivatisation doit être quantitative).

Remarque

Les spectres UV-visible fournissent souvent des renseignements insuffisants sur la structure du composé. Ils sont le plus souvent obtenus en phase liquide (quelques fois en face gazeuse).

Solvant : le choix du solvant est important dans cette technique. Il doit être :

- inerte vis-à-vis du soluté (ou composé à analyser)
- transparent à la longueur d'onde utilisée.

L'eau distillée est transparente au-delà de 200 nm, CH_3Cl est transparent au-delà de 230 nm. Le solvant doit être débarrassé de toutes les impuretés avant d'être utilisé.