

LA SPECTROSCOPIE DANS L'UV-VISIBLE

La spectroscopie d'absorption dans l'UV et le visible est une méthode très commune dans les laboratoires. Elle est basée sur la propriété des molécules d'absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée. Elle permet l'analyse structurale de certaines molécules (utilisation rare), mais elle est souvent réservée aux analyses quantitatives par l'emploi de la loi de Beer-Lamber. Au fait, les composés qui ont un spectre d'absorption UV-VIS sont ceux qui peuvent absorber des photons où l'énergie correspond des longueurs d'ondes s'arrangeant dans le domaine 100nm-800nm. En revanche, le domaine 100nm-190nm (UV lointain ou UV de vide, dans cette région, l'oxygène O_2 et le CO_2 de l'air absorbent les radiations ; il en est de même le verre et le quartz. Les mesures nécessitent des appareils spéciaux : il faut opérer en atmosphère d'azote : ce type de spectroscopie n'est pas utilisable de manière courante).

1. Domaine spectral

La zone du spectre électromagnétique UV-VIS est divisée à son tour en :

- La région UV-lointain : pour les longueurs d'ondes comprises entre 100 nm - 190 nm (Fig.01).
- La région UV-proche : pour les longueurs d'ondes comprises entre 200 nm - 400 nm (Voir Fig.01).
- La région du visible : pour les longueurs d'ondes comprises entre 400 nm - 800 nm (Fig.01).

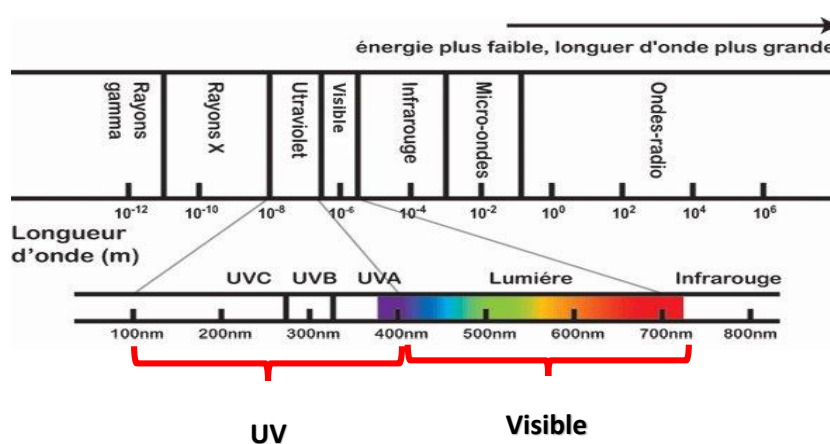


Figure 01. Domaine spectral Uv-Vis (100-800nm).

2. Principe et règles de sélection

Le phénomène d'absorption dans l'UV-VIS est basé sur l'interaction des photons de la source lumineuse avec les espèces d'un échantillon (ions, molécules). Ce phénomène permet aux électrons de valence des atomes et des molécules de passer d'un état fondamental (liante σ et π ou non liante n) à un état excité (anti-liante σ^* ou π^*), dont l'état fondamental représente une orbitale moléculaire occupée et l'état excité représente une orbitale moléculaire vacante. L'énergie absorbée responsable de ces transitions électroniques correspond à la différence d'énergie (ΔE) entre l'état fondamental et l'état excité.

3. Spectre d'absorption

Un spectre UV-Visible est le tracé de l'absorbance (ou de la Transmittance T) en fonction de la longueur d'onde λ (en nm). La bande d'absorption est caractérisée par sa position en longueur d'onde ($\lambda_{\max}$) et par son intensité reliée au coefficient d'extinction molaire $\varepsilon_{\max}$ ($A = \varepsilon l C$) ; la valeur de ε peut indiquer si la transition est permise ou interdite.

Si l'échantillon n'absorbe pas la lumière d'une longueur d'onde donnée, alors $I=I_0$. Cependant, si le composé de l'échantillon absorbe la lumière, alors I est inférieur à I_0 , et cette différence peut être tracée sur un graphique par rapport à la longueur d'onde. L'absorption peut être présentée comme transmittance ($T=I/I_0$) ou absorbance ($A = \log I_0 / I$). Si aucune absorption n'a eu lieu, $T=1$ et $A=0$. La longueur d'onde de l'absorbance maximale est une valeur caractéristique, désignée par $\lambda_{\max}$ (Fig. 02).

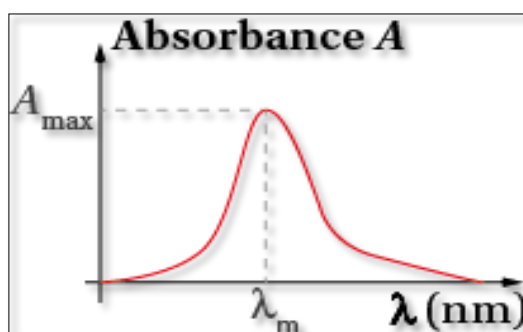


Figure 02. Absorbance maximale à une longueur d'onde $\lambda_{\max}$.

4. Les principales transitions électroniques observables en spectrométrie UV-Vis

Les transitions électroniques correspondent au passage des électrons des orbitales moléculaires liantes (σ et π) ou non liantes (n) remplies, vers des orbitales moléculaires antiliantes (σ^* ou π^*) non remplies (Fig.03) :

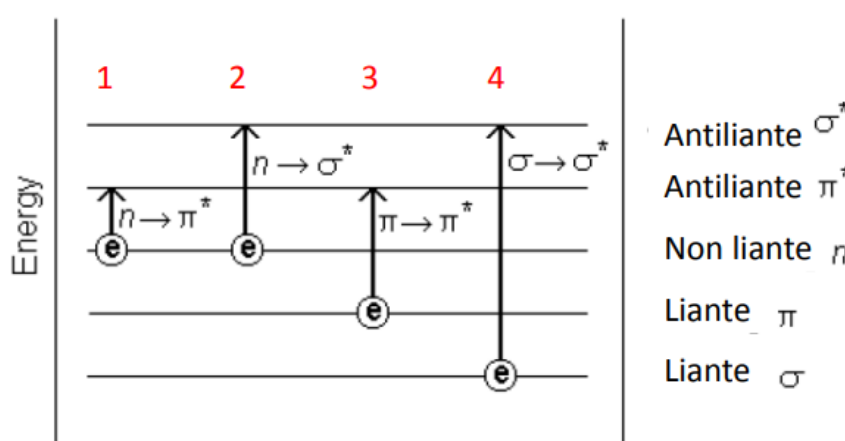


Figure 03. Diagramme d'Orbitale Moléculaire (DOM) : Prévion des transitions possibles.

➤ **Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$**

Elle correspond au passage d'un électron d'une orbitale moléculaire (OM) liante σ à une OM anti liante σ^* . Cette transition demande beaucoup d'énergie. La bande correspondante est intense et située dans l'UV-lointain, vers 130 nm.

➤ **Transition $n \rightarrow \pi^*$**

Cette transition résulte du passage d'un électron d'une OM non-liante n à une OM anti liante π^* . Ce type de transition a lieu dans le cas des molécules comportant un hétéroatome porteur de doublets électroniques libres dans un système insaturé. Exemple : $\text{C}=\text{O}$ (270-280nm).

➤ **Transition $n \rightarrow \sigma^*$**

Le transfert d'un électron du doublet n d'un hétéroatome (O, N, S, Cl...) à un niveau σ^* est observé pour les alcools, les éthers, les amines ainsi que pour les dérivés halogénés. Elles correspondent à des longueurs d'ondes comprises entre 150 et 250 nm.

➤ **Transition $\pi \rightarrow \pi^*$**

Forte intensité, résulte du déplacement d'un électron d'une OM liante π à une autre anti-liante π^* (molécules possédant de doubles liaisons). Exemple : $\text{C}=\text{C}$ (165nm).

5. Techniques expérimentales

5.1. Appareillage

L'étude des absorptions nécessite l'utilisation d'un appareil appelé spectrophotomètre. Les spectromètres UV-visible comportent **une source de lumière** suivie d'un **monochromateur**,

d'un compartiment pour placer les échantillons, puis d'un **dispositif de réception (détecteur)** associé à un **dispositif de traitement** des données permettant au final le tracé d'un spectre (Voir la figure suivante).

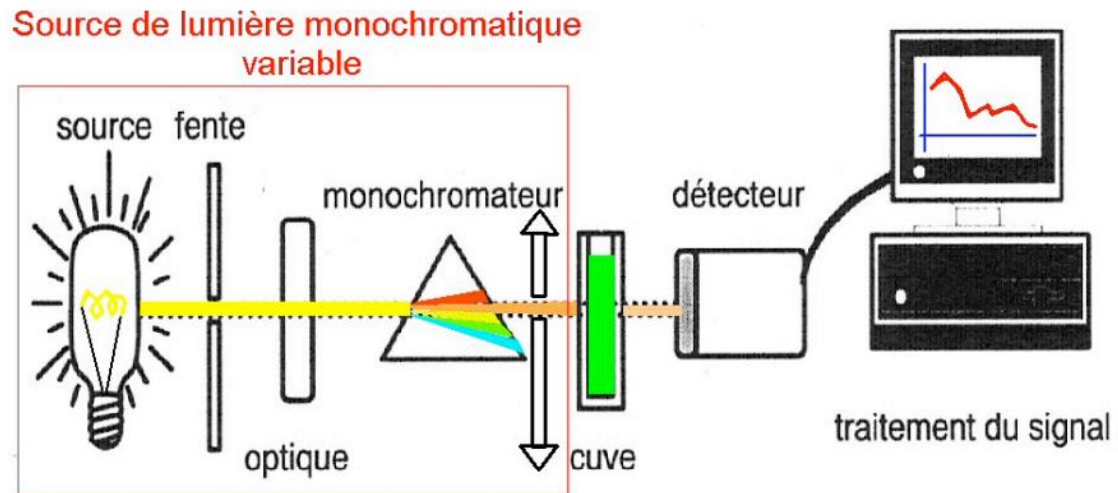


Figure 04. Différents composants d'un spectrophotomètre.

✚ Source lumineuse

- Lampe à décharge au deutérium utilisée dans le domaine de 190 à 400 nm avec un maximum d'émission à 652.1nm (Fig.05(a)),
- Une lampe à filament de tungstène pour la région allant de 350 à 800 nm (Fig.05(b)),
- Une lampe à décharge au xénon (utilisée dans le domaine UV et visible) (Fig.05 (C)).

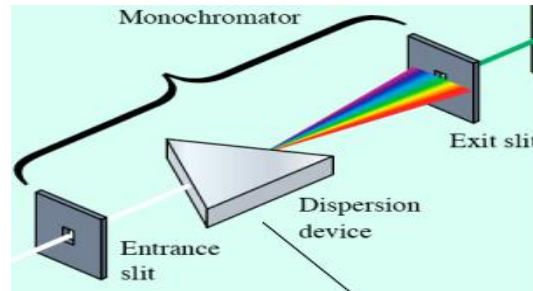


Figure 05. Lampe à arc au deutérium –a-, et à filament de tungstène –b- et lampe à décharge au xénon –c-.

✚ Monochromateur

S'utilise pour sélectionner une longueur d'onde précise. Il constitue d'une fente d'entrée, un système dispersif et une fente de sortie qui sélectionne une seule longueur d'onde.

Le système dispersif permet de décomposer la lumière émise de la source lumineuse en ses différentes radiations, il peut être un prisme, un réseau ou holographique) (Figure 06).



+ Cellule de mesure

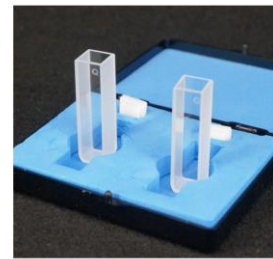
Tubes parallélépipédiques 'Cuvette' à base carrée de 1cm de trajet optique, dans lequel se trouve l'échantillon. Elle peut être **en plastique** (milieu aqueux) (Figure 07 -a-) ou **en verre** (milieu aqueux et organique) (Figure 07 -b-) qui s'utilise dans le visible. Les cuves **en quartz** sont destinées aux utilisations dans l'UV (Figure 07 -C-).



-a- En plastique



-b- En verre



-C- En quartz

Figure 07. Modèles des cuves utilisées en spectrophotomètre.

+ Détecteur photoélectrique

Un système de mesure de l'intensité lumineuse, basé sur la transformation d'un signal lumineux en signal électrique. Il doit fournir une réponse sur une large gamme de longueur d'onde et très sensible aux signaux reçus. Il peut être soit :

- un tube photomultiplicateur,
- soit une photodiode au silicium (semi-conducteur/détecteur à transfert de charge),
- soit une barrette de diodes. Dans ce dernier le système dispersif (polychromatique) se trouve après la cellule d'échantillon car il est basé sur la collection de toutes les informations en même temps.

Traitement des données

Les spectrophotomètres actuels sont en générale pilotés par des ordinateurs équipés de logiciels plus ou moins sophistiqués.

NB : Il existe différentes catégories de spectrophotomètres. Au fait, des spectrophotomètres conventionnels qui utilisent un monochromateur situant **avant** la cellule d'analyse et des spectrophotomètres à barrettes d'iodes constituant un polychromateur situant **après** la cuve d'analyse (Fig. 08). Les deux catégories peuvent être présentes sous deux configurations, mono et double faisceau (Fig. 09).

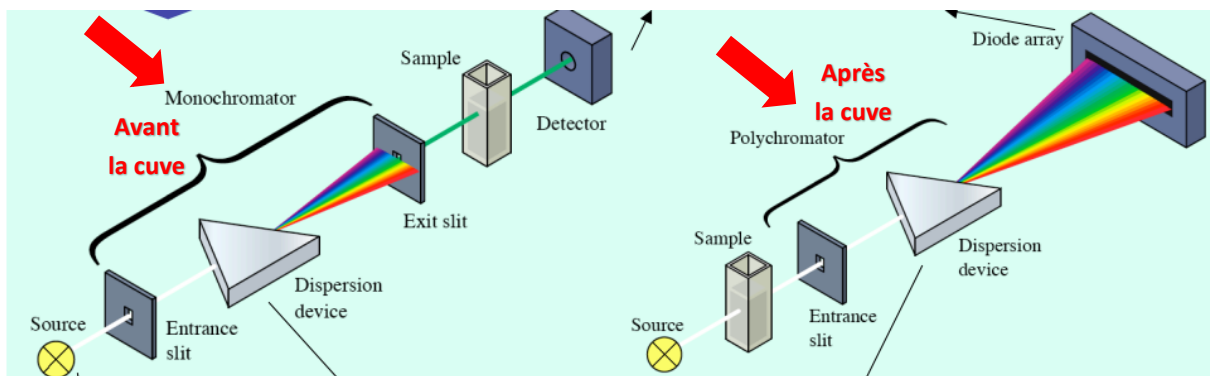


Figure 08. Positionnement des systèmes dispersifs avant et après la cuve.

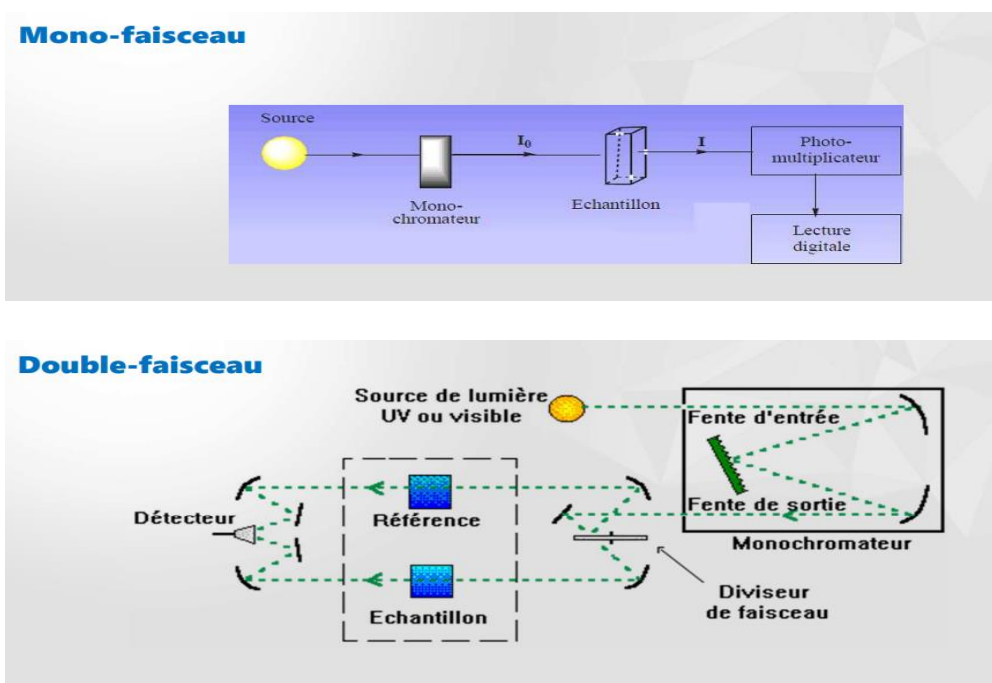


Figure 09. Spectrophotomètre mono et double faisceau.

5.2. Applications de la spectroscopie UV-VIS

✓ Analyse quantitative

- Méthode directe : En utilisant la loi de Bee-Lamber, $A = \epsilon.l.C$, on peut calculer la concentration C d'une substance (ϵ connu) après la mesure de son absorbance : $A = f(C)$.

✓ En biochimie clinique

Cette méthode permet en biochimie clinique de doser de nombreux paramètres essentiellement sérique ou plasmique (sérum ou plasma) : le glucose, cholestérol, triglycérides, protéines (hémoglobine, albumine, ...), urée, créatinine et calcium.

✓ Dans le domaine végétal

- Dosage des polyphénols (méthode de Folin Ciocalteu)
- Dosage des flavonoïdes (méthode d' $AlCl_3$)
- Dosage des tannins (méthode de la catéchine)
- Dosage des caroténoïdes, de la vitamine C, des alcaloïdes,

✓ En enzymologie : Dosage des enzymes et des substrats (Voir la section Dosage enzymatique).

Spectrophotomètre UV-Visible



Photo d'un spectrophotomètre UV-Visibles.

Références

Livres

- 1) Burgot, G., & Burgot, J. L. (2011). *Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications: méthodes chromatographiques, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques*. Lavoisier
- 2) Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2003). *Principes d'analyse instrumentale*. De Boeck Supérieur.
- 3) Rouessac, Francis (2011). *Techniques instrumentales d'analyse chimique en 23 fiches*.
- 4) Skoog, D. A., & West, D. M. (2015). *Chimie analytique*. De Boeck Supérieur

Sites Internet

- 1) <https://www.jove.com/science-education/10204/ultraviolet-visible-uv-vis-spectroscopy>
- 2) <https://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/molspec/uvvisab1.htm>
- 3) <https://fr.khanacademy.org/science/organic-chemistry/spectroscopy-jay#uv-vis-spectroscopy>
- 4) <http://www.foad.uadb.edu.sn/mod/book/tool/print/index.php?id=1679>
- 5) <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/uv-vis/spectrum.htm>
- 6) https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie_analytique/spectroscopies/introduction-a-la-spectroscopie-uv-visibl