



FT 5 – Spectrophotométrie

Ce qu'il faut savoir et savoir faire

- Mesurer une absorbance
- Etalonner une chaîne de mesure si nécessaire.
- Déterminer une concentration ou une quantité de matière par spectrophotométrie UV-Visible.

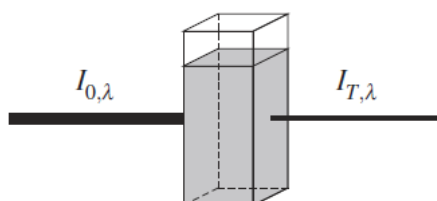
I. Absorbance d'une solution

1. Définition

Lorsqu'une solution est traversée par un rayonnement polychromatique, elle peut atténuer l'intensité des radiations à certaines longueurs d'onde : on dit qu'elle absorbe ces radiations.

☞ La couleur de la solution résulte de la superposition des radiations non absorbées.

Un faisceau de lumière monochromatique (de longueur d'onde λ) d'intensité incidente $I_{0,\lambda}$ traverse une longueur ℓ de solution limpide placée dans une cuve.



Représentation d'une cuve traversée par un faisceau incident d'intensité $I_{0,\lambda}$.

Une partie de la radiation est absorbée par la solution, l'autre est transmise et son intensité est notée $I_{T,\lambda}$.

L'absorbance de la solution est $A = \log\left(\frac{I_{0,\lambda}}{I_{T,\lambda}}\right)$. A est une grandeur mesurable, sans dimension, qui caractérise la capacité d'une espèce chimique colorée à absorber une radiation de longueur d'onde λ . Elle se mesure à l'aide d'un spectrophotomètre.

2. Loi de Beer-Lambert

L'absorbance d'une solution colorée dépend :

- De la nature de la solution colorée (en particulier de l'espèce chimique qui absorbe),
- De la concentration en solution de l'espèce colorée,
- De la longueur d'onde de la lumière monochromatique qui la traverse.

L'absorbance d'une solution diluée est proportionnelle à la concentration de l'espèce absorbante selon la **loi de Beer-Lambert** :

$$A = \varepsilon \ell C,$$

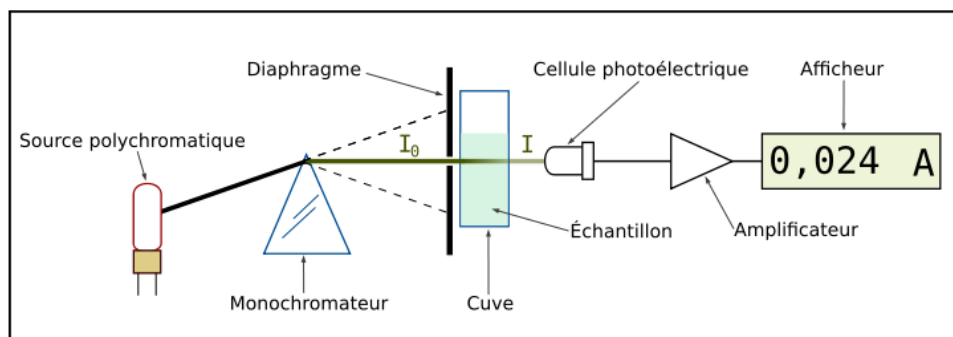
où ℓ est la longueur de la cuve, ε le coefficient d'absorption molaire et C la concentration de l'espèce absorbante.

Conditions de validité :

- La lumière doit être monochromatique
- La concentration ne doit pas être trop grande
- La solution doit être homogène (pas de précipité, ni de formation de gaz)
- Le soluté ne doit pas donner lieu à des réactions sous l'effet de lumière incidente
- Le soluté ne doit pas donner d'associations variables avec le solvant

II. Le spectrophotomètre

1. Schéma de principe



- La lumière polychromatique émise par la source est décomposée par un système dispersif (prisme ou réseau).
- L'ensemble système dispersif (prisme ou réseau) + fente (diaphragme) permet de sélectionner une gamme très étroite de longueurs d'onde.
- La radiation lumineuse choisie traverse une cuve dans laquelle est placée la solution à analyser (échantillon).
- Un détecteur permet de mesurer l'intensité et la longueur d'onde de la radiation lumineuse à la sortie de la cuve.

2. Nécessité de faire un « blanc »

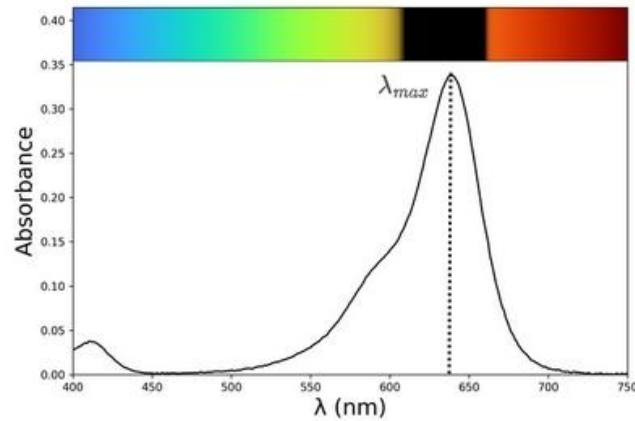
L'absorbance est une grandeur additive donc : $A(\text{échantillon}) = A(\text{cuve}) + A(\text{solvant}) + A(\text{espèce étudiée})$

Seule la dernière absorbance nous intéresse : **on fait donc le zéro de l'appareil avec une cuve remplie du solvant utilisé** ($A(\text{blanc}) = A(\text{cuve}) + A(\text{solvant}) = 0$).

L'absorbance A ainsi mesurée correspond alors à l'absorbance de l'espèce étudiée.

3. Choix de la longueur d'onde

La représentation graphique de l'absorbance A en fonction de la longueur d'onde λ de la lumière incidente constitue le « spectre d'absorption ».



Cette courbe passe par un maximum. C'est à cette longueur d'onde que la sensibilité du spectrophotomètre est la plus grande et qu'il va fournir les mesures les plus précises.

👉 On règle l'appareil sur la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption.

4. Précautions à prendre

- Remplir une cuve de la solution à étudier.
- Remplir une cuve identique avec le solvant de la solution à étudier : c'est la cuve de « blanc ».
- Ne pas toucher avec les doigts les faces d'entrée et de sortie du faisceau lumineux qui doivent être parfaitement propres.
- Les cuves doivent être introduites de manière à ce que les faces propres soient perpendiculaires au faisceau lumineux.

III. Dosage spectrophotométrique avec courbe d'étalonnage

