

## Spectroscopie UV-Visible

### Compétences

- Exploiter des spectres UV-Visible
- Connaître et exploiter la loi de Beer-Lambert
- Connaître le lien entre la couleur perçue d'une espèce chimique organique ou inorganique et la longueur d'onde au maximum de son absorbance

### Compétences expérimentales

- Mettre en oeuvre un protocole expérimental pour caractériser une espèce colorée.
- Mettre en oeuvre une démarche expérimentale pour déterminer la concentration d'une espèce chimique à l'aide de courbes d'étalonnage en utilisant la spectrophotométrie, dans le domaine de la santé, de l'environnement ou du contrôle qualité.

### Plan

#### 1- Qu'est-ce que la spectroscopie ?

#### 2- Spectroscopie UV-Visible

- 2.1- Spectre d'absorption
- 2.2- La loi de Beer-Lambert
- 2.3- Couleur perçue et longueur d'onde maximale
- 2.4- Lien entre couleur perçue et structure chimique des molécules organiques

#### 3- Dosage par étalonnage

#### 4- Exercices d'applications

## 1- Qu'est-ce que la spectroscopie ?

La spectroscopie est une technique physique, permettant l'analyse de la matière grâce à ses interactions avec des radiations électromagnétiques.

## 2- Spectroscopie UV-Visible

### 2.1- Spectre d'absorption

Lorsque les radiations électromagnétiques rencontrent la matière, on observe une interaction entre matière et onde électromagnétique.

On parle de spectroscopie UV-visible, lorsque ces interactions sont observées dans le domaine UV-Visible (UV: 200 à 400nm et Visible 400 à 800nm),

Un spectrophotomètre permet de visualiser ces bandes d'absorptions.

Schéma :

animation : [http://www.ostralo.net/3\\_animations/swf/spectro.swf](http://www.ostralo.net/3_animations/swf/spectro.swf)

On trace ainsi des spectres de transmission, ou bien d'absorption.

Le spectre de transmission renseigne sur tout ce qui n'a pas été absorbé. Le spectre d'absorption se déduit directement du spectre de transmission. Il renseigne sur toutes les radiations absorbées. C'est généralement, en chimie, sur ce spectre que l'on travaille.

Ex: spectrophotomètre

### 2.2- La loi de Beer-Lambert

Pour des espèces chimiques en solution aqueuse, la couleur de celle-ci est souvent due à la présence d'ions en solution. Les ligands qui entourent ces ions sont responsable de la couleur de la solution. Exemple : solution de sulfate de cuivre avec de l'eau distillée, puis avec de l'eau salée.

La loi de Beer-Lambert permet de relier absorbance et concentration en espèce colorée, pour des solutions faiblement concentrées.

$$A(\lambda) = \epsilon_{\lambda} \times l \times c$$

A est l'absorbance sans unité

$\epsilon_{\lambda}$  est le coefficient d'absorption molaire en  $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

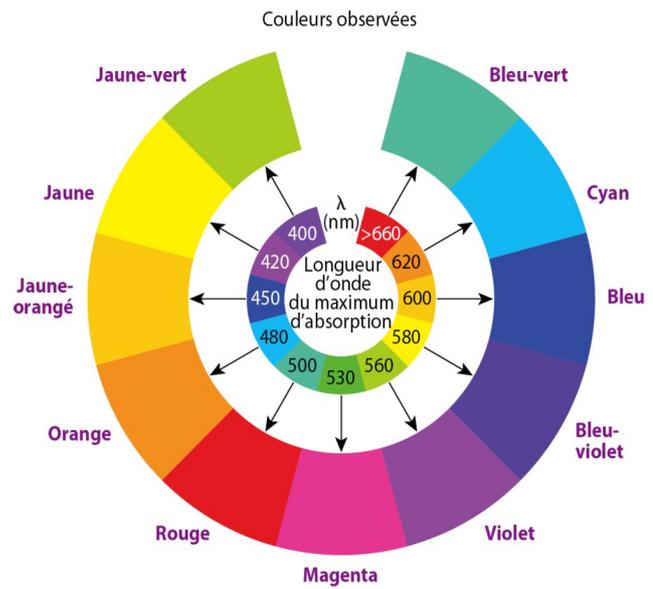
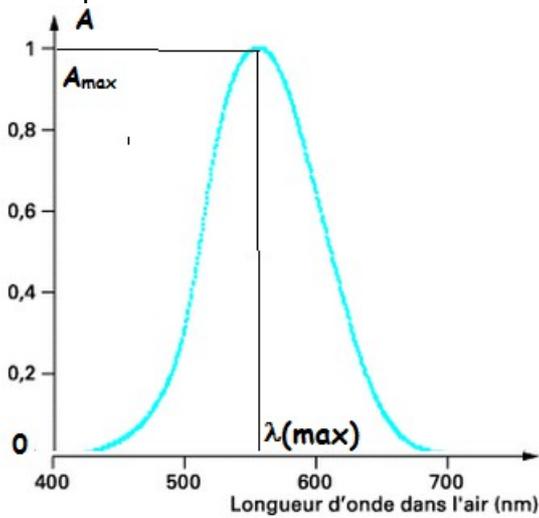
l : longueur de la cuve, en général, en cm

c : concentration en mol/L

**Cf Exercices d'applications à la fin du cours**

## 2.3- Couleur perçue et longueur d'onde maximale

Une espèce chimique est caractérisée en spectroscopie UV-visible par **la longueur d'onde**  $\lambda(\text{max})$  **du maximum d'absorption** et par la valeur du coefficient d'extinction molaire  $\varepsilon(\lambda_{\text{max}})$  correspondante

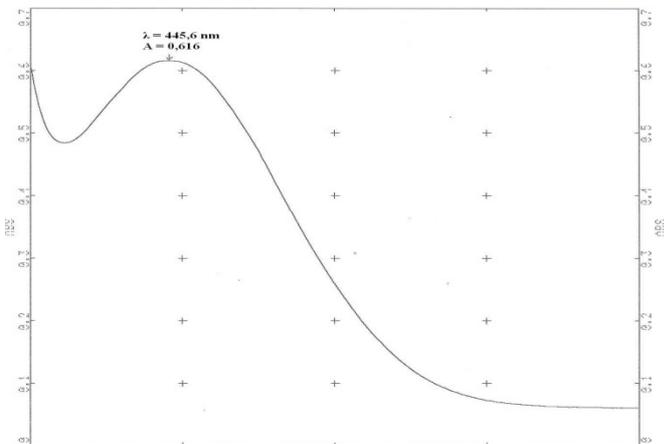


La longueur d'onde du maximum d'absorbance donne une idée de la couleur à l'aide du cercle chromatique et des couleurs complémentaires.

**Exemple:** le spectre d'absorption du dichromate de potassium (compris entre 400 et 600 nm) est le suivant:



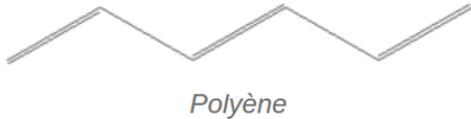
Il absorbe les radiations violettes, bleues et une partie des radiations vertes. Sa couleur est donc la somme des couleurs complémentaires qui sont (d'après le cercle chromatique) le jaune orangé, l'orange et le rouge. La solution a en effet une couleur orangée. Solution de dichromate de potassium ( $2\text{K}^+, \text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ):



## 2.4- Lien entre couleur perçue et structure chimique des molécules organiques

Dans le cas des molécules organiques, c'est la présence de liaisons dites conjuguées. Les électrons de valence délocalisés sur plusieurs atomes peuvent absorber un photon dont la radiation est située dans le visible.

### Liaisons conjuguées



Un polyène est une molécule possédant une succession de simple et double liaison conjuguées

La molécule ci-contre possède 6 atomes de carbone, sa formule brute est donc  $C_6H_8$

La tableau ci-dessous indique les longueurs d'onde du maximum d'absorption de quelques polyènes en fonction du nombre de liaisons conjuguées.

formule	$C_6H_8$	$C_8H_{10}$	$C_{10}H_{12}$	$C_{16}H_{18}$	$C_{22}H_{24}$	$C_{30}H_{32}$
$\lambda$ (nm)	258	296	335	415	470	547

- plus une molécule comporte des doubles liaisons conjuguées, plus les radiations absorbées ont une grande longueur d'onde ( $\lambda_{max}$  absorbée se décale de l'invisible puis vers le bleu, puis vers le rouge – du coup il devient noir)  
( moins de liaisons conjuguées : composé transparent, plus de liaisons conjuguées : composé rouge puis noir)

## 3- Dosage par étalonnage

Le dosage par spectroscopie UV-visible suppose que les espèces mises en jeu sont colorées.

- 1- A partir du spectre d'absorption, définir graphiquement  $\lambda_{max}$
- 2- établir la courbe d'étalonnage à partir de solution colorées dont on connaît les concentrations. C'est à dire tracer  $A=f(c)$  en choisissant  $\lambda_{max}$

Si la solution est suffisamment diluée, la courbe obtenue est une droite passant par l'origine.

Graphique :

- 3- Mesurer l'absorbance de la solution inconnue
- 4- lire graphiquement la concentration correspondante.

## 4- Exercices d'applications

### 7 QCM (Justifier)

1. À la longueur d'onde  $\lambda = 810 \text{ nm}$ , le coefficient d'absorption molaire de l'ion  $\text{Cu}^{2+}$  est  $\epsilon = 11,9 \text{ L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ . Quelle est l'absorbance d'une solution aqueuse de l'ion  $\text{Cu}^{2+}$ , placée dans une cuve d'épaisseur  $l = 1 \text{ cm}$  et de concentration  $c = 0,0500 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  :

- a. 5,95
- b. 0,00595
- c. 0,595
- d.  $0,595 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

2. À la longueur d'onde  $\lambda = 361 \text{ nm}$ , le coefficient d'absorption molaire de la vitamine B12 est  $\epsilon = 27\,500 \text{ L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ . Quelle est la concentration d'une solution aqueuse de vitamine B12, d'absorbance  $A = 1,90$ , placée dans une cuve d'épaisseur  $l = 1 \text{ cm}$  :

- a.  $6,91 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
- b.  $6,91 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
- c.  $6,91 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
- d.  $69,1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

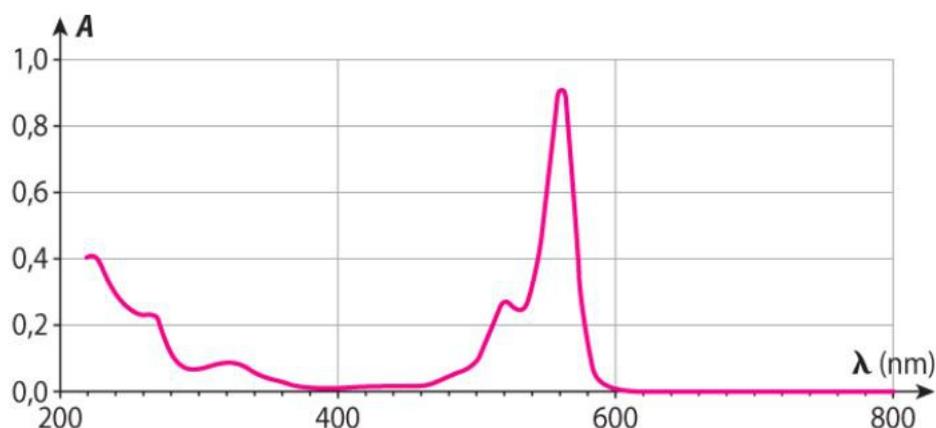
### 8 QROC

À la longueur d'onde  $\lambda = 436 \text{ nm}$ , le coefficient d'absorption molaire de la chlorophylle b est  $\epsilon = 159\,100 \text{ L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ . Une solution de cette chlorophylle, de concentration  $c = 1,00 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  a été étudiée par spectroscopie UV-visible à cette longueur d'onde. L'absorbance mesurée est  $A = 0,796$ .

1. Quelle est l'épaisseur de la cuve dans laquelle la mesure a été faite ?
2. Quelle serait l'absorbance d'une solution placée dans une cuve d'épaisseur  $l = 2 \text{ cm}$  ?

### 9 Le rose bengale

Pour repérer les blessures superficielles de l'œil, l'ophtamologiste dépose sur la cornée quelques gouttes de colorant rose bengale, qui teinte les cellules lésées. Le spectre d'une solution aqueuse de rose bengale de concentration  $c = 1,00 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (cuve d'épaisseur  $l = 1 \text{ cm}$ ) est donné ci-dessous.



1. Déterminer la longueur d'onde associée au maximum d'absorption.
2. Quelle est l'absorbance maximale relevée ?
3. Calculer la valeur du coefficient d'absorption molaire correspondant à cette longueur d'onde.