

Spectroscopie pratique dans le domaine du visible et de l'ultraviolet

par René MEYER, Colette DENIER
et avec la collaboration technique de Ghislaine BIASINI
CAPES - Université Paul Sabatier - 31000 Toulouse

1. INTRODUCTION

La spectroscopie permet au chimiste :

- soit d'obtenir des informations sur les caractéristiques géométriques d'une molécule (arrangement des atomes dans l'espace, nature et force des liaisons chimiques, etc.),
- soit de suivre une réaction chimique en détectant l'apparition d'un produit et dans certains cas d'un intermédiaire réactionnel, ou la disparition d'un réactif.

Que les appareils soient automatiques ou manuels, dans le premier cas on appuie sur des boutons, dans le second on les tourne et l'on obtient une série de valeurs de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde, de la concentration ou du temps, etc.

Il est bon d'avoir un regard critique sur la valeur mesurée. Le but de cet article est de donner des conseils pratiques et de bon sens.

1.1. Présentation de la spectroscopie

Lorsqu'une substance absorbe de la lumière, l'énergie transportée par celle-ci provoque des perturbations dans la structure électronique des atomes, ions ou molécules : un ou plusieurs électrons utilisent l'énergie pour sauter d'un niveau basse énergie à un niveau de plus haute énergie.

Ces transitions électroniques se font dans le domaine du visible, de 350 à 800 nm et de l'ultraviolet entre 200 et 350 nm.

Les colorimètres ont une gamme spectrale Visible de 350 à 800 nm. Les appareils plus performants vont de 200 à 1 100 nm et couvrent les domaines UV + Visible + proche infrarouge.

2. RAPPEL DE QUELQUES DÉFINITIONS

2.1. Transmission T

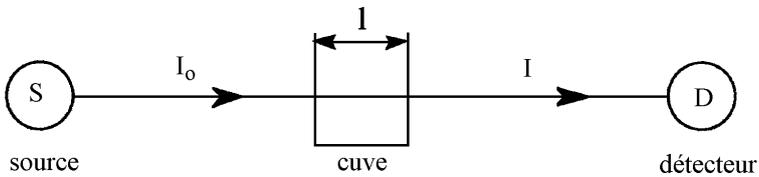


Figure 1

I_0 est l'intensité du faisceau incident et I l'intensité du faisceau émergent après avoir traversé, généralement, une cuvette contenant une solution.

$$T = I/I_0$$

S'il n'y a pas de cuvette $I = I_0$ et il y a 100 % de transmission.

2.2. Absorbance A (appelée dans certains livres plus anciens Densité Optique DO)

$$A = DO = \log I_0/I$$

s'il n'y a pas de cuvette $I_0/I = 1$, $\log I_0/I = 0$ donc $A = 0$

$$A = DO = \log I_0/I = \epsilon l c$$

l : longueur du trajet optique dans la cuvette en centimètre (en général 1 cm).

C : concentration en mol.L^{-1} .

ϵ : coefficient d'absorption molaire défini à une longueur d'onde donnée. C'est une grandeur intrinsèque d'un composé dans des conditions données. ϵ dépend de la température et aussi de la nature du solvant ; s'exprime en $\text{mol}^{-1}.\text{L.cm}^{-1}$.

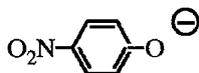
Ainsi pour une solution de paranitrophénol : Oc1ccc(cc1)[N+](=O)[O-]

Dans l'éthanol $\lambda_{\max} = 314 \text{ nm}$, $\epsilon = 10\,700 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ (figure 3).

Dans une solution de HCl à pH = 2 :

$$\lambda_{\max} = 318 \text{ nm}, \quad \epsilon = 9\,800 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$$

Dans une solution aqueuse de soude à pH = 12, $\lambda_{\max} = 400 \text{ nm}$, $\epsilon = 20\,000 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$. Dans l'exemple choisi, le solvant (NaOH) réagit avec le paranitrophénol. Ce que l'on mesure en fait est le coefficient ϵ de l'ion paranitrophénate :



Dans l'eau à pH = 6,8, on a un mélange des deux formes (figure 3 bis).

La qualité d'un spectre ou d'une série de mesures va dépendre de plusieurs facteurs : le domaine de validité de la loi de Beer Lambert, le domaine de longueur d'onde utilisable, le choix des cuves et le choix de la lampe source.

3. DOMAINE DE VALIDITÉ DE LA LOI DE BEER-LAMBERT

$$A = \log I_0/I = \epsilon l c$$

Si ϵ et l sont donnés, l'absorbance est en principe proportionnelle à la concentration. Deux facteurs peuvent modifier cette proportionnalité : la concentration et la sensibilité du détecteur.

3.1. La concentration

Si la solution est trop concentrée, il peut y avoir des interactions soluté - solvant.

3.2. La sensibilité du détecteur

La loi n'est vérifiée que dans un domaine limité de l'absorbance entre 0 et 1,5 voire 2 :

$$0 \leq A \leq 1,5 \quad \text{voire } 2$$

que signifie $A = 1 ; 1,5 ; 2$ ou 3 ?

Si $A = 1$, $I_0/I = 10$ c'est-à-dire que 90 % de la lumière incidente a été absorbée par l'échantillon contenu dans la cuve. Le détecteur ne reçoit plus que 10 % de l'énergie émise par la source.

Si la densité optique est égale à 1,5 ; 2 ou 3, le détecteur ne reçoit plus que 3 % , 1 ou 0,1 % de l'énergie incidente.

On est donc limité par la sensibilité du détecteur et aussi par sa linéarité (voir figures 2 et 3). La figure 2 donne la variation de l'absorption de la lumière entre 200 et 500 nm pour une solution trop concentrée de paranitrophénol dans l'éthanol ($A > 2,8$). Le même spectre pour une solution plus diluée est présenté figure 3.

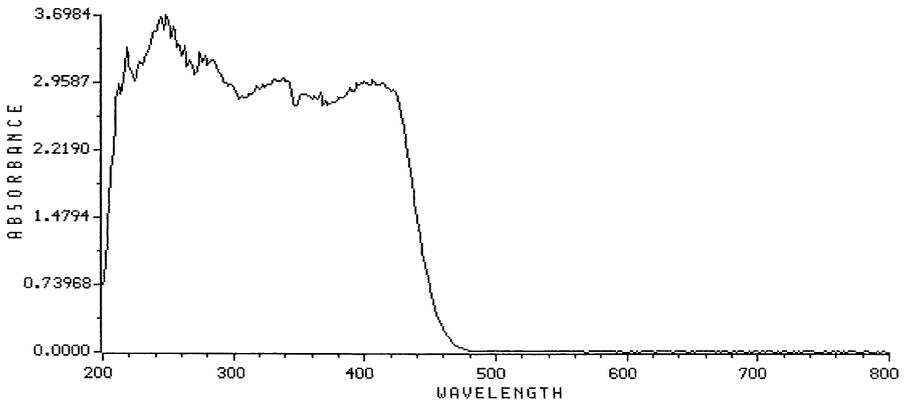


Figure 2 : Absorption d'une solution de paranitrophénol à 400 mg/L dans l'éthanol (réf. : cuve quartz contenant de l'éthanol).

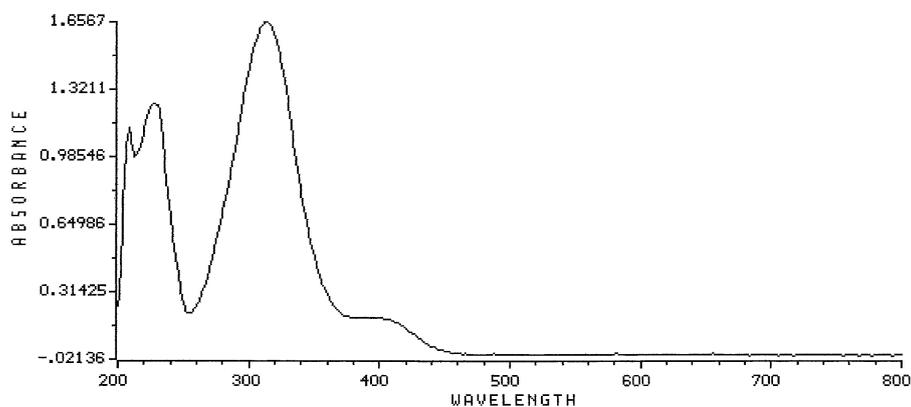


Figure 3 : Absorption d'une solution de paranthrophenol à 20 mg/L dans l'éthanol (réf. : cuve quartz contenant de l'éthanol).

$\lambda_{\max} = 314 \text{ nm}$ $A = 1,652$.

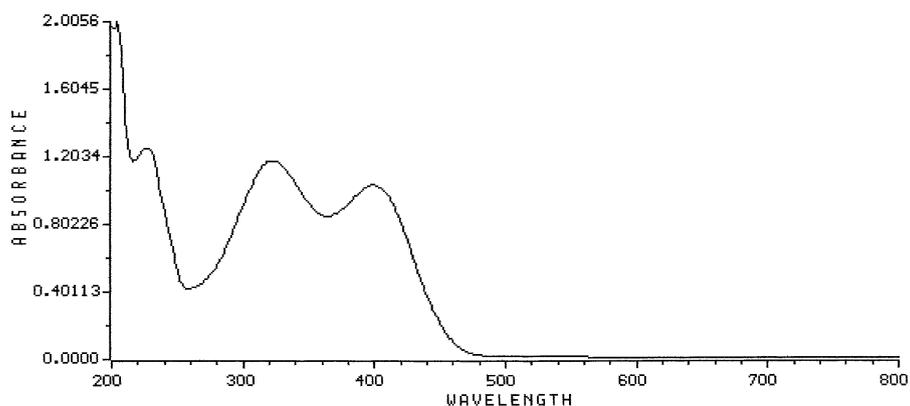


Figure 3 bis : Absorption d'une solution de paranthrophenol dans l'eau à 20 mg/L pH = 6,8 (réf. : cuve quartz contenant de l'eau).

$\lambda_{\max} = 318 \text{ nm}$ $A = 1,172$,

$\lambda_{\max} = 400 \text{ nm}$ $A = 1,037$.

4. DOMAINE D'UTILISATION DES SOLVANTS ET LUMIÈRE PARASITE

Nous venons de voir qu'il est raisonnable de travailler à une absorbance $A < 2$. Encore faut-il que le solvant absorbe peu. Or, même les solvants apparemment transparents absorbent dans l'UV proche. La figure 4 montre l'absorbance de dix solvants en fonction de la longueur d'onde. Sur la figure 4 l'absorbance s'arrête à 1, mais elle croît bien au-delà de façon exponentielle. Pour l'éthanol ne figurant pas sur cette figure, on ne peut travailler au-dessous de 200 nm. Au-delà, il faut soit travailler sous vide, car l'oxygène de l'air absorbe, soit en atmosphère inerte (N_2 par exemple). Dans le visible, une solution incolore n'absorbe pratiquement pas.

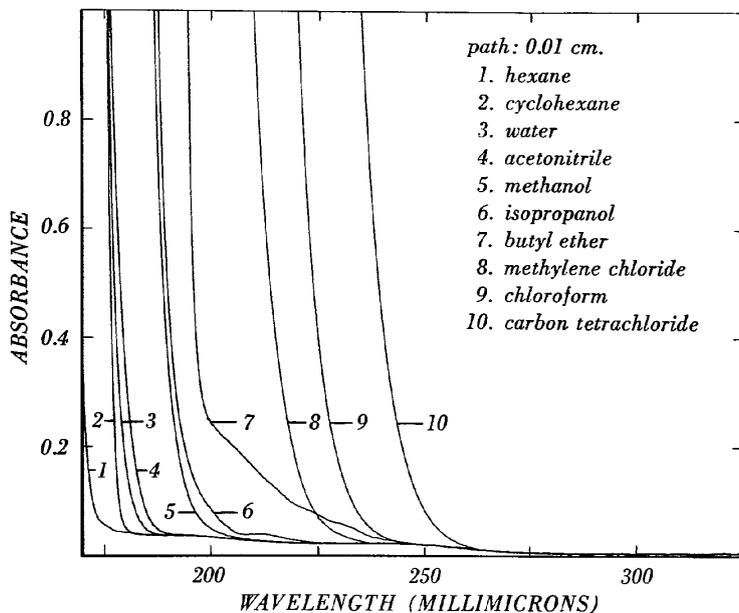


Figure 4 : Absorbance de divers solvants en UV (4).

4.1. Lumière parasite

C'est un phénomène inhérent à l'appareil indépendant de la brillance de la pièce dans laquelle on travaille. Il s'agit de réflexions parasites, diffusions et diffractions sur les miroirs, les lentilles, et le monochromateur qui croissent rapidement dans l'UV à partir de 210 nm, entraînant une perte d'énergie pouvant devenir bien supérieure à celle que mesure le détecteur.

On mesure le taux de lumière parasite en transmission à 210 nm.

Pour un excellent appareil ce taux est $< 10^{-4}$ %, pour un appareil classique d'environ 0,1 %, et pour un appareil de qualité médiocre ou vieillissant d'environ 1 à 3 %.

Il n'y a pratiquement pas de problème de lumière parasite dans le visible.

5. CHOIX DES LAMPES

Le domaine de travail de la spectroscopie d'absorption se situe entre 190 et 1 100 nm et le domaine visible entre 350 et 800 nm.

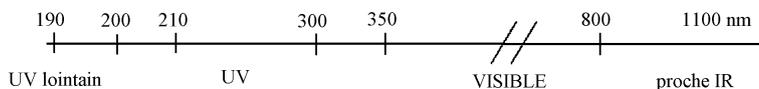


Figure 5

Suivant les appareils, la source de lumière est constituée d'une seule lampe couvrant la totalité du domaine spectral ou bien de deux lampes couvrant des domaines plus spécifiques. Voici trois exemples :

- **L'appareil «Lambda 2»** de Perkin-Elmer possède deux lampes :
 - une lampe à décharge dans le deutérium, utilisable en UV entre 190 et 350 nm (5 200 F. TTC) et de durée de vie limitée (environ mille heures),
 - une lampe au tungstène (*visible*) utilisable entre 300 et 1 100 nm (prix 800 F. TTC).
- **L'appareil Hewlett Packard HP 8452** n'a qu'une seule lampe couvrant le domaine 200-800 nm (prix 3 600 F. TTC).
- **Le colorimètre** : le changement de lampe coûte 300 F. environ.

6. CHOIX DES CUVES

Les cuves doivent être transparentes à la lumière qui les traverse. Elles font toutes sauf exception un centimètre de trajet optique.

Suivant la nature du matériau utilisé : plastique (polystyrène ou PMMA), verre ou quartz, le domaine de longueur d'onde utilisable est différent (le prix aussi malheureusement).

Cuves en «plastique»

Il en existe de deux types :

- avec les quatre faces transparentes,
- avec seulement deux faces transparentes et deux faces striées.

Nous vous conseillons ces dernières, les faces striées permettant de tenir les cuves et de ne pas salir les faces transparentes avec les doigts. D'autre part, ces cuves sont bon marché (moins de 50 F. TTC les 100) et le fabricant précise que l'incertitude sur le centimètre de trajet optique est $\pm 1\%$; si les quatre faces sont transparentes il peut y avoir des erreurs aléatoires car il est difficile de repérer les mêmes faces pour effectuer l'ensemble des mesures.

Indépendamment du nombre de faces utilisables, il existe encore deux types de cuves :

- celles qui couvrent le domaine 350 - 800 nm en polystyrène optique,
- celles qui couvrent le domaine 280 - 800 nm en PMMA. Elles sont un peu plus chères (toujours moins de 50 F. TTC les 100) mais permettent de travailler jusqu'à 300 nm.

Les figures 6 et 7 représentent l'absorption d'une cuve pleine d'eau par rapport à l'air pris en référence. On voit qu'au-dessous de 350 nm on ne peut plus travailler avec une cuve plastique. **Ces cuves plastiques bon marché ne résistent pas aux solvants organiques** (l'acétone par exemple).

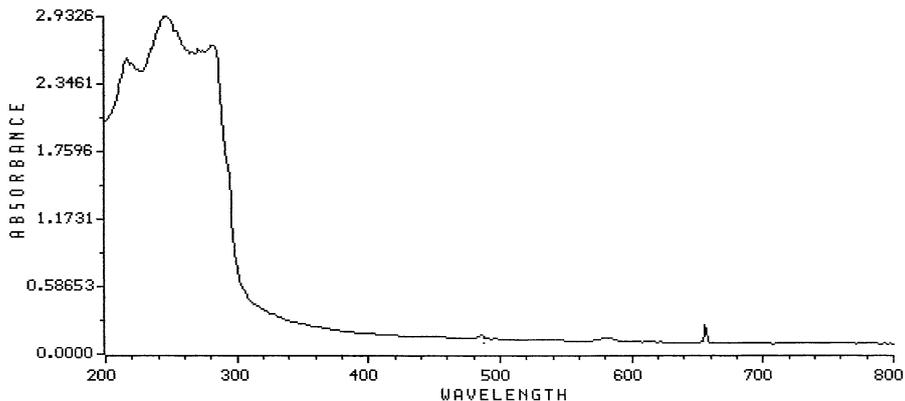


Figure 6 : Absorption d'une cuve plastique pleine d'eau par rapport à l'air dans l'UV et le visible (entre 200 et 800 nm).

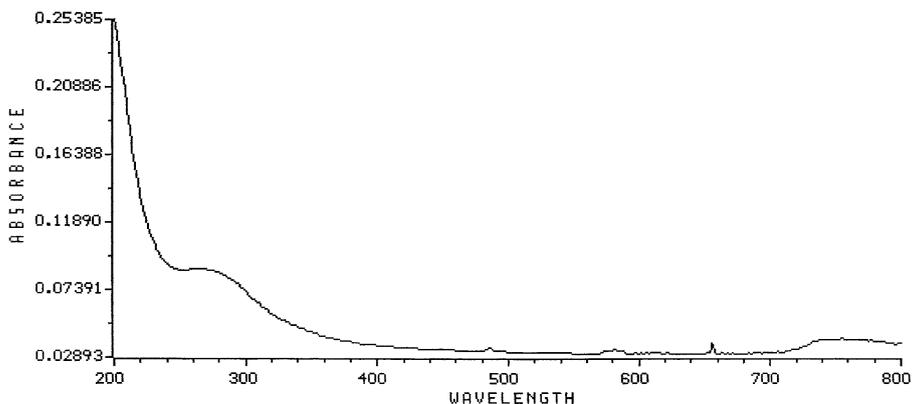


Figure 7 : Absorption d'une cuve en quartz pleine d'eau par rapport à l'air dans l'UV et le visible (entre 200 et 800 nm).

En cas d'incompatibilité avec les solvants organiques, il faut utiliser des cuves en verre (400 F. HT la paire). Ces cuves résistent bien aux solvants mais ne peuvent descendre au-dessous de 300 nm. Il faut donc utiliser une cuve en quartz (800 F. HT la paire) pour obtenir des spectres dans l'UV lointain (200-300 nm).

7. CUVE ET CINÉTIQUE

Une expérience de cinétique se fait **toujours** à température **constante**. Les solutions de départ doivent être préalablement mises en température.

La stabilité de la température doit être surveillée constamment.

Quand on suit une cinétique par spectroscopie celle-ci se fait dans la cuve. Elle doit donc être thermostatée c'est un principe à respecter même si dans quelques cas on peut s'en passer.

Appareil thermostatable

Le porte cuve est en général relié par des tuyauteries à un thermostat extérieur. Il est donc inutile de remplir les cuves jusqu'au ras bord pour deux raisons :

- plus le volume est grand, plus la thermostatisation est difficile,
- la partie extérieure de la cuve n'est pas thermostatée (figure 8).

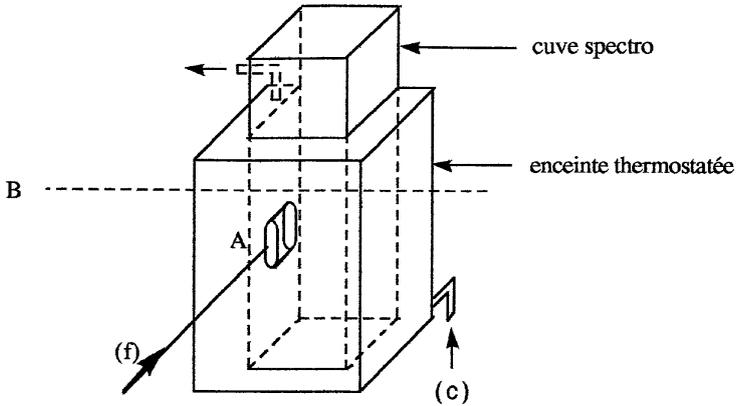


Figure 8 : (f) - faisceau lumineux ;
 (c) - circulation d'eau ;
 A - orifice par lequel passe le faisceau lumineux ;
 B - niveau de remplissage de la cuve (environ les 2/3).

Appareil non thermostaté

Tout rayonnement chauffe. La température à l'intérieur d'un colorimètre varie au cours du temps, elle peut monter jusqu'à 40°C.

On met la cuve «spectro» dans un thermostat et on la sort juste pour la mesure. Une astuce : la cuve passe à travers une mince plaque de polystyrène qui flotte à la surface de l'eau du thermostat.

8. LIGNE DE BASE

L'appareil mesure l'absorption sans se préoccuper s'il s'agit de celle de l'air, de la cuve, du solvant ou du soluté, c'est pourquoi il faut faire un blanc. Le soluté est l'espèce dont l'absorption est mesurée par spectrophotométrie. Le reste de la solution, appelé S, peut être :

- le solvant seul,
- le solvant plus d'autres espèces chimiques.

C'est S que l'on met dans la cuve de référence pour faire le zéro.

Sur certains appareils deux cuves sont nécessaires.

8.1. Cas des appareils mono faisceau

a - Appareil manuel

L'absorption de la cuve et du solvant variant avec la longueur d'onde (figures 6 et 7), il est nécessaire de faire le zéro chaque fois que l'on change manuellement de longueur d'onde.

b - Appareil automatique

L'appareil «balaye» le domaine de longueur d'onde choisi et met en mémoire le spectre d'absorption de la cuve et du solvant. La même cuve est vidée puis remplie avec la solution étudiée. L'appareil mesure l'absorption de la cuve et de la solution. A chaque instant, il fait la différence entre les deux spectres et trace celui du seul soluté.

8.2. Appareils à double faisceau

Ce sont des appareils automatiques qui nécessitent deux cuves : l'une de référence, l'autre de mesure. On fait un blanc, c'est-à-dire que l'on balaye en longueur d'onde le domaine choisi avec les deux cuves remplies de solvant. Les deux cuves n'étant pas rigoureusement identiques dans tout le domaine du spectre, l'appareil va compenser la différence d'absorption. **Ce blanc doit se faire avec des cuves pleines de solvant pour éviter les pertes par réflexion.**

La cuve de mesure est alors vidée et remplie de solution. Pour chaque longueur d'onde, l'appareil mesure instantanément la différence entre la cuve de référence et la cuve de solution.

Avec les progrès de l'électronique et de l'informatique les spectrophotomètres à double faisceau ne s'imposent plus. D'autre part, l'optique d'un appareil mono-faisceau est infiniment plus simple (le nombre de lentilles, miroirs, etc. est considérablement diminué et pour les appareils à barrette de diodes il n'y a plus de pièces optiques en mouvement).

9. DÉTECTEURS

Il y a deux types de détecteurs, les photomultiplicateurs et les barrettes de diodes.

9.1. Détecteur à photomultiplicateur

Les figures 9 et 10 représentent les schémas simplifiés d'un spectrophotomètre mono faisceau (figure 9) et d'un spectrophotomètre double faisceau (figure 10).

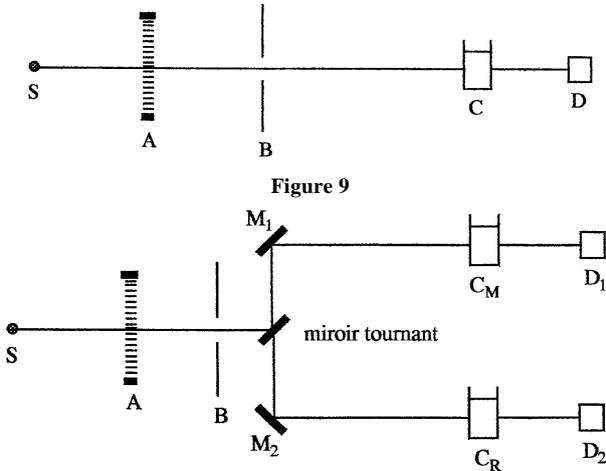


Figure 10 : S : Source de lumière polychromatique (lumière blanche) ;
 A : Système dispersif, aujourd'hui ce ne sont que des réseaux ;
 B : Le monochromateur qui permet d'avoir un faisceau aussi monochromatique que possible, à la limite une simple fente.
 C : La cuve. Elles font toutes sauf exception un centimètre de trajet optique.
 D : Le détecteur.

Sur la figure 9, le détecteur (D) est un photomultiplicateur recevant théoriquement une radiation à la fois. Pour balayer tout le domaine du spectre, il faut faire tourner le réseau. Sur un appareil automatique, ce balayage entre 200 et 900 nm dure entre trente secondes et une minute au minimum.

La figure 10 représente un appareil à double faisceau. Contrairement aux spectrophotomètres mono-faisceau qui peuvent être manuels, tous les appareils double faisceau sont automatiques. A la sortie du monochromateur B, un miroir tournant hache le faisceau et l'envoie alternativement sur les miroirs M_1 et M_2 , chacun des faisceaux traversant ensuite soit la cuve de mesure C_M soit la cuve de référence C_R (voir § 7. cuves). Ensuite les deux faisceaux sont envoyés sur les deux détecteurs à photomultiplicateur.

9.2. Détecteur à barrette de diodes (figure 11)

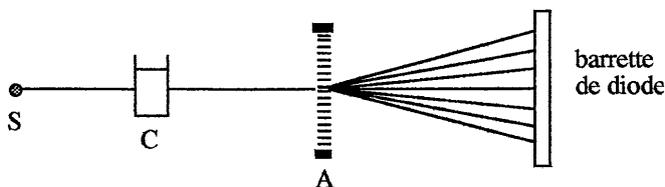


Figure 11

La cuve est placée avant le système dispersif. Il n'y a pas de monochromateur (B). Le détecteur est une barrette de diodes. A chaque diode correspond une longueur d'onde. L'avantage de ce procédé réside dans l'absence de pièces en mouvement. Il faut deux secondes pour voir le spectre complet sur l'écran.

10. BANDE PASSANTE

Si le réseau (A), le monochromateur (B) et le détecteur (D) sont de bonne qualité, on sépare deux radiations dont les longueurs d'onde diffèrent entre elles d'un nanomètre. Pour les systèmes à barrette de diodes, il y a une diode tous les deux nanomètres (appareil Hewlett Packard HP8452). Plus l'appareil est bon marché, plus la bande passante est large. C'est pourquoi, quelle que soit la qualité de l'appareil, on travaille toujours, quand c'est possible, sur un sommet et non sur un flanc de bande.

Pour une même bande passante $\Delta\lambda$ (figure 12), on peut obtenir des variations ΔA considérables.

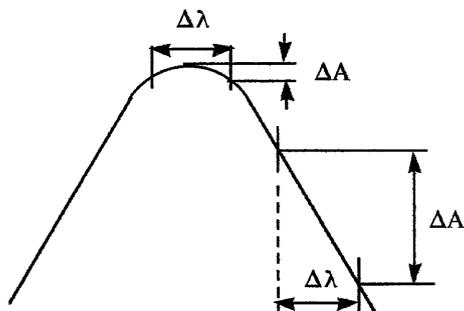


Figure 12

Voici un bon test permettant de juger de la qualité d'un spectrophotomètre travaillant dans le visible (colorimètre).

La solution de permanganate en milieu acide présente cinq bandes :

$$\lambda_1 = 490 \text{ nm}, \lambda_2 = 506 \text{ nm}, \lambda_3 = 526 \text{ nm}, \lambda_4 = 546 \text{ nm}, \lambda_5 = 564 \text{ nm}$$

On peut ne pas voir l'épaulement à 490 nm mais on doit voir les quatre autres.

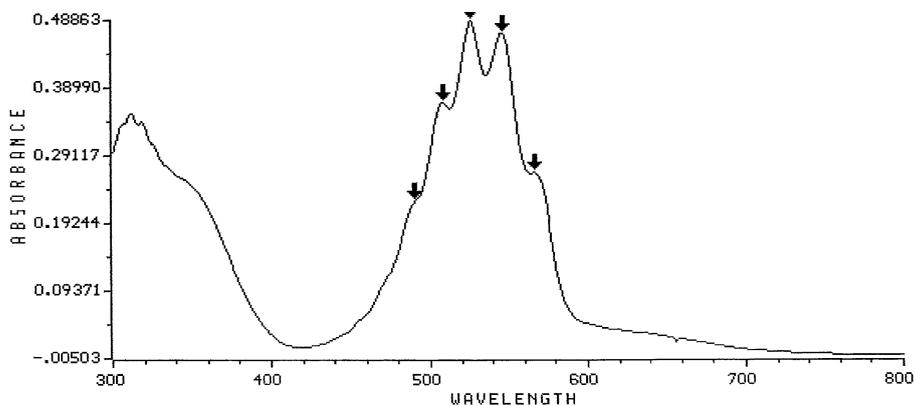


Figure 13 : KMnO4 dilué à environ 0,0002 mol/L.