

La spectrophotométrie

I. Définition

La spectrophotométrie est une méthode analytique qualitative et quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique (DO) d'une substance chimique donnée, présente en solution.

Plus l'échantillon est concentré, plus il absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer-Lambert.

II. Domaine UV-Visible de la spectrophotométrie

Les solutés colorés ou chromophores (Remarque : les chromophores sont responsables de l'aspect coloré des colorants organiques. En effet, certains rayonnements sont absorbés tandis que d'autres sont reflétés, diffusés ou transmis. Par exemple, le carotène est le composé chimique qui donne la couleur à de nombreux fruits et légumes exp : les carottes. Cette molécule absorbe le bleu dans le visible et réfléchit sa couleur complémentaire (orange-rouge) et ce légume nous apparaît donc de couleur (orange-rouge.)) peuvent absorber la lumière visible (longueur d'onde 400nm-750nm), d'autres solutions absorbent dans l'ultraviolet (longueur d'onde (100-400 nm). Les infrarouges (entre 700nm-2000nm) ne sont pas utilisés en spectrophotométrie mais en spectroscopie car ils ne dépendent pas de la concentration de la solution mais de sa température.

III. Loi de Beer Lambert

La densité optique des échantillons est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à étudier.

Un faisceau lumineux monochromatique c'est-à-dire une lumière à longueur d'onde fixe et définie, émis par le spectrophotomètre va traverser une cuve contenant la solution à doser. Une partie de la lumière incidente (d'intensité I_0) va être absorbée par la molécule de la substance dissoute. L'intensité I de la lumière transmise (l'intensité de la lumière traversant la solution) sera donc inférieure à I_0 (Figure 01). On définit l'absorbance de la solution comme :

$$A (DO) = \log I_0/I.$$

On parle aussi de transmittance ou transmission qui est définie par la relation suivante (exprimée généralement en %) :

$$T = I / I_0 \rightarrow A(DO) = -\log T$$

L'absorbance est une valeur positive sans unité.

La relation de Beer Lambert est la suivante :

$$DO (A) = \epsilon c l$$

DO : Densité optique (sans unité) pour une longueur d'onde donnée.

ϵ : ($l \text{ mol}^{-1}\text{-cm}^{-1}$ ou $\text{m}^3\text{mol}^{-1}\text{-cm}^{-1}$ ou $\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$) est le coefficient d'extinction molaire ou d'absorption moléculaire de la substance absorbante en solution pour la longueur d'onde choisie. Il rend compte de la capacité de cette substance à absorber la lumière à la longueur d'onde λ .

c : concentration de la substance à doser en mol/m^3 ou mol/l .

l : (en cm), c'est la longueur du trajet optique de la lumière = longueur de la cuve qui est généralement de 1 cm.

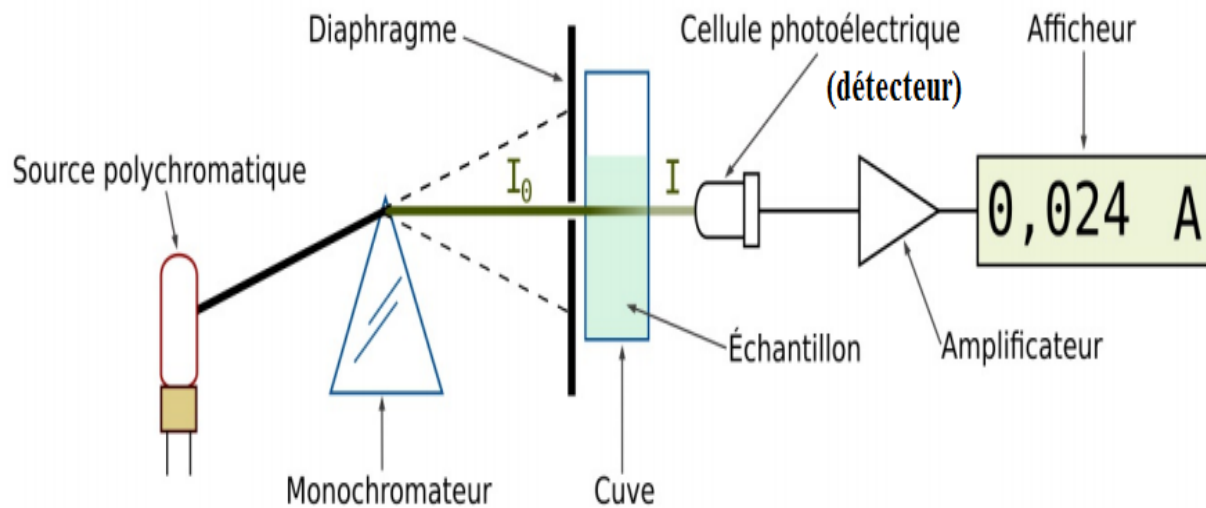


Figure 01 : Principe de la spectrophotométrie