

La spectrophotométrie

1 – Comment interpréter la couleur d'une solution ?

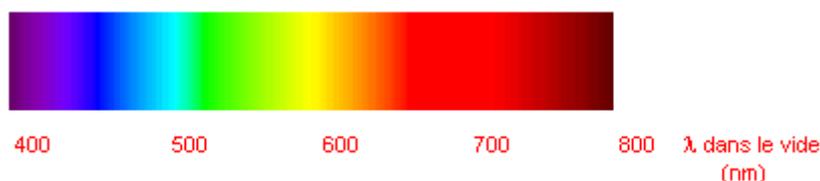
1.1 – Décomposition de la lumière blanche

En 1666, Isaac Newton réalise une expérience cruciale sur la lumière (voir animation).

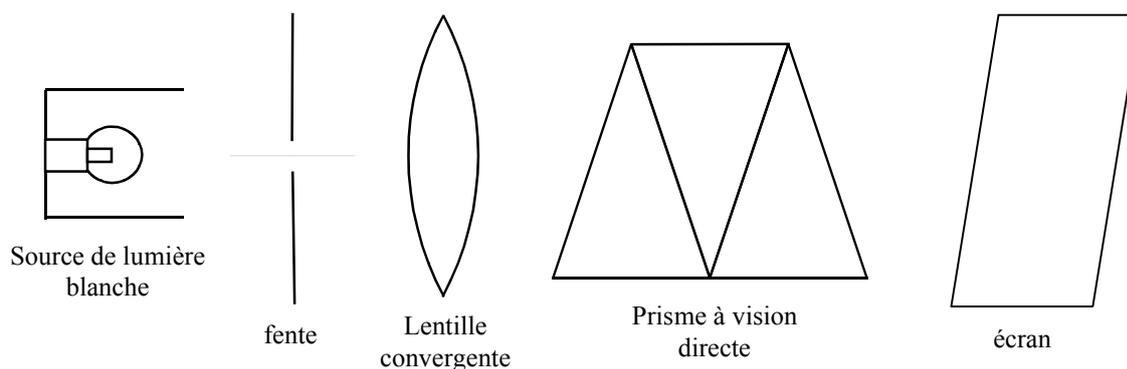
Il montre que la lumière blanche est composée d'une infinité de couleurs, comme nous pouvons le voir au quotidien en observant un arc-en-ciel.

La naissance de la théorie ondulatoire de la lumière (la lumière est une onde électromagnétique) a permis de préciser l'interprétation de cette expérience, à compter du XIX^{ème} siècle.

La lumière blanche résulte de la superposition des radiations monochromatiques (= une seule « couleur », une seule longueur d'onde) de longueur d'onde dans le vide comprise entre 400 et 700 nm. C'est une radiation polychromatique (à la différence de la lumière laser, par exemple).

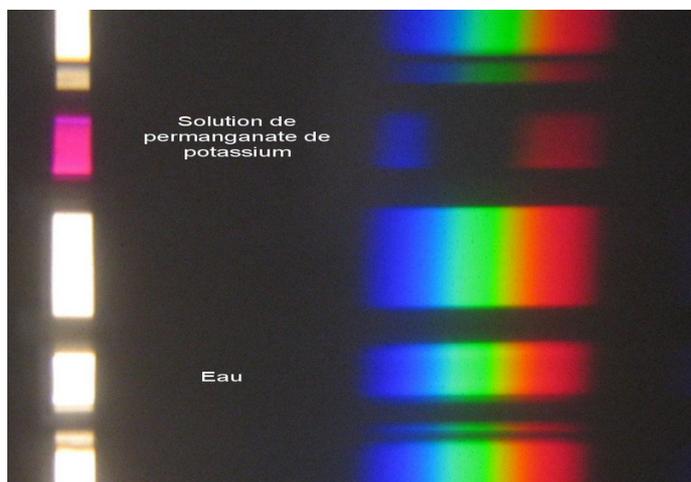


Le dispositif expérimental que nous utilisons est le suivant.



Pour obtenir le spectre de la lumière blanche, il convient de former tout d'abord l'image nette de la fente par la lentille sur l'écran, puis d'interposer le prisme.

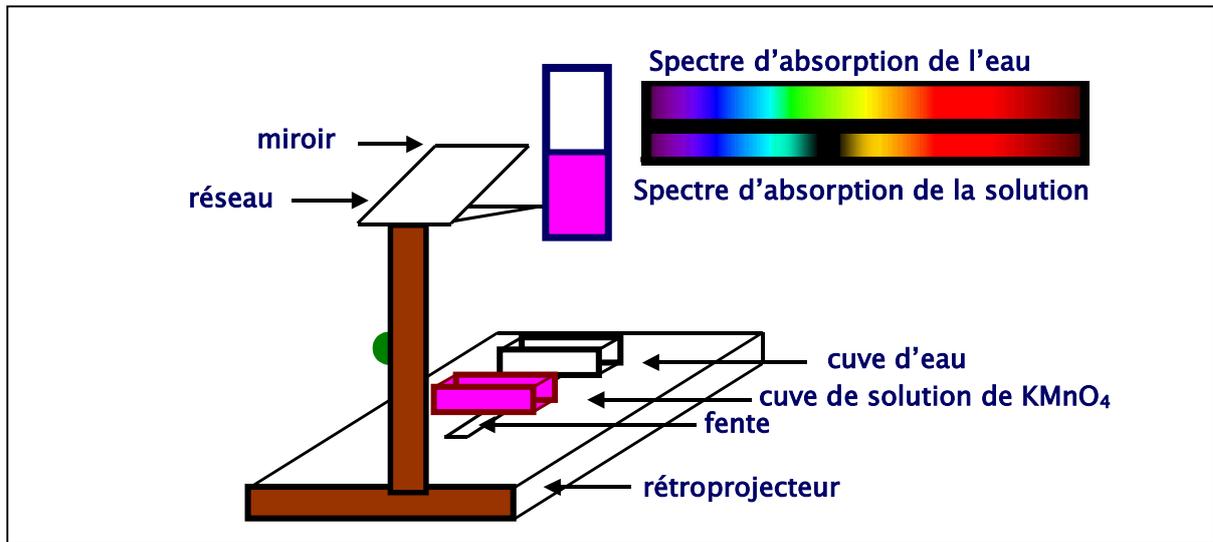
1.2 – Solutions colorées



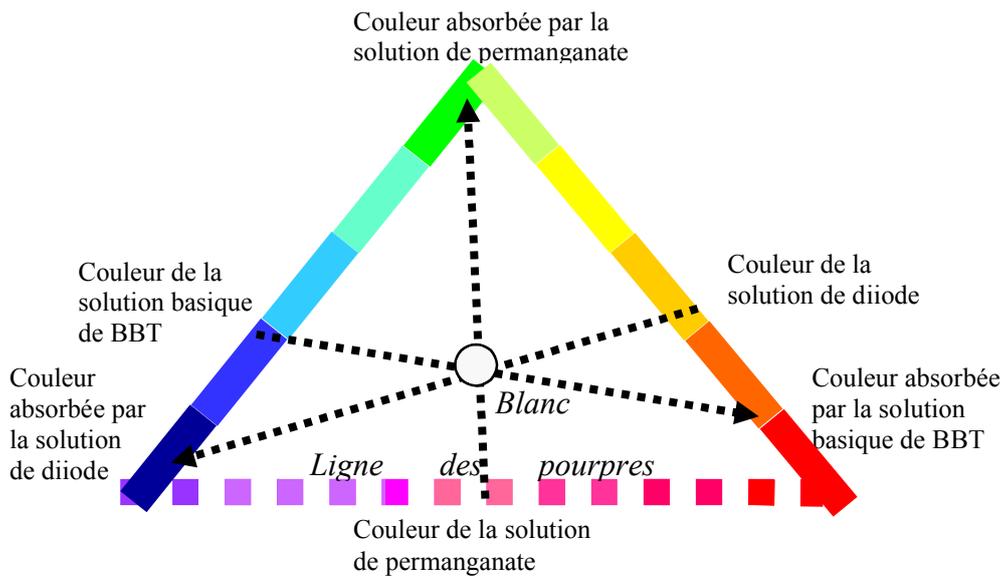
Cherchons à obtenir le spectre d'absorption d'une solution de permanganate de potassium : on intercale, entre la fente et la lentille, une cuve contenant la solution.

On peut remarquer que la solution de permanganate de potassium absorbe une partie du spectre de la lumière blanche, dans le bleu.

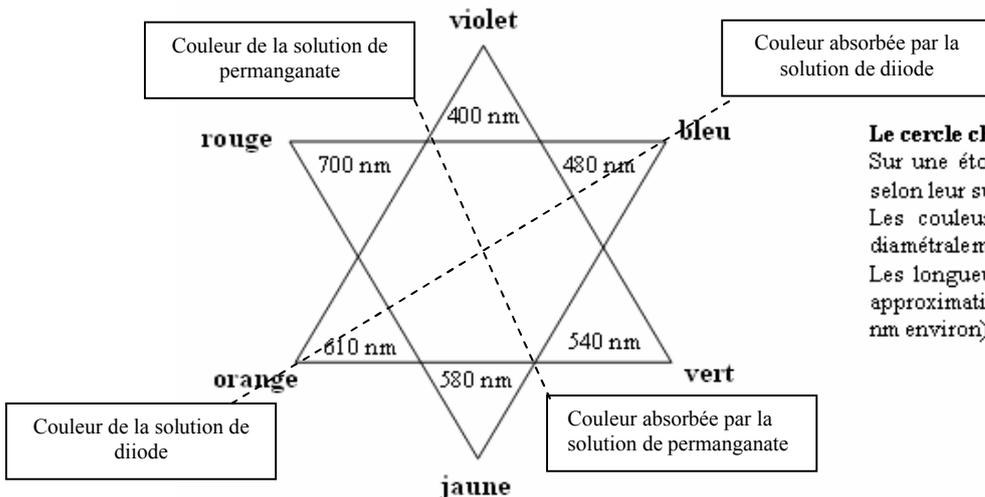
La solution violette de permanganate de potassium absorbe les radiations de couleur verte et bleu clair : les radiations de couleur rouge et violette sont transmises, ce qui donne sa couleur caractéristique à la solution.



On peut interpréter le phénomène d'absorption à l'aide de diagrammes chromatiques.



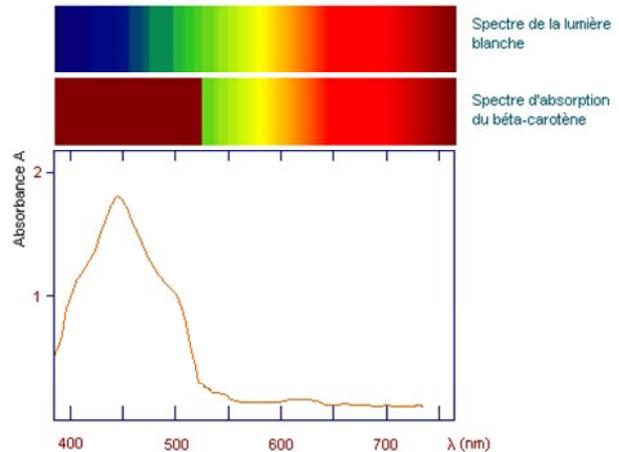
Une façon plus schématique de construire le cercle chromatique :



Le cercle chromatique

Sur une étoile à 6 branches, on place les couleurs selon leur succession dans l'arc-en-ciel. Les couleurs complémentaires apparaissent alors diamétralement opposées ! Les longueurs d'ondes indiquées sont des valeurs approximatives (spectre visible entre 380 et 740 nm environ)

Un autre exemple, celui du beta-carotène, à l'origine de la couleur des carottes...

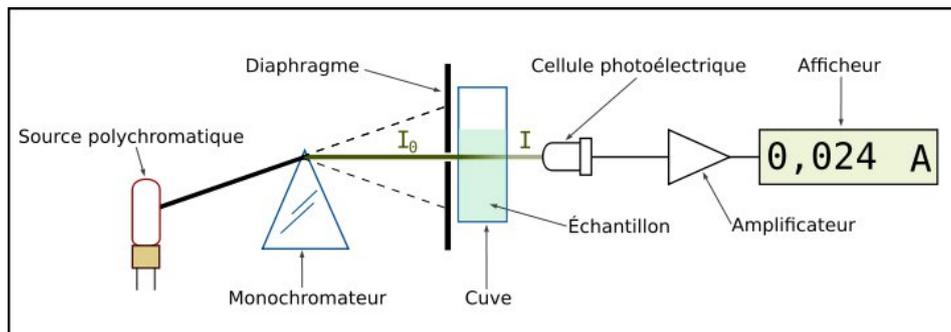


2 – Le spectrophotomètre

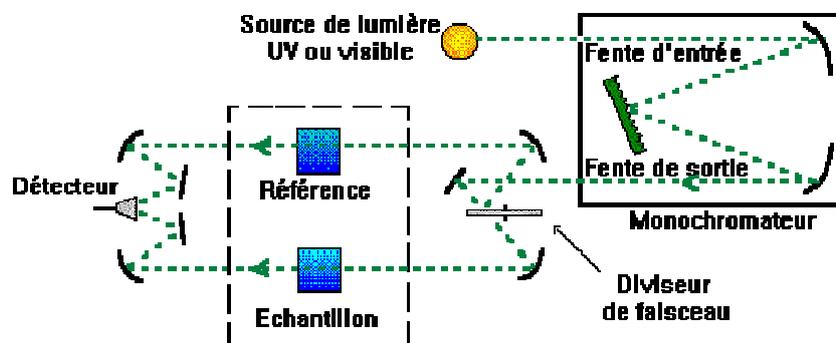
2.1 – Description de l'appareil

Le spectrophotomètre permet la comparaison d'un faisceau lumineux avant et après passage dans un échantillon. Un spectrophotomètre comporte

- une source de lumière blanche
- un monochromateur composé d'un réseau et d'une fente qui sélectionne un intervalle très étroit de longueurs d'onde autour d'une valeur choisie
- une cuve qui contient l'échantillon à étudier
- un détecteur qui mesure l'intensité lumineuse après la traversée de la cuve



Il existe des spectrophotomètres monofaisceaux (ci-dessus) et double-faisceaux (ci-dessous) ; les premiers nécessitent de travailler avec une solution de référence afin de « faire le zéro ».



2.2 – La notion d'absorbance

Le détecteur du spectrophotomètre est relié à un circuit électronique qui détermine l'intensité lumineuse transmise I et l'intensité lumineuse incidente I_0 .

L'absorbance se définit alors par

$$A = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

Cette grandeur sans dimension est supérieure à 1 : comme $I_0 > I$, $\frac{I_0}{I} \geq 1$ et le logarithme en base 10 renvoie une valeur supérieure à 0.

A	0	1	2
$\frac{I_0}{I}$	1	10	100
I	I_0	$\frac{I_0}{10}$	$\frac{I_0}{100}$

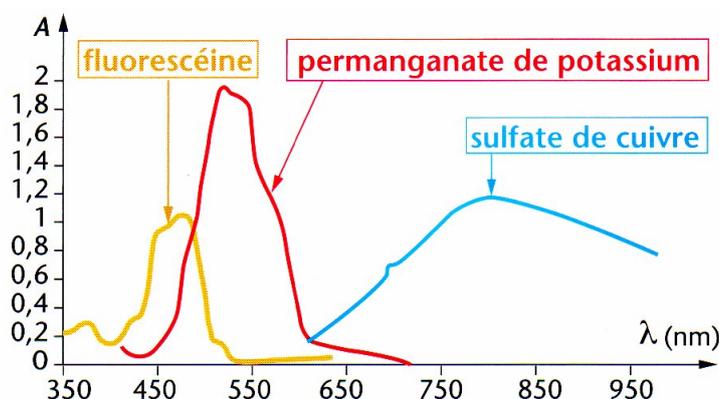
2.3 – Utilisation du spectrophotomètre

L'absorbance étudiée ne doit dépendre que de l'espèce colorée à analyser : il faut donc éliminer toutes les autres causes d'absorption, liées à la cuve, au solvant, aux autres espèces en solution, etc...

En pratique, on procède à un réglage de zéro à l'aide d'une cuve contenant le solvant et les espèces autres que celle à étudier : cette solution s'appelle le *blanc*. Le blanc doit être fait chaque fois que la longueur d'onde d'étude est changée.

3 – Effets de différences facteurs sur l'absorbance

3.1 – Nature de la solution et longueur d'onde d'étude



L'absorbance dépend de la nature de la solution et de la longueur d'onde de la lumière incidente.

3.2 – Epaisseur de la solution traversée

Travaillons avec une solution de permanganate, à longueur d'onde fixe, et faisons varier l'épaisseur e de la solution traversée par la lumière d'analyse, en utilisant un, deux, trois ou quatre cuves accolées (en refaisant à chaque fois le blanc avec le même nombre de cuves contenant de l'eau).

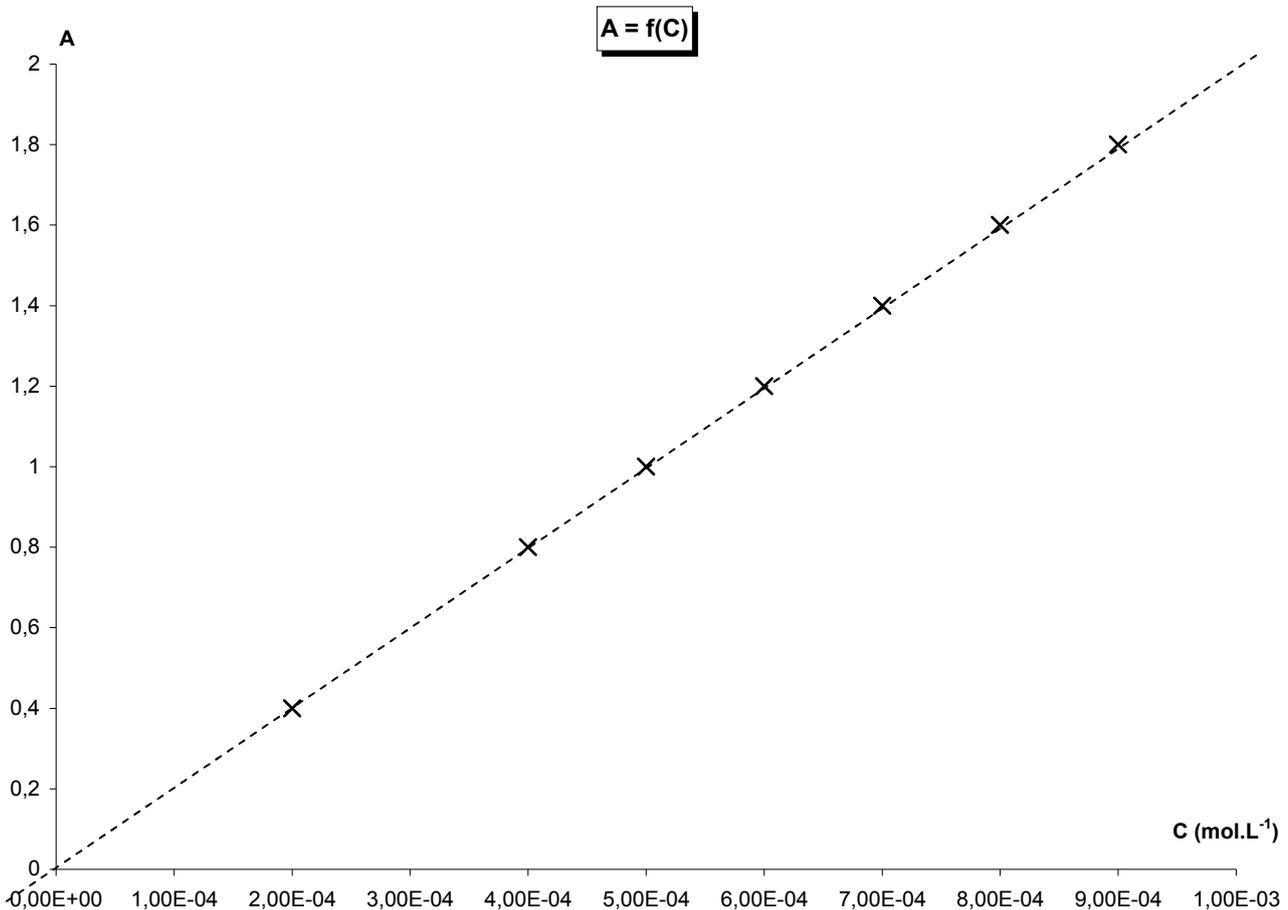
e (cm)	1,0	2,0	3,0	4,0
A	0,208	0,418	0,618	0,839
A/e (cm ⁻¹)	0,208	0,209	0,206	0,210

L'absorbance A est proportionnelle à l'épaisseur de la solution traversée par la lumière.

3.3 – Concentration de la solution

On se prépare une gamme de solutions de permanganate de potassium par dilution à partir d'une solution mère de concentration $c_0 = 1,0 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ (pipette graduée de 10 mL et fiole jaugée de 10,0 mL).

N°	1	2	3	4	5	6	7
Vo (mL)	2,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0
C (mol.L ⁻¹)	2,0.10 ⁻⁴	4,0.10 ⁻⁴	5,0.10 ⁻⁴	6,0.10 ⁻⁴	7,0.10 ⁻⁴	8,0.10 ⁻⁴	9,0.10 ⁻⁴
A	0,4	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8



L'absorbance A est proportionnelle à la concentration C de l'espèce absorbant la lumière dans la solution.

3.4 – Loi de Beer-Lambert

A une longueur d'onde donnée, pour une solution donnée, pour une épaisseur e de solution traversée par la lumière, l'absorbance A est proportionnelle à la concentration C de la solution étudiée.

$$A = k C$$

A : absorbance de la solution (sans unité)

C : concentration de la solution (en mol.L⁻¹)

k : constante de proportionnalité, en L.mol⁻¹, qui dépend de la nature de la solution, de la longueur d'onde de la lumière d'analyse et de l'épaisseur de la solution traversée. On considère généralement que

$$k = \varepsilon \cdot \ell$$

où ε est le coefficient d'extinction molaire de l'espèce en L.mol⁻¹.cm⁻¹ et ℓ l'épaisseur de cuve traversée en cm.

Cette relation, découverte sous sa forme primitive par Pierre Bouguer en 1729, n'est valide que dans certaines conditions,

- la lumière incidente doit être monochromatique
- la solution doit être suffisamment diluée
- la solution doit être homogène (pas de précipité, ni de gaz)
- le soluté ne doit pas donner de réaction sous l'effet de la lumière

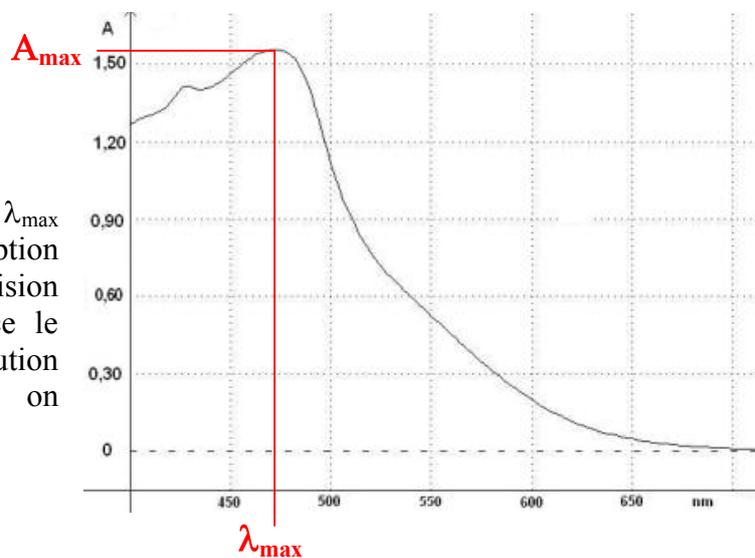
Si une solution contient plusieurs solutés absorbant la lumière, l'absorbance A de la solution est égale à la somme des absorbances dues à chacun des solutés. Attention toutefois au réglage du blanc...

4 – Dosage à l'aide d'un spectrophotomètre

On peut utiliser un spectrophotomètre pour doser une espèce colorée en solution. Cette méthode, non destructive (contrairement aux dosages réalisés en 1^{ère} S), nécessite un étalonnage.

4.1 – Recherche du maximum d'absorption

On se place à la longueur d'onde λ_{\max} correspondant au maximum d'absorption afin d'obtenir la plus grande précision pour le dosage. Pour cela, on trace le spectre d'absorption d'une solution contenant le soluté à étudier et on détermine graphiquement λ_{\max} .



4.2 – Droite d'étalonnage

On prépare ensuite une série de solutions (contenant le soluté à étudier) à différentes concentrations c . En se plaçant à λ_{\max} , on fait le zéro et on relève l'absorbance mesurée pour chaque solution. On trace le graphique représentant A en fonction de C .

4.3 – Concentration de la solution à doser

On mesure l'absorbance A_S de la solution S à la longueur d'onde λ_{\max} . A l'aide de la droite d'étalonnage, on peut déterminer graphiquement la concentration C_S de la solution S . Prenons l'exemple du dosage d'une solution de permanganate de potassium.

