

CHAPITRE II

APPLICATION DE LA SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE

A -ANALYSE QUALITATIVE

Le spectre UV ou visible ne permet pas l'identification d'un produit mais celle du groupement chromophore qu'il contient.

I – HYDROCARBURES

I.1 – Alcanes linéaires

Les alcanes n'absorbent que dans l'UV-lointain (transitions $\sigma \rightarrow \sigma^*$). Exemple : $\lambda = 135$ nm pour l'éthane gazeux. Les ramifications déplacent légèrement cette absorption vers les grandes longueurs d'onde. Exemple : $\lambda = 154$ nm pour le triméthyl-2,2,4-pentane.

Les n-alcanes liquides sont utilisables comme **solvants** en spectroscopie UV-visible jusqu'à **170 nm**.

I.2 – Cycloalcanes

Pour les cycloalcanes non tendus, l'absorption se situe dans les mêmes zones que pour les n-alcanes. Ainsi, **le cyclohexane est utilisable jusqu'à 175 nm comme solvant en spectroscopie UV-visible**.

Le cyclopropane possède un certain caractère insaturé. En solution, il donne de faibles bandes d'absorption entre 190 et 195 nm.

I.3 – Alcènes

Un chromophore éthylénique absorbe en dessous de 200 nm. L'éthylène, en solution dans l'heptane, possède une bande dont le maximum se situe à 173 nm ($\epsilon_{\max} = 5000$).

Effet de la substitution

Les substitutions successives se traduisent par des effets bathochromes ($\lambda_{\max} = 180$ -195 nm) plus marqués dans les éthyléniques tri et tétraalkylés.

Effet de la conjugaison

C'est la conjugaison de deux ou plusieurs liaisons π qui entraîne les effets les plus importants. λ augmente au fur et à mesure que le nombre de doubles liaisons augmente. Quand ce nombre devient plus grand que 5, l'accroissement de λ_{\max} devient moins rapide. Les règles de calculs ne s'appliquent plus pour des valeurs de $n > 5$.

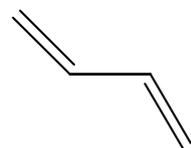
L'allène, qui a des liaisons π non conjuguées, possède une bande à 241 nm ($\epsilon \approx 2000$). Dans les autres cumulènes, il apparaît plusieurs bandes dont la longueur d'onde et l'intensité croissent avec le nombre de doubles liaisons.

Dans le cas où les doubles liaisons sont séparées par deux atomes de carbone sp^3 , leur interaction est plus faible mais conduit à des effets non négligeables. Au-delà, elles se comportent comme si elles appartenait à des molécules différentes.

Effet de la conformation

La transition $\pi \rightarrow \pi^*$ du chromophore diénique a une énergie différente selon que la conformation est s-cis ou s-trans. **Le préfixe s indique que la conformation est repérée par rapport à la liaison simple intermédiaire.**

Les diènes acycliques sont sous la forme s-trans qui est la plus stable :



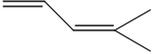
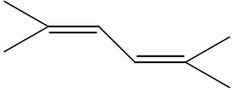
s-trans, $\lambda_{\max} = 214 \text{ nm}$



s-cis, $\lambda_{\max} = 253 \text{ nm}$

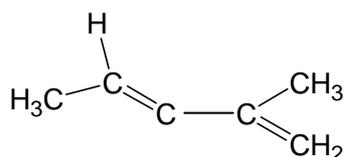
Dans le tableau 2.1 sont données les absorptions UV pour quelques diènes conjugués acycliques et cycliques.

Tableau 2.1 – Absorption UV de quelques diènes conjugués

Diène conjugué	λ_{\max} (nm)	Log ϵ
1) Acyclique (Ethanol)		
	233	
	243	4,4
2) Cyclique (isooctane)		
Cyclopentadiène-1,3	239	3,5
Cyclohexadiène-1,3	257	3,2
Cyclooctadiène-1,3	227	3,8

Les deux premiers exemples illustrent l'effet des substituants alkyles. Dans le cyclohexadiène-1,3, la conformation est s-cis à cause de la cyclisation. Le cyclooctadiène-1,3 paraît se rapprocher de la conformation s-trans.

Le coefficient d'extinction molaire est généralement plus élevé pour un dérivé s-trans (15000-25000) que pour un dérivé s-cis (5000-12000). Cependant, l'encombrement stérique peut modifier ces valeurs (8500 pour le s-trans-diméthyl-2,4 pentadiène-1,3).



I.4 – Alcynes

L'octyne-1 et l'octyne-2 ont une bande faible vers 225 nm ($\epsilon \approx 100$). Des bandes plus intenses apparaissent vers 180 – 185 nm.

La comparaison des spectres des polyynes conjuguées dans le tableau 2.2 montre que l'énergie de la transition principale est plus élevée que pour les polyènes analogues et

l'intensité des bandes est beaucoup plus forte (≈ 5 fois). Enfin, il apparaît une deuxième série de bandes d'intensité faible et à peu près constante, du côté des grandes longueurs d'onde (transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ peu permises).

Tableau 2.2 – Bandes d'absorption des polyynes
 $(\text{CH}_3)_3\text{C}-(\text{C}=\text{C})_n-\text{C}(\text{CH}_3)_3$

n	Première transition		Seconde transition	
	λ_{max}	ϵ_{max}	λ_{max}	ϵ_{max}
3	213	140000	283	
4	240	348000	330	373
5	265	442000	364	270
6	289	500000	395	192
8	330	705000	437	270
10	363	850000	471	220

I.5 – Hydrocarbures aromatiques

Les hydrocarbures aromatiques ont des spectres très caractéristiques dont la richesse doit être attribuée à la grande symétrie de ces molécules.

Trois types de bandes sont observées :

- Type 1 : Des bandes de faible intensité ($\epsilon \approx 10^2 - 10^3$) présentant souvent une structure vibrationnelle complexe et apparaissant aux grandes λ . Elles sont notées ${}^1\text{L}_b$ ou α
- Type 2 : Des bandes intermédiaires d'intensité moyenne ($\epsilon \approx 10^4$) présentant souvent elles aussi une structure vibrationnelle. Elles sont notées ${}^1\text{L}_a$ ou β .
- Type 3 : Des bandes très intenses ($\epsilon \approx 10^5$) situées aux courtes longueurs d'onde et pouvant être dédoublées. On leur donne le symbole ${}^1\text{B}$ (éventuellement ${}^1\text{B}_a$ et ${}^1\text{B}_b$).

Cas du benzène

Le spectre du benzène donné sur la fig. 2.1 présente à 260 nm une bande peu intense ($\epsilon \approx 200$) dotée d'une structure vibrationnelle très nette (${}^1\text{L}_b$). Une bande d'intensité moyenne ($\epsilon \approx 7000$) apparaît vers 200 nm (${}^1\text{L}_a$) sous forme d'épaulement d'une bande très intense ($\epsilon \approx 50000$) située à 185 nm (${}^1\text{B}$).

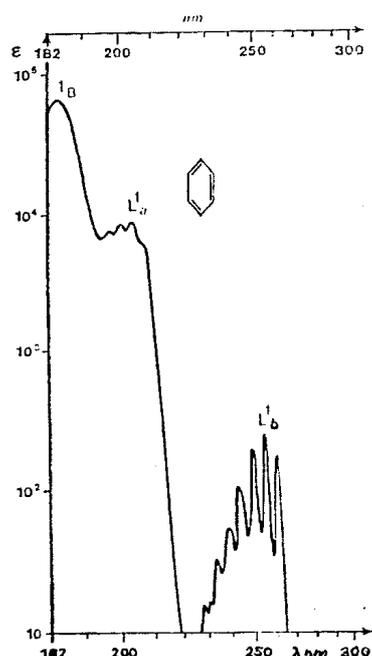


Fig. 2.1 – Spectre UV du benzène

La transition correspondant à la bande 1L_b est interdite pour des raisons de symétrie ce qui explique la faible intensité de la bande correspondante. La bande attribuée à 1L_b est déplacée vers le visible et est, en général, intensifiée par alkylation. L'effet bathochrome atteint, cependant, un maximum avec quatre groupements alkyle.

Exemple : p-xylène	λ_{\max}	274 nm	($\epsilon \approx 460$)
1,2,4,5-tétraméthylbenzène	λ_{\max}	279 nm	($\epsilon \approx 820$)
Hexaméthylbenzène	λ_{\max}	279 nm	($\epsilon \approx 300$)

dans l'hexane

La bande 1L_a (204 nm) possède un caractère de transfert de charge dans les dérivés du benzène. Un effet bathochrome accentué est observé dans les solvants polaires car cette bande de transfert de charge a un fort moment dipolaire de transition. *Cet effet provient de la stabilisation de l'état excité qui est très polaire.*

Cas des composés aromatiques supérieurs

Les trois types de bandes cités plus haut s'observent également dans les spectres des composés aromatiques supérieurs.

Dans certains cas tel que pour l'anthracène, la première bande peut être absente. Pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques de fusion cyclique linéaire, les spectres ressemblent à celui du benzène mais il y a un déplacement bathochrome progressif quand le nombre de noyaux intervenants augmente.

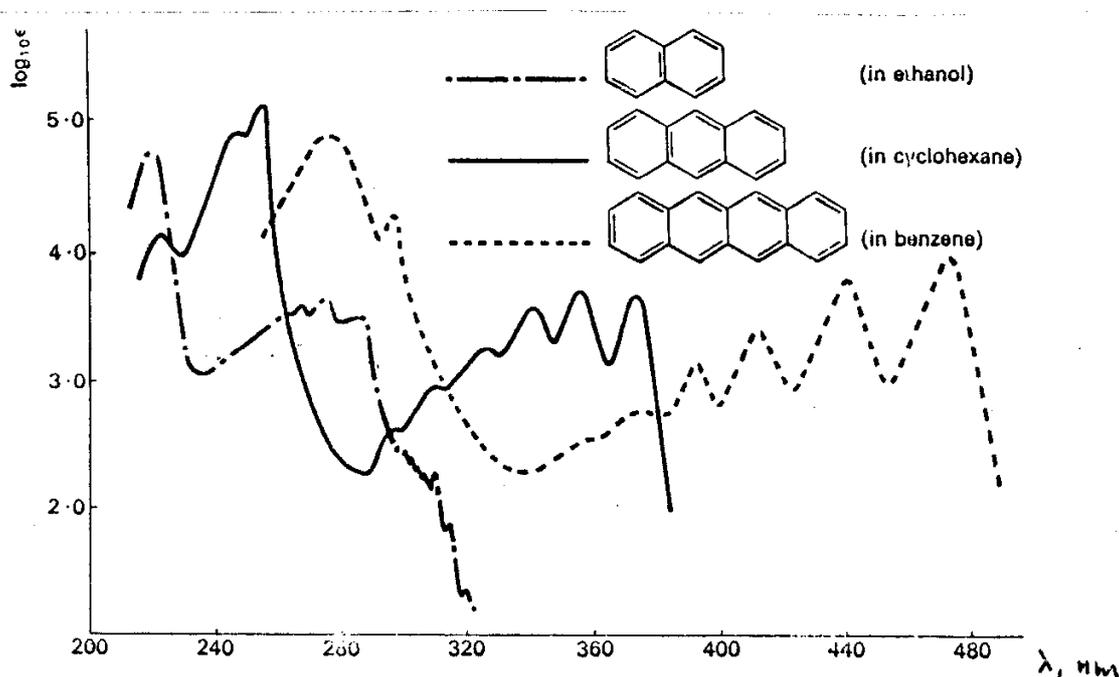
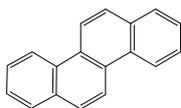
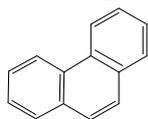


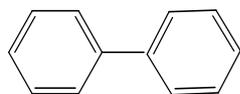
Fig. 2.2 – Spectres UV d'hydrocarbures aromatiques polycycliques de fusion linéaire

Les fusions angulaires de noyaux benzéniques, comme pour le phénanthrène et le chrystène, entraînent que les spectres sont plus complexes et ne montrent pas les déplacements bathochromes réguliers observés dans la série linéaire.

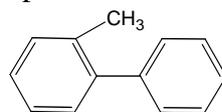


Cas du biphényle

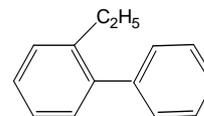
Dans le biphényle, la conjugaison est grande quand les deux noyaux benzéniques sont coplanaires. A l'état gazeux et en solution, l'angle entre les deux cycles est d'environ 45°. L'introduction d'un groupe encombrant, particulièrement en position ortho de la molécule biphényle, sert à augmenter l'angle entre les phényles et par conséquent, la conjugaison effective est diminuée. Son effet se manifeste par une diminution des valeurs de λ et de ϵ comme on peut le noter à partir des exemples suivants :



$\lambda = 249$ (TC)
 $\epsilon = 14500$



236,5
10500



233
9000

II – COMPOSES A FONCTION OXYGENEE

II.1- Alcools et phénols

Cas des alcools

Le méthanol et les alcools aliphatiques absorbent faiblement vers 180-185 nm. Il s'agit d'une transition $n \rightarrow \sigma^*$. Par exemple, pour CH_3OH gazeux, $\lambda_{\text{max}} = 183,5$ nm et $\epsilon = 150$.

Au dessus de 210 nm, les alcools sont transparents et utilisés comme **solvants spectroscopiques polaires et donneurs de protons**.

Cas des phénols

Dans le cas des phénols, la paire libre peut être conjuguée avec le système π du noyau et cela cause de nouvelles absorptions ($\epsilon = 5000- 20000$) dans la région 210-300 nm dues à un transfert de charge intramoléculaire.

Le phénol (dans l'eau) montre une bande à 270 nm ($\epsilon = 1450$) dont la correspondante est la bande à 254 nm dans le benzène ; elle est plus intense que pour le benzène. Une autre bande est observée vers 210 nm ($\epsilon = 6200$) représentant l'absorption de transfert de charge intramoléculaire. En solution basique, les phénols se transforment en ions phénates et il en résulte un fort effet bathohyperchrome utilisable au point de vue analytique.

Tableau 2.3 – Absorption UV du phénol et de l'ion phénate

	λ_{max} (nm)	ϵ	λ_{max} (nm)	ϵ
Phénol	210	6200	270	1450
Ion phénate	235	9400	287	2600

II.2 – Ethers et composés apparentés

Les éthers aliphatiques sont transparents dans le proche-UV. Ils absorbent entre 184 et 190 nm (oxyde de méthyle gazeux, $\lambda_{\max} = 184$ nm, $\epsilon = 2500$).

Les éthers aromatiques se comportent comme les phénols mais leur spectre n'est pas modifié en milieu basique. Les effets stériques des substituants ortho diminuent l'intensité de la bande vers 270 nm.

II.3 – Composés carbonylés

Cas des cétones aliphatiques

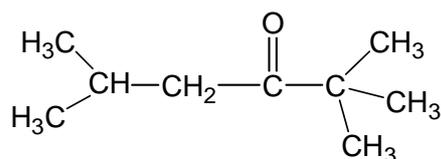
La transition $n \rightarrow \pi^*$ (transition interdite pour des raisons de symétrie) est celle qui présente le plus d'intérêt du point de vue analytique (caractéristique du groupement carbonyle en UV). En effet, elle se situe dans un domaine de longueur d'onde très accessible. De plus, la position et l'intensité de la bande correspondante sont sensibles aux effets des substituants et des solvants.

En solution dans l'hexane, la transition $n \rightarrow \pi^*$ de l'acétone se situe à 279 nm ($\epsilon = 14,5$). L'allongement des chaînes carbonées et les ramifications ont un effet bathochrome. Le tableau 2.4 donne les valeurs des incréments $\Delta\lambda$ dus aux substitutions alkyles successives. L'acétone en solution dans l'éthanol est prise comme référence ($\lambda_{\max} = 272$ nm). Seules les substitutions en α ou β ont une influence notable.

Tableau 2.4 – Influence des substituants alkyles sur la longueur d'onde de la transition $n \rightarrow \pi^*$ des cétones (déplacement $\Delta\lambda$ en nm)

Substitution	Première	Deuxième	Troisième
α	1,5	5,5	3,5
β	2	2,5	5

L'exemple suivant illustre la méthode de calcul



Isobutyl-tertio-butyl-cétone

Expérimentalement, $\lambda_{\max} = 287,5$ nm (ETOH)

$$\text{Calcul : } \Delta\lambda = (1,5 + 2 + 2,5) + (1,5 + 5,5 + 3,5) = 16,5 \text{ nm}$$

α β α

D'où la valeur calculée $\lambda_{\max} = 272 + 16,5 = 288,5$ nm. Les résultats sont généralement obtenus à ± 1 nm près. La valeur de ϵ_{\max} augmente légèrement avec les substitutions mais reste comprise entre 15 et 30.

La position de la bande $n \rightarrow \pi^*$ est très sensible aux effets de solvant comme le montre l'exemple de l'acétone.

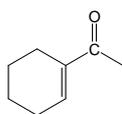
Tableau 2.5 – Effet de solvant sur la transition $n \rightarrow \pi^*$ de l'acétone

Solvant	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	Solvant	$\lambda_{\max}(\text{nm})$
CCl_4	280	DMSO	274
Hexane	279	Ethanol	272
Dioxane	277	Méthanol	270
CHCl_3	276	Acide acétique	267
DMF	275	Eau	265

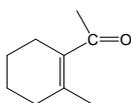
Cas des cétones α, β -insaturées :

On a 2 types de transitions : $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$

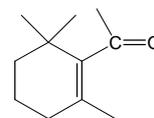
Le coefficient d'extinction molaire de la bande $\pi \rightarrow \pi^$ est de l'ordre de 10000 à 15000. Il est diminué par les effets stériques.



$\lambda_{\text{cal}} = 237 \text{ nm}$
 $\lambda_{\text{obs}} = 232 \text{ nm}$
 $\epsilon_{\text{max}} = 12500$

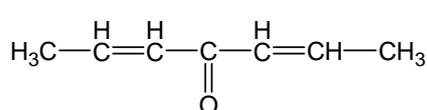


$\lambda_{\text{cal}} = 249 \text{ nm}$
 $\lambda_{\text{obs}} = 245 \text{ nm}$
 $\epsilon_{\text{max}} = 6500$

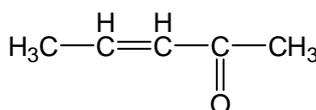


$\lambda_{\text{cal}} = 249 \text{ nm}$
 $\lambda_{\text{obs}} = 243 \text{ nm}$
 $\epsilon_{\text{max}} = 1400$

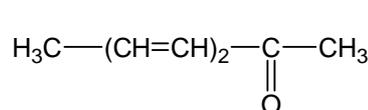
La conjugaison croisée donne un effet bathochrome moins fort que la conjugaison linéaire comme le montre les exemples suivants :



$\lambda_{\text{max}} = 245 \text{ et } 251 \text{ nm}$
(croisée)

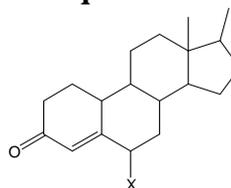
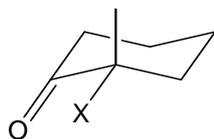


$\lambda_{\text{max}} = 224 \text{ nm}$



$\lambda_{\text{max}} = 257 \text{ nm}$
(linéaire)

La transition $n \rightarrow \pi^*$ des α -étones en solution dans l'hexane se situe entre 325 et 345 nm ($\epsilon \approx 15$ à 60). Dans les dérivés cycliques, la longueur d'onde de son maximum d'absorption est sensible à la position axiale ou équatoriale du substituant, en α du système conjugué.

Tableau 2.6 : Déplacement $\Delta\lambda$ (nm) de la transition $n \rightarrow \pi^*$ de la cyclohexanone et de la Δ^4 -cholestane-3 par substitution axiale et équatoriale

Substitution X	Equatoriale	Axiale	Equatoriale	Axiale
Cl	3	14	-5	15
Br	5	20	-5	28
OH	2	7	-12	17
OCOCH_3	2	10	-5	10

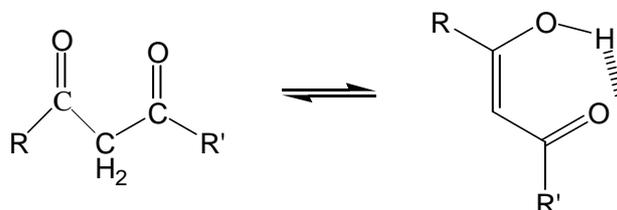
Cas des cétones β,γ -insaturées

Les cétones β,γ -insaturées ne constituent pas de systèmes conjugués. Elles ont pourtant un spectre notablement différent de celui des chromophores C=C et C=O isolés. La proximité des deux chromophores donne lieu à l'apparition d'une bande de transfert de charge délocalisé de l'orbitale π de C=C à l'orbitale π^* de C=O ($\lambda_{\max} \approx 210$ nm). Cette bande est distincte de la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ de C=C (vers 185 nm). En ce qui concerne la transition $n \rightarrow \pi^*$, une exaltation de l'intensité de la bande correspondante ainsi qu'un léger déplacement bathochrome sont observés.

Cas des dicétones

* α -dicétones : Dans le diacétyle $(\text{CH}_3\text{CO})_2$ on observe deux transitions $n \rightarrow \pi^*$; l'une vers 275 nm et l'autre vers 420 nm. Cette dernière est déplacée vers 466 nm lorsque les groupements carbonyle sont coplanaires et décroît jusqu'à 330 nm lorsqu'ils sont dans des plans perpendiculaires (pas de conjugaison). Elle augmente à nouveau lorsque l'angle dépasse 90° .

* β -dicétones : Les β -dicétones $\text{RCOCH}_2\text{COR}'$ donnent l'équilibre céto-énolique :



Les deux formes absorbent vers 270-280 nm mais les coefficients d'extinction molaire des deux bandes sont très différents. Dans la forme cétonique, il s'agit de transition $n \rightarrow \pi^*$ ($\epsilon \approx 30$). Dans la forme énolique, il s'agit d'une transition $\pi \rightarrow \pi^*$ d'une cétone- α,β -insaturée (énone) ($\epsilon \approx 13000$) et d'une transition $n \rightarrow \pi^*$.

L'intensité de l'absorption due à $n \rightarrow \pi^*$ permet d'obtenir le pourcentage de la forme énolique (96% dans l'hexane ; 15% dans l'eau). **La forme cétonique est donc favorisée dans les solvants polaires car elle est stabilisée par liaison hydrogène.**

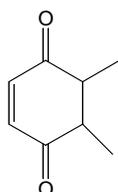
En milieu basique, il y a formation de l'ion énolate ($\lambda_{\max} = 292$ nm, $\epsilon_{\max} = 24000$).

Les β -dicétones aromatiques sont essentiellement sous forme énolique ($\lambda_{\max} \approx 340$ - 360 nm, $\epsilon_{\max} \approx 20000$ - 40000) (ex : Ph-CO-CH₂-CO-PH).

Cas des ènediones

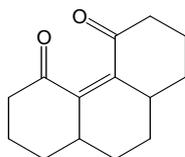
Dans les terpènes et les stéroïdes, on trouve très souvent le chromophore ènedione -C-C=C-C-. Les ènediones cycliques sont classées en quatre groupes structuraux. La position de la bande permet de déterminer à quel groupe elles appartiennent.

Homocisoides



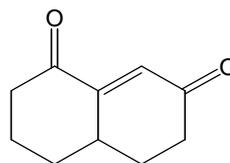
$\lambda_{\max} = 224$ nm

Hétérocisoides



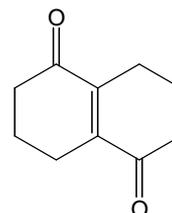
255-263 nm

Hémicisoides



252 nm

transoides



275 nm

III – COMPOSES A FONCTION AZOTEE

Cas des amines

Les spectres électroniques des amines sont voisins de ceux de l'ammoniaque mais les substituants alkyles exercent un fort effet bathochrome. La bande située du côté des grandes longueurs d'onde disparaît par protonation ; elle est attribuée à une transition $n \rightarrow \sigma^*$.

Tableau 2.7 – Absorption UV de l'ammoniaque, des amines aliphatiques et d'une hydrazine à l'état gazeux

	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max}	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max}
NH ₃	151		194,2	5600
CH ₃ NH ₂	174	2200	215	600
(CH ₃) ₂ NH	190	3300	220	100
(CH ₃) ₃ N	199	3950	227	900
(CH ₃ NH) ₂	167	1500	245	1000

Dans les amines aromatiques, l'azote interagit fortement avec le cycle benzénique et la corrélation avec le spectre du benzène est assez lointaine. Néanmoins, les trois bandes de l'aniline, en solution dans l'heptane, sont notées comme celles du benzène. La bande 1L_a a un caractère de transfert de charge accentué, ce transfert s'effectue d'une orbitale 2p de l'azote vers une orbitale π^* du cycle.

Tableau 2.8 – Absorptions UV de l'aniline dans l'heptane

Notation	1B	1L_a (ou β)	1L_b (ou α)
λ_{\max} (nm)	196	235	287
Log ϵ_{\max}	4,3	3,9	3,2

Cas des composés à liaisons multiples carbone-azote ou azote-azote

Les chromophores C=N et -N=N- présentent des analogies avec le chromophore C=O. Les premières transitions sont $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$. Pour le chromophore C=N isolé, elles se situent respectivement dans la zone 340- 360 nm ($\epsilon \approx 100$) et vers 190 nm.

Le chromophore -C=N n'a pas d'absorption dans le proche-UV (bande à 167 nm pour CH₃CN). *Les nitriles sont donc utilisables en spectroscopie UV comme solvants polaires et aprotiques.*

B-ANALYSE QUANTITATIVE

L'analyse quantitative par la spectrométrie UV-visible est très employée grâce à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert.

La concentration d'un système peut être déterminée par la mesure de l'absorption de la radiation par l'espèce.

La loi de Beer-Lambert est exprimée sous la forme $\log_{10} I_0/I = \varepsilon \cdot l \cdot C$ (2.1), où I_0 et I sont les intensités de la radiation incidente et transmise respectivement, C est la concentration molaire et ε le coefficient d'extinction. Le terme $\log_{10} I_0/I$ est appelé absorbance et est représenté par le symbole A . Les unités utilisées pour C , l et ε sont mol.l^{-1} , cm et $\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ respectivement.

Le coefficient d'extinction ε est une constante à une λ donnée pour une espèce donnée et il est indépendant de la concentration des espèces absorbantes. Par convention, ε est exprimé sans unités.

Des déviations à la loi de Beer-Lambert peuvent avoir lieu quand il y a participation de facteurs physiques tels que la fluorescence du soluté ou la perte d'énergie à partir de la source ou de facteurs chimiques tels que l'association moléculaire du soluté ou son ionisation. Il est possible de savoir si la déviation à la loi de Beer-Lambert est causée par des effets physiques ou chimiques. On trace A en fonction de l'épaisseur du milieu absorbant, à une concentration constante du soluté. Le tracé devrait donner une ligne droite si les effets causant la déviation sont de nature chimique puisque dans ce cas, le facteur causant la déviation reste constant. Si la cause est physique, le tracé ne donnera pas une droite.

Expérimentalement, on commence généralement par construire une courbe d'étalonnage $A = f(C)$ à partir de solutions de concentrations connues du composé à doser. Cette courbe est le plus souvent assimilable à une droite pour les solutions diluées. Elle permet de déduire la concentration C_X de la solution inconnue.

I – ANALYSE MULTICOMPOSANTS (MCA)

La loi de Beer-Lambert est additive. Ceci veut dire que l'absorbance A , mesurée dans une cuve d'épaisseur l d'un mélange de deux composés **1** et **2** en solution dans un même solvant, sera identique à l'absorbance mesurée après passage à travers deux cuves de même épaisseur l , placées l'une après l'autre, contenant l'une le composé **1** et l'autre le composé **2** (pris aux mêmes concentrations que dans le mélange initial). En donnant les indices 1 au composé 1 et 2 au composé 2, on aura par conséquent :

$$A = A_1 + A_2 = l(\varepsilon_1 C_1 + \varepsilon_2 C_2) \quad (2.2)$$

Points isobestiques : Considérons un composé **A** qui se transforme par une réaction du premier ordre en un composé **B**. Supposons que les spectres d'absorption, réalisés dans les mêmes conditions de concentration, se coupent en un point **I** lorsqu'on les superpose. Pour la longueur d'onde du point **I**, les absorbances des deux solutions sont les mêmes, et par conséquent les coefficients ε_A et ε_B sont identiques. Or dans ce type d'expérience on a au départ **A** pur, à la fin **B** pur, et pour tout instant intermédiaire, des mélanges de A et de B pour lesquels la concentration globale ne varie pas ($C_A + C_B = \text{constante}$) :

$$A_I = \varepsilon_A l C_A + \varepsilon_B l C_B = \varepsilon l (C_A + C_B) = \text{cste}$$

Tous les spectres des mélanges **A+B** formés au cours du temps passeront donc par le point **I**, appelé point isobestique, où l'absorbance **A** conservera la même valeur.

De tels réseaux de courbes concourantes se rencontrent au cours du virage d'un indicateur coloré en fonction du pH, ou de l'étude d'une cinétique de réaction. Les points isobestiques présentent l'intérêt d'indiquer que l'équilibre étudié est simple (ex : équilibre acide-base).

Dans le cas d'un équilibre HA/A^- ou B/BH^+ , le point isobestique est un point commun à l'ensemble des courbes UV qui sont enregistrées à divers pH.

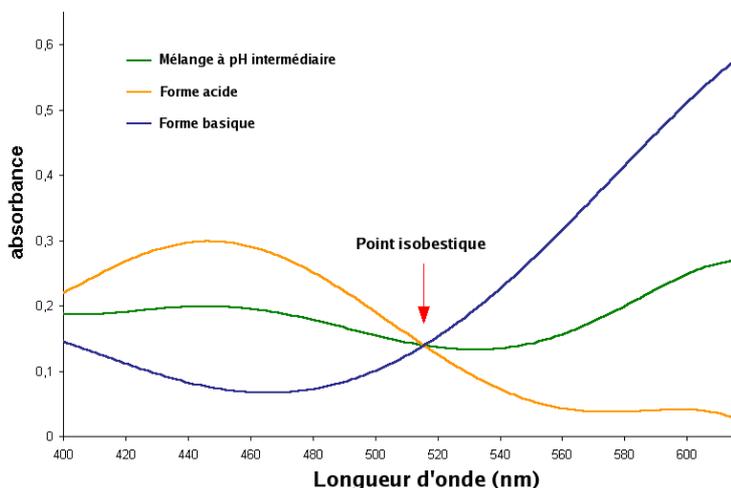


Fig. 2.3 - Point isobestique pour des spectres de solutions acide, basique et intermédiaire de vert de bromocrésol.

La longueur d'onde à laquelle apparaît ce point est caractéristique du système étudié.

Lorsqu'on est en présence d'un mélange de composés dont les spectres d'absorption individuels sont connus, on peut en déterminer la composition. Selon la loi d'additivité (relation 2.2), le spectre du mélange correspond à la somme pondérée des spectres de chacun des constituants. A une longueur d'onde donnée, l'absorbance A d'un mélange de n espèces absorbantes est la somme des absorbances individuelles :

$$A = A_1 + A_2 + \dots + A_n = l(\epsilon_1 C_1 + \epsilon_2 C_2 + \dots + \epsilon_n C_n)$$

Méthode algébrique de base

Soi un mélange de trois composés **a**, **b**, **c**, en solution (con. C_a , C_b , C_c). On mesure les absorbances de cette solution à trois longueurs d'onde λ_1 , λ_2 et λ_3 , soit A_1 , A_2 et A_3 . Connaissant les valeurs des absorbances spécifiques de chacun des trois composés pris isolément pour ces trois longueurs d'onde (9 valeurs au total, de ϵ_a^1 à ϵ_c^3) on écrira, par application de la loi d'additivité des absorbances, le système suivant de trois équations (on suppose que le trajet optique est de 1 cm) :

$$\text{à } \lambda_1 \quad \epsilon_a^1 C_a + \epsilon_b^1 C_b + \epsilon_c^1 C_c = A_1$$

$$\text{à } \lambda_2 \quad \epsilon_a^2 C_a + \epsilon_b^2 C_b + \epsilon_c^2 C_c = A_2$$

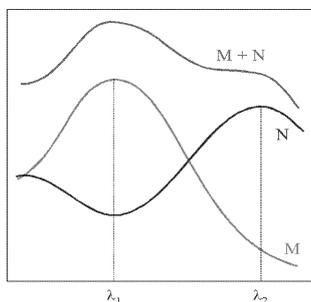
$$\text{à } \lambda_3 \quad \epsilon_a^3 C_a + \epsilon_b^3 C_b + \epsilon_c^3 C_c = A_3$$

La résolution de ce système, qui correspond à une matrice [3x3], permet de trouver les trois concentrations cherchées C_a , C_b et C_c . D'une manière générale, on devra faire autant de mesures qu'il y a de constituants.

$$\begin{bmatrix} \varepsilon_a^1 & \varepsilon_b^1 & \varepsilon_c^1 \\ \varepsilon_a^2 & \varepsilon_b^2 & \varepsilon_c^2 \\ \varepsilon_a^3 & \varepsilon_b^3 & \varepsilon_c^3 \end{bmatrix}^{-1} \times \begin{bmatrix} A_1 \\ A_2 \\ A_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} C_1 \\ C_2 \\ C_3 \end{bmatrix}$$

Cette approche est efficace lorsque les composants ont des spectres significativement différents, sinon elle devient très sensible aux erreurs de mesures sur le mélange.

Exemple : Si la solution contient deux composés M et N, l'absorbance totale est la somme des absorbances des composés individuels



Déterminer C_M et C_N

$$\text{à } \lambda_1: \quad A_1 = \varepsilon_{\lambda_1}^M \ell c_M + \varepsilon_{\lambda_1}^N \ell c_N$$

$$\text{à } \lambda_2: \quad A_2 = \varepsilon_{\lambda_2}^M \ell c_M + \varepsilon_{\lambda_2}^N \ell c_N$$

ε^M et ε^N déterminés avec des solutions pures.

Régression linéaire multilongueurs d'onde (méthode MLRA)

L'analyse des mélanges a donné lieu à diverses méthodes, rendues possibles avec les spectromètres qui enregistrent les données. L'ordinateur, associé au banc optique de l'appareil, comporte un logiciel qui utilise un grand nombre de points extraits des spectres de l'échantillon à doser et des différentes solutions d'étalonnage.

A titre d'exemple, est décrite ci-après, une méthode qui montre comment, par un calcul de régression linéaire, on peut améliorer le résultat d'une analyse de deux composés connus, présents dans un échantillon (fig. 2.4).

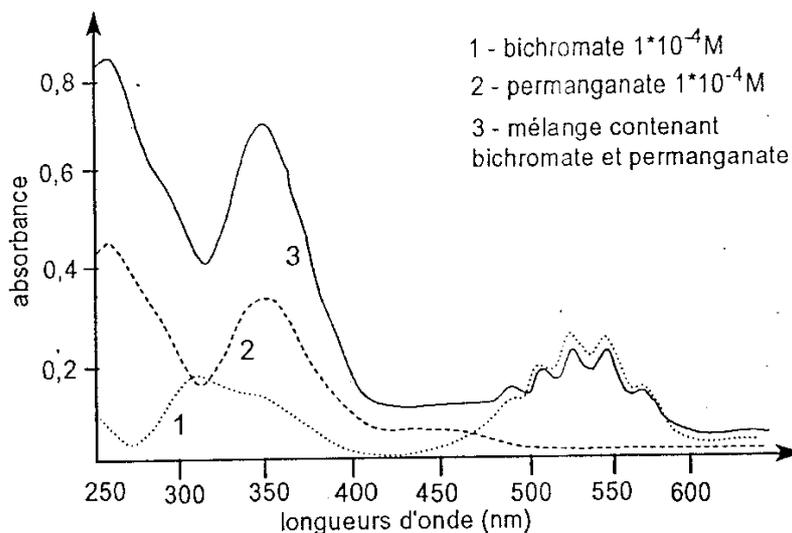


Fig. 2.4.- Analyse multicomposants. Spectre d'une solution de 10^{-4} M en permanganate, d'une solution 10^{-4} M de bichromate et d'une solution contenant $0,8 \cdot 10^{-4}$ M de permanganate et $1,8 \cdot 10^{-4}$ M de bichromate.

L'appareil utilise trois enregistrements en mémoire : un spectre de l'échantillon (qui contient les deux composés dont on veut trouver les concentrations) et un spectre dans le même domaine spectral de chaque composé pris isolément (solutions de référence de concentration connue).

Pour chaque longueur d'onde, la loi d'additivité des absorbances nous permet d'écrire que l'absorbance du mélange considéré des deux espèces a et b (qui n'interagissent pas l'une sur l'autre) est donnée par l'expression :

$$A = \varepsilon_a l C_a + \varepsilon_b l C_b \quad (2.3)$$

Pour chacun des deux spectres de référence, on a, si $l = 1$ cm :

$$\text{pour le composé a} \quad A_{\text{réf.a}} = \varepsilon_a C_{\text{réf.a}}$$

$$\text{pour le composé b} \quad A_{\text{réf.b}} = \varepsilon_b C_{\text{réf.b}}$$

Ces deux expressions nous permettent de connaître les coefficients d'absorption ε de chaque constituant pur, pour chaque longueur d'onde considérée. On peut donc écrire à nouveau l'expression (2.3) sous la forme :

$$A = \frac{A_{\text{réf.a}}}{C_{\text{réf.a}}} C_a + \frac{A_{\text{réf.b}}}{C_{\text{réf.b}}} C_b$$

En divisant le premier membre par $A_{\text{réf.a}}$, on aura pour chaque longueur d'onde :

$$\left(\frac{A}{A_{\text{réf.a}}} \right) = \frac{C_a}{C_{\text{réf.a}}} + \frac{C_b}{C_{\text{réf.b}}} \cdot \left(\frac{A_{\text{réf.b}}}{A_{\text{réf.a}}} \right)$$

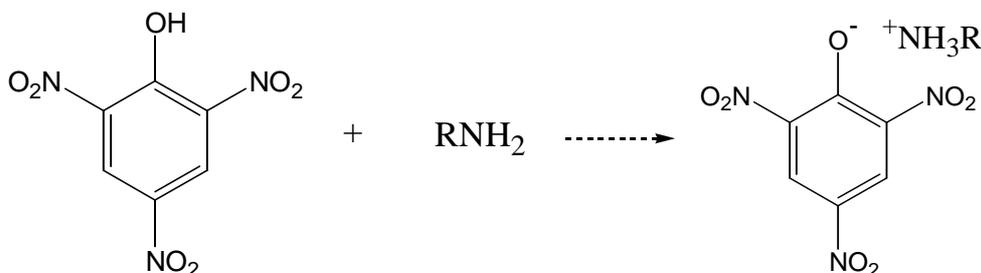
Le premier membre de cette dernière expression est donc une fonction affine du rapport des absorbances figurant au second membre. Les valeurs calculées sont sur une droite dont la pente et l'ordonnée à l'origine permettent de calculer C_a et C_b .

II – DETERMINATION DE LA MASSE MOLAIRE

La masse molaire d'un composé peut être déterminée par des mesures spectrophotométriques si un dérivé convenable du composé peut être préparé. Ainsi, le spectre d'absorption d'un composé dépend du groupe chromophore présent. Si un dérivé est formé via un groupement fonctionnel du composé, éloigné du système chromophorique, alors l'absorption provenant du chromophore restera inaltérée pourvu que le nouveau groupement n'absorbe pas dans la même région. Aussi, ϵ dans la région d'absorption du chromophore restera constant. Cependant, l'absorbance va changer puisqu'elle dépend de la masse molaire de l'espèce absorbante : $A = \epsilon lC = \epsilon lC'/M$ (3.2) ; où M est la masse molaire des espèces absorbantes, C' est la concentration massique des espèces absorbantes en $g.l^{-1}$ et l l'épaisseur du milieu absorbant en cm. La masse molaire des espèces absorbantes peut être déterminée par mesure de A d'une solution contenant une masse connue de cette espèce dans un volume connu.

Cette méthode peut être utilisée pour déterminer la masse molaire des composés qui forment des picrates ; *ex. les amines*.

Soit la réaction



Le spectre de l'acide picrique montre une absorption vers 360 nm due aux groupes chromophores NO_2 . Cette bande peut être utilisée pour déterminer la masse molaire du picrate à condition que le groupe R n'absorbe pas à la longueur d'onde à laquelle les mesures sont faites. Il est ensuite possible de calculer la masse de l'amine.

III – MESURES CINÉTIQUES

La cinétique d'une réaction peut être déterminée par la mesure de la variation de la concentration à la fois d'un réactif ou d'un produit en fonction du temps.

Comme l'absorbance est directement proportionnelle à la concentration, la spectrométrie d'absorption constitue une méthode de choix pour suivre le déroulement d'une réaction. On suit alors l'absorbance d'un des réactifs ou des produits qui présente une absorption convenable en UV ou visible et qui ne se recouvre pas avec l'absorption due à d'autres espèces présentes.

Soit la réaction $A + B \rightarrow C + D$

$$v = - \frac{d[A]}{dt} = k[A]^m [B]^n = k[C]^{m'} [D]^{n'}$$

on a $A = \epsilon lC$ $C = A/\epsilon$

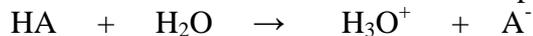
En suivant l'évolution de $A = f(t)$, on détermine $C = f(t)$

Donc, ceci permet de tracer $C = f(t)$ et de déduire l'ordre de la réaction à partir de l'allure de la courbe.

IV – DETERMINATIONS DES CONSTANTES DE DISSOCIATION DES ACIDES ET DES BASES

La spectroscopie UV est une très bonne méthode pour l'étude des équilibres en solution très diluée.

La dissociation d'un acide HA dans l'eau peut s'écrire :



où A^- est la base conjuguée de HA.

Pour des solutions diluées, on a : $\text{pK}_a = \text{pH} + \log[\text{HA}]/[\text{A}^-]$

La valeur du pK_a de l'acide peut être calculée à partir de la mesure du pH et du rapport $[\text{HA}]/[\text{A}^-]$ à ce pH. Ce rapport peut être immédiatement déterminé spectrophotométriquement. Le spectre UV dépend de l'ionisation (donc du pH) des molécules. Le chromophore de la molécule doit être en interaction avec le site d'ionisation.

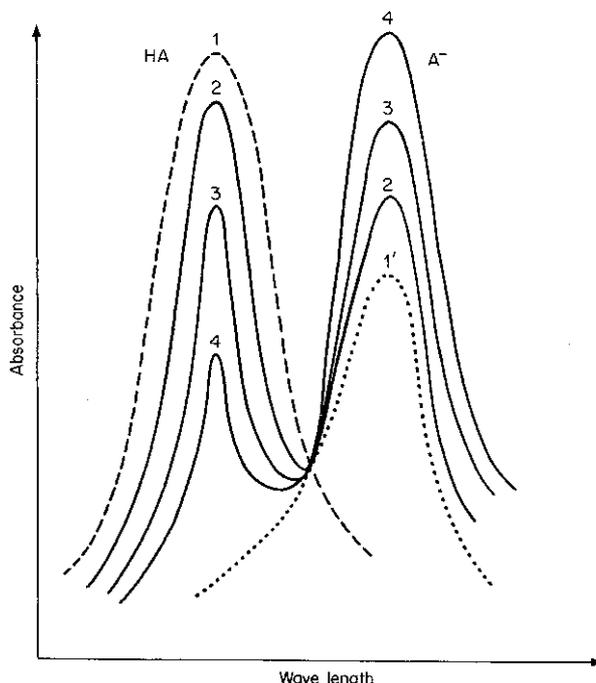


Figure 2.5 : Spectres d'absorption du système $\text{HA} \rightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$ enregistrés à différents pH croissant dans l'ordre 1→4

Pour la dissociation $\text{HA} \rightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$, la position d'équilibre dépend du pH du milieu. En milieu très basique, l'équilibre est déplacé vers la droite et le spectre d'absorption du système est celui de l'anion A^- (spectre de la base). Dans le cas du milieu très acide, l'équilibre est déplacé vers la gauche et le spectre d'absorption sera celui de l'acide HA (spectre de l'acide). Les spectres d'absorption correspondant à A^- et à HA sont représentés sur la figure 2.5 (courbes 1' et 1 respectivement). Les deux spectres A^- et HA sont très différents.

Par modification du pH, on peut modifier graduellement l'allure du spectre comme indiqué par les courbes successives 2, 3, 4. Si le pH du système décroît, alors la concentration de l'acide HA et par conséquent, l'absorbance due à HA augmente alors que la concentration de la base et son absorbance diminuent. Les coefficients d'extinction de HA et A^- passent par une valeur maximale à la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption.

Les courbes spectrales passent toutes par un point i fixe –point isobestique. La longueur d'onde à laquelle apparaît ce point est caractéristique du système étudié. L'existence de ce point est dû au fait que même si le rapport $[AH]/[A^-]$ varie, la somme des concentrations reste constante $[AH] + [A^-] = C_0$, C_0 étant la concentration initiale. En ce point, les formes A^- et AH ont même coefficient d'extinction ϵ et l'absorbance en ce point sera :

$$A_I = \epsilon_{AH}lC_{AH} + \epsilon_{A^-}lC_{A^-} = \epsilon l(C_{AH} + C_{A^-}) = \epsilon lC_0 = \text{cste}$$

L'existence de ce point dans un ensemble de courbes indique la présence de deux chromophores et de deux seulement intervenant en quantités complémentaires.

V – SPECTROMETRIE DERIVEE

La spectrométrie dérivée permet d'améliorer la précision des dosages lorsqu'on est en présence de mélanges de composés dont les spectres sont peu différents. Les courbes dérivées, au sens mathématique du terme, amplifient les faibles variations de pente du spectre initial (spectre d'ordre zéro). Les tracés sont beaucoup plus accidentés qu'en unités d'absorbance (figure 2.6).

Le principe de la dérivation peut être étendu aux dérivées successives ($n^{\text{ième}}$ dérivée) à partir de la courbe dérivée première, $dA/d\lambda = f(\lambda)$, accessible sur la plupart des spectrophotomètres.

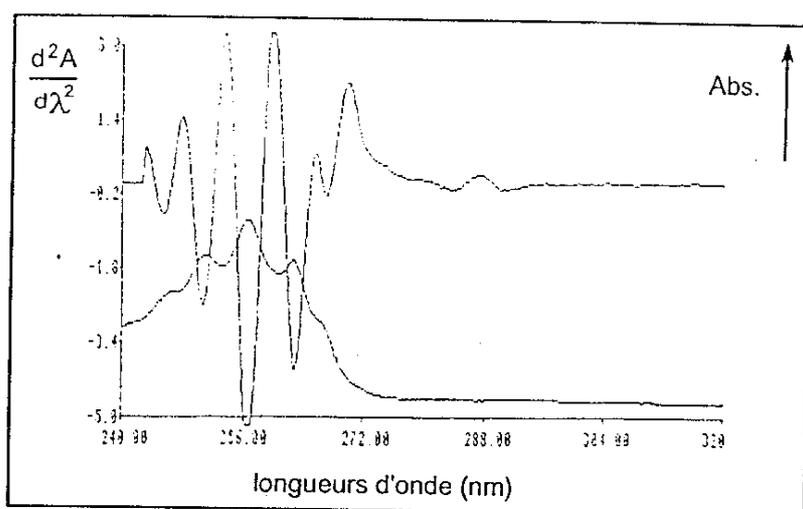


Figure 2.6 : Courbes dérivées. Spectre UV et courbe de sa dérivée seconde de la phénylalanine

La courbe correspondant à la dérivée seconde, fait correspondre aux points d'inflexion du spectre d'ordre zéro, des points d'annulation de pente, c'est-à-dire des maxima ou des minima (figure 2.6). Elle montre un pic négatif important dont le minimum se trouve à la même longueur d'onde que celle du maximum d'absorption du spectre d'ordre zéro. La quatrième dérivée met encore mieux en évidence les faibles variations d'absorbance du spectre initial.

L'amplitude entre le maximum et le minimum de la courbe dérivée $n^{\text{ième}}$, est proportionnelle à la valeur de l'absorbance de la solution. La courbe d'étalonnage est établie à partir de plusieurs solutions étalons de concentrations différentes auxquelles le même traitement mathématique est appliqué, ainsi qu'à la solution échantillon.

L'intérêt du procédé est évident dans des situations où l'absorbance est faussée :

- si le spectre de la solution échantillon présente un décalage vers le haut par suite d'un fond d'absorption uniforme, la courbe dérivée, qui n'est sensible qu'aux variations de pente de la courbe d'ordre zéro, n'en sera nullement affectée.
- si on est en présence d'un phénomène de diffusion de la lumière au sein de la solution échantillon, qui se traduit par un fond d'absorption qui croît modérément vers les petites longueurs d'onde, là encore, les courbes dérivées seront peu affectées (figure 2.7).

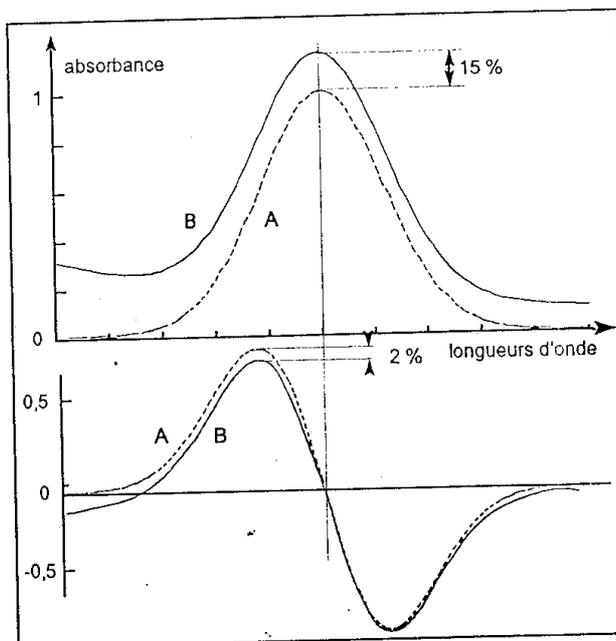


Figure 2.7 : Effet d'un phénomène de diffusion sur un spectre enregistré en absorbance et sur sa courbe dérivée. Comparaison des courbes dérivées correspondant pour A au spectre d'un composé en solution sans phénomène de diffusion et pour B au même spectre en présence de diffusion. On observe que la diffusion perturbe ici de 15% l'absorbance mais de 2% seulement la valeur de l'amplitude de la courbe dérivée.

La dérivée d'ordre un présente un maximum et un minimum correspondant à deux inflexions de la courbe dans la partie montante et dans la partie descendante ; elle coupe l'axe des abscisses à une longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption et se confond avec cet axe lorsque l'absorbance est nulle.

La courbe est caractéristique et le maximum d'absorption correspond à l'intersection de la courbe dérivée avec l'axe des abscisses.

Dérivées d'ordre supérieur : Les spectres étant d'autant plus complexes que l'ordre de dérivation augmente, les dérivées d'ordre supérieur à 4 sont rarement utilisées dans la pratique.

En effet, si le spectre d'ordre 0 présente un maximum on s'aperçoit que :

- le spectre dérivé d'ordre 1 présente deux maximums (ou minimums) (un positif et un négatif)
- le spectre dérivé d'ordre 2 présente trois maximums (ou minimums) (un négatif et deux positifs)

- le spectre d'ordre 3 présente quatre maximums (ou minimums) (deux négatifs et deux positifs)
- le spectre d'ordre 4 présente cinq maximums (ou minimums) (deux négatifs et trois positifs).

La complexité des courbes augmente avec l'ordre de la dérivée, puisque chacune d'elles prend en compte les minimums, les maximums et les inflexions de la dérivée d'ordre immédiatement inférieur. Dans la pratique, la dérivée 4 est utilisée car comme pour la dérivée seconde, le pic le plus important a son maximum situé à la longueur d'onde du maximum de la bande du spectre d'ordre zéro.

Conclusion : L'utilisation d'un spectre dérivé présente deux avantages :

- la résolution obtenue est meilleure qu'avec le spectre original et cette résolution augmente avec l'ordre de la dérivée
- pour une amplitude donnée du pic original, l'amplitude des pics dérivés augmente avec l'ordre de dérivation.