

Chapitre 3 : techniques d'analyse spectrales

I- La spectroscopie : introduction

❖ Interaction rayonnement-matière

1-Rayonnement

1-1-Nature ondulatoire : Un rayonnement électromagnétique (ou radiation électromagnétique) est une onde constituée par deux champs : un champ électrique E et un champ magnétique B à la fois perpendiculaires entre eux et perpendiculaires à la direction de propagation.

$$\lambda = C \cdot T$$

λ : Longueur d'onde en : m, μm , nm.

C: la vitesse de la lumière dans le vide soit $3 \cdot 10^8 \text{ m/s}$.

T: Période; temps au bout duquel le phénomène se reproduit identique à lui même.

$$\nu = 1/T = C/\lambda$$

ν : fréquence (s^{-1} ou Hertz « Hz »)

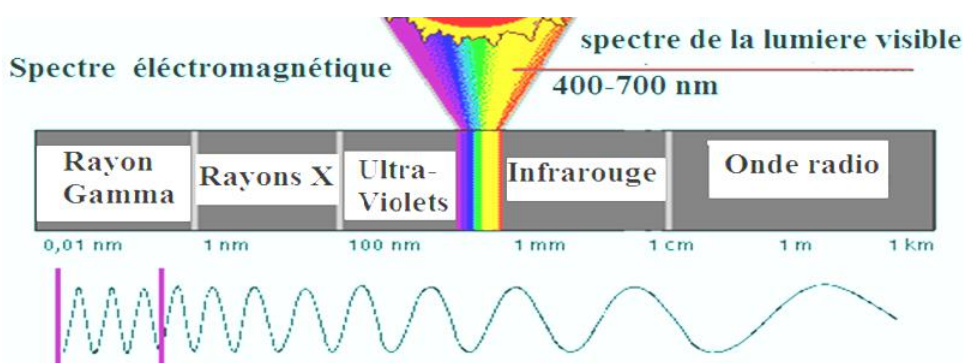
- L'ensemble des radiations constitue le spectre électromagnétique

❖ Le spectre électromagnétique

Les ondes électromagnétiques sont classées et réparties en fonction de leur longueur d'onde ou de leur fréquence ; cette répartition est appelée spectre électromagnétique. Ce spectre est représenté sur la figure suivante, qui consiste en une bande contenant tous les types de rayonnement électromagnétique qui existent dans l'univers.

Selon la longueur d'onde, le spectre couvre les domaines des rayons Gamma aux ondes radio.

$$1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m} = 10 \text{ \AA}$$



1-2 Nature corpusculaire : La nature ondulatoire de la lumière ne permet pas à elle seule d'interpréter les phénomènes d'interaction entre lumière et matière. Planck puis Einstein proposèrent la théorie des quanta :

La lumière est composée de grains d'énergie : les photons.

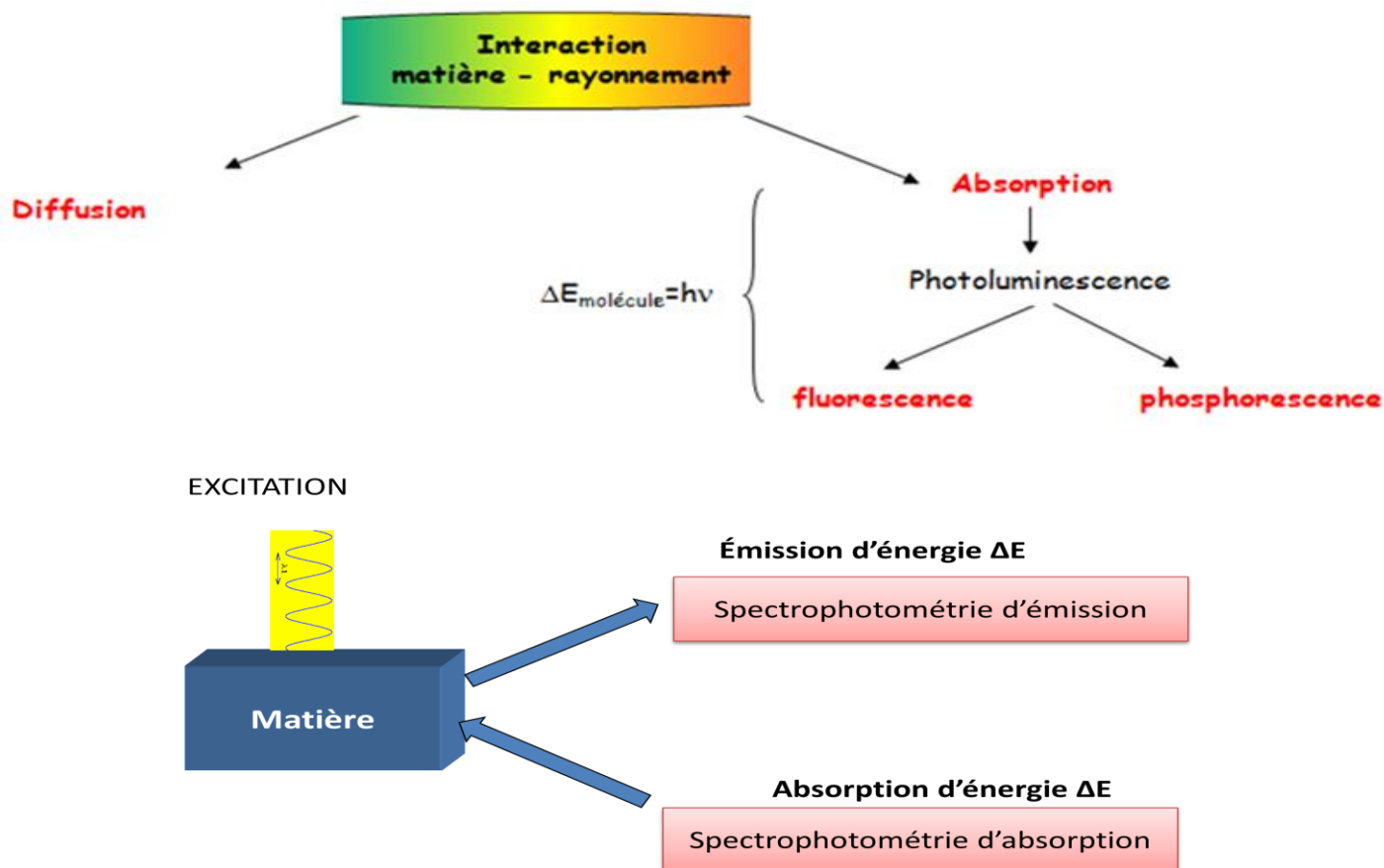
Le photon est une particule qui se propage à la vitesse de la lumière et possède un quantum d'énergie :

$$E = h \cdot \nu = h \cdot C / \lambda$$

E : Energie du photon en Joules (J)

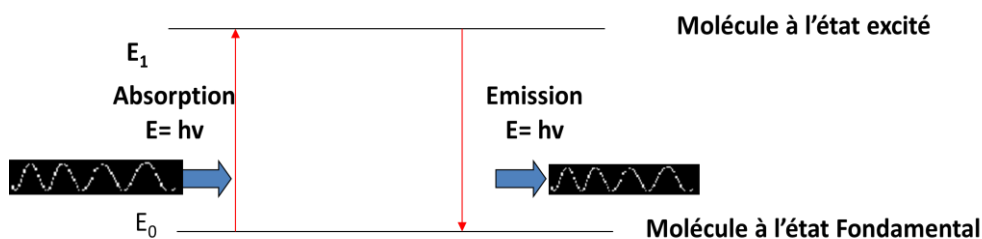
h : constante de Planck = $6.62 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}$

❖ Les méthodes spectrales se basent sur l'interaction d'ondes électromagnétiques et la Matière.



❖ A partir de l'étude de la lumière émise ou absorbée par les atomes ou les molécules d'un composé, il est possible de déduire beaucoup d'informations concernant la composition, la température et la densité de ce composé.

❖ Par absorption, un quantum absorbé, permet le passage de la molécule au niveau d'énergie supérieur, par émission en revenant au niveau d'énergie inférieur, la molécule émet une onde électromagnétique.



❖ L'atome d'hydrogène est l'atome le plus simple et c'est lui qui possède le spectre le plus simple. Il peut absorber ou émettre des quantités d'énergie bien particulières : celles qui correspondent au

passage de l'électron d'un niveau d'énergie à un autre. Lorsque l' e^- passe d'un niveau d'énergie E_p vers un niveau supérieur E_n , il absorbe un photon de fréquence ν (longueur d'onde λ) et d'énergie $\Delta E = E_n - E_p$

❖ L'énergie totale d'une molécule en mouvement est la somme de quatre termes. L'un est dû aux électrons de la molécule et les autres sont dus aux mouvements de translation, de rotation et de vibration

$$E_{\text{total}} = E_{\text{électronique}} + E_{\text{translation}} + E_{\text{rotation}} + E_{\text{vibration}}$$

Type d'OEM absorbée	Variation d'énergie de la matière
Micro-onde	saut d'un niveau de rotation
Infrarouge	saut d'un niveau de vibration
Visible	saut d'un niveau électronique dans une orbitale moléculaire délocalisée
Ultraviolet proche	saut d'un niveau électronique dans un orbitale moléculaire, ou formation d'un radical libre.
De la diffraction	extraction des électrons des couches électroniques de l'atome.

2-Techniques d'analyse spectrales

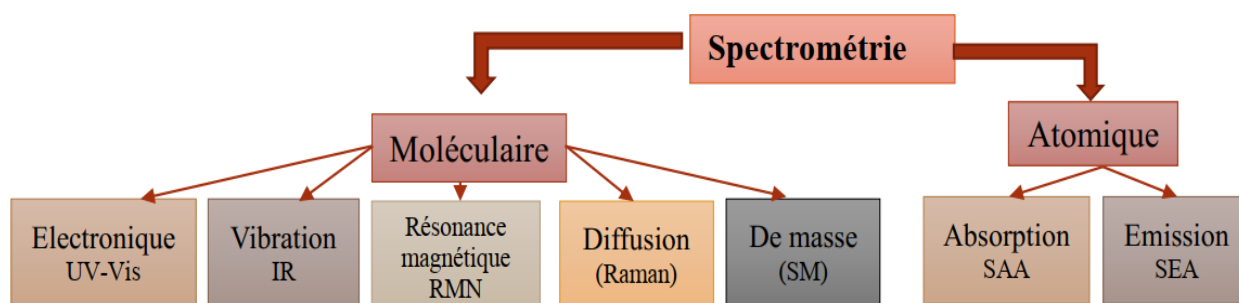
Ce sont des techniques d'analyses (qualitative, quantitative et structurale), qui consistent à mesurer l'absorption d'une solution.

On fonction de spectre utilisé, et la nature de la substance à analyser on a plusieurs techniques :

- **Spectroscopie UV-visible = spectrophotométrie** = spectroscopie d'absorption moléculaire
- **Spectroscopie d'absorption atomique (SAA)** : La spectrométrie atomique étudie les émissions ou absorptions de lumière par l'atome libre.
- **Spectroscopie Infrarouge (IR)** : dans cette technique on peut exciter les modes de vibration (élongation et déformation des liaisons).
- **Spectroscopie de masse (SM)** : généralement couplé avec la chromatographie en phase gazeuse (CG/SM), appliquée surtout pour l'analyse et la détermination de la structure des huiles essentielles.
- **Résonance Magnétique nucléaire (RMN)** : très utilisée pour la détermination de la structure des molécules d'origine végétales (flavonoïdes, alcaloïdes, ...etc.)

➤

❖ **Classification des méthodes spectrales :**



II. LA SPECTROMETRIE UV-VISIBLE

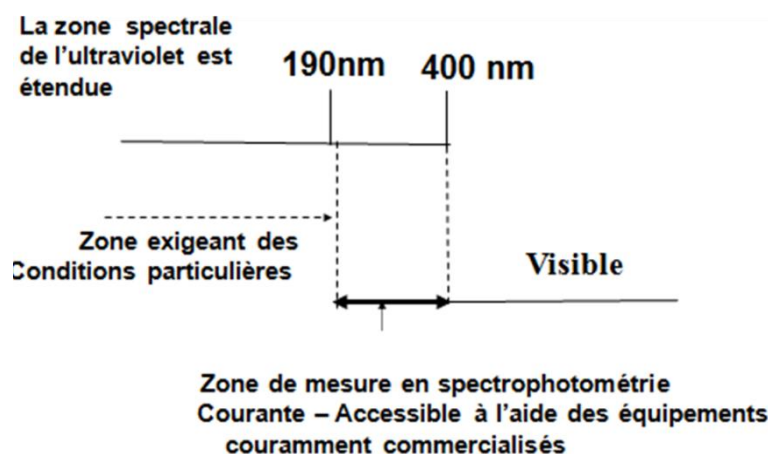
La spectrométrie UV- visible permet de mesurer l'absorbance d'une solution homogène à une longueur d'onde donnée ou sur une région spectrale donnée. Selon la loi de Beer Lambert.

❖ Le domaine d'UV-Vis

10-200 nm UV lointain.

200-400 nm UV proche.

400-800nm Visible.



❖ Loi de Ber Lambert

Soit un rayon lumineux traversant une solution absorbante de concentration C et de trajet optique égal à l.

Si I_0 est l'intensité du rayon lumineux à l'entrée de la solution et I son intensité à la sortie, la relation fondamentale utilisée en spectrophotométrie est présentée sous la forme:

- Absorbance $A(\lambda) = \log \frac{I_0}{I_\lambda} = -\log T(\lambda)$

- Transmittance $T(\lambda) = \frac{I_\lambda}{I_0}$

$$A = \varepsilon(\lambda) \times c \times l = \log 1/T$$

L = longueur de la cuve (cm)

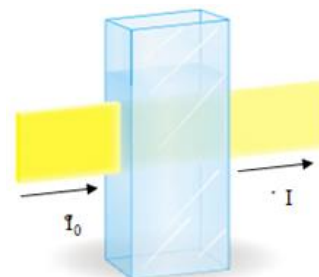
T = transmittance

A = absorbance

$\varepsilon(\lambda)$ = coefficient d'extinction molaire ($\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)

c = concentration molaire (mol L^{-1})

Validité de la loi:



- Solution diluée et de concentration fixe.
- ϵ est constante \rightarrow lumière monochromatique.
- Solution transparente, non fluorescente et stable.
- Pas de réaction avec le solvant.

Exemple :

L'absorbance A de chaque solution à λ_{\max}

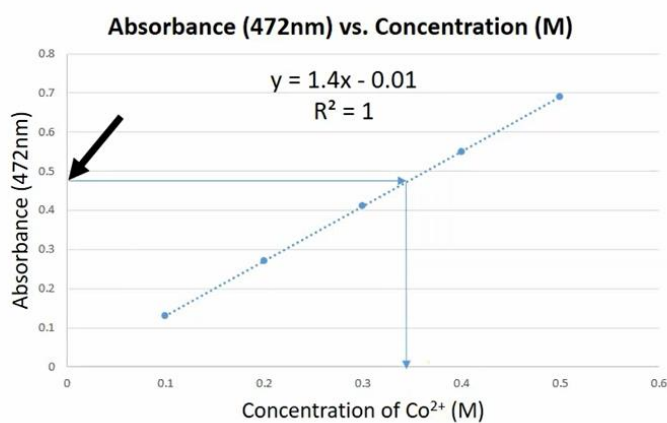
Measure the absorbance the unknown M solution

Solution (M)	Absorbance (472nm)
Unknown	0.47

Look where it falls

Concentration of Co^{2+} (M)	Absorbance (472nm)
0.1	0.13
0.2	0.27
0.3	0.41
0.4	0.55
0.5	0.69

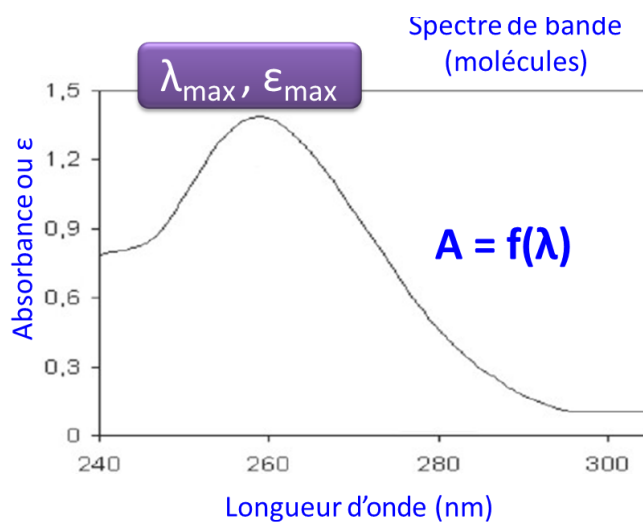
Use Beer's Law Plot to Determine Concentration



Eyeball/Estimation = 0.35M

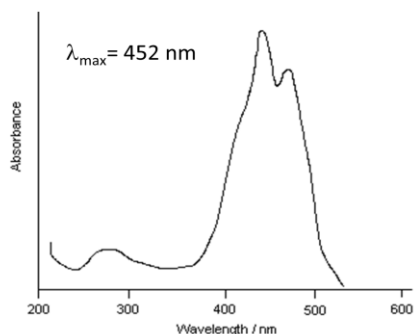
L'allure d'un spectre UV-vis :

Les spectres les plus utilisés sont ceux de A et ϵ en fonction de λ : spectres de bande caractérisés par : λ_{\max} et A_{\max} ou ϵ_{\max}

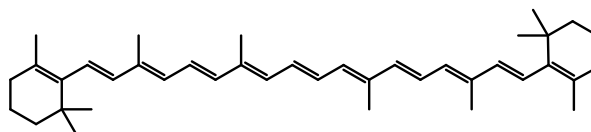


la courbe d'étalonnage a λ_{\max}

Exemple : β -carotène



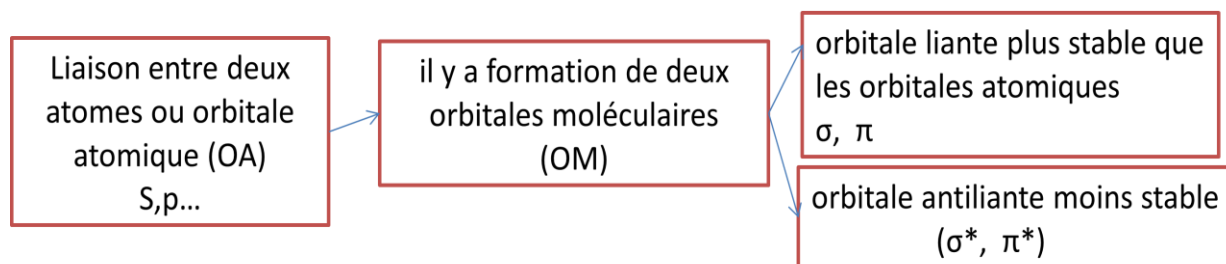
Chimie analytique



- colorant alimentaire
- antioxydant
- crèmes solaires (agent filtrant)

❖ Transitions observables en spectrométrie UV-Visible

Le spectrophotomètre UV-Visible basé sur l'excitation des électrons extérieurs d'un niveau électronique à un autre.



($\sigma \rightarrow \sigma^*$):

Les orbitales σ contiennent les électrons de la liaison simple, la différence entre les OM est élevée \rightarrow beaucoup d'énergie ~ 150 nm. Exp : méthane.

($n \rightarrow \sigma^*$):

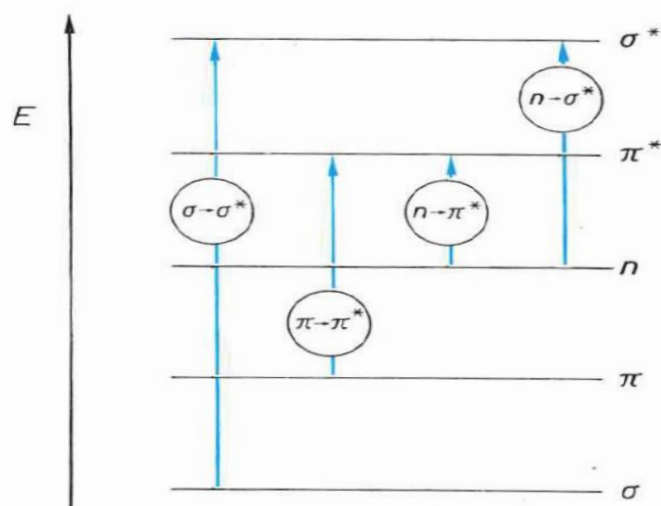
molécules avec en plus un atome (O, N, S, Cl...) porteur de doublets électroniques libres (n) $\rightarrow \sim 150$ -250 nm. Exp : méthanol

($n \rightarrow \pi^*$):

Molécules avec en plus un atome (O, N, S, Cl...) porteur de doublets électroniques libres appartenant à un système insaturé (π) $\rightarrow 270$ -290 nm. Exp : éthanal

($\pi \rightarrow \pi^*$):

Molécules avec une double liaison éthylénique isolée $\rightarrow 170$ -290 nm.
exp : éthylène



- ❖ La Fréquence du rayonnement absorbé est en corrélation avec la structure de la molécule.

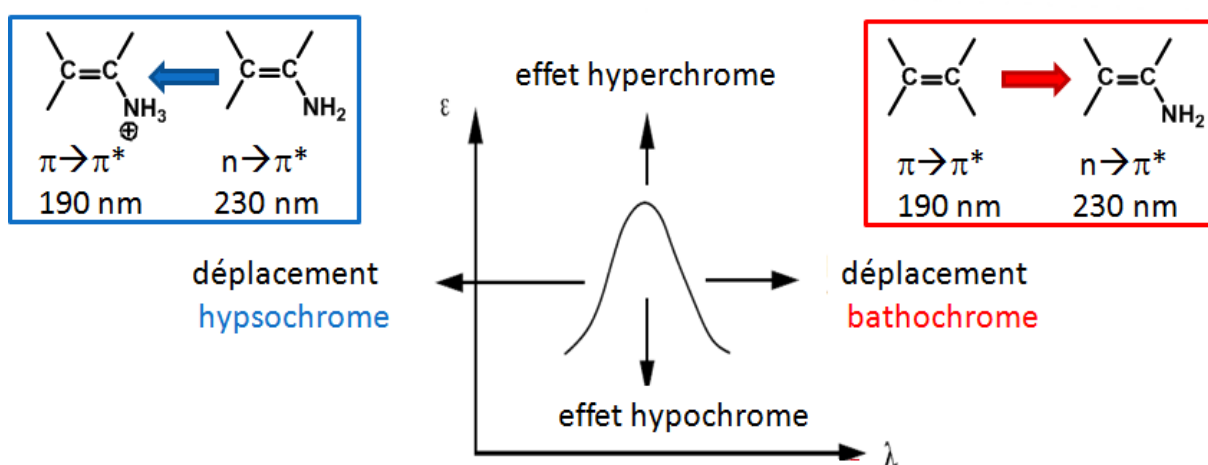
❖ Les chromophores :

- Groupe responsable de la couleur d'une molécule qui absorbe dans le visible (400-800nm)

- Porte des électrons facilement excités (n ou p).

❖ L'influence sur l'absorption

- **Effet bathochrome:** le chromophore diminue la fréquence d'absorption (augmente le λ_{\max}).
Déplacement de l'absorption vers des longueurs d'ondes plus grandes dû à une substitution ou à un effet de solvant.
- **Effet hypsochrome:** le chromophore augmente la fréquence d'absorption (diminue le λ_{\max}).
Déplacement de l'absorption vers des longueurs d'ondes plus courtes dû à une substitution ou à un effet de solvant.
- **Effet hypochrome:** le chromophore diminue l'intensité d'absorption (diminue ϵ).
- **Effet hyperchrome:** le chromophore augmente l'intensité d'absorption (augmente ϵ).



❖ Système conjugué

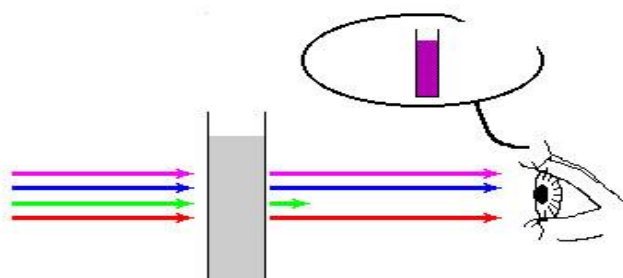
Il y a augmentation de la délocalisation \rightarrow diminution de ΔE pour la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ déplacement bathochrome.

❖ Absorbance et couleur complémentaires

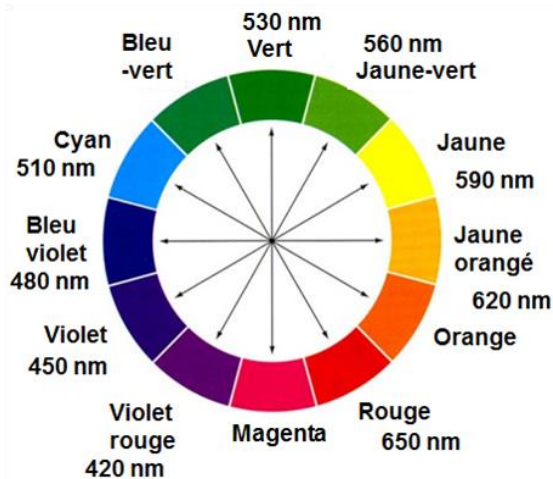
Lorsqu'une espèce chimique absorbe que dans un seul domaine de longueurs d'onde du visible sa couleur est la couleur complémentaire de celle des radiations absorbées.

Exemple :

Couleur
absorbée
vert

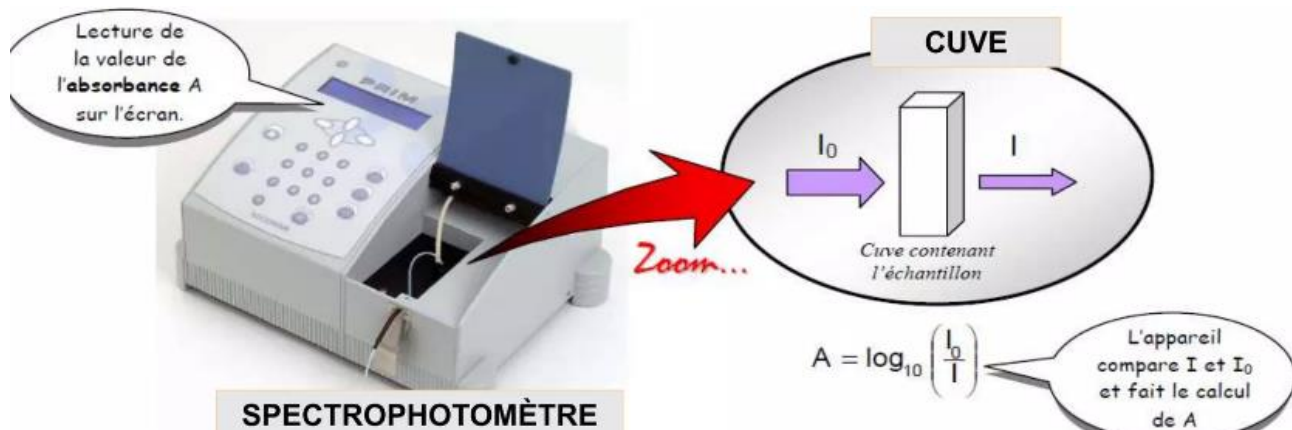


Couleur
observée
cyan



Longueurs d'ondes absorbées (nm)	Couleur « absorbée » par le corps	Couleur complémentaire
400-435	Violet	Vert-jaunâtre
435-480	Bleu	Jaune
480-490	Bleu-verdâtre	Orange
490-500	Vert-bleuâtre	Rouge
510-560	Vert	Pourpre
560-580	Vert-jaunâtre	Violet
580-595	Jaune	Bleu
595-610	Orange	Bleu-verdâtre
610-750	Rouge	Vert-bleuâtre

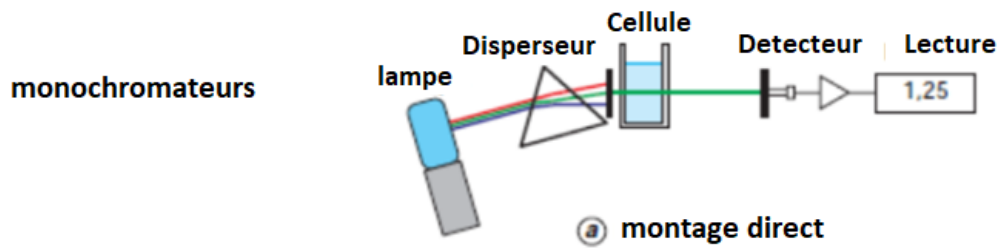
❖ Le spectromètre UV/vis



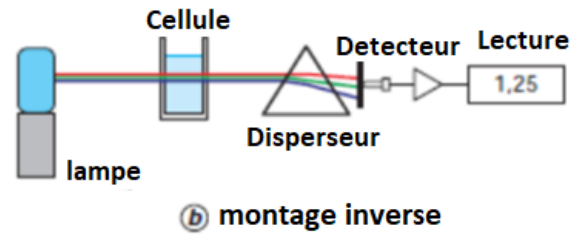
Un spectrophotomètre est un appareil qui comporte :

- Une source de radiations polychromatique
- Un monochromateur capable d'extraire une radiation monochromatique
- L'échantillon à tester
- Un photodétecteur Source lumine

Appareils à simple faisceau

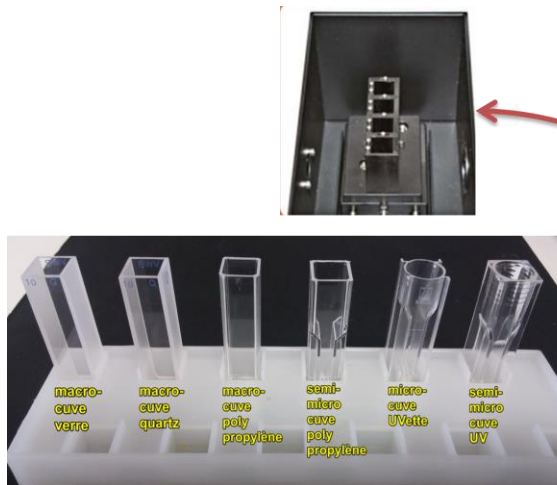
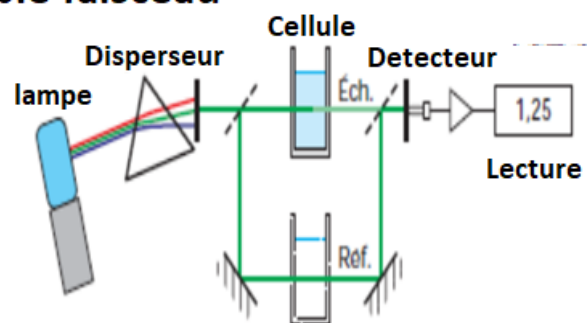


spectrographes (largement utilisés comme détecteur HPLC)



Appareils à double faisceau

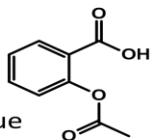
Monochromateurs (meilleur, préférable si les solutions sont troubles)



Applications:**Identification**

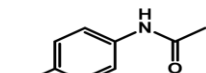
- Mesures pour l'identification des principes actifs des médicaments :

a) **Aspirine**
acide
acétylsalicylique



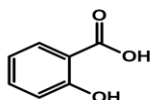
$\lambda_{\max} = 225 \text{ nm}$
 $\varepsilon = 460$

b) **Paracétamol**
N-(4-hydroxyphényl)
éthanamide

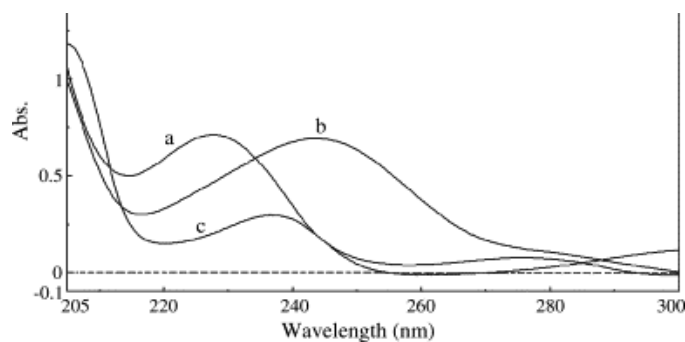


$\lambda_{\max} = 249 \text{ nm}$
 $\varepsilon = 880$

c) acide
salicylique



$\lambda_{\max} = 235 \text{ nm}$
 $\varepsilon = 506$

**Ex. 1: huile d'olive**

native: A(270 nm) < 0.16

Raffiné: A(270 nm) 0.2-1.2 (plus des liaisons doublées)

❖ huile de soja et d'olive :

