

Ch 3 :

Spectrométrie d'absorption UV-Visible

• Domaine spectral

190 à 900 nm

Méthode d'analyse moléculaire

UV : 200 à 400nm : 598 à 299 kJ/mol

Vis : 400 à 700 nm : 299 à 170 kJ/mol

Liaison C-C rompue à ≈ 350 kJ/mol

Ce type de ryt transporte une énergie équivalente à celles séparant les niveaux d'énergie des électrons des orbitales de liaison moléculaire.

On obtient des informations concernant les niveaux d'énergie des électrons liaison :

- des orbitales de liaison
- Des structures moléculaires

Spectrométrie d'absorption UV-Vis repose sur l'utilisation d'appareils spécifiques appelés :

- spectrophotomètre
- photomètre
- colorimétrie

• Colorimétrie

les coordonnées chromatiques

= (CIE xy)

Ne caractérise pas la quantité

CIE REB (x y z) (max :250)

CIE LAB L : luminosité ; A : rouge \rightarrow vert ; ou de spectacle ; B : jaune \rightarrow bleu

• Règles de transition

$\Delta V = 0, \pm 1, \pm 2, \pm 3 \dots$

$\Delta J = 0, + 1, -1.$

Énergie des photons UV-Vis, correspond à des variations $E_0 \rightarrow E_1$; $E_0 \rightarrow E_2$

On observe n transition $\Delta V_0, \Delta J_0$ (de $E_0 \rightarrow E_1$)

« n' « $\Delta J_1 = + 1$

« n'' « $\Delta J = -1$

On a donc n paquets (branches) de n transitions

$\Delta V = 0 \rightarrow$ branche P

$\Delta V = 1 \rightarrow$ branche Q

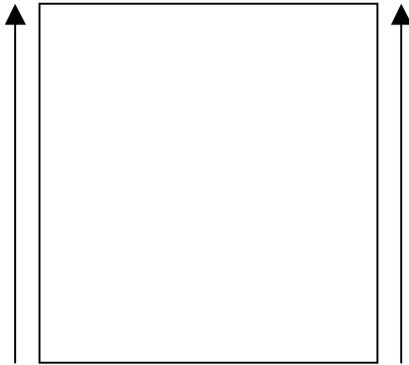
$\Delta V = 2 \rightarrow$ branche R

I. Les transitions

En phase gazeuse, on peut voir différentes branches. En phase condensée (comme l'eau) on ne voit qu'une large bande qui correspond à la moyenne des transitions $E_0 \rightarrow E_1$.

CH₂OH
fomaldéhyde

Liaison C=O : 2 e⁻ σ , 2 e⁻ π , 4 e⁻ n (libres)



Transition envisageable
 $\sigma \rightarrow \sigma^*$: seulement ds UV lointain
 $\sigma \rightarrow \pi^*$: impossible (règle de sélection quantique)
 $\pi \rightarrow \sigma^*$: impossible idem
 $n \rightarrow \sigma^*$: oui
 $\pi \rightarrow \pi^*$: oui
 $n \rightarrow \pi^*$: oui

→ Il faut soit des liaisons π soit des doublets libres = des chromophores pour absorber.

Les transitions $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$ correspondent à des composés insaturés qui possèdent des doublets libres. La plupart des applications spectrophotométriques correspondent à ce type de transition.

$200 \text{ nm} < \lambda < 700 \text{ nm}$

$n \rightarrow \pi^*$: $10 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} < \epsilon < 100 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

$\pi \rightarrow \pi^*$: $1000 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} < \epsilon < 10\,000 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

Aromatique
Éthylène
171 nm

211 nm

Acétylène
178 nm
196 nm

Acide
208 nm

-NO₂ : 201 nm
274 nm

Cétone
189 nm
279 nm

220 nm

-ONO : 220 nm
356 nm

-ONO₂ : 270 nm

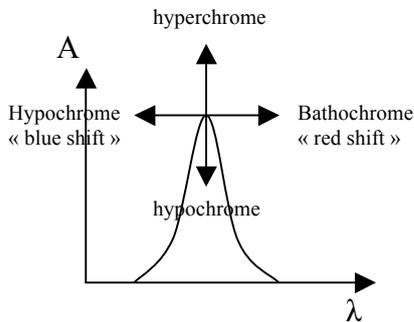
• **Essentiel :**

Gpements aromatiques
Dble liaison conjugué
Dblets libres

II. Déplacements des pics d'absorption

Les pics associés aux transitions $n \rightarrow \pi^*$ st en général déplacés vers le bleu (déplacement hypochrome) lorsqu'on augmente la polarité du solvant.

Les pics associés aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ déplacés vers le rouge (déplacement bathochrome)



Ex : 1,3-butadiène
Ds hexane $\epsilon = 2$
Ds méthanol $\epsilon = 33$

III. Effet de la conjugaison

Si 2 chromophores st séparés par une liaison simple, on dira que le syst est conjugué.

La conjugaison élève l'énergie des orbitales HOMO et diminue l'E des orb LUMO.

Les transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ st facilités.

L'E de transition est réduite : effet bathochrome (+30 nm/liaison)

L'A augmente (effet hyperchrome)

Ex : cf tableau

On colle à la molécule des chromophores (alcène conjugué). Plus longue est la chaîne conjuguée, plus rouge sera l'A → déplacement des pics où le solvant n'absorbe pas.

IV. Appareillage

A. Les sources

La puissance émise dt être suffisante pr permettre la détection du signal même après une forte atténuation due au phéno d'absorption.

La puissance doit être stable pdt une durée raisonnable.

La puissance dt être répartie sur une large bande spectrale.

→ lampe à Xe, à He, à W.

Lampe à W : $320 < \lambda < 2500$ nm
Lumière blanche
T = 3000 K

Lampe à O₂ : $200 < \lambda < 400$ nm
Lumière UV
O₂ + En électrique → O₂* → O₂ + hν

→ on rajoute des filtres pr que ça absorbe partt environ pareil.

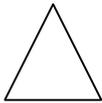
B. Les prismes

laisser passer les λ UV ft prendre un prisme en quartz et pas en verre.

En plaçant une fente à la sortie du prisme, on sélectionne une frange de λ centrée sur une valeur de λ

$$\lambda - \Delta\lambda/2 \leq \lambda \leq \lambda + \Delta\lambda/2$$

$$D^{-1} \text{ (pouvoir dispersif réciproque)} = d\lambda/dy$$



C. Les réseaux

$$n\lambda = d(\sin\Theta - \sin\phi)$$

pr que l'onde soit destructrice ou constructive.

d = dist entre ry

n = ordre de diff

$\lambda = \lambda$ incidente

$\Theta =$ angle d'incidence ac normale au réseau

$\Phi =$ angle de réfraction ac normale au réseau

Pr un réseau ac N traits/mm

$$d = (1\text{mm}/N \text{ traits}) * 10^6 \text{ mm/trait} = \dots \text{ nm/trait}$$

ϕ	n = 1	n = 2	n = 3
0	512,5	256,3	170,8
10	392,8	196,4	130,9
20	276,7	138,3	92,2

512,5 = I max pr n = 1

256,3 et 170,8 = ordres sup supprimés ac des filtres.

• Résolution des réseaux :

$$\lambda/\Delta\lambda = n.N$$

N : nbre de traits éclairés

n: ordre de diff

Réseaux holographiques : 6000 traits/mm

→ interf de 2 lasers sur couche photosensible

D. Les fentes

Largeur, on pd environ 1 nm.

Pr que interf soient constructives :

$N \cdot \lambda = 2t / \cos\Theta$ ac t = épaisseur du diélectrique et Θ = angle d'incidence et N = nb entier

En principe on pd $\Theta=0$ on a alors $N\lambda = 2tn$

Pr l'ordre 1, on a le max d'I.

On pt faire des tests de pureté.

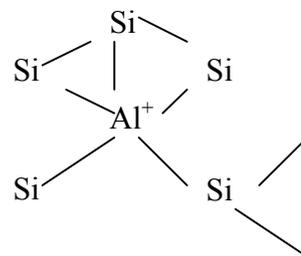
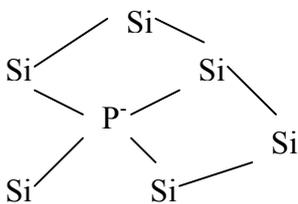
$$D^{-1} = \Delta^{\lambda \text{eff}} / \text{largeur fente}$$

E. Les cuves

Matériau	Gamme de λ
Quartz	UV Visible
Verre	Visible
PS	Visible
NaCl	Visible
KBr	IR
PE	FIR

On choisit sa cuve en fct de la gamme de λ que l'on désire. Il xiste pls types de cuves présentant des trajets optiques allant de 2 mm à pls cm. Le standard que vs avez utiliser en TP : 1 cm.

F. Les détecteurs



Photocathode : émission de photons électriques par effet photoélectrique.

Le phototube : la cathode est recouverte d'une couche photosensible

-émet des électrons par effet phtoélec

-électron st captés par le chp

E et polarisation st amplifiés

→ semi-conducteur

-avantages :

Rapide
Absence de fente de perte de photons
Donne des infos de structure
Peut être couplé à CLHP

-inconvenients :

Moins sensible
Chers

G. Le solvant

On choisit son solvant en fct° :

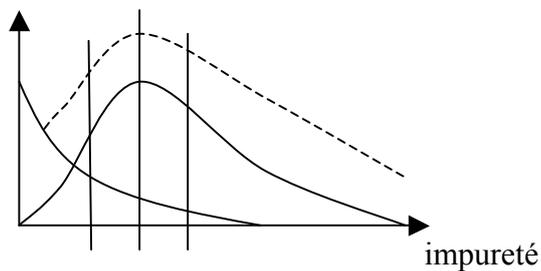
- de la gamme de λ qu'on veut parcourir
Ex : eau 190 nm (absorbe en dessous)
Ethanol 210 nm
n-hexane 195 nm
- de la solubilité du composé
- réactivité ac le compo
- prix
- toxicité
- volatilité

V. Analyse qualitative

On se sert de la forme du spectre , la valeur de λ_{\max} d'absorption, la valeur de ϵ .
Position, largeur, multiplicité des pics.

VI. Analyse quantitative

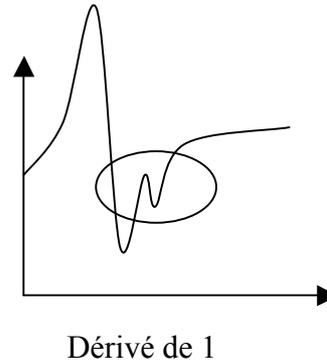
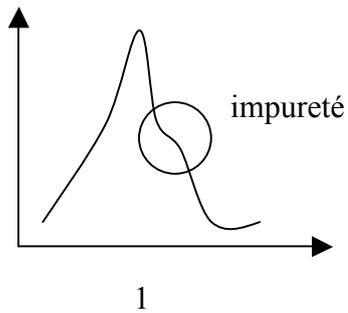
Test de pureté



On compare A_1/A_2 ac A'_1/A'_2 et A_1/A_3 ac A'_1/A'_3
Si Δ , alors impure

Ds le cas de l'ADN, $A_{260 \text{ nm}}/A_{280 \text{ nm}} = 1,8$ sinon impuretés présentent.

Deuxième façon de faire test de pureté :



-**analyse directe** : le compo absorbé
Loi de beer lambert $A = \epsilon c L$

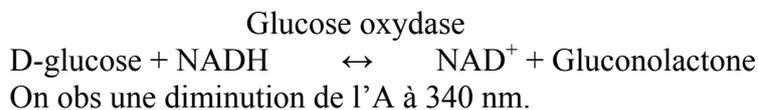
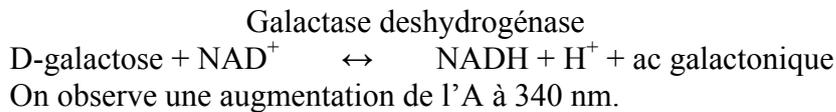
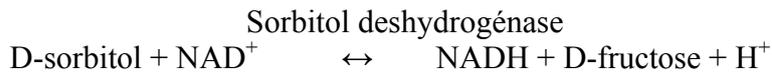
-**analyse indirecte** : le composé n'absorbe pas
On le rend absorbant :
Phénol + antipyrine $\rightarrow \dots \lambda_{\max} = 150 - 460 \text{ nm}$

• **Réactions enzymatiques** :

On utilise des enzymes comme co'enz les :

- β -Nicotinamide-adénine-dinucléotide (NADH)
(oxydée : NAD^+)
- β -nicotinamide-adénine-dinucléotide P : NADPH
(oxydé NADP)

La prot de NADH ou NADPH est généralement proport à la concentration en substrat.



• **Principe du lecteur de glycémie**

On place une gouttelette de sang sur un adsorbant destiné à retenir les ?

La partie hydrophile passe vers le support sur lequel se trouve l'enzyme \rightarrow on a une diminution de A.

• **Dosage enzymatique**

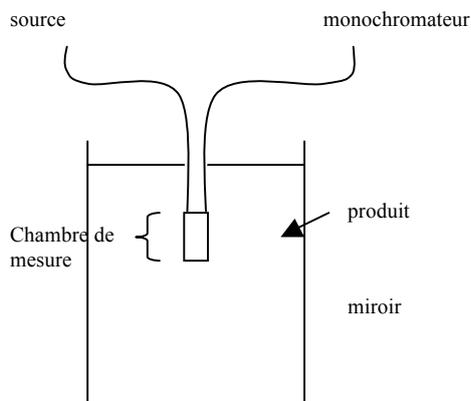
Il s'agit d'une méthode

- très sélective (enz)
- très facile à mettre en œuvre
- dt le domaine d'application est extrêmement vaste
 - sucré
 - lipide
 - cholestérol
 - protéine
 - acides organiques
 - nitrates

• **Détection CLHP**

Diamètre très faible, longueur importante. Pt présenter diffraction ds le trajet. Miroir à la sortie.

Analyse sur site



Qd le prod n'est pas compatible ac un spectromètre.

• **Contrôles**

-justesse spectrale

Filtre à l'oxyde d'holmium (Ho_2O_3) dissous ds acide perchlorique → spectre csique.

L'intensité et la position des pics d'A deps de la largeur de fente du monochromateur.

La tolérance accordée par la PE est dc plus ou moins 1nm ds l'UV et plus ou moins 3nm ds le visible.

-justesse photométrique

Ac la hteur des pics, filtres en verre neutre certifiés.