

Choix de la longueur d'onde de travail

Lors d'une mesure d'absorbance, il est préférable de se placer à la longueur d'onde (λ_{\max}) correspondant au **maximum d'absorption** du composé (A_{\max}).

Ce choix de longueur d'onde permet :

- **d'augmenter la sensibilité.** Définie comme dA_{λ}/dc , elle vaut $\epsilon_{\lambda}l$ d'après la loi de Beer-Lambert et est maximale à λ_{\max} .
- **de minimiser l'incertitude sur A_{λ} .** Le monochromateur n'étant pas idéal, il laisse passer un ensemble de longueurs d'onde $\Delta\lambda$ appelée **bande passante du monochromateur**. L'incertitude sur l'absorbance ΔA_{λ} est minimale au maximum d'absorption comme illustré sur le spectre du bleu brillant : $\Delta A_1 < \Delta A_2$.

I.5 APPLICATION DE LA SPECTROPHOTOMÉTRIE

La spectrophotométrie permet :

- de **caractériser les molécules**, généralement par les longueurs d'onde de leurs maxima d'absorption et par les valeurs des coefficients d'absorption molaire associés.
- de **déterminer des concentrations** d'espèces chimiques en solution, grâce à des **dosages par étalonnage**. Dans ce cas, il convient toujours de vérifier que **la loi de Beer-Lambert est valide dans la gamme d'absorbance étudiée**.
- de faire des **suivis cinétiques**, à longueur d'onde fixée. Des ordres de réaction, des constantes cinétiques, des temps de demi-réaction peuvent ainsi être déterminés.

II. MISE EN ŒUVRE PRATIQUE

La mesure de l'absorbance d'une solution grâce à un **spectrophotomètre mono-faisceau** nécessite de suivre les étapes suivantes :

- 1) Régler l'appareil à la longueur d'onde choisie.
- 2) Remplir à l'aide d'une pipette Pasteur, une cuve avec le « **blanc** » qui contient **le solvant et toutes les espèces présentes** en solution excepté le composé d'intérêt.
- 3) Placer la cuve dans le logement prévu à cet effet. Le faisceau doit traverser les faces transparentes de la cuve. Fermer le capot.
- 4) Régler l'appareil de sorte que l'absorbance indiquée soit égale à zéro.
On s'affranchit de l'absorbance du solvant et de toutes les espèces chimiques présentes dans le « blanc » ainsi que de la réflexion due à la cuve.
- 5) Sortir la cuve, la vider et la **rincer avec la solution à analyser**.
- 6) Répéter les opérations 2 et 3 avec la solution à analyser.
- 7) Lire l'absorbance de la solution à analyser à la longueur d'onde choisie.
- 8) Vider et nettoyer la cuve.

PRÉCAUTION À PRENDRE LORS DU REMPLISSAGE DES CUVES :

- la cuve **ne doit pas contenir de bulles d'air** ;
- la solution doit être limpide : **sans particules en suspension**, pour minimiser les phénomènes de diffusion et de diffraction ;
- les parois de la cuve doivent être **propres** (en particulier exemptes de traces de doigts sur les faces optiques) et **non rayées**. Pour les nettoyer, il faut les essuyer délicatement avec un papier doux.

QUEL MATÉRIAU DE CUVE CHOISIR ?

Plusieurs matériaux sont disponibles :

- le **plastique** : ce sont des cuves jetables qui sont adaptées pour les solutions aqueuses seulement ; les solvants organiques (acétone, dichlorométhane...) altèrent en effet le polymère. De plus, le plastique absorbe les rayonnements de longueur d'onde inférieure à environ 380 nm. Ces cuves ne peuvent donc pas être utilisées pour faire des mesures dans l'UV.
- le **verre** : ce matériau est utilisé pour étudier des solutions en solvant organique dans le domaine visible car il absorbe aussi en dessous de 380 nm.
- le **quartz fondu** : ce matériau (coûteux) est utilisé pour étudier des solutions en solvant organique ou aqueux dans le domaine visible ou dans l'UV jusqu'à environ 220 nm.

Les cuves en verre et en quartz doivent être nettoyées à l'acétone et séchées après chaque utilisation.