

Fiche pratique : Spectrophotométrie

I. Présentation générale

La spectrophotométrie utilise une propriété physico-chimique, l'absorption de la lumière par une solution¹, pour mesurer la concentration. Contrairement au dosage, elle présente donc l'avantage d'être non destructive.

II. Absorbance et loi de Beer-Lambert

Soit une cuve de longueur ℓ contenant une solution d'une substance colorée à la concentration c . Un faisceau de lumière monochromatique de longueur d'onde λ traverse cette solution ; soit $I_0(\lambda)$ l'intensité lumineuse de ce faisceau à l'entrée de la cuve et $I(\lambda)$ son intensité à la sortie.



Afin de quantifier l'absorption de la lumière lors de son passage dans la solution, on définit l'**absorbance** A (ou densité optique) par :

$$A(\lambda) \triangleq \log \frac{I_0(\lambda)}{I(\lambda)} \quad (\text{sans dimension})$$

L'expérience montre que dans une solution peu concentrée, l'absorbance est proportionnelle à la concentration du soluté. La **loi de Beer-Lambert** rend compte de cette propriété :

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda)\ell c$$

avec

- c concentration du soluté en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$;
- ℓ longueur de la cuve en cm ;
- $\varepsilon(\lambda)$ coefficient d'absorption molaire en $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ qui dépend de la nature du soluté, la longueur d'onde de la lumière, la nature du solvant et la température.

Pour une cuve de longueur ℓ contenant une solution renfermant N substances absorbantes colorées, chacune ayant une concentration c_i et un coefficient d'absorption molaire $\varepsilon_i(\lambda)$ aux longueurs d'onde et aux températures considérées, cette relation devient :

$$A(\lambda) = \sum_{i=1}^N \varepsilon_i(\lambda)\ell c_i$$

1. En pratique, on travaillera avec des longueurs d'onde appartenant au domaine du visible, et donc avec des solutions colorées.

III. Principe des mesures

Un appareil appelé **spectrophotomètre** permet de mesurer l'absorbance $A(\lambda)$. Souvent parmi les réactants, une seule substance est absorbante (les autres sont transparentes, c'est-à-dire qu'elles ont des coefficients d'absorption molaire nuls). Si le coefficient d'extinction molaire $\varepsilon(\lambda)$ de la substance absorbante est connu, alors la mesure de $A(\lambda)$ permet d'en déduire la concentration c de la substance absorbante.

Notons qu'en réalité, afin de bien étudier le seul rôle de la substance absorbante, on procède par comparaison : une cuve témoin identique à l'autre est remplie d'eau distillée et éclairée par le même faisceau lumineux, I_0 en est l'intensité sortante qui servira de référence.