

## **I.6 - Spectrométrie analytique :**

### **I.6.1 - Introduction :**

Les techniques spectrométriques représentent le seul plus grand et très important groupe de techniques utilisées en chimie analytique. Il fournit une variété d'informations qualitatives et quantitatives. Toutes les techniques spectrométriques dépendent de l'émission ou de l'absorption d'un rayonnement électromagnétique caractéristique d'une certaine variation d'énergie dans un système atomique ou moléculaire. L'information rapportée par cette variation, exige la connaissance des propriétés du rayonnement électromagnétique et la nature de l'énergie atomique et moléculaire. [102]

Le rayonnement électromagnétique a ses origines dans des processus atomiques et moléculaires. Les expériences qui démontrent les phénomènes de réflexion, de réfraction, de diffraction et d'interférence prouvent que le rayonnement possède des caractéristiques ondulatoires. Ces expériences ont eu leur début dès l'an 1801 avec Thomas Young, puis en 1873 avec James Clerk Maxwell qui expliqua ce phénomène en publiant son traité sur les ondes électromagnétiques, les équations de Maxwell définissant le rayonnement électromagnétique ont eu d'ailleurs, de nombreuses applications dès le XIX<sup>e</sup> siècle, et encore plus au XX<sup>e</sup> siècle (radio, télévision, informatique, satellites...), mais, à voir son émission et son absorption, le rayonnement électromagnétique se voit mieux expliqué en termes de nature particulière ou quantum. En 1887, Heinrich Rudolf Hertz décrit l'effet photoélectrique. En 1900, Max Planck énonce la théorie du corps noir, puis Albert Einstein en 1905 pousse plus loin l'étude de l'effet photoélectrique et démontre que la lumière a un comportement de quanta d'énergie. Les lois de Maxwell décrivent bien le comportement de ces ondes. Cette description, cependant, n'explique pas la quantification de l'énergie transportée par le rayonnement, phénomène observé et expliqué par Albert Einstein dès 1913 en postulant l'existence des photons. Il a reçu le prix Nobel de physique en 1921 pour son explication de l'effet photoélectrique.

En 1927, Louis de Broglie prolonge cette quantification en postulant qu'il y a une dualité onde-particule pour tout corpuscule : la notion de photon émerge alors. C'est un des premiers pas de la science moderne dans le domaine de la mécanique quantique.

La théorie du Quantum considère le rayonnement comme un jet de 'paquets d'énergie' - photons ou quanta - en déplacement à travers l'espace à une vitesse constante ( $c$ ; dans le vide). L'énergie d'un photon est liée à la fréquence du rayonnement, comme définie dans la théorie quantique, par la relation suivante [102]:

$$E = h \cdot \nu \quad (\text{éq.7})$$

Où  $h$  est la constante de Planck  $6,6 \cdot 10^{-34}$  J·S

L'énergie liée au rayonnement électromagnétique couvre une large gamme dont l'étendue est celle des fréquences et longueurs d'onde correspondantes - elle est nommée le spectre électromagnétique. La figure I.2 en montre la gamme de l'énergie (en kcal), les fréquences (en Hz), les longueurs d'onde (en m, cm, nm) ainsi que les différentes régions électromagnétiques impliquant les différences des techniques instrumentales utilisées pour la production et la détection de leurs rayonnements.

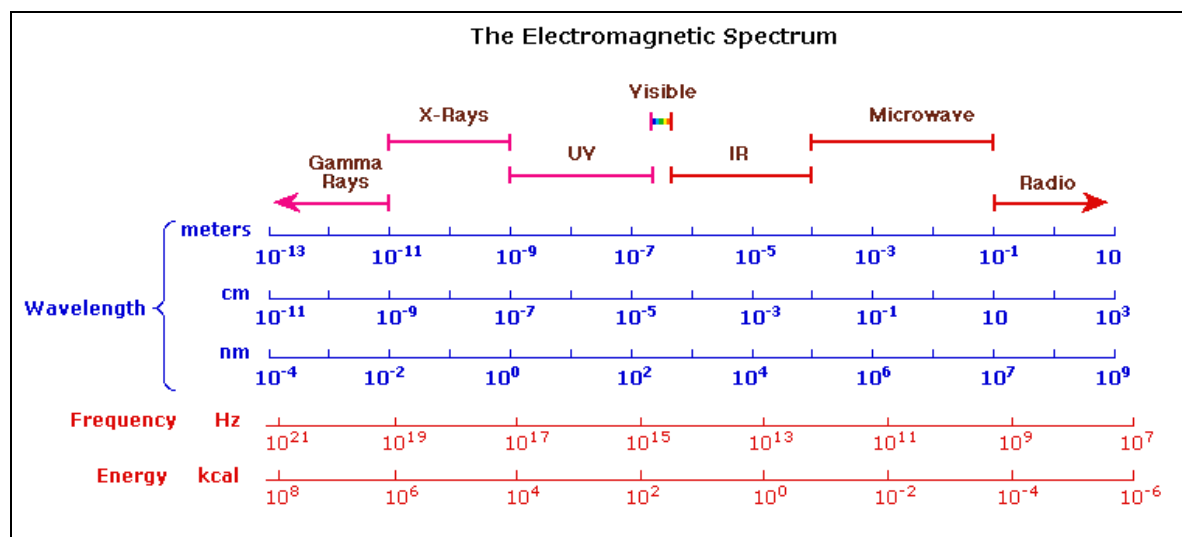


Figure I.2 : Le spectre électromagnétique

L'ensemble des énergies associées à une substance en est une caractéristique unique qui détermine les fréquences auxquelles le rayonnement électromagnétique peut y être absorbé ou émis.

L'information qualitative concernant la composition et la structure d'un échantillon est obtenue par une étude des positions et des intensités relatives des lignes ou des bandes spectrales. Un certain nombre de substances organiques donnent des spectres d'absorption caractéristiques dans l'ultraviolet aisément accessibles et étroitement liés à la structure des molécules. L'analyse quantitative est possible en raison de la proportionnalité directe entre l'intensité d'une ligne ou d'une bande particulière et le nombre d'atomes ou molécules subissant la transition [102]. Ainsi par exemple, la technique spectrométrique de l'UV-visible, objet de notre étude, et parmi d'autres utilisées pour des buts analytiques, fournit en absorption moléculaire des informations sur les déterminations quantitatives des éléments et des composés, principalement aux niveaux de trace.

### **I.6.2 - Spectrométrie UV-Visible :**

La spectrophotométrie UV-Visible repose sur l'interaction du rayonnement électromagnétique et de la matière dans le domaine s'étendant du proche UV au très proche IR soit entre 180 et 1100 nm. Cette partie du spectre est relativement pauvre en informations sur la structure des composés moléculaires. En revanche, l'absorbance des composés dans le proche UV et le visible est exploitée en analyse quantitative par application de la loi de Beer-Lambert qu'on traitera plus loin. La méthode s'applique non seulement aux composés qui présentent une absorption dans le visible mais également aux composés dont un dérivé obtenu par une réaction chimique présente une telle absorption.

#### **I.6.2.1 - Introduction :**

Le domaine spectral concerné est subdivisé en trois plages appelées proche UV (185 - 400 nm), visible (400 - 800 nm) et très proche IR (800 - 1100 nm). La plupart des spectrophotomètres commerciaux recouvrent la gamme allant de 190 à 950 nm.

L'absorption des rayonnements par les molécules dans cette gamme de longueur d'onde est due au passage du niveau fondamental à un niveau excité sous l'effet du rayonnement; plus précisément au passage d'un électron d'un niveau électronique à un autre niveau électronique d'énergie supérieure. Le document de base fourni par les spectrophotomètres, appelé spectre, correspond au tracé des variations de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde des photons incidents.

L'énergie totale d'une molécule est la somme d'une énergie électronique notée  $E_{\text{elec}}$ , caractéristique des orbitales moléculaires (OM) construites à partir des orbitales atomiques (OA) des atomes qui constituent la molécule, d'une énergie de vibration notée  $E_{\text{vib}}$  et d'une énergie de rotation notée  $E_{\text{rot}}$ .

L'énergie de vibration correspond au déplacement des atomes d'une molécule les uns par rapport aux autres (vibration par rapport au point d'équilibre). Elle est quantifiée; sachant qu'une liaison dont la fréquence de vibration est ( $\nu$ ), ne peut absorber une radiation qu'à la condition que celle-ci ait cette fréquence, l'énergie de la liaison en question ne s'accroîtra que de ( $h \cdot \nu$ ), énergie d'un photon. La théorie quantique précise les conditions de transition (règles de sélection). L'expression simplifiée donnant les valeurs possibles de  $E_{\text{vib}}$  s'écrit [103]:

$$E_{\text{vib}} = h \cdot \nu \cdot \left( V + \frac{1}{2} \right) \quad (\text{éq.8})$$

Avec  $V = 0, 1, 2 \dots$  nombre quantique de vibration.  $V$ , en absorption, ne peut varier que d'une unité ce qui donne  $\Delta E_{\text{vib}} = h \cdot \nu$ . A température ordinaire, les molécules sont dans l'état fondamental ( $V = 0$ ) soit  $E_{\text{vib}} = \frac{1}{2} \cdot h \cdot \nu$ . C'est la vibration du niveau zéro. Les différents niveaux de vibration sont équidistants.

L'énergie de rotation est attribuée aux mouvements de rotation de la molécule autour de directions internucléaires privilégiées. Elle est également quantifiée et a pour expression simplifiée [103]:

$$E_{\text{rot}} = J \cdot (J + 1) \cdot \left( \frac{\hbar^2}{2 \cdot I} \right) \quad (\text{éq.9})$$

Où  $J$  est le nombre quantique de rotation qui peut prendre toutes les valeurs entières 0, 1, 2... et  $I$  le moment d'inertie de la molécule par rapport à l'axe considéré. La distance entre niveaux voisins croît avec  $J$ . Le nombre quantique de rotation ne peut varier que d'une unité au cours d'une transition :  $\Delta J = \pm 1$

Tout se passe comme si chaque niveau électronique comporte des niveaux de vibration qui, eux-mêmes, comportent des niveaux de rotation. Pour construire le diagramme énergétique d'une molécule, on commence par tracer les niveaux électroniques. A chaque niveau électronique, on ajoute les énergies de vibration possibles; à chaque niveau de vibration, on ajoute les énergies de rotation possibles. L'absorption dans le domaine de l'UV-visible correspond au passage d'un niveau électronique à un autre. Mais il y a également variation des termes  $E_{\text{vib}}$  et  $E_{\text{rot}}$  avec les règles de sélection suivantes :  $\Delta V = \pm 1$  et  $\Delta J = \pm 1$

La figure I.3 reprend un diagramme énergétique et montre des transitions permises sous l'effet d'un rayonnement UV-visible. [103]

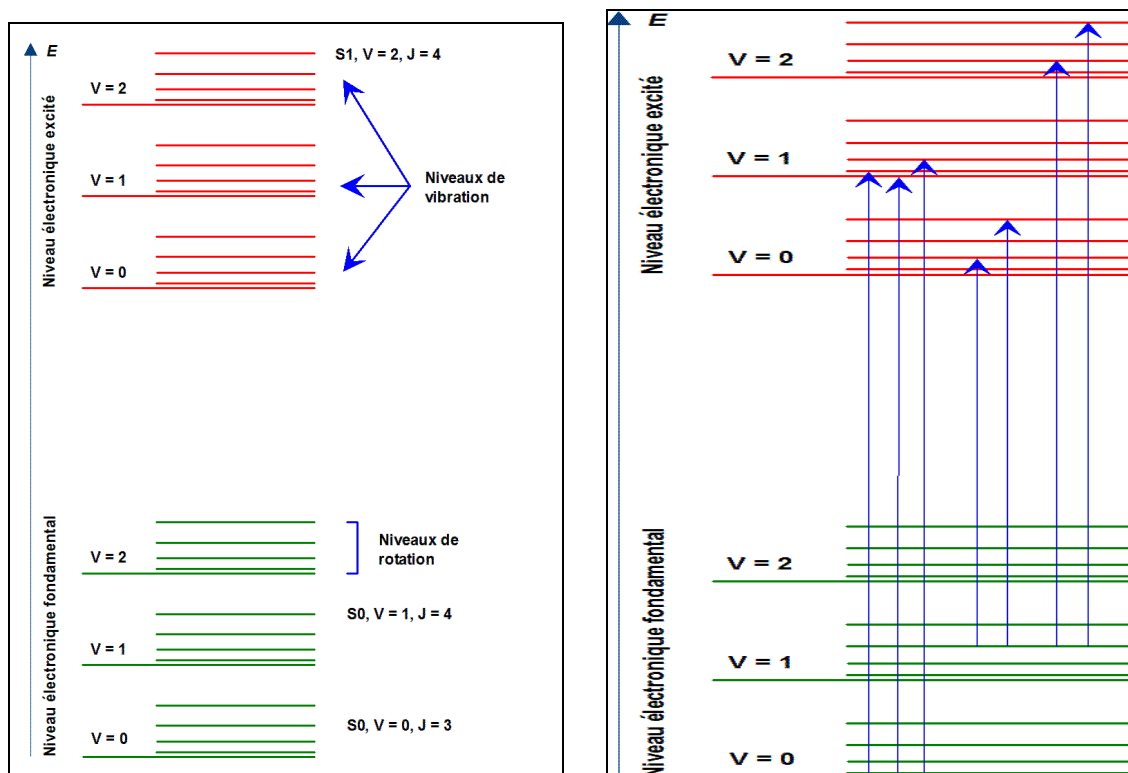


Figure I.3 : Diagramme énergétique d'une molécule et quelques unes des transitions permise

### I.6.2.2 - Les spectres dans l'UV-visible :

Lorsqu'on étudie un composé à l'état gazeux, sous faible pression et pour peu que ce composé ait une structure simple, on obtient un spectre de raie ayant une structure fine. Chacune des transitions permises au regard des règles de sélection donne lieu à un pic parfaitement défini. C'est le cas des vapeurs d'iode dont une partie du spectre est représenté sur la figure I.4 ci-après :

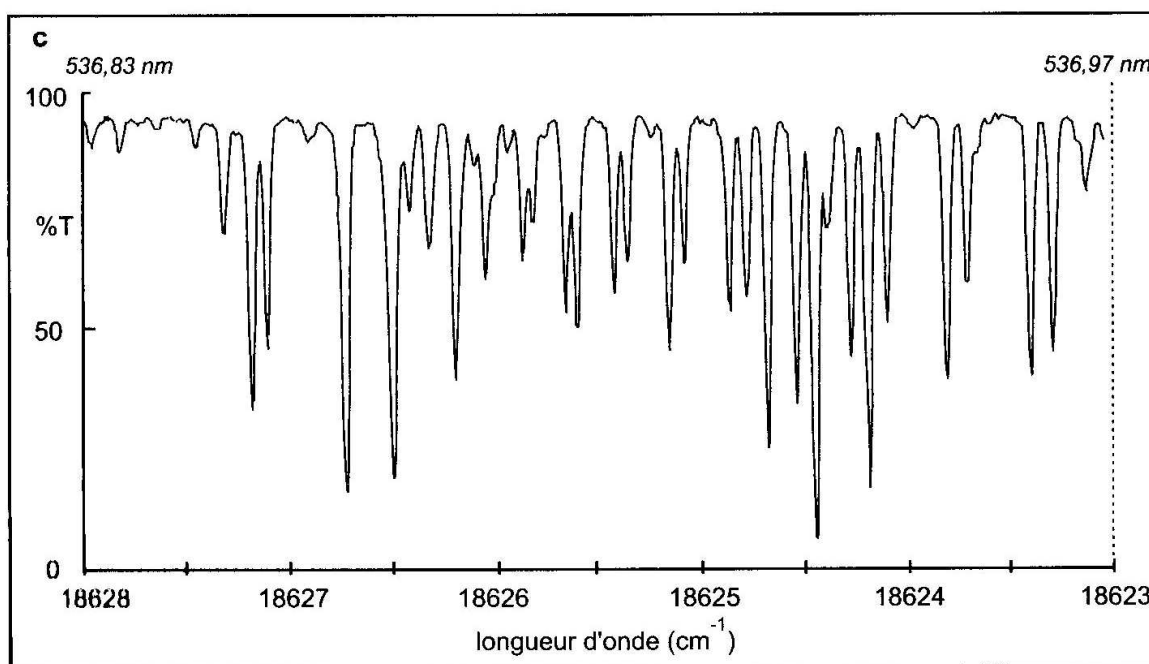


Figure I.4 : Partie du spectre d'une vapeur d'iode

En revanche lorsque le composé se trouve à l'état condensé, liquide ou solide, le spectre est beaucoup moins résolu en raison des interactions entre les molécules qui se trouvent être plus proches les unes des autres. En fait, les nombreuses interactions modifient de façon différente les niveaux énergétiques des différentes molécules et les niveaux bien définis deviennent des bandes lorsqu'on superpose les différents diagrammes énergétiques. Le spectre de raies devient un spectre de bandes. C'est en particulier le cas du benzène en solution (figure I.5).

[103]

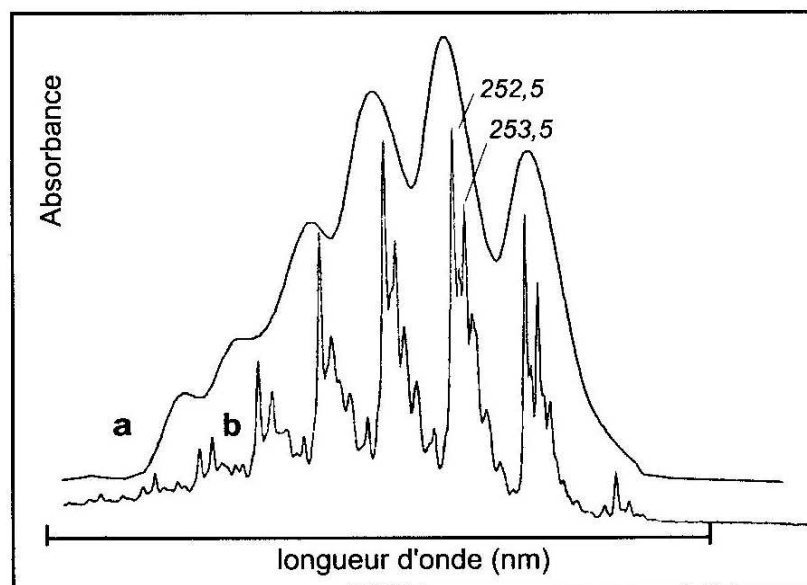


Figure I.5 : Spectre du benzène en solution (a) et sous forme de vapeur (b)

L'enveloppe générale de la courbe correspond au passage du niveau électronique fondamental à un niveau électronique excité. On distingue clairement des maxima et des minima locaux qui correspondent à des changements d'énergie de vibration. Mais la structure fine de la vapeur a disparu; on ne distingue plus les pics correspondant à un changement d'énergie de rotation. Chaque transition de vibration qui était composée d'un certain nombre de transitions de rotation est désormais une bande d'énergie.

### I.6.2.3 - Origine des absorptions :

L'absorption dans le domaine UV-visible est due au passage d'un niveau électronique à un autre d'énergie supérieure avec changement des niveaux de vibration et de rotation; au cours de ce processus, un électron passe d'une orbitale moléculaire à une autre d'énergie supérieure. Le différentiel énergétique sur la gamme UV est d'environ  $80 \text{ kcal.mole}^{-1}$  alors qu'il n'est que de moitié environ sur le domaine visible [105]. Cet ordre de grandeur correspond bien au différentiel énergétique entre des états électroniques moléculaires.

### I.6.2.4 - Transitions électroniques :

Il existe trois types d'orbitale moléculaire de l'état fondamental; liantes ( $\sigma$ ), liante ( $\pi$ ) et non-liante ( $n$ ) et deux types de l'état excité; anti-liante ( $\sigma^*$ ), et anti-

liante ( $\pi^*$ ) pour lesquelles des transitions sont observées dans la région UV-visible. La figure I.6 montre les différents types de transitions. [104]

Lorsqu'un rayonnement d'énergie typique est absorbé par une molécule, les transitions énergétiques qu'on peut observer sont : [102]

♦ ( $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ) et ( $n \rightarrow \sigma^*$ ) : Elles se montrent rarement au-delà de 200 nm. Ainsi, les hydrocarbures saturés qui ne renferment que les (OM) avec des liaisons ( $\sigma$ ), tels l'hexane ou le cyclohexane, sont pratiquement transparents dès le proche UV. Les alcools, les amides et l'eau sont des exemples typiques de molécules comportant des liaisons ( $\sigma$ ) et des doublets ( $n$ ) non liants.

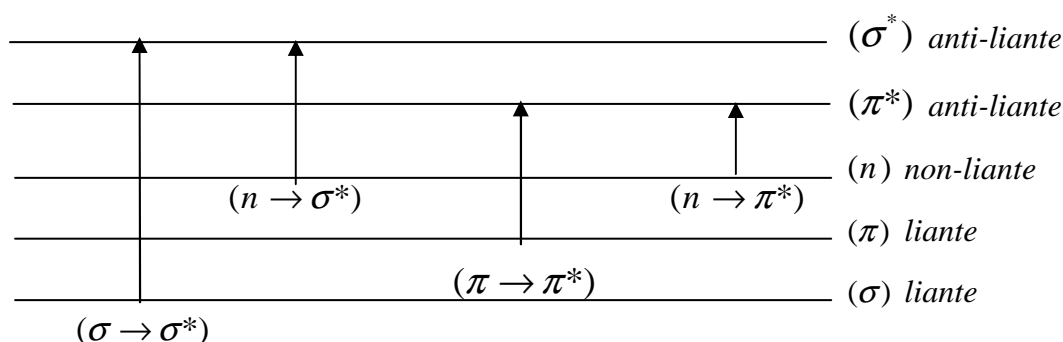


Figure I.6 : Les types de transitions.

♦ ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) : Les molécules renfermant des double liaisons peuvent subir les transitions de ce type comme l'éthylène, l'acétylène, les carbonyles et les composés azo, ce sont les plus courants d'ailleurs.

♦ ( $n \rightarrow \pi^*$ ) : Les molécules renfermant des double liaisons et ayant des doublets non liants y sont engagées, comme les carbonyles, les groupes nitro et azo.

Les métaux de transitions ayant l'orbitale ( $d$ ) incomplète, présentent une bande d'absorption dans l'UV-visible. La longueur d'onde d'une transition ( $d-d$ ) dépend du type de métal (nombre d'électrons  $d$ ), du nombre et de la géométrie du groupe de coordination, et de la basicité du donneur.

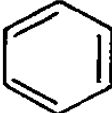
### I.6.2.5 - Les Chromophores :

Les groupements chromophores des composés organiques sont, à la ressemblance des fonctions, des groupements d'atomes responsables d'absorptions



caractéristiques lorsqu'ils sont isolés (séparés par au moins deux liaisons simples). Ils n'interagissent alors pas les uns sur les autres et on observe la superposition des effets de chaque groupe. Dans le cas où les groupes chromophores sont plus proches les uns des autres et interagissent (on parle alors de systèmes conjugués de chromophores), les bandes d'absorption sont déplacées vers les grandes longueurs d'onde (effet bathochrome) et les absorptions sont plus intenses (effet hyperchrome). A ces déplacements s'ajoutent ceux qui sont dus aux substituants proches du chromophore ou ceux causés par les interactions avec le solvant en raison de sa polarité [102]. Le tableau I.1 est un exemple d'illustration en ce sens.

Tableau I.1 - Transition électroniques dans quelques molécules organiques -

Composés	Transitions	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\varepsilon$ (m <sup>2</sup> .mole <sup>-1</sup> )
CH <sub>4</sub>	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	122	—
CH <sub>3</sub> Cl	$n \rightarrow \sigma^*$	173	200
CH <sub>2</sub> =CH <sub>2</sub>	$\pi \rightarrow \pi^*$	162	1500
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> C=O	$\pi \rightarrow \pi^*$	185	95
	$n \rightarrow \pi^*$	277	2
H <sub>2</sub> C=CH—CH=CH <sub>2</sub>	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	2100
	$\pi \rightarrow \pi^*$	200	800
	$\pi \rightarrow \pi^*$	255	22

#### I.6.2.6 - Effet des Auxochromes :

Les groupes saturés contenant des hétéroatomes qui modifient l'absorption due à un chromophore s'appellent les auxochromes et incluent —OH, —Cl, —OR, —NR<sub>2</sub>, —NH<sub>2</sub> et —SH.

En général, la substitution auxochromique des chromophores cause les variations bathochromiques et les augmentations d'intensité pour les transitions ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ), et hypsochromique ou déplacement vers le bleu (à des longueurs d'onde plus courtes) pour des transitions ( $n \rightarrow \pi^*$ ). Les déplacements sont explicables en termes d'effets mésomérique (de résonance) provoqués par l'interaction des paires d'électrons liées à des auxochromes tels que —OH, —Cl, et —NH<sub>2</sub> avec le système ( $\pi$ ) du chromophore. Ceci mène à l'augmentation des

énergies des orbitales ( $\pi$ ) et ( $\pi^*$ ), ( $\pi$ ) étant augmentée plus que ( $\pi^*$ ), mais laisse inchangée l'énergie des orbitales non liantes. Des règles empiriques ont été conçues par Woodward, Fieser et Scott pour permettre la prédiction des effets additifs de la substitution auxochromique sur l'absorption des aromatiques et des autres systèmes conjugués. [102]

#### I.6.2.7 - Effets des solvants :

Les bandes d'absorption résultantes des transitions ( $n \rightarrow \pi^*$ ) subissent des déplacements hypsochromiques avec l'augmentation de la polarité du solvant, tandis que pour celles dues aux transitions ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ), les déplacements sont bathochromiques. Les explications se situent dans le fait que l'énergie de l'orbitale non liante est abaissée par les liaisons hydrogène dans les solvant plus polaires augmentant de ce fait l'énergie de la transition ( $n \rightarrow \pi^*$ ), mais l'énergie de l'orbitale ( $\pi^*$ ) est diminuée vis-à-vis de l'orbitale ( $\pi$ ). Les positions et les intensités des bandes ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) dans des composés tels que les phénols et les amines montrent une sensibilité marquée aux changements de pH en raison des changements de l'interaction des électrons non liants avec le système ( $\pi$ ). Une augmentation du pH mène à une ionisation et la polarisation du système chromophorique d'où les déplacements bathochromiques [102].

#### I.6.2.8 - Complexes des métaux :

Les complexes des métaux avec les ligands organiques et inorganiques qui absorbent dans la région visible du spectre sont très importants dans l'analyse quantitative. Les transitions caractérisant les complexes colorés sont de trois types :

- (1) Les transitions ( $d-d$ ) dans un ion métal de transition. Celles-ci sont habituellement de basse intensité et peu utiles pour les déterminations aux niveaux de trace.
- (2) Les excitations dans un ligand organique. Celles-ci sont typiquement les transitions ( $n \rightarrow \pi^*$ ) et ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) qui sont affectées par la présence d'un métal.

(3) Transitions de transfert de charge, impliquant le transfert d'un électron entre deux orbitales dont l'une est principalement associée au ligand et l'autre au métal.

Les deux derniers types génèrent beaucoup de complexes fortement colorés appropriés à l'analyse de trace. Un grand nombre de complexes de métaux impliquant les ligands organiques dans lesquels les bandes d'absorption du ligand sont modifiées selon un degré variable par la coordination au métal. L'effet sur le spectre du ligand dépend des liaisons métal-ligand si elles sont principalement covalentes ou ioniques. [102]

#### **I.6.2.8.1 - Liaisons (métal-ligand) ioniques :**

Dans les complexes où la liaison avec le métal est essentiellement ionique, de petites variations dans les bandes, dues à des transitions ( $n \rightarrow \pi^*$ ) et ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ), sont observées, avec peu de changement d'intensité, le spectre du complexe du métal est semblable à celui du ligand protoné. Les exemples de ce type incluent les complexes de métaux avec les colorants hydroxynaphthylazo tels que ceux formés entre le magnésium et le noir d'eriochrome T. Le maximum d'absorption du dianion du ligand à 650 nm est décalé à 530 nm par interaction avec  $Mg^{2+}$ . De même, une série de complexes colorés est formée par liaison entre le Cu, le Co, le Ni, le Fe(III), le Ag, le Bi, le Hg(I), le Pd, le Pt et le dithiooxamide ou l'acide rubéanique. Plus fortement énergétique est le complexe formé que la bande d'absorption est décalée vers l'UV. [102]

#### **I.6.2.8.2 - Liaisons (métal-ligand) covalentes :**

Là où la liaison métal-ligand est fortement covalente et probablement incluant la liaison du métal dans les orbitales vides du ligand, le spectre du ligand peut être sensiblement changé. Les complexes ioniques formés entre le Ca, le Sr et le Ba et les colorants méthalphthaléine, calcéine et thymolphthalexone sont fortement colorés avec des spectres d'absorption semblables à la forme dissociée des ligands tandis que les complexes avec des métaux formant des liaisons fortement covalentes sont décalés dans l'UV proche en raison de la modification des chromophores conjugués. Le dithizone (diphénylthiocarbazone) forme des complexes fortement colorés avec les métaux donneurs dans les orbitales du ligand. La gamme des

maximums d'absorption s'étend de 620 nm pour les réactifs mono-anion à 490 nm pour le complexe de Hg(II) et à 460 nm pour le complexe de Ag(I), tous deux avec des liaisons essentiellement covalentes. [102]

#### **I.6.2.8.3 - Bandes de transfert de charge :**

Les origines des bandes de transfert de charge sont tout à fait différentes de celles des complexes déjà discutés. Associées principalement aux liaisons covalentes, et particulièrement pour les complexes des métaux de transition, elles sont dues aux transitions entre les orbitales ( $\sigma$ ) ou ( $\pi$ ) des ligands et les orbitales vides ou anti-liantes des métaux. Les transitions des orbitales ( $\sigma$ ) des métaux vers les orbitales vacantes des ligands sont également parfois impliquées. Ces transitions sont permises par les règles de symétrie et donnent par conséquent des bandes beaucoup plus intenses que la plupart des transitions ( $d-d$ ). L'intense couleur rouge du complexe sulfocyanate-Fe(III), la couleur orange du complexe peroxy-titanium(IV) et le pourpre de l'ion permanganate sont toutes le résultat de transfert des électrons à partir du métal aux orbitales des ligands. De telles transitions sont souvent associées aux métaux avec des degrés d'oxydation élevés et ont été décrites comme des réactions d'oxydo-réduction photochimiques. Les ligands organiques qui forment des complexes de transfert de charge incluent l'acide sulfosalicylique, l'O-phénanthroline et d'autres amines aromatiques qui ont été employés comme réactifs dans la détermination du Fe, du Cu(I), du Zn et du Cd. [102]

#### **I.6.2.9 - Analyse qualitative - Identification structurale :**

La spectrométrie UV-Visible est d'une importance secondaire, vis-à-vis d'autres méthodes spectrales, pour l'identification et l'analyse structurale des composés inconnus. Ceci peut être une conséquence directe des larges bandes et des spectres plutôt simples, ce qui rend, difficile, la différenciation entre les composés structurellement liés. Son adjonction aux autres techniques; IR, RMN et MS, cependant, peut jouer un rôle utile. Elle peut être particulièrement utile pour la confirmation de la présence des groupes acides ou basiques dans une molécule à partir des changements de la position et de l'intensité des bandes liées aux changements de pH. [102]

Tous ces effets font qu'il est très difficile de tirer des informations concernant la structure d'une molécule ou même des informations sur la présence de certains groupements. La spectrométrie UV-Visible est principalement un outil d'analyse quantitative de substances dont le spectre est connu.

#### **I.6.2.10 - Analyse Quantitative - Absorptiométrie :**

L'utilisation de la spectrométrie UV-Visible pour l'analyse quantitative en comparant les absorbances des standards et des échantillons à une longueur d'onde choisie est une des plus répandue de toutes les techniques analytiques. Elle est également une des plus sensibles. Des applications incluent la mesure de l'absorption des complexes comme fonction des conditions des solutions ou du temps pour déterminer la stabilité thermodynamique et cinétique pour des buts analytiques ou pour des études plus fondamentales.

##### **I.6.2.10.1 - La loi de Beer :**

La procédure classique pour faire une mesure d'absorption moléculaire dans l'UV-Visible est de faire traverser l'échantillon par un rayonnement de puissance  $P_0$  et de mesurer la puissance  $P$  du rayonnement transmis. Ainsi le terme transmittance est définie comme suit :

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (\text{éq.10})$$

Or, la transmittance de l'espèce moléculaire peut être exprimée en terme d'absorbance avec la relation logarithmique :

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log T \quad (\text{éq.11})$$

(Bouguer; 1729 et Lambert; 1760) [105] ont établi que l'absorbance est directement proportionnelle à l'épaisseur ou le chemin traversé par le rayonnement si la concentration est constante, ce qui a été connu comme la loi de Bouguer-Lambert :

$$A = k \cdot l \quad (\text{éq.12})$$

Où  $l$  est l'épaisseur et  $k$  est une constante de proportionnalité.

En 1852, Beer a pu déterminé que si l'épaisseur est maintenue constante, alors l'absorbance sera directement proportionnelle à la concentration de l'espèce

absorbante si certaines limitations pourront être considérées [105]. Ainsi la loi de Beer peut être écrite :

$$A = k' \cdot c \quad (\text{éq.13})$$

Où  $c$  est la concentration et  $k'$  est une constante de proportionnalité.

Bien que les lois de Bouguer-Lambert et de Beer aient été indépendamment développées à partir de certains traitements empiriques pour des données d'absorption, on peut dériver la loi de Bouguer-Lambert-Beer après avoir imposé certaines limitations sur le système : [105]

- ♦ La radiation incidente doit être monochromatique (une seule longueur d'onde).
- ♦ Tous les rayons du rayonnement incident se déplacent sur des chemins parallèles équidistants vers l'échantillon absorbant (faisceau fortement collimaté sans réflexions internes).
- ♦ La puissance rayonnante incidente,  $P_0$ , ne doit pas altérer la population de l'état fondamental des molécules absorbantes (éviter l'optique non linéaire comme les sources de rayonnement laser de haute puissance).
- ♦ L'échantillon absorbant doit être homogène et ne diffuse pas et ne réfléchit pas la radiation incidente.
- ♦ Les espèces absorbantes doivent se comporter en tant que parties indépendantes (pas d'interactions moléculaires entre eux ou avec d'autres molécules, grande dilution, par exemple).

Strong, en appliquant ces limitations, a dérivé la loi combinée de Bouguer-Lambert-Beer (souvent appelée loi de Beer) à partir des lois initiales [105]. L'expression est devenue :

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c \quad (\text{éq.14})$$

Où  $\varepsilon$  est une constante de proportionnalité connue par l'absorptivité,  $l$  est le chemin optique et  $c$  est la concentration.  $\varepsilon$  est constante pour une espèce moléculaire donnée mais dépend de la longueur d'onde.

Les grandeurs composant la loi de Beer sont souvent exprimées avec les unités suivantes :  $l$  en (cm),  $c$  en (mole.l<sup>-1</sup>),  $\varepsilon$  en (l.mole<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>).

### I.6.2.10.2 - Instrumentation :

#### A - Types d'instruments :

La mesure de l'absorption moléculaire des premiers dispositifs, des années 1930, était basée sur la comparaison visuelle des couleurs des standards avec celles des échantillons. Ce type, en version portable est, encore utilisable de nos jours, pour des mesures sur terrains ne nécessitant pas de grandes précisions.

Le **photomètre** pour mesure d'absorption est un dispositif utilisant des filtres pour la sélection des longueurs d'onde et une détection photoélectrique. Il existe en deux versions; mono faisceau et double faisceau, portable et de laboratoire.

L'**absorptiomètre** ou **spectrophotomètre**, lui, utilise un dispositif, de sélection de la longueur d'onde, basé sur un monochromateur à réseau, à prisme ou à cristal. Il existe aussi en mono ou double faisceau.

♦ **Spectrophotomètre mono faisceau** dont un schéma de principe est représenté sur la figure I.7. Il y a deux possibilités selon que l'on travaille en faisceau polychromatique ① ou monochromatique ② :

①: Source lumineuse  $\Rightarrow$  Echantillon  $\Rightarrow$  Système dispersif  $\Rightarrow$  Détecteur polychromatique  
Il y a, dans ce cas, acquisition instantanée de l'ensemble du spectre. Le système dispersif peut être un prisme et le détecteur une barrette de photodiodes.

②: Source lumineuse  $\Rightarrow$  Monochromateur  $\Rightarrow$  Echantillon  $\Rightarrow$  Détecteur  
Voir (Figure I.7).

On acquiert le spectre en effectuant un balayage en longueur d'onde à l'aide du réseau monochromateur.

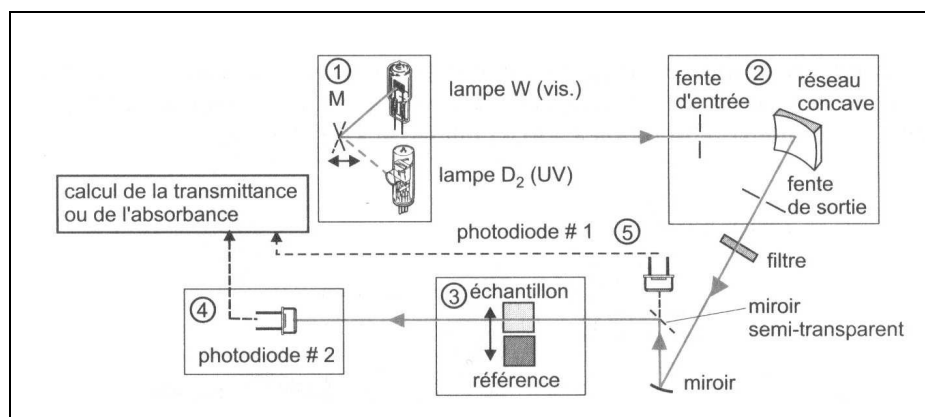


Figure I.7 : Représentation schématique d'un spectrophotomètre du type mono faisceau à monochromateur.

♦ **Spectrophotomètres à double faisceau** (figure I.8).

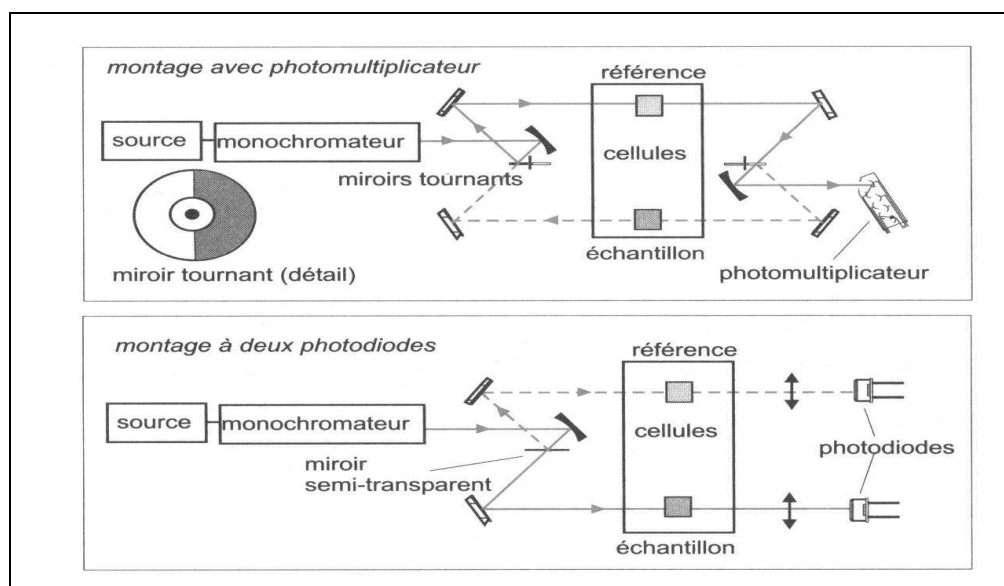


Figure I.8 : Représentations schématiques des spectrophotomètres du type double faisceau avec deux technologies différentes pour la détection.

**B - Etude des composants du spectrophotomètre :**

Généralement la série des composants d'un spectrophotomètre comporte les sources de radiation, les monochromateurs, les compartiments d'échantillon, les détecteurs, le traitement de données.

**B - 1 - Les sources lumineuses : [105]**

Pour la plupart des spectrophotomètres UV-visible, on utilise principalement deux types de lampes afin de couvrir la totalité du spectre :

♦ **La lampe à incandescence à filament de tungstène :** Avec une enveloppe en verre de silice pour la partie visible du spectre et opérant entre 2000 et 3000 °K en émettant un spectre continu entre 320 et 2500 nm avec une intensité max à 1000 nm. Opérer à haute température laisse déposer le tungstène volatile sur l'enveloppe et ainsi limite la durée de vie de la lampe. Ainsi une lampe similaire **Quartz-iodé** est apparue avec une enveloppe en quartz laissant dépasser les 3600 °K en température et émettant entre 200 et 3000 nm (région UV comprise). A haute température, l'iode se combine avec le tungstène volatile (iodure de tungstène) et diffuse derrière le filament pour se décomposer.



- ♦ **La lampe à décharge au deutérium** sous moyenne pression (2-3 torr) pour des longueurs d'onde de 180 à 370 nm. Le changement de la lampe est opéré vers 350 nm.
- ♦ On utilise également des **lampes à décharge au xénon** pour la partie visible du spectre. Pour certains appareils dont la gamme spectrale est limitée à 300 - 1100 nm, il n'y a qu'une lampe au xénon.

## **B - 2 - Les monochromateurs : [105]**

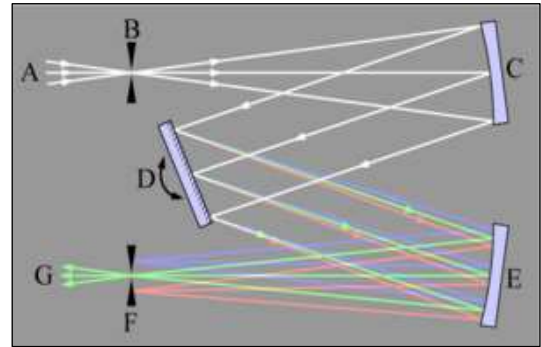
Alors qu'il existe de nombreuses manières de produire de la lumière monochromatique (par exemple les sources laser), il n'est pas si facile de sélectionner une gamme de longueurs d'onde dans un faisceau polychromatique.

Le monochromateur est utilisé pour extraire du rayonnement émis par les sources une bande spectrale très étroite dont on peut faire varier la longueur d'onde. Les montages actuels utilisent un réseau plan ou concave (comportant 600 et 1200 traits/mm pour la gamme du visible, 1800 et 2400 traits/mm pour celle de l'UV) dont la rotation permet de balayer la zone spectrale entre les limites définies par l'opérateur. La résolution, largeur de la bande spectrale sélectionnée, est de l'ordre de quelques nm (2 nm pour les bons spectrophotomètres commerciaux).

Pour séparer les différentes longueurs d'onde d'un faisceau lumineux, un monochromateur peut utiliser soit le phénomène de dispersion de la lumière par un prisme, soit le phénomène de diffraction par un réseau ou par un cristal. Il comprend généralement un système mécanique permettant de diriger le faisceau de longueur d'onde choisie vers une fente de sortie.

La dispersion ou la diffraction du faisceau lumineux n'est utilisable que si la lumière est collimatée, c'est-à-dire si tous les rayons lumineux sont parallèles (ou pratiquement parallèles). Dans la pratique, les faisceaux lumineux sont presque toujours divergents, et il est nécessaire d'utiliser un collimateur pour rendre les rayons parallèles. Généralement, les monochromateurs utilisent des collimateurs travaillant en réflexion (et non en transmission) pour ne pas introduire de dispersion parasite due à la lumière.

La figure ci-contre montre le schéma de principe d'un monochromateur. Le faisceau lumineux polychromatique issu de la source (A) traverse une fente d'entrée (B). La fente est située au point focal d'un miroir incurvé (le collimateur) (C), si bien que tous



les rayons réfléchis par le miroir soient parallèles. La quantité d'énergie lumineuse disponible pour l'utilisation dépend d'une part de l'énergie du faisceau issu de la source lumineuse traversant la fente, et d'autre part de la "largeur" du faisceau divergent qui se réfléchit sur le miroir. Le faisceau parallèle polychromatique est alors dispersé par le prisme ou diffracté par le réseau ou le cristal (D), puis collecté par un autre miroir (E) qui le focalise sur la fente de sortie (F). Dans le cas du prisme ou du réseau, les différentes longueurs d'onde sont séparées au niveau de la fente de sortie (si le faisceau est dans le visible, les différentes couleurs sont séparées), chacune arrivant à un point différent de la fente. Dans le cas d'un cristal, seule une seule longueur d'onde diffracte, suivant la valeur de l'angle d'incidence  $\theta$  (loi de Bragg :  $n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin(\theta)$ ). Le faisceau lumineux (G) issu de la fente (F) n'est donc plus constitué que d'une seule longueur d'onde (et d'une faible proportion des longueurs d'onde voisines). Une rotation de (D) (prisme, réseau ou cristal) entraîne un déplacement du faisceau au niveau du miroir (E) et de la fente de sortie (F), ce qui permet de sélectionner la longueur d'onde désirée en la centrant sur la fente.

### B - 2 - 1 - Caractérisation :

L'efficacité d'une séparation de longueurs d'onde d'un faisceau lumineux est mesurée en termes de **résolution**, de **largeur de bande** et d'**intensité en sortie**.  
[105]

**La résolution** est exprimée en terme de dispersion  $D$  du monochromateur, elle est caractérisée par la largeur de la gamme de longueur d'onde en sortie par unité d'ouverture des fentes :

$$D = \frac{d \lambda}{dy} \quad (\text{éq.15})$$

(Par exemple, 1 nm pour 1 mm d'ouverture de fente).

Ce facteur est constant pour un réseau :

$$D = \frac{d}{n \cdot f} \quad (\text{éq.16})$$

$d$  est le pas du réseau,  $n$  est l'ordre de diffraction,  $f$  est la distance focale du système. Il est constant aussi pour un cristal. Il dépend de la longueur d'onde dans le cas d'un prisme :

$$D = \left( \frac{d\eta}{d\lambda} \right) \cdot \left( \frac{dr}{d\eta} \right) \quad (\text{éq.17})$$

$\eta$  est l'indice de réfraction du prisme,  $r$  est l'angle de réfraction, le premier terme du produit est appelé dispersion optique et le second alors dispersion géométrique.

L'indice de réfraction croît presque exponentiellement avec la longueur d'onde. En conséquence, si l'utilisateur d'un monochromateur à prisme à besoin d'un faisceau dont la largeur en longueurs d'onde est constante, l'ouverture des fentes doit être ajustée en fonction de la longueur d'onde. Idéalement, la fonction de transfert d'un monochromateur à la forme d'une gaussienne, dont le sommet correspond à la longueur d'onde sélectionnée. L'intensité correspondant aux longueurs d'onde voisines décroît rapidement lorsque l'on s'éloigne du pic jusqu'à une valeur limite dite "cutoff", pour laquelle l'intensité cesse de décroître. L'intensité est alors typiquement de l'ordre d'un millième de l'intensité du pic (soit 0,1%).

**La largeur de bande** du faisceau de sortie est caractérisée par la largeur à mi-hauteur de la gaussienne, notée *fwhm* (full width at half maximum). Elle représente la largeur de gamme de longueurs d'onde de 75% du rayonnement en sortie du système. Elle dépend de la largeur de fente, de la dispersion, de la courbure de fente et de la diffraction de Rayleigh. Selon '*Instrument Technology*' seulement les deux premiers sont significants, ainsi :

$$fwhm = l \cdot D \quad (\text{éq.18})$$

$l$  est la largeur de la fente,  $D$  est la dispersion.

Il faut donc faire un compromis entre l'intensité du faisceau (fentes très ouvertes) et une largeur de bande faible (fentes très peu ouvertes). La largeur dépend également

des propriétés du système permettant la dispersion de la lumière (indice de réfraction du prisme, pas du réseau, nature et orientation du cristal). Enfin, elle est directement liée à la distance focale du collimateur utilisé : plus la distance focale est grande, plus la gamme de longueurs d'onde est étroite. Malheureusement, plus la distance focale est grande, plus le collimateur recueille une faible fraction du faisceau divergent après la fente d'entrée, et plus **l'intensité en sortie** est faible. Les monochromateurs de très haute résolution peuvent avoir des collimateurs de distance focale voisine de 2 mètres. La fabrication de tels monochromateurs nécessite donc d'apporter une attention toute particulière à la stabilité thermique et à la stabilité mécanique.

Les systèmes optiques usuels ont généralement des problèmes d'aberrations optiques au foyer image du second collimateur (qui focalise le faisceau sur la fente de sortie). Pour corriger ce problème, les fentes sont parfois légèrement incurvées au lieu d'être droites.

Il est courant que deux monochromateurs soient connectés en série dans un système optique, de manière à sélectionner tous les deux la même longueur d'onde. Cet arrangement ne permet pas de rendre plus étroite la gamme de longueur d'onde du faisceau de sortie, mais de diminuer l'intensité des longueurs d'onde de part et d'autre du pic. La valeur de "cutoff" d'un double monochromateur pourra être de l'ordre du millionième de l'intensité du pic (le produit des deux cutoff des monochromateurs utilisés). Cette valeur est une donnée critique pour de nombreuses utilisations pour lesquelles l'absence de longueurs d'onde parasites est primordiale.

### **B - 3 - Les détecteurs : [105]**

Les anciens détecteurs étaient soit des **cellules photovoltaïques** ou **photoconductives** qui fonctionnaient en tant que sources de tension à basse impédance ou à résistance variable dont la sortie est fonction de l'intensité de la source rayonnante qui frappait la surface active de la cellule. Ils sont encore utilisés sur des instruments de terrain ou des photomètres à filtre. Leur sensibilité les a limités au domaine (Visible-IR).

Des **phototubes à cellule photoémissive** sont plus sensibles que ces derniers, néanmoins, ils ont été remplacés par leurs successeurs, les photomultiplicateurs et d'autres détecteurs.

### B - 3 - 1 - le photomultiplicateur :

Ce dispositif est composé de plusieurs surfaces photoémissives appelées dynodes, chacune est portée à un potentiel suffisamment élevé et dont la première (la cathode), seule, reçoit le rayonnement à mesurer. Des électrons vont être arrachés à chaque dynode pour être accélérés et focalisés sur la suivante d'une manière multiplicative jusqu'à la dernière dynode qui est l'anode collectrice d'un courant final mesurable, proportionnel à l'énergie du flux lumineux. Voir fig.I.9. Cette cascade de multiplication (un facteur de multiplication de 10<sup>6</sup>/1) ne peut que prédire une réelle grande sensibilité de ce type de détecteurs. Les phototubes et les photomultiplicateurs

sont disponibles avec une large gamme de sensibilités; 185 – 1000 nm.

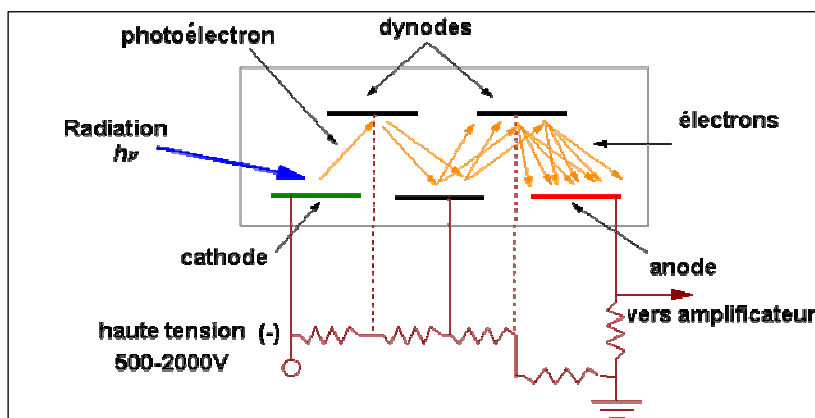


Figure I.9 : photomultiplicateur

☞ **Avantages de l'instrument** : la simplicité, le niveau de bruit très faible, la sensibilité très élevée.

☞ **Inconvénients de l'instrument** : la fragilité mécanique, la sensibilité aux fluctuations des champs magnétiques, la nécessité d'une alimentation de haute tension, le prix de vente élevé. [102,105]

### B - 3 - 2 - Les photodiodes :

Moins coûteuses, elles montrent généralement une sensibilité satisfaisante. Leur principe de fonctionnement est basé sur la réponse des semi-conducteurs. Le faisceau lumineux arrive sur une jonction ( $p-n$ ) d'un cristal de silicium dont la

structure électronique va être modifiée grâce aux photons incidents; des électrons excités vont alors passer de la bande de valence à la bande de conduction, produisant ainsi des porteurs de charge libres appelés pairs (*électron-trou*) qui vont être utilisés de différentes manières selon le type de détecteurs. Ils sont sensibles sur toute la gamme (UV – proche IR), bien que moins que les photomultiplicateurs. Voir fig. I.10. ci-contre.

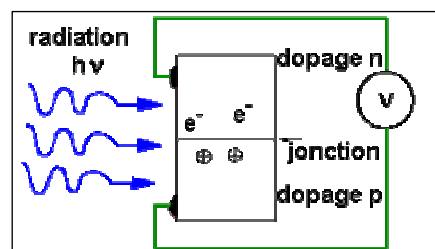


Figure I.10 : photodiode

### B - 3 - 3 - Barrette de diodes :

'*Microelectronics*' a produit une variété de détecteurs dont le détecteur à barrette de diodes, actuellement très populaire. Au lieu d'une seule photodiode, il est constitué d'une barrette comportant une série de 1024 à 2048 éléments de photodiodes alignés sur un espace moins de 50  $\mu\text{m}$ . Chaque élément reçoit une certaine gamme de longueurs d'onde. Lorsque les photons tombent sur les diodes, les porteurs de charges libres générés permettent une décharge partielle de condensateurs, montés en parallèle avec elles et initialement chargés. La lecture du signal de sortie se fait sur le courant lié à la charge nécessaire au rechargement des condensateurs à leur capacité initiale. Cette charge est évidemment proportionnelle au nombre de photons détectés par chaque diode et par conséquent à l'intensité lumineuse.

☛ **Avantages de l'instrument :** la simplicité (pas de fentes, pas de monochromateur, la vitesse de balayage est indépendante de la forme du spectre, les erreurs de manipulation réduites), temps d'acquisition du spectre complet très réduit (0,1 s) avec une excellente sensibilité (utilité pour les mesures sur des systèmes dynamiques : HPLC, analyses en débit continu, contrôle de processus, mesures cinétiques), répétabilité du réglage de la longueur d'onde (pas de pièces mobiles pour le changement de la longueur d'onde ou le balayage, élimination de l'imprécision mécanique et de la dérive en fonction du temps).

☛ **Inconvénients de l'instrument :** le niveau de bruit assez élevé, sensibilité aux effets de la lumière parasite. [102,105]

### **B - 3 - 4 - Détecteur du type CCD (Charge Coupled Device) :**

Les porteurs de charge libre sont stockés dans des pixels (des diodes) qui caractérisent une étroite bande de longueurs d'ondes. Ces pixels sont organisés selon un tableau de colonnes et de lignes, les colonnes servant à stocker les électrons. Dans chaque pixel, associé à une bande de longueur d'onde, sont stockés les électrons émis par les photons correspondants. Le premier pixel évacue ses électrons dans un fil relié à un instrument de mesure, tandis que chaque pixel se déverse dans le pixel le plus proche. A la sortie, un 'transformateur' convertira et amplifiera chaque lot d'électrons en un signal d'amplitude proportionnelle. Signalons que la taille du pixel dans un CCD influera de manière importante sur la qualité et la précision des résultats: un pixel large augmente la capacité de stockage et de transmission mais se révélera moins précis pour des signaux de faible amplitude qu'un pixel de faible taille.

☞ **Avantages de l'instrument** : un niveau de bruit sensiblement inférieur à celui de la barrette de diode et supérieur à celui du photomultiplicateur (sensibilité pour les faibles concentrations et le faible éclairage : applications dans le domaine de la biologie moléculaire et génétique), domaine spectral plus large que celui du photomultiplicateur.

☞ **Inconvénients de l'instrument** : le prix élevé et la manipulation complexe. [102,105]

### **B - 4 - Compartiments des cellules de mesure : [105]**

Les spectrophotomètres à double faisceau sont équipés de deux compartiments pour les cellules de mesure; celle de l'échantillon et celle de la référence. Elles doivent être opaques et d'un design à assurer un faisceau de lumière collimaté. Ceci est important pour réduire les erreurs dues aux réflexions multiples et les pertes par réflexion. Ainsi, il est aussi important que le positionnement des cellules est tel que les deux faces parallèles soient traversées par un rayon qui leur est perpendiculaire. Il est souhaitable que les compartiments soient munis d'une purge de gaz, d'un circuit thermostatique, et d'un autre de prélèvement automatique, liés aux cellules

de mesure et dont certains spectrophotomètres du commerce en sont déjà dotés [102,105].

### **B - 5 - Dispositif de fourniture et de traitement de données :**

La plupart des spectrophotomètres modernes sont fabriqués avec des microprocesseurs incorporés, pour la commande et la surveillance des opérations de l'instrument. Ces systèmes fournissent généralement une interface à un système informatique avec le logiciel de commande des opérations de l'instrument, de la collecte et de traitement de données [102,105].

#### **I.6.2.10.3 - Propriétés analytiques en Spectrophotométrie :**

Toutes les mesures sont accompagnées d'une certaine marge d'erreur, et l'évaluation de sa grandeur est nécessaire pour la validation des résultats. L'erreur ne peut pas être éliminé complètement, bien que sa grandeur et sa nature puissent être caractérisées.

Les méthodes spectrophotométriques sont caractérisées par leur sensibilité et leur précision élevées. Elles sont utilisées pour la détermination de la plus part des éléments chimiques, en macroquantités, ou sous formes de traces dans la gamme de  $10^{-6}$  à  $10^{-8}$  % (avec préconcentration) [57].

#### **a) - Sensibilité :**

Elle consiste pour une méthode (ou un instrument) en une mesure de ses capacités à distinguer de petites différences dans les concentrations en analyte à un niveau de confiance bien défini. La mesure la plus simple de la sensibilité est la pente de la courbe de calibrage dans la gamme de concentration d'intérêt. [106]

La valeur numérique de la sensibilité pour les méthodes spectrophotométriques est déterminée en terme du coefficient d'absorption molaire ( $\epsilon$ ) :

$$\epsilon = \frac{A}{c \cdot l} \quad (\text{éq.19})$$

Où  $\epsilon$  est exprimée en ( $l \cdot \text{mole}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) ou comme absorbance spécifique ( $a$ ) :

$$a = \frac{\epsilon}{M \cdot 1000} \quad (\text{éq.20})$$



Où  $a$  est exprimée en ( $l \cdot mg^{-1} \cdot cm^{-1}$ ); avec  $M$  (masse molaire de l'élément) exprimée en ( $g \cdot mole^{-1}$ ).

La détermination du coefficient  $\varepsilon$  est simple dans les méthodes spectrophotométriques extractives. Dans beaucoup de cas l'extraction est associée à la transformation d'une solution bichromatique en une autre monochromatique. Plusieurs complexes peuvent coexister dans une solution aqueuse, et l'extrait contient habituellement un complexe de composition définie. Habituellement, l'extraction mène à une augmentation de la sensibilité de la méthode. [57]

Un rôle important dans l'analyse de trace est joué par l'essai à blanc, en particulier dans la détermination des éléments communs tels que le Fe, le Zn, le Ca, l'Al, le Si. Il se passe parfois que la teneur d'un élément dans le blanc excède celle de l'échantillon. Dans de tels cas, l'essai à blanc détermine la concentration limitante de l'élément dans la matière à analyser. Ainsi, il est possible d'augmenter la sensibilité en réduisant la valeur de l'essai à blanc (par exemple, par la purification des réactifs, ou l'utilisation de récipients en quartz ou en polyéthylène au lieu du verre). [57]

#### **b) Exactitude :**

Le terme, "exactitude" dénote le degré de proximité des résultats obtenus de la valeur (vraie) réelle. On l'estime souvent comme la déviation de la valeur moyenne ( $V_m$ ) par rapport à la valeur vraie ( $V_v$ ) : [106]

$$E = \frac{V_m - V_v}{V_v} \quad (\text{éq.21})$$

La valeur vraie ne peut être connue. Dans le but de faire une comparaison, la mesure par une méthode établie ou par un établissement accrédité est acceptée comme valeur vraie.

#### **c) - Précision :**

La précision est une mesure de la reproductibilité. Une évaluation de cette erreur est nécessaire pour prévoir dans quelle gamme la valeur vraie peut se trouver, et ceci est fait en répétant une mesure plusieurs fois. Deux paramètres importants, la valeur moyenne et la variabilité de la mesure, sont obtenus à partir de ce processus

[106]. La mesure de la valeur moyenne la plus largement utilisée est la moyenne arithmétique,  $\bar{X}$  :

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n} \quad (\text{éq.22})$$

$n$  est le nombre de mesures.

La mesure commune de la variabilité (ou précision) est la déviation standard  $\sigma$  :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n}} \quad (\text{éq.23})$$

Lorsque les valeurs sont limitées en nombre,  $\sigma$  sera désignée par  $S$  exprimée par :

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (\text{éq.24})$$

Un autre terme généralement utilisé pour mesurer la variabilité est le coefficient de variation ( $CV$ ) ou la déviation standard relative ( $RSD$ ), qui peut également être exprimé en pourcentage :

$$RSD = \frac{S}{\bar{X}} \quad \text{ou en \%}; \quad \%RSD = \frac{S}{\bar{X}} * 100 \quad (\text{éq.25})$$

La précision des méthodes spectrophotométriques dépend de la gamme des valeurs déterminées. Dans des conditions optimales, elle s'étend habituellement sur la marge 0,5-2%. [57]

Par substitution et réarrangement dans l'équation de la loi de Beer on abouti à la relation suivante [102]:

$$\frac{dC}{C} = \frac{0,434}{T \cdot \log T} \cdot dT \quad (\text{éq.26})$$

Où  $\frac{dC}{C}$  représente l'erreur relative de concentration et  $dT$  l'erreur ou l'incertitude dans  $T$  mesurée (erreur instrumentale).

Ingle et autres ont pu dériver trois expressions pour  $dT$  [104] :

- $dT = K_1 \Rightarrow \frac{dC}{C} = \frac{0,434}{\log T} \cdot \frac{K_1}{T} \quad (\text{éq.27})$

- $dT = K_2 \cdot \sqrt{T^2 + T} \Rightarrow \frac{dC}{C} = \frac{0,434}{\log T} \cdot K_2 \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{T}} \quad (\text{éq.28})$

$$\bullet \quad dT = K_3 \cdot T \Rightarrow \frac{dC}{C} = \frac{0,434}{\log T} \cdot k_3 \quad (\text{éq.29})$$

L'erreur de transmittance est liée pour les trois cas susdits, dans l'ordre respectif, à :

- ☛ Détecteur thermique, amplificateur et bruit du courant zéro (Indépendante de  $T$ ).
- ☛ Bruit du détecteur.
- ☛ positionnement de la cellule, erreurs de parallélisme et fluctuations de l'intensité du rayon incident.

Basés sur des considérations théoriques, des graphes ont été tracés à partir de ces équations, mais des courbes de l'erreur relative similaires, expérimentalement déterminées, ont été souvent observées en pratique.

En dérivant l'équation (éq.26) par rapport à  $T$  et annulant la dérivée, on trouve que l'erreur relative théorique est minimale pour une absorbance de 0.434. Pratiquement, elle s'étend entre 0,4 et 0,6, pour des anciens instruments mono faisceau à détecteur photovoltaïque (figure I.11, courbe avec  $dT = k_1 = \pm 0,3\% T$ ). Les mesures en dehors de la gamme 0,2-0,8 sont sujettes à une erreur relative rapidement croissante. Les instruments modernes à double faisceau tendent à montrer des courbes avec un large minimum qui s'étend de 0,6 à plus de 1,5. Le cas de la figure I.11, courbe avec  $k_2 = \pm 0,3\% T$  est pour un détecteur photomultiplicateur montrant une erreur minimale à l'absorbance de 0,86 parce que l'erreur instrumentale  $dT$  est proportionnelle à  $T^{1/2}$ . La courbe croit plus graduellement aux absorbances élevées étendant ainsi la gamme de travail utile à presque 2. Le cas pour  $k_3 = \pm 1,3\% T$  élargit encore la zone du minimum à plus que 2 [104]. Les mesures spectrophotométriques ont normalement une précision relative de 1-5% [102].

Pour un spectrophotomètre à barrette de diode (HP8450 DAS), le minimum tend maintenant à être étendu au basses absorbances. L'erreur relative est très inférieure à 0,2% avec un minimum d'absorbance s'étendant de 0,2 à 2 pour deux longueurs d'onde du visible 426 et 636 nm (figure I.12) [104].

Les erreurs impliquées dans les mesures d'absorbance sont habituellement plus petites que celles liées aux opérations chimiques. Dans quelques méthodes la

coloration n'est pas reproductible. Dans d'autres méthodes, la couleur change avec le temps, et l'absorbance doit être mesurée après un laps de temps strictement déterminé. Dans quelques systèmes, même de petites variations de température suscitent un changement de couleur. Quelques réactions sont sensibles aux changements du pH. D'autres erreurs possibles sont provoquées par les réactions compétitives produites dans le système, ou par des changements de la force ionique.

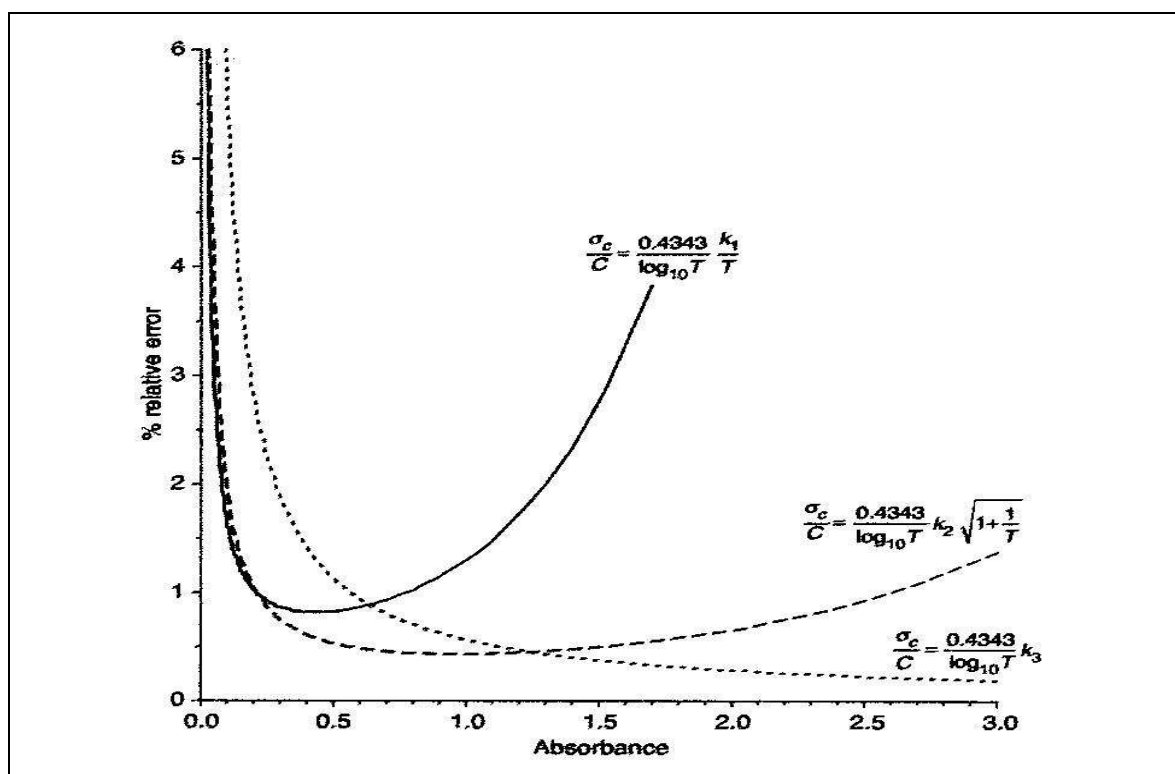


Figure I.11 [104]

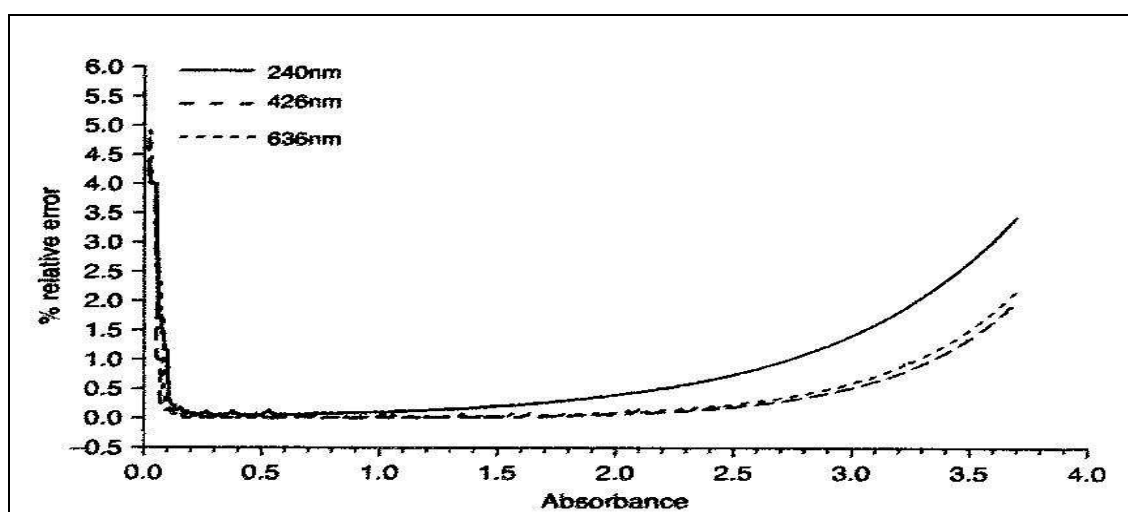


Figure I.12 [104]

L'erreur totale, dans une analyse d'une matière définie, est la somme des erreurs faites dans les différentes étapes du procédé analytique, par exemple, dans le prélèvement, la dissolution de l'échantillon, la préconcentration et la séparation des éléments, et la mesure d'absorbance. Au cours de ces opérations, l'échantillon peut subir une perte de quelques éléments ou en être contaminés par l'environnement. Il est ainsi d'une grande importance de déterminer un blanc (dans l'analyse de traces) et d'en tenir compte dans le calcul du résultat final.

L'erreur totale peut être évaluée en comparant les résultats d'analyse obtenus avec des valeurs considérées comme vrai.

**d) - Sélectivité :**

Conformément à la décision de IUPAC, un réactif sélectif est celui qui réagit avec seulement un petit nombre d'éléments, et un réactif spécifique est celui qui, sous des conditions bien définies, réagit seulement avec un élément.

La sélectivité des réactions colorées et des méthodes de détermination correspondantes dépend de la nature du réactif utilisé, du degré d'oxydation des éléments déterminés, du pH du milieu analytique, et des agents complexants qui masquent les ions interférents.

Les réactifs du type R-SH, dans des milieux faiblement acides ou neutres, réagissent avec les cations métalliques du troisième groupe analytique, comme c'est le cas par exemple du métal de notre étude (Zn) avec le dithizone à pH 4-5 en présence du thiosulfate comme agent masquant approprié. [57]

**e) - Limite de détection (LDM) :**

Elle est définie comme la plus basse concentration pour un composé analysé dans une matrice réelle qui, lorsqu'il subit toutes les étapes d'une méthode complète, produit un signal détectable, avec une fiabilité définie, statistiquement différent de celui produit par un « blanc » dans les mêmes conditions. [106]

$$LDM = 3 * S \quad (éq.30)$$

S est la déviation standard liée à la LDM .

**f) - Limite de quantification (LQM) :**

La limite de quantification d'une méthode est la concentration minimale qui peut être quantifiée à l'aide d'une méthode d'analyse avec une fiabilité définie. C'est la concentration équivalente à 10 fois l'écart type obtenu lors de l'établissement de la LDM. [106]

$$LQM = 10 * S \quad (\text{éq.31})$$

**g) - Ratio de conformité ( $\mathcal{R}$ ) :**

Le calcul du ratio de conformité nous permet de déterminer la validité d'une démarche pour l'établissement d'une limite de détection. En général, si le résultat du calcul pour un ratio ( $\mathcal{R}$ ) qui sert à l'établissement d'une limite de détection n'est pas supérieur à 4, il faut recommencer la procédure d'établissement de la limite de détection avec un échantillon qui a une concentration plus élevée. [107]

$$\mathcal{R} = \frac{\bar{X}}{LDM} \quad (\text{éq.32})$$

**h) - Limite de linéarité (LL) :**

C'est la limite supérieure de quantification. C'est le point où la courbe d'étalonnage devient non linéaire. Le coefficient de corrélation doit être supérieur à 0,995 pour respecter le critère de la limite de linéarité. [106]