



Département du Vivant et de l'Environnement
Parcours : Licence en Toxicologie (L3)



Matière: Techniques d'Analyse **Spectroscopie visible**

Rappels:

Principe des techniques optiques:

Exploitation quantitative des phénomènes d'interactions entre la matière (atomes, molécules, ions) et les rayonnements, dans des conditions expérimentales strictes...

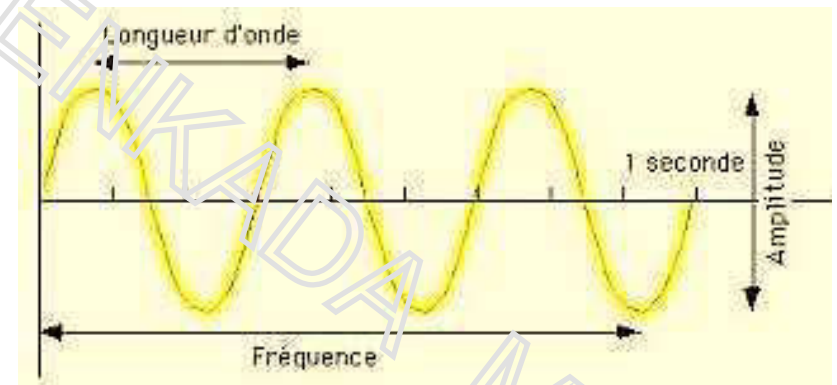
Matière ↔ Rayonnement

Spectroscopie :

- Analyse non destructive
- L'échantillon est simplement exposé à un rayonnement électromagnétique (ultraviolet, visible ou infrarouge)
- Applications : biologie, chimie, pharmacie, environnement, agroalimentaire, etc.

Interactions matière/rayonnement:

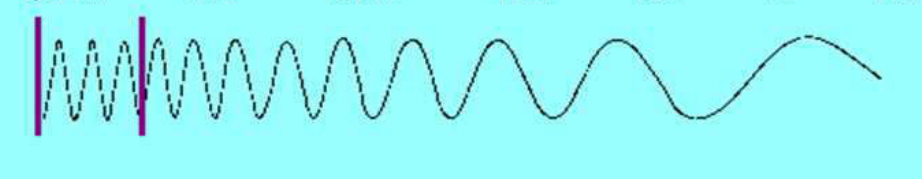
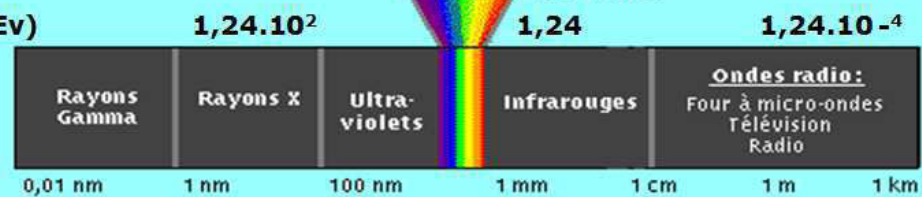
- **La lumière:** vibration se propageant très rapidement dans les milieux transparents
- C'est comme un pinceau de particules (**photons**) de masse nulle, de vitesse égale et d'énergie E
- **La propagation** provoque une onde progressive caractérisée par sa fréquence (ν) et sa longueur d'ondes (λ)
- **$E = h \cdot \nu = h \cdot (C/\lambda)$**
- h: constante de Planck
- ν : fréquence
- C: vitesse de la lumière ($2,998 \times 10^8$ m/s)
- λ : longueur d'ondes en μm ou nm
- **L'énergie** d'un **photon** est inversement proportionnelle à sa longueur d'ondes
- Plus la longueur d'ondes est petites, plus la radiation est forte (danger pour la matière vivante)
- Ce sont des **radiations électromagnétiques** dont les fréquences s'étendent sur une gamme très vaste



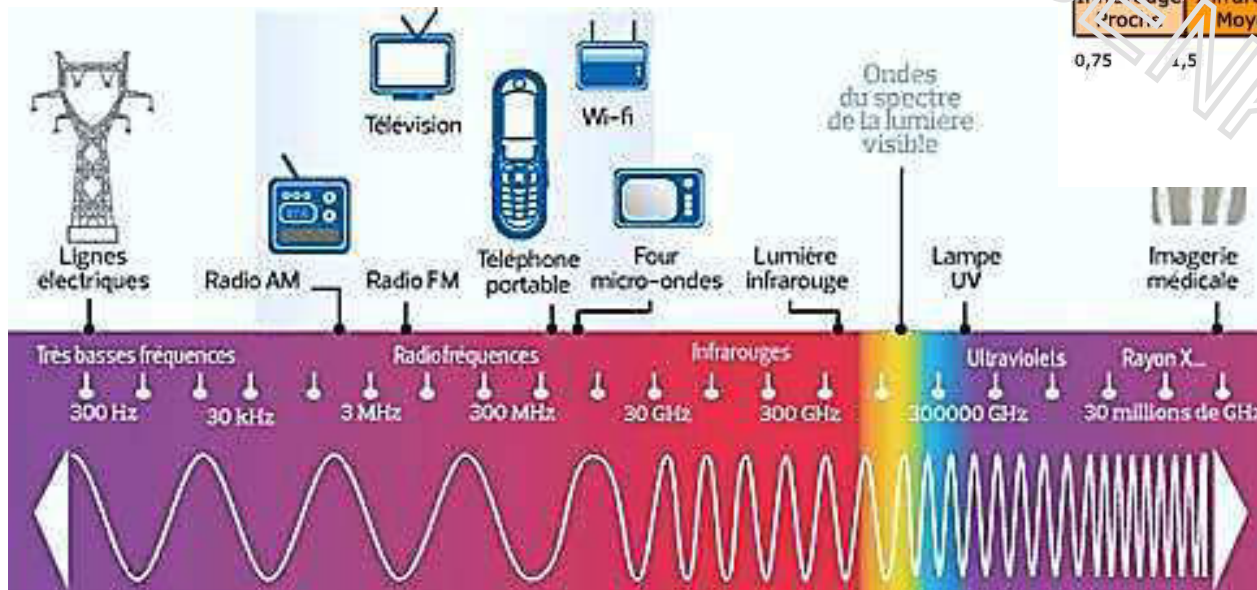
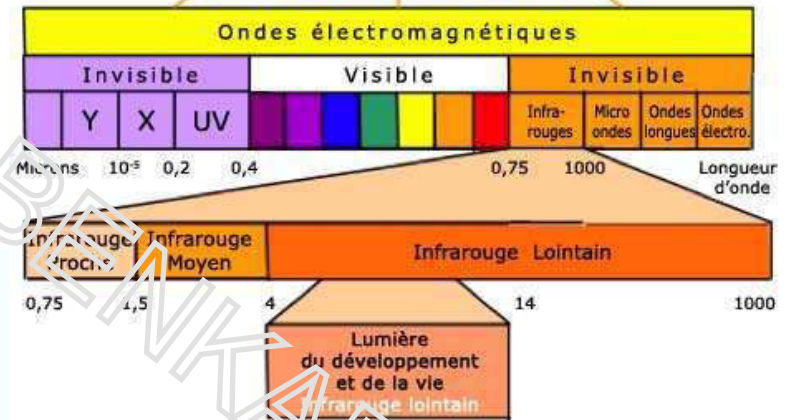
Énergie (Ev)

Spectre électromagnétique

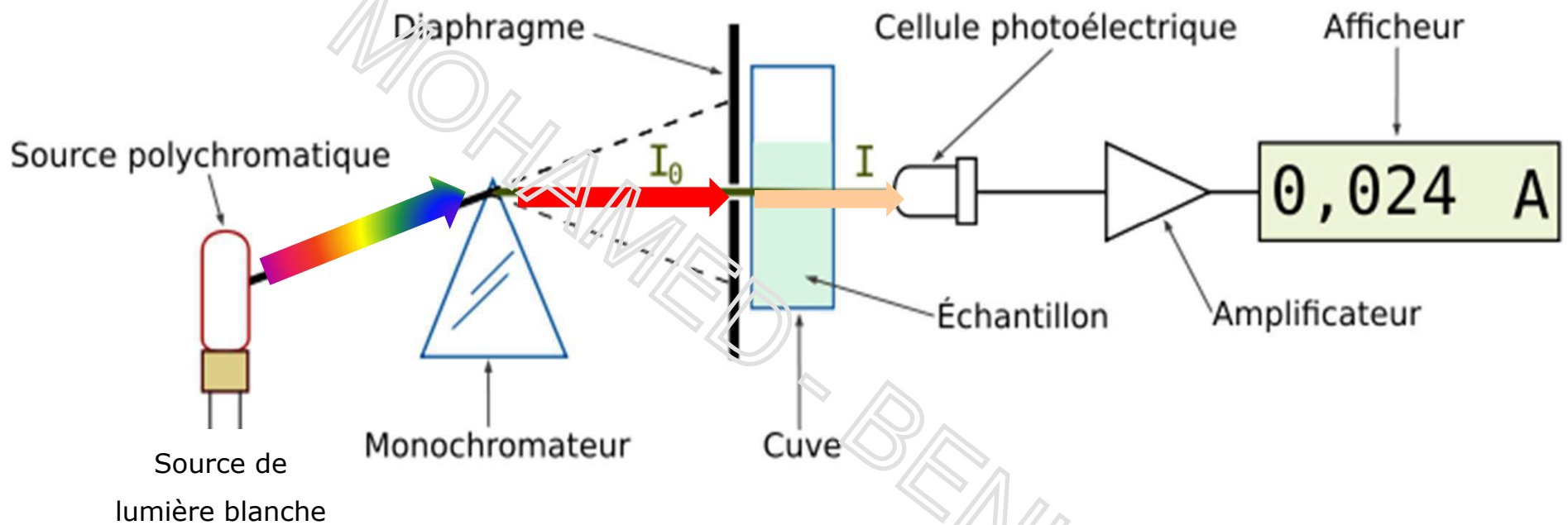
Spectre de la lumière visible
400 - 700 nm



SOLEIL



Composants d'un spectrophotomètre à lumière visible



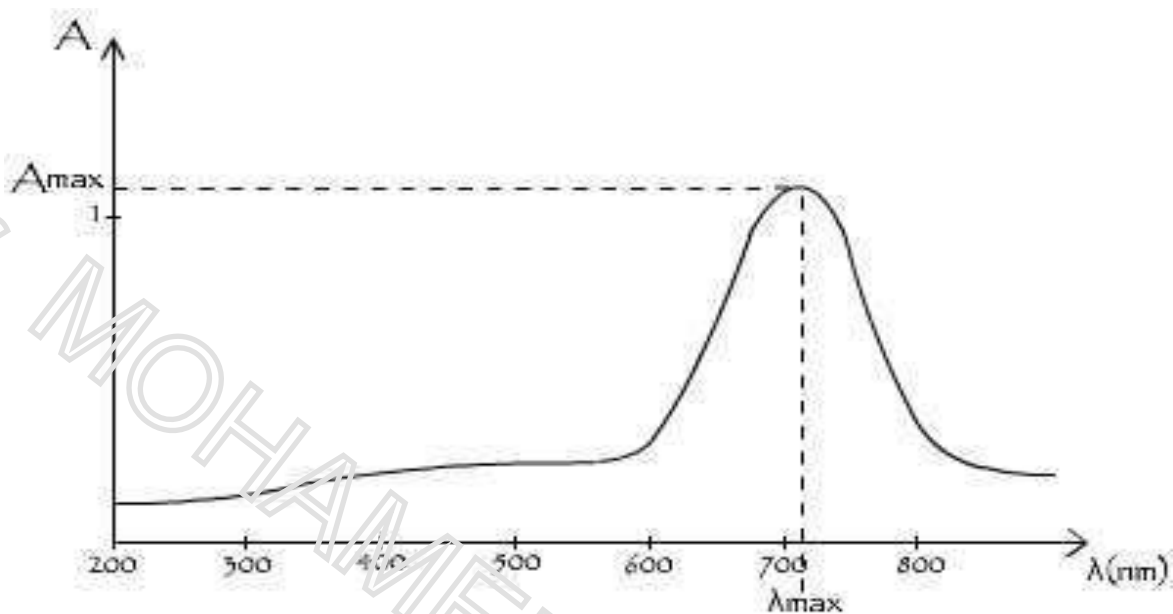
$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

A: absorbance

I: intensité de la lumière **incidente**

I_0 : intensité de la lumière **sortante**

On obtient un **spectre de l'échantillon**: $A = f(\lambda)$



Spectrogramme sous lumière visible

- λ_{max} est une **grandeur** caractéristique **propre à chaque espèce chimique**,
- Elle permet donc de **doser** l'espèce chimique en solution.

Dosage d'une solution:

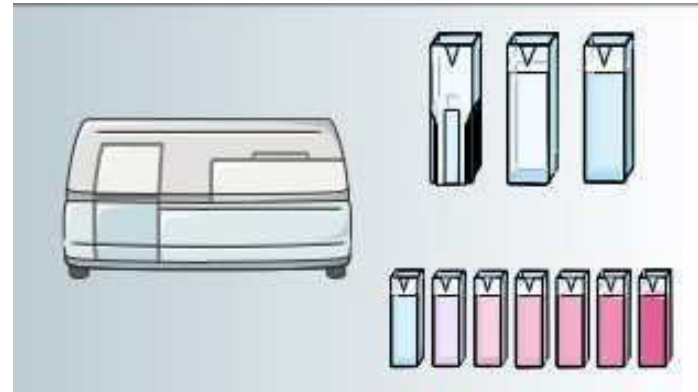
- Une radiation monochromatique de longueur d'onde fixe traversant un échantillon d'épaisseur **L**, l'Absorbance vérifie la **loi de beer-lambert**, soit :

$$A = \epsilon \cdot L \cdot C$$

Avec :

- A : absorbance
- ϵ : coefficient d'absorption molaire en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$
- L : largeur de cuve en cm
- C : concentration de la solution en mol/L

- Un **spectrophotomètre** : appareil pour mesurer l'**absorbance** d'une **solution** de **la lumière**.
- Selon la loi de *Beer-Lambert*, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à la concentration des molécules en solution.
- Ainsi, la longueur d'onde de la source lumineuse du spectrophotomètre **est fixée** en fonction du **type de l'espèce moléculaire à analyser**



Exemple d'application en Toxicologie: évolution de la concentration d'une toxine (xénobiotique) dans un milieu, en fonction du temps....