

LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE
POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES

« Spectres d'Absorption UV-VIS »
(Méthode spectrophotométrique)**1. INTRODUCTION**• Informations générales

- Formule moléculaire
- Formule structurale

• Documents de référence

La méthode spectrophotométrique est basée sur des normes nationales et sur des méthodes ayant fait l'objet d'un consensus, qui sont appliquées à la mesure des spectres d'absorption.

2. MÉTHODE**A. INTRODUCTION, OBJET, PORTÉE, PERTINENCE, APPLICATION
ET LIMITES DE L'ESSAI**

Du point de vue de l'environnement, la première raison de la détermination du spectre d'absorption ultraviolet - visible (UV-VIS) d'un produit chimique est d'obtenir des indications sur les longueurs d'onde auxquelles les composés sont susceptibles de subir une dégradation photochimique. Puisqu'il est probable que la dégradation photochimique a lieu à la fois dans l'atmosphère et dans l'eau, des spectres appropriés à ces milieux fourniront des informations sur la nécessité d'effectuer des essais de persistance plus poussés. La dégradation dépendra de la quantité totale d'énergie absorbée dans des régions de longueur d'onde spécifiques. Une telle absorption d'énergie est caractérisée à la fois par le coefficient d'absorption molaire (coefficient d'extinction molaire) et par la largeur de la bande. Cependant, l'absence d'absorption mesurable n'empêche pas la possibilité d'une photodégradation.

• Définitions et unités

Le spectre d'absorption UV-VIS d'une solution est fonction de la concentration, c , exprimée en mole/l, de toutes les espèces présentes qui absorbent la lumière ; de l'épaisseur, d , de

la cuve du spectrophotomètre, exprimée en cm ; et du coefficient d'absorption (d'extinction) molaire, ε_i , de chaque espèce. L'absorbance (densité optique) A de la solution est donnée par :

$$A = d \sum_i \varepsilon_i c_i$$

Pour un pic d'absorption résoluble, la largeur de la bande est l'intervalle de longueur d'onde, exprimé en nm = 10^9 m, et mesuré à la moitié du maximum d'absorption.

• Substances de référence

Quand on étudie une nouvelle substance, il n'est pas nécessaire d'utiliser à chaque fois des substances de référence. Elles sont surtout fournies pour étalonner de temps en temps la méthode et elles permettent de comparer les résultats lorsqu'une autre méthode est utilisée.

Les composés de référence, appropriés à l'étalonnage de ce système sont :

(1) le dichromate de potassium (dans une solution d' H_2SO_4 à 0,005 mole/l) selon J.A.A. Ketelaar
(2) :

log ε	3,56	3,63	3,16	3,50
λ en nm	235	257	313	350

(2) le fluoranthène (dans le méthanol) selon C.R.C. Atlas of Spectral Data (3) :

log ε	4,75	4,18	4,73	3,91	3,92
λ en nm	237	236	288	339	357

(3) le 4-nitrophénol (dans le méthanol) selon C.R.C. Atlas of Spectral Data (3) :

log ε	3,88	4,04
λ en nm	288	311

Voir également la référence 1.

• Principe de la méthode

Cette méthode utilise un spectrophotomètre à double faisceau qui enregistre uniquement les différences d'absorption entre le blanc et les solutions d'essai afin de donner le spectre du produit chimique étudié.

« Spectres d'Absorption UV-VIS »

- Critère de qualité

Reproductibilité et sensibilité

Il n'est pas nécessaire de mesurer directement la reproductibilité et la sensibilité. A la place on définira la précision du système en mesurant les spectres des produits de référence afin d'assurer une reproductibilité et une sensibilité appropriées. Pour obtenir le spectre UV-VIS du composé étudié, il est préférable d'utiliser un spectrophotomètre à double faisceau, avec enregistreur. Un tel instrument doit avoir une précision photométrique de $\pm 0,02$ unités pour une absorbance de 0 à 2 unités. Il doit être capable d'enregistrer les absorbances à des longueurs d'onde de 200 à 750 nanomètres avec une précision sur la longueur d'onde de $\pm 0,5$ nm. Les cuves employées sur l'appareil doivent obligatoirement être transparentes sur ce domaine de longueur d'onde et leur épaisseur doit être déterminée à 1 % près. Afin de s'assurer que l'appareil fonctionne de façon satisfaisante, on doit périodiquement enregistrer les spectres de solutions de $K_2Cr_2O_7$ (pour la précision de l'absorbance) et d'un verre holmium (pour la précision de la longueur d'onde).

Dans l'éventualité où on ne dispose pas d'un spectrophotomètre à double faisceau avec enregistreur, il sera nécessaire de déterminer l'absorbance de la solution étudiée sur un appareil à faisceau unique à des intervalles de 5 nm sur toute l'échelle de longueur d'onde, et à des intervalles de 1 nm là où apparaissent les maxima d'absorbance. Des essais de longueurs d'onde et d'absorption doivent être réalisés comme sur un appareil à double faisceau.

B. MODE OPÉRATOIRE

- Préparations

Préparation des solutions d'essai

Les solutions doivent être préparées en pesant exactement une quantité appropriée de la substance à étudier, sous la forme la plus pure qu'on puisse trouver. Elles doivent être préparées à une concentration qui fournira au moins un maximum d'absorbance de 0,5 à 1,5 unités.

L'absorption d'un composé est due à sa forme chimique particulière. Il arrive souvent que des formes différentes soient présentes, selon que le milieu est acide, basique ou neutre. En conséquence, on doit réaliser les spectres dans ces trois conditions, quand la solubilité et la concentration le permettent. Quand il n'est pas possible d'obtenir des concentrations suffisantes dans un milieu aqueux quelconque, on doit utiliser un solvant organique approprié (de préférence le méthanol). Le milieu acide aura un pH inférieur à 2, et le pH du milieu basique sera d'au moins 10. Le solvant utilisé pour la solution neutre et pour préparer les solutions acides et basiques sera de l'eau distillée, transparente aux radiations ultraviolettes jusqu'à 200 nm. Si on doit utiliser du méthanol, les solutions acides et basiques peuvent être préparées en ajoutant 10 % en volume de HCl ou de NaOH en solution aqueuse ($C_{\text{HCl}}, \text{NaOH} = 1 \text{ mole/l}$).

En théorie, toutes les espèces chimiques, autres que celle qui doit être testée, sont présentes dans les deux faisceaux et elles n'apparaîtront donc pas sur l'enregistrement du spectre d'un appareil à double faisceau. En pratique, à cause du fait que le solvant est généralement présent en large excès, il existe une valeur limite de longueur d'onde en dessous de laquelle il n'est pas possible d'enregistrer le spectre du produit chimique à étudier. Cette longueur d'onde sera une propriété du solvant ou du milieu d'essai. En général, l'eau distillée est utile à partir de 200 nm (les ions dissous augmentent souvent cette valeur), le méthanol à partir de 210 nm, l'hexane à partir de 210 nm, l'acétonitrile à partir de 215 nm et le dichlorométhane à partir de 235 nm.

Solutions témoins

On doit préparer un blanc qui contient le solvant et toutes les espèces chimiques autres que celle à étudier. Le spectre d'absorption de cette solution doit être enregistré d'une façon identique à celle de la solution étudiée et, de préférence, sur le même graphique. Ce spectre « de base » ne doit jamais enregistrer une valeur d'absorbance variant de plus de $\pm 0,05$ de la valeur du zéro nominal.

Cuves

L'épaisseur des cuves varie habituellement de 0,1 cm à 10 cm. On doit choisir l'épaisseur des cuves de telle façon qu'elles permettent d'enregistrer au moins un maximum d'absorbance de 0,5 à 1,5 unités. Le choix de la série de cuves à utiliser sera gouverné par la concentration et

« Spectres d'Absorption UV-VIS »

l'absorbance de la solution à étudier comme cela est indiqué par la loi de Beer-Lambert. Les cuves doivent être transparentes dans la région du spectre enregistré, et on doit connaître leurs épaisseurs avec une précision d'au moins 1 %. Les cuves doivent être soigneusement nettoyées avec un produit approprié (l'acide chromique est utile pour les cuves en quartz) et elles doivent être rincées plusieurs fois avec la solution à étudier ou la solution témoin.

- Exécution de l'essai

Les deux cuves qui seront employées doivent être rincées avec la solution de blanc puis remplies avec cette solution. L'appareil doit être réglé pour un balayage à une vitesse appropriée à la résolution de la longueur d'onde demandée et on enregistre le spectre du blanc. La cuve à échantillon doit alors être rincée et remplie avec la solution à étudier et on répète la mesure, de préférence sur la même feuille d'enregistrement pour faire apparaître la ligne de base. L'essai doit être effectué à 25°C.

3. RÉSULTATS ET RAPPORT

- Calcul des résultats

Le coefficient d'absorption molaire ε doit être calculé pour tous les maxima d'absorbance de la substance étudiée. La formule à appliquer pour ce calcul est la suivante :

$$\varepsilon = \frac{A}{c_i \times d}$$

où les différents paramètres ont déjà été définis ci-dessus (voir le paragraphe : définitions et unités).

Pour chaque pic susceptible d'être résolu, soit par enregistrement soit par extrapolation de pics symétriques, on doit noter la largeur de la bande.

- Rapport

Le rapport doit contenir une copie de chacun des trois spectres, (enregistrés dans 3 conditions de pH différentes). Si on ne peut pas faire de solution dans l'eau ou dans le méthanol, il n'y aura qu'un seul spectre. Chaque spectre doit comporter une échelle de longueur d'onde lisible. Les conditions d'essai doivent être notées clairement sur chaque spectre.

Pour chaque maximum dans chacun des spectres on doit calculer et noter la valeur de ε et la largeur de la bande (quand cela est possible), ainsi que la longueur d'onde du maximum. Toutes ces valeurs doivent être reportées dans un tableau.

On doit noter les différentes conditions de l'essai, telles que la vitesse de balayage, le nom et le modèle du spectrophotomètre, la largeur de fente (quand elle est connue) le type et l'épaisseur de la cuve, les concentrations de la substance à tester ainsi que la nature et le pH du milieu de dissolution. On doit également fournir un spectre récent de substances étalons appropriées afin de vérifier la précision de la mesure photométrique et de la longueur d'onde (voir le paragraphe : reproductibilité et sensibilité).

4. BIBLIOGRAPHIE

1. G. Milazzo, S. Caroli, M. Palumbo-Doretti, N. Violante, *Anal. Chem.*, *49*, 711, (1977).
2. J.A.A. Ketelaar, *Photoelectric Spectrometry Group Bulletin* 8, Cambridge (1955).
3. Chemical Rubber Company, *Atlas of Spectral Data*, Clifford, Ohio.