La spectroscopie

I. Définition

- La spectroscopie ou spectrométrie est l’étude expérimentale du spectre d’un phénomène physique, c'est-à-dire de sa décomposition sur une échelle d'énergie, ou toute autre grandeur se ramenant à une énergie (fréquence, longueur d'onde, etc.).

- La spectrophotométrie est le domaine qui étudie la mesure de l'énergie transportée par les rayonnements électromagnétiques dans le domaine de la lumière visible.

- La spectrométrie, ou spectroscopie, est une méthode analytique quantitative et qualitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution.

Le mot *spectrophotomètre* est dérivé du latin ***spectrum***, qui signifie image, et du grec ***phos* ou photos**, qui signifie lumière.

Le spectrophotomètre est un des principaux appareils utilisés dans les domaines du diagnostic biologique et de la recherche.

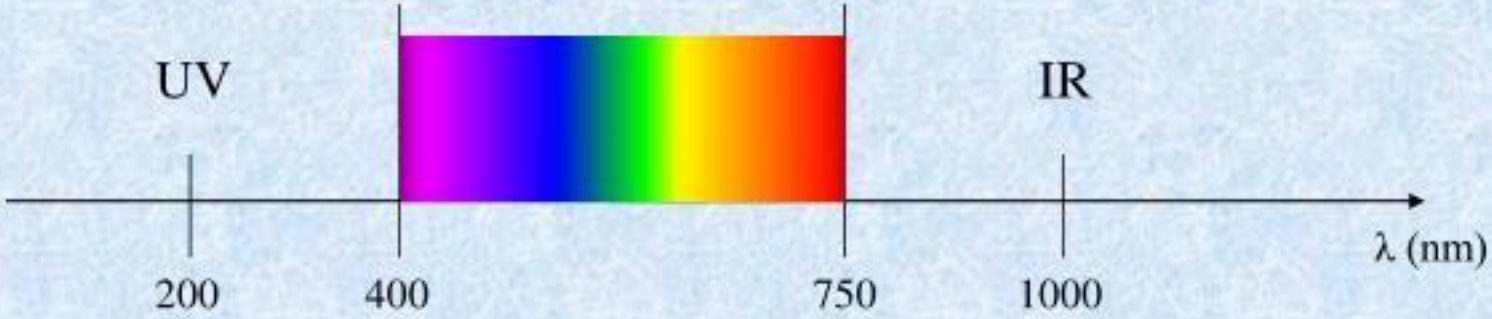
Il utilise les propriétés de la lumière et son interaction avec les substances. Le spectrophotomètre est utilisé au laboratoire pour le dosage des paramètres biochimiques tels que : glucose, créatinine, transaminases, …

II Rappels sur la lumière

La lumière est l'ensemble des **ondes électromagnétiques** (**radiations**) visibles par l'œil humain.

Une onde électromagnétique est caractérisée par sa **longueur d'onde λ**, exprimée en m.

La lumière visible est l'ensemble des radiations dont la longueur d'onde est comprise entre 400 et 800 nm (4.10^{-7} et 8.10^{-7} m) :



Une lumière est dite **monochromatique** lorsqu'elle est constituée d'une seule radiation lumineuse (donc d'une seule longueur d'onde).

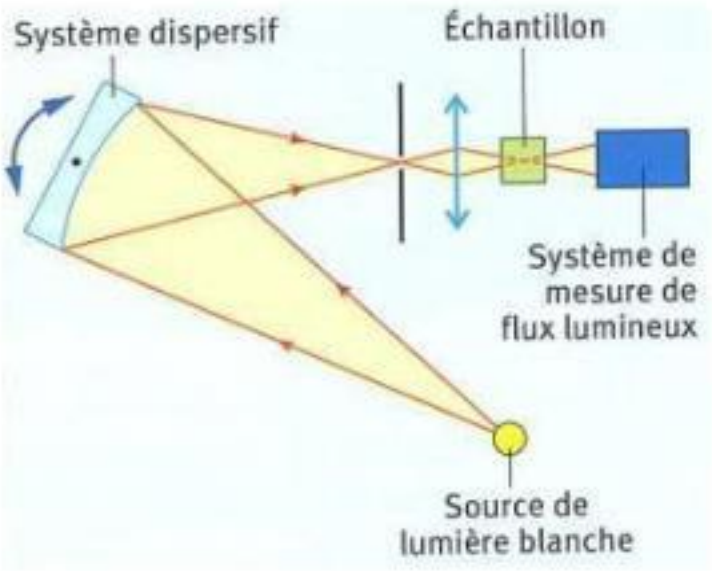
Une lumière est dite **polychromatique** lorsqu'elle est constituée de plusieurs radiations lumineuses (donc de plusieurs longueurs d'ondes).

II. Types de spectroscopie

- Spectroscopie d’émission atomique (EA).
- Spectroscopie d’absorption atomique (AA).
- Spectroscopie d’étincelle ou d’arc (émission).
- Visible / ultra violet (UV).
- Infrared (IR) infrarouge et proche (NIR).
- Résonance magnétique nucléaire (RMN).

Le spectrophotomètre

- Il est équipé d'un dispositif analysant le rayonnement entrant et sortant de la cellule.



Absorbance

- L'absorbance dépend de :

- la nature de la solution,
- de la concentration de l'entité chimique responsable de la couleur,
- de l'épaisseur de solution traversée et
- de la longueur d'onde du rayonnement incident

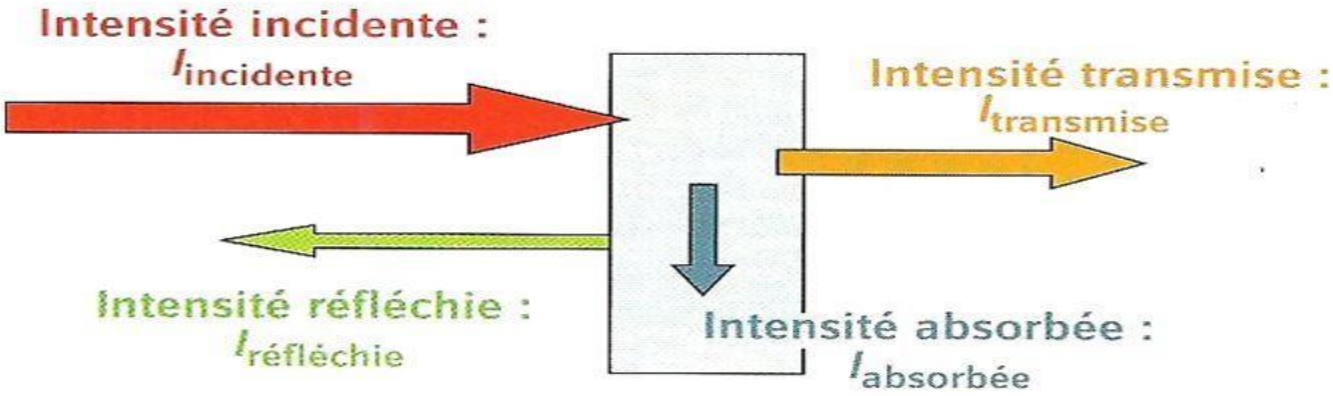
mesures

1-Choisir une longueur d'onde de travail la plus proche possible du maximum d'absorption *pour avoir la meilleure précision possible.*

2-Faire un « blanc » avec le solvant pour que la courbe d'étalonnage passe par zéro. *Cela revient à soustraire de chaque mesure d'absorbance la contribution des espèces autres que l'entité chimique responsable de la coloration.*

3-Mesurer l'absorbance à la longueur d'onde choisie de solutions de même nature et de concentrations différentes *pour dresser la courbe d'étalonnage reliant A et [espèce absorbante].*

4-Mesurer l'absorbance à la longueur d'onde choisie de la solution inconnue et en déduire sa concentration en espèce absorbante.



On peut définir les coefficients correspondants :

Coefficient de réflexion : $r = \frac{I_{réfléchie}}{I_{incidente}}$

Coefficient d'absorption : $a = \frac{I_{absorbée}}{I_{incidente}}$

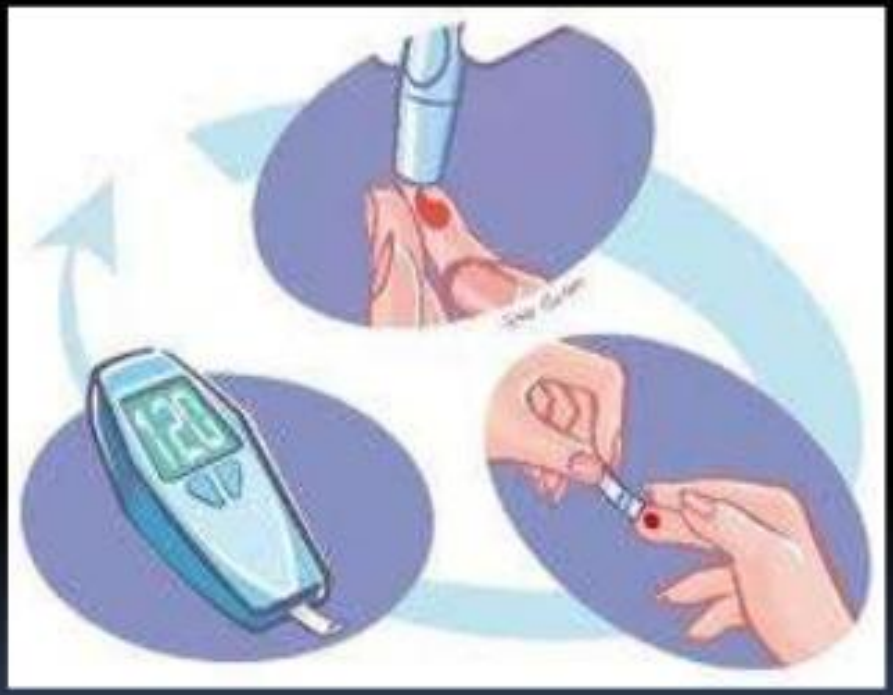
Coefficient de transmission : $t = \frac{I_{transmis}}{I_{incidente}}$

Lorsqu'une onde acoustique rencontre une paroi (changement de milieu de propagation), une partie de l'énergie transportée est **réfléchie**, une autre est **absorbée** par le matériau qui constitue la paroi et une dernière partie est **transmise**.

DOSAGE DE LA GLYCÉMIE

1. But :

- Diagnostic des anomalies du métabolisme glucidique.



2. Prélèvement :

- Le sang doit être prélevé en présence d'un inhibiteur de la glycolyse comme le fluorure de sodium, soit séparer rapidement les globules du plasma et conserver ce dernier à +4oc, soit pratiquer le dosage le plus vite possible (1 heure au maximum).
- Le prélèvement doit être fait dans la veine du pli du coude, avec un garrot modérément serré, le sujet doit être au repos et à jeun.

- La glycémie peut être aussi mesurée sur un prélèvement pratiqué à la suite d'un repas : glycémie post-prandiale.
- Il faut dans ce cas préciser le moment du prélèvement par rapport au début du repas (90 à 120 mn temps habituel).

3. Valeurs normales :

- (Sérum ou plasma)
- Glycémie à jeun : 0,70 à 1,05 gr/l (3,85 à 5,5 mmol/l)
- ✓ La glycémie à jeun s'abaisse physiologiquement au cours de la grossesse et ne s'élève pratiquement pas avec l'âge.