



HAL
open science

Discussion sur les limites de loi de Beer-Lambert

Jonathan Piard, Clément Doré, Jean-Pierre Placial

► **To cite this version:**

Jonathan Piard, Clément Doré, Jean-Pierre Placial. Discussion sur les limites de loi de Beer-Lambert. Le Bulletin de l'Union des Professeurs de Physique et de Chimie, 2022. <hal-03885627>

HAL Id: hal-03885627

<https://hal.science/hal-03885627v1>

Submitted on 5 Dec 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Discussion sur les limites de loi de Beer-Lambert

par Jonathan PIARD, Clément DORÉ

Département de chimie

ENS Paris-Saclay - 91190 Gif-sur-Yvette

jonathan.piard@ens-paris-saclay.fr

clement.dore@ens-paris-saclay.fr

et Jean-Pierre PLACIAL-MARZIN

Département de chimie

IUT de Rennes - 35000 Rennes

jean-pierre.placial-marzin@univ.rennes1.fr

DANS CET ARTICLE, nous proposons d'expliquer en détail les causes de la perte de linéarité de la loi de Beer-Lambert trop souvent attribuée à la formation d'agrégats et/ou à un développement linéaire non applicable. Nous démontrons à l'aide d'expériences simples que si la formation d'agrégats peut avoir effectivement lieu (mais dans de rares cas), les facteurs principaux sont souvent de types instrumentaux (notamment la sensibilité de détection, le taux de lumière parasite et la précision de la compensation du courant d'obscurité du spectrophotomètre utilisé). Pour le prouver, nous avons réalisé les spectres d'absorption de quarante solutions aqueuses de bleu brillant de concentrations croissantes (0 à $0,1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) sur quatre spectrophotomètres différents.

1. LOI DE BEER LAMBERT [1]

1.1. Énoncé

Lorsqu'un rayonnement électromagnétique de longueur d'onde λ et d'intensité incidente I_0 traverse une longueur l d'un milieu transparent (solide, liquide ou gazeux) constitué de n espèces absorbantes (à la longueur d'onde λ) de concentrations respectives C_i et de coefficients d'absorption molaire ϵ_i , l'intensité I_t du rayonnement transmis suit la loi de Beer-Lambert selon laquelle :

$$I_t(\lambda, l) = I_0(\lambda) 10^{-\sum_{i=0}^n \epsilon_i C_i l}.$$

Cette dernière équation devient si l'on introduit l'absorbance $A^{(1)}$:

$$A = \sum_{i=0}^n \epsilon_i C_i l.$$

La loi de Beer-Lambert est souvent utilisée pour des rayonnements UV et visible, mais s'avère aussi valable pour des rayonnements IR et X voire Gamma et micro-onde.

(1) $A = \log\left(\frac{I_0(\lambda)}{I(\lambda, l)}\right)$.

Il apparaît donc que l'absorbance d'un échantillon dépend du coefficient d'absorption molaire ε (en $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$), du trajet optique l (en cm) et de la concentration en espèce absorbante (en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). Les unités détaillées précédemment sont celles généralement utilisées « par commodité »⁽²⁾, mais d'autres unités sont possibles. Dans les unités SI (système international), le coefficient d'absorption molaire devrait avoir comme unité les $\text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$.

Remarques

- ◆ Le coefficient d'absorption molaire ε a longtemps été nommé coefficient d'extinction molaire, car lorsque l'échantillon est un système dispersé [2] (suspension colloïdale, émulsion...) d'apparence homogène, le spectre enregistré à l'aide d'un spectrophotomètre tient compte à la fois de l'absorbance, mais aussi de la diffusion de la lumière. Le spectre issu de la somme des phénomènes d'absorption et de diffusion est appelé spectre d'extinction. Sachant que l'une des conditions de validité de la loi de Beer-Lambert est que le milieu soit homogène, il s'avère impossible de l'appliquer en toute rigueur dans le cas de ces systèmes (sauf si le phénomène de diffusion s'avère négligeable). La notion de coefficient d'extinction molaire n'a donc plus de sens...
- ◆ L'établissement théorique de la loi de Beer-Lambert est disponible en annexe⁽³⁾.

1.2. Limites de la loi de Beer-Lambert

La loi de Beer-Lambert établie précédemment n'est valable que dans un cadre bien strict. En effet, cette relation n'est valide que si :

- ◆ le faisceau lumineux est monochromatique ;
- ◆ le milieu traversé est homogène ;
- ◆ le milieu traversé est isotrope (invariance des propriétés physiques d'un milieu en fonction de la direction) ;
- ◆ le milieu traversé est transparent (*i.e.* pas de phénomènes de diffusion).

Par ailleurs, cette loi met en avant une dépendance linéaire de l'absorbance avec le coefficient d'absorption molaire ε . Cette relation dépend donc des paramètres influençant ε et n'est donc valable que :

- ◆ pour une molécule donnée en solution dans un milieu donné (pH, solvant, force ionique, espèces environnantes...) ;
- ◆ à une longueur d'onde donnée (bien choisie).

(2) En effet les cuves spectrophotométriques possèdent généralement une épaisseur de 1 cm et cela rend la manipulation des valeurs de coefficients d'absorption molaire plus aisée. L'utilisation des unités SI (système international) conduit à diviser les coefficients d'absorption molaire usuels par 100 000.

(3) Toutes les annexes sont disponibles sur le site de l'UdPPC.

Finalement, pour que cette loi soit valable, il est nécessaire que les molécules absorbent la lumière de manière indépendante ce qui suggère que l'absorbance ne soit pas démesurément élevée. Il n'existe en revanche aucune valeur seuil d'absorbance dans la mesure où l'absorbance dépend à la fois de la concentration et du coefficient d'absorption molaire. La valeur de 1 souvent évoquée n'a donc aucun fondement scientifique et nous verrons dans la suite que cela peut être montré expérimentalement (cf. paragraphe 3.).

La formation d'agrégats est souvent évoquée comme cause entraînant une perte de linéarité. Plusieurs cas sont à distinguer. Dans le cas où il y a formation d'agrégats à partir d'une certaine concentration limite, on observe en effet une perte de la linéarité (cf. figure 1A) : la concentration limite est propre à une espèce et ne peut donc pas être généralisée. Dans le cas où la formation d'agrégats (respectivement dimère) a lieu pour une concentration limite très faible alors on observe une relation de linéarité, mais le coefficient d'absorption molaire ϵ n'est plus celui de la molécule seule, mais des agrégats (respectivement dimère). Ceci implique alors que les conditions d'agrégation n'évoluent pas avec la concentration. Si tel n'est pas le cas et que par exemple la proportion de dimère et monomère évolue avec la concentration, il n'y a alors plus de relation linéaire entre A et C (absence de linéarité). Dans le cas de la figure 1B, la proportion de dimère augmente par exemple avec la concentration et celui-ci possède un coefficient d'absorption plus faible que le monomère.

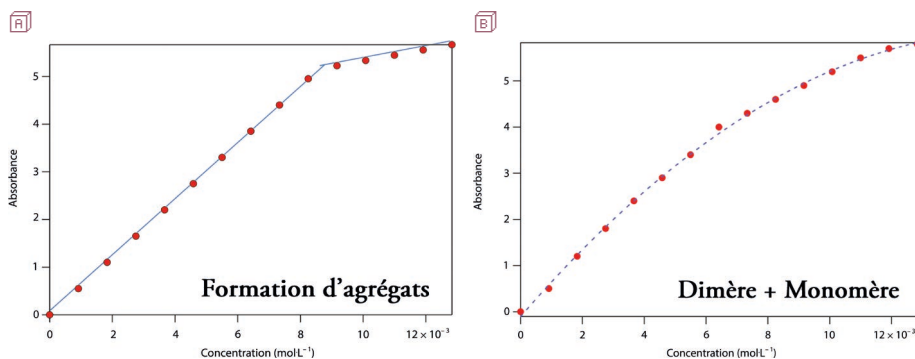


Figure 1 - Cas théoriques. **A**) Formation d'agrégats à partir d'une certaine concentration - **B**) Formation de dimère même à très basses concentrations [1].

Dans la plupart des cas rencontrés en travaux pratiques, si agrégation il y a, celle-ci s'opère à une concentration limite assez élevée et des facteurs instrumentaux comme la sensibilité de détection du détecteur, le taux de lumière parasite et le courant d'obscurité du spectrophotomètre s'avèrent être les facteurs limitants prépondérants (cf. paragraphe 3.).

Remarques

- ◆ Il est également évident que cette loi ne peut s'appliquer que si la concentration des espèces en présence n'évolue pas dans le temps (absence de réaction chimique ou photochimique). Les espèces absorbantes doivent donc être non photosensibles et ne pas réagir avec le milieu environnant.
- ◆ Il est souvent évoqué que la loi de Beer-Lambert ne peut être utilisée dans le cas d'espèces fluorescentes ce qui sous-entend que la lumière issue de l'émission vient perturber la mesure. En pratique, l'émission de fluorescence n'a aucune incidence sur le signal mesuré par le détecteur pour plusieurs raisons : le rayon incident I_0 est de faible intensité, la fluorescence est isotrope et l'angle solide sondé par le détecteur est très faible. Il en résulte que très peu de photons issus de l'émission de fluorescence sont détectés en comparaison des photons issus du faisceau transmis.

2. NOTION DE TAUX DE LUMIÈRE PARASITE ET COURANT D'OBSCURITÉ [1]

2.1. Taux de lumière parasite [1]

Lors du processus de sélection de la longueur d'onde par les monochromateurs, un recouvrement entre les ordres 1 et 2 du réseau peut avoir lieu, et de la lumière peut aussi être renvoyée par le réseau du fait d'impuretés ou d'imprécisions de fabrication dans ses traits ou facettes. Le faisceau n'est alors pas purement monochromatique et constitué d'autres longueurs d'onde que celle d'intérêt. Cette lumière est qualifiée de parasite, car d'intensité relativement faible. On définit le taux de lumière parasite comme le pourcentage de lumière incidente passant à travers l'échantillon à la longueur d'onde d'étude. Ainsi, s'il y a par exemple 1 % de lumière parasite, lorsque l'échantillon est très concentré et supposé absorber tout le faisceau à la longueur d'onde d'intérêt, seul 99 % du faisceau est réellement absorbé. 1 % du faisceau incident passe à travers l'échantillon sans être absorbé et arrive jusqu'au détecteur. Ce dernier détecte des photons et génère donc un signal électrique indépendamment de la longueur d'intérêt. Il apparaît de plus que tant que la lumière transmise est comprise entre 90 et 100 % du faisceau incident (*i.e.* une concentration en espèce et une absorbance à la longueur d'onde d'intérêt faibles), l'influence de la lumière parasite peut être considérée comme négligeable. Toutefois, celle-ci devient importante, voire prépondérante, au fur et à mesure que la concentration augmente.

La valeur de ce pourcentage de lumière parasite donne donc une information importante sur l'efficacité de la sélection spectrale à l'issue du passage du faisceau polychromatique par le monochromateur. Les spectrophotomètres à double monochromateur présentent naturellement un taux de lumière parasite plus faible que ceux munis d'un simple monochromateur.

Expérimentalement, ce taux de lumière parasite peut être déterminé en effectuant une gamme de concentration pour une espèce et en évaluant l'absorbance maximale au-dessus de laquelle l'appareil ne peut pas monter. En effet, pour des solutions très absorbantes, la lumière parasite devient prépondérante devant la lumière transmise (qui est faible). Dans le cas d'une lumière parasite de 1 %, l'absorbance maximale qu'il est possible d'atteindre est alors de :

$$A = \log \left(\frac{I_0(\lambda)}{I_t(\lambda, 1)} \right) = \log \left(\frac{I_0(\lambda)}{I_0(\lambda)} \times 100 \right) = 2.$$

En théorie, si un spectrophotomètre est muni d'un double monochromateur, lorsque le premier monochromateur laisse passer 1 % de lumière parasite, le deuxième (généralement identique au premier) laisse à son tour passer 1 %. Au final, le taux de lumière parasite est de 0,01 % et l'absorbance théorique devrait être de 4.

2.2. Courant d'obscurité

Le courant d'obscurité correspond à la réponse du détecteur en l'absence de lumière c'est-à-dire lorsque celui-ci est plongé dans le noir. Ce réglage important est généralement effectué en usine sur tous les spectrophotomètres, mais certains spectrophotomètres sont également munis d'une mesure automatique. Ce réglage est important et doit être effectué avec une grande précision. En effet, par exemple si le détecteur mesure 100 mV dans le noir, le spectrophotomètre doit afficher 0 % en transmission. Si le réglage est peu précis et ajusté par exemple à 110 mV au lieu de 100 mV, alors lorsque l'absorbance augmente et que le détecteur baisse pour atteindre 100 mV, le spectrophotomètre interprète un 0 % en transmission alors que ce n'est pas le cas. Il faudrait en réalité une absorbance beaucoup plus élevée pour obtenir le niveau d'absorbance annoncé par le spectrophotomètre. La mesure est faussée et cela conduit à des effets de non-linéarité non désirables, pouvant être orientés aussi bien vers le haut que vers le bas.

2.3. Description des spectrophotomètres utilisés

Pour cette étude, quatre spectrophotomètres ayant des caractéristiques différentes ont été utilisés :

- ◆ un spectrophotomètre à fibre optique SPID fourni par ULICE ;
- ◆ un spectrophotomètre mono-faisceau Libra S12 Biochrom fourni par Serlabo.
- ◆ un spectrophotomètre double faisceau UVmc² fourni par SAFAS (Société anonyme

- de fabrication d'appareils scientifiques) de très grande qualité pour l'enseignement⁽⁴⁾ ;
- ◆ un spectrophotomètre double faisceau Cary 5000 fourni par Agilent Technologies de qualité recherche. Ce modèle est de plus muni d'un double monochromateur réduisant le taux de lumière parasite.

L'ensemble des caractéristiques des spectrophotomètres UV-Visible sont mentionnées dans l'annexe disponible sur le site de l'UdPPC. Plus d'informations sur les différents constituants d'un spectrophotomètre UV-Visible (source, monochromateur et détecteur) et les notions de double monochromateur et double faisceau sont données également en annexe et dans les références [1, 3-4].

3. MISE EN ÉVIDENCE EXPÉRIMENTALE DES LIMITES INSTRUMENTALES DE LA LOI DE BEER-LAMBERT

3.1. Molécule choisie

La molécule choisie pour cette étude est le bleu brillant FCF (E133) de formule brute $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$ (cf. figure 2). Ce colorant a remplacé le bleu de patenté (E131) qui est aujourd'hui suspecté d'être faiblement cancérigène dans les sirops de menthe. Sa masse molaire est de $792,848 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$.

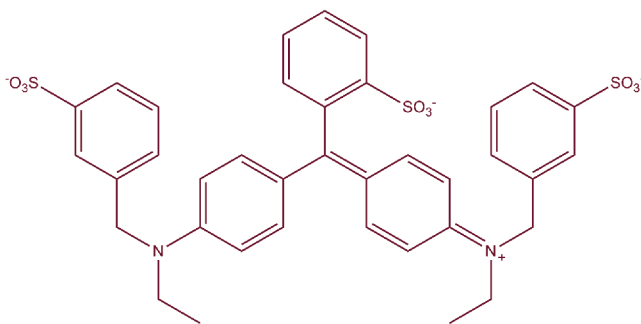


Figure 2 - Structure du bleu brillant.

- (4) Il est à noter que cet appareil est également très utilisé dans des laboratoires de recherche académiques et privés de recherche (groupes pharmaceutiques, chimiques et pétrochimiques, hôpitaux, CEA (Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives), centres INSERM (Institut national de la santé et de la recherche médicale), CNRS (Centre national de la recherche scientifique), INRA (Institut national de la recherche agronomique), laboratoires gouvernementaux...). Toutefois dans le cadre de cet article celui-ci sera vu comme un spectrophotomètre de très grande qualité à un prix accessible pour l'enseignement. De nombreux lycées, universités ou écoles d'ingénieurs disposent de celui-ci pour des utilisations pédagogiques.

3.2. Mode opératoire

3.2.1. Produits

Bleu brillant FCF ou Acid Blue 9 (CAS n° 3844-45-9) ♦ Eau distillée.

3.2.2. Matériels

Quatre spectrophotomètres de caractéristiques différentes ♦ Cuves en plastique ♦ Une fiole jaugée de 1 L ♦ Une quarantaine de fioles jaugées de 10 mL ou cuve ♦ Micropipette de 1-5 mL ♦ Une fiole jaugée de 100 mL ♦ Balance de précision.

3.2.3. Expérience

Des facteurs instrumentaux (sensibilité du détecteur, taux de lumière parasite et courant d'obscurité) relatifs à la qualité du spectrophotomètre peuvent induire une perte de la linéarité. Pour de fortes absorbances du milieu, le détecteur n'arrive pas à collecter suffisamment de photons (on parle à tort de saturation du détecteur alors qu'il s'agit d'une saturation du signal d'absorbance). Pour s'en convaincre, une gamme de concentration la plus large possible de bleu brillant est successivement enregistrée sur les quatre spectrophotomètres décrits plus haut (cf. sous-paragraphe 2.3).

Préparer 1 L de solution à $0,10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ en plaçant 0,10 g de bleu brillant dans une fiole jaugée de 1 L et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée⁽⁵⁾. Cette solution est notée S_0 . Effectuer ensuite une dilution par dix de S_0 en prélevant 10 mL de S_0 à l'aide d'une pipette jaugée et les placer dans une fiole jaugée de 100 mL. Compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée pour obtenir une solution S_1 de concentration $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Répéter cette manipulation à partir de S_1 pour obtenir S_2 de concentration $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. À partir de ces solutions, il est alors possible d'obtenir une gamme de concentration (quarante solutions dans notre cas). Une image de cette gamme est donnée sur la figure 3.

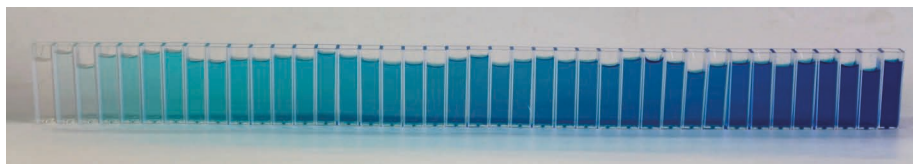


Figure 3 - Gamme de concentration en bleu brillant (enregistrée sur quatre spectrophotomètres).

(5) La préparation d'un volume plus faible peut également être effectuée en réalisant 100 mL d'une solution à $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (0,1 g dans 100 mL) et en diluant cette solution par dix par la suite.

Le principe de préparation de ces quarante solutions est explicité sur la figure 4.

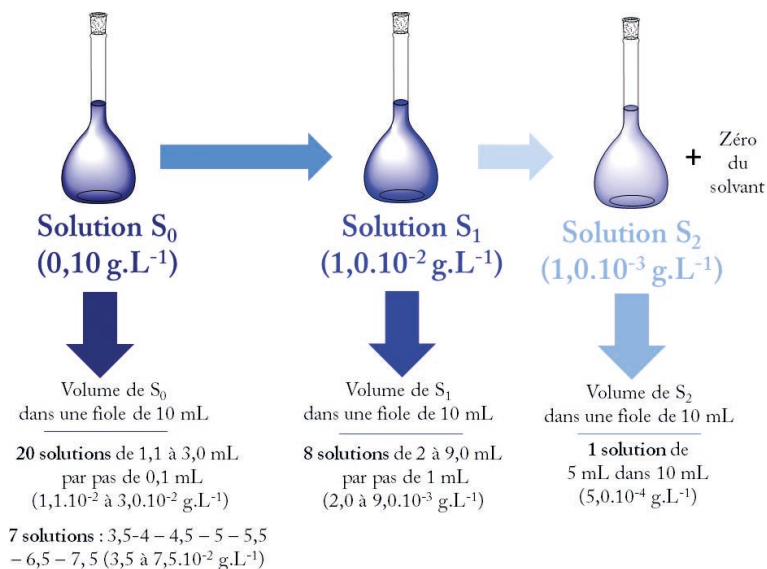


Figure 4 - Principe de préparation des quarante solutions de bleu brillant à différentes concentrations.

3.2.4. Résultats

Les spectres d'absorption de ces quarante solutions de bleu brillant sont alors enregistrés entre 400 et 800 nm au moyen des quatre spectrophotomètres détaillés au sous-paragraphe 2.3. Les résultats sont exposés en figure 5 (cf. page ci-contre). Nous nous sommes ensuite placés au maximum d'absorption (630 nm) afin de tracer une courbe d'étalonnage pour chacun des spectrophotomètres et ainsi vérifier la loi de Beer-Lambert. Les résultats sont détaillés en figure 6 (cf. page ci-contre).

3.2.4.1. Précision sur le courant d'obscurité

La figure 6 (cf. page ci-contre) montre que pour la plupart des spectrophotomètres, les courbes présentent un domaine de linéarité suivi d'une asymptote horizontale. Seul le spectrophotomètre double faisceau « Recherche » fait défaut à cette description, car pour des valeurs de concentrations supérieures à $4,5 \cdot 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, l'appareil indique une absorbance de 10 totalement incohérente avec les autres valeurs d'absorbance. De plus, il est physiquement impossible d'observer une inversion de la courbe de linéarité comme détaillée sur la figure 6 (cf. page ci-contre) pour des absorbances supérieures à 4,4. Ainsi, à partir d'un certain niveau d'absorbance, celle-ci doit physiquement s'écarter de la droite théorique par le dessous et présenter une asymptote

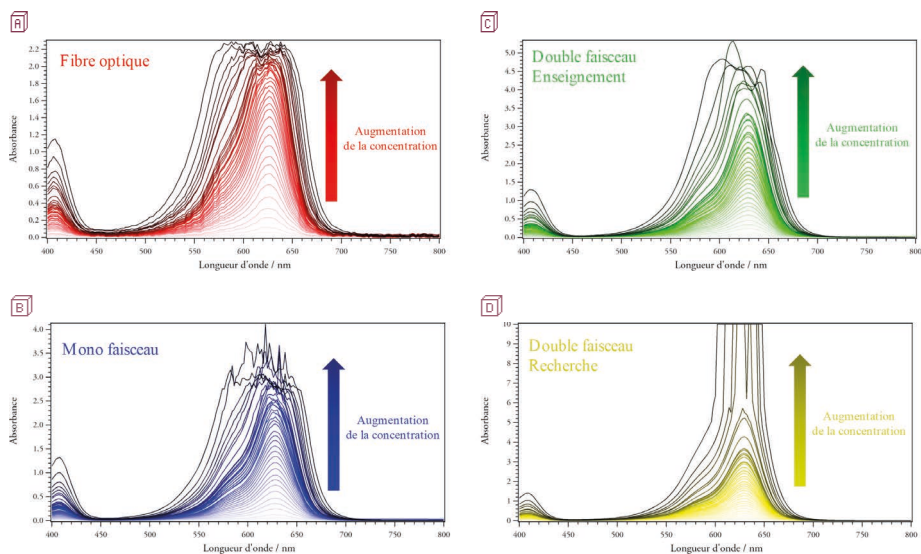


Figure 5 - Spectres d'absorption pour les quarante solutions de bleu brillant enregistrés à l'aide a d'une fibre optique - b d'un mono faisceau - c d'un double faisceau « Enseignement » - d d'un double faisceau « Recherche ».

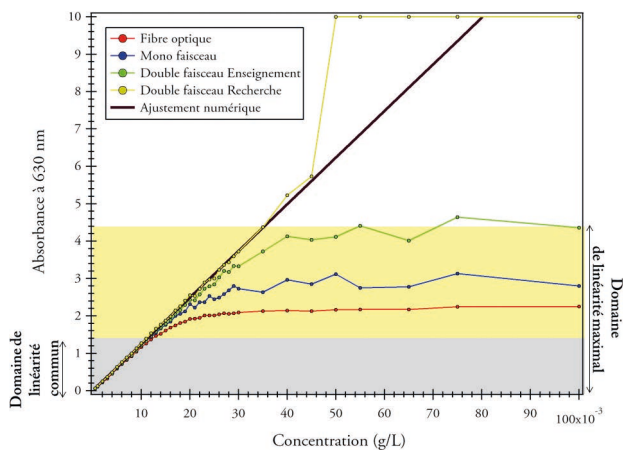


Figure 6 - Droite d'étalonnage à 630 nm dans le cas des quatre spectrophotomètres et ajustement numérique [1].

comme c'est le cas pour les trois autres spectrophotomètres. Ce comportement, ainsi que l'allure des spectres (étroits et pointus et parfois tirés vers le haut pour de fortes absorbances) peuvent être attribués à une imprécision sur le courant d'obscurité, ou une correction de non-linéarité.

3.2.4.2. Taux de lumière parasite

La figure 6 (cf. page précédente) montre que pour plusieurs spectromètres, il existe une valeur maximale que le spectrophotomètre ne peut pas dépasser. Comme explicité précédemment (cf. sous-paragraphe 2.1.), cette valeur est imputable au taux de lumière parasite. À partir des courbes de linéarité de la figure 6 (cf. page précédente), il est possible de déterminer la valeur maximale d'absorbance pouvant être atteinte en évaluant grâce à une régression linéaire sur les quatre derniers points correspondants aux concentrations les plus élevées. Connaissant cette valeur, il est alors possible de revenir au taux de lumière parasite, car :

$$A = \log\left(\frac{I_0(\lambda)}{I(\lambda, l)}\right) = -\log\left(\frac{I(\lambda, l)}{I_0(\lambda)}\right)$$

$$\frac{I(\lambda, l)}{I_0(\lambda)} = 10^{-A}$$

$$\text{Taux de lumière parasite (en \%)} = \frac{I(\lambda, l)}{100 \times I_0(\lambda)} = 10^{-(A-2)}.$$

Les résultats sont donnés dans le tableau 1. Cette analyse est en revanche impossible dans le cas du spectrophotomètre double faisceau « Recherche » pour les raisons détaillées précédemment.

Nom	Fibre optique	Mono faisceau	Double faisceau « Enseignement »	Double faisceau « Recherche »
Marque	Ulice	Serlabo	Safas	Agilent
Modèle	SPID	Libra S12	UVmc ²	Cary 5000
Absorbance maximale	2,1	2,8	4,2	Non mesurable (saturation)
Taux de lumière parasite à 630 nm (%)	0,79	0,15	0,0063	Non calculable

Tableau 1 - Valeur de l'absorbance maximale atteignable et du taux de lumière parasite à 630 nm pour les différents spectrophotomètres.

On note alors que le spectrophotomètre double faisceau « Enseignement » est celui qui présente le taux de lumière parasite le plus faible avec une valeur de 0,0063 %. Cette valeur très faible obtenue grâce à un monochromateur de type Seya-Namioka corrigé à très faible taux de lumière parasite permet ainsi de mesurer des absorbances relativement élevées allant jusqu'à 4,2. Cette valeur de taux de lumière parasite est

respectivement vingt-quatre et cent vingt-cinq fois inférieure à celle obtenue pour les spectrophotomètres mono faisceau et fibre optique. Ceci conduit à des valeurs d'absorbance maximales pour ces deux derniers appareils respectivement de 2,8 et 2,1.

Remarque : Pour le spectrophotomètre double faisceau « Recherche », le taux de lumière parasite devrait être inférieur à celui du double faisceau « Enseignement », car il est muni d'un double monochromateur.

3.2.4.3. Sensibilité de détection

Le spectrophotomètre double faisceau « Recherche » est muni d'un photomultiplicateur alors que les spectrophotomètres double faisceau « Enseignement » et mono faisceau sont quant à eux munis de photodiodes. La sensibilité du détecteur est donc supérieure dans le cas du spectrophotomètre double faisceau « Recherche » ce qui permettrait en théorie de détecter des photons avec plus de précision pour des absorbances très élevées (typiquement $> 5 \text{ A}$) et donc des signaux faibles (faible nombre de photons), si toutefois d'autres défauts majeurs n'empêchaient pas d'exploiter cette zone. Plus le détecteur est sensible plus il permet de compenser l'instabilité qui augmente très logiquement avec l'absorbance du fait de la loi logarithmique. Dans le cas du spectrophotomètre à fibre optique, le détecteur est de type CCD ce qui explique qu'il ne puisse pas détecter de signal fiable pour de hautes absorbances.

3.2.4.4. Domaine de linéarité

Pour évaluer le domaine de linéarité maximal atteignable à l'aide de ces spectrophotomètres, un ajustement numérique a été réalisé sur le spectrophotomètre double faisceau pour des concentrations allant de 0 à $4,5 \cdot 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Cet ajustement correspond à la droite noire de la figure 6 (cf. pages précédentes). Cette droite de linéarité est une droite théorique, et les courbes des spectrophotomètres la suivraient parfaitement s'ils avaient un faisceau parfaitement monochromatique (donc un taux de lumière parasite de 0 %), un détecteur capable de mesurer les signaux extrêmement faibles et un réglage de courant d'obscurité de détecteur précis.

On note alors qu'il existe un domaine de linéarité commun à l'ensemble des spectrophotomètres entre des absorbances allant de 0 à 1,4 environ. Toutefois pour des valeurs supérieures à 1,4, il apparaît que l'absorbance n'est plus linéaire pour le spectrophotomètre à fibre optique. Un début de perte de linéarité similaire est observé à 2,0 et 2,8 respectivement pour les spectrophotomètres mono faisceau et double faisceau enseignement. En revanche, pour le spectrophotomètre « Recherche », la perte de linéarité s'opère pour une absorbance d'environ 4,4. Ces résultats sont résumés dans la figure 7 (cf. page ci-après). Il s'avère donc que le domaine de linéarité entre l'absorbance et la concentration s'étend de 0 à 4,4 en absorbance dans le cas du spectrophotomètre double faisceau « Recherche ».

L'appréciation de la « zone de perte de linéarité » est très subjective, et très difficile à estimer à l'œil en raison de l'effet logarithmique des absorbances et de notre tendance à visualiser le début de non-linéarité à partir d'un même écart de la droite noire au lieu de tenir compte de l'expansion d'échelle. Les valeurs données précédemment sont néanmoins cohérentes avec les valeurs de taux de lumière parasite. En effet, la zone de début de perte de linéarité se situe à chaque fois aux alentours de 30 % en dessous de l'asymptote : 33 % pour le double faisceau « Enseignement », 29 % pour le mono faisceau et 30 % pour le spectrophotomètre à fibre optique.



Figure 7 - Domaine de linéarité entre l'absorbance et la concentration pour les quatre spectrophotomètres à 630 nm dans le cas du bleu brillant [1].

Il apparaît alors que les pertes de linéarité et les domaines de linéarité plus ou moins restreints observés pour chacun des spectrophotomètres ne peuvent s'interpréter comme le fait que les molécules n'absorbent plus la lumière de manière indépendante. En effet, le domaine de linéarité observé est directement lié à la qualité de l'instrument, et en particulier à son taux de lumière parasite, à la sensibilité de son détecteur (et de son traitement du signal), ainsi qu'à la précision de son réglage de courant d'obscurité. Plus le spectrophotomètre est performant, plus les trois facteurs précédents sont supposés être de qualité, et plus le domaine de linéarité entre l'absorbance et la concentration sera important.

L'observation de domaine de linéarité différent pour chacun des spectrophotomètres est une preuve expérimentale (s'il y en avait besoin) du non-sens scientifique d'invoquer une perte de linéarité liée à un développement linéaire non applicable ou à la formation d'agrégats dans le cas du bleu brillant.

3.2.5. Perspectives

Il est important de préciser que cette étude a été réalisée avec un composé donné (le bleu brillant en l'occurrence ici), mais qu'il n'est pas exclu que certains composés à partir d'une certaine concentration forment des agrégats ou des dimères (comme explicité plus haut). Par ailleurs, cette étude n'a été réalisée que sur une plage de

longueur d'onde allant de 600 à 650 nm et donc que cette étude devrait être effectuée avec d'autres composés pour être capable de juger des domaines de linéarité des spectrophotomètres sur une plage de longueur d'onde plus grande. En effet, la sensibilité du détecteur n'est pas la même suivant les différentes longueurs d'onde et la(es) source(s) lumineuse(s) (lampe W/halogène pour le Visible et Deutérium pour l'UV) ne possèdent pas une émission homogène sur toute la gamme de longueurs d'onde. Ces deux raisons entraînent une différence de domaines de linéarité pour chacune des longueurs d'onde.

CONCLUSION

Cette étude permet de montrer que les causes de la perte de linéarité souvent observée pour des concentrations élevées en TP est généralement attribuable à la sensibilité de détection du spectrophotomètre, à son taux de lumière parasite et à la précision de son courant d'obscurité, et non comme souvent expliqué à la formation d'agrégats et/ou un développement linéaire non applicable (qui résulterait de molécules n'absorbant pas de manière indépendante la lumière). En effet, à partir d'une certaine absorbance, la qualité de la détection devient essentielle en présence de peu de photons, et en fonction de la qualité optique du monochromateur la lumière parasite devient prépondérante et limite l'absorbance pouvant être atteinte. De plus, toute imprécision de courant d'obscurité de l'instrument ou correction artificielle de non-linéarité devient délétère et peut provoquer des inversions de non-linéarités, des déformations de spectres et saturations des absorbances à partir d'un certain niveau de concentration. Le domaine de linéarité mais aussi celui d'exploitabilité des mesures dépendent donc intrinsèquement de la qualité du spectrophotomètre utilisé.

BIBLIOGRAPHIE ET NETOGRAPHIE

- [1] J. Piard, *Chimie générale expérimentale*, De Bœck Supérieur, 2018.
- [2] J. Piard, «Des systèmes dispersés dans nos assiettes : une étude au microscope optique», *Bull. Un. Prof. Phys. Chim.*, vol. 106, n° 948, p. 1089-1102, novembre 2012.
- [3] J. Delaire, J. Piard, R. Méallet-Renault et G. Clavier, *Photophysique et photochimie : des fondements aux applications*, Éditions EDP Sciences, 2016.
- [4] Molecular Spectroscopy Q&A :
<https://www.ssi.shimadzu.com/products/uv-vis-spectrophotometers/faqs/instrument-design.html>

Complément de l'article

Cet article comporte un complément nommé :

◆ *Annexe.docx*

Il est disponible sur le site de l'UdPPC sous la forme d'un fichier zippé 10481043.



Jonathan PIARD

Professeur agrégé (PrAg)
Département de chimie
École normale supérieure Paris-Saclay
Gif-sur-Yvette (Essonne)



Clément DORÉ

Technicien
Département de chimie
École normale supérieure Paris-Saclay
Gif-sur-Yvette (Essonne)



Jean-Pierre PLACIAL-MARZIN

Professeur agrégé (PrAg)
Département de chimie
Institut universitaire de technologie (IUT) de Rennes
Rennes (Ille-et-Vilaine)