



HAL
open science

L'absorbance : comment rendre sa compréhension plus lumineuse aux yeux des apprenant•es

Jonathan Piard, Jérôme Randon

► To cite this version:

Jonathan Piard, Jérôme Randon. L'absorbance : comment rendre sa compréhension plus lumineuse aux yeux des apprenant•es. Le Bulletin de l'Union des Professeurs de Physique et de Chimie, 2021. hal-03929595

HAL Id: hal-03929595

<https://hal.science/hal-03929595v1>

Submitted on 12 Apr 2023

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.

L'absorbance : comment rendre sa compréhension plus lumineuse aux yeux des apprenant-es

par **Jonathan PIARD**

Département de chimie

ENS Paris-Saclay - 91190 Gif-sur-Yvette

jonathan.piard@ens-paris-saclay.fr

et **Jérôme RANDON**

Université de Lyon - CNRS - Université Claude Bernard Lyon 1

Institut des sciences analytiques (UMR 5280) - 69100 Villeurbanne

jerome.randon@univ-lyon1.fr

DANS CET ARTICLE, nous proposons de revenir sur la définition de l'absorbance et de discuter notamment des imprécisions (voire incompréhensions) que peut induire l'illustration la plus communément utilisée dans la littérature pour introduire cette notion. Pour remédier à celles-ci, nous proposons dans cet article de détailler pourquoi il est nécessaire de prendre en compte toutes les contributions à l'absorbance et comment est réalisée la mesure expérimentale de cette dernière. Le principe des mesures dans le cas des spectrophotomètres simple et double faisceaux est exposé ainsi que les conditions opératoires optimales dans chacun des cas. La dernière partie est consacrée à l'analyse de la contribution des cuves et des solvants lors de l'enregistrement d'un spectre d'absorption.

1. L'ABSORBANCE : LA NÉCESSAIRE PRISE EN COMPTE DE TOUTES LES CONTRIBUTIONS

1.1. De la définition à la mesure

Lorsqu'un rayonnement électromagnétique de longueur d'onde $\lambda^{(1)}$ et d'intensité incidente I_0 traverse une longueur l d'un milieu transparent (solide, liquide ou gazeux) constitué d'espèces absorbantes (à la longueur d'onde λ), celui-ci est atténué et l'intensité du rayonnement électromagnétique transmis d'intensité I_t est inférieure à I_0 . Cette atténuation peut être quantifiée grâce à l'introduction des notions de transmittance (T fraction du rayonnement incident transmise par l'échantillon) ou d'absorbance⁽²⁾ (A

(1) La longueur d'onde dépend de la célérité c (vitesse de propagation) car $\lambda = c/f$. Par conséquent celle-ci dépend du milieu de propagation au contraire de la fréquence de l'onde f .

(2) L'atténuation de l'intensité du faisceau est exponentielle (cf. sous-paragraphe 1.2.) d'où l'intérêt de prendre le logarithme pour l'expression de l'absorbance et ainsi d'obtenir une loi linéaire plus facilement manipulable.

appelée aussi densité optique) pour lesquelles :

$$T = \frac{I_t}{I_0} ; A = -\log T = \log \frac{I_0}{I_t}.$$

Le schéma de principe d'un spectrophotomètre qui permet de déterminer ces grandeurs est présenté sur la figure 1. Un spectrophotomètre est constitué d'une lampe polychromatique dont le faisceau est dirigé vers un monochromateur qui sélectionne une longueur d'onde λ . Un faisceau (quasi)-monochromatique est ainsi généré. Celui-ci passe ensuite par l'échantillon où il est plus ou moins absorbé. Le faisceau transmis est finalement envoyé sur un détecteur puis le signal est traité par informatique. Plus d'informations sur les différents constituants d'un spectrophotomètre UV-Visible (source, monochromateur et détecteur) et les notions de doubles monochromateurs et double faisceau sont données dans les références [1-4].

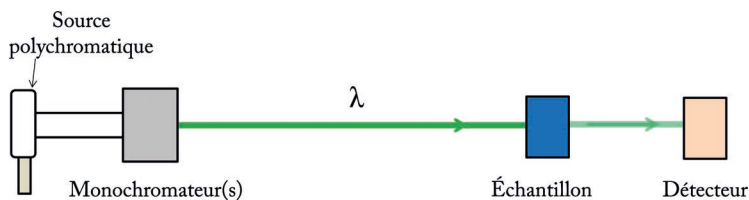


Figure 1 - Schéma général d'un spectrophotomètre UV-Visible (cas de la sélection d'une longueur d'onde dans le vert) [1, 3-4].

Pour mieux faire retenir et comprendre les définitions de l'absorbance et de la transmittance, les enseignant-es proposent souvent une représentation visuelle comme celle donnée sur la figure 2.

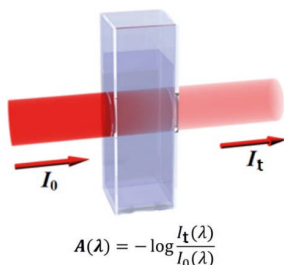


Figure 2 - Illustration classique de la notion d'absorbance.

Si cette représentation est en tout point fidèle à la définition de l'absorbance, elle sous-entend souvent pour les apprenant-es que cette configuration permet d'avoir accès directement à l'absorbance de l'espèce d'intérêt. Il « suffit » de mesurer I_0 en l'absence de la cuve. Or la présence à la fois de la cuve et du solvant dans lequel est présente l'espèce doivent être prise en compte pour la détermination de l'absorbance, car ils

interagissent aussi avec le rayonnement incident. Alors d'où provient cette confusion entre schéma de principe et détermination expérimentale ? Principalement d'un raccourci mental qui confond l'échantillon (cuve + solvant + espèce) et l'espèce seule. Comment remédier à ce problème alors ? Une option consiste, si l'on souhaite conserver ce schéma, à le compléter comme proposé sur la figure 3 et en indiquant bien que dans ce cas l'absorbance observée est celle du système global ; cuve + solvant + espèce. L'absorbance observée est donc la résultante de contributions multiples, chacune de ces contributions apportant un effet additif sur l'absorbance observée.

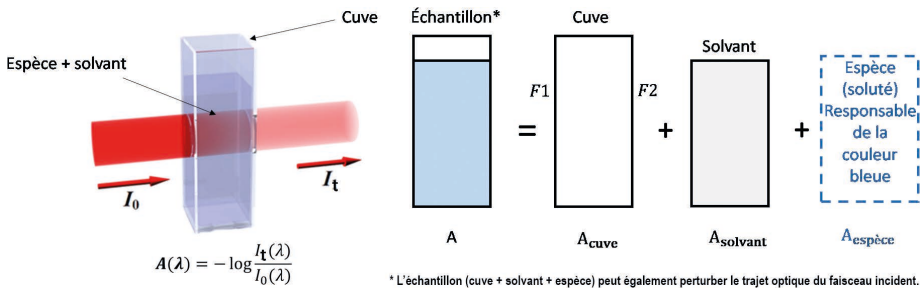


Figure 3 - Contributions à l'absorbance dans une cuve de mesure.

L'expression de A est donc :

$$A_\lambda = \sum_{i=0}^n A_{i,\lambda}$$

$$A_\lambda = A_{\lambda, \text{cuve}}^{(3)} + A_{\lambda, \text{solvant}} + A_{\lambda, \text{espèce}}.$$

Pour une espèce absorbante présente dans un milieu à une concentration C et caractérisée par un coefficient d'absorption molaire ϵ (à la longueur d'onde λ), l'absorbance A du milieu suit la loi de Beer-Lambert selon laquelle :

$$A_{\text{espèce}, \lambda} = \epsilon_\lambda \cdot l \cdot C.$$

Dans le cas d'un milieu constitué de n espèces absorbantes (à la longueur d'onde λ) de concentrations respectives C_i et de coefficients d'absorption molaire (ou absorptivité molaire) ϵ_i , il y a additivité des absorbances telle que :

$$A_{\text{espèce}, \lambda} = \sum_{i=0}^n A_{i,\lambda} = \sum_{i=0}^n \epsilon_{i,\lambda} \cdot C_i.$$

1.2. Transmission et coefficient linéique

Pour prendre en compte l'influence des différentes contributions à l'atténuation

(3) Le faisceau passe par les deux faces F1 et F2 de la cuve on peut donc écrire :

$$A_{\lambda, \text{cuve}} = A_{\lambda, \text{F1-cuve}} + A_{\lambda, \text{F2-cuve}}$$

si on veut détailler un peu plus.

de l'intensité lumineuse, il est quelquefois préférable de s'intéresser à l'intensité transmise après passage par l'échantillon (cuve + solvant + espèce). Ainsi, dans le cas de plusieurs contributions :

$$I_t = I_0 \prod_i T_i.$$

Cette relation impliquant le produit des transmittances est à mettre en relation avec la somme des absorbances exprimées précédemment, le changement somme/produit étant lié à la fonction logarithme reliant les grandeurs absorbance et transmittance.

Dans la suite de l'article, il sera également utile d'utiliser le coefficient d'absorption α tel que :

$$I_t = I_0 e^{-\alpha l} \quad \text{et} \quad T = e^{-\alpha l}$$

avec l le trajet optique dans le milieu considéré.

D'après la définition de l'absorbance A donnée plus haut, on a alors :

$$A = \frac{\alpha l}{\ln 10}.$$

1.3. Contributions à l'absorbance autre que l'absorption

Dans le cas des cuves, en plus d'absorber une partie du faisceau incident, les faces de celles-ci peuvent entraîner des pertes optiques par réflexion [5]. Cela peut notamment avoir des conséquences sur l'intensité lumineuse transmise et dans certains cas fausser la mesure notamment lorsque le positionnement de la cuve dans le compartiment échantillon n'est pas bien défini (replacer la cuve ne garantit alors pas une remise en place à l'identique). Cela se traduit, pour un faisceau d'incidence normale par rapport à la cuve, par un coefficient de réflexion (R) :

$$R_{n_1, n_2} = \frac{I_{\text{réfléchi}}}{I_{\text{incident}}} = \left(\frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right)^2 = (1 - T_{n_1, n_2})$$

avec n_1 et n_2 les indices de réfraction⁽⁴⁾ des deux milieux à l'interface (air/matériau de cuve et matériau de la cuve/solvant)⁽⁵⁾.

D'autre part, une diminution de l'intensité du faisceau incident lors de la traversée des faces de la cuve ou du milieu (solvant et/ou solvant + espèce) par un phénomène de diffusion de la lumière peut également avoir lieu. Ce phénomène est généralement négligeable devant les phénomènes d'absorption sauf lorsque lorsqu'il y a des particules en suspension (solution trouble)⁽⁶⁾ ou que l'on place (par erreur) les deux faces dépolies

(4) L'indice de réfraction n dépend de longueur d'onde dans la loi de Cauchy.

(5) À titre d'exemples à $T = 20^\circ\text{C}$ et pour $\lambda = 589 \text{ nm}$: $n_{\text{H}_2\text{O}} = 1,33$; $n_{\text{air}} = 1,00$; $n_{\text{verre}} = 1,52$; $n_{\text{PMMA}} = 1,49$.

(6) L'atténuation du faisceau est dans ce cas majoritairement due à la diffusion de la lumière. La loi de Beer-Lambert ne s'applique plus.

d'une cuve dans le faisceau (au lieu des faces transparentes) et il peut s'exprimer sous la forme $T_{diff} = e^{-\alpha_{diff} l_{milieu}}$.

Remarque : une déviation du faisceau peut apparaître par un phénomène de réfraction lors du passage par l'échantillon (cuve + solvant + espèce). Cette déviation est liée aux différences d'indice de réfraction entre l'air, le matériau de la cuve et le solvant (voire de la solution – solvant + espèce – lorsque la concentration de ce dernier est importante). Une telle déviation peut induire une variabilité de la position d'arrivée du faisceau transmis sur le détecteur lors de la mesure et il sera donc nécessaire de prendre en compte celle-ci comme nous le verrons dans le paragraphe 2. La présence de compartiment support permettant de fixer soigneusement la position des cuves permet de limiter les variations liées à ce phénomène. Il est à noter que ce phénomène est aussi lié à la température, car l'indice de réfraction en dépend.

1.4. Expressions complètes de l'absorbance et de l'intensité transmise

Comme indiqué plus haut, on a :

$$A_{\lambda} = \sum_{i=0}^n A_{i,\lambda} = A_{\lambda,cuve} + A_{\lambda,solvant} + A_{\lambda,espèce}.$$

Toutefois, il est utile d'indiquer aux apprenant-es que ces absorbances intègrent, en plus du phénomène d'absorption, des contributions liées à la réflexion et la diffusion de la lumière.

Pour être plus précis, on peut écrire grâce que lorsque le faisceau incident d'intensité I_0 traverse l'échantillon (cuve + solvant + espèce) et que si on considère que $I_{F1} \approx I_{F2} = I_F$ et $l_{solvant} = l_{espèce} = l$:

$$I_t = I_0 e^{-\Sigma_i \alpha_i l} = I_0 e^{-[2\alpha_{cuve} l_F + (\alpha_{solvant} + \epsilon_{\lambda} \cdot C + \alpha_{diff}) l]} (1 - R_{air/cuve})^2 (1 - R_{solvant/cuve})^2.$$

Retrouver la concentration d'une espèce avec cette relation peut sembler de prime abord très complexe, mais nous verrons qu'expérimentalement, une très grande simplification va apparaître grâce à la réalisation d'un blanc correctement réalisé.

2. MESURE DE L'ABSORBANCE À L'AIDE D'UN SPECTROPHOTOMÈTRE UV-VISIBLE

Il est intéressant de bien faire percevoir aux apprenant-es que tout ce qui a été introduit précédemment n'est valable qu'à une longueur d'onde λ mais que l'expérimentateur peut souhaiter avoir des informations pour plusieurs longueurs d'onde. L'expérimentateur est alors amené à tracer le spectre d'absorption qui représente l'atténuation du faisceau incident (quantifiée par l'absorbance) en fonction de la longueur d'onde λ ⁽⁷⁾. Des spectres d'absorption UV-Visible d'espèces sont alors souvent donnés

(7) Un spectre de transmittance peut également être tracé : $T = f(\lambda)$.

pour illustrer le propos : le logiciel *Specamp* [6] en propose plusieurs ainsi que les bases de données photochemCAD [7], Chempider [8] ou Webbook [9]⁽⁸⁾.

2.1. Notion de blanc et de ligne de base

Nous avons vu dans le paragraphe précédent que le schéma de la figure 2 ne permet pas de mesurer le spectre d'absorption de l'échantillon (ou d'une espèce) directement et qu'il faut en effet s'affranchir des contributions du solvant ou de la cuve (ou plus généralement des contributions à l'absorbance autres que celles dues à l'échantillon ou à l'espèce d'intérêt).

Le système (cuve + solvant) est appelé le blanc. Celui-ci tâchera d'être le plus similaire au milieu environnant du composé d'intérêt et peut donc consister en un solvant pur, un mélange de solvant ou un milieu plus complexe contenant des espèces diluées : on parle de matrice. On dit souvent que la référence est le solvant ce qui peut être trompeur, car la contribution de la cuve ainsi que celles d'autres espèces en solution sont alors passées sous silence.

2.2. Spectrophotomètre monofaisceau

Dans le cas de ce type de spectrophotomètre, le faisceau monochromatique sortant du monochromateur est dirigé vers l'échantillon et il n'y a qu'un compartiment pour placer l'échantillon. La détermination de l'absorbance due au soluté se fait par l'intermédiaire de deux mesures, tout d'abord la mesure de l'intensité reçue par le détecteur pour le blanc $I_{t,ref}$, puis la mesure de l'intensité reçue par le détecteur pour l'échantillon I_t comme décrit sur la figure 4.

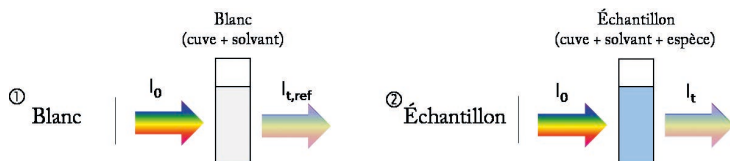


Figure 4 - Principe de mesure de l'absorbance pour un spectrophotomètre monofaisceau.

Dans le cas de la mesure de l'intensité arrivant sur le détecteur, on a pour le blanc,

$$I_{t,ref} = I_0 e^{-\Sigma_i \alpha_i l_i} = I_0 e^{-(2\alpha_{cuve} l_F (\alpha_{solvant} + \alpha_{diff}) l)} (1 - R_{air/cuve})^2 (1 - R_{solvant/cuve})^2.$$

Ce qui conduit directement (si la cuve utilisée pour le blanc et l'échantillon est iden-

(8) Il est même possible de les exporter pour ensuite les retracer sur *Regressi* dans le cas de photochemCAD (export en format .txt) ou *Specamp* dans le cas de Chempider et Webbook (export en format .jcamp).

tique) à :

$$A_{\text{espèce}}(\lambda) = \epsilon_{\lambda} \cdot l \cdot C = \log \frac{I_{t,\text{ref}}(\lambda)}{I_t(\lambda)}$$

car pour rappel (cf. paragraphe 1.3.) :

$$I_t = I_0 e^{-\sum_i \alpha_i l_i} = I_0 e^{-(2\alpha_{\text{cuve}} l_F + (\alpha_{\text{solvant}} + \epsilon_{\lambda} \cdot C + \alpha_{\text{diff}}) l)} (1 - R_{\text{air/cuve}})^2 (1 - R_{\text{solvant/cuve}})^2.$$

Lorsque l'on souhaite enregistrer le spectre d'absorption de l'espèce d'intérêt ($A_{\text{espèce}} = f(\lambda)$), on prend en compte la contribution du blanc ($I_{t,\text{ref}}$) pour chaque longueur d'onde : on parle de ligne base $I_{t,\text{ref}} = f(\lambda)$. L'intensité transmise du blanc (cuve + solvant) est ainsi enregistrée dans un premier temps puis l'intensité transmise dans le cas de l'échantillon (cuve + solvant + espèce) dans un second temps. L'absorbance de l'espèce est finalement obtenue à chaque longueur d'onde en prenant le logarithme du rapport entre $I_{t,\text{ref}}$ et I_t . Dans la pratique, il est donc nécessaire d'utiliser la même cuve pour le blanc et l'échantillon.

Lors de la réalisation d'un spectre d'absorption, il peut aussi être pertinent avant d'enregistrer le spectre de l'échantillon, de vérifier que la ligne de base a correctement été réalisée. Pour cela, on enregistre alors en pratique le spectre du blanc en réalisant d'abord la ligne de base puis le spectre du blanc. L'expérimentateur doit s'attendre à obtenir un spectre d'absorbance du blanc avec une valeur nulle ou proche de zéro sur toute la gamme de longueurs d'onde, car $I_{t,\text{ref}} \approx I_t$ ici. Si cela n'est pas le cas, cela signifie soit que la ligne de base n'a pas bien été réalisée (pour une quelconque raison) et doit ainsi être refaite soit que la contribution de la cuve et/ou du solvant ne peut être prise en compte et soustraite dans les zones très bruitées (cf. sous-paragraphe 3.1.).

La procédure la plus complète est donc :

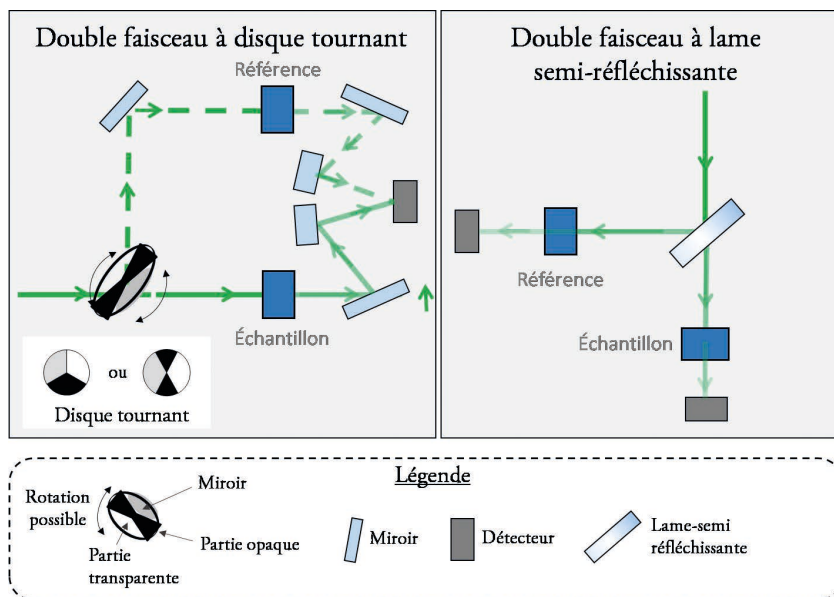
- ◆ enregistrement de la ligne de base ($I_{t,\text{ref}} = f(\lambda)$) ;
- ◆ vérification de la ligne de base en réalisant le spectre du blanc ;
- ◆ enregistrement du spectre de l'échantillon.

L'enregistrement du spectre du blanc (et la réalisation de la ligne de base) et le spectre de l'échantillon doivent être réalisés l'un après l'autre comme explicité sur la figure 4 (cf. page ci-contre). La réalisation de la ligne de base peut ainsi avoir lieu quelques secondes et parfois plusieurs minutes avant d'effectuer la mesure. Il en résulte que si des fluctuations d'intensité de la lampe source (et de température de l'échantillon) ont lieu entre-temps, celles-ci ne sont pas compensées par la ligne de base et le spectre est alors faussé : les valeurs de I_0 pour le blanc et l'échantillon ne sont plus identiques sur la figure 4.

2.3. Spectrophotomètre double faisceau

Pour limiter l'influence des fluctuations de la lampe sur le spectre, il est possible

d'utiliser un spectrophotomètre double faisceau [1, 10]. Dans ce type de spectrophotomètre, il y a deux compartiments : l'un pour placer l'échantillon et l'autre pour placer une référence (qui peut être le blanc ou l'air). Le faisceau incident I_0 est envoyé régulièrement (ou en permanence) à la fois dans le compartiment échantillon et le compartiment référence. Des schémas pour deux types d'entre eux sont mentionnés sur la figure 5.



Dans le cas d'un spectrophotomètre à double faisceau, il est bien sûr impossible de conserver la même cuve pour les deux compartiments, mais l'expérimentateur choisit généralement une cuve du même matériau pour l'échantillon et le blanc. Le principe de la mesure de l'absorbance dans le cas de ce type de spectrophotomètre est donné sur la figure 6 lorsque l'on réalise le zéro dans un premier temps comme dans le cas d'un spectrophotomètre monofaisceau (cf. figure 4, pages précédente). Il est à noter néanmoins ici que l'on n'enregistre pas dans un premier temps A_0 , mais l'on réalise directement le zéro que l'on note A_0' . Cette dernière valeur est proche de 0 si le compartiment de référence contient le blanc (et l'échantillon également le blanc). Dans le cas de l'enregistrement d'un spectre d'absorption, on réalise donc directement la ligne de base et on se retrouve dans la même situation que la vérification de la ligne de base pour un spectrophotomètre monofaisceau (même si la ligne de base n'est pas souvent affichée).

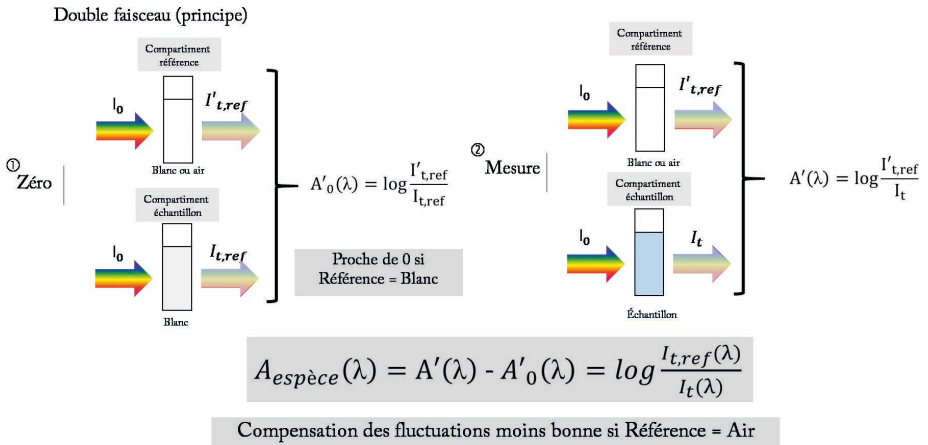


Figure 6 - Principe de la mesure avec un spectrophotomètre double faisceau.

La deuxième étape consiste à réaliser la mesure. Là encore, l'expérimentateur a directement accès à A' différent du A donné pour le monofaisceau. La valeur de A' correspond à $A_{espèce}$ si le compartiment de référence contient le blanc. Finalement, si l'on opère en deux temps (Zéro puis Mesure) comme pour un monofaisceau, on retrouve l'expression donnée précédemment pour le monofaisceau.

Pour ce type de spectrophotomètre, la réalisation de la ligne de base pourrait apparaître comme superflue si le compartiment de référence contient le blanc lors de l'étape de mesure (cf. figure 6). On pourrait en effet penser que l'on se retrouve à tout instant dans une configuration identique à celle donnée pour le spectrophotomètre monofaisceau (cf. figure 4, pages précédentes). Toutefois, cela n'est pas le cas pour plusieurs raisons :

- ◆ Les trajets des faisceaux traversant les deux compartiments (échantillon et référence) ne sont pas strictement identiques (cf. figure 5, page ci-contre). En effet, dans le cas d'un spectrophotomètre à disque tournant, il y a passage par un miroir en plus pour l'un des échantillons et les miroirs après passage par l'échantillon ne sont pas strictement identiques⁽⁹⁾. Dans le cas d'une lame semi-réfléchissante, celle-ci n'est pas parfaitement semi-réfléchissante.
- ◆ Les cuves utilisées dans les compartiments référence et échantillon sont forcément différentes si bien que les coefficients de réflexion pour celles-ci sont différents (voire la diffusion).

Si le compartiment référence ne contient pas le blanc, mais l'air lors de la mesure, la réalisation de la ligne de base est bien sûr nécessaire, car sinon les contributions du

(9) La figure 6 pourrait être modifiée en écrivant $I_{0,échantillon}$ et $I_{0,référence}$.

solvant et de la cuve ne sont pas prises en compte. Ne pas placer de blanc dans le compartiment référence permet également de ne pas induire de variation de la réflexion sur les faces des cuves (liée à une variation de la position de la cuve par exemple) lors des enregistrements successifs du zéro et de la mesure. L'intensité détectée par le détecteur dans le compartiment référence est proche de I_0 .

Le grand intérêt de l'utilisation d'un spectrophotomètre double faisceau est de pouvoir limiter (ou s'affranchir) des fluctuations d'intensité de la lampe source. En effet, comme explicité sur la figure 7, si l'intensité du signal varie pour une longueur d'onde λ ($I'_0 = k \times I_0$ avec k un facteur multiplicatif) alors cette fluctuation se répercute dans les deux compartiments de la même façon et est prise en compte à la fois dans le compartiment échantillon et le compartiment référence. Les fluctuations de lampe sont de fréquence nettement plus faible que la rotation des disques dans le cas des spectrophotomètres à disque tournant⁽¹⁰⁾.

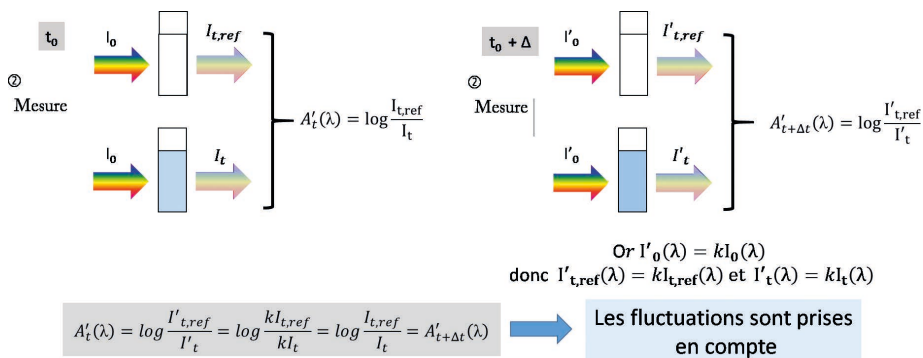


Figure 7 - Prise en compte des fluctuations de l'intensité de la lampe source.

Pour vérifier que le spectrophotomètre fonctionne correctement et que la ligne de base est correcte comme dans le cas d'un spectrophotomètre monofaisceau, on peut réaliser avant la mesure un spectre du blanc. C'est ce que nous allons utiliser dans la suite pour montrer que l'on ne peut pas toujours s'affranchir de la contribution du solvant et/ou de la cuve.

3. ÉTUDE DES CONTRIBUTIONS LIÉES À LA CUVE ET AU SOLVANT

3.1. Mise en évidence expérimentale

Lors de l'étape de vérification de la ligne de base (cf. sous-paragraphes 2.2 et 2.3),

(10) Des spectrophotomètres simple faisceau sont parfois munis d'un détecteur situé à côté de la lampe qui permet de compenser les variations de la lampe.

il est apparu la possibilité de mesure du spectre d'absorption du blanc après avoir réalisé la ligne de base à l'aide du même blanc.

L'enregistrement du spectre d'absorption d'un échantillon (cuve + air) après la réalisation de la ligne de base avec le blanc (cuve + air) dans le cas d'une cuve en plastique (PPMA) et d'une cuve en quartz est donné sur la figure 8. On note que ces spectres ne conduisent pas comme attendu à une absorbance nulle sur toute la gamme de longueur d'onde. En effet, il peut apparaître une zone dans laquelle l'absorbance est très bruitée (absorbance qui alterne entre des valeurs positives et négatives avec des intensités variables autour de 0). Dans cette zone, le détecteur reçoit très peu de lumière (I_t) et l'incertitude sur la valeur de l'absorbance est très importante.

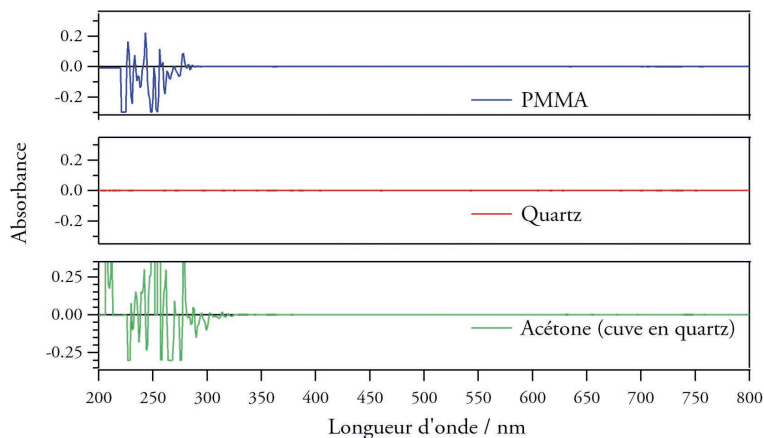


Figure 8 - Spectre d'absorption d'un échantillon (cuve + air/solvant) après enregistrement de la ligne de base avec le blanc (cuve + air/solvant) dans le cas d'une cuve en PPMA, d'une cuve en quartz et de l'acétone (dans une cuve en quartz).

Ainsi pour des longueurs d'onde inférieures à 285 nm des valeurs d'absorbance supérieures à 0,01 (en valeur absolue) sont observables. En dessous de cette longueur d'onde, cette cuve ne sera donc pas utilisable. Il est alors important de connaître les propriétés d'absorption des cuves pour définir leur domaine d'utilisation.

Cette forte absorbance (liée aux phénomènes d'absorption, diffusion et réflexion) ne peut être compensée même par la réalisation de la ligne de base.

Le même type de discussion peut être réalisé dans le cas des solvants (un exemple est donné sur la figure 8 avec l'acétone).

3.2. Les cuves spectrophotométriques et leur utilisation [1]

L'expérimentateur dispose de plusieurs types de cuves selon la nature du matériau

constitutif et le trajet optique (souvent 1 cm en enseignement). Pour des mesures dans le domaine du visible on pourra utiliser des cuves en verre (verre au silicate), en quartz ou en plastique (polystyrène, polyméthylmétacrylate...). Les spectres de transmission d'une série de cuves sont donnés sur les figure 9 (quartz et verre) et figure 10 (plastique). On note dans tous les cas que la transmittance n'est jamais de 100 % ce qui montre bien que la contribution de la cuve à l'absorbance (réflexion principalement dans le visible) n'est pas négligeable (cf. sous-paragraphe 1.1.).

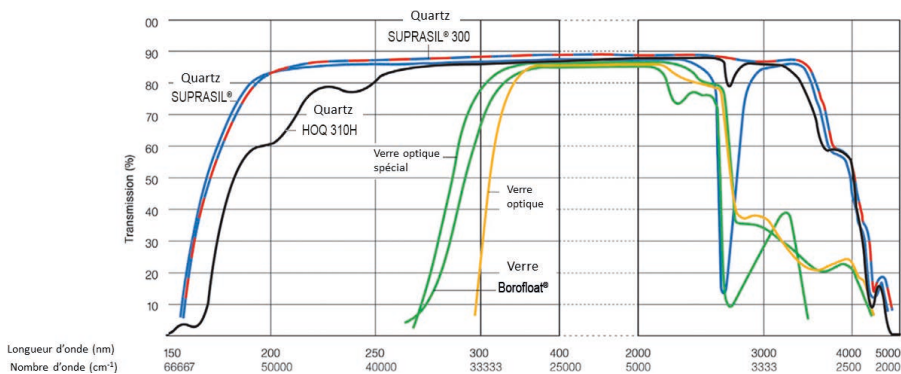


Figure 9 - Transmission d'une série de cuves en verre et en quartz [11].

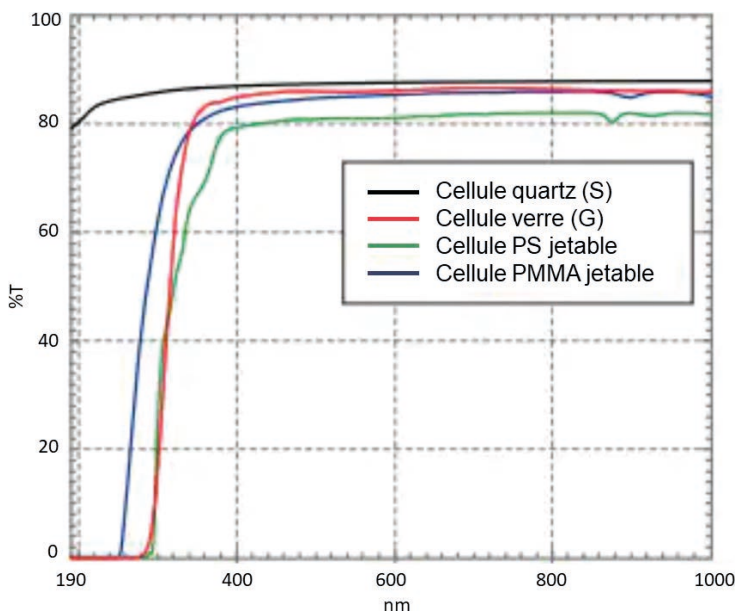


Figure 10 - Transmission d'une série de cuves [12].

Les cuves en verre peuvent servir de multiples fois à condition d'en prendre soin (éviter de rayer les parois). Les cuves SOG (*Special Optical Glass*) possèdent une longueur d'onde minimale d'utilisation inférieure à celles des cuves OG (*Optical Glass*) (cf. figure 9, page ci-contre) : 340 contre 320 nm. Leur transmission est identique dans le visible.

Les cuves en quartz sont utilisées lorsqu'il est nécessaire de faire des mesures dans le domaine de l'ultraviolet (UV) et plus précisément, en dessous de 320 nm (cf. figure 9, page ci-contre). La plupart des solvants usuels peuvent être introduits dans ces cuves. La longueur d'onde minimale d'utilisation est de 190 nm (cf. figure 9).

Les cuves en plastique sont constituées de polyméthacrylate de méthyle (PMMA) ou de polystyrène (PS). Elles ne cassent pas et sont peu chères, mais les parois se rayent facilement. Pour ces cuves, il faut absolument éviter tout solvant organique qui dissout la cuve (acétone, chloroforme...). Les cuves en polystyrène et PMMA optique possèdent respectivement une longueur d'onde minimale d'utilisation de 340 nm et 285 nm. Leur absorption dans le visible est du même ordre que celle des cuves en verre et n'empêche pas la mesure dans cette gamme.

La superposition des courbes données sur la figure 8 (cf. pages précédentes) et des courbes de la figure 10 (cf. page ci-contre) pour une cuve en PPMA (cf. figure 11) permet de montrer la corrélation entre la zone du signal bruitée et les propriétés d'absorption des cuves. On note également que la valeur de longueur d'onde à partir de laquelle l'absorbance est supérieure à 0,01 correspond à une transmission de la cuve qui devient inférieure à 1 %. Cette longueur d'onde correspond à la longueur d'onde minimale d'utilisation de la cuve. Pour les cuves de PMMA, cette valeur est de 285 nm.

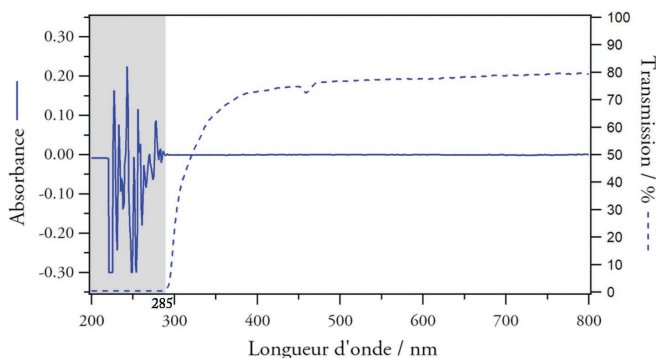


Figure 11 - Courbe de transmission vs spectre d'absorption d'un échantillon (cuve + air) après enregistrement de la ligne de base avec le blanc (cuve + air) dans le cas d'une cuve en PPMA.

Le tableau 1 (cf. page ci-après) récapitule les conditions d'utilisation optimales pour plusieurs types de cuves.

Type de cuve	Longueur d'onde minimale d'utilisation	Solvants
PMMA (plastique)	285 nm	Eau et éthanol
PS (plastique)	340 nm	Eau et éthanol
Verre OG (Optical Glass)	340 nm	Tout type de solvant usuel (proscrire HF)
Verre SOG (Special Optical Glass)	320 nm	Tout type de solvant usuel (proscrire HF)
Quartz Suprasil	190 nm	Tout type de solvant usuel (proscrire HF)

Tableau 1 - Domaine de longueur d'onde d'utilisation et solvants utilisables pour plusieurs cuves.

3.3. Les solvants [1]

Le même type d'analyse peut être réalisé dans le cas des solvants⁽¹¹⁾. En effet, dans le cas de la spectrophotométrie UV-Visible de nombreux solvants absorbent la lumière de manière significative dans l'UV. Les spectres de transmission de quelques solvants sont donnés sur la figure 12 (avec comme blanc l'eau). On note que la contribution du solvant à l'absorbance du faisceau n'est pas négligeable, notamment dans l'UV.

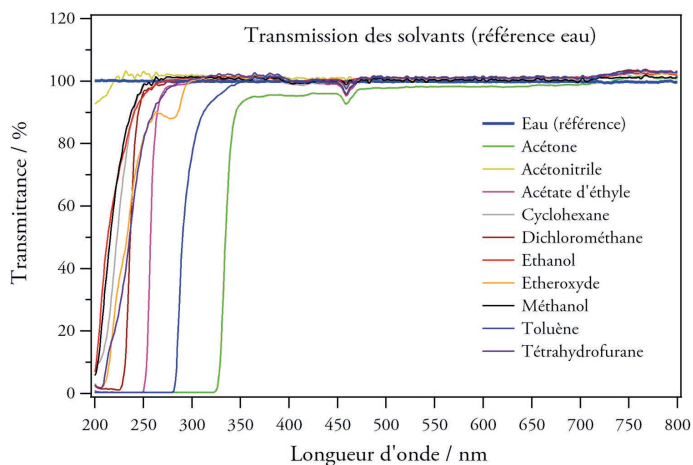


Figure 12 - Spectres en transmission de quelques solvants (référence = eau).

(11) Dans certains cas le solvant peut être constitué de plusieurs espèces ou d'un mélange de solvants.

Dans le cas des solvants (cf. figure 12, page ci-contre), la ligne de base est généralement réalisée avec comme blanc le système (cuve + eau).

On définit également la longueur d'onde de coupure UV comme la longueur d'onde à partir de laquelle la transmission devient inférieure à 10 % en utilisant comme ligne de base l'eau (cuve + eau en réalité). En dessous de cette valeur, l'absorption devient importante et empêche toute détermination exacte de l'absorbance même lorsque la ligne de base est réalisée (cf. sous-paragraphe 2.2.2.). Des valeurs de longueur d'onde de coupure sont données dans tableau 2. Il est donc important de faire attention au solvant utilisé afin qu'il soit en cohérence avec le domaine de longueur d'onde où se situe la (ou les) bande(s) d'absorption étudiée(s). Si l'on souhaite par exemple observer une bande dans le domaine 250–300 nm, les solvants acétate d'éthyle, toluène et acétone ne devront pas être utilisés (cf. tableau 2). Une représentation graphique de ce tableau et le spectre d'absorption de l'eau sont donnés en annexe⁽¹²⁾.

Longueur d'onde de coupure UV / nm				
Acétonitrile	Éthanol	Méthanol	Cyclohexane	THF
190	201	203	204	212
Étheroxyde	Dichlorométhane	Acétate d'éthyle	Toluène	Acétone
214	230	253	284	329

Tableau 2 - Longueur d'onde de coupure UV pour différents solvants.

La superposition des courbes données sur la figure 8 (cf. pages précédentes) et la figure 12 (cf. page ci-contre) pour l'acétone (cf. figure 13) permet de montrer la cor-

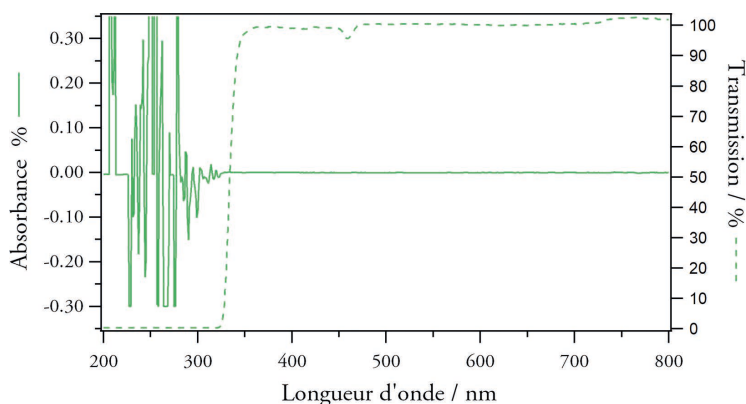


Figure 13 - Courbe de transmission vs spectre d'absorption d'un échantillon (cuve + acétone) après enregistrement de la ligne de base avec le blanc (cuve + acétone).

(12) L'annexe est disponible sur le site de l'UdPPC.

relation entre la zone du signal bruitée et les propriétés d'absorption des solvants. On note que la valeur de longueur d'onde à partir de laquelle l'absorbance est supérieure à 0,01 correspond à une transmission de la cuve qui devient inférieure à 1 %.

Remarque : dans la littérature, des spectres d'absorption de quelques solvants (cf. annexe)⁽¹³⁾ sont disponibles. Les solvants sont considérés comme des solutés et dilués dans un solvant pour réaliser le spectre (comme l'éthanol ou le benzène par exemple).

CONCLUSION

Nous avons, dans une première partie, essayé de mettre en exergue en quoi la représentation classiquement donnée pour illustrer la notion d'absorbance peut induire chez les apprenant-es quelques incompréhensions. Nous proposons pour y remédier de bien identifier les différentes contributions à l'absorbance et de mieux appréhender le principe de la mesure de celle-ci au moyen d'un spectrophotomètre mono ou double faisceau.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier Rémi Métivier et Stephan Guy pour les nombreux échanges qui ont permis d'améliorer notablement la qualité de cet article.

BIBLIOGRAPHIE ET NETOGRAPHIE

- [1] J. Piard, *Chimie générale expérimentale*, De Boeck Supérieur, 2018.
- [2] Shimadzu : <https://www.ssi.shimadzu.com/products/uv-vis-spectrophotometers/faqs/instrument-design.html>
- [3] J. Delaire, J. Piard, R. Méallet-Renault et G. Clavier. *Photophysique et photochimie : des fondements aux applications*, Éditions EDP Sciences, 2016.
- [4] F. J. Holler, T. A. Nieman et D. A. Skoog, *Principes d'analyse instrumentale*, De Boeck, 2003.
- [5] J. Randon, J. Piard et S. Guy, « Comment l'information jaillit de la lumière : retour sur les notions cachées liées à une "mesure d'absorbance" », *L'Actualité Chimique*, n° 455, p. 52-58, 2020.
- [6] Specamp : <http://sciences-edu.net/physique/specamp/specamp.htm>
- [7] PhotochemCAD : <https://www.photochemcad.com/structure.php>

(13) L'annexe est disponible sur le site de l'UdPPC.

- [8] ChemSpider : <http://www.chemspider.com/>
- [9] NIST : <https://webbook.nist.gov/>
- [10] D. Di Benedetto et P. Breuil. *Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible*, Techniques de l'ingénieur, vol. P2795 V2, 2017.
- [11] https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hellma_Transmission_of_empty_cells_made_of_diferent_materials.JPG
- [12] Shimadzu : <https://www.shimadzu.com/an/uv/support/uv/ap/cell.html>

Compléments de l'article

Cet article comporte un complément nommé :

◆ *L'absorbance (annexe).pdf*

L'ensemble est disponible sur le site de l'UdPPC sous la forme d'un fichier zippé 10370909.



Jonathan PIARD

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



Jérôme RANDON

Professeur des universités
Université Claude Bernard Lyon 1
Institut des sciences analytiques
(UMR 5280)
Villeurbanne (Rhône)