

Comment l'information jaillit de la lumière

Retour sur les notions cachées liées à une « mesure d'absorbance »

Résumé Bien que la notion d'absorbance soit largement utilisée dès le lycée, à l'issue d'un bac + 3, les étudiant-e-s rencontrent encore des difficultés dans la représentation du fonctionnement d'un spectrophotomètre. Une pédagogie de projet autour de l'élaboration d'un instrument sur la base d'un microcontrôleur permet de revenir sur les différentes étapes qui, dans un premier temps, conduisent à l'obtention d'un signal, puis dans un second temps, permettent le passage d'un signal mesuré à une information pertinente. Sans risque et à très faible coût, l'approche proposée peut être mobilisée pour des séances pédagogiques réalisées de façon largement autonome, voire même dans un lieu différent de l'établissement de formation.

Mots-clés Enseignement, absorbance, microcontrôleur, colorimètre.

Abstract **How information comes from light: back to hidden concepts related to "absorbance measurement"**
Even if absorbance has been introduced in high school, BSc students are still facing some problems to describe how the system works to obtain an absorbance value. Project based learning using microcontroller can be used to discuss concepts regarding data acquisition stage and then data treatment process to get a valuable information for chemist. Without risks, at very low cost, the teaching strategy can be implemented for student independent work, without teacher, even in a different location from university.

Keywords Teaching, absorbance, microcontroller, colorimeter.

Un précédent article paru dans cette revue a introduit un scénario pédagogique s'appuyant sur l'utilisation de microcontrôleurs pour l'enseignement de la spectroscopie en se focalisant sur le domaine de longueur d'onde correspondant à la partie visible du spectre électromagnétique [1]. Ce scénario avait une finalité orientée vers la chimie analytique : dosage par étalonnage et détermination des incertitudes de mesure associées à l'étalonnage. L'article proposait une représentation graphique du phénomène d'absorption lumineuse par la solution colorée, complémentaire au schéma classique rencontré dans la quasi-totalité des ouvrages d'enseignement, et s'appuyant sur deux étapes successives (mesure du signal associé au blanc, mesure du signal associé à la solution). Ce type de schématisation permet de différencier la représentation graphique associée à la définition de l'absorbance de celle associée à la réalisation d'une mesure d'absorbance. Si l'article démontrait aussi la qualité finale des résultats de mesure au travers d'une estimation de l'incertitude sur la concentration retrouvée par étalonnage externe avec un colorimètre à très faible coût, il ne développait que très succinctement les phénomènes optiques inhérents à cette mesure et les différentes étapes permettant de passer d'un signal mesuré à une valeur d'absorbance. Le présent article propose de revenir sur ces éléments en s'appuyant sur des activités expérimentales pouvant être mises en œuvre avec des étudiant-e-s dans le cadre d'une approche pluridisciplinaire de la mesure. Il s'inscrit ainsi dans des formes de pratiques pédagogiques actives et intégrées, basées sur l'utilisation de microcontrôleurs dans l'enseignement [1-2 et réf. citées]. Les activités pratiques associées ont un très faible coût en termes d'investissement matériel et de fonctionnement, et une vingtaine de postes de travail peuvent être mis en place et opérer pour moins de 250 €. Ainsi, avec un coût de l'ordre de 10 € par poste, il peut être envisagé de déployer ce type de pratique dans des pays en développement, mais aussi de proposer des activités expérimentales à faire faire aux

étudiant-e-s de façon autonome, que ce soit dans le cadre de formation en présentiel mais aussi à distance.

L'absorbance : une mesure en contradiction avec la définition ?

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 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 diminution d'intensité peut être quantifiée grâce à l'introduction des notions de transmittance (T , fraction du rayonnement incident transmis à travers l'échantillon) ou d'absorbance (A) pour lesquelles :

$$T = \frac{I_t}{I_0} = 10^{-A} \quad (1)$$

$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I_t} \quad (2)$$

Une représentation graphique comme celle de la *figure 1* illustre souvent ce phénomène d'absorption lumineuse.

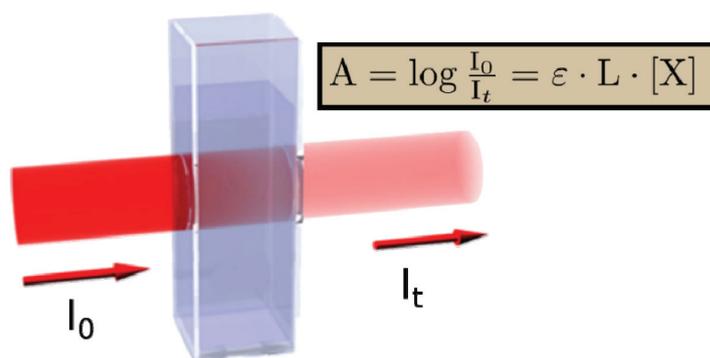


Figure 1 - Schéma classique illustrant la notion d'absorbance.

Elle est en tout point fidèle à la définition de l'absorbance, mais semble relier directement l'absorbance à la loi de Beer-Lambert relative à l'espèce d'intérêt (voir *figure 1*). Cette relation ne peut être vraie qu'à la condition que les effets de pertes lumineuses liées à la cuve et aux solvants soient négligeables, or ceci n'est que rarement le cas. D'un point de vue pratique, les colorimètres ne fournissent généralement aucune information sur l'intensité lumineuse mesurée via le capteur (peut-être que les fabricants de spectrophotomètres à usage pédagogique rendront un jour cette information totalement accessible), ce qui conduit certains apprenant-e-s à penser que le détecteur mesure directement l'absorbance, et non pas une intensité lumineuse qui sera ensuite convertie en absorbance. Dans un autre registre conceptuel, lorsque l'absorbance devient très importante, il n'est pas rare d'entendre une phrase du type « Le détecteur sature, c'est pour cela que l'appareil ne peut mesurer une absorbance plus grande que 2 », confondant le capteur (qui doit être capable dans ce cas de mesurer une très faible intensité lumineuse, à l'opposé de ce que peut être une saturation) et la grandeur affichée (ici l'absorbance). Revisiter l'ensemble des phénomènes clés conduisant à la mesure de l'absorbance associée à une espèce en solution apparaît ainsi nécessaire.

La mesure de l'absorbance liée à un soluté est en fait basée sur les deux mesures (signal S) d'intensité lumineuse décrites dans la *figure 2*. La mesure dite « de blanc » permet de prendre en compte les pertes optiques liées à la cuve, au solvant et la matrice (T_{blanc}). La mesure sur l'échantillon ajoute aux pertes du blanc les pertes par absorption liées au soluté en solution ($10^{-\epsilon \cdot L \cdot [X]}$). C'est la combinaison de ces deux mesures via une division puis le passage au logarithme qui conduit à la détermination de l'absorbance du soluté.

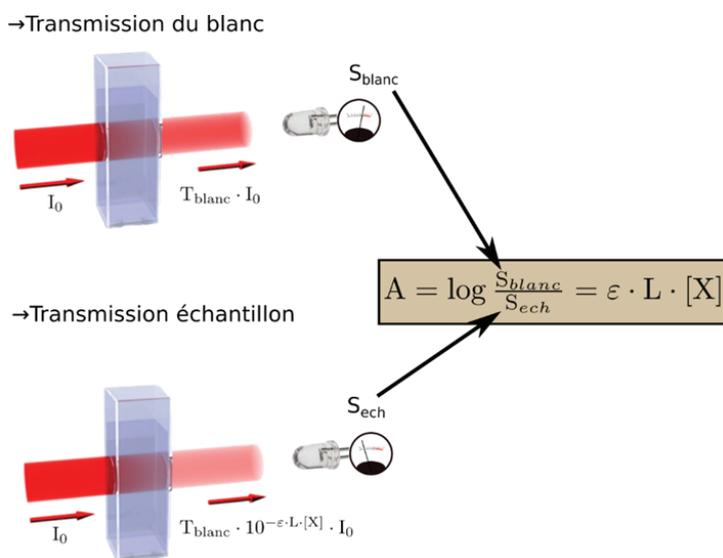


Figure 2 - Principe de mesure de l'absorption. Pour une même intensité lumineuse incidente I_0 , l'appareil mesure tout d'abord l'intensité lumineuse transmise à travers l'ensemble cuve + solvant + matrice (blanc, en haut), puis l'intensité lumineuse transmise à travers l'ensemble cuve, solvant, matrice et soluté (en bas). La combinaison des deux mesures conduit à l'absorbance due au soluté (formule de droite).

La détermination de l'absorbance passe donc par deux mesures d'intensité lumineuse via un capteur optique. Les capteurs utilisés en spectrophotométrie (photodiodes, caméras ou photomultiplicateurs) délivrent un signal électrique proportionnel au flux lumineux incident. Le signal électrique S est donc proportionnel à l'intensité

lumineuse incidente I_{inc} :

$$S = \alpha_{o \rightarrow e} \cdot I_{\text{inc}} \quad (3)$$

où $\alpha_{o \rightarrow e}$ est un coefficient de conversion optique électrique prenant en compte la sensibilité du capteur et le circuit électrique de mesure (dans cette relation, on a volontairement négligé le signal d'obscurité du capteur dont l'effet sera discuté dans le paragraphe sur la lumière parasite). La connaissance précise de $\alpha_{o \rightarrow e}$ n'est nullement nécessaire, et c'est là la force principale de la double mesure : le rapport entre deux mesures $S_{\text{ech}}/S_{\text{blanc}}$ permettra d'éliminer mathématiquement ce coefficient.

Le faisceau lumineux d'intensité I_0 traversant une cuve remplie de solvant, dénommée blanc (*figure 2*, haut), est atténué d'un facteur T_{blanc} par la cuve remplie avant d'être convertie par le capteur. Le signal mesuré S_{blanc} s'écrit donc :

$$S_{\text{blanc}} = \alpha_{o \rightarrow e} \cdot (T_{\text{blanc}} \cdot I_0) \quad (4)$$

L'échantillon (*figure 2*, bas) correspond à la même cuve, avec en plus un soluté X à une concentration $[X]$. Il faut donc multiplier la transmittance du blanc par la transmittance des molécules qui, elle, s'exprime via la loi de Beer-Lambert selon : $T_X = 10^{-\epsilon \cdot L \cdot [X]}$ (où ϵ est le coefficient d'absorption molaire du soluté à la longueur d'onde de travail). Le signal S_{ech} délivré par le capteur est donc le produit :

$$S_{\text{ech}} = \alpha_{o \rightarrow e} (T_{\text{blanc}} \cdot 10^{-\epsilon \cdot L \cdot [X]} \cdot I_0) \quad (5)$$

Ce qui conduit, à partir des deux relations (4) et (5), à la formule :

$$\log\left(\frac{S_{\text{blanc}}}{S_{\text{ech}}}\right) = A_X = \epsilon \cdot L \cdot [X] \quad (6)$$

On voit que l'absorbance est mesurée sans erreur à la condition de pouvoir mathématiquement simplifier les termes lors de la division des deux signaux. Expérimentalement, ceci nécessite d'avoir à la fois un capteur et une source lumineuse stable, mais aussi de pouvoir mesurer un blanc en tout point identique à l'échantillon, excepté pour l'absorbance du soluté. L'utilisation de la transmission T_{blanc} de l'association cuve + solvant nous a permis de montrer l'intérêt du « blanc » pour ne mesurer que l'absorption du soluté, et ceci sans connaître les mécanismes optiques conduisant à cette transmission que nous allons pouvoir maintenant détailler.

Et si le faisceau lumineux traverse plusieurs milieux ?

Le faisceau parcourant l'échantillon va successivement traverser une première face de la cuve d'épaisseur l_{F1} , la solution contenue dans la cuve sur une longueur L , et finalement traverser une deuxième face de la cuve d'épaisseur l_{F2} . Lors de la traversée de chacun de ces milieux, et aux interfaces entre les différents milieux, l'intensité du faisceau va diminuer (*figure 3*). Ces pertes d'intensité lumineuse ne peuvent pas être exprimées sous la forme $\epsilon \cdot L \cdot C$, et une approche pédagogique basée sur l'absorbance, trop rapidement associée à la loi de Beer-Lambert, apparaît problématique. Il peut être plus approprié d'aborder ces phénomènes de perte d'intensité par la notion de transmission lumineuse qui est généralisée à tous types de pertes optiques.

Ainsi, à la traversée de tout milieu, seule une fraction de la lumière entrante dans le milieu va sortir de celui-ci suivant la relation générale :

$$T = \frac{I_{\text{sortant}}}{I_{\text{entrant}}} \quad (7)$$

Si on considère n milieux successifs, comme l'intensité entrante dans un milieu est égale à l'intensité sortante du

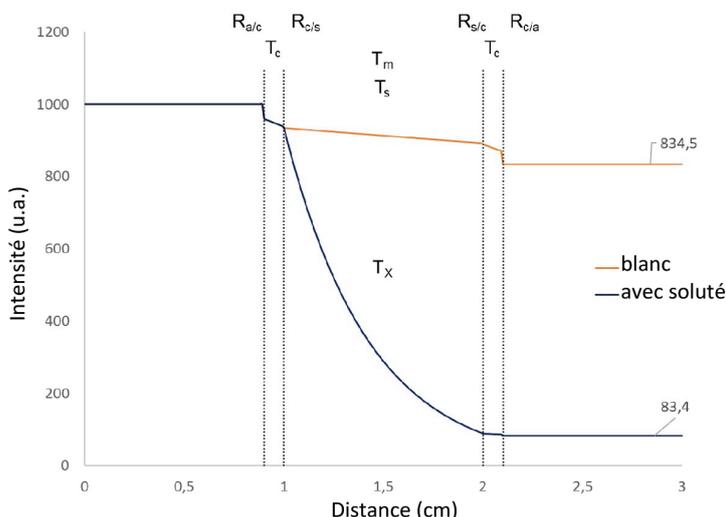


Figure 3 - Schéma d'évolution de l'intensité lumineuse lors du passage au travers de la cuve (cuve de 1 cm présentant des faces d'épaisseur 0,1 cm), solution présentant une absorbance de 1, avec pertes par réflexion à chaque interface. T_c : transmittance liée au matériau; T_s : transmittance du solvant; T_m : transmittance de la matrice; T_x : transmittance liée au soluté X; R : réflectance à l'interface entre deux milieux (a : air; c : cuve; s : solvant).

milieu précédent, la transmittance globale se généralise par :

$$T = \frac{I_1 I_2 \dots I_{n-1} I_n}{I_0 I_1 \dots I_{n-2} I_{n-1}} = \prod_{i=1}^n T_i = \frac{I_n}{I_0} \quad (8)$$

Lorsque l'on utilise des cuves transparentes dans le domaine de longueurs d'onde du spectre visible, la transmission de la cuve est proche de 1. Se pose alors la question de l'intérêt de mesurer le blanc avec une cuve. Pourquoi ne pas tout simplement enlever la cuve pour mesurer I_0 , puis la remettre pour I_t comme indiqué dans la première figure ? Afin de répondre à cette question, il est nécessaire de revenir sur l'origine des pertes optiques lors de la traversée de la lumière à travers une cuve.

Tout d'abord, chaque franchissement d'interface entre différents matériaux (air/cuve, cuve/solution) induit des pertes par réflexion liées aux différences d'indices optiques entre les matériaux. Ces phénomènes de réflexion aux interfaces ont été décrits et explicités pour la première fois par Augustin Fresnel [3] et ce sont les reflets que nous observons sur les vitres ou les surfaces planes. Ces réflexions vont donc induire des pertes optiques, et ceci même pour des milieux transparents ! Les coefficients de réflexion peuvent être calculés à partir des indices de réfraction des milieux et de l'angle d'incidence, et en particulier pour une incidence normale, à l'interface entre deux milieux d'indice n_1 et n_2 , la fraction de lumière réfléchiée est donnée quantitativement par la formule :

$$R_{n_1, n_2} = \frac{I_{\text{réfléchiée}}}{I_{\text{incidente}}} = \left(\frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right)^2 \quad (9)$$

Les milieux considérés ici ont des indices $n_{\text{H}_2\text{O}} = 1,33$; $n_{\text{air}} = 1,00$; $n_{\text{verre}} = 1,52$; $n_{\text{PMMA}} = 1,49$ (cuve en plastique) [4], ce qui conduit à $R_{\text{air/verre}} = 0,042$ (4,2 %) et $R_{\text{air/PMMA}} = 0,039$ (3,9 %) de perte aux interfaces air/verre et air/PMMA. Les réflexions à l'intérieur d'une cuve remplie sont beaucoup plus faibles du fait de la proximité des indices de l'eau et du matériau de la cuve : $R_{\text{eau/verre}} = 0,0032$ (0,32 %) pour les interfaces eau/verre et $R_{\text{eau/PMMA}} = 0,0044$ (0,44 %) pour les interfaces eau/PMMA.

En plus de ces pertes aux interfaces, il faut prendre en compte les atténuations optiques liées aux propagations à l'intérieur

des matériaux. Ces atténuations sont dues aux phénomènes d'absorption et de diffusion et sont quantifiées par des transmittances dites internes, afin de bien les différencier de la transmittance totale qui doit prendre en compte les pertes aux interfaces (nous noterons T_c la transmittance interne correspondant à l'atténuation optique à travers le matériau constitutif de chacune des faces de la cuve et T_s celle correspondant à la traversée du solvant). Ces deux mécanismes conduisent à une décroissance exponentielle de l'intensité lors de la propagation de la lumière. La diffusion correspond à une diffusion élastique de la lumière : les photons incidents sont rayonnés dans toutes les directions par le centre diffusant, et de ce fait, le faisceau incident perd une partie de ses photons qui sont redistribués angulairement. Les pertes par diffusion sont en général négligeables pour les solutions « standards ». En revanche, dans le cas d'un échantillon trouble (ou si on place la cuve avec les faces dépolies dans le faisceau), la contribution de la diffusion peut être significative et conduire à une erreur de justesse si les précautions évoquées en début de paragraphe ne sont pas mobilisées.

Pour schématiser la perte d'intensité lumineuse au sein du système de mesure, l'évolution de l'intensité du faisceau lumineux est représentée sur la figure 4 en fonction de la distance parcourue pour une cuve de 1 cm d'épaisseur remplie d'eau dont chaque face posséderait une épaisseur de 0,1 cm (valeur arbitraire). Dans cette simulation, l'absorbance propre à l'espèce en solution est égale à 1 et cette espèce est environnée d'une matrice qui provoque une absorption supplémentaire du faisceau lumineux apparaissant au sein même de la cuve. Cette figure présente à la fois les « sauts » d'intensités aux interfaces et les pertes exponentielles de propagation.

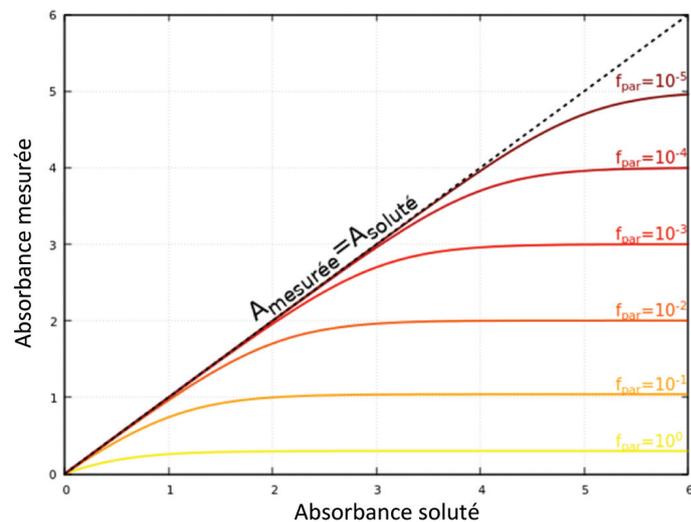


Figure 4 - Écart à la linéarité en présence de lumière parasite pour différents ratios $f_{\text{par}} = I_{\text{par}} / (T_{\text{blanc}} \cdot I_0)$.

Le besoin d'une mesure rationalisée du blanc

La relation (8) permet de prendre en compte tous les phénomènes optiques qui peuvent avoir lieu sur le trajet du faisceau. Ainsi, la transmittance globale s'exprime en écrivant successivement les différentes transmissions lumineuses (figure 3). Par exemple, pour une cuve pleine d'eau, on aura une réflexion air/cuve, la traversée du matériau de la cuve sur la première face (T_c), une réflexion cuve/eau, la traversée du solvant (T_s), une réflexion eau/cuve, la traversée du matériau de la cuve

Tableau - Intensités lumineuses arrivant sur le capteur et absorbance expérimentale résultante. $T_{\text{air}} = 1$; T_c : transmittance liée au matériau pour une face de la cuve; T_s : transmittance du solvant; T_m : transmittance de la matrice (solvant excepté); T_x : transmittance liée au soluté X; $R_{\text{air/verre}} = 0,042$; $R_{\text{air/PMMA}} = 0,039$; $R_{\text{eau/verre}} = 0,0032$; $R_{\text{eau/PMMA}} = 0,0044$; A_s , A_c et A_m : absorbances provenant respectivement du solvant, de la cuve et de la matrice.

Intensité blanc		Intensité avec soluté X dans cuve	Absorbance expérimentale $\log\left(\frac{S_{\text{blanc}}}{S_{\text{ech}}}\right)$
Sans cuve	$I_0 \cdot T_{\text{air}} = I_0$	$I_0 \cdot (1 - R_{\text{air/cuve}})^2 \cdot (1 - R_{\text{eau/cuve}})^2 \cdot T_c^2 \cdot T_s \cdot T_m \cdot T_x$	$\epsilon \cdot L \cdot [X] + 0,036 + A_s + A_c + A_m$
Cuve vide (air)	$I_0 \cdot (1 - R_{\text{air/cuve}})^4 \cdot T_c^2$		$\epsilon \cdot L \cdot [X] - 0,034 + A_s + A_m$
Cuve remplie du solvant	$I_0 \cdot (1 - R_{\text{air/cuve}})^2 \cdot (1 - R_{\text{eau/cuve}})^2 \cdot T_c^2 \cdot T_s$		$\epsilon \cdot L \cdot [X] + A_m$
Cuve remplie du solvant et de la matrice	$I_0 \cdot (1 - R_{\text{air/cuve}})^2 \cdot (1 - R_{\text{eau/cuve}})^2 \cdot T_c^2 \cdot T_s \cdot T_m$		$\epsilon \cdot L \cdot [X]$

sur la deuxième face, et une réflexion cuve/air. Pour une cuve vide, il faut enlever l'atténuation du solvant et remplacer deux réflexions eau/cuve par des réflexions air/cuve; et pour l'échantillon, l'atténuation du soluté doit être ajoutée à la cuve d'eau. Les intensités lumineuses arrivant sur le capteur et l'absorbance expérimentale résultante sont représentées dans le *tableau* en fonction de la façon dont le blanc est réalisé. Il est clair que la seule bonne mesure consiste à prendre le blanc identique à l'échantillon afin de s'affranchir exactement de toutes les atténuations autres que celles des solutés (dernière ligne du *tableau*). Par contre, si le blanc est mesuré à l'air (première ligne du *tableau*), on ne prend en compte ni les réflexions aux interfaces, ni les pertes de propagation dans le solvant, dans la matrice et la cuve. Il en résulte un excès systématique d'absorbance de 0,036 uA dû aux réflexions auxquelles s'ajoutent les absorbances A_s , A_c et A_m respectivement associées au solvant, à la cuve et à la matrice. Prendre le blanc avec une cuve vide induirait également une erreur de justesse. Dans ce cas, l'ajout de solvant réduit les réflexions à l'intérieur de la cuve par diminution du contraste d'indice, ce qui induit un biais négatif de 0,034 uA auquel il faut rajouter l'absorbance du solvant et de la matrice.

L'analyse des atténuations via les transmissions optiques permet de mettre clairement en évidence l'origine des biais de justesse avec des blancs pris dans des conditions différentes de l'échantillon. Ainsi, dès que l'on n'enregistre pas le blanc dans les mêmes conditions optiques que l'échantillon, on s'expose à des biais de mesures liées à des pertes de propagation et/ou de réflexion. Il est à noter que dans les procédures utilisant une cuve vide ou « l'air » comme blanc, il est demandé de réaliser une mesure de « zéro », i.e. cuve pleine sans soluté, pour retrancher le biais de mesure. Ceci revient à faire le bon blanc mais avec une mesure intermédiaire, ce qui n'est généralement pas une bonne idée...

Le noir est-il vraiment noir ?

En présence d'une lumière parasite qui arrive sur le détecteur, les valeurs d'intensité lumineuse sont alors surévaluées. De plus, les capteurs délivrent toujours un signal même en l'absence de lumière, c'est ce que l'on appelle le courant d'obscurité. Ces deux contributions peuvent être assimilées à une intensité parasite I_{par} arrivant sur le détecteur. En rajoutant le terme $\alpha_{0 \rightarrow e} \cdot I_{\text{par}}$ à la fois sur les signaux S_{blanc} et S_{ech}

(éq. 4 et 5), on aboutit à une absorbance observée :

$$A_{\text{observée}} = -\log\left(\frac{S_{\text{ech}} + S_{\text{par}}}{S_{\text{blanc}} + S_{\text{par}}}\right) = -\log\left(\frac{T_x + f_{\text{par}}}{1 + f_{\text{par}}}\right) \quad (10)$$

où $f_{\text{par}} = \frac{I_{\text{par}}}{T_{\text{blanc}} \cdot I_0} = \frac{S_{\text{par}}}{S_{\text{blanc}}}$ est la fraction de lumière parasite par rapport à la lumière traversant le blanc. Les courbes donnant l'absorbance observée (ou mesurée) en fonction de l'absorbance du soluté pour différentes valeurs de f_{par} sont tracées sur la *figure 4*.

Pour les faibles absorbances, les courbes suivent bien la droite $A_{\text{observée}} = A_{\text{soluté}}$, mais elles finissent toutes par s'en éloigner pour converger vers une asymptote dépendant de f_{par} . L'analyse de l'équation (10) montre qu'une « faible absorbance » signifie $f_{\text{par}} \ll T_x$ et $f_{\text{par}} \ll 1$, ceci afin de négliger f_{par} pour retrouver la formule (6) donnant l'absorbance du soluté. Autrement dit, quand l'intensité de lumière traversant l'échantillon est grande devant l'intensité de lumière parasite, il ne sera pas nécessaire de se préoccuper de la lumière parasite et la réponse sera linéaire. Toutefois, lorsque l'on augmente la concentration en soluté, l'absorbance due à ce dernier augmente et la transmittance correspondante T_x diminue. On arrive fatalement à un niveau de concentration pour lequel l'intensité lumineuse traversant la cuve est du même ordre de grandeur que la lumière parasite (f_{par} n'est plus négligeable devant T_x). Dans ce cas, la formule (10) diverge de la formule (6), c'est le régime de saturation de l'absorption. À la limite, quand $T_x = 0$ (il n'y a plus de lumière qui traverse la cuve), le détecteur délivre toujours le signal parasite. Berné par cette lumière parasite, le système ne détectera jamais une lumière plus petite que I_{par} . Ainsi au lieu d'avoir une absorption qui tend vers l'infini quand la concentration augmente, on observe une absorption qui tend vers la valeur asymptotique donnée par :

$$A_{\text{sat}} = -\log\left(\frac{f_{\text{par}}}{1 + f_{\text{par}}}\right) \sim -\log(f_{\text{par}})$$

C'est le phénomène de « saturation de l'absorption » qui ne correspond ni à une saturation du capteur ni à une « limitation de la loi de Beer-Lambert », mais plutôt à un signal transmis trop faible devant le fond parasite.

On peut conclure ici en revenant sur une croyance générale qui prétend que « la loi de Beer-Lambert n'est valable que pour $A < 1$ ». En ne se penchant pas sur l'origine de la mesure, on confond limite instrumentale et limite fondamentale. La loi de Beer-Lambert n'a pas de limite fondamentale tant que les intensités lumineuses ne sont pas trop grandes pour

induire des phénomènes non linéaires ou des déplétions de population, ce qui nécessite des intensités lumineuses bien supérieures à celles utilisées en spectrophotométrie classique. En revanche, l'absorbance mesurée diverge de l'absorbance vraie en fonction d'un paramètre instrumental clairement défini : la fraction de lumière parasite par rapport à la lumière utile traversant l'échantillon à la longueur d'onde de travail. L'utilisation massive de spectrophotomètres de paillasse bon marché avec des gammes dynamiques de l'ordre de 1 explique peut-être cette idée communément admise. En fait, ces appareils ont des niveaux de lumière parasite de l'ordre de 10 % de l'intensité de leur lampe, ce qui induit leur limite de mesure autour de $A = 1$.

Pour étendre le domaine linéaire expérimental, les fabricants d'instruments construisent des appareils avec des sources très intenses et des intensités de lumière parasite les plus faibles possibles. Certains instruments mesurent aussi la valeur de l'intensité de lumière parasite pour pouvoir ensuite la soustraire de l'intensité de lumière utile, que ce soit pour le blanc ou pour l'échantillon. Les appareils double faisceau haut de gamme proposent des gammes dynamiques de l'ordre de 6, soit des niveaux de lumière parasite représentant seulement un millionième de la lumière utile. La gamme de linéarité des spectrophotomètres d'absorption va également dépendre de la longueur d'onde du fait que l'intensité émise par la lampe dépend aussi de la longueur d'onde considérée. De plus, lorsque l'on travaille à des longueurs d'onde proches des seuils de coupure des solvants ou des cuves, même avec une lampe intense, la lumière traversant l'échantillon est fortement réduite, diminuant le niveau de saturation de l'absorption.

Et malgré ces précautions, ce n'est toujours pas droit !

Toutes les relations présentées précédemment sont associées à une radiation monochromatique. Or il existe toujours une polychromaticité caractérisée par la bande passante des spectrophotomètres : autour de la valeur nominale de la longueur d'onde sélectionnée λ_{nom} , des radiations électromagnétiques de longueurs d'onde comprises dans l'intervalle $[\lambda_{nom} - BP/2; \lambda_{nom} + BP/2]$ traverseront la cellule de mesure et seront ainsi détectées par le capteur. Si pour simplifier, on considère deux radiations λ' et λ'' , alors $A_{exp} = \log\left(\frac{S'_{blanc} + S''_{blanc}}{S'_{ech} + S''_{ech}}\right)$ ne sera linéairement dépendant de la concentration que si les coefficients d'absorption molaire aux deux longueurs d'onde sont identiques, si les intensités lumineuses émises par la source à ces deux longueurs d'onde sont identiques, et si les coefficients de conversion optique-électrique sont identiques. Ainsi, même pour une intensité de lumière émise constante sur la largeur de bande passante et des coefficients de conversion identiques, une dérive à la linéarité pourra être observée si le coefficient d'absorption molaire varie significativement dans l'intervalle de longueur d'onde défini par la bande passante. Ce phénomène est cependant minimisé lorsque l'utilisateur sélectionne une longueur d'onde de travail proche sur le spectre de la longueur d'onde d'un maximum d'absorption.

Pour certaines espèces chimiques, lors d'une augmentation de la concentration de l'espèce en solution, les molécules peuvent s'associer en raison d'interactions soluté-soluté. Pour d'autres espèces, le pH peut avoir un effet conduisant là aussi

à la transformation en d'autres espèces chimiques qui n'absorbent pas les radiations de la même façon. Dans tous les cas, la nature même des espèces en solution change, et ces nouvelles espèces et leurs concentrations respectives devront être considérées dans le processus d'absorption lumineuse.

Ainsi, différentes raisons peuvent induire un écart à la linéarité entre l'absorbance mesurée et la quantité de matière introduite dans un volume donné de solution, mais rassurons-nous, la loi de Beer-Lambert n'est nullement invalidée par ces observations !

C'est finalement l'analyseur qui fait l'analyste !

La construction d'un colorimètre à partir d'un microcontrôleur est une situation déclenchante pour aborder nombre de notions évoquées dans les paragraphes précédents. Ainsi, après avoir initié les étudiant-e-s à l'allumage de LED et à la mesure d'un signal, et avoir observé visuellement la disparition de la lumière émise par plusieurs LED de couleurs différentes lors du passage au travers d'une solution colorée, plusieurs défis pourront être proposés pour élaborer un colorimètre qui pourra ultérieurement être destiné à la mesure de la concentration d'un composé coloré. Cette construction permettra d'implémenter l'usage de la relation (6) pour atteindre la valeur de l'absorbance d'une solution.

Le colorimètre travaillera à la lumière ambiante (ce qui est une source de lumière parasite) et le signal sur le détecteur sera mesuré dans un premier temps LED éteinte (on aura alors accès à $S_{parasite}$) puis LED allumée (on aura alors accès à $S_{on} = S_{ech} + S_{parasite}$) (voir encadré). La différence entre les valeurs permettra de retrouver S_{ech} .

Pour aller vers la loi de Beer-Lambert avec cet outil, une solution d'un composé coloré peut être simplement ajoutée à l'aide d'un simple compte-gouttes dans le récipient servant de cellule de mesure (un pot de yaourt en verre blanc par exemple) et contenant une centaine de millilitres d'eau (l'effet de la variation de volume total suite à l'ajout est alors négligeable). La figure 5 représente le signal mesuré LED allumée $S_{on} = S_{ech} + S_{parasite}$, le signal mesuré LED éteinte $S_{parasite}$ et S_{ech} en fonction du nombre de gouttes d'une solution de permanganate ajoutée dans l'eau.

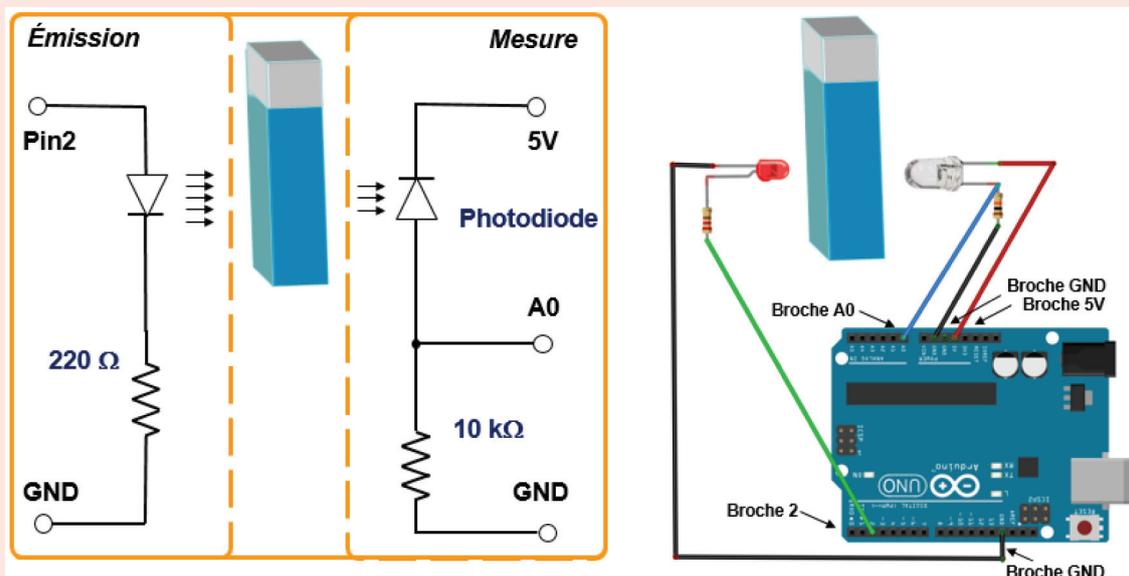
Le fait de tracer cette figure avant de passer au graphique classique $A = f([X])$ permet de prendre conscience de la grandeur mesurée avant de transformer cette grandeur en une autre information utile au chimiste : l'absorbance. Cette dernière peut être directement obtenue via l'équation (6) en considérant que le signal S_{ech} observé en l'absence d'ajout correspondant en fait à S_{blanc} . L'absorbance de la solution pour un nombre (N_g) quelconque de gouttes ajoutées est ainsi calculée par la relation :

$$\log\left(\frac{S_{blanc}}{S_{ech}}\right) = A_X = \log\left(\frac{S_{N_g=0}}{S_{N_g}}\right) = \varepsilon \cdot L \cdot [X] \quad (11)$$

La figure 6 présente un exemple de courbes (absorbance en fonction du nombre de gouttes de solution mère ajoutées) dans un pot de yaourt rempli d'eau. Trois composés colorés différents ont été utilisés et le signal a été mesuré à trois longueurs d'onde différentes à l'aide d'un colorimètre construit avec une LED à trois couleurs (voir document en annexe*). Pour ces trois composés, la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption du composé et la longueur d'onde du maximum d'émission de la LED sont pour l'alizarine $\lambda_{max} = 430 \text{ nm} / \lambda_{LED} = 472 \text{ nm}$, pour le

Mise en place du système de mesure

Le programme et le montage ci-dessous permettent de construire les bases d'un colorimètre, puis d'afficher les valeurs du signal diode allumée, diode éteinte, et la différence entre ces valeurs. Un programme complet pour la mesure d'absorbance est disponible dans les documents en annexe*.



```

int PinLED = 2;           // Numéro de la broche Alimentation de la LED
int PinPhotoDiode = A0;  // Numéro de la broche signal photodiode
int Son;                 // LED allumée => Sech + Sparasite
int Spar;                // LED éteinte => Sparasite
int Sech;                // Différence entre Son et Spar

//-----
void setup() {
  Serial.begin(9600);    // Communication avec le moniteur série
  pinMode(PinLED, OUTPUT); // Définition broche connectée à la LED
  pinMode(PinPhotoDiode, INPUT); // Définition broche connectée à la photodiode
}
//-----
void loop() {

  digitalWrite(PinLED, LOW); delay(10); //-- LED éteinte attente 10 ms ---
  Spar = analogRead(PinPhotoDiode);

  digitalWrite(PinLED, HIGH); delay(10); //-- LED allumée, attente 10ms ---
  Son = analogRead(PinPhotoDiode);

  Sech=Son-Spar;

  Serial.print(Son);   Serial.print(" ");
  Serial.print(Spar);  Serial.print(" => ");
  Serial.println(Sech);

}

```

permanganate $\lambda_{\max} = 530 \text{ nm} / \lambda_{\text{LED}} = 523 \text{ nm}$, et pour l'érioglaurine $\lambda_{\max} = 629 \text{ nm} / \lambda_{\text{LED}} = 637 \text{ nm}^{**}$.

Il est intéressant de constater que le modèle associé à la courbe obtenue pour le colorant jaune (alizarine) s'écarte de la linéarité malgré les faibles valeurs d'absorbance observées. On peut ici illustrer le caractère polychromatique d'une diode qui induit un écart à la linéarité important car la longueur d'onde nominale de la LED n'est pas centrée sur la longueur d'onde maximale d'absorption du soluté en solution : la LED

à 472 nm (bande passante voisine de 40 nm) émet de façon non homogène dans un domaine de longueur d'onde où l'absorbance de l'alizarine varie énormément.

Ne pas avoir une absorbance linéairement dépendante de la concentration n'est pas un obstacle pédagogique à ce stade. Bien au contraire, dans une démarche scientifique, il sera important de vérifier l'adéquation modèle-données, et donc de définir le domaine de validité du modèle proposé. Ainsi, ce qui pourrait apparaître comme une « invalidation de la loi »

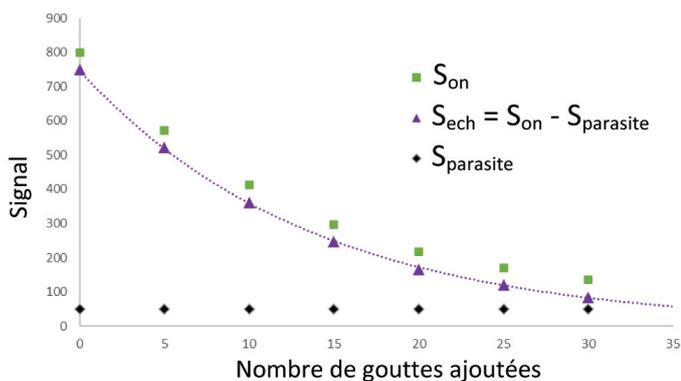


Figure 5 - Signal (diode électroluminescente verte) en fonction du nombre de gouttes ajoutées d'une solution de permanganate de potassium (modélisation de S_{ech} par une fonction exponentielle).

est au contraire un élément déclenchant pour une discussion avec les étudiant-e-s autour de la modélisation.

Un vrai couteau suisse pédagogique

L'utilisation de microcontrôleur pour l'enseignement permet donc de revenir sur les concepts sous-jacents à la notion d'absorbance en abordant toutes les étapes qui, à partir d'un signal, permettent d'obtenir une grandeur utilisable par le chimiste. Le très faible coût de l'instrumentation, sa simplicité de mise en œuvre et le très faible danger de l'équipement et des produits permettent à l'étudiant-e, seul-e ou en groupe, de manipuler sans contraintes techniques fortes. Elle-il peut ainsi manipuler de façon autonome, dans un environnement favorisant la prise d'initiative, et même en l'absence d'enseignant-e (pourquoi ne pas proposer ce travail à la

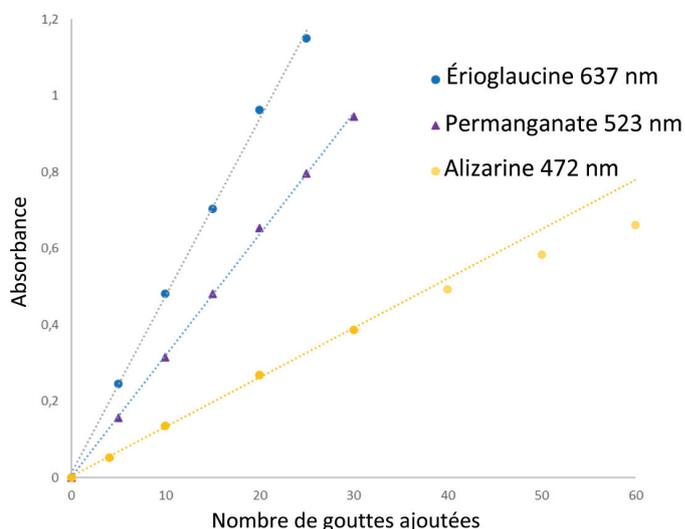


Figure 6 - Absorbance mesurée à trois longueurs d'ondes différentes en fonction du nombre de gouttes ajoutées pour trois composés colorés.

maison pour des activités en distanciel ?), ce qui limite la « pression » associée au mauvais usage des outils et méthodes. Dans une telle approche ouverte, l'étudiant-e pourra s'engager dans une démarche analytique expérimentale de résolution de problème, s'interroger sur la qualité des informations recueillies et donc développer une démarche scientifique. En effet, une fois le colorimètre multi-longueur d'onde développé, celui-ci peut être utilisé pour des études thermodynamiques ou cinétiques [5], avec des produits que l'on trouve dans le commerce, dans un souci de mise en œuvre d'expériences à faible coût et réalisables à la maison.

* Annexes en téléchargement libre sur www.lactualitechimique.org (page liée à cet article).

** Le nombre de gouttes aurait bien sûr pu être transformé en concentration, connaissant le volume initial d'eau dans le pot de yaourt, la concentration des solutions mères et la masse d'une goutte (environ 0,034 g avec le compte-gouttes utilisé), mais par simplicité, cette opération n'a pas été réalisée pour les expériences présentées.

[1] J. Randon, Repenser l'enseignement des sciences analytiques par la construction et l'évaluation d'instruments: un titrateur automatique pour les dosages acido-basiques, *L'Act. Chim.*, **2020**, 451, p. 41-48.

[2] B.E.A. Saleh, M.C. Teich, *Fundamentals of Photonics*, John Wiley & Sons, **2007**.

[3] <https://refractiveindex.info> (consulté le 22 juin 2020).

[4] J. Randon, Construire un colorimètre et évaluer l'incertitude des méthodes de dosage par étalonnage, *L'Act. Chim.*, **2020**, 452, p. 29-34.

[5] J. Randon, Des activités à la maison pour développer les compétences scientifiques, *L'Act. Chim.*, **2020**, 453, p. 7-8.

Info@em-technique.fr **emtechnik**

Tuyaux Silicone – PTFE – FEP – PFA
FDA – CE 1935/2004 – USP Class VI – TSE/BSE

Séparateurs – Filtres – Distributeurs – Clapets
Raccords – Vannes – Débitmètres - Clamps

Joints-Clamp.fr & Tuyaux-plastique.fr
EM-TECHNIQUE.FR

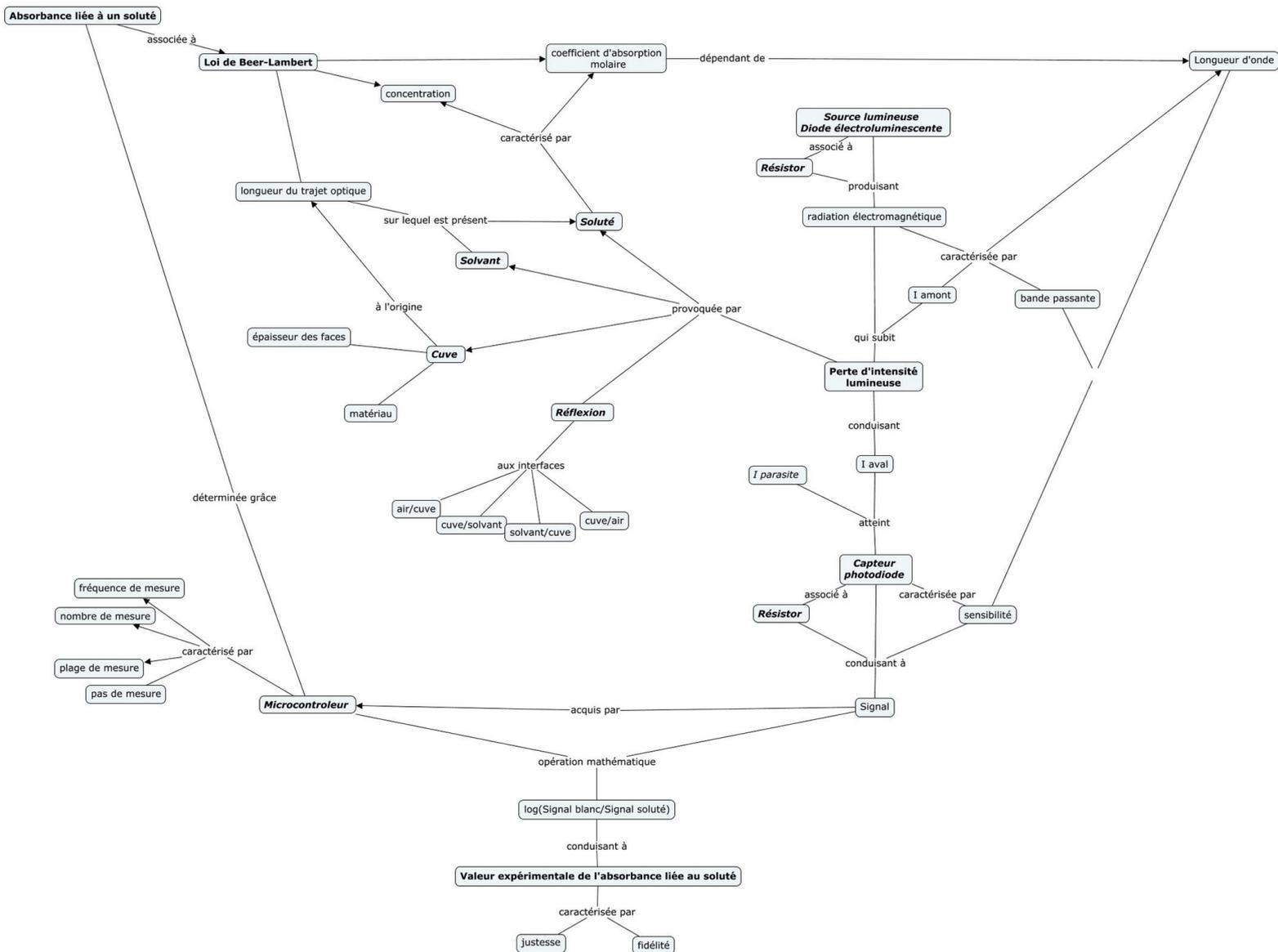
Jérôme RANDON*,
Professeur d'université, Université Claude Bernard Lyon 1,
Institut des Sciences analytiques, Villeurbanne.
Jonathan PIARD,
Professeur agrégé, Département de Chimie, ENS Paris-Saclay.
Stéphane GUY,
Professeur d'université, Université Claude Bernard Lyon 1,
CNRS, Institut Lumière Matière, Lyon.

*randon@univ-lyon1.fr

Compléments à l'article « Comment l'information jaillit de la lumière : retour sur les notions cachées liées à une « mesure d'absorbance » », J. Randon, J. Piard et S. Guy (*L'Act. Chim.*, 2020, 455, p. 52)

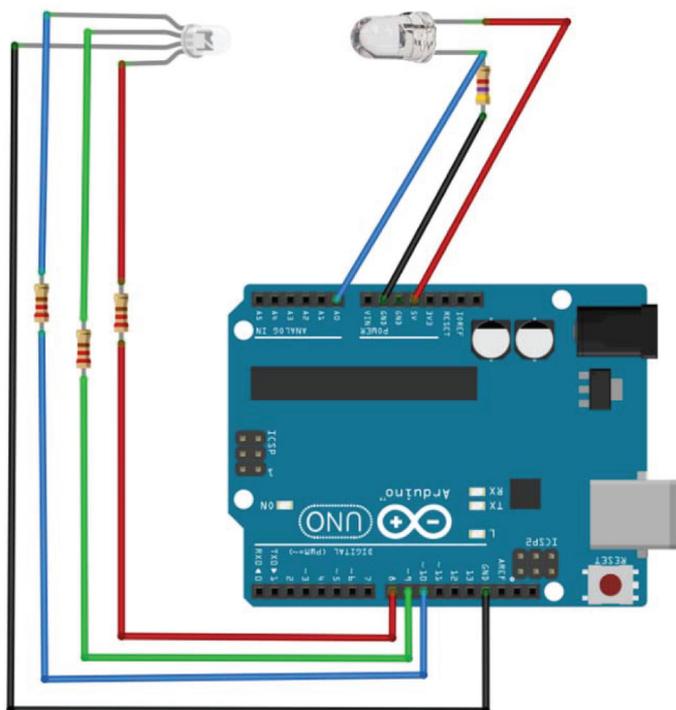
Annexe 1 - Mesure d'absorbance

Carte conceptuelle autour de la mesure d'une absorbance avec un colorimètre à base d'un microcontrôleur, d'une diode électroluminescente et d'une photodiode.



Annexe 2 - Système de mesure multi-longueur d'onde

Utiliser une diode électroluminescente à trois couleurs, les trois longueurs d'onde correspondantes (472 nm, 523 nm et 637 nm) pourront être étudiées successivement.



Il est alors possible d'ajuster les différentes résistances de la diode trois couleurs, et éventuellement d'installer trois photodiodes avec pour chacune une résistance de charge ajustée (ou pour les plus électroniciens, une seule photodiode avec un jeu de résistances et transistors pour ajuster le signal mesuré à la page 0-1 023).

Une vidéo de principe de fonctionnement d'un tel instrument peut être consultée sur <https://clarolineconnect.univ-lyon1.fr/workspaces/136817/open/tool/home#/tab/165239>