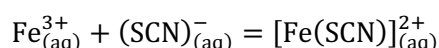


TP n°2

Mesure de la constante de formation d'un complexe de coordination

Objectif :

On souhaite déterminer expérimentalement la valeur de la **constante de formation du complexe thiocyanatofer (III)** en solution aqueuse, qui est la constante d'équilibre associée à l'équation de réaction suivante :



En solution aqueuse, le complexe $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ possède une couleur rouge très intense, alors que les ions ferriques sont orange pâle et les ions thiocyanate sont incolores.

Travail à réaliser :

Remarque préliminaire : Toutes les solutions utilisées dans ce TP contiennent une concentration $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ en acide nitrique HNO_3 . Ceci permet de s'assurer que le milieu reste nettement acide afin qu'aucun précipité parasite n'apparaisse.

Afin de maintenir cette concentration dans les solutions préparées, on utilisera exclusivement la solution d'acide nitrique à $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pour réaliser toutes les dilutions.

1) Réalisation des spectres d'absorption du complexe $[\text{Fe}(\text{SCN})]_{(\text{aq})}^{2+}$ et de l'ion Fe^{3+} seul

On dispose des deux solutions suivantes :

- une solution (S0) de $\text{K}(\text{SCN})$ de concentration $C_0 = 5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- une solution (S1) de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ de concentration $C_1 = 0,500 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

Note : Pour cette partie et la suivante, afin d'éviter toute contamination croisée des solutions et de limiter le nombre de pipettes utilisées, les prélèvements des solutions (S0) et (S1) seront toujours effectués avec la même pipette (pipette graduée de 5 mL pour (S0) et pipette jaugée de 5 mL pour (S1)).

- Dans une fiole jaugée de 10 mL, introduire précisément $x = 2$ mL de solution (S0) (en utilisant une pipette graduée de 5 mL) et 5 mL de solution (S1) (avec une pipette jaugée). Compléter au trait de jauge avec la solution d'acide nitrique en mélangeant bien.
Le changement de couleur observé peut s'interpréter par la formation du complexe $[\text{Fe}(\text{SCN})]_{(\text{aq})}^{2+}$, selon la réaction rappelée au début de cet énoncé. En faisant **l'hypothèse** que cette réaction de complexation est **quasi-totale**, déterminer par bilan de matière la composition de la solution que vous venez de préparer.
N.B. À la fin de la séance, lorsque la valeur de la constante d'équilibre aura été déterminée, on vérifiera la validité de cette hypothèse en calculant la concentration résiduelle en réactif limitant.
- Prendre le **spectre** de cette solution dans le domaine UV-visible permis par le spectrophotomètre dont vous disposez. Imprimer le spectre obtenu. Noter la valeur de l'absorbance **à la longueur d'onde $\lambda = 580 \text{ nm}$** , que l'on notera A_2 (car $x = 2$ mL de solution de $\text{K}(\text{SCN})$ ont été introduits dans la fiole).
- Dans une fiole jaugée de 10 mL, introduire précisément 5 mL de solution (S1) et compléter au trait de jauge avec la solution d'acide nitrique en agitant bien.
- Prendre le **spectre** de cette solution comme précédemment et l'imprimer. Noter l'absorbance A_0 à la longueur d'onde $\lambda = 580 \text{ nm}$.

2) Réalisation de la droite d'étalonnage du complexe $[\text{Fe}(\text{SCN})]_{(\text{aq})}^{2+}$

- Dans la fiole jaugée de 10 mL, préparer 5 solutions comme précédemment, en introduisant à chaque fois x mL de solution (S0) avec la pipette graduée et 5 mL de solution (S1) et en complétant au trait de jauge avec la solution d'acide nitrique. On choisira des valeurs de x dans l'intervalle $[1,0; 4,5]$, hormis la valeur 2,0 déjà réalisée dans l'étape précédente. Relever l'absorbance A_x de chacune de vos solutions à la longueur d'onde 580 nm.
- Comme dans la partie 1), en faisant l'hypothèse que la réaction de complexation est quasi-totale, déterminer quelle est la concentration $[\text{FeL}]_x$ du complexe dans chaque solution préparée.
- Tracer alors, grâce au logiciel Libre Office_Calc, la **droite d'étalonnage** du complexe à 580 nm, en portant vos 6 points expérimentaux ($[\text{FeL}]_x; A_x$) sur un graphe et en réalisant une régression linéaire. Peut-on valider le fait que vos résultats expérimentaux suivent la loi de Beer-Lambert dans le domaine de concentrations étudié ? Déterminer alors la valeur expérimentale du coefficient ϵl , assortie de son incertitude-type.

3) Mesure de la constante de formation du complexe $[\text{Fe}(\text{SCN})]_{(\text{aq})}^{2+}$

Lors du tracé de la droite d'étalonnage précédente, on s'était placé en grand excès d'ions Fe^{3+} , afin de rendre la formation du complexe quasi-totale.

Comme on veut maintenant mesurer la constante de formation du complexe, on va se placer dans des conditions où les ions Fe^{3+} et $(\text{SCN})^-$ sont apportés dans **des concentrations du même ordre de grandeur**. On veillera toutefois à ce que la concentration apportée d'ions Fe^{3+} soit supérieure à celle des ions $(\text{SCN})^-$; en effet, un excès d'ions $(\text{SCN})^-$ pourrait entraîner la formation non négligeable de complexes $[\text{Fe}(\text{SCN})_2]^+$ (ou avec davantage encore d'ions thiocyanate), ce qu'on ne souhaite pas ici.

La réaction de formation du complexe n'étant plus quasi-totale, on pourra ainsi mesurer ou calculer les concentrations de toutes les espèces à l'équilibre avec une bonne précision, dans le but d'en déduire la valeur de la constante d'équilibre demandée.

On dispose dans cette étape des solutions suivantes :

- la même solution (S0) de $\text{K}(\text{SCN})$ de concentration $C_0 = 5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ que précédemment
- une solution (S2) de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ de concentration $C_2 = 0,0100 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Dans une fiole jaugée de 25 mL, introduire précisément 10 mL de solution (S0) et 10 mL de solution (S2). Compléter au trait de jauge avec la solution d'acide nitrique en agitant bien.
- Mesurer l'absorbance de votre solution à la longueur d'onde 580 nm. Grâce à la valeur de ϵl déterminée à la partie 2), en déduire la valeur de la concentration d'équilibre du complexe, en estimant l'incertitude.
- En posant un tableau d'avancement, déterminer les concentrations à l'équilibre des trois constituants de la réaction de formation du complexe, et en déduire la valeur de la constante d'équilibre de la réaction, en évaluant l'incertitude.
- Rassembler les valeurs des constantes d'équilibre trouvées par l'ensemble des binômes, et en déduire par évaluation statistique la meilleure valeur possible pour l'ensemble du groupe, ainsi que l'incertitude.

Compte-rendu :

Au fur et à mesure de la séance, on rédigera un compte-rendu, en respectant le plan suivant :

Introduction

- objectif de la séance ; création des variables nécessaires ;
- grandes lignes du protocole : décomposition du problème en différentes étapes, avec justification sommaire, annonce du plan
- principales règles de sécurité à respecter (après analyse des fiches de sécurité)

Partie 1 : Spectres, choix de la longueur d'onde d'étude

- concentration des solutés colorés dans chacune des deux solutions préparées
- comparaison des deux spectres (à joindre au compte-rendu, annexes 1 et 2), des valeurs de A_0 et A_2 et justification de la longueur d'onde $\lambda = 580$ nm pour l'étude

Partie 2 : Droite d'étalonnage

- concentration du complexe dans chaque solution en fonction de x en rappelant l'hypothèse réalisée
- en annexe 3, feuille Libre_Office_Calc contenant la droite d'étalonnage et tout ce qui est nécessaire pour la procédure de validation de la loi de Beer-Lambert et la détermination de ϵl
- validation ou non de la loi de Beer-Lambert dans le domaine de concentrations étudié
- valeur retenue pour ϵl avec son incertitude (encadrer le résultat)

Partie 3 : Détermination de la valeur de la constante de formation du complexe

- le résultat de votre mesure d'absorbance et la concentration du complexe que vous en déduisez, avec son incertitude
- la tableau d'avancement pour déterminer toutes les concentrations à l'équilibre
- la conclusion sur la valeur de la constante d'équilibre avec votre incertitude (encadrer ce résultat)
- la mise en commun des résultats du groupe, et la détermination statistique de la valeur de constante d'équilibre et de son incertitude (encadrer ce résultat)

Conclusion

- comparaison de votre incertitude évaluée avec l'écart-type des résultats du groupe
- comparaison de votre résultat et de celui du groupe avec la valeur trouvée dans les « Tables de chimie » de Jacques Tonneau : $K_f = 1,5 \cdot 10^2$
- vérification de l'hypothèse de la réaction quasi-totale dans la partie 1 (ou dans la partie 2) ; pourquoi s'est-on placé en très large excès d'ions Fe^{3+} dans ces parties ?
- conclusion générale : êtes-vous satisfaits de vos résultats ? s'ils sont différents de ceux de la littérature, quelle pourraient en être les causes ?

Ce compte-rendu devra être rendu en fin de séance, accompagné des grilles d'évaluation annotées.

NOM :

Grille d'évaluation TP n°2

Compétences générales		A	B	C	D
S'approprier	Formuler l'objectif, énoncer ou rechercher la définition des termes utilisés Identifier les grandeurs pertinentes, leur attribuer un symbole Rechercher les informations sur le matériel et les produits utilisés Énoncer une problématique d'approche expérimentale				
Analyser	Justifier un protocole expérimental Évaluer l'ordre de grandeur d'un phénomène ou de ses variations				
Réaliser	Mettre en œuvre un protocole dans une durée impartie Utiliser le matériel de manière adaptée (voir détails ci-dessous) Évaluer l'incertitude associée à une mesure (voir détails ci-dessous) Placer les résultats des mesures sur un graphe				
Valider	Confronter un modèle à des résultats expérimentaux (voir détails ci-dessous) Déterminer expérimentalement la valeur d'une constante d'équilibre Comparer son résultat final aux données de la littérature ou d'autres binômes et faire une analyse critique				
Communiquer	Rédiger de manière synthétique, organisée, compréhensible S'appuyer sur des graphes Faire ressortir les résultats les plus importants, par exemple en les encadrant Utiliser un vocabulaire scientifique adapté Présenter les résultats numériques avec leur unité, un nombre de chiffres significatifs cohérent et une incertitude				

Capacités spécifiques
<i>utilisation du matériel</i>
Mesurer des volumes en sélectionnant le matériel adapté à la précision requise Régler le « zéro » pour une mesure d'absorbance Prendre le spectre UV-visible d'une solution Mesurer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée
<i>mesures et incertitudes</i>
Évaluer une incertitude-type par une approche de type A et par une approche de type B Utiliser la loi de composition des incertitudes pour un produit ou un quotient Écrire, avec un nombre de chiffres significatifs adapté, le résultat d'une mesure Comparer deux valeurs à l'aide de leur écart normalisé
<i>validation d'un modèle linéaire</i>
Réaliser une régression linéaire avec un tableur, extraire les paramètres du modèle Analyser les résultats obtenus à l'aide d'une procédure de validation : analyse graphique intégrant les barres d'incertitude et analyse des résidus normalisés Évaluer l'incertitude du coefficient de proportionnalité dans le cas d'un modèle linéaire

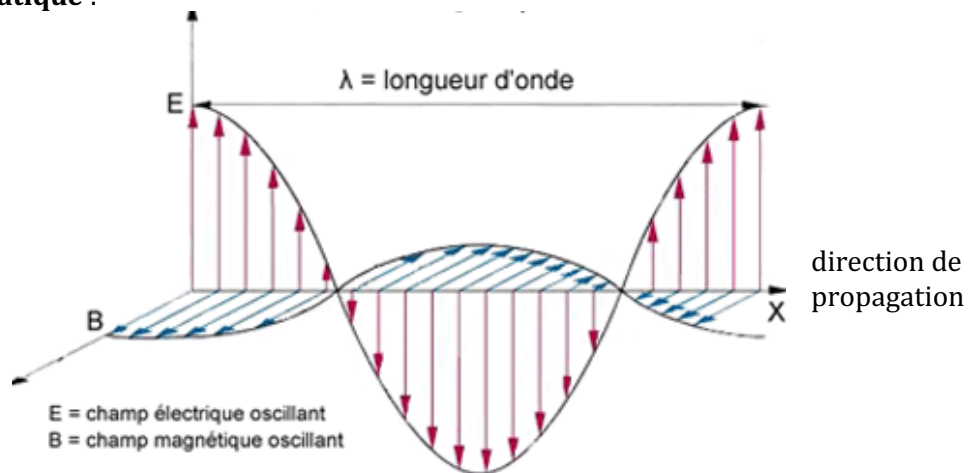
Note :	
---------------	--

I - Quelques rappels sur la lumière et les couleurs

1.1 Qu'est-ce que la lumière ?

En fonction des observations que l'on peut en faire, la lumière peut manifester les propriétés :

- **d'une onde**, modélisée en physique classique comme une radiation *électromagnétique* transversale, les grandeurs oscillantes étant le champ électrique \vec{E} et le champ magnétique \vec{B} . Elle est caractérisée par une longueur d'onde unique λ lorsqu'on parle de lumière **monochromatique** :



- **d'un flux de particules élémentaires**, que l'on nomme photons. Chaque photon est assimilable à un quantum d'énergie $E = \frac{hc}{\lambda}$ possédant une masse nulle.

Cette « dualité onde-corpuscule » est un des fondements de la physique quantique.

1.2 La perception des couleurs

a) Lumière monochromatique

L'œil humain n'est sensible qu'aux radiations électromagnétiques dont la longueur d'onde est comprise entre 400 et 700 à 800 nm.

Lorsqu'une lumière monochromatique de longueur d'onde λ atteint l'œil, on perçoit une lumière colorée. La sensation de couleur est directement liée à la longueur d'onde de la radiation. Ainsi, lorsque λ croît de 400 à 700 nm, on perçoit successivement : **violet, bleu, vert, jaune, orange et rouge**. Les valeurs en nanomètres des domaines de longueurs d'onde associés à chaque couleur peuvent être lues sur le cercle chromatique (ou « roue des couleurs ») donné ci-après.

On constate que de nombreuses couleurs connues, par exemple le rose, le brun, le blanc... n'existent pas dans l'arc-en-ciel : ce sont des perceptions qui correspondent à la superposition de plusieurs longueurs d'onde dans un même rayon lumineux, c'est-à-dire à une lumière **polychromatique**.

b) Lumière polychromatique

Une lumière qui renferme plusieurs radiations de longueurs d'onde différentes est appelée lumière **polychromatique**. La lumière qui nous arrive du soleil est un bon exemple de lumière polychromatique. Elle est appelée **lumière blanche**. Elle renferme, entre autres, **l'ensemble des radiations** de longueur d'onde comprise entre 400 et 800 nm. On peut s'en apercevoir en décomposant la lumière par un dispositif **dispersant** : prisme, réseau, gouttelettes d'eau dans le cas de l'arc-en-ciel...

En lumière polychromatique, la perception des couleurs par l'œil est beaucoup plus complexe qu'en lumière monochromatique. Par exemple, la superposition des radiations rouge et verte est perçue

comme jaune, l'œil est incapable de faire la différence avec une lumière monochromatique jaune ! Ceci est mis à profit dans les écrans de télévision ou d'ordinateurs pour composer les couleurs à partir de mélanges de seulement trois radiations en proportions variables : rouge, vert et bleu. On parle de **synthèse additive** des couleurs.

La couleur des objets qui nous entourent est due à un processus différent :

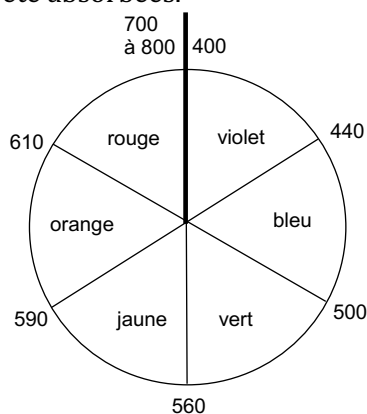
Un objet éclairé en lumière blanche apparaît blanc s'il diffuse et renvoie toutes les radiations sans les absorber : il renvoie de la lumière blanche.

En revanche, un objet qui *absorbe* dans un certain domaine de longueur d'onde apparaît coloré : il renvoie toutes les radiations vers l'œil, sauf une certaine couleur. La couleur que l'on perçoit alors est appelée la **couleur complémentaire** de la couleur absorbée. On parle dans ce cas de **synthèse soustractive** de la couleur.

On peut avoir une idée (très vague toutefois) des couleurs complémentaires grâce au cercle chromatique (« roue des couleurs ») ci-après.

La couleur complémentaire est la couleur diamétralement opposée sur le disque. Par exemple, un composé qui absorbe les radiations orange apparaît bleu ; un composé qui absorbe le violet apparaît jaune, etc...

Ce disque ne fait pas apparaître la couleur magenta (sorte de rose) ni plus généralement les couleurs pourpres. Ces couleurs, qu'on pourrait décrire comme des « rouge-violet », n'existent pas dans le spectre de la lumière blanche, ce sont des perceptions associées à une lumière où les longueurs d'onde voisines de 560 nm (jaune-vert) ont été absorbées.



Cercle chromatique ou roue des couleurs (longueurs d'onde approximatives en nm)

1.3 La lumière transporte de l'énergie

La lumière, et les rayonnements électromagnétiques en général, **transportent de l'énergie**.

Il existe différentes façons de l'exprimer :

On parle de **flux énergétique**, noté Φ , exprimé en watts (W) lorsqu'on désigne la puissance totale d'une source. On peut aussi désigner ainsi la puissance totale que reçoit une surface éclairée par un rayon lumineux, par exemple un récepteur optique.

Si on rapporte ce flux à l'unité de surface du rayon lumineux, on parle d'**éclairage énergétique**, noté E . L'unité est alors le watt par mètre carré ($W \cdot m^{-2}$).

Rapporté à une unité d'angle solide (angle à trois dimensions), le flux prend le nom d'**intensité énergétique**, notée I et exprimée en watts par stéradian ($W \cdot sr^{-1}$).

L'œil humain a une sensibilité fortement dépendante de la longueur d'onde. Par exemple, à intensité énergétique égale, la lumière jaune est perçue bien plus facilement que la lumière bleue.

C'est pourquoi il existe également des grandeurs dites *photométriques*, qui prennent en compte la sensibilité de l'œil (le flux lumineux exprimé en lumens, l'intensité en candelas, l'éclairage en lux...). On ne les utilisera pas ici.

Note : Comme l'œil humain, le récepteur du spectrophotomètre a une sensibilité très variable selon la longueur d'onde. C'est une des raisons pour laquelle il faut toujours régler le « zéro » à chaque fois que l'on fait une mesure d'absorbance après avoir modifié la longueur d'onde.

II - Le spectrophotomètre UV-visible

II.1 Description de l'appareil

La description schématique simplifiée d'un spectrophotomètre est fournie ci-après.

La **source** lumineuse est une lampe puissante de lumière blanche, émettant toutes les longueurs d'onde entre 300 et 800 nm environ. Certains appareils sont munis de sources lumineuses pouvant descendre jusqu'à des longueurs d'onde de 200 nm.

Le domaine spectral étudié est donc celui du proche ultraviolet et du visible : on parle de **spectrophotométrie UV-visible**.

Grâce à un diaphragme et une lentille, on obtient un faisceau parallèle. Celui-ci est alors décomposé par un **monochromateur**, de telle sorte qu'on obtienne un faisceau de lumière approximativement monochromatique. Le choix de la longueur d'onde λ en sortie du monochromateur est effectué par l'expérimentateur, soit par action directe sur un bouton, soit par l'intermédiaire d'un dispositif électronique.

Le faisceau traverse alors une **cuve**. La **cuve** (en verre ou en Plexiglas) doit être à faces parallèles pour éviter des effets de lentille. Elle est de longueur utile ℓ (longueur optique) et renferme la solution à analyser

ℓ vaut couramment 1 cm, parfois plusieurs cm.

Le rayon lumineux ayant traversé la cuve est focalisé sur un **détecteur**, qui mesure le flux énergétique du rayon lumineux.

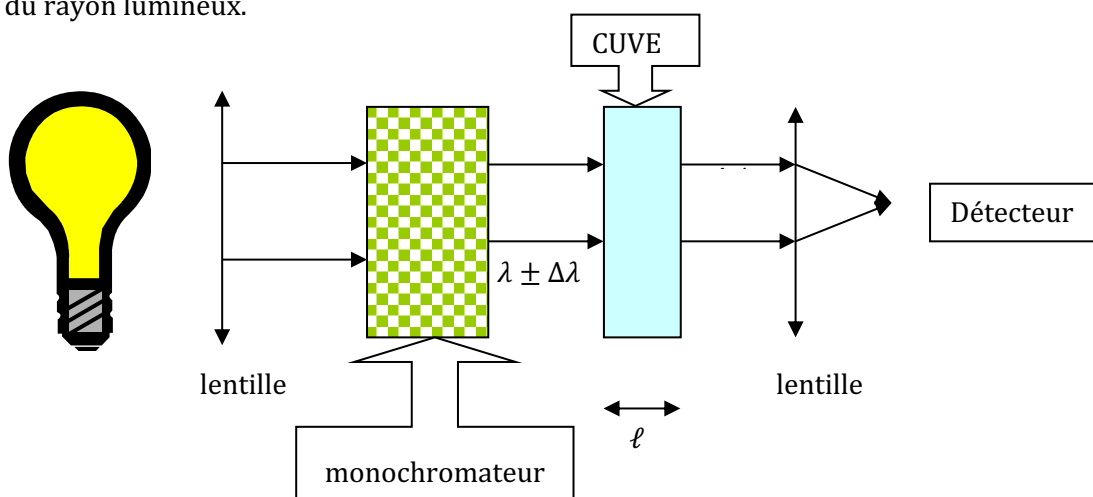


Schéma simplifié d'un spectrophotomètre

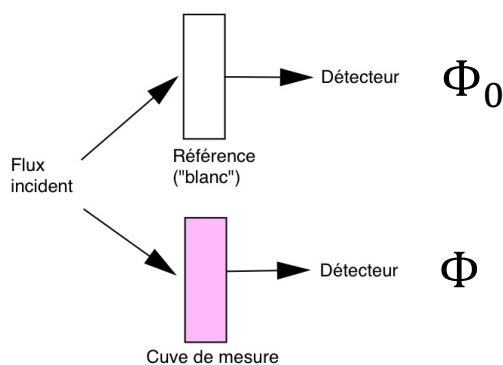
Remarque : la plupart des appareils récents fonctionnent sur un principe différent. L'échantillon est éclairé en lumière blanche, puis le signal en sortie est analysé par un traitement informatique, pour retrouver la contribution de chaque longueur d'onde au flux. Les résultats sont les mêmes qu'avec le spectrophotomètre « classique », mais les temps d'analyse sont fortement réduits et la précision meilleure.

II.2 L'absorbance : définition et mesure

Soit une solution (S) contenant une (ou plusieurs) espèce(s) chimique(s) colorée(s) dissoute(s) dans un solvant incolore.

Pour une longueur d'onde donnée, une mesure en spectrophotométrie est basée sur la comparaison du flux énergétique de deux rayons lumineux (figure ci-dessous) :

- un rayon monochromatique traversant une cuve de référence (appelée communément le « blanc »), contenant uniquement le même solvant que (S), et donc a priori transparente vis-à-vis du rayon lumineux ;
- le même rayon traversant une cuve identique contenant la solution (S).



Principe d'une mesure spectrophotométrique

Remarquons que le flux incident n'est jamais mesuré. En traversant la cuve de référence, il y a une légère perte d'énergie lumineuse, en raison de l'absorption propre éventuelle du solvant, mais aussi des effets dus à des réflexions, des réfractions ou des diffusions parasites du faisceau incident lorsqu'il traverse la cuve. Ces pertes se retrouveront de la même façon dans la cuve de mesure, à condition de la prendre strictement identique (taille, matériau) et remplie du même solvant.

Dans ce cas, la comparaison de Φ et de Φ_0 permet d'isoler l'absorption due aux espèces chimiques dissoutes uniquement.

On définit alors les deux grandeurs spectrophotométriques :

- La **transmittance** T :

$$T = \frac{\Phi}{\Phi_0}$$

qui est la fraction du flux lumineux transmis :

$T = 0$ signifie que le milieu est opaque, $T = 1$ (ou 100%) signifie qu'il est complètement transparent ($\Phi = \Phi_0$). On a bien sûr toujours $0 \leq T \leq 1$.

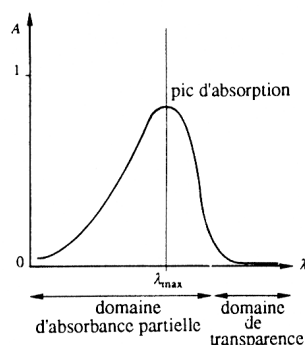
- L'**absorbance** A (anciennement appelée densité optique D ou DO) :

$$A = \log\left(\frac{1}{T}\right) = \log\left(\frac{\Phi_0}{\Phi}\right)$$

La transmittance décroît lorsqu'un composé situé dans la cuve absorbe davantage. Afin d'avoir une grandeur croissante avec le caractère absorbant, on utilise l'inverse de la transmittance, ou plus exactement le logarithme décimal de l'inverse de la transmittance, que l'on nomme **absorbance** ou **densité optique**. L'utilisation du logarithme est dû à l'application de l'absorbance dans la loi de Beer-Lambert (voir plus loin).

II.3 Spectre d'une espèce chimique

Le **spectre** d'une espèce chimique est la courbe représentant l'absorbance d'une solution de cette espèce en fonction de la longueur d'onde :



Exemple d'un spectre d'absorption

Obtention expérimentale : en principe, il faut répéter de nombreuses mesures d'absorbance en faisant varier à chaque fois la longueur d'onde. On n'oublie alors pas de « refaire le blanc » à chaque longueur d'onde, car la sensibilité du détecteur change avec λ . Ce processus est long et fastidieux. Avec les spectrophotomètres modernes, il suffit d'introduire la cuve de référence, d'appuyer sur une touche, puis de recommencer avec la cuve de mesure. L'appareil extrait alors les flux Φ et Φ_0 pour chaque longueur d'onde par une analyse de signal, calcule les absorbances et affiche le spectre, le tout quasi-instantanément.

Le spectre d'absorption d'un composé est de toute première importance :

- D'une part, un spectre est **caractéristique** d'une substance ; il peut être utilisé pour **l'identifier**. **La spectroscopie est une technique essentielle de l'analyse chimique.**
- D'autre part, la prise du spectre est la première étape à réaliser lorsqu'on veut utiliser la spectrophotométrie en tant que méthode d'analyse physique de concentrations. En effet, le spectre permet de choisir la longueur d'onde d'étude qui donnera les mesures d'absorbance les plus précises : voir paragraphe suivant.

II.4 La loi de Beer-Lambert

a) Énoncé de la loi ; domaine de validité

L'expérience montre (et on le retrouve par des considérations théoriques) que, pour une solution suffisamment diluée d'un soluté X et pour une lumière monochromatique, l'absorbance A est proportionnelle à la longueur de la cuve ℓ et à la **concentration** [X] de ce soluté, ce que traduit la loi de Beer-Lambert :

$$\text{Loi de Beer-Lambert :} \\ A = \epsilon_{X,\lambda} \cdot \ell \cdot [X]$$

$\epsilon_{X,\lambda}$ est appelé **coefficient d'absorption molaire** (ou **d'extinction molaire**) et s'exprime couramment en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.

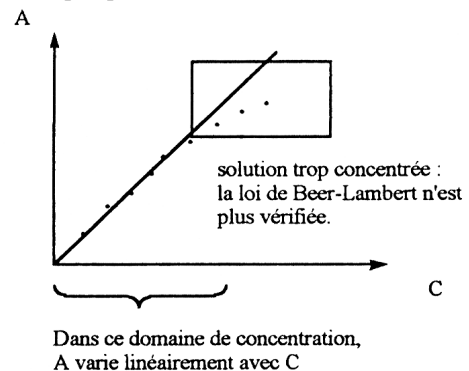
C'est un paramètre **caractéristique de l'espèce absorbante X, qui dépend fortement de la longueur d'onde**. C'est ce paramètre qui varie lorsqu'on trace le spectre d'une solution et qui est donc responsable de l'allure du spectre de X.

Notons que $\epsilon_{X,\lambda}$ dépend aussi de la température, mais de manière peu importante, tant qu'on reste au voisinage de la température ambiante.

[X] est la concentration du soluté X en $mol \cdot L^{-1}$ et ℓ la longueur optique de la cuve en cm.

La loi n'est valable **que si la concentration de l'espèce dissoute est suffisamment faible**. Si la concentration est trop grande, les entités du soluté sont trop proches les unes des autres et subissent entre elles des interactions qui modifient leurs propriétés d'absorption.

Ci-contre, l'évolution de l'absorbance avec la concentration $C = [X]$.



Courbe d'étalonnage d'une solution trop concentrée

En pratique, la spectrophotométrie est souvent utilisée en analyse quantitative pour mesurer une concentration. Une fois la courbe d'étalonnage réalisée, on peut ainsi très facilement déduire la concentration $C = [X]$ à partir de la mesure de l'absorbance de la solution.

Notons que **l'absorbance est une grandeur additive**. Dans le cas où l'on a plusieurs espèces chimiques absorbantes dans une cuve, chacune peu concentrée, on peut considérer qu'elles absorbent la lumière indépendamment. On peut alors écrire, à une longueur d'onde donnée :

Loi de Beer-Lambert dans le cas de plusieurs solutés :

$$A = \sum_i A_i = \ell \times \sum_i \epsilon_{i,\lambda} [X_i]$$

b) Choix de la longueur d'onde d'étude

Lorsqu'on souhaite utiliser la loi de Beer-Lambert pour déterminer des concentrations à partir de mesures d'absorbance, **la longueur d'onde choisie est couramment celle du maximum d'absorption λ_{max}** . Il y a deux raisons à cela :

1. C'est à cette longueur d'onde que la **sensibilité** S des mesures est la meilleure. En effet, $S = \frac{dA}{dC} = \epsilon \ell$ est maximale quand ϵ est maximal. Ceci signifie qu'on détectera de faibles concentrations par une forte absorbance.
2. De plus, au maximum d'absorption, on peut écrire $\frac{dA}{d\lambda} = 0$: cela permet de **réduire au maximum l'imprécision** $u(A)$ liée à l'incertitude expérimentale sur la valeur de λ ($u(\lambda)$ est de l'ordre du nanomètre sur les appareils de TP).

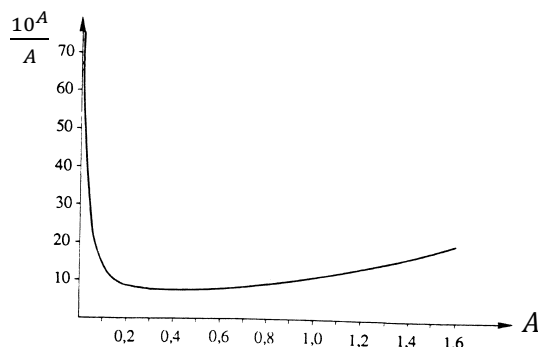
Remarque : lorsque le maximum d'absorption conduit à une absorbance trop élevée (phénomène de saturation), on peut se placer à un maximum relatif d'absorbance plus faible, ou encore à un **épaulement** du spectre, c'est-à-dire un point où $\frac{dA}{d\lambda}$ est le plus faible possible tout en ayant une absorbance suffisante.

c) Précision des mesures d'absorbance à une longueur d'onde donnée

Par différenciation de l'expression $A = \log\left(\frac{\Phi_0}{\Phi}\right)$ définissant l'absorbance, on peut établir la relation suivante :

$$\frac{u(A)}{A} \approx \left(\frac{1}{2,3} \cdot \frac{u(\Phi)}{\Phi_0}\right) \cdot \left(\frac{10^A}{A}\right)$$

- Le terme $\frac{u(\Phi)}{\Phi_0}$ est la sensibilité relative du détecteur. Elle dépend de la longueur d'onde, mais une fois que celle-ci a été fixée pour une étude, on peut considérer qu'elle est approximativement constante.
- Le terme $\frac{10^A}{A}$ peut être étudiée mathématiquement : si on trace la fonction $\frac{10^A}{A}$ en fonction de A , on obtient la courbe suivante :



On constate que cette fonction tend vers $+\infty$ lorsque A tend vers 0 (asymptote verticale à l'origine). En effet, si le flux énergétique Φ se rapproche de Φ_0 , cela signifie que l'écart entre la

cuve mesurée et la cuve de référence devient de l'ordre de grandeur de l'incertitude $u(\Phi)$: en pratique, la mesure n'a guère de sens lorsque l'absorbance affichée est inférieure à 0,1.

Lorsque A devient trop grand, l'incertitude augmente à nouveau. Dans ce cas, trop peu de lumière arrive sur le détecteur, la solution tendant vers l'opacité.

En pratique, la plupart des appareils « saturent » au-delà de la valeur 2,0 d'absorbance, c'est-à-dire qu'ils affichent la valeur 2,0, même si l'absorbance est supérieure, indiquant ainsi que la solution est trop opaque pour qu'on puisse obtenir une valeur fiable de A .

On constate par ailleurs que cette fonction est minimale et à peu près constante pour des absorbances comprises entre 0,1 et 1,5.

Conclusion : pour réaliser des mesures précises d'absorbance en spectrophotométrie, il faut s'assurer que **l'absorbance que l'on mesure reste à peu près comprise entre 0,1 et 1,5**. Dans ce cas, on peut considérer que l'incertitude relative $\frac{u(A)}{A}$ est minimale et à peu près constante.

Cependant, il est souvent difficile d'estimer la **valeur** de $\frac{u(A)}{A}$: elle dépend beaucoup de la longueur d'onde choisie, mais elle peut aussi se dégrader avec le temps, si l'appareil n'est pas régulièrement recalibré par le fabricant.

Il faut aussi se souvenir que la mauvaise qualité des cuves ou leur mauvais emploi (rayures, traces de doigts, présence de bulles...) peuvent fortement dégrader la qualité de la mesure.

Dans le meilleur des cas, un spectrophotomètre bien calibré, utilisé avec des cuves de bonne qualité, peut donner des mesures très précises ($\frac{u(A)}{A} < 0,01$, soit mieux de 1%), mais cette précision est difficile à obtenir en pratique.