

# Fiche de cours Absorbance et dosage par étalonnage

L'essentiel du chapitre en deux pages

définitions · lois · méthodes · à savoir par cœur

## 1 COULEUR D'UNE ESPÈCE EN SOLUTION

**Définition.** La lumière blanche est la superposition de toutes les radiations visibles, d'environ 400 nm (violet) à 800 nm (rouge). Une solution colorée **absorbe** certaines de ces radiations et **transmet** les autres : la couleur perçue est celle de la lumière transmise.

**Propriété.** La couleur perçue d'une solution est la **couleur complémentaire** de la couleur qu'elle absorbe : les deux sont diamétralement opposées sur le **cercle chromatique** (figure 1).

**Remarque.** Une solution qui n'absorbe aucune radiation visible est incolore ; une solution qui les absorbe toutes paraît noire.

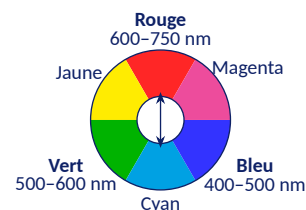


Figure 1 — Cercle chromatique simplifié

## 2 ABSORBANCE ET SPECTRE D'ABSORPTION

**Définition.** L'**absorbance**  $A$  d'une solution, mesurée par un **spectrophotomètre** pour une longueur d'onde donnée, traduit sa capacité à absorber cette radiation. C'est une grandeur **sans unité**, d'autant plus grande que la solution absorbe.

**Définition.** Le **spectre d'absorption** d'une solution est la courbe  $A = f(\lambda)$  sur le domaine UV-visible. La longueur d'onde du maximum d'absorption est notée  $\lambda_{\max}$  : c'est la radiation la plus absorbée ; la couleur perçue de la solution est, en première approximation, la couleur complémentaire de celle de cette radiation.

**Méthode — utiliser un spectrophotomètre.** régler l'appareil sur la longueur d'onde de travail, puis faire le **blanc** avec une cuve remplie de solvant pur (l'appareil affiche alors  $A = 0$ ) ; mesurer ensuite l'absorbance des solutions dans des cuves identiques.

## 3 LOI DE BEER-LAMBERT

**Propriété — loi de Beer-Lambert.** Pour une solution *diluée* d'une espèce colorée unique, éclairée par une lumière monochromatique de longueur d'onde  $\lambda$  :

$$A = \varepsilon \ell c \quad A \text{ sans unité, } \ell \text{ en cm, } c \text{ en mol} \cdot \text{L}^{-1}, \quad \varepsilon \text{ en L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}.$$

$\ell$  est la largeur de la cuve traversée ; le **coefficient d'absorption molaire**  $\varepsilon$  dépend de l'espèce dissoute, de la longueur d'onde et du solvant.

**Propriété.** À  $\lambda$  et  $\ell$  fixées,  $\varepsilon \ell$  est une constante : l'absorbance est **proportionnelle** à la concentration,

$$A = k c \quad \text{avec} \quad k = \varepsilon \ell.$$

### ✖ ATTENTION — Domaine de validité de la loi

- Solutions **diluées** : la concentration limite dépend de l'espèce (de l'ordre de  $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  pour un colorant très absorbant, de  $1 \times 10^{-1} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  pour l'ion  $\text{Cu}^{2+}$ ) ; au-delà, la courbe d'étalonnage s'incurve. On ne se fie pas non plus à une absorbance supérieure à environ 2 : on dilue.
- Lumière **monochromatique** et une **seule** espèce colorée absorbant à cette longueur d'onde ; solution homogène, non fluorescente, sans particules en suspension.

## 4 DOSAGE PAR ÉTALONNAGE

**Définition.** **Doser** une espèce, c'est déterminer sa concentration dans une solution. Le **dosage par étalonnage** compare la solution inconnue à une **gamme étalon** : une série de solutions de concentrations connues, préparées par dilutions d'une même solution mère.

**Méthode — dosage par étalonnage spectrophotométrique.** ① tracer le spectre d'absorption pour repérer  $\lambda_{\max}$  et régler l'appareil sur cette valeur ; ② faire le blanc ; ③ mesurer l'absorbance  $A$  de chaque solution étalon et tracer  $A = f(c)$  : les points sont alignés avec l'origine, on modélise par une droite de coefficient directeur  $k$  ; ④ mesurer l'absorbance  $A_X$  de la solution inconnue, puis en déduire  $c_X = \frac{A_X}{k}$  (ou la lire sur la droite d'étalonnage).

**Remarque.** Choisir  $\lambda_{\max}$  rend la mesure la plus sensible : une même variation de concentration y produit la plus grande variation d'absorbance. Si la solution est trop concentrée, on la dilue d'un facteur  $F$  connu et l'on multiplie le résultat par  $F$ .

**Propriété — comparaison à une valeur de référence.** l'écart relatif entre la valeur mesurée et la valeur de référence (étiquette, table) vaut  $\frac{|c_{\text{mes}} - c_{\text{réf}}|}{c_{\text{réf}}}$ , souvent exprimé en pourcentage.

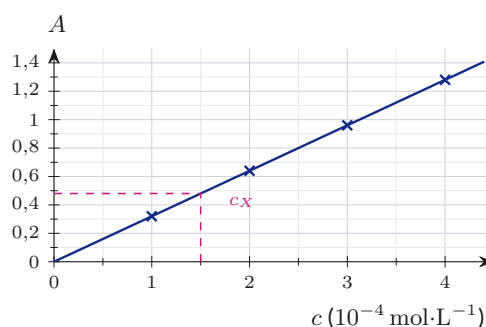


Figure 2 — Droite d'étalonnage  $A = k c$  : la mesure  $A_X = 0,48$  donne  $c_X = 1,5 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

## 5 SAVOIR-FAIRE DU CHAPITRE

### ► SAVOIR-FAIRE

- Prévoir la couleur perçue d'une solution à partir des radiations absorbées, et réciproquement (cercle chromatique).
- Exploiter un spectre d'absorption : repérer  $\lambda_{\max}$ , justifier la couleur et le choix de la longueur d'onde de travail.
- Appliquer la loi de Beer-Lambert ( $A, \varepsilon, \ell, c$ ) et en énoncer le domaine de validité.
- Proposer un protocole de gamme étalon par dilutions et le mode opératoire d'une mesure d'absorbance.
- Exploiter une droite d'étalonnage : coefficient directeur, lecture graphique, détermination de  $c$  puis de  $c_m = c M$ .
- Comparer le résultat à une valeur de référence par un écart relatif et conclure.

## 6 EXEMPLES TYPES

### ★ EXEMPLE — prévoir une couleur

Une solution de permanganate de potassium a un maximum d'absorption à  $\lambda_{\max} = 525 \text{ nm}$ , dans le vert. Sa couleur perçue est la couleur complémentaire du vert : le magenta. La solution est effectivement violette.

### ★ EXEMPLE — loi de Beer-Lambert

À  $\lambda_{\max}$ , une espèce a pour coefficient d'absorption molaire  $\varepsilon = 2,3 \times 10^3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Dans une cuve de largeur  $\ell = 1,00 \text{ cm}$ , une solution à  $c = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  a pour absorbance  $A = \varepsilon \ell c = 2,3 \times 10^3 \times 1,00 \times 2,0 \times 10^{-4} = 0,46$ .

### ★ EXEMPLE — exploiter une droite d'étalonnage, comparer à une étiquette

La droite d'étalonnage d'un colorant a pour équation  $A = k c$  avec  $k = 3,2 \times 10^3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Un sirop dilué 10 fois donne  $A_X = 0,48$ , d'où  $c_X = \frac{A_X}{k} = 1,5 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Le sirop non dilué contient donc  $c = 10 c_X = 1,5 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , soit, avec  $M = 534,4 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , une concentration en masse  $c_m = c M = 0,80 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . L'étiquette du sirop annonce  $c_{m,\text{réf}} = 0,75 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  de colorant. La mesure précédente donne  $c_m = 0,80 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  : l'écart relatif vaut  $\frac{|0,80 - 0,75|}{0,75} = 0,067$ , soit 6,7 %. L'écart reste faible : la mesure est compatible avec l'indication de l'étiquette.

### ✗ PIÈGES

- Confondre couleur absorbée et couleur perçue : elles sont *complémentaires*. Une solution jaune absorbe le bleu.
- Donner une unité à l'absorbance :  $A$  est un nombre sans unité. En revanche  $\varepsilon$  s'exprime en  $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ .
- Extrapoler  $A = k c$  au-delà de la plus concentrée des solutions étalons : rien ne garantit que la loi y soit encore vérifiée.
- Oublier le blanc, ou changer de longueur d'onde entre les étalons et la solution inconnue :  $k$  ne serait plus le même.
- Oublier de remonter à la solution non diluée en multipliant par le facteur de dilution  $F$ .