

REBUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AHMED ZABANA – RELIZANE

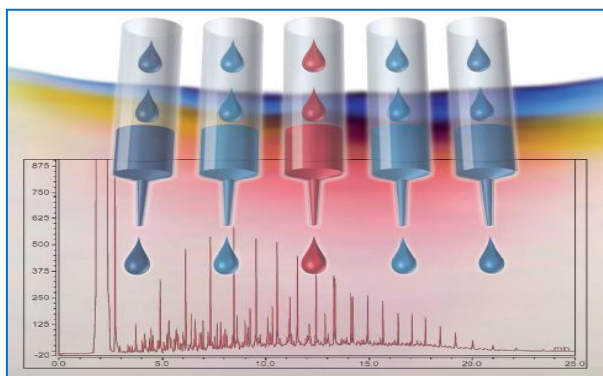


FACULTE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES

Polycopié de Cours

Techniques d'Analyse

Cours et exercices corrigés



Présenté par :

Dr. RAHMANI Rachida

Maître de conférences « A »

Année Universitaire 2021-2022

Ce polycopié de techniques d'analyse est destiné spécialement aux étudiants de la 3^{ème} année licence en génie des procédés du système LMD ainsi qu'aux des étudiants des cycles courts et cycles longs du domaine sciences et techniques d'enseignement supérieur. Le manuscrit est constitué de cours avec exercices corrigés. La préparation et la présentation de ce polycopié sont le fruit de quatre années d'expérience pédagogique de l'auteur. Ainsi, il pourra constituer un document de référence pour les étudiants qui préparent une licence dans les filières génie des procédés et chimie. Le cours qui présente les principales notions de base des techniques d'analyse est accompagné d'illustrations et d'applications directes afin d'assimiler immédiatement les notions traitées. Le contenu de ce polycopié est conforme aux programmes harmonisés de la matière techniques d'analyse agréés par la tutelle.

Le premier chapitre est consacré aux méthodes chromatographiques

Le deuxième chapitre est dédié à la spectroscopie moléculaire UV-visible

Le troisième chapitre traite de la spectroscopie infrarouge

Enfin, le contenu du présent polycopié résulte de la lecture de nombreux ouvrages et documents dont la plupart sont cités dans les références bibliographiques.

Chapitre I : Méthodes chromatographiques

I.1. Généralités sur les méthodes chromatographiques	1
I.2. Expérience de base en chromatographie	2
I.3. Principe général de la chromatographie	3
I.3.1. Séparation chromatographique	4
I.4. Terminologie générale de la chromatographie	5
I.4.1. Chromatogramme	5
I.5. Théorie de la chromatographie	7
I.5.1. Grandeurs de rétention	7
I.5.2. Paramètres caractérisant les pics chromatographiques	9
I.5.3. Efficacité d'une colonne	11
I.6. Classification des techniques chromatographiques.	13
I.6.1. Classification selon la nature physique des phases	13
I.6.2. Classification selon le mécanisme de rétention	14
I.6.3. Classification selon la technique mise en jeu	14
I.7. Chromatographie en Phase Gazeuse « CPG »	16
I.7.1. Principe de la chromatographie en phase gazeuse	16
I.7.2. Appareillage	17
I.7.3. Avantages et inconvénients de la chromatographie en phase gazeuse	30
I.7.4. Domaines d'applications	30
I.8. Chromatographie en Phase Liquide « CPL »	33
I.8.1. Chromatographie Liquide Haute Performance «HPLC»	34
Exercices	39
Corrigé des exercices	41

Chapitre II : Spectroscopie moléculaire UV-Visible

II.1. Introduction à la Spectroscopie moléculaire	44
II.2. Spectroscopie moléculaire UV – Visible	46
II.3. Principe et règles de sélection	46
II.4. Domaine spectral UV-Visible	47
II.5. Interprétation d'un spectre d'absorption UV-Visible :	47
II.5.1. Le spectre d'absorption UV-Visible	47
II.5.2. Couleur des substances chimiques	48
II.5.3. Transitions électroniques	49

Sommaire

II.5.4. Effet de l'environnement sur les transitions électroniques	51
II.5.5. Loi de Beer-Lambert	56
II.5.6. Détermination de la concentration d'une solution par étalonnage	57
II.6. Appareillage	58
II.7. Applications de la spectroscopie UV-Visible	62
II.7.1. Analyse qualitative	62
II.7.2. Analyse quantitative	62
Exercices	64
Corrigé des exercices	66
Chapitre III : Spectroscopie Infrarouge (IR)	
III.1. Introduction	69
III.2. Principe	69
III.3. Notions théoriques	70
III.3.1. Modèle de l'oscillateur harmonique	70
III.3.2. Facteurs influençant les fréquences de vibration	71
III.3.3. Vibration moléculaire	74
III.3.4. Molécules inactives en IR	75
III.4. Spectre infrarouge	76
III.5. Aspect expérimental	77
III.5.1. Échantillonnage et techniques d'analyse	77
III.5.2. Appareillage	78
III.5.3. Interprétation d'un spectre d'absorption IR.	80
III.6. Application de la spectrométrie infrarouge	83
III.6.1. Analyse qualitative	83
III.6.2. Analyse quantitative	83
Exercices	84
Corrigé des exercices	90
Exercices non résolus	95
Références bibliographiques	104

Chapitre I

Méthodes chromatographiques

I.1. Généralités sur les méthodes chromatographiques

Le concept de séparation des composants de l'échantillon dans une colonne a été développé pour la première fois en 1903 par Mikhail Tswett, qui a introduit le terme chromatographie en 1906. Malheureusement, ses contemporains ont montré peu d'intérêt pour l'idée et près de 30 ans se sont écoulés avant que les scientifiques allemands redécouvrent le principe de chromatographie liquide sur colonne. Puis, en 1943, Arne Tiselius (en Suède) classa la chromatographie en trois modes : frontal, élution et déplacement. Le mode d'élution est en fait devenu synonyme de presque toutes les chromatographies, mais ces dernières années le mode de déplacement a suscité un nouvel intérêt, notamment dans la séparation des protéines.

Dans les années qui ont immédiatement précédé et pendant la Seconde Guerre mondiale, les principes de la chromatographie par échange d'ions et de la chromatographie de partage liquide-liquide ont commencé à se transformer en solutions techniques. Puis après la guerre, au début des années 1950, la nouvelle technique de chromatographie sur couche mince voit le jour et améliore progressivement les principes de partition utilisés en chromatographie sur papier. A. Martin et R.L.M. Synge (au Royaume-Uni) ont reçu le prix Nobel en 1952 pour l'invention de la chromatographie de partage. Martin avec James avait également développé la chromatographie gaz-liquide à cette époque. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) a été facilement acceptée par les chercheurs chimistes des grandes compagnies pétrolières, qui ont compris le grand potentiel de cette technique et ont participé au développement de la nouvelle instrumentation.

La chromatographie d'exclusion stérique a été développée en Suède par Porath et Flodin avec des matériaux de dextrine (1959), par Hjertén avec des matériaux polyacrylamide (1961) et agarose (1964) et par Moore aux États-Unis avec des matériaux polystyrène-divinylbenzène (PS -DVB) (1964).

La chromatographie en phase fluide supercritique a été démontrée dès 1962, mais elle n'a pas suscité beaucoup d'intérêt jusqu'à ce que la technologie soit améliorée plus de 20 ans plus tard. L'introduction des colonnes tubulaires ouvertes dans la chromatographie en phase gazeuse a révolutionné la CPG, d'abord avec des capillaires en verre dans les années 1970, puis avec des colonnes de silice fondue dans les années 1980.

Une révolution similaire a commencé avec le développement progressif de nouvelles colonnes et d'instruments en chromatographie liquide. Avec des colonnes remplies de petites particules,

la chromatographie liquide à haute pression des années 1970-1980 a ensuite été renommée chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

À ce jour, la HPLC est devenue la technique chromatographique la plus dominante, la CPG capillaire étant la deuxième (pour les analytes les plus volatils). La CPG et la HPLC sont aujourd'hui des techniques de séparation matures ; Cependant, la HPLC est toujours en cours de développement vers des séparations plus rapides et plus efficaces et également partiellement vers des colonnes miniaturisées, en particulier pour des applications dans le domaine des sciences de la vie. La majorité des autres techniques déjà mentionnées sont aujourd'hui des techniques spécialisées et importantes pour un nombre relativement plus restreint d'utilisateurs par rapport à la HPLC et la CPG.

I.2. Expérience de base en chromatographie

L'expérience de base en chromatographie peut être décrite comme suit (fig. I.1) :

- a) Préparation de l'expérience : un solide finement divisé appelé phase stationnaire est immobilisé dans une colonne.
- b) Dépôt de l'échantillon : un petit volume de l'échantillon à séparer est placé au sommet de cette colonne.
- c) Début de l'élution : une phase mobile est ajoutée afin de forcer l'échantillon à traverser la colonne de haut en bas pour entraîner ses divers constituants. Si les composés présents migrent à des vitesses différentes, ils pourront être recueillis séparément, chacun en solution dans la phase mobile.
- d) Récupération des produits après séparation.

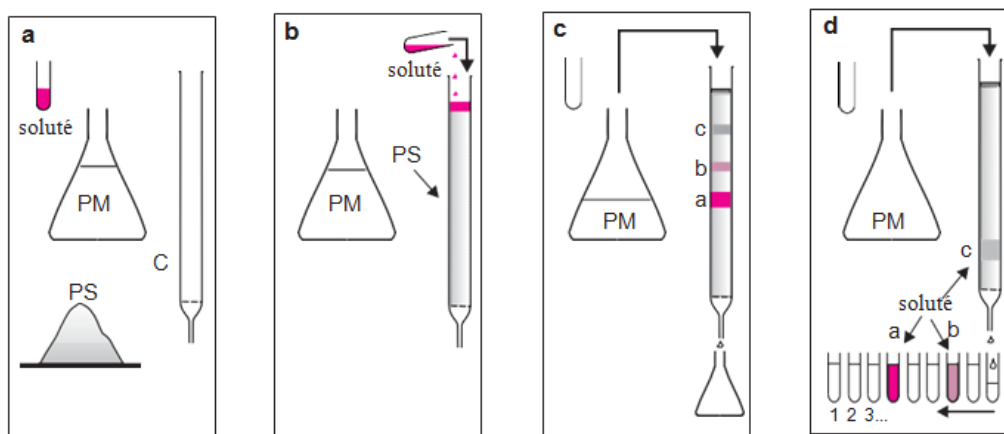


Figure I.1 : Expérience de base en chromatographie

En dehors de cette exploitation de la chromatographie qui perdure depuis son origine, ce procédé est devenu en soi une méthode d'analyse lorsqu'on eut l'idée de mesurer les temps de migration des composés dans la colonne pour les identifier. Pour cela il devenait indispensable de maîtriser certains paramètres (débits, température...) et il fallait placer en sortie de colonne un détecteur pour repérer les changements de composition de la phase mobile.

I.3. Principe général de la chromatographie

La chromatographie est une procédé physico-chimique de séparation des constituants d'un mélange (ou soluté) dans laquelle les composants à séparer sont répartis entre deux phases, dont l'une est stationnaire (la phase stationnaire), tandis que l'autre est mobile (la phase mobile) et se déplace dans une direction définie. Une phase mobile est décrite comme «un fluide qui s'écoule à travers ou le long du lit fixe dans une direction définie». Il peut s'agir d'un liquide, d'un gaz ou d'un fluide supercritique, tandis que la phase stationnaire peut être un solide, un gel ou un liquide.

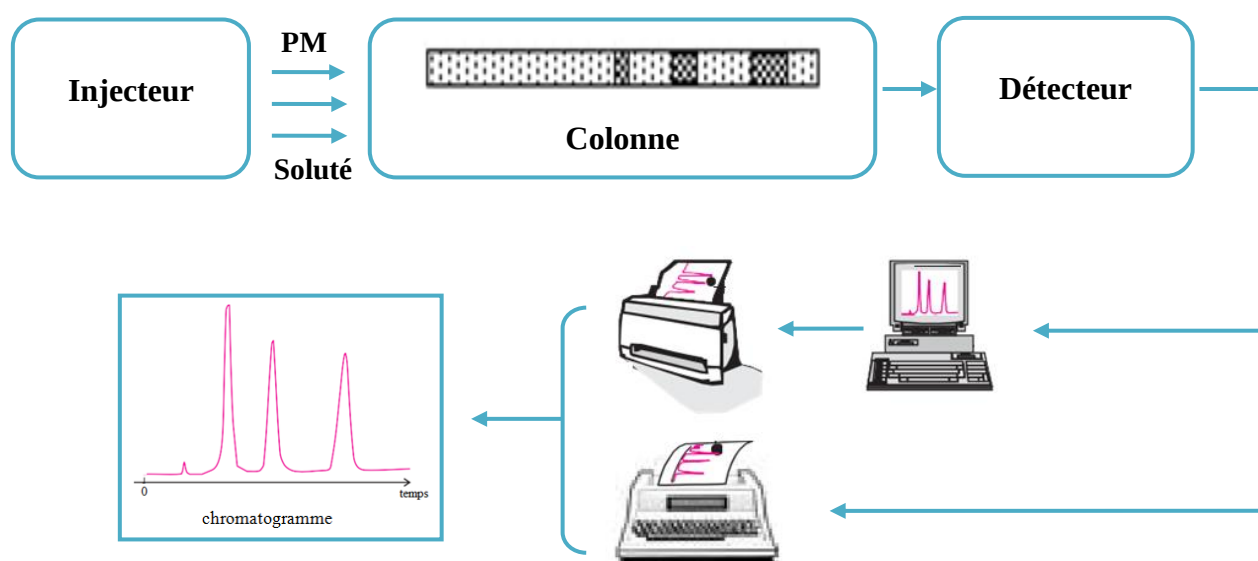
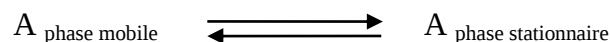


Figure I.2 : Principe de l'analyse par chromatographie.

I.3.1. Séparation chromatographique

Le mécanisme de la séparation chromatographique s'explique par les différences de répartition des constituants d'un mélange entre deux phases non miscibles: l'une mobile et l'autre stationnaire. Ce phénomène est dynamique, les constituants passant continuellement d'une phase à l'autre; ce qui crée un état d'équilibre entre la phase mobile et la phase stationnaire pour un constituant en particulier (A).



À ce moment le rapport des concentrations représente le coefficient de distribution ou encore coefficient de partage K.

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

Où C_s : concentration de l'analyte A dans la phase stationnaire

C_m : concentration de l'analyte A dans la phase mobile

Plus K est grand, plus le composé est absorbé fortement dans la phase stationnaire et plus la rétention est grande et inversement.

Une séparation chromatographique se produit donc si les composants d'un mélange interagissent à différents degrés avec les phases mobile et/ou stationnaire et prennent par conséquent des temps différents pour passer de la position d'introduction de l'échantillon à la position à laquelle ils sont détectés. Il existe deux extrêmes, comme suit:

- i. Tous les analytes ont une affinité totale pour la phase mobile et n'interagissent pas avec la phase stationnaire - tous les analytes se déplacent à la même vitesse que la phase mobile, ils atteignent le détecteur très rapidement et ne sont pas séparés.
- ii. Tous les analytes ont une affinité totale pour la phase stationnaire et n'interagissent pas avec la phase mobile - tous les analytes sont retenus sur la colonne et n'atteignent pas le détecteur.

Le rôle du chromatographe est donc, basé sur une connaissance des analytes étudiés, de manipuler les propriétés des phases stationnaire et / ou mobile pour sortir de ces extrêmes et effectuer la séparation souhaitée.

I.4. Terminologie générale de la chromatographie

- **Système chromatographique** : l'ensemble d'une phase stationnaire (PS), une phase mobile (PM) et un mélange (ou soluté).
- **Soluté**: C'est l'échantillon qui contient les composés à analyser.
- **Phase mobile (PM)**: cette phase peut être soit un gaz (en CPG), elle est alors appelée gaz vecteur ou gaz porteur; soit un liquide (en chromatographie sur papier, couche mince ou colonne), dans ce cas la PM est alors appelée éluant. Si la PM est un gaz elle ne sert qu'à entraîner les constituants à travers la colonne. Si la PM est un liquide elle a un double rôle : celui d'entraîner les composés à travers la colonne et celui de solubiliser les constituants du mélange.
- **Phase stationnaire (PS)**: ou phase fixe, cette phase peut être solide ou liquide et elle permet par ses affinités avec les solutés leur séparation quand la phase mobile les déplace.
- **Colonne chromatographique**: tube de diamètre et longueur variable, en verre, métal ou autre substance, à l'intérieur duquel s'opèrent les séparations chromatographiques.
- **Valeurs de rétention**: toutes données qui permettent de chiffrer l'action spécifique de la PS sur le soluté, au cours de l'analyse (temps de rétention, volume de rétention...).

I.4.1. Chromatogramme :

Le chromatogramme est une courbe qui traduit la variation au cours du temps d'un paramètre relié à la concentration instantanée du soluté en sortie de colonne (Fig. I.3). Le temps (ou rarement le volume d'élution) est porté en abscisse et l'intensité du signal de détection en ordonnée.

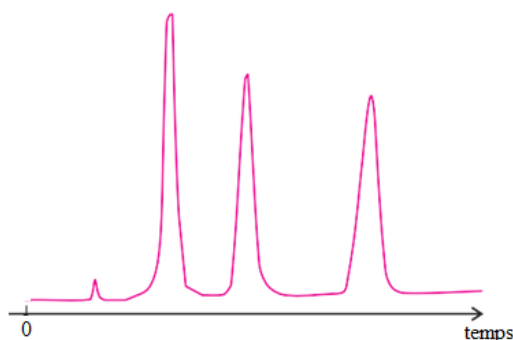


Figure I.3 : chromatogramme

Le chromatogramme contient un certain nombre de pics de différentes tailles s'élevant à partir d'une ligne de base. Les informations facilement extraites du chromatogramme comprennent une indication de la complexité de l'échantillon à partir du nombre de pics observés ; identification qualitative des composants de l'échantillon à partir de la détermination précise de la position du pic ; évaluation quantitative de la concentration relative ou de la quantité de chaque composant à partir de leurs zones de pic et les propriétés physiques caractéristiques du soluté ou du système chromatographique à partir des positions et des profils des pics.

I.4.1. 1. Forme des pics en chromatographie

Les pics en chromatographie sont assimilés à une courbe de Gauss (Fig. I. 4) d'équation :

$$y = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{t^2}{2}}$$

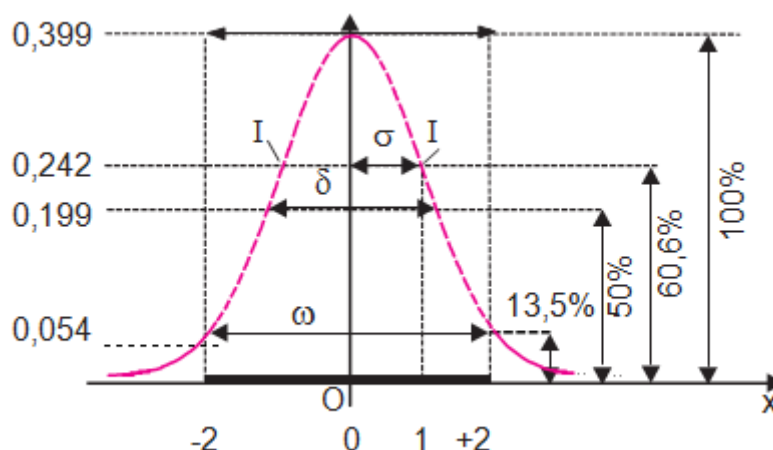


Figure I.4 : caractéristiques d'une courbe de Gauss (pic idéal).

L'aire comprise entre - 2 et + 2 vaut 95,4 % de l'aire totale comprise entre la courbe et l'axe des x. La courbe de Gauss est caractérisé par:

1- **Écart-type σ** : correspond à la moitié de la largeur du pic mesuré à 60,6% de sa hauteur.

2- **Variance** = σ^2

3- **Largeur à mi-hauteur δ** : mesurée à h/2 c.à.d. à 50 % de la hauteur du pic. $\delta = 2,35 \sigma$

4- **La "base" du pic ω** : Cette base est extrapolée par des tangentes aux deux branches et passant par les points d'inflexion de la courbe de Gauss. $\omega = 4 \sigma = 1,7 \delta$.

Les formes de pics gaussiens en chromatographie indiquent un système qui se comporte bien. De telles formes de pics sont hautement souhaitables du point de vue de la technologie de remplissage des colonnes. Du point de vue d'un analyste, les pics gaussiens offrent une sensibilité améliorée (limites de détection inférieures) et facilitent la quantification. La Figure I.5 illustre un exemple de chromatogramme réel qui montre que l'élution des composés peut conduire à des pics qui ressemblent vraiment à des courbes gaussiennes.

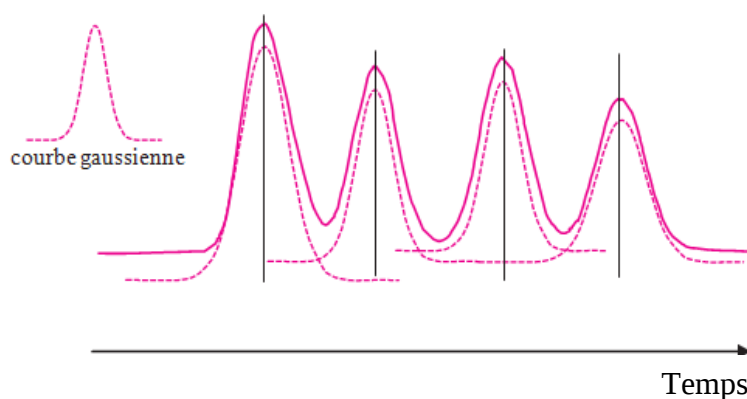


Figure I.5 : Comparaison entre un chromatogramme réel et des courbes gaussiennes.

I.5. Théorie de la chromatographie

I.5.1. Grandeurs de rétention

La position d'un pic dans un chromatogramme est caractérisée par son temps de rétention (t_R) ou son volume de rétention (V_R) (Fig. I.6). Les volumes de rétention sont fondamentalement plus corrects que le temps mais nécessitent des informations expérimentales supplémentaires pour leur détermination. Les grandeurs de rétention sont comme suit :

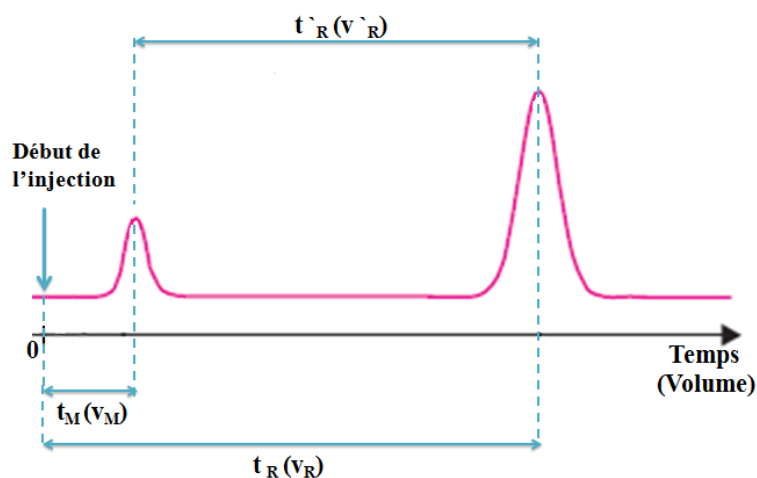


Figure I.6 : Chromatogramme typique montrant les différentes grandeurs de rétention.

I.5.1.1. Temps de rétention

Le temps de rétention est composé de deux éléments. Le temps que le soluté passe dans la phase mobile et le temps qu'il passe dans la phase stationnaire.

I.5.1.2. Temps mort

Tous les solutés passent le même temps dans la phase mobile, qui est simplement le temps nécessaire à un soluté non retenu, c'est-à-dire un soluté qui n'interagit pas avec la phase stationnaire, pour traverser le système chromatographique. Ce temps est appelé temps de maintien de la colonne, t_M , encore appelé temps mort. Ce temps représente donc le temps nécessaire à la phase mobile entrant dans la colonne pour atteindre le détecteur.

I.5.1.3. Temps (ou volume) de rétention réduit

Le temps que le soluté passe dans la phase stationnaire est appelé temps de rétention réduit, t'_R (ou volume de rétention réduit, V'_R) et est calculé par différence entre le temps de rétention (volume de rétention) et le temps mort (volume mort). Puisque par commodité le temps de rétention d'une substance est déterminé à partir du moment de l'injection comme temps zéro, nous arrivons à la relation simple (Eq. 1.1) combinant les contributions indépendantes au temps de rétention observé.

$$t_R = t'_R + t_M$$

1.5.1.4. Volume de rétention ou d'élution V_R

Le volume de rétention (d'élution) V_R de chaque soluté représente le volume de phase mobile nécessaire pour le faire migrer d'une extrémité à l'autre de la colonne. Il correspond sur le chromatogramme au volume de la phase mobile qui s'est écoulé entre l'instant de l'injection et celui correspondant au maximum du pic. Si le débit D est stationnaire,

$$V_R = t_R \cdot D$$

1.5.1.5. Volume de la phase mobile dans la colonne (volume mort V_M)

Le volume de la phase mobile dans la colonne (encore appelé volume mort) V_M correspond au volume interstitiel accessible. Il peut être calculé d'après le chromatogramme, à condition d'introduire un soluté non retenu par la phase stationnaire. On peut l'exprimer en fonction de t_M et du débit D :

$$V_M = t_M \cdot D$$

I.5.1.6. Facteur de rétention k (ou de capacité)

Le facteur de rétention, parfois appelé facteur de capacité k , est plus important que le temps de rétention pour l'optimisation des séparations chromatographiques et dans la formulation de modèles théoriques. Le facteur de rétention est le rapport entre le temps que passe une substance en phase stationnaire et le temps qu'elle passe en phase mobile

$$k = \frac{t_R}{t_M} = \frac{(t_R - t_M)}{t_M}$$

Le temps et le volume de rétention sont liés au facteur de capacité par les relations :

$$t_R = t_M (1 + k) \quad \text{et} \quad V_R = V_M (1 + k)$$

Le temps de rétention et le facteur de rétention sont également liés par l'équation ci-dessous :

$$t_R = \left(\frac{L}{u} \right) (1 + K)$$

Où L est la longueur de la colonne et u la vitesse moyenne de la phase mobile.

I.5.2. Paramètres caractérisant les pics chromatographiques

I.5.2.1. Facteur de séparation ou sélectivité entre deux solutés

Le facteur de séparation α permet de préciser les positions relatives de deux pics adjacents 1 et 2 sur un chromatogramme (fig. 1.7). Il est défini par les relations suivantes :

$$\alpha = \frac{t_{R(2)}}{t_{R(1)}}$$

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1}$$

Le facteur de séparation, par conséquent, a toujours des valeurs supérieures ou égales à 1,0. Le facteur de séparation est une mesure de la sélectivité d'un système chromatographique. En termes thermodynamiques, il est lié à la différence d'énergie libre de la propriété de rétention responsable de la séparation et est un terme largement utilisé dans le développement de méthodes pour définir des systèmes avec des propriétés de séparation utiles. Pour conserver une signification thermodynamique utile, le facteur de séparation doit être déterminé pour des conditions expérimentales fixes et constantes, par exemple, une température constante en

CPG et une composition de phase mobile constante en CPL. Le facteur de séparation est parfois appelé facteur de sélectivité. Pour des pics non adjacents, on définit le facteur de rétention relative r , qui, calculé comme α , ne peut être inférieur à 1.

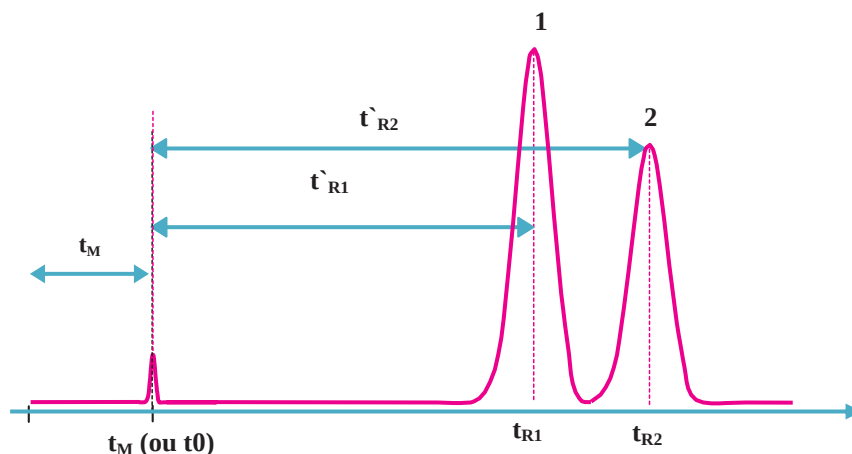


Figure I.7 : Chromatogramme typique montrant la séparation d'un mélange contenant deux constituants (2 pics chromatographiques).

I.5.2.2. Facteur de résolution entre deux pics

Le facteur de séparation (α) est une mesure utile de la position relative des pics dans le chromatogramme. Cette fonction, cependant, n'est pas adéquate pour décrire les séparations de pics car elle ne contient aucune information sur les largeurs à la base des pics. La séparation de deux pics dans un chromatogramme est définie par leur résolution, R , qui est le rapport entre la séparation des deux maxima des pics et leur largeur moyenne à la base,

$$R = 2 \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{\omega_1 + \omega_2}$$

Il existe, pour exprimer la résolution, d'autres relations dérivées des précédentes, établies en vue de remplacer un paramètre par un autre, ou admettant des hypothèses simplificatrices. Ainsi les deux expressions suivantes sont très souvent employées.

$$R = 1,177 \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{\delta_1 + \delta_2}$$

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N_2} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{K_2}{1 + K_2}$$

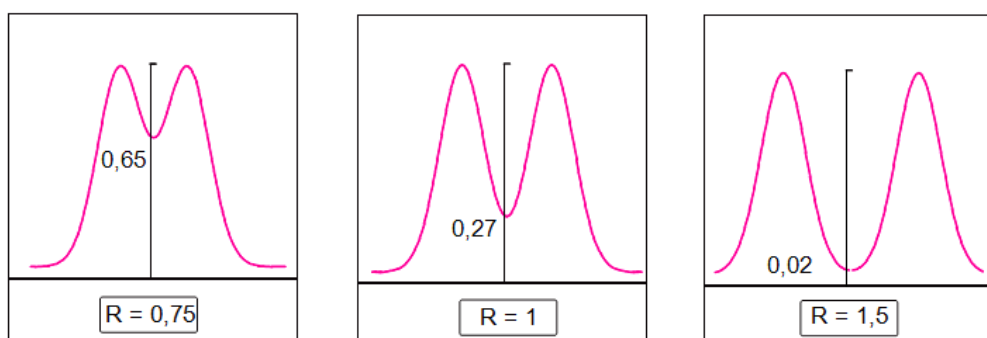


Figure I.8 : Facteur de résolution

Lorsque R est supérieure à 1,5, il existe une séparation de la ligne de base entre les deux pics donc la résolution est excellente et lorsque R est comprise entre 1,5 et 1, il y a un chevauchement qui varie entre 2 et 27 % (avec des pics gaussiens parfaits), dans ce cas la résolution est acceptable. Par contre, la résolution est mauvaise quand sa valeur est inférieure à 1.

I.5.3. Efficacité d'une colonne

I.5.3.1. Efficacité théorique (nombre de plateaux théoriques)

L'efficacité d'une colonne, peut être exprimée par le nombre de plateaux théoriques N et définie comme suit :

$$N = \frac{t_R^2}{\sigma^2}$$

Où t_R est le temps de rétention et σ est l'écart type ou la demi-largeur du pic à 60,6 % de sa hauteur, en supposant que la distribution des molécules d'un composant dans un pic peut être caractérisée par une distribution gaussienne.

A partir d'un chromatogramme, nous pouvons mesurer manuellement ou à l'aide d'un système de données à la fois le temps de rétention et la largeur du pic. La largeur du pic à mi-hauteur est souvent utilisée, mais en cas de queue de pic, elle n'est pas une bonne représentation de la largeur réelle du pic. Une alternative est la largeur à la ligne de base entre les tangentes aux points d'inflexion à 0,607 h d'un pic gaussien.

À mi-hauteur, la largeur du pic est $\delta = 2,354 \sigma$, et à la base du pic entre les tangentes, $\omega = 4 \sigma$.

En remplaçant σ par les deux fonctions ω et δ , on obtient deux autres formules permettant la mesure de l'efficacité de la colonne

$$N = 5,54 \frac{t_R^2}{\delta^2} \quad (\text{à mi-hauteur})$$

$$N = 16 \frac{t_R^2}{\omega^2} \quad (\text{à la base})$$

Le nombre de plaques est calculé donc en mesurant à la fois le temps de rétention et la largeur du pic en unités de temps.

I.5.3.2. Efficacité réelle (nombre de plateaux théoriques effectifs)

Le nombre de plateaux théoriques effectifs N_{eff} est en fait une mesure de l'élargissement de la bande dans la phase stationnaire. Le N_{eff} permet la mesure de l'efficacité réelle de la colonne et il est calculé en utilisant les temps de rétention réduits :

$$N_{\text{eff}} = \frac{t_R^2}{\sigma^2}$$

$$N_{\text{eff}} = 16 \frac{t_R^2}{\omega^2}$$

$$N_{\text{eff}} = 5,54 \frac{t_R^2}{\delta^2}$$

A des valeurs élevées de facteur de rétention " k ", il y a peu de différence entre les nombres de plateaux et les nombres de plateaux effectifs. Les nombres de plateaux effectifs sont surtout utilisés en chromatographie en phase gazeuse pour comparer les performances d'une colonne capillaire et d'une colonne remplie.

I.5.3.3. Hauteur de plateau

L'autre mesure de l'élargissement de la bande, est la hauteur H d'un plateau :

$$H = L/N$$

La hauteur de plateau est également appelée la hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT). En CPG, une valeur corrigée appelée hauteur de plateau effectif H_{eff} faisant intervenir l'efficacité réelle à la place de l'efficacité théorique est utilisée ($H_{\text{eff}} = L/N_{\text{eff}}$).

I.5.3.4. Hauteur de plateau réduite

La hauteur réduite du plateau h est une autre façon d'exprimer l'efficacité de la colonne.

- Dans une colonne remplie, $h=H/d_p$.
- Dans une colonne tubulaire ouverte, $h=H/d_c$, où d_c est le diamètre interne de la colonne.
- Dans les colonnes HPLC bien remplies, on peut obtenir des hauteurs de plateau réduites de 2 à 3, voire moins de 2.
- Dans une colonne capillaire, des hauteurs de plateaux réduites inférieures à 1 peuvent être obtenues.

La hauteur de plateau réduite nous permet de comparer l'efficacité des colonnes avec les différentes tailles de particules ou les différents diamètres internes (dans les colonnes capillaires ouvertes).

I.6. Classification des techniques chromatographiques.

La chromatographie est une technique de séparation des divers constituants d'un échantillon. Cette séparation se produit en fonction des interactions de l'échantillon avec les phases mobile et stationnaire. Étant donné qu'il existe de nombreuses combinaisons de phases stationnaires/mobiles pouvant être utilisées lors de la séparation d'un mélange, plusieurs types de chromatographie sont classés en fonction des états physiques de ces phases, du mécanisme de rétention ainsi que la technique mise en jeu lors de la séparation.

I.6.1. Classification selon la nature physique des phases

Les techniques chromatographiques peuvent être classées selon la nature de **la phase mobile**, on peut distinguer:

- la chromatographie en phase liquide (CPL)
- la chromatographie en phase gazeuse (CPG)
- la chromatographie en phase supercritique (CPS)

Elles peuvent aussi être classées selon la nature de la **phase stationnaire** on distingue:

- la chromatographie liquide/solide (CLS)
- la chromatographie liquide/liquide (CLL)
- la chromatographie gaz/solide (CGS)
- la chromatographie gaz/liquide (CGL)

I.6.2. Classification selon le mécanisme de rétention

Cette classification repose sur la nature de la phase stationnaire et son interaction avec les molécules à séparer.

- la chromatographie d'adsorption
- la chromatographie de partage
- la chromatographie d'échange d'ions
- la chromatographie d'exclusion
- la chromatographie d'affinité

I.6.3. Classification selon la technique mise en jeu

- la chromatographie sur colonne
- la chromatographie de surface
 - chromatographie sur papier (CP)
 - chromatographie sur couche mince (CCM)

Toutes ces techniques sont regroupées ci-dessous.

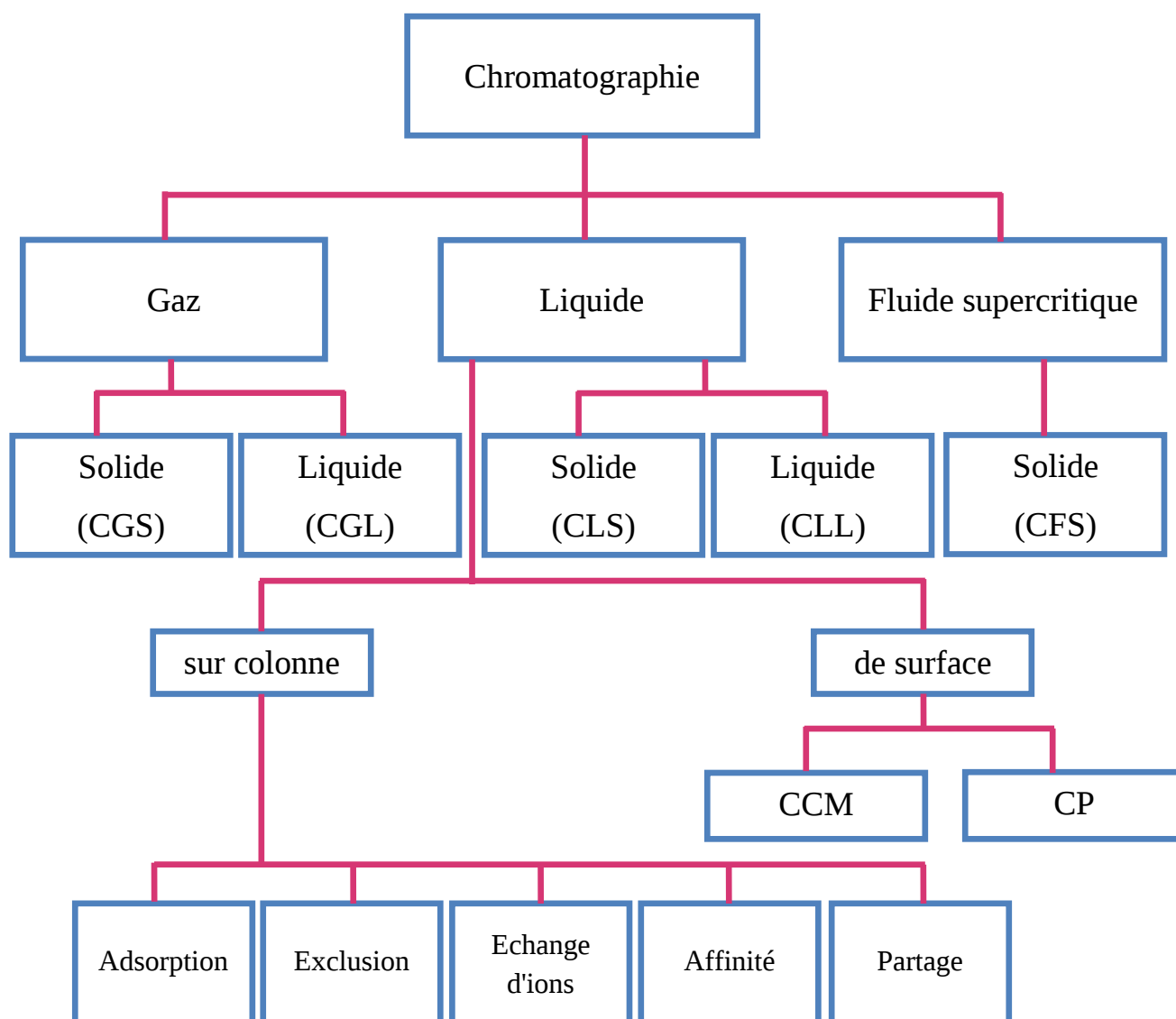


Schéma I.1 : organigramme illustratif de quelques méthodes chromatographiques

I.7. Chromatographie en Phase Gazeuse « CPG »

En chromatographie en phase gazeuse, la phase mobile est un gaz et les analytes doivent avoir une volatilité suffisante pour être transportés à travers la colonne. De plus, les analytes doivent être stables aux températures exposées dans l'injecteur et/ou dans la colonne. Les analytes qui ne sont pas volatils, par exemple les acides gras, peuvent être rendus volatils par dérivatisation, par exemple, les acides gras peuvent être convertis en esters.

En CPG, la séparation s'effectue principalement selon deux principes : l'adsorption et la chromatographie de partage. En chromatographie d'adsorption, la séparation est obtenue lorsque les analytes ont une adsorption différente par rapport à une phase stationnaire solide. La chromatographie par adsorption gazeuse, également appelée chromatographie gaz-solide (CGS), est principalement utilisée pour la séparation des gaz permanents. En chromatographie de partage, également appelée chromatographie gaz-liquide (CGL), la phase stationnaire est un liquide non volatil et la séparation est obtenue si les analytes ont une distribution différente entre les phases mobile et stationnaire.

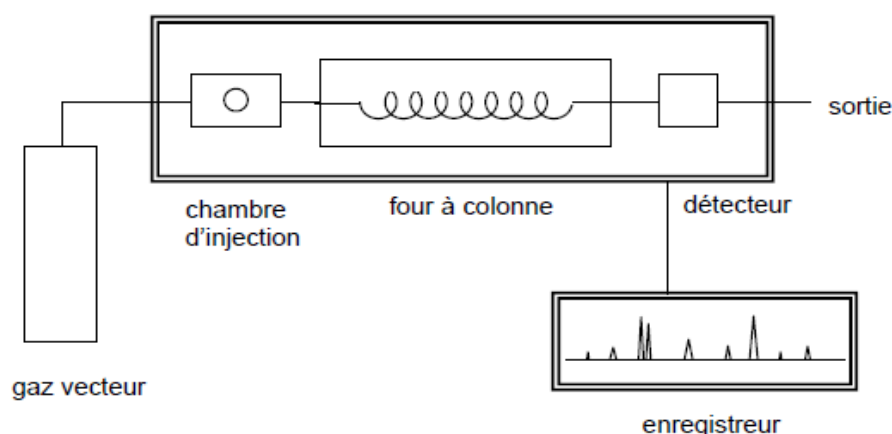


Figure I.9 : Schéma simplifié d'un chromatographe en phase gazeuse

I.7.1. Principe de la chromatographie en phase gazeuse

Le principe de la séparation chromatographique en phase gazeuse est illustré sur la figure I.10. Le mélange de composés est introduit à l'aide d'une seringue de façon à ce qu'il entre dans la colonne sous forme vapeur. La phase mobile est un gaz chimiquement inerte, appelé gaz vecteur. Celui-ci entraîne avec lui le mélange de composés à travers la colonne qui contient une phase stationnaire. Les composés du mélange traversent la colonne à des vitesses différentes. Lorsqu'ils arrivent à la sortie de la colonne, ils sont détectés par un

détecteur qui transmet un signal électrique à un enregistreur. Les résultats apparaissent sur le chromatogramme sous forme de pics.

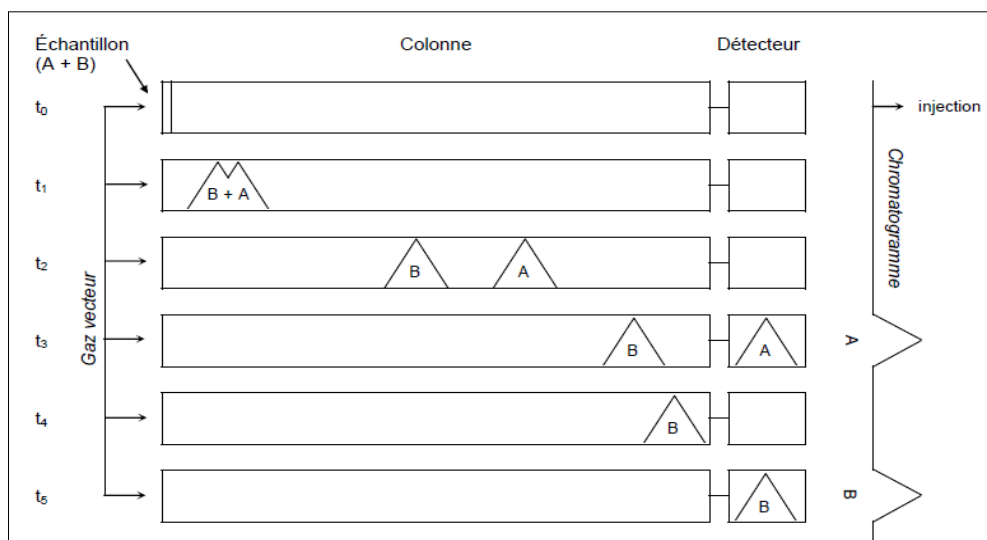


Figure I.10 : Séparation d'un mélange de deux composés en CPG

I.7.2. Appareillage

En CPG, la séparation a lieu dans une colonne qui se trouve dans un compartiment chauffé (four à colonne), assurant le contrôle de la température de la séparation. La phase mobile (le gaz vecteur) est délivrée à partir d'un réservoir de gaz sous pression (flacon de gaz), elle transporte l'échantillon à travers une colonne garnie ou capillaire qui sépare les composants de l'échantillon en fonction de leur capacité à se répartir entre la phase mobile et la phase stationnaire. Afin de fournir un débit de gaz approprié à la colonne, une vanne de réduction est fixée au ballon de gaz. L'échantillon à analyser est introduit dans la colonne par le système d'injection dont la température est contrôlée. Le détecteur qui se trouve à la sortie de la colonne est également contrôlé en température. Le détecteur est connecté à un système de données qui est utilisé à la fois pour le traitement des données et le contrôle de l'instrument. L'instrumentation utilisée pour la CPG s'appelle un chromatographe en phase gazeuse. La figure I.11 montre un exemple d'un chromatographe en phase gazeuse typique, qui se compose de plusieurs composants clés : une alimentation en gaz comprimé pour la phase mobile ; un injecteur chauffé, qui volatilise rapidement les composants dans un échantillon liquide ; une colonne, qui est placée à l'intérieur d'un four dont on peut contrôler la température lors de la séparation ; et un détecteur pour surveiller l'éluant lorsqu'il sort de la colonne.

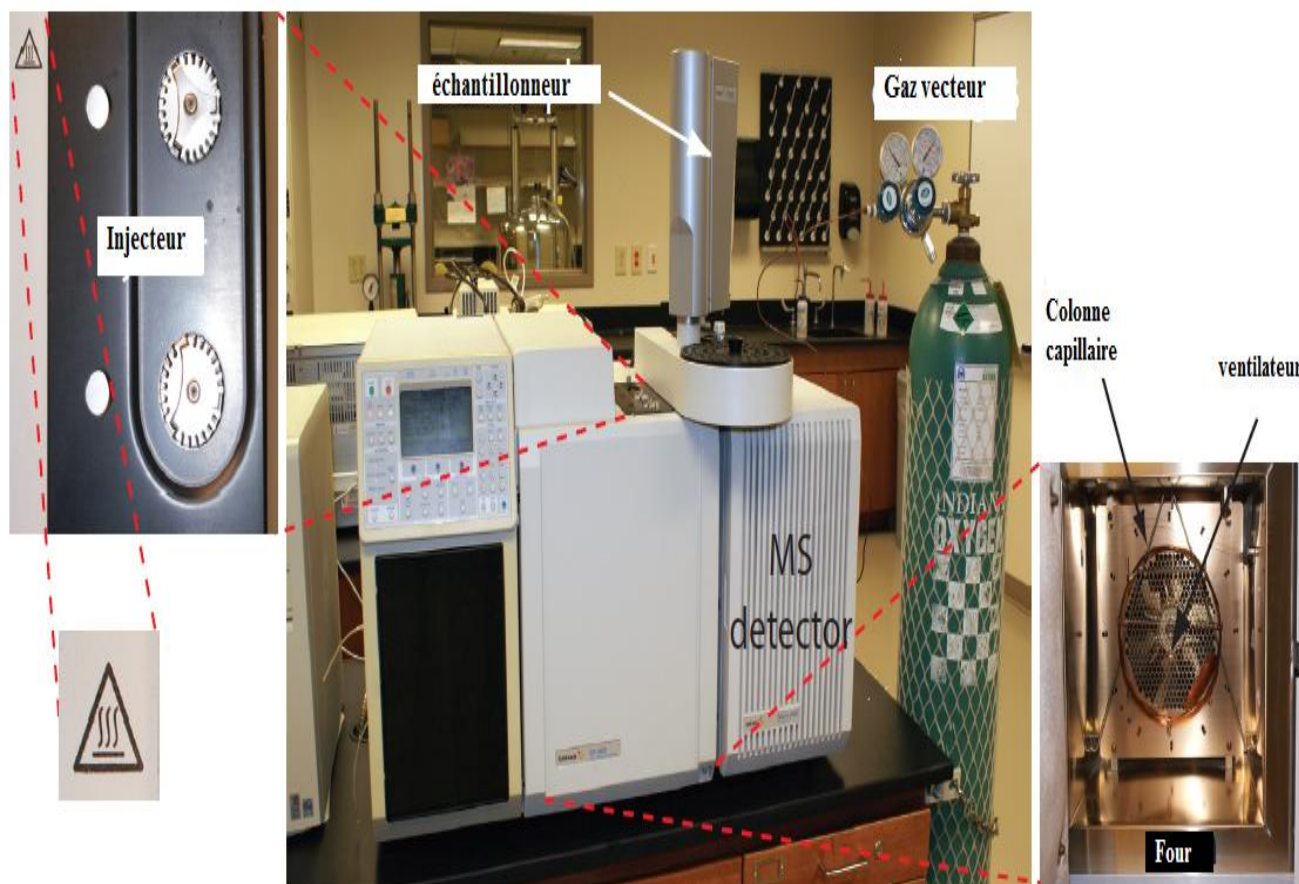


Figure I.11 : Exemple d'un chromatographe en phase gazeuse typique. Cet instrument particulier est équipé d'un échantillonneur automatique pour injecter des échantillons, d'une colonne capillaire et d'un spectromètre de masse (MS) comme détecteur.

I.7.2.1. Phase mobile

Les phases mobiles les plus courantes pour la chromatographie en phase gazeuse sont He, Ar et N₂, qui ont l'avantage d'être chimiquement inertes vis-à-vis de l'échantillon et de la phase stationnaire. Le choix du gaz vecteur est souvent déterminé par les besoins du détecteur de l'instrument. Pour une colonne remplie, la vitesse de la phase mobile est généralement de 25 à 150 ml/min. Le débit typique d'une colonne capillaire est de 1 à 25 mL/min.

I.7.2.2. Colonnes chromatographiques

Il existe deux grandes classes de colonnes chromatographiques : les colonnes remplies et les colonnes capillaires. En général, une colonne à garnissage peut traiter des échantillons plus volumineux et une colonne capillaire peut séparer des mélanges plus complexes.

■ Colonne remplies

Les colonnes remplies sont construites en verre, en acier inoxydable, en cuivre ou en aluminium et mesurent généralement 2 à 6 m de long avec des diamètres internes de 2 à 4 mm. La colonne est remplie d'un support solide particulaire, avec des diamètres de particules allant de 37-44 μm à 250-354 μm . La figure 12.23 montre un exemple typique d'une colonne remplie. Cette colonne est en acier inoxydable et mesure 2 m de long et un diamètre intérieur de 3,2 mm. Le matériau de remplissage de cette colonne a un diamètre de particule de 149-177 μm . Pour mettre cela en perspective, le sable de plage a un diamètre typique de 700 μm et le diamètre du sable à grains fins est de 250 μm . Le support particulaire le plus largement utilisé est la terre de diatomées, qui est composée des squelettes de silice des diatomées. Ces particules sont très poreuses, avec des surfaces allant de 0,5 jusqu'à 7,5 m^2/g , ce qui permet un contact suffisant entre la phase mobile et la phase stationnaire.

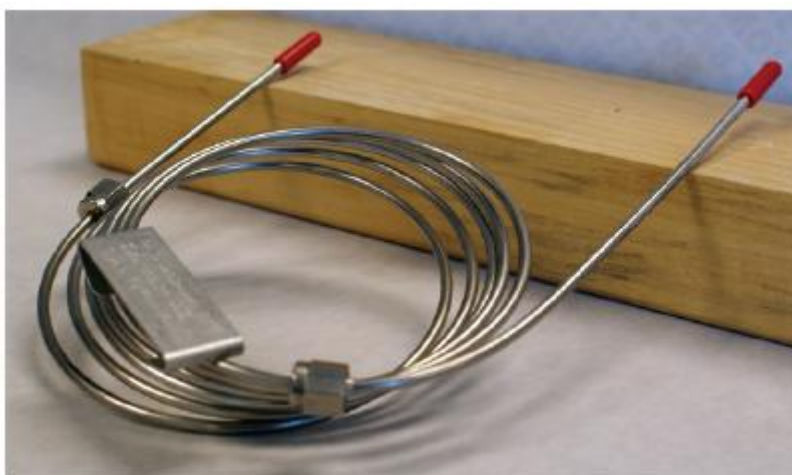


Figure I.12 : Exemple typique d'une colonne remplie pour la chromatographie en phase gazeuse.

■ Colonne capillaires

Une colonne capillaire ou tubulaire ouverte est construite à partir de silice fondue et est recouverte d'un revêtement polymère protecteur. Les colonnes mesurent de 15 à 100 m de long avec un diamètre interne d'environ 150 à 300 μm . La figure I.13 montre un exemple de colonne capillaire typique. Cette colonne mesure 30 m de long avec un diamètre interne de 247 μm . La surface intérieure du capillaire a un revêtement de 0,25 μm de la phase liquide.



Figure I.13 : Exemple typique d'une colonne capillaire pour la chromatographie en phase gazeuse.

Les colonnes capillaires sont de trois types principaux. Dans une colonne tubulaire ouverte à revêtement mural (WCOT), une fine couche de phase stationnaire, généralement de 0,25 μm d'épaisseur, est déposée sur la paroi interne du capillaire. Dans une colonne tubulaire ouverte à couche poreuse (PLOT), un support solide poreux - l'alumine, le gel de silice et les tamis moléculaires sont des exemples typiques - est fixé à la paroi interne du capillaire. Une colonne tubulaire ouverte revêtue d'un support (SCOT) est une colonne PLOT qui comprend une phase stationnaire liquide. La figure I.14 montre les différences entre ces types de colonnes capillaires.

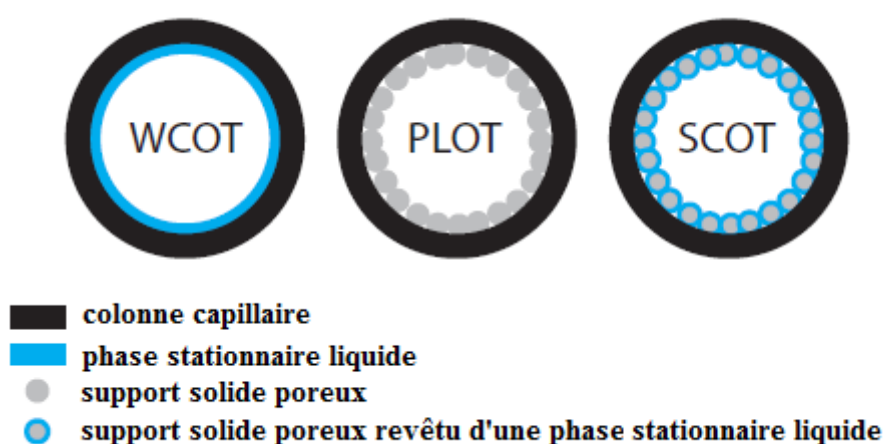


Figure I.14 : Coupes transversales à travers les trois types de colonnes capillaires.

Une colonne capillaire améliore considérablement l'efficacité de la séparation car elle comporte plus de plateaux théoriques par mètre et est plus longue qu'une colonne à garnissage. D'autre part, une colonne remplie peut traiter un échantillon plus important. En raison de son diamètre plus petit, une colonne capillaire nécessite un échantillon plus petit, généralement inférieur à 10–2 μL .

I.7.2.3. Phases stationnaires pour la chromatographie gaz-liquide

L'ordre d'élution en chromatographie gaz-liquide dépend de deux facteurs : le point d'ébullition des solutés et l'interaction entre les solutés et la phase stationnaire. Si les composants d'un mélange ont des points d'ébullition significativement différents, le choix de la phase stationnaire est moins critique. Si deux solutés ont des points d'ébullition similaires, une séparation n'est possible que si la phase stationnaire interagit sélectivement avec l'un des solutés. En règle générale, les solutés non polaires sont séparés plus facilement lors de l'utilisation d'une phase stationnaire non polaire, et les solutés polaires sont plus faciles à séparer lors de l'utilisation d'une phase stationnaire polaire.

Il existe plusieurs critères importants pour choisir une phase stationnaire :

- Elle ne doit pas réagir avec les solutés
- Elle doit être thermiquement stable
- Elle doit avoir une faible volatilité
- Elle doit avoir une polarité adaptée aux composants de l'échantillon.

Pour les colonnes remplies, la technique d'imprégnation, de mise en œuvre très simple, permet de choisir de nombreux composés organiques peu volatils à usage de phases stationnaires. Mais, pour les colonnes capillaires, les contraintes de fabrication imposent un choix beaucoup plus limité. Les phases actuelles correspondent à deux principaux types de composés : les polysiloxanes et les polyéthylèneglycols, chaque catégorie pouvant faire l'objet de modifications structurales mineures. Des phases particulières à base de cyclodextrines peuvent être ajoutées pour l'étude des composés optiquement actifs. Toutes ces phases sont utilisables entre deux températures, l'une minimale au-dessous de laquelle les équilibres de concentration sont trop lents à se faire, l'autre qui définit la limite supérieure d'utilisation sans dégradation, qui dépend de la nature et de l'épaisseur du film.

I.7.2.4. Introduction de l'échantillon

Trois facteurs déterminent la manière d'introduire un échantillon dans le chromatographe en phase gazeuse. Premièrement, tous les constituants de l'échantillon doivent être volatils. Deuxièmement, les analytes doivent être présents à une concentration appropriée. Enfin, le processus physique d'injection de l'échantillon ne doit pas dégrader la séparation. Chacune de ces étapes est bien détaillée et examinée dans cette section.

- **Préparation d'un échantillon volatil**

Tous les échantillons ne peuvent pas être injectés directement dans un chromatographe en phase gazeuse. Pour se déplacer dans la colonne, les constituants de l'échantillon doivent être suffisamment volatils. Un soluté de faible volatilité, par exemple, peut être retenu par la colonne et continuer à s'éluer lors de l'analyse d'échantillons ultérieurs. Un soluté non volatil se condensera en haut de la colonne, dégradant les performances de la colonne.

La séparation des analytes volatils d'un échantillon de ses composants non volatils peuvent être réalisée en utilisant l'une des techniques d'extraction. Une extraction liquide-liquide d'analytes à partir d'une matrice aqueuse dans du chlorure de méthylène ou un autre solvant organique est un choix courant. Les extractions en phase solide sont également utilisées pour éliminer les composants non volatils d'un échantillon. Une approche intéressante pour isoler les analytes est une microextraction en phase solide. Dans une approche, illustrée à la figure I.12, une fibre de silice fondue est placée à l'intérieur d'une aiguille de seringue. La fibre, qui est revêtue d'un film mince d'un matériau adsorbant, tel que le polydiméthylsiloxane, est abaissée dans l'échantillon en appuyant sur un piston et est exposée à l'échantillon pendant une durée prédéterminée. Après avoir retiré la fibre dans l'aiguille, elle est transférée au chromatographe en phase gazeuse pour analyse.

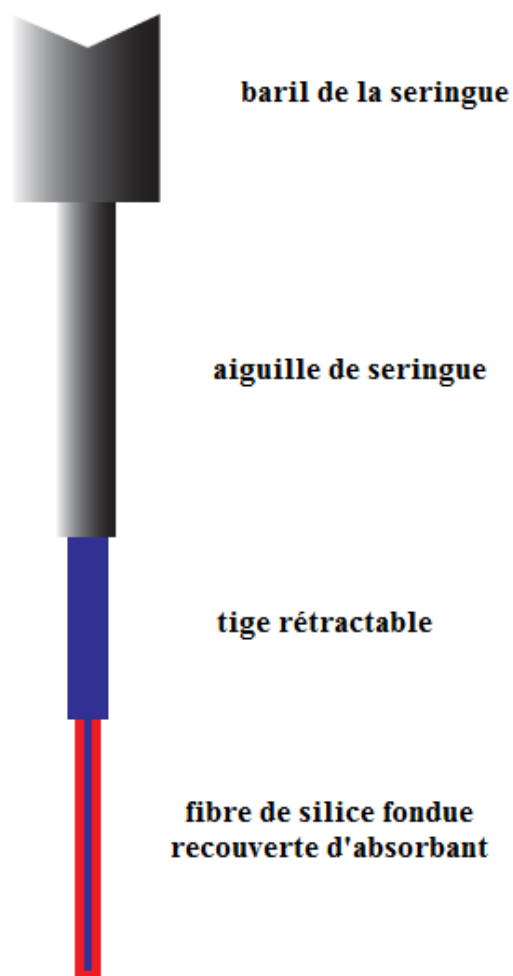


Figure I.15 : Schéma de principe d'un dispositif de micro-extraction en phase solide.

L'absorbant est représenté en rouge.

Deux méthodes supplémentaires pour isoler les analytes volatils sont un échantillonnage de purge et de piégeage et d'espace de tête. Dans une purge et un piège, nous faisons barboter un gaz inerte, tel que He ou N₂, à travers l'échantillon, libérant - ou purgeant- les composés volatils. Ces composés sont transportés par le gaz de purge à travers un piège qui contient un matériau absorbant, tel que le Tenax, où ils sont retenus. Chauffage du purgeur et rinçage à contre-courant avec le gaz vecteur transfère les composés volatils au chromatographe en phase gazeuse. Dans l'échantillonnage de l'espace de tête, nous plaçons l'échantillon dans un flacon fermé avec un espace d'air sus-jacent. Après avoir laissé le temps aux analytes volatils de s'équilibrer entre l'échantillon et l'air sus-jacent, une seringue est utilisée pour extraire une partie de la phase vapeur et l'injecter dans le chromatographe en phase gazeuse.

- **Réglage de la concentration de l'analyte**

Si la concentration d'un analyte est trop faible pour donner un signal adéquat, nous devons concentrer l'analyte avant d'injecter l'échantillon dans le chromatographe en phase gazeuse. Un avantage secondaire de nombreuses méthodes d'extraction est qu'elles concentrent souvent les analytes. Les matières organiques volatiles isolées d'un échantillon aqueux par une purge et un piège, par exemple, sont concentrées jusqu'à 1 000 fois. Si un analyte est trop concentré, il est facile de surcharger la colonne, ce qui entraîne une façade pointue des pics et une mauvaise séparation. De plus, la concentration de l'analyte peut dépasser la réponse linéaire du détecteur. Injecter moins d'échantillon ou diluer l'échantillon avec un solvant volatil, tel que le chlorure de méthylène, sont deux solutions possibles à ce problème.

- **Injection de l'échantillon**

La conception de l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse permet de minimiser le problème de l'élargissement de bande. La figure I.16 présente un exemple de port d'injection simple pour une colonne remplie. Le haut de la colonne s'insère dans un bloc d'injecteur chauffé, le gaz porteur entrant par le bas.

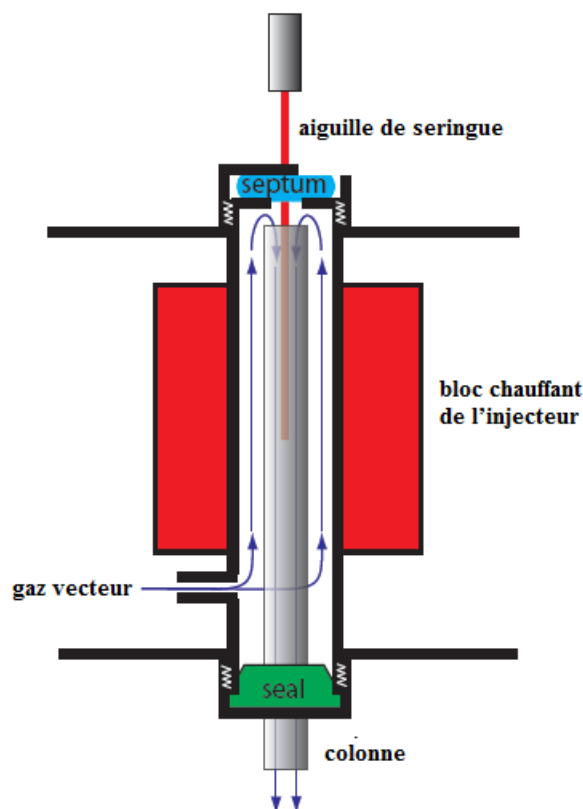


Figure I.16 : Schéma de principe d'un port d'injecteur à utiliser avec des colonnes remplies.

L'échantillon est injecté à travers un septum en caoutchouc à l'aide d'une seringue microlitre, telle que celle illustrée à la figure I.17. L'injection de l'échantillon directement dans la colonne minimise l'élargissement de la bande car elle mélange l'échantillon avec la plus petite quantité possible de gaz vecteur. Le bloc injecteur est chauffé à une température d'au moins 50 °C au-dessus du point d'ébullition du soluté le moins volatil, ce qui assure une vaporisation rapide des composants de l'échantillon.



Figure I.17 : Exemple d'une seringue pour injecter des échantillons dans un chromatographe en phase gazeuse.

Étant donné que le volume d'une colonne capillaire est nettement inférieur à celui d'une colonne remplie, il faut un style d'injecteur différent pour éviter de surcharger la colonne avec l'échantillon. La figure I.18 montre un diagramme schématique d'un injecteur avec/sans division typique à utiliser avec une colonne capillaire. Dans une injection fractionnée, nous injectons l'échantillon à travers un septum en caoutchouc à l'aide d'une seringue microlitre. Au lieu d'injecter l'échantillon directement dans la colonne, il est injecté dans un liner en verre où il se mélange au gaz vecteur. Au point de partage, une petite fraction du gaz vecteur et de l'échantillon pénètre dans la colonne capillaire, le reste sortant par l'évent de partage. En contrôlant le débit du gaz vecteur lorsqu'il pénètre dans l'injecteur, et son débit à travers la purge du septum et l'évent divisé, nous pouvons contrôler la fraction d'échantillon qui pénètre dans la colonne capillaire, généralement de 0,1 à 10 %.

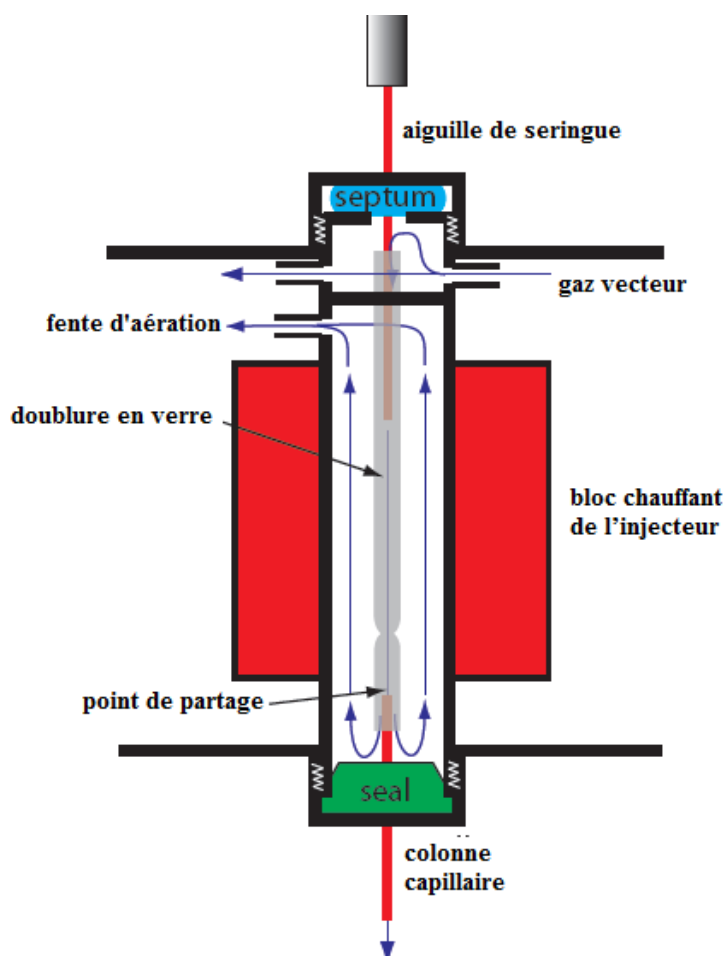


Figure I.18 : Schéma de principe d'un port d'injection à utiliser avec des colonnes capillaires.

I.7.2.5. Contrôle de la température

Le contrôle de la température de la colonne est essentiel pour obtenir une bonne séparation lors de l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse. Pour cette raison, la colonne est placée à l'intérieur d'un four thermostaté (Figure I.11). Dans une séparation isotherme, nous maintenons la colonne à une température constante. Pour augmenter l'interaction entre les solutés et la phase stationnaire, la température est généralement fixée légèrement en dessous de celle du soluté à point d'ébullition le plus bas. Une difficulté avec une séparation isotherme est qu'une température qui favorise la séparation d'un soluté à bas point d'ébullition peut conduire à un temps de rétention trop long pour un soluté à point d'ébullition plus élevé. La programmation de la température apporte une solution à ce problème. Au début de l'analyse, nous fixons la température initiale de la colonne en dessous de celle du soluté à point d'ébullition le plus bas. Au fur et à mesure que la séparation progresse, nous augmentons lentement la température à une vitesse uniforme ou en une série d'étapes.

I.7.2.6. Détecteurs pour chromatographie en phase gazeuse

La dernière partie d'un chromatographe en phase gazeuse est le détecteur. Le détecteur idéal présente plusieurs caractéristiques souhaitables : une limite de détection basse, une réponse linéaire sur une large gamme de concentrations de solutés (ce qui facilite le travail quantitatif), une sensibilité pour tous les solutés ou une sélectivité pour une classe spécifique de solutés, et une insensibilité à un changement en débit ou en température.

- **Détecteur de conductivité thermique (TCD)**

L'un des premiers détecteurs de chromatographie en phase gazeuse tire parti de la conductivité thermique de la phase mobile. Lorsque la phase mobile sort de la colonne, elle passe sur un filament de fil de tungstène-rhénium. La résistance électrique du filament dépend de sa température qui, à son tour, dépend de la conductivité thermique de la phase mobile. En raison de sa conductivité thermique élevée, l'hélium est la phase mobile de choix lors de l'utilisation d'un détecteur à conductivité thermique (TCD).

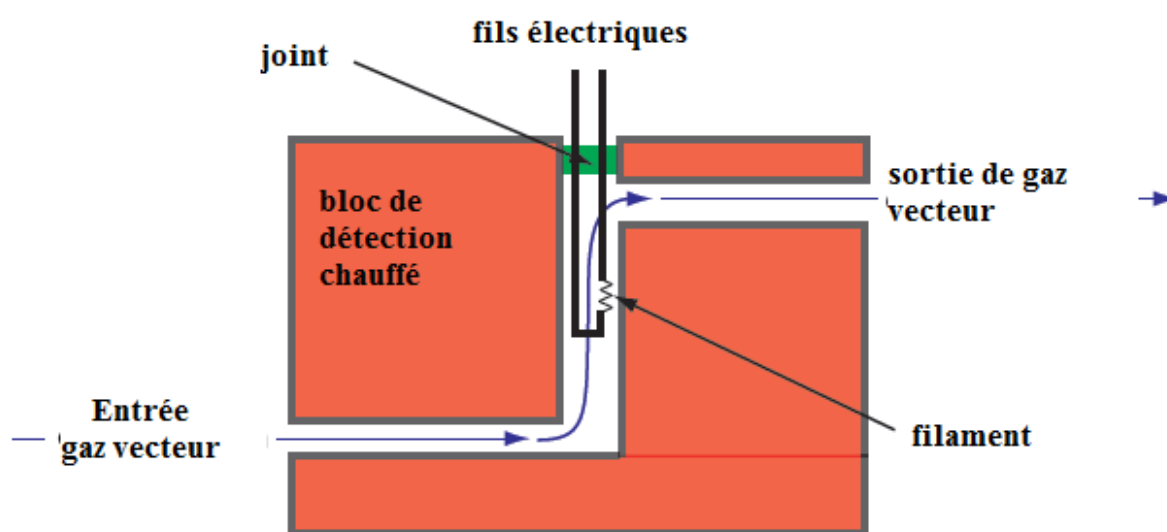


Figure I.19 : Schéma d'un détecteur de conductivité thermique montrant une cellule d'une paire appariée

- **Détecteur à ionisation de flamme (FID)**

La combustion d'un composé organique dans une flamme H_2 /air donne une flamme qui contient des électrons et des cations organiques, vraisemblablement CHO^+ . L'application d'un potentiel d'environ 300 volts à travers la flamme crée un petit courant d'environ 9 à 12 ampères. Lorsqu'il est amplifié, ce courant fournit un signal analytique utile. C'est la base du populaire détecteur à ionisation de flamme, dont un schéma est illustré à la figure I.20.

La plupart des atomes de carbone, à l'exception de ceux des groupes carbonyle et carboxylique, génèrent un signal, ce qui fait du FID un détecteur presque universel pour les composés organiques. La plupart des composés inorganiques et de nombreux gaz, tels que H_2O et CO_2 , ne sont pas détectés, ce qui fait du détecteur FID un détecteur utile pour l'analyse d'analytes organiques dans des échantillons environnementaux atmosphériques et aqueux. Les avantages du FID comprennent une limite de détection qui est d'environ deux à trois ordres de grandeur inférieure à celle d'un détecteur à conductivité thermique et une réponse linéaire sur 10^6 à 10^7 ordres de grandeur dans la quantité d'analyte injectée. L'échantillon, bien sûr, est détruit lors de l'utilisation d'un détecteur à ionisation de flamme.

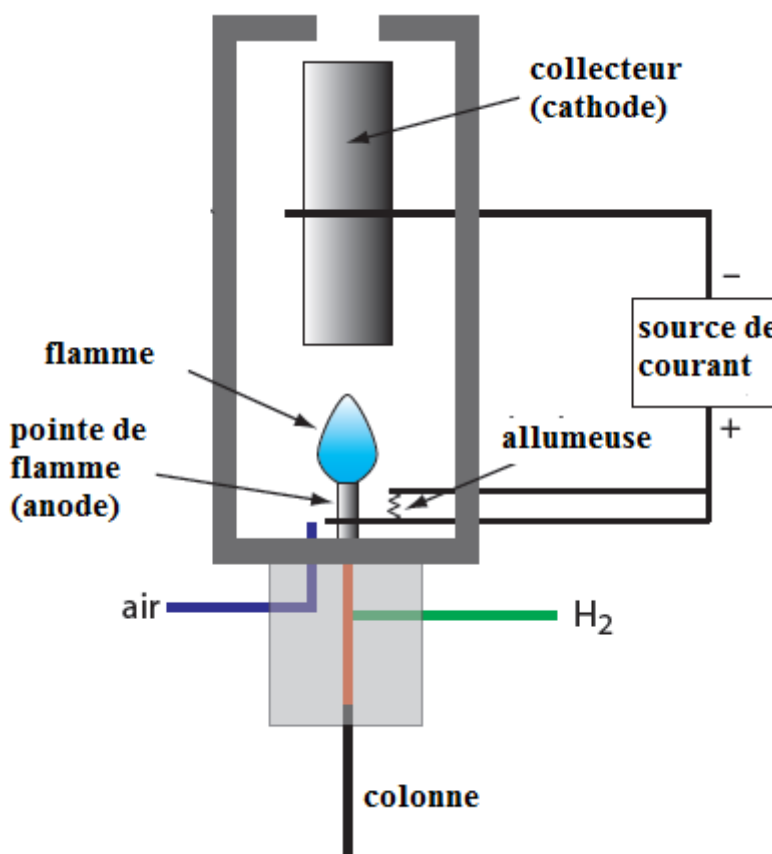


Figure I.20 : Schéma de principe d'un détecteur à ionisation de flamme.

- **Détecteur à capture d'électrons (ECD)**

Le détecteur à capture d'électrons est un exemple de détecteur sélectif. Le détecteur est constitué d'un émetteur, tel que le ^{63}Ni . Les électrons émis ionisent la phase mobile, généralement N_2 , générant un courant permanent entre une paire d'électrodes. Lorsqu'un soluté ayant une forte affinité pour la capture d'électrons s'élue de la colonne, le courant diminue, ce qui sert de signal. L'ECD est hautement sélectif envers les solutés avec des groupes fonctionnels électronégatifs, tels que les halogènes et les groupes nitro, et est relativement insensible aux amines, alcools et hydrocarbures. Bien que sa limite de détection soit excellente, sa plage linéaire ne s'étend que sur environ deux ordres de grandeur.

- **Spectromètre de masse (SM)**

Un spectromètre de masse est un instrument qui ionise une molécule gazeuse en utilisant suffisamment d'énergie pour que l'ion résultant se décompose en ions plus petits. Comme ces ions ont des rapports masse/charge différents, il est possible de les séparer à l'aide d'un champ magnétique ou d'un champ électrique. Le spectre de masse résultant contient à la fois des informations quantitatives et qualitatives sur l'analyte.

- **Autres détecteurs**

Deux détecteurs supplémentaires sont de conception similaire à un détecteur à ionisation de flamme. Dans le détecteur photométrique de flamme, l'émission optique du phosphore et du soufre fournit un détecteur sélectif pour les composés qui contiennent ces éléments. Le détecteur thermionique réagit aux composés qui contiennent de l'azote ou du phosphore. Un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) peut également servir de détecteur. En CPG-FTIR, l'effluent de la colonne s'écoule à travers une cellule optique construite à partir d'un tube Pyrex de 10 à 40 cm avec un diamètre interne de 1 à 3 mm. La surface intérieure de la cellule est recouverte d'une couche d'or réfléchissante. Des réflexions multiples du rayonnement source lorsqu'il est transmis à travers la cellule augmentent la longueur du chemin optique à travers l'échantillon. Comme c'est le cas avec CPG-SM, un détecteur FT-IR enregistre en continu le spectre de l'éluant de la colonne, ce qui nous permet d'examiner le spectre IR pour n'importe quel incrément de temps.

I.7.3. Avantages et inconvénients de la chromatographie en phase gazeuse

I.7.3.1. Avantages de la CPG

- ✦ Analyse rapide, généralement en quelques minutes
- ✦ Efficace, offrant une haute résolution
- ✦ Sensible, détectant facilement les ppm et souvent les ppb
- ✦ Analyse quantitative très précise, RSD typiques de 1 à 5 %
- ✦ Nécessite de petits échantillons, généralement μL
- ✦ fiable et relativement simple
- ✦ Peu coûteuse

I.7.3.2. Inconvénients de la CPG

- ✦ Limité aux échantillons volatils
- ✦ Ne convient pas aux échantillons thermiquement labiles
- ✦ Assez difficile pour les grands échantillons préparatoires
- ✦ Nécessite une spectroscopie, généralement une spectroscopie de masse, pour la confirmation de l'identification des pics

En résumé : pour la séparation des matériaux volatiles, la CPG est généralement la méthode de choix en raison de sa vitesse, de sa capacité de haute résolution et de sa facilité d'utilisation.

I.7.4. Domaines d'applications

I.7.4.1. Applications quantitatives

La chromatographie en phase gazeuse est largement utilisée pour l'analyse d'un large éventail d'échantillons dans les laboratoires environnementaux, cliniques, pharmaceutiques, biochimiques, médico-légaux, alimentaires et pétrochimiques. Le tableau suivant fournit quelques exemples représentatifs d'applications.

Tableau I.1. Applications de la chromatographie en phase gazeuse.

industrie pétrolière et chimique	pureté des solvants gaz de raffinerie composition de l'essence
analyse environnementale	gaz à effet de serre (CO ₂ , CH ₄ , NO _x) dans l'air pesticides dans l'eau, les eaux usées et le sol émissions des véhicules
analyse clinique	médicaments alcools sanguins
analyse judiciaire	analyse des accélérateurs d'incendie criminel détection d'explosifs
produits de consommation	composés organiques volatils dans les épices et les parfums

Dans une analyse par CPG, la surface sous le pic est proportionnelle à la quantité d'analyte injectée sur la colonne. La surface d'un pic est déterminée par l'intégration, qui est généralement gérée par l'ordinateur de l'instrument ou par un enregistreur d'intégration électronique. Si deux pics sont entièrement résolus, la détermination de leurs aires respectives est simple. Cependant, les pics qui se chevauchent nécessitent de choisir entre plusieurs options pour diviser la zone partagée par les deux pics.

Pour un travail quantitatif, une courbe d'étalonnage qui relie la réponse du détecteur à la concentration de l'analyte doit être établie. Si le volume d'injection est identique pour chaque étalon et chaque échantillon, une normalisation externe fournit des résultats à la fois exacts et précis. Malheureusement, même dans les meilleures conditions, la précision relative des injections répétées peut différer de 5 % ; c'est souvent nettement pire.

I.7.4.2. Applications qualitatives

En plus d'une analyse quantitative, nous pouvons également utiliser la chromatographie pour identifier les composants d'un mélange. Comme indiqué précédemment, lors de l'utilisation d'un spectromètre FT-IR ou d'un spectromètre de masse comme détecteur, nous avons accès au spectre complet de l'éluant pour n'importe quel temps de rétention. En interprétant le spectre ou en cherchant dans une bibliothèque de spectres, nous pouvons identifier l'analyte responsable de chaque pic chromatographique. Lors de l'utilisation d'un détecteur non spectroscopique, tel qu'un détecteur à ionisation de flamme, il faut trouver une autre approche si l'on souhaite identifier les composants d'un mélange. Une approche consiste à enrichir un échantillon avec le composé suspect et à rechercher une augmentation de la hauteur du pic. Nous pouvons également comparer le temps de rétention d'un pic au temps de rétention d'un composé connu si nous utilisons des conditions opératoires identiques. Étant donné que les temps de rétention d'un composé sur deux colonnes identiques ne seront probablement pas les mêmes - les différences d'efficacité de remplissage, par exemple, affecteront le temps de rétention d'un soluté sur une colonne remplie- il n'est pas possible de créer un tableau des temps de rétention standard. L'indice de rétention de Kovat fournit une solution au problème de correspondance des temps de rétention. Dans des conditions isothermes, les temps de rétention ajustés pour les alcanes normaux augmentent de manière logarithmique. Kovat a défini l'indice de rétention, I , pour un alcane normal comme 100 fois le nombre d'atomes de carbone. Par exemple, l'indice de rétention est de 400 pour le butane, C_4H_{10} , et de 500 pour le pentane, C_5H_{12} . Pour déterminer l'indice de rétention d'un composé, I_{cpd} , nous utilisons la formule suivante :

$$I_{cpd} = 100 \times \frac{\log t'_{r,cpd} - \log t'_{r,x}}{\log t'_{r,x+1} - \log t'_{r,x}} + I_x$$

où $t'_{r,cpd}$ est le temps de rétention ajusté du composé, $t'_{r,x}$ et $t'_{r,x+1}$ sont les temps de rétention ajustés pour les alcanes normaux qui sont élués respectivement immédiatement avant le composé et immédiatement après le composé, et I_x est l'indice de rétention pour l'alcane normal qui s'élue immédiatement avant le composé. L'indice de rétention d'un composé pour un ensemble particulier de conditions chromatographiques (phase stationnaire, phase mobile, type de colonne, longueur de colonne, température, etc.) est raisonnablement constant d'un jour à l'autre et entre les différentes colonnes et instruments.

I.8. Chromatographie en Phase Liquide « CPL »

Le terme « chromatographie liquide » englobe un lexique de techniques de séparation avec une seule caractéristique commune, celle d'une phase mobile liquide. Par rapport aux gaz, les liquides offrent une plus grande variété de capacités de solvation avec plus de possibilités d'optimisation de la sélectivité, tandis que les gaz ont des propriétés cinétiques plus favorables, ce qui donne des rendements plus élevés et des temps de séparation plus courts. Par conséquent, les séparations en chromatographie liquide sont généralement effectuées avec un nombre modeste de plateaux théoriques à une sélectivité optimisée obtenue par une sélection appropriée du mode de séparation, de la structure de la phase stationnaire et de la composition de la phase mobile. Comprendre la relation complexe entre les trois derniers termes est la clé pour comprendre comment les séparations se produisent en chromatographie liquide

Un certain nombre de modes de séparation distincts sont utilisés en chromatographie liquide. Une classification générale peut être faite en termes de processus de distribution. Les principaux procédés sont l'adsorption, base de la chromatographie liquide-solide (CLS); perméabilité restreinte des solides poreux, la base de la chromatographie d'exclusion stérique; la partition, base de la chromatographie liquide-liquide (CLL); interactions électrostatiques avec des groupes ioniques immobilisés, base de la chromatographie échangeuse d'ions (CEI); et la liaison spécifique de la structure des biopolymères aux sites de reconnaissance moléculaire immobilisés, la base de la chromatographie d'affinité (CA). Les oxydes inorganiques et les polymères poreux avec divers groupes fonctionnels de surface ont servi les premiers besoins de la chromatographie liquide. Le développement des phases liées chimiquement au début des années 1970 a eu un impact majeur sur la pratique générale de la chromatographie liquide, entraînant un changement d'accent entre les modes de séparation.

La chromatographie sur colonne liquide-solide, la technique de chromatographie la plus populaire, comporte une phase mobile liquide qui filtre lentement à travers la phase stationnaire solide, entraînant avec elle les composants séparés.

La chromatographie en phase liquide englobe des méthodes telles que la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et la chromatographie ionique. Elle est utilisée afin d'identifier, de quantifier et de purifier les composants individuels d'un mélange.

I.8.1. Chromatographie Liquide Haute Performance «HPLC»

La chromatographie liquide à haute performance, anciennement appelée chromatographie liquide à haute pression, a été développée à partir de la chromatographie liquide sur colonne classique. L'introduction de particules plus petites dans les matériaux de garnissage dans les années 1970 a généré une contre-pression plus élevée, ce qui a également nécessité des unités de distribution de phase mobile à haute pression.

I.8.1.1. Appareillage

L'instrumentation HPLC de base se compose d'une ou plusieurs pompes, d'un injecteur (injection manuelle ou automatique), d'une ou plusieurs colonnes, d'un détecteur et d'un dispositif de traitement des données, comme illustré à la figure I.21. Le solvant est transféré entre les unités via des tubes en acier inoxydable avec des écrous et des embouts. La ou les pompes délivrent des solvants (la phase mobile) dans une plage de débit donnée, liée à la taille des colonnes et au choix du détecteur. L'échantillon est introduit à l'entrée de la colonne - souvent par un auto-injecteur, les composants sont séparés dans la colonne et élués par un tube de connexion dans le détecteur, et les signaux sont transférés du détecteur vers un PC où le traitement des données a lieu. Avec le logiciel approprié, toutes les étapes peuvent être complètement contrôlées par le PC. Si une colonne n'est pas suffisante, une autre peut être ajoutée (comme le montre la figure I.21). La première colonne peut également être une courte colonne de garde protégeant la colonne analytique

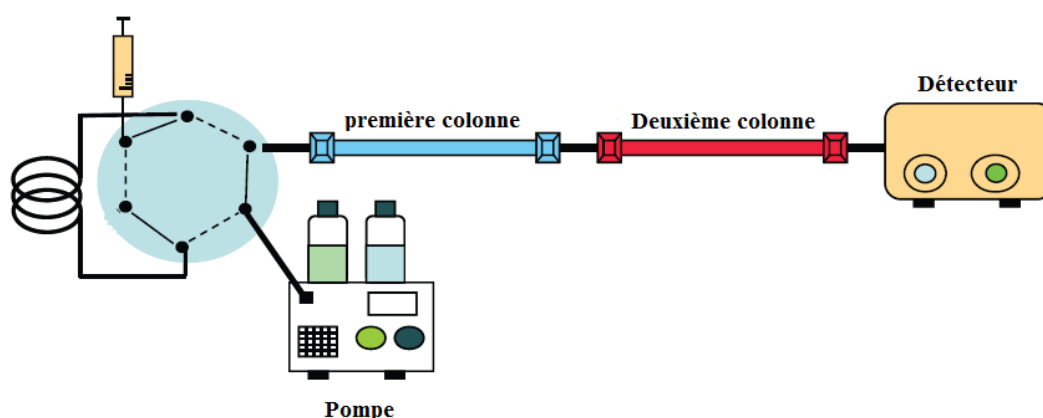


Figure I.21 : Instrumentation HPLC (avec deux colonnes couplées)

I.8.1.1.1. Colonnes HPLC

Une HPLC comprend généralement deux colonnes : une colonne analytique, qui est responsable de la séparation, et une colonne de garde qui est placée avant la colonne analytique pour la protéger de la contamination.

■ Colonnes analytiques

Le type le plus courant de colonne HPLC est un tube en acier inoxydable d'un diamètre interne compris entre 2,1 mm et 4,6 mm et d'une longueur comprise entre 30 et 300 mm (Figure I.22). La colonne est remplie de particules de silice poreuses de 3 à 10 μm de forme irrégulière ou sphérique. Les rendements typiques des colonnes sont de 40 000 à 60 000 plateaux théoriques/m. En supposant une $V_{\text{max}}/V_{\text{min}}$ d'environ 50, une colonne de 25 cm avec 50 000 plateaux/m a 12 500 plateaux théoriques et une capacité maximale de 110.



Figure I.22 : Colonne garnie typique pour HPLC

Les colonnes capillaires utilisent moins de solvant et, comme l'échantillon est moins dilué, produisent des signaux plus importants au niveau du détecteur. Ces colonnes sont fabriquées à partir de capillaires en silice fondue avec des diamètres internes de 44 à 200 μm et des longueurs de 50 à 250 mm. Des colonnes capillaires remplies de particules de 3 à 5 μm ont été préparées avec des efficacités de colonne allant jusqu'à 250 000 plateaux théoriques.

Une limitation à une colonne capillaire remplie est la contre-pression qui se développe lors du pompage de la phase mobile à travers les petits espaces interstitiels entre le matériau de garnissage particulaire de la taille d'un micron. Étant donné que les tubes et les raccords qui transportent la phase mobile ont des limites de pression, une contre-pression plus élevée nécessite un débit plus faible et un temps d'analyse plus long. Les colonnes monolithiques, dans lesquelles le support solide est une seule tige poreuse, offrent des efficacités de colonne équivalentes à une colonne capillaire garnie tout en permettant des débits plus rapides. Une colonne monolithique - qui est généralement de taille similaire à une colonne à garnissage conventionnelle, bien que des colonnes capillaires plus petites soient également disponibles -

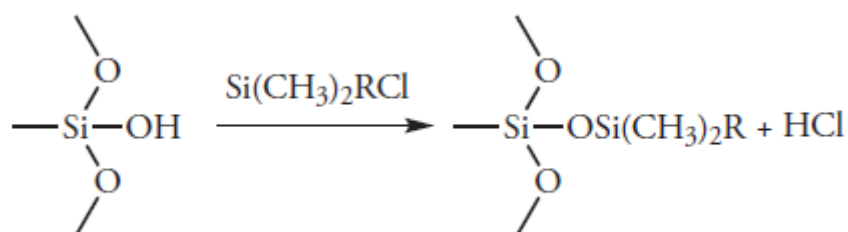
est préparée en formant la tige monolithique dans un moule et en la recouvrant d'un tube en PTFE ou d'une résine polymère. Les tiges monolithiques en polymère de gel de silice ont typiquement des macropores d'environ 2 µm de diamètre et des mésopores - pores à l'intérieur des macropores - d'environ 13 nm de diamètre.

■ Colonnes de garde

Deux problèmes tendent à raccourcir la durée de vie d'une colonne analytique. Premièrement, les solutés qui se lient de manière irréversible à la phase stationnaire dégradent les performances de la colonne en diminuant la quantité de phase stationnaire disponible pour effectuer une séparation. Deuxièmement, la matière particulaire injectée avec l'échantillon peut obstruer la colonne analytique. Pour minimiser ces problèmes, une colonne de garde est placée avant la colonne analytique. Une colonne de garde contient généralement le même matériau de garnissage particulaire et la même phase stationnaire que la colonne analytique, mais elle est nettement plus courte et moins chère - une longueur de 7,5 mm et un coût d'un dixième de celui de la colonne analytique correspondante est typique. Parce qu'elles sont destinées à être sacrificielles, les colonnes de garde sont remplacées régulièrement.

I.8.1.1.2. Phases stationnaires

En chromatographie liquide-liquide, la phase stationnaire est un film liquide enduit sur un matériau de garnissage, généralement des particules de silice poreuses de 3 à 10 µm. Étant donné que la phase stationnaire peut être partiellement soluble dans la phase mobile, elle peut s'éluer ou s'écouler de la colonne au fil du temps. Pour éviter la perte de phase stationnaire, qui raccourcit la durée de vie de la colonne, celle-ci est liée de manière covalente aux particules de silice. Les phases stationnaires liées sont créées en faisant réagir les particules de silice avec un organochlorosilane de la forme générale $\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{RCl}$, où R est un groupe alkyle ou alkyle substitué.



Pour éviter les interactions indésirables entre les solutés et les groupes -SiOH restants, $\text{Si(CH}_3)_3\text{Cl}$ est utilisé pour convertir les sites n'ayant pas réagi en $\text{-SiOSi(CH}_3)_3$; ces colonnes sont désignées comme « end-capped ».

Les propriétés d'une phase stationnaire dépendent du groupe alkyle de l'organosilane. Si R est un groupe fonctionnel polaire, alors la phase stationnaire est polaire. Des exemples de phases stationnaires polaires comprennent celles où R contient un groupe fonctionnel cyano ($\text{-C}_2\text{H}_4\text{CN}$), un diol ($\text{-C}_3\text{H}_6\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$) ou un groupe fonctionnel amino ($\text{-C}_3\text{H}_6\text{NH}_2$). Parce que la phase stationnaire est polaire, la phase mobile est un solvant non polaire ou modérément polaire. La combinaison d'une phase stationnaire polaire et d'une phase mobile non polaire est appelée chromatographie en phase normale. Dans la chromatographie en phase inversée, qui est la forme la plus courante de HPLC, la phase stationnaire est non polaire et la phase mobile est polaire. Les phases stationnaires non polaires les plus courantes utilisent un organochlorosilane où le groupement R est une chaîne hydrocarbonée n-octyl (C8) ou n-octyldécyl (C18). La plupart des séparations en phase inverse sont réalisées en utilisant une solution aqueuse tamponnée comme phase mobile polaire, ou en utilisant d'autres solvants polaires, tels que le méthanol et l'acétonitrile. Le substrat de silice pouvant subir une hydrolyse dans des solutions basiques, le pH de la phase mobile doit être inférieur à 7,5.

I.8.1.1.3. Phases mobiles

L'ordre d'élution des solutés en HPLC est régi par la polarité. Pour une séparation en phase normale, un soluté de polarité plus faible passe proportionnellement moins de temps dans la phase stationnaire polaire et s'élue avant un soluté plus polaire.

Étant donné une phase stationnaire particulière, les temps de rétention en HPLC en phase normale sont contrôlés en ajustant les propriétés de la phase mobile. Par exemple, si la résolution entre deux solutés est mauvaise, le passage à une phase mobile moins polaire maintient les solutés sur la colonne plus longtemps et offre plus de possibilités pour leur séparation. Dans la HPLC en phase inversée, l'ordre d'élution est l'opposé de celui d'une séparation en phase normale, avec plus de solutés polaires élués en premier. L'augmentation de la polarité de la phase mobile conduit à des temps de rétention plus longs. Des temps de rétention plus courts nécessitent une phase mobile de polarité plus faible.

I.8.1.1.4. Détecteurs pour HPLC

De nombreux types de détecteurs différents sont utilisés pour surveiller les séparations HPLC, dont la plupart utilisent des techniques spectroscopiques ou des techniques électrochimiques.

■ Détecteurs spectroscopiques

Les détecteurs HPLC les plus populaires tirent parti du spectre d'absorption UV/Vis d'un analyte. Ces détecteurs vont de conceptions simples, dans lesquelles la longueur d'onde analytique est sélectionnée à l'aide de filtres appropriés, à un spectrophotomètre modifié dans lequel le compartiment d'échantillon comprend une cellule d'écoulement. La figure 12.46 montre la conception d'une cuve à circulation typique lors de l'utilisation d'un spectromètre à barrette de diodes comme détecteur. La Flow Cell a un volume de 1 à 10 μL et une longueur de trajet de 0,2 à 1 cm.

■ Détecteurs électrochimiques

Un autre groupe courant de détecteurs HPLC sont ceux basés sur des mesures électrochimiques telles que l'ampérométrie, la voltamétrie, la coulométrie et la conductivité.

■ Autres détecteurs

Plusieurs autres détecteurs sont utilisés en HPLC. La mesure d'un changement de l'indice de réfraction de la phase mobile est analogue à la surveillance de la conductivité thermique de la phase mobile en chromatographie en phase gazeuse. Un détecteur d'indice de réfraction est presque universel, répondant à presque tous les composés, mais a une limite de détection relativement faible de 0,1 à 1 μg d'analyte injecté. Une limitation supplémentaire d'un détecteur d'indice de réfraction est qu'il ne peut pas être utilisé pour une élution par gradient à moins que les composants de la phase mobile aient des indices de réfraction identiques. Un autre détecteur utile pour la HPLC est le spectromètre de masse.

Série d'exercices N°1**Exercice N° 01 :**

Deux espèces chimiques, A et B sont séparées par chromatographie gazeuse isotherme, à l'aide d'une colonne de 2,00 m ayant 5000 plateaux théoriques au débit de 15,0 ml/min.

Le pic de l'air non absorbé apparaît au bout de 30 s ; le pic de A apparaît au bout de 5 min et celui de B au bout de 12 min.

1. Calculer le volume mort V_M de la colonne, et les volumes de rétention V_A et V_B ?
2. Calculer les volumes réduits V'_A et V'_B ?
3. Calculer les coefficients de rétention k'_A et k'_B ?
4. Quelles sont les largeurs à la base des pics A et B ?
5. Quelle est la valeur de H pour cette colonne ?
6. Déterminer la valeur de la sélectivité α de cette séparation ?
7. Calculer la résolution R de la séparation ?
8. Commenter brièvement les valeurs de k' et de R ?

Exercice N° 02

Deux substances 1 et 2 ont des temps de rétention respectivement de 10 min et 7 min sur une colonne de 30 cm de long. Le temps mort de la colonne est de 60 sec. Les largeurs à mi-hauteur des deux pics sont respectivement 1 et 2 min.

Calculer

1. La résolution de la colonne et commenter sa valeur
2. Le nombre moyen de plateaux théoriques dans la colonne
3. La hauteur équivalente à un plateau théorique

Exercice N° 03

Un mélange de six iodures d'alkyle est séparé par chromatographie gazeuse à l'aide d'une colonne remplie de poudre de brique réfractaire enrobée d'huile de silicone (longueur $L = 365$ cm). La colonne est chauffée de telle sorte que sa température croisse linéairement durant toute l'opération. Le tableau suivant donne les résultats relevés.

Pic	Identité	t_R (min)	ω (min)	Température (°C)	Surface (cm ²)
1	Air	$t_M = 0,5$	Petite	55	Petite
2	CH ₃ I	6,60	0,55	100	13,0
3	C ₂ H ₅ I	9,82	1,00	127	12,0
4	Iso-C ₃ H ₇ I	11,90	1,04	139	10,0
5	<i>n</i> -C ₃ H ₇ I	13,04	1,08	148	7,2
6	CH ₂ I ₂	19,10	1,60	193	2,0

1. Calculer la résolution entre les pics 2-3, 3-4, 4-5, 5-6 ?
2. La séparation vous convient elle ?
3. Quelle longueur de colonne aurait il fallu pour que la résolution des pics 4 et 5 ait été de $R' = 1,5$?

Exercice N° 04

Deux substances A et B ont des temps de rétention respectivement de 16.40 min et 17.63 min sur une colonne de 30 cm de long. Le temps mort de la colonne est de 1.30 min. Les largeurs de pic à la base sont respectivement 1.11 et 1.21 min. Calculer

- Les temps de rétention réduit
- le nombre de plateaux théoriques réel et effectif

Corrigé des exercices

Exercice N° 01

1. Calcul du volume mort V_M de la colonne, et des volumes de rétention V_A et V_B :

$$V_i = t_i \cdot D$$

$$V_M = 0,5 \cdot 15 = 7,5 \text{ ml}, V_A = 5 \cdot 15 = 75 \text{ ml}, V_B = 12 \cdot 15 = 180 \text{ ml}$$

2. Calculer des volumes réduits V'_A et V'_B : $V'_i = t'_i \cdot D$ ou $V'_i = V_i - V_M$

$$t'_A = 5 - 0,5 = 4,5 \text{ min}, t'_B = 12 - 0,5 = 11,5 \text{ min}$$

$$V'_A = 4,5 \cdot 15 = 67,5 \text{ ml et } V'_B = 11,5 \cdot 15 = 172,5 \text{ ml}$$

Ou $V'_A = 75 - 7,5 = 67,5 \text{ ml et } V'_B = 180 - 7,5 = 172,5 \text{ ml}$

3. Calcul des coefficients de rétention k_A et k_B : $k = \frac{t_R}{t_M} = \frac{(t_R - t_M)}{t_M}$

$$k_A = 4,5/0,5 = 9 \text{ et } k_B = 23$$

4. Les largeurs à la base des pics A et B : $N = 16 \frac{t_R^2}{\omega^2}$ donc $\omega = 4 \cdot \frac{t_R}{\sqrt{N}}$

$$\omega_A = 4 \cdot 300/\sqrt{5000} = 17,0 \text{ sec et } \omega_B = 4 \cdot 720/\sqrt{5000} = 40,8 \text{ sec}$$

5. Calcul de la valeur de la hauteur du plateau théorique : $H = L/N$

$$H = 200/5000 = 0,04 \text{ cm/plateau}$$

6. Calcul de la valeur de la sélectivité α de cette séparation : $\alpha = \frac{t'_{R(B)}}{t'_{R(A)}} = \frac{k_B}{k_A}$

$$\alpha = 11,5/4,5 = 23/9 = 2,56$$

7. Calcul de la résolution R de la séparation : $R = 2 \frac{t_{R(B)} - t_{R(A)}}{\omega_A + \omega_B}$

$$R = 2 (720 - 300)/(40,8 + 17,0) = 14,5$$

8. Commentaire sur les valeurs de k' et de R ?

Pour k' les valeurs sont élevées. Composés retenus donc temps de rétention long et surement élargissement des pics.

Valeur de R très importante. La résolution de la séparation est très bonne, mais le compromis entre le temps de rétention et la résolution n'est surement pas optimisé. Il est préférable de baisser le temps d'analyse et de perdre un peu en résolution.

Exercice N° 02 :

1. Calcul de la résolution : $R = 1,177 \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{\delta_1 + \delta_2}$

A.N. $R = 1,177 \frac{10-7}{2+1}$ Donc $R = 1,177$

La valeur de R montre que la résolution est acceptable

2. Calcul du nombre moyen de plateaux théoriques dans la colonne : $N = 5,54 \frac{t_R^2}{\delta^2}$

$N_1 = 5,54 \frac{t_{R1}^2}{\delta^2} = 5,54 \frac{100}{1}$ Donc $N_1 = 554$ plateaux

$N_2 = 5,54 \frac{t_{R2}^2}{\delta^2} = 5,54 \frac{49}{4}$ Donc $N_2 = 68$ plateaux

$N_{\text{moy}} = (N_1 + N_2)/2$ d'où $N_{\text{moy}} = 311$ plateaux

3. La hauteur équivalente à un plateau théorique :

$$H_{\text{EPT}} = L/N$$

A.N. $H = 30/311$ d'où $H = 0,096$ cm/plateau

Exercice N° 03 :

1. Calcul de la résolution : $R = 2 \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{\omega_1 + \omega_2}$

$R_{2-3} = 2 (9,82-6,6)/(0,55+1) = 4,15$

$R_{3-4} = 2 (11,9-9,82)/(1+1,04) = 2,04$

$R_{4-5} = 2 (13,04-11,9)/(1,04+1,08) = 1,08$

$R_{5-6} = 2 (19,1-13,04)/(1,6+1,08) = 4,52$

2. Les pics 4 et 5 sont mal résolus.

3. Comme R est proportionnel à $\sqrt{L}$, alors, $R'/R = \sqrt{(L'/L)}$

Ainsi, $(1,5/1,08) = \sqrt{(L'/365)}$ $L' = 365 \cdot (1,5/1,08)^2 = 704$ cm

Exercice N° 04 :

Calcul des temps de rétention réduit : $t'_R = t_R - t_M$

$t'_{R(A)} = 15,1 \text{ min}$ et $t'_{R(B)} = 16,33 \text{ min}$

Calcul du nombre de plateaux théoriques Réels : $N = 16 \frac{t_R^2}{\omega^2} \rightarrow N = 3345$ plateaux

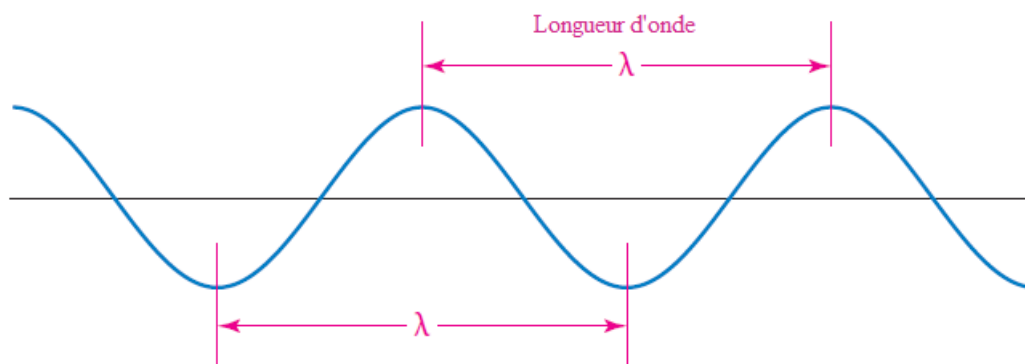
Calcul du nombre de plateaux théoriques effectifs : $N_{\text{eff}} = 16 \frac{t_R^2}{\omega^2} \rightarrow N_{\text{eff}} = 2938$ plateaux.

Chapitre II

Spectroscopie moléculaire UV-Visible

II.1. Introduction à la Spectroscopie moléculaire

La spectroscopie moléculaire est la mesure des interactions entre les ondes électromagnétiques et la matière. La lumière visible, la lumière infrarouge, la lumière ultraviolette, les micro-ondes et les ondes radio sont des exemples de rayonnement électromagnétique. Ils voyagent tous à la vitesse de la lumière, environ 3.10^8 m/seconde, mais ils diffèrent par leur fréquence et leur longueur d'onde. La fréquence d'une onde est le nombre de cycles d'onde complets qui passent par un point fixe en une seconde. La fréquence, représentée par la lettre grecque ν (nu), est généralement indiquée en hertz (Hz), ce qui signifie « cycles par seconde ». La longueur d'onde, représentée par la lettre grecque λ (lambda), est la distance entre deux pics (ou deux creux) quelconques de l'onde.



La longueur d'onde et la fréquence, qui sont inversement proportionnelles, sont liées par l'équation :

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad \text{ou} \quad \nu = \frac{c}{\lambda}$$

Où :

c : Vitesse de la lumière (3×10^8 m/sec)

λ : longueur d'onde en centimètre

ν : fréquence en Hertz

Les ondes électromagnétiques voyagent sous forme de photons, qui sont des paquets d'énergie sans masse. L'énergie d'un photon est proportionnelle à sa fréquence et inversement proportionnelle à sa longueur d'onde. Un photon de fréquence ν (ou longueur d'onde λ) a une énergie donnée par :

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

Où h est la constante de Planck, $6,62 \times 10^{-34}$ J/sec ou $1,58 \times 10^{-37}$ kcal/sec.

Dans certaines conditions, une molécule irradiée par un photon peut absorber son énergie. Dans ce cas, l'énergie de la molécule est augmentée d'une quantité égale à l'énergie du photon, $h\nu$. Pour cette raison, l'irradiation d'un mélange réactionnel est souvent représentée par le symbole $h\nu$. Le spectre électromagnétique est la gamme de toutes les fréquences possibles, de zéro à l'infini. En pratique, le spectre s'étend des très basses fréquences radio utilisées pour communiquer avec les sous-marins aux très hautes fréquences des rayons gamma. La figure II.1 montre les relations de longueur d'onde et d'énergie des différentes parties du spectre électromagnétique.

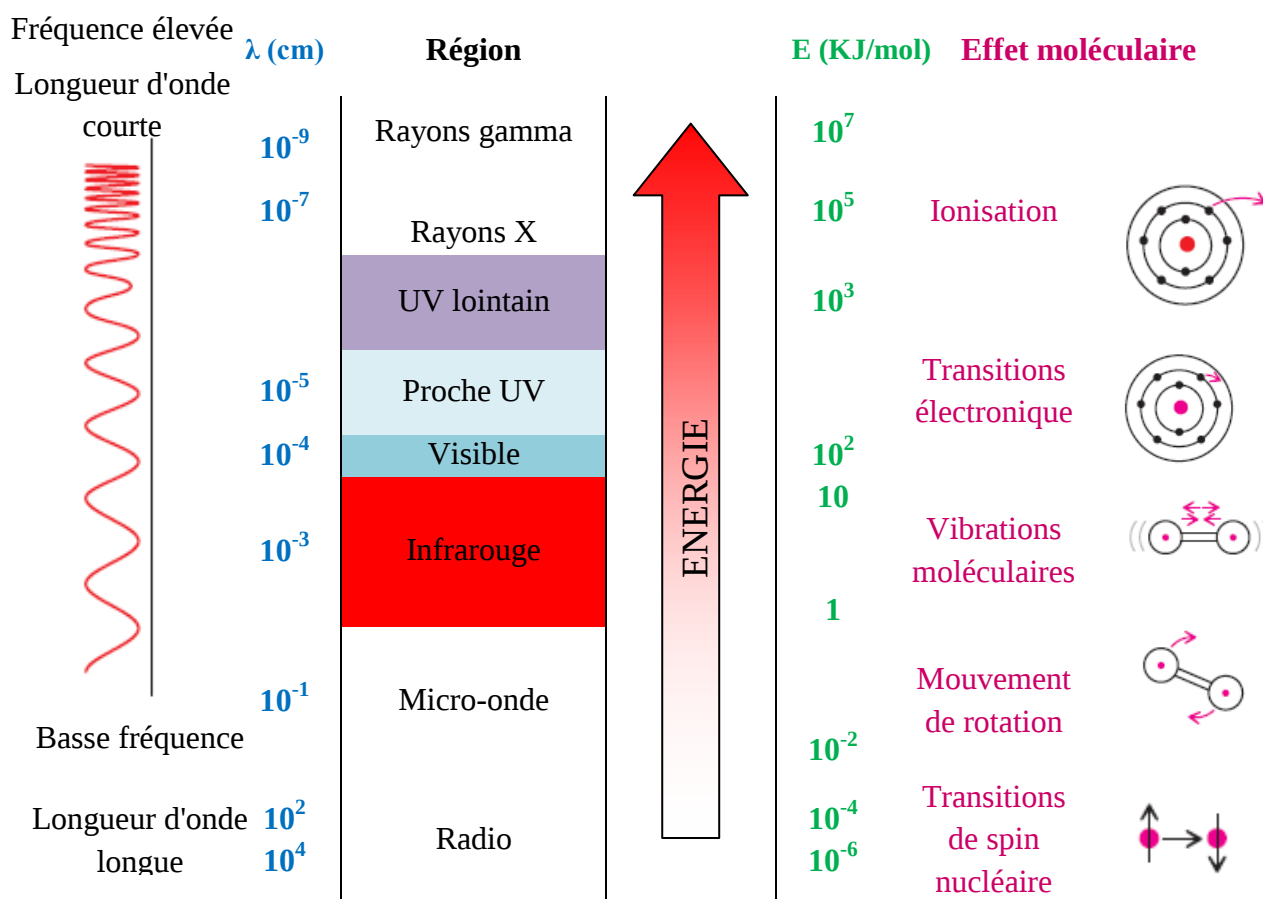


Figure II.1 : Spectre électromagnétique

Le spectre électromagnétique est continu et les positions exactes des lignes de séparation entre les différentes régions sont un peu arbitraires. Vers le haut du spectre de la figure II.1 se trouvent les fréquences les plus élevées, les longueurs d'onde les plus courtes et les énergies les plus élevées. Vers le bas se trouvent les fréquences les plus basses, les longueurs d'onde les plus longues et les énergies les plus basses. Les rayons X (très haute énergie) sont si énergétiques qu'ils excitent les électrons au-delà de tous les niveaux d'énergie, provoquant une ionisation. Les énergies dans la gamme ultraviolet-visible excitent les électrons à des niveaux d'énergie plus élevés dans les molécules. Les énergies infrarouges provoquent des vibrations moléculaires et les énergies micro-ondes provoquent des rotations. Les fréquences radioélectriques (très basse énergie) excitent les transitions de spin nucléaire observées en spectroscopie RMN.

II.2. Spectroscopie moléculaire UV – Visible

La spectrophotométrie UV-visible est une technique analytique, basée sur l'interaction rayonnement \ matière. L'absorption du rayonnement électromagnétique par la matière dans la plage spectrale s'étendant de l'ultraviolet au Visible (180 – 800 nm) a été abondamment étudiée. Cette partie du spectre est désignée par l'« UV/Visible », parce qu'elle englobe les radiations perceptibles par l'œil humain. Ce type de spectroscopie est très utile pour étudier les structures électroniques des molécules insaturées et pour mesurer l'étendue de leur conjugaison. D'une manière générale la spectroscopie UV-Visible apporte peu d'informations structurales, mais elle a, en revanche, beaucoup d'applications en analyse quantitative.

II.3. Principe et règles de sélection

Le principe de la spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible repose sur la transition électronique engendrée par l'absorption d'un photon par l'espèce chimique. Cette transition correspond à un saut d'un électron d'une orbitale moléculaire fondamentale (liante ou non liante) occupée à une orbitale moléculaire excitée (anti-liante) vacante. La spectroscopie UV-Visible fait intervenir une radiation électromagnétique d'énergie notablement élevée. La matière absorbe un photon dont l'énergie correspond à la différence d'énergie entre le niveau fondamental et le niveau excité. En revanche, toutes les transitions énergétiquement possibles ne sont pas permises. Les transitions permises sont celles qui se passe entre orbitales de même spin et de symétrie différente et qui provoquent une variation du moment dipolaire électrique c'est-à-dire ($\Delta l = \pm 1$, $\Delta S = 0$ et $\mu \neq 0$).

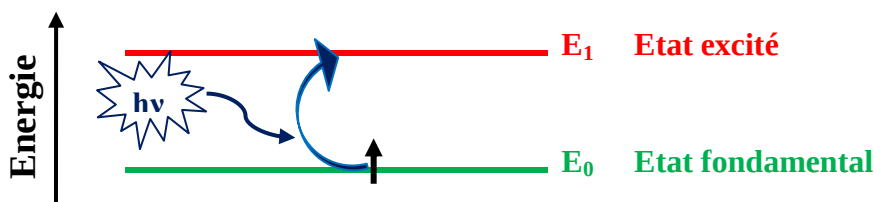


Figure II.2 : Transition électronique

II.4. Domaine spectral UV-Visible

Ce domaine spectral est divisé en trois plages de longueurs d'onde appelées UV lointain (10-200 nm), proche UV (200-400 nm) et visible (400-800 nm).

Le domaine utilisable en analyse dans les appareils s'étend de 185 à 800 nm.

II.5. Interprétation d'un spectre d'absorption UV-Visible :

II.5.1. Le spectre d'absorption UV-Visible

Les spectromètres UV/Visible permettent d'obtenir le spectre des composés examinés sous la forme d'un tracé de la transmittance, ou de l'absorbance, en fonction des longueurs d'onde repérées en abscisses et exprimées généralement en nanomètres (Fig. II.3)

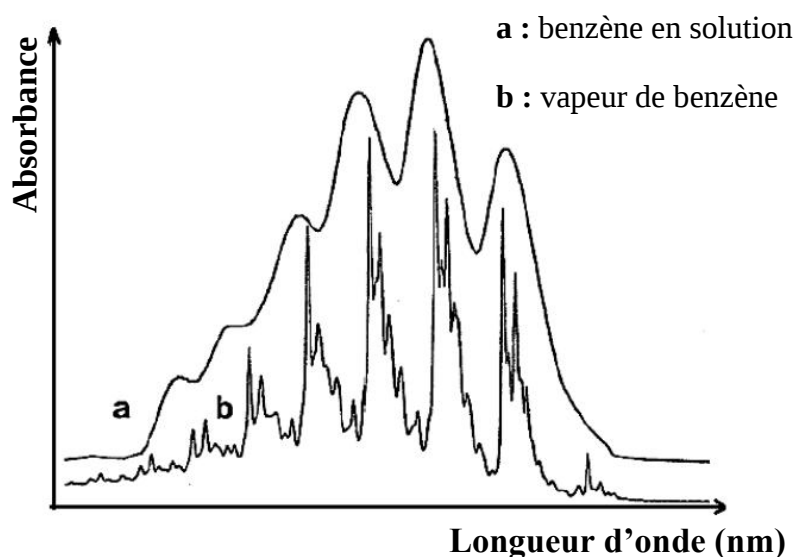


Figure II.3 : Exemple de spectre UV-Visible (cas du benzène)

La bande d'absorption est caractérisée par sa position en longueur d'onde ($\lambda_{\max}$) et par son intensité reliée au coefficient d'extinction molaire ($\epsilon_{\max}$). Ces paramètres sont reliés à l'absorbance et à la concentration par la loi de Beer Lambert ($A = \epsilon lC$). La position du maximum d'absorption correspond à la longueur d'onde de la radiation qui provoque la transition électronique. Quant à l'intensité, on peut montrer qu'elle est liée au moment dipolaire. Sa valeur (ϵ) permet de savoir si la transition est permise ou interdite.

Les longueurs d'onde des pics d'absorption peuvent être corrélées avec les types de liaisons présents dans une molécule donnée. L'absorption UV-visible n'est pas, cependant, un test spécifique pour tout composé. La nature du solvant, le pH de la solution, la température, les hautes concentrations électrolytiques, et la présence de substances interférentes peuvent influencer les spectres d'absorption des composés.

II.5.2. Couleur des substances chimiques

Une substance chimique est caractérisée en spectroscopie UV-Visible par la longueur d'onde du maximum d'absorption et par son intensité.

Si le maximum d'absorbance de la substance analysée correspond à une longueur d'onde appartenant au domaine des ultraviolets (200-400 nm), alors celle-ci est incolore.

Si le maximum d'absorbance de la substance analysée correspond à une longueur d'onde appartenant au domaine du visible (400-800 nm) alors la substance possède la couleur complémentaire de celle correspondant à $\lambda_{\max}$ dans le cercle chromatique (Figure II.4).

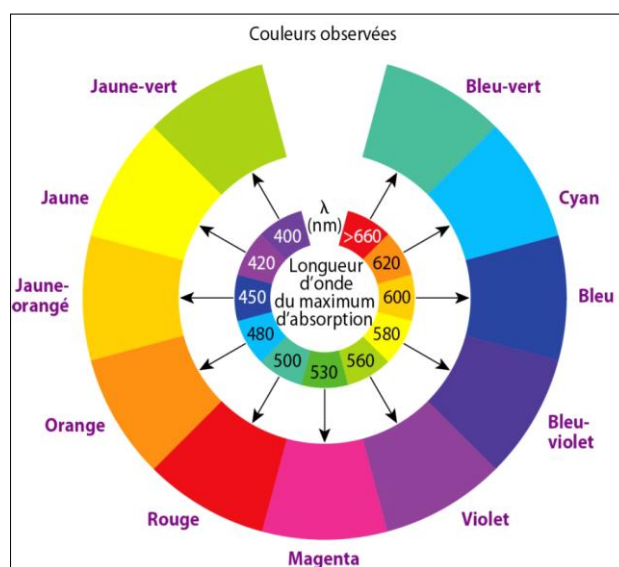


Figure II.4 : Cercle chromatique

Exemple :

Le spectre d'absorption de la solution du permanganate de potassium (K^+ , MnO_4^-) est illustré dans la figure ci-contre.

On observe une bande d'absorption λ_{max} au voisinage de 540 nm. La solution étant de couleur violette, elle absorbe bien dans le domaine de sa longueur d'onde complémentaire qui est le vert.

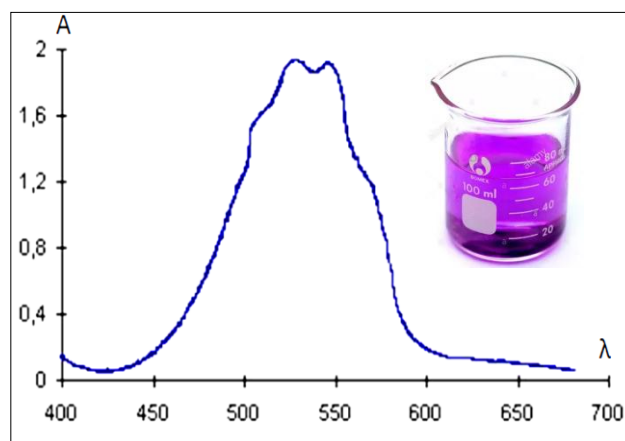


Figure II.5 : Spectre d'absorption d'une solution $KMnO_4$

II.5.3. Transitions électroniques

Les transitions électroniques observées ont pour origine les électrons des liaisons σ ou π et les doublets non-liants n des atomes tels N, O, S. Les transitions permises sont $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$. La longueur d'onde d'absorption dépend de la nature des orbitales mises en jeu. Le diagramme suivant illustre ceci pour des orbitales de type σ , π et n :

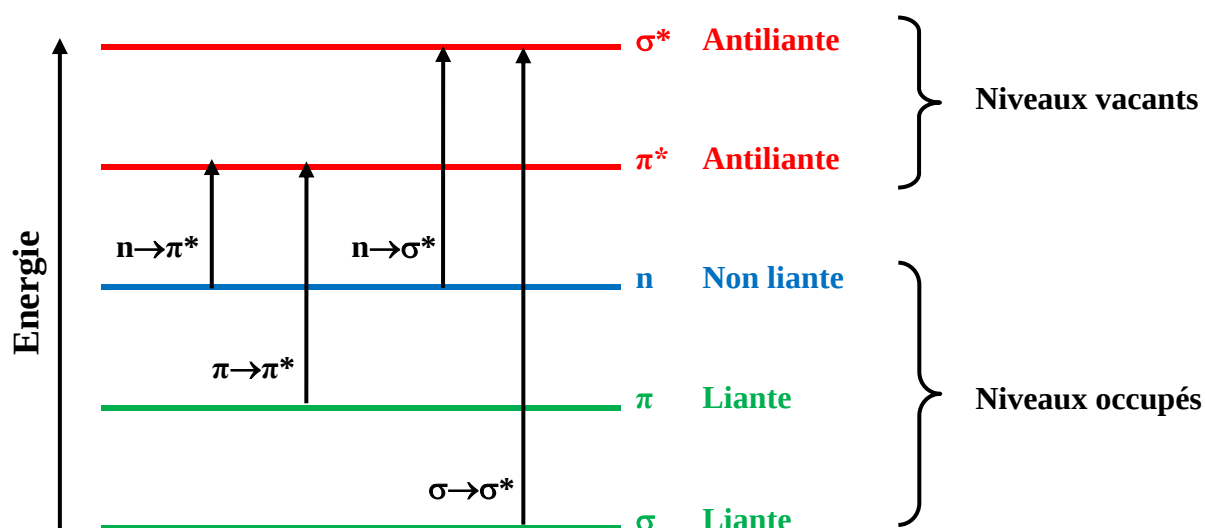


Figure II.6 : Transition électronique permises

Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$

Cette transition intense résulte du saut d'un électron d'une OM liante σ vers une OM antiliante σ^* . Cette transition apparaît dans le lointain UV au voisinage de 130 nm et elle nécessite des énergies d'excitation élevées à cause de la forte stabilité de la liaison σ . Ce type de transition

est rencontré pour les molécules qui ne comportent que des OMs de type σ comme les hydrocarbures saturés et les alcanes.

Transition $n \rightarrow \sigma^*$

Le saut d'un électron d'un doublet n des atomes O, N, S, Cl.. à un niveau σ^* conduit à une transition d'intensité moyenne qui se situe à l'extrême limite du proche-UV entre 180 et 220 nm selon leur substitution. Ce type de transition est rencontré dans les molécules saturées comportant des paires électroniques "libres" tels que les alcools, les amines, les dérivés halogénés ...etc

Transition $\pi \rightarrow \pi^*$

Cette transition résulte du passage d'un électron d'une OM liante π à une OM antiliante π^* . Ce type de transition conduit à une forte bande d'absorption entre 165 et 200 nm. Elles sont rencontrées dans les molécules insaturées sans paire libre tels que les alcènes, les alcynes et les composés aromatiques.

Transition $n \rightarrow \pi^*$

Cette transition peu intense résulte du passage d'un électron d'une OM non liante de type n à une OM antiliante π^* . Ce type de transition se produit dans les molécules contenant un hétéroatome porteur de doublets électroniques libres et appartenant à un système insaturé (aldéhydes, cétones ...) à des longueurs d'ondes supérieur à 190 nm.

Transitions d-d

La majorité des complexes des métaux de transition sont colorés. Ces complexes comportent des électrons engagés dans des orbitales moléculaires **d** qui conduisent à des transitions de faible absorptivité situées dans le domaine visible, responsables de colorations. Les coefficients d'extinction molaire sont souvent très faibles, de 1 à 100 L.mol⁻¹.cm⁻¹. Par exemple, les solutions des complexes de cuivre ou de titane sont bleues, le dichromate de potassium donne une solution orange... etc.

Le tableau ci-dessous regroupe quelques exemples des espèces chimiques, leurs transitions électronique, leurs longueurs d'onde au maximum d'absorption et les intensités des pics correspondantes ainsi que les solvants utilisés pour la mesure de ces paramètres.

Tableau II.1 : Quelques exemples des espèces chimiques et de leurs transitions électroniques

Exemple	Transition	$\lambda_{\max}$ (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	Solvant
Hexane	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	135	10 000	(Etat gazeux)
Bromure de méthyle	$n \rightarrow \sigma^*$	205	200	Hexane
Ethylène	$\pi \rightarrow \pi^*$	165	15 000	Hexane
Ethanal	$n \rightarrow \pi^*$	293	12	Hexane
	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	10 000	
Nitrométhane	$n \rightarrow \pi^*$	275	17	Ethanol
	$\pi \rightarrow \pi^*$	200	5 000	

II.5.4. Effet de l'environnement sur les transitions électroniques

1. Terminologie

Il est nécessaire de rappeler la signification des principaux termes utilisés lors de la discussion d'effets de l'environnement sur l'absorption d'une molécule.

- ▶ **Groupelement chromophore** : groupelement insaturé éventuellement conjugué responsable de l'absorption. Exp. : C=C, C=O, C≡C, C≡N...
- ▶ **Groupelement auxochrome** : groupelement saturé lié à un chromophore et qui modifie la longueur d'onde et l'intensité de l'absorption. Exp. : -NH₂, -OH, -X...
- ▶ **Effet bathochrome** : correspond à un déplacement du maximum d'absorption d'une bande vers des longueurs d'onde plus grandes alors que le phénomène inverse correspond à un effet **hypsochrome**
- ▶ **Effet hyperchrome** : correspond à l'augmentation du coefficient d'extinction molaire au maximum d'adsorption (ϵ augmente) alors que l'effet **hypochrome** correspond à l'effet inverse (ϵ diminue).

Ces effets sont illustrés sur la figure suivante :

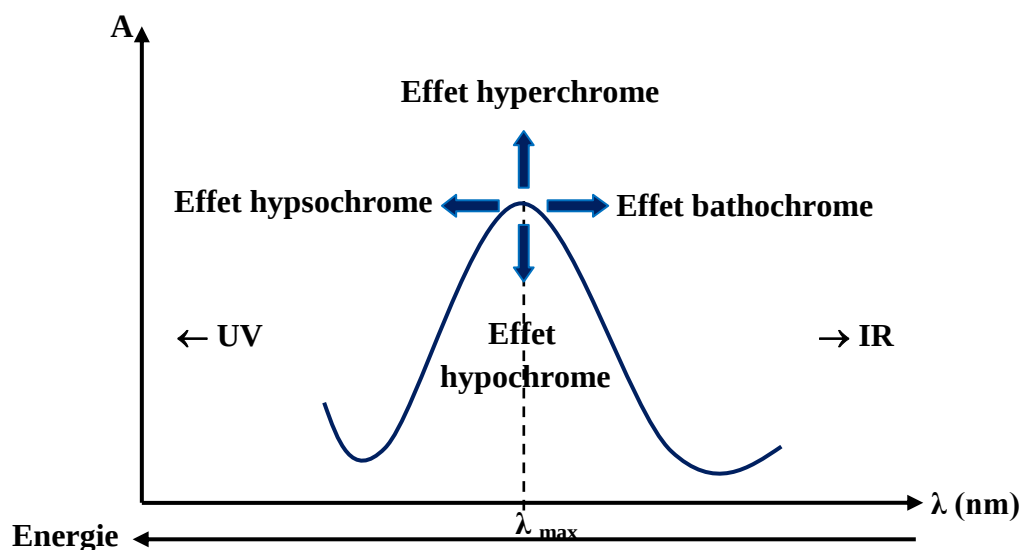


Figure II.7 : Variation de l'absorbance

- **Effet de la conjugaison**

La conjugaison de deux ou plusieurs liaisons π entraîne les effets les plus importants sur les spectres d'absorption. L'augmentation de la conjugaison provoque un effet bathochrome et hyperchrome (Tableau II.2). En effet, la délocalisation des électrons π traduit la facilité de ces électrons à se déplacer le long de la molécule, ce qui conduit à un rapprochement des niveaux énergétiques et par conséquent à une diminution de ΔE entre le niveau excité et le niveau fondamental (Figure II.8).

Tableau II.2 : Exemples des absorptions de quelques composés éthyléniques.

Composés	Transitions	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\epsilon_{\max}$ (l.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
$\text{H}_3\text{C}-\left[\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array} \right]_1-\text{CH}_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	174	16000
$\text{H}_3\text{C}-\left[\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array} \right]_3-\text{CH}_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	275	30000
$\text{H}_3\text{C}-\left[\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array} \right]_5-\text{CH}_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	342	122000

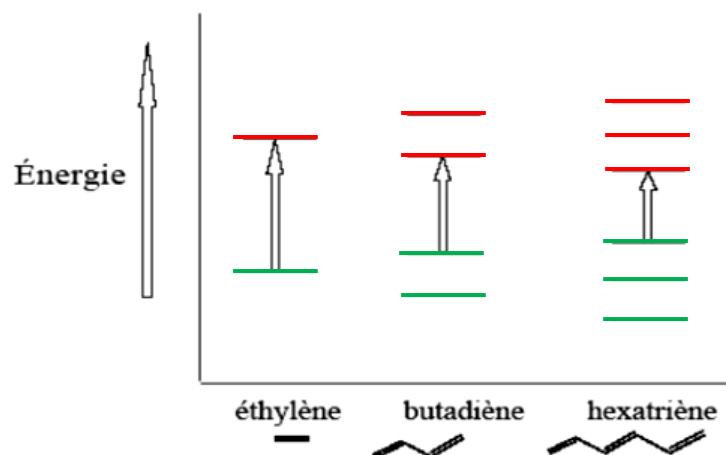
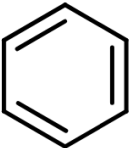
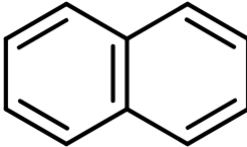
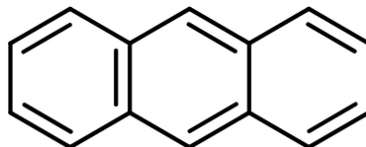


Figure II.8 : Effet de la conjugaison sur les transitions électroniques

L'absorption des composés aromatiques est beaucoup plus complexe que celle des éthyléniques, vu que plusieurs transitions de type $\pi \rightarrow \pi^*$ sont observées dans les spectres UV-Visible des composés aromatiques. Par contre une seule transition est observée pour les composés éthyléniques. Pour les molécules aromatiques polynucléaires, plus le nombre de cycles condensés augmente, plus l'absorption se déplace vers de plus grandes longueurs d'onde (Tableau II.3).

Les spectres UV-Visible du benzène et de ses dérivés présentent généralement trois bandes dues à des transitions de type $\pi \rightarrow \pi^*$ (Tableau II.3).

Tableau II.3 : Effet de la conjugaison sur les transitions électroniques

Composés	λ_{max} (nm)	ϵ_{max} (l.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
	184	60000
	203	7900
	256	200
	220	95500
	265	5600
	275	6000
	259	125000
	356	7950
	367	8900

- **Effet de la conformation**

La transition $\pi \rightarrow \pi^*$ du chromophore diénique a une énergie différente selon que la conformation est s-cis ou s-trans. Le préfixe s indique que la conformation est repérée par rapport à la liaison simple intermédiaire. Les diènes acycliques sont plus stables sous la forme s-trans.

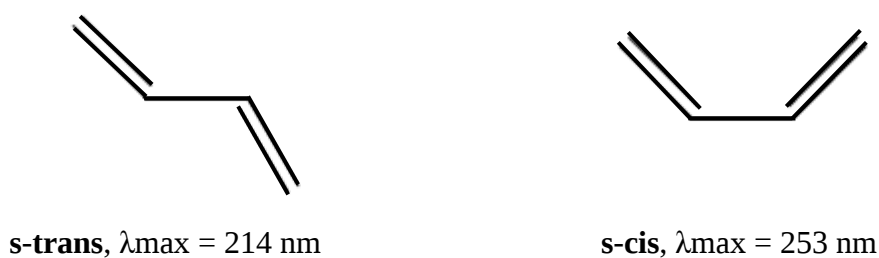


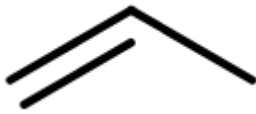
Figure II.9 : Effet de la conformation sur la transition électronique

D'une manière générale, les coefficients d'extinction molaire sont généralement plus élevés pour les dérivés s-trans (15000-25000) que pour les dérivés s-cis (5000-12000). Cependant, l'encombrement stérique peut modifier ces valeurs.

- **Effet de la substitution**

La présence ou l'absence des substituants sur le groupement chromophore déplace la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ du groupe éthylénique. Les substitutions successives se traduisent par des effets bathochromes avec des valeurs de λ_{max} qui varient entre 180 et 195 nm, plus marquées dans les éthyléniques tri et tétra-alkylés. Les substituants à effet mésomère (auxochromes -OH, -OR, -X, -NH₂, ...) portés par un chromophore C=C ou C=O donnent des effets bathochrome et hyperchrome.

Tableau II.4 : Effet de la substitution sur les transitions électroniques

Composés	λ_{max} (nm)	ϵ_{max} (l.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
	165	15000
	170	20000
	174	24000

- **Effet du pH**

Le pH du milieu dans lequel est dissous l'analyte peut avoir un effet important sur le spectre. Parmi les composés qui manifestent cet effet de manière spectaculaire, on trouve les acides et les bases. Les propriétés acido-basiques d'une molécule interviendront dans ces caractéristiques d'absorption. En effet, la perte d'un proton entraîne un effet hyperchrome et bathochrome. Ainsi, pour un acide, sa forme ionisée aura un maximum d'absorption à une longueur d'onde plus forte que celle de sa forme moléculaire. Cette propriété est exploitée lors de l'usage d'indicateurs colorés comme la phénolphtaléine

- **Effet du solvant**

Le choix du solvant est très important pour l'exploitation des spectres d'absorption UV-Visible. La position, l'intensité et la forme des bandes d'absorption des composés en solution dépendent du solvant ceci est dû au fait que, certains solvants présentent des propriétés d'absorption en plus des interactions existantes entre le soluté et le solvant. En effet, les interactions physiques soluté-solvant modifient la différence d'énergie entre l'état fondamental et l'état excité. L'étude de ces modifications permet d'ailleurs de déterminer le type de transition électronique et du chromophore ce qui apporte des informations structurales sur le composé analysé. L'augmentation de la polarité du solvant s'accompagne, en général, d'un effet bathochrome pour les transitions de type $\pi \rightarrow \pi^*$ et d'un effet hypsochrome pour les transitions de type $n \rightarrow \pi^*$. Dans l'eau, les spectres sont très souvent sensibles au pH qui modifie l'ionisation de certaines fonctions chimiques.

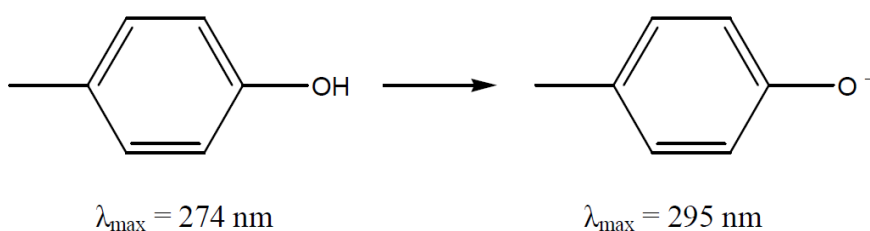
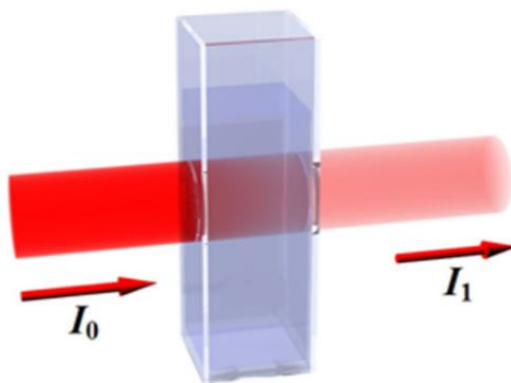


Figure II.10 : Effet de solvant sur la transition électronique

II.5.5. Loi de Beer-Lambert

Lorsqu'une lumière monochromatique d'une longueur d'onde λ et d'intensité I_0 traverse une solution homogène de concentration C , l'intensité de la lumière émergente I décroît selon une fonction exponentielle s'il y a une absorption.



La loi de Beer Lambert établit un lien de proportionnalité entre l'absorbance A et la concentration C comme le montre l'expression suivante.

$$\log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot l \cdot C = A$$

- A = absorbance (sans unité)
- I_0 = intensité lumineuse incidente
- I = intensité lumineuse transmise
- ε = coefficient d'extinction (qui dépend de la longueur d'onde) :
 1. Si la concentration du soluté est en M (ou mol.L^{-1}) « concentration molaire volumique », ε est en $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$, c'est le coefficient d'extinction molaire.
 2. Si la concentration du soluté est en g/L « concentration massique volumique », ε est en $\text{g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$, c'est le coefficient d'extinction pondéral ou massique.
- l = longueur de la cuve ou trajet optique (en cm)
- C = concentration du soluté (l'unité dépend de celle du coefficient d'extinction)

Le rapport (I/I_0) est appelé la transmission (aussi appelée « transmittance » et notée T), celle-ci est reliée à l'absorbance, A , (aussi appelée « densité optique, D ») par la relation :

$$A = \log \frac{1}{T}$$

II.5.5.1. Additivité de l'absorbance

La loi de Beer-Lambert est additive. Ceci veut dire que l'absorbance A , mesurée dans une cuve d'épaisseur l d'un mélange de n espèces en solution dans un même solvant, sera identique à l'absorbance mesurée après passage à travers n cuves de même épaisseur l , placées l'une après l'autre, contenant les composés de 1 jusqu'à n (pris aux mêmes concentrations que dans le mélange initial), autrement dit l'absorbance A d'un mélange de n espèces absorbantes est la somme des absorbances de ces n espèces. on aura par conséquent :

$$A = \sum_{i=1}^n A_i = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i l C_i$$

II.5.5.2. Validité de la loi de Beer-Lambert

La loi de Beer-Lambert est linéaire (vérifiée) si:

- ✚ Le rayonnement incident est monochromatique
- ✚ La solution est diluée et de concentration fixe
- ✚ Le faisceau est perpendiculaire à la cuve
- ✚ La solution est transparente
- ✚ La solution est non fluorescente
- ✚ La solution est stable d'un point de vue photochimique.
- ✚ Pas de réaction avec le solvant.
- ✚ Dans les autres cas, la relation $A = \varepsilon.l.C$ ne s'applique plus (non proportionnel).

II.5.6. Détermination de la concentration d'une solution par étalonnage

La concentration d'une espèce chimique peut être déterminée en mesurant son absorbance et en appliquant la loi de Beer Lambert.

Le protocole expérimental suivi est comme suit :

- ✚ Détermination de la longueur d'onde ($\lambda_{\max}$) correspondante au maximum d'absorption ($A_{\max}$).
- ✚ Préparation d'une série de solutions étalon de différentes concentrations connus par dilution à partir d'une solution mère.
- ✚ Mesure des absorbances de chacune des solutions étalons à $\lambda_{\max}$.

- ✚ Traçage de la courbe d'étalonnage $A=f(C)$.
- ✚ Mesure de l'absorbance A de la solution de concentration inconnue.
- ✚ Détermination de la concentration inconnue par lecture graphique (ou par calcul) de la valeur de la concentration (C) correspondante à l'absorbance mesurée (A).

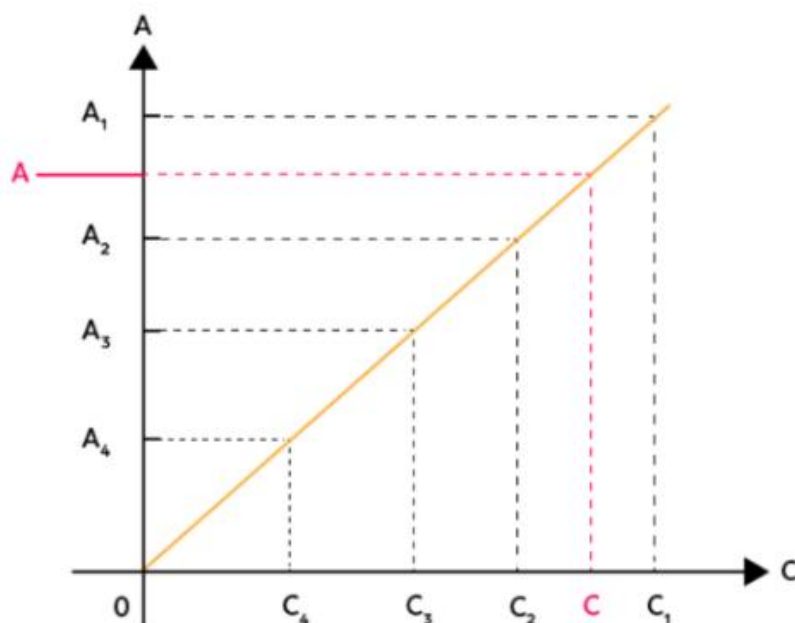


Figure II.11 : Courbe d'étalonnage

II.6. Appareillage :

Il existe plusieurs types d'appareils :

■ Spectromètres à mono-faisceau :

Dans ces spectromètres (figure II.12), l'absorption mesurée pour une espèce chimique donnée correspond à trois absorbances: L'absorbance de la cellule qui peut être en quartz, en verre ou en polymère. L'absorbance du solvant. L'absorbance de l'espèce chimique dissoute. Dans ce cas il est important de faire le blanc, c'est-à-dire de soustraire les deux premières absorbances qui ne sont pas dues à l'espèce chimique étudiée. La précision d'un spectrophotomètre à faisceau unique est limitée par la stabilité de sa source et de son détecteur au fil du temps.

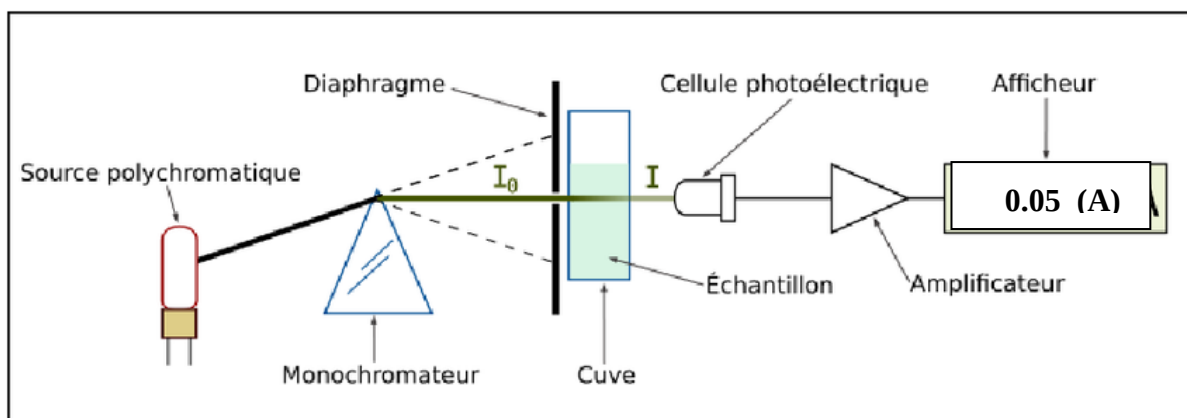


Figure II.12 : Schéma d'un spectrophotomètre à mono-faisceau

■ Spectrophotomètres à double faisceau :

Dans ces spectrophotomètres (figure II.13), un faisceau traverse le compartiment échantillon et un autre le compartiment référence. Dans ce cas, il n'est pas nécessaire de faire le blanc car la soustraction est faite automatiquement par le logiciel de calcul. Les instruments à double faisceau sont plus polyvalents que les instruments à mono faisceau, car ils sont utiles pour les analyses quantitatives et qualitatives, mais ils sont aussi plus coûteux et ne sont pas particulièrement portables.

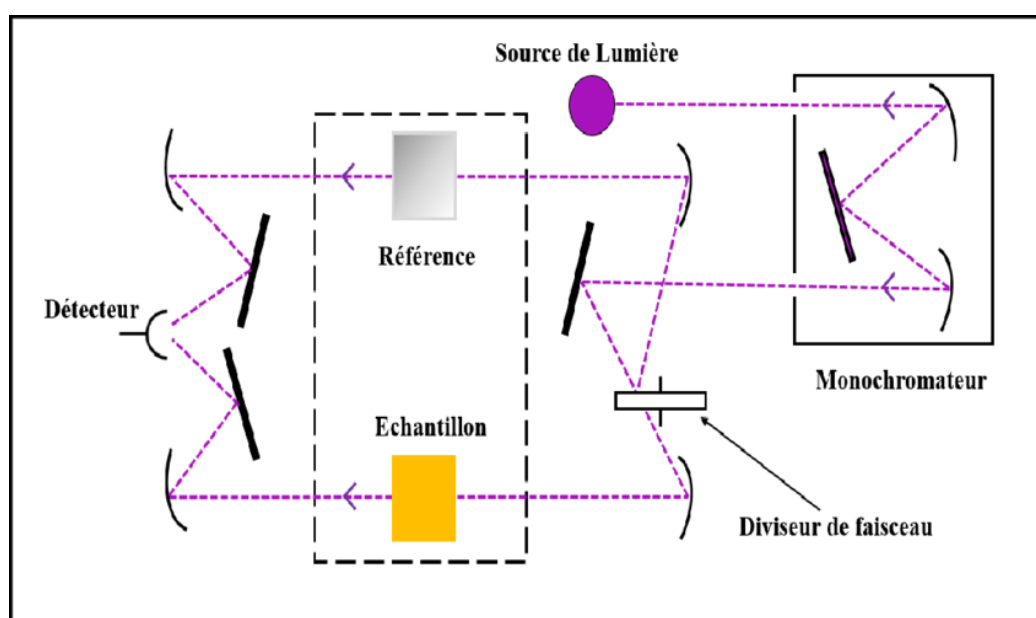


Figure II.13 : Schéma d'un spectrophotomètre à double faisceau

■ Photomètre à filtre :

L'instrument le plus simple pour l'absorption UV-Vis moléculaire est un photomètre à filtre (Figure II.14), qui utilise un filtre d'absorption ou d'interférence pour isoler une bande de rayonnement. Le filtre est placé entre la source et l'échantillon pour empêcher l'échantillon de se décomposer lorsqu'il est exposé à un rayonnement d'énergie plus élevée. Un photomètre à filtre a un chemin optique unique entre la source et le détecteur, et est appelé un instrument à faisceau unique. L'instrument est calibré à 0% T tout en utilisant un obturateur pour bloquer le rayonnement source du détecteur. Après ouverture de l'obturateur, l'instrument est calibré à 100% T à l'aide d'un blanc approprié. Le blanc est ensuite remplacé par l'échantillon et sa transmittance mesurée. Comme la puissance incidente de la source et la sensibilité du détecteur varient avec la longueur d'onde, le photomètre est rééquilibré à chaque changement de filtre.

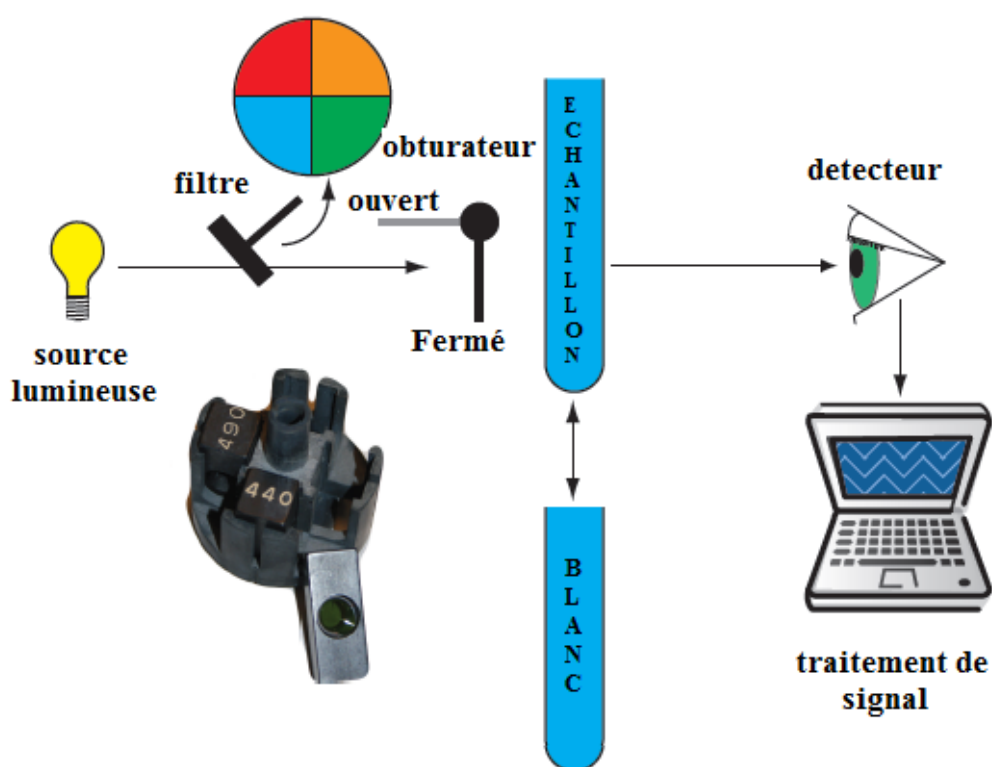


Figure II.14 : Schéma d'un spectrophotomètre à filtre

Les photomètres à filtre ont l'avantage d'être relativement peu coûteux, robustes et faciles à entretenir. Les inconvénients d'un photomètre incluent l'incapacité d'enregistrer un spectre d'absorption et la bande passante effective relativement grande de la source, ce qui limite la linéarité de la courbe d'étalonnage.

■ Spectromètre à barrette de diodes :

Un instrument avec un seul détecteur ne peut surveiller qu'une seule longueur d'onde à la fois. Si nous remplaçons un seul photomultiplicateur par un réseau de photodiodes, nous pouvons utiliser le détecteur résultant pour enregistrer un spectre complet en aussi peu que 0,1 s. Dans un spectromètre à barrette de diodes, le rayonnement source traverse l'échantillon et est dispersé par un réseau (Figure II.15). Le détecteur à barrette de photodiodes est situé au niveau du plan focal du réseau, chaque diode enregistrant la puissance rayonnante sur une gamme étroite de longueurs d'onde. Comme nous remplaçons un monochromateur complet par un simple réseau, un spectromètre à barrette de diodes est petit et compact.

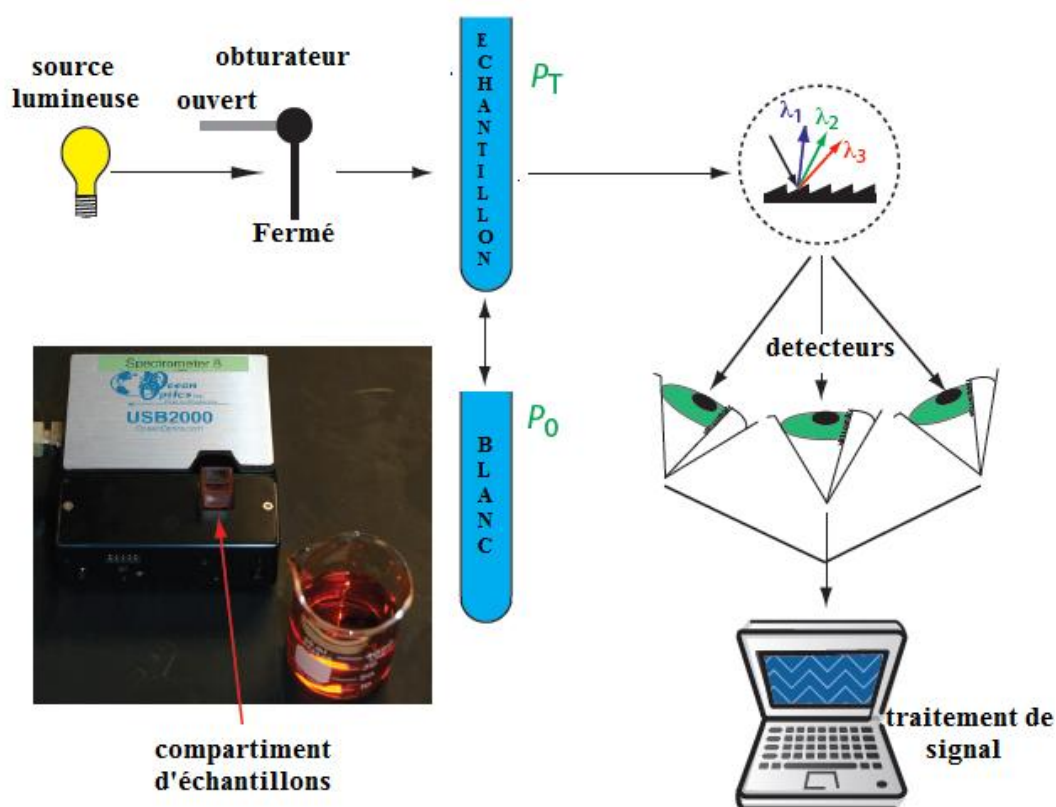


Figure II.15 : Schéma d'un spectrophotomètre à barrette de diodes

L'un des avantages d'un spectromètre à barrette de diodes est la vitesse d'acquisition des données, qui permet de collecter plusieurs spectres pour un seul échantillon. Les spectres individuels sont additionnés et moyennés pour obtenir le spectre final. Cette moyenne du signal améliore le rapport signal/bruit d'un spectre. Un inconvénient d'un réseau de photodiodes est que la bande passante effective par diode est à peu près d'un ordre de grandeur supérieure à celle d'un monochromateur de haute qualité.

II.7. Applications de la spectroscopie UV-Visible

II.7.1. Analyse qualitative

La spectrophotométrie UV est utilisée en analyse structurale pour mettre en évidence la présence de certains groupes chromophores ou pour la recherche de l'étendue de la conjugaison électronique.

II.7.2. Analyse quantitative

L'analyse quantitative par la spectrométrie UV-visible est très employée grâce à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert. Ces mesures ont des applications dans plusieurs domaines tels que la chimie, la pharmacie, l'environnement, l'agroalimentaire, la biologie etc., aussi bien au laboratoire que sur site industriel.

En chimie :

- Détermination de la concentration par mesure de l'absorption de l'espèce chimique
- Suivi de la cinétique d'une réaction chimique par la mesure de la variation de la concentration à la fois d'un réactif ou d'un produit en fonction du temps
- Etude des systèmes π conjugués. Les spectres électroniques permettent de révéler l'étendue de la conjugaison au sein des systèmes moléculaires
- Détermination de la composition d'un mélange
- Détermination des constantes de dissociation des acides et des bases

En biologie :

- Détermination de la concentration en acides nucléiques – ADN et ARN
- Etude des réactions enzymatiques et suivi des courbes de croissance des suspensions de cellules bactériennes
- Détermination de la concentration en protéines par mesure directe ou par essais colorimétriques

En pharmacie :

- Dosage des molécules actives dans une préparation pharmaceutique
- Tests de dissolution des médicaments
- Dosage du fer dans un médicament

En cosmétique :

- Utile dans le contrôle des substances chimiques présentes dans les parfums
- Les crèmes solaires contiennent des filtres UV

Environnement :

- L'analyse de l'ozone dans l'air ambiant (par absorption UV avec des analyseurs installés dans les réseaux de mesure de la pollution atmosphérique)
- Mesure de la matière organique, des métaux lourds, des matières en suspension et des nitrates dans l'eau
- Mesure des polluants atmosphériques (NO, NO₂, SO₂,...) dans l'air

Série d'exercices N°2

Exercice N° 01 :

Le tableau ci-dessous regroupe les différentes caractéristiques de rayonnements électromagnétiques, complétez les informations manquantes :

Longueur d'onde (m)	Fréquence (s ⁻¹)	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Énergie (J)	Type de rayonnement
		3619		
	6×10^{14}			
			422×10^{-19}	

Exercice N° 02 :

Vous voulez prendre le spectre UV-VIS d'une substance dont la masse molaire vaut 631 g/mol. Sachant qu'à $\lambda_{\max} = 275 \text{ nm}$, ϵ vaut $5260 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

1. Exprimer l'absorbance optique A en fonction de la transmission T.
2. Rappeler la loi de Beer-Lambert en précisant ses termes.
3. Quelle masse de cette substance devrez-vous dissoudre dans 20 mL de solvant pour que dans une cuvette de quartz de 1.00 cm, l'absorbance maximale soit de 0.70 ?

Exercice N° 03 :

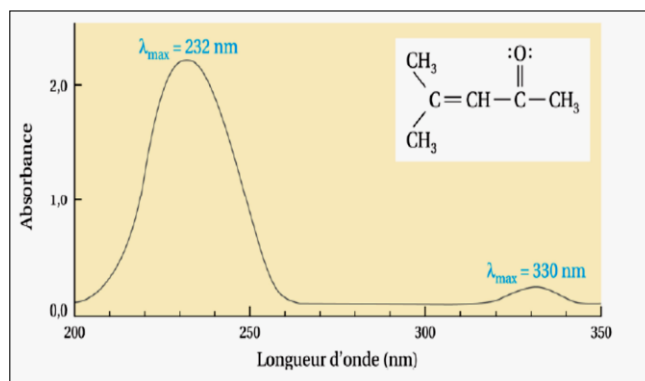
Une eau polluée contient du chrome ($M = 52 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) à la concentration massique d'environ 0,1 ppm. On choisit, pour son dosage, le complexe Cr^{VI} avec le diphénylcarbazine ($\lambda_{\max} = 540 \text{ nm}$, $\epsilon_{\max} = 41\,700 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Proposer une valeur du trajet optique de la cuve pour que l'absorbance soit de l'ordre de 0,40.

Exercice N° 04 :

Une solution de $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CHCOCH}_3$, la cétone dont le spectre est illustré à la figure ci-après, est placée dans une cellule dont la largeur est de 1 cm et donne un pic à $\lambda_{\max} = 232 \text{ nm}$ avec une absorbance observée de $A = 2,2$; $\epsilon = 12600 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

1. Calculez la concentration de la solution.
2. Si on doublait la concentration, quel en serait l'effet sur l'absorbance A ? Quel en serait l'effet sur le coefficient d'extinction molaire ϵ ?



Exercice N° 05 :

Soit une solution constituée d'un mélange de deux substances A et B examinée au spectrophotomètre dans une cuve de 1 cm à 256nm. L'appareil enregistre une transmission de 13,5%

1. Calculer l'absorbance correspondante.
2. Calculer la concentration de la substance A en mg/l, sachant que celle de la substance B est de 14mg/l et que les coefficients d'extinctions molaires sont :

Pour la substance A : $32200(\text{mol/l})^{-1} \text{ cm}^{-1}$ et $\text{PM}=318,9\text{g/mol}$

Pour la substance B : $13600(\text{mol/l})^{-1} \text{ cm}^{-1}$ et $\text{PM}=334,4\text{g/mol}$

Exercice N° 06

Le spectre UV de l'acétone présente deux bandes d'absorption à : $\lambda_{\text{max}} = 280 \text{ nm}$ avec $\epsilon_{\text{max}} = 15$ et $\lambda_{\text{max}} = 190 \text{ nm}$ avec $\epsilon_{\text{max}} = 100$.

1. Identifiez la transition électronique de chacune des deux bandes.
2. Quelle est la plus intense ?

Exercice N° 07

Les longueurs d'onde λ_{max} (en nm) de quelques molécules organiques sont comme suit : Éthylène (170) ; Buta-1,3-diène (217) ; 2,3-Diméthylbuta-1,3-diène (226) ; Cyclohexa-1,3-diène (256) et Hexa-1,3,5-triène (274).

A partir de ces valeurs de λ_{max} , quelles sont les conclusions que l'on peut tirer concernant la relation entre λ_{max} et la structure de la molécule qui absorbe ?

Corrigé des exercices

Exercice N° 01 :

Longueur d'onde (m)	Fréquence (s ⁻¹)	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Énergie (J)	Type de rayonnement
2709.10 ⁻⁹	1,08.10 ¹⁴	3619	7,18.10 ⁻²⁰	IR
500.10 ⁻⁹	6 x 10 ¹⁴	20000	3,97.10 ⁻¹⁹	Visible
4,7.10 ⁻⁹	6,37.10 ¹⁶	2,12.10 ⁶	422 x 10 ⁻¹⁹	Rayons X

Exercice N° 02 :

1. L'expression de l'absorbance optique A en fonction de la transmission T :

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

2. La Loi de Beer Lambert

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot C$$

- A = absorbance (sans unité)
- ε = coefficient d'extinction molaire ou massique (mol⁻¹.L.cm⁻¹ ou g⁻¹.L.cm⁻¹)
- l = longueur de la cuve ou trajet optique (en cm)
- C = concentration du soluté (mol/L ou g/L)

3. Calcul de la masse de cette substance sachant que $V_{\text{solvant}} = 20 \text{ mL}$; $l = 1 \text{ cm}$; $A = 0,7$

D'après la loi de Beer Lambert : $A = \varepsilon \cdot l \cdot C$ d'où :

$$C = A / \varepsilon \cdot l = 0,7 / (5260 \cdot 1) = 1,33 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$$

$$n = C \cdot V = 1,33 \cdot 10^{-4} \times 20 \cdot 10^{-3} = 2,66 \cdot 10^{-6} \text{ mol}$$

$$m = n \cdot M = 2,66 \cdot 10^{-6} \times 631 = 1,67 \cdot 10^{-3} \text{ g}$$

Exercice N° 03 :

La concentration d'une solution à 0,1 ppm est de $0,1 \cdot 10^{-3} \text{ g.L}^{-1}$ soit $1,92 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$.

À partir de la loi de Beer Lambert $A = \varepsilon \cdot l \cdot C$, on trouve $l = 4,98 \text{ cm}$. Une cuve de 5 cm d'épaisseur est donc bien adaptée.

Exercice N° 04 :

1. La loi de Beer-Lambert est : $A = \varepsilon.l.C$

En isolant C, on obtient : $c = A / \varepsilon.l = 2,2 / (12\,600 \times 1) = 1,7 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$

2. Si on doublait la concentration, l'absorbance observée A doublerait puisque l'absorbance est directement proportionnelle à la concentration selon la loi de Beer-Lambert.

Toutefois, la valeur de ε dépend de la nature de la substance absorbante (et de la longueur d'onde) et demeure donc constante, c'est-à-dire qu'elle est indépendante de la concentration.

Exercice N° 05 :

1. Calcul de l'absorbance :

$$A = \log(1/T) \quad \text{d'où} \quad A = 0,87$$

2. Calcul de la concentration de la substance A :

$$\text{En appliquant la loi d'additivité de Beer Lambert : } A = \sum_{i=1}^n A_i = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i l C_i$$

$$\text{D'où : } A = A_A + A_B = \varepsilon_A l C_A + \varepsilon_B l C_B \text{ par conséquent : } C_A = \frac{A - (\varepsilon_B l C_B)}{\varepsilon_A l}$$

$$\varepsilon_A = 32200 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} = 100,97 \text{ g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \quad (\text{On divise par PM pour avoir } \varepsilon \text{ en } \text{g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1})$$

$$\varepsilon_B = 13600 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} = 40,67 \text{ g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$$

$$\text{A.N : } C_A = \frac{0,87 - (40,67 \cdot 1 \cdot 14 \cdot 10^{-3})}{100,97 \cdot 1} \quad \text{Donc : } C_A = 2,97 \text{ mg/L}$$

Exercice N° 06 :

1) La transition électronique de la bande située à $\lambda = 280 \text{ nm}$ est de type $n \rightarrow \pi^*$

La transition électronique de la bande située à $\lambda = 190 \text{ nm}$ est de type $\pi \rightarrow \pi^*$

2) La transition la plus intense est $\pi \rightarrow \pi^*$

Exercice N° 07 :

A partir des valeurs de λ_{max} , On peut tirer les conclusions suivantes :

- λ augmente avec l'augmentation de la chaîne carbonée et avec l'augmentation de la conjugaison.
- Un composé cyclique absorbe à λ supérieur à celui de son homologue aliphatique.

Chapitre III

Spectroscopie Infrarouge (IR)

III.1. Introduction

La spectrométrie infrarouge est l'un des outils les plus utilisés pour la caractérisation et l'identification des molécules organiques. Le domaine de l'infrarouge utilisé habituellement se situe entre 400 et 4000 cm^{-1} (soit des longueurs d'onde entre $2,5$ et $25\text{ }\mu\text{m}$). Ces fréquences correspondent à des énergies situées aux alentours de 30 kJ.mol^{-1} . Une telle énergie reste insuffisante pour provoquer des transitions électroniques comme dans le domaine de l'UV-Visible. Cette énergie va agir plutôt sur la vibration et la rotation des molécules. Ces vibrations et rotations sont modélisées à l'aide du modèle de l'oscillateur harmonique.

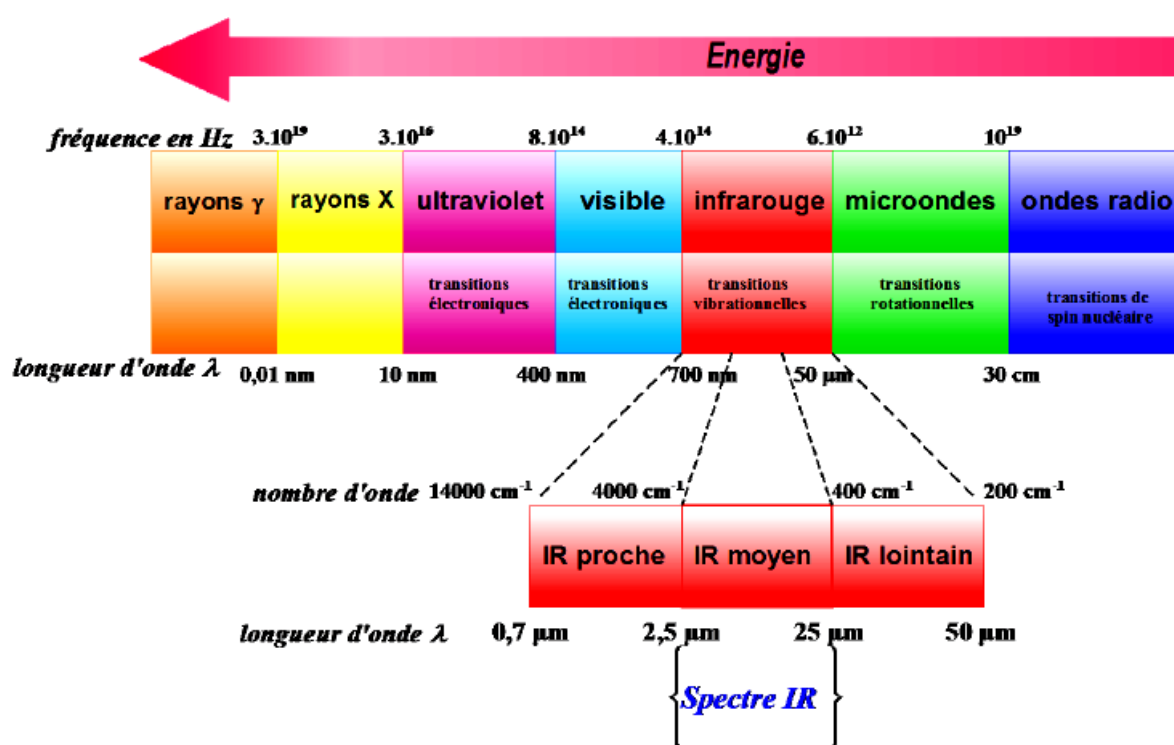


Figure III.1 : Spectre électromagnétique. Spectre Infrarouge

III.2. Principe

Le principe de la spectroscopie IR repose sur l'absorption du rayonnement électromagnétique situé dans la région de l'infrarouge par la matière et en convertissant cette absorption en vibration moléculaire. Cette absorption correspond spécifiquement aux liaisons présentes dans la molécule. Avec un spectromètre, cette absorption du rayonnement infrarouge par le matériau de l'échantillon est mesurée en fonction de la longueur d'onde (sous

la forme de nombres d'onde). Le résultat est un spectre qui donne une "empreinte chimique" distinctive couramment utilisée pour l'identification et la caractérisation des échantillons organiques et inorganiques. Cette spectroscopie permet également d'obtenir des informations très importantes sur les interactions inter- et/ou intra-moléculaires, sur la conformation des molécules, sur l'organisation de la matière...

- **Domaine spectral**

Le domaine spectral infrarouge est divisé en trois régions principales :

- Proche infrarouge : $14000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ($0,7\text{--}2,5\text{ }\mu\text{m}$)
- Infrarouge moyen : $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ ($2,5\text{--}25\text{ }\mu\text{m}$)
- Infrarouge lointain : $400\text{--}10\text{ cm}^{-1}$ ($25\text{--}1000\text{ }\mu\text{m}$)

III.3. Notions théoriques

III.3.1. Modèle de l'oscillateur harmonique

Le modèle de l'oscillateur harmonique consiste à assimiler les deux atomes A et B à un système constitué de deux corps de masses ponctuelles m_A et m_B reliées par un ressort de raideur k (Figure III.2). Si on écarte les deux masses (atomes) de la distance d'équilibre r_e , et qu'on relâche le système, celui-ci se met à osciller avec une période. A partir de ce modèle, il est facile d'établir les relations associant la fréquence des vibrations du système aux deux grandeurs le caractérisant c'est-à-dire les masses et la raideur du ressort.

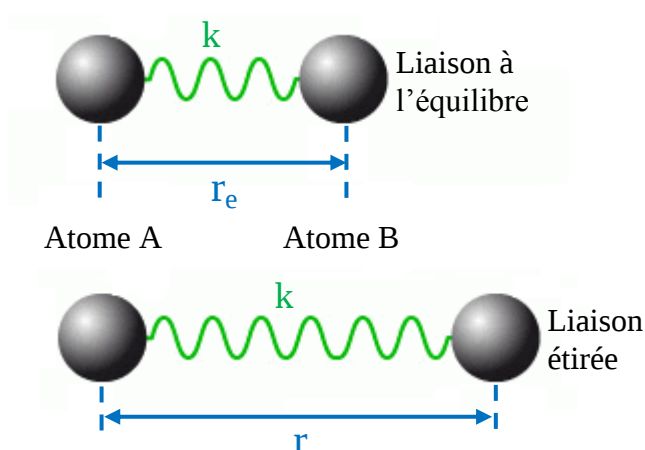


Figure III.2 : Modèle de l'oscillateur harmonique.

La fréquence de vibration est donnée par la loi de Hooke :

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

Ou encore

$$k = 4\pi^2 \nu^2 \mu$$

k : constante de force de la liaison, exprimée en (**N.m⁻¹**). (*k* est caractéristique de la molécule dont elle mesure, la force de liaison interatomique).

ν : Fréquence de vibration, exprimée en (**Hz** ou **s⁻¹**)

μ : Masse réduite du système exprimée en (**g**)

m_A et **m_B** : Masses des deux atomes A et B

$$\mu = \frac{m_A m_B}{m_A + m_B}$$

Sachant que :

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c}$$

D'où

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

III.3.2. Facteurs influençant les fréquences de vibration

III.3.2.1. Effet de la constante de force de la liaison (k)

La constante de force est la mesure de la force d'une liaison. Ainsi, la valeur de la fréquence d'élongation d'une liaison (ou son nombre d'onde) augmente avec l'augmentation de la force de liaison, de tel sorte que la masse réduite reste identique.

Les triples liaisons sont plus fortes que les doubles liaisons suivies par des liaisons simples entre les deux mêmes atomes et donc la fréquence de vibration est de l'ordre suivant : triple > double > simple.

Liaison	C-C	C=C	C≡C
Nombre d'onde d'absorption, $\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	1200	1650	2150

III.3.2.2. Effet de l'environnement de la liaison

La fréquence d'absorption d'une liaison donnée dépend de l'environnement de la liaison. Dans le cas où une même liaison est engagée dans une liaison simple, double ou triple avec le reste de la molécule, sa fréquence de résonance augmente.

Liaison	-C-H	=C-H	≡C-H
Nombre d'onde d'absorption, $\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	2850 - 2960	3010 - 3110	3300

III.3.2.3. Effet de la masse réduite (μ)

La fréquence de vibration d'une liaison diminue avec l'augmentation de la masse réduite des atomes liés car la fréquence est inversement proportionnelle à la masse réduite.

Liaison	C-H	C-C	C-Cl
Masse réduite, $\mu \cdot 10^{-27}$ (kg)	1,39	9,07	13,54
Nombre d'onde d'absorption, $\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	3000	1200	750

III.3.2.4. Effet de l'électronégativité

La croissance de l'électronégativité correspond à une augmentation du rapport k/μ et donc une augmentation de la fréquence de vibration de la liaison.

Liaison	C-H	N-H	O-H	F-H
Nombre d'onde d'absorption, $\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	2900	3300	3600	3950

III.3.2.5. Effet de la conjugaison

La fréquence de vibration d'une liaison conjuguée est abaissée par rapport à celle de la même liaison non conjuguée. Ceci s'explique par l'abaissement de la force de la liaison conjuguée

III.3.2.6. Effet d'une liaison hydrogène

La présence d'une liaison hydrogène modifie la forme et la position d'une bande d'absorption infrarouge en diminuant son nombre d'onde vu que la formation de la liaison hydrogène affaiblit la liaison covalente. Plus la liaison hydrogène est forte, plus le décalage d'absorption par rapport aux valeurs normales est important.

Les vibrations d'élongation des liaisons hydrogène dépendent ainsi de

- **La concentration :** en diluant une solution, les intensités de ces bandes diminuent et finissent par disparaître.
- **L'électronégativité :** les décalages de fréquence pour les amines sont inférieurs à ceux des composés hydroxyle vu que l'azote est moins électronégatif que l'oxygène d'où la liaison hydrogène dans les amines est plus faible que celle des composés hydroxylique.

Les deux types de liaisons hydrogène « intramoléculaire et intermoléculaire » peuvent être différenciés par l'utilisation de la spectroscopie infrarouge. Les liaisons hydrogène intermoléculaires donnent naissance à de larges bandes et les liaisons hydrogène intramoléculaires sont nettes et bien définies.

III.3.3. Vibration moléculaire

Une vibration moléculaire -ou un mode de vibration- correspond à un mouvement périodique, de fréquence ν , de chacun des atomes constitutifs de la molécule. Dans une molécule isolée formée de N atomes, chacun des atomes peut bouger selon trois directions de l'espace, ce qui correspond, au total, à $3N$ mouvements possibles. Ces derniers englobent les mouvements de translation, vibration et rotation. Pour avoir que les mouvements de vibrations, il faut soustraire à ces $3N$ mouvements ceux qui correspondent à des déplacements de translation de la molécule (trois degrés de liberté) et à des mouvements de rotation (trois degrés de liberté). Finalement, $3N-6$ déplacements peuvent être considérés comme des modes de vibration ($3N-5$ pour des molécules linéaires car la rotation autour de son axe moléculaire ne peut être observée). Afin de simplifier l'attribution des spectres, il est d'usage de distinguer les deux types de vibrations : vibration d'élongation (d'étirement) et vibration de déformation angulaire.

III.3.3.1. Types de vibrations

1. Vibration d'élongation (Stretching)

Les fréquences de vibration d'élongation, notés ν , se situent dans la région de plus haute énergie dans le spectre IR, soit entre 4000 et 1300 cm^{-1} . Ces vibrations provoquent des variations des longueurs des liaisons et il en existe deux types :

- **Vibration d'élongation symétrique**
- **Vibration d'élongation asymétrique** (antisymétrique).

2. Vibration de déformation (bending)

Les fréquences de vibration de déformation angulaire, notés δ , se procurent entre 1300 et 400 cm^{-1} . L'énergie nécessaire pour obtenir ces vibrations est toujours plus faible que celle qui correspond à une vibration d'élongation. Les vibrations de déformation correspondent à des modifications des angles de valences ou des angles dièdres (angles de torsion). Différents types de vibrations sont possibles :

- **Cisaillement** (Scissoring (δ)) : Vibration dans le plan d'un angle de valence. Les deux liaisons formant l'angle vibrent dans des sens inverses
- **Rotation plane** (Rocking(ρ)) : Vibration **dans le plan** d'un angle de valence. Les deux liaisons formant l'angle vibrent dans le même sens.
- **Torsion** (Twisting (τ)) : Vibration **Hors du plan** d'un angle **dièdre** "sens opposé"
- **Balancement** (Wagging (ω)) : Vibration **Hors du plan** d'un angle **dièdre** "même sens"

Les différents modes de vibration cités ci-dessous sont illustrés dans la figure (III.3)

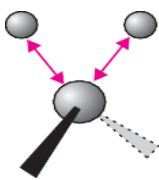
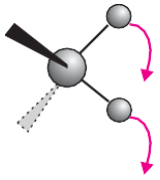
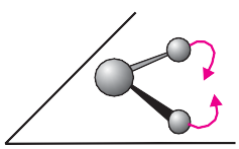
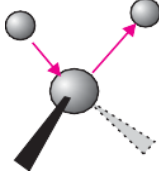
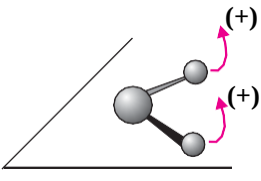
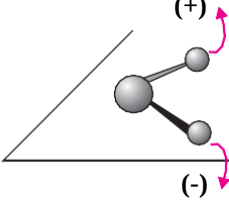
Vibration d'élongation	Vibration de déformation	
Symétrique	Dans le plan	
		
	Rotation plane	Cisaillement
Asymétrique	Hors du plan	
		
	Balancement	Torsion

Figure III.3 : Différents types de vibrations.

III.3.4. Molécules inactives en IR

Les mouvements de vibration ne sont pas tous actifs en infrarouge. Seules les liaisons possédant un moment dipolaire non nul donnent des signaux en IR.

Exemples :

- les molécules diatomiques symétriques N_2 , O_2 ... ont un moment dipolaire nul, elles ne donneront aucun signal en IR c'est-à-dire elles n'absorbent pas l'IR.
- L'éthylène C_2H_4 donne des signaux en IR dus aux liaisons C-H. La liaison C=C est inactive car son moment dipolaire est nul.

III.4. Spectre infrarouge :

Un spectre IR représente l'évolution de la transmittance de l'échantillon, ou son pourcentage (T%) en fonction de l'inverse de la longueur d'onde (nombre d'onde, $\bar{\nu}$) exprimée en cm^{-1} .

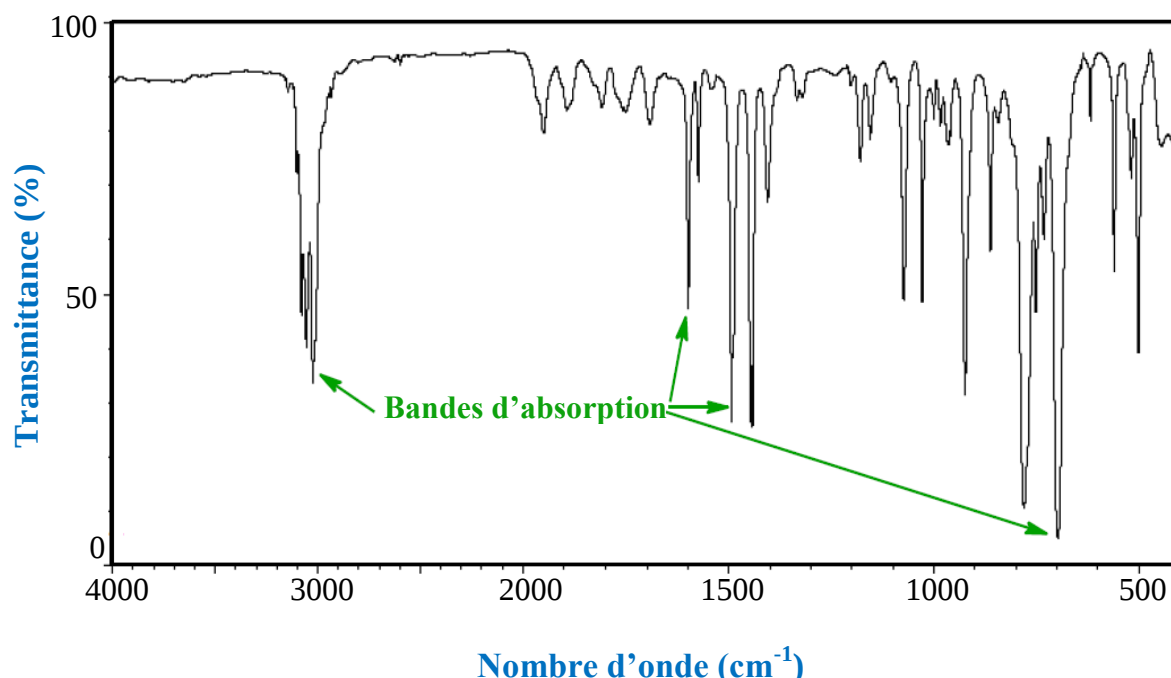


Figure III.4 : Allure d'un spectre infrarouge

Un spectre IR comprend trois grandes régions :

1. **La région 4000-1300 cm^{-1}** : appelée région des groupements fonctionnels, les bandes d'élongations caractéristiques des groupes fonctionnels se situent dans ce domaine. Cette région est subdivisée en 4 autres régions :
 - Entre **4000** et **2500 cm^{-1}** : régions d'étirement des liaisons C-H, N-H et O-H.
 - Entre **2500** et **2000 cm^{-1}** : régions d'étirement des liaisons triples $\text{C}\equiv\text{C}$ ou $\text{C}\equiv\text{N}$ et des doubles liaisons cumulées $\text{X}=\text{Y}=\text{Z}$ (allènes, isocyanates...)
 - Entre **2000** et **1500 cm^{-1}** : régions d'étirement des liaisons doubles $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$ ou $\text{C}=\text{N}$.
 - En dessus de **1 500 cm^{-1}** : régions des liaisons simples C-O, C-F, C-Cl...
2. **La région 1300-900 cm^{-1}** : cette région **intermédiaire** est appelée région de l'empreinte digitale : Cette zone est unique pour chaque substance moléculaire, l'absorption dans cette zone est très complexe avec des bandes issues d'interactions vibratoires.

3. La région 900-400 cm^{-1} : cette région caractérise le squelette de la molécule, les composés aromatiques montrent des bandes intenses dans cette région.

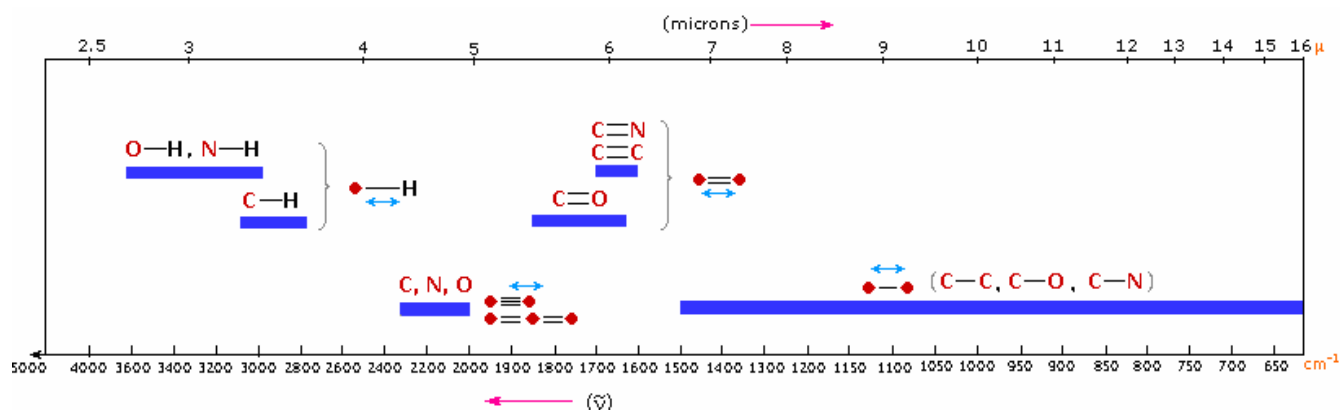


Figure III.5 : Tables des fréquences caractéristiques en IR

III.5. Aspect expérimental

III.5.1. Échantillonnage et techniques d'analyse

La préparation de l'échantillon pour l'enregistrement de son spectre infrarouge est une étape cruciale qui dépend de son état physique et de la quantité de matière disponible. L'enregistrement d'un spectre IR peut se faire pour un échantillon à l'état gazeux, liquide, solide ou en solution.

- Si l'échantillon est à l'état gazeux, des cellules spéciales sont utilisées pour l'analyse avec des longueurs de parcours importantes (typiquement entre 5 et 10 cm), jamais en verre car le verre est opaque aux radiations infrarouges. Les gaz n'absorbent que peu dans l'infrarouge.
- Si l'échantillon est à l'état liquide, il est déposé entre deux pastilles de chlorure de sodium (NaCl) ou de bromure de potassium (KBr) monocristallin comprimées, de manière à obtenir un film fin.
- Si l'échantillon est solide, il est broyé en présence de bromure de potassium KBr puis comprimé en fine pastille sous pression réduite. Une autre technique consiste à disperser le solide dans le nujol (mélange d'hydrocarbures paraffiniques) et à déposer la suspension sur une pastille de chlorure de sodium monocristallin. Il est impératif que l'échantillon étudié soit bien sec car l'eau absorbe beaucoup en IR.

• Si l'échantillon est en solution, il est nécessaire que la solution préparée à partir d'un solide ou même un liquide soit diluée dans un solvant qui absorbe très peu en IR ou qui ne présente pas de bandes d'absorption dans les zones particulièrement intéressante du spectre. Les solvants les plus couramment employés sont le tétrachlorure de carbone (CCl_4), le chloroforme (CHCl_3), le dichlorométhane (CH_2Cl_2) et le sulfure de carbone (CS_2).

III.5.2. Appareillage

Les spectromètres infrarouges les plus classiques exploitent la région du spectre comprise entre 4000 et 400 cm^{-1} , soit sensiblement $2,5\text{ }\mu\text{m}$ (2500 nm) et $25\text{ }\mu\text{m}$. Les progrès de la technique permettent d'atteindre des zones jusqu'à 100 cm^{-1} d'une part, et à 10000 cm^{-1} d'autre part. Il existe deux sortes de spectromètre IR : le spectromètre à balayage (Figure III.6) et le spectromètre IR à transformée de Fourier (Figure III.7).

Spectromètre dispersif à balayage : il s'agit du modèle le plus classique et il est semblable aux spectrophotomètres utilisés en spectroscopie UV-visible.

Spectromètre IR à transformée de Fourier (IRTF) : il est identique à un spectromètre à balayage à simple faisceau où le système dispersif est remplacé par un interféromètre constitué d'un miroir mobile, d'un miroir fixe et d'une séparatrice, souvent de type Michelson, sa position est ajustée par laser.

Les deux types de spectromètres IR sont composés des éléments suivants :

- une source lumineuse émettant un faisceau de lumière infrarouge,
- une cellule réceptionnant l'échantillon,
- un système de séparation du rayonnement (un système dispersif tel que les prismes ou les réseaux de diffraction dans le cas des spectromètres à balayage et un interféromètre Michelson Pour les spectromètres IRTF)
- et un détecteur.

Le tout est relié à un ordinateur permettant le traitement du signal obtenu ainsi que le paramétrage de l'analyse.

Globalement, pour les deux types de spectromètres, les sources et les détecteurs peuvent être les mêmes. La différence majeure réside au niveau du séparateur du rayonnement.

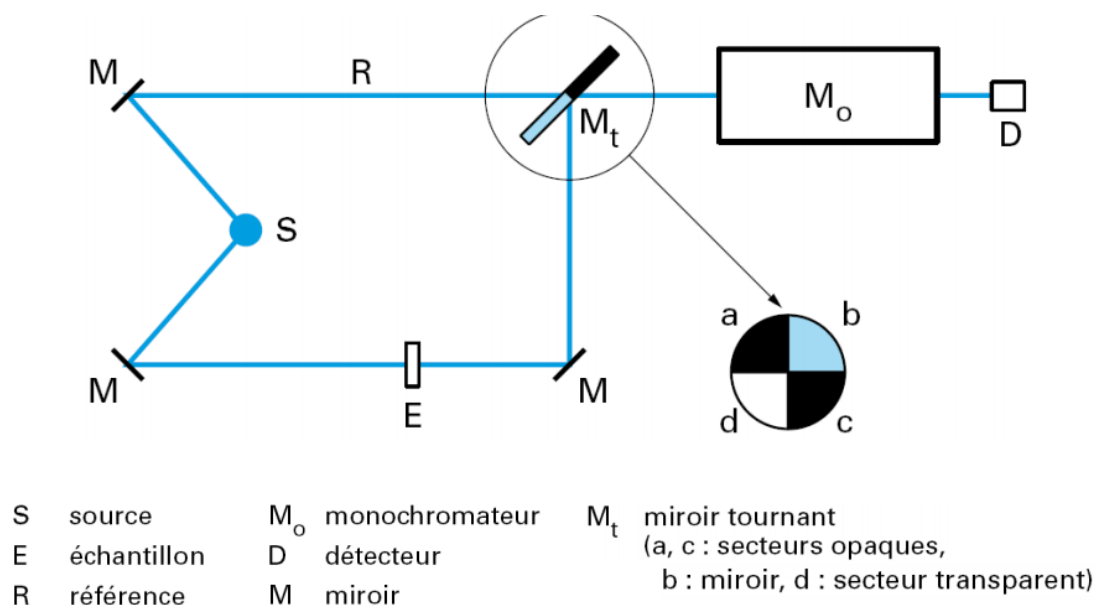


Figure III.6 : Schéma de principe d'un spectromètre à balayage « double faisceau »

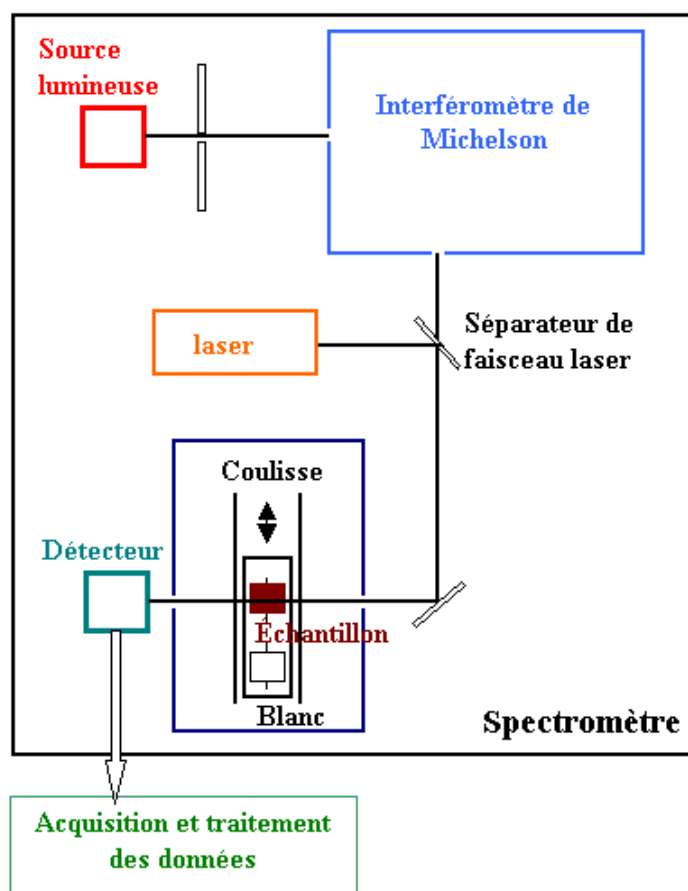


Figure III.7 : Schéma de principe d'un spectromètre à transformée de Fourier

III.5.3. Interprétation d'un spectre d'absorption IR.

L'interprétation d'un spectre IR se fait par :

- 1- Analyse du spectre en commençant par les plus grands nombres d'onde.
- 2- Identification des bandes caractéristiques des groupes fonctionnels, grâce aux tables infrarouge existantes. Des tables de données infrarouge permettent de connaître le type de liaison qui correspond à une absorption donnée mais plusieurs facteurs structuraux peuvent modifier les valeurs de nombre d'onde attendus.

Les bandes seront analysées selon leurs :

- Position (cm^{-1})
- Intensité (faible, moyenne, forte)
- Forme (large ou fine).

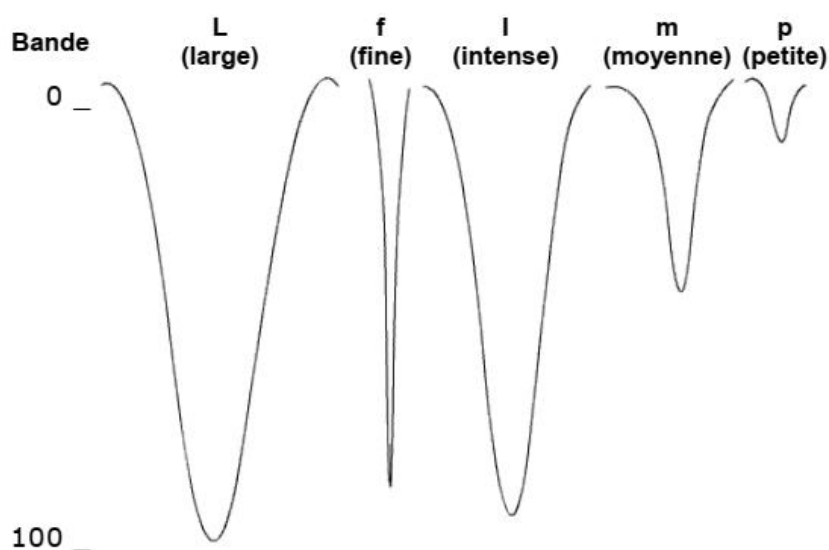


Figure III.8 : Différentes formes des bandes (pics)

- 3- Comparaison du spectre étudié et, en particulier, de la région « empreinte digitale » à un spectre de référence (Ne pas chercher à élucider toutes les bandes notamment dans cette région ($< 1300 \text{ cm}^{-1}$)).

- **Groupes fonctionnels**

Les groupes fonctionnels (appelés aussi groupe caractéristique) sont des groupements d'atomes qui donnent des propriétés particulières à une molécule. Ces propriétés sont désignées par des fonctions qui permettent de classer les molécules en familles : les alcools, les amines, etc.

Les groupe fonctionnels les plus courants et détectables par spectroscopie IR sont : - Les alcools, les acides carboxyliques, les aldéhydes, les cétones, les esters, les amines et les amides. Le tableau suivant regroupe quelques vibrations de valence et de déformation de ces groupements fonctionnels.

Tableau III.1 : Quelques vibrations d'élongation et de déformation.

CLASSES FONCTIONNELLES	NOMBRED'ONDE (CM ⁻¹)	ATTRIBUTION
Alcanes (vibrationsd'élongation)	2850-3000	CH ₃ , CH ₂ et CH; 2 ou 3 bandes
Alcanes (vibrationsde déformation)	1350-1470	CH ₂ et CH ₃ Déformation
Alcanes (vibrationsde déformation)	1370-1390	CH ₃ déformation
Alcènes (vibrationsd'élongation)	1900-2000	C=C vibrationd'élongation assymétrique
Alcools & phénols (vibrations d'élongation)	3580-3650	O-H (libre), bande générale- ment fine
Alcools et phénols(vibrations d'élongation)	3200-3550	O-H (avec liaisonH), bande géné- ralement large
Alcools et phénols(vibrations d'élongation)	970-1250	C-O
Alcools et phénols(vibrations de déformation)	1330-1430	O-H déformationdans le plan
Amines (vibrationsd'élongation)	3400-3500	N-H (1°-amines), 2 bandes
Aldehydes et cétones (vibrations d'élongation)	2690-2840 (2 bandes)	C-H (aldéhyde C-H)

CLASSES FONCTIONNELLES	NOMBRED'ONDE (CM ⁻¹)	ATTRIBUTION
Aldehydes et cétones (vibrations d'élongation)	1720-1740	C=O (aldéhyde saturé)
Aldehydes et cétones (vibrations d'élongation)	1710-1720	C=O (cétone saturée)
Acides carboxyliques et dérivés (vibrations d'élongation)	2500-3300 (acides) superposition avec les C-H	O-H (bande très large)
Acides carboxyliques et dérivés (vibrations d'élongation)	1785-1815 (halogénures d'acides)	C=O
Acides carboxyliques et dérivés (vibrations d'élongation)	1750 et 1820 (anhydrides)	C=O (2-bandes)
Acides carboxyliques et dérivés (vibrations d'élongation)	1040-1100	O-C
Acides carboxyliques et dérivés (vibrations d'élongation)	1735-1750 (esters)	C=O
Acides carboxyliques & dérivés (vibrations d'élongation)	1630-1695 (amides)	C=O (amide I bande)

• Analyse fonctionnelle

La spectroscopie infrarouge permet de faire l'analyse fonctionnelle d'une molécule c'est-à-dire de décrire précisément l'ensemble des groupes chimiques qui la constitue. Les liaisons identiques d'un groupement (ex. CH₃ ou CH₂) sont couplées et vibrent simultanément.

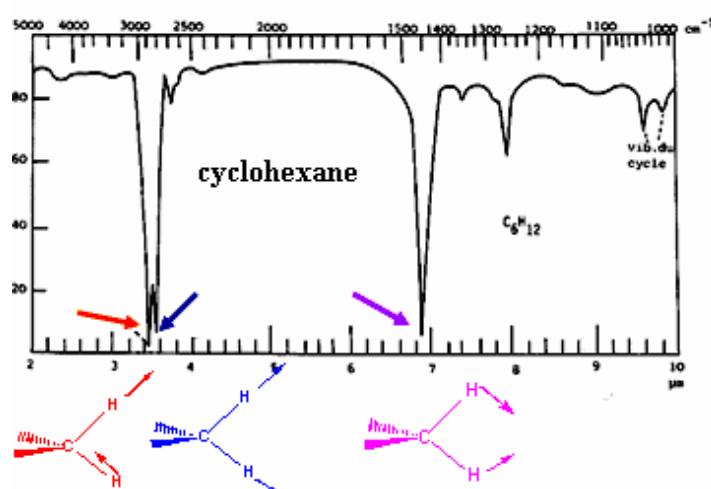


Figure III.9 : Spectre IR du cyclohexane

III.6. Application de la spectrométrie infrarouge

III.6.1. Analyse qualitative

L'analyse qualitative de la spectroscopie IR est l'application la plus courante et elle est principalement utilisée pour :

- ✚ Identifier une molécule inconnue ou, ses groupements fonctionnels
- ✚ Vérifier la pureté d'un produit connu, par l'absence de bande signalant la présence de composé étrange
- ✚ Dosage chimique de polluants dans l'eau, l'air ou les sols
- ✚ Suivre un processus réactionnel en étudiant l'apparition ou la disparition des bandes caractéristiques de certains groupes fonctionnels.
- ✚ Contrôle qualité : la qualité d'une fibre polymère ou d'un produit agro-alimentaire...
- ✚ Surveillance de l'évolution du climat sur Terre par l'analyse de la composition de roches et sédiments

III.6.2. Analyse quantitative

La précision des mesures d'absorbance et les possibilités de retraitement des spectres ont favorisé l'analyse quantitative par infrarouge, moins performante que l'UV-Visible. Cette analyse est basée sur la loi de Beer Lambert ($A = -\log T = \epsilon.l.C$) et elle est largement utilisée pour évaluer les paramètres de production dans les procédés industriels tels que l'industrie pétrolière, pharmaceutique, textile...

Série d'exercices N° 03

Exercice N° 01 :

La formule brute d'un composé chimique est $C_5H_{10}O$.

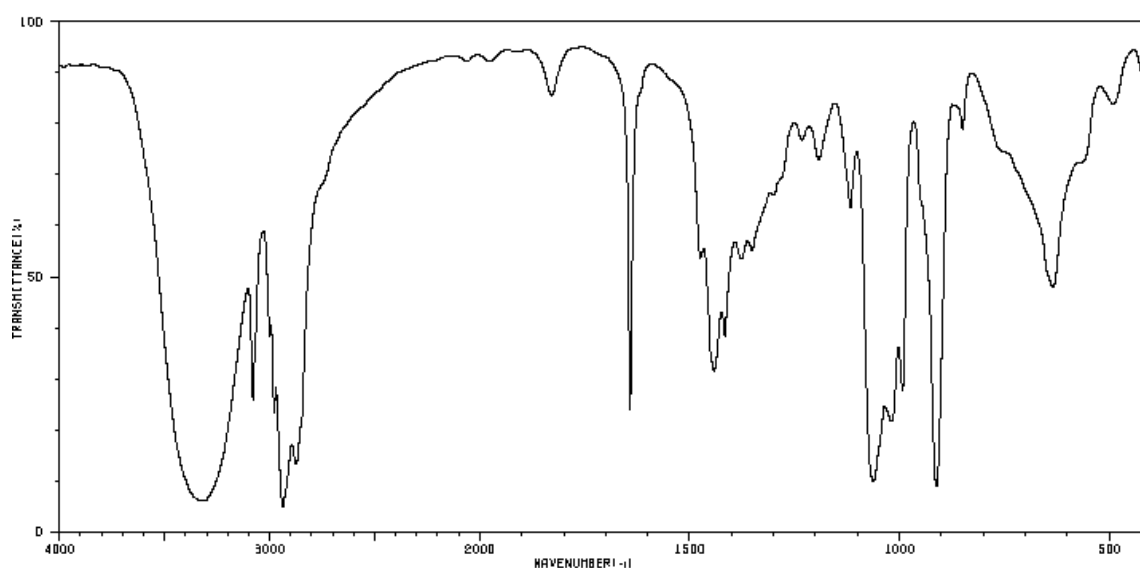
Son spectre infrarouge est donné ci-dessous:

1- Quelles sont les liaisons possibles mises en évidence par le spectre ci-dessous?

2- La molécule analysée peut-elle être l'une des 2 suivantes :

— pentan-2-one : $CH_3 - CO - CH_2 - CH_2 - CH_3$

— pent-4-èn-1-ol : $CH_2 = CH - CH_2 - CH_2 - CH_2OH$



Exercice N°02

On donne quelques bandes IR importantes (en cm^{-1}) caractéristiques pour deux isomères d'un composé dont la formule brute est C_4H_8O .

Isomère A : 3300 (l), 2940, 1666 (f) et 1450.

Isomère B : 2970, 2818 et 1750 (F).

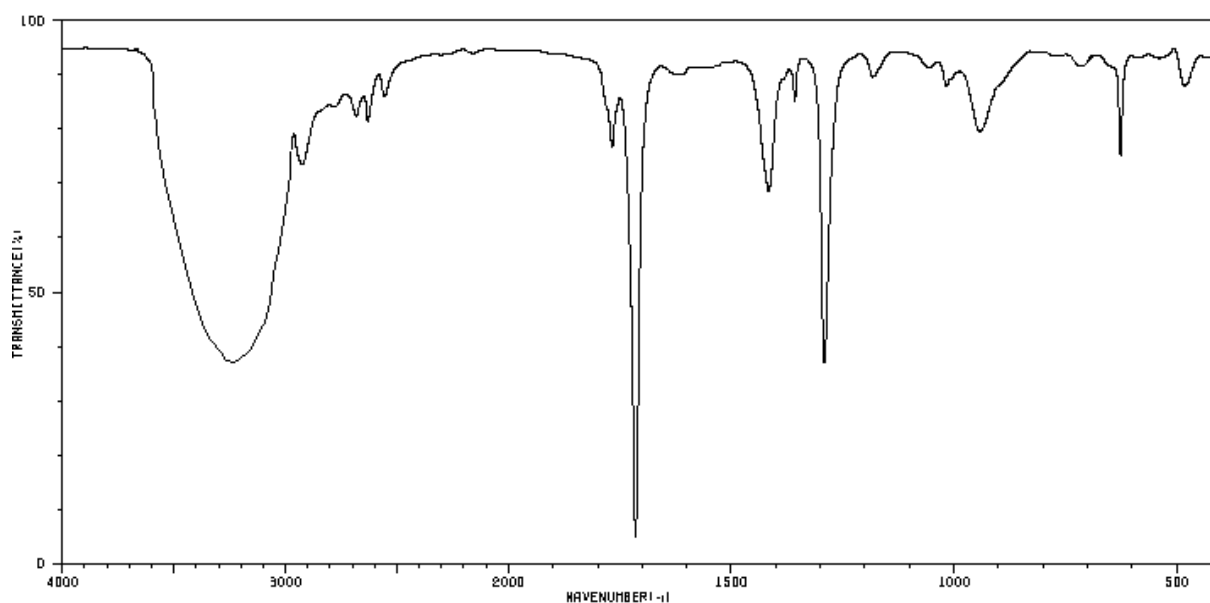
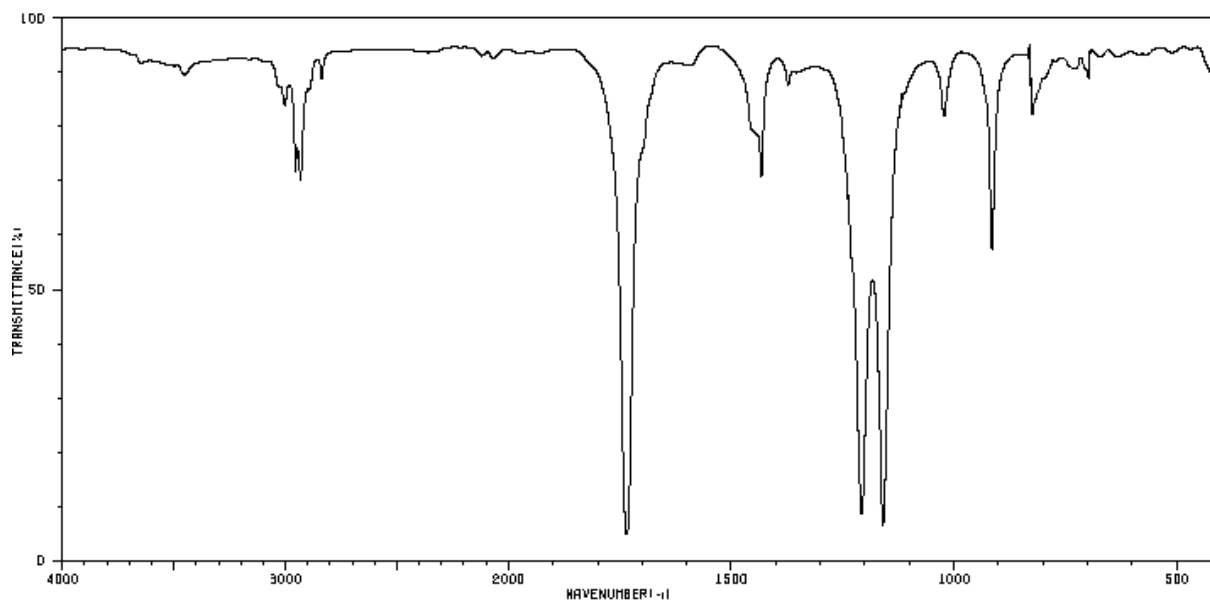
F = (Fort), f = (faible), l = (large).

- 1)- Calculer le nombre de mode de vibration pour cette molécule
- 2)- Indiquer l'attribution de chaque bande de vibration.
- 3)- Quels sont les groupes fonctionnels connu qui sont compatibles avec ces deux isomères ?

Exercice N° 03

Le spectre IR de la molécule d'acide éthanoïque. L'autre produit issu de la synthèse de l'aspirine est l'acide éthanoïque de formule brute $C_2H_4O_2$.

1. Donner la formule semi-développée de l'acide éthanoïque et du méthanoate de méthyle qui est un isomère de l'acide éthanoïque.
2. Les spectres infrarouges de ces deux espèces chimiques sont regroupés ci-dessous. Identifier celui qui appartient à l'acide éthanoïque en justifiant.

**Spectre IR 1****Spectre IR 2**

Exercice N° 04

Les nombres d'onde caractéristiques d'absorption en infrarouge du double et simple liaison carbone-azote ont des valeurs de 1650 et 1200 cm^{-1} , respectivement.

On assimile ces liaisons à un oscillateur harmonique de constante de raideur k et de masse réduite μ .

- Calculer les valeurs des constantes de force pour les vibrations d'élongation des liaisons simple (C-N) et double (C=N). qu'en déduisez-vous ?

Exercice N° 05

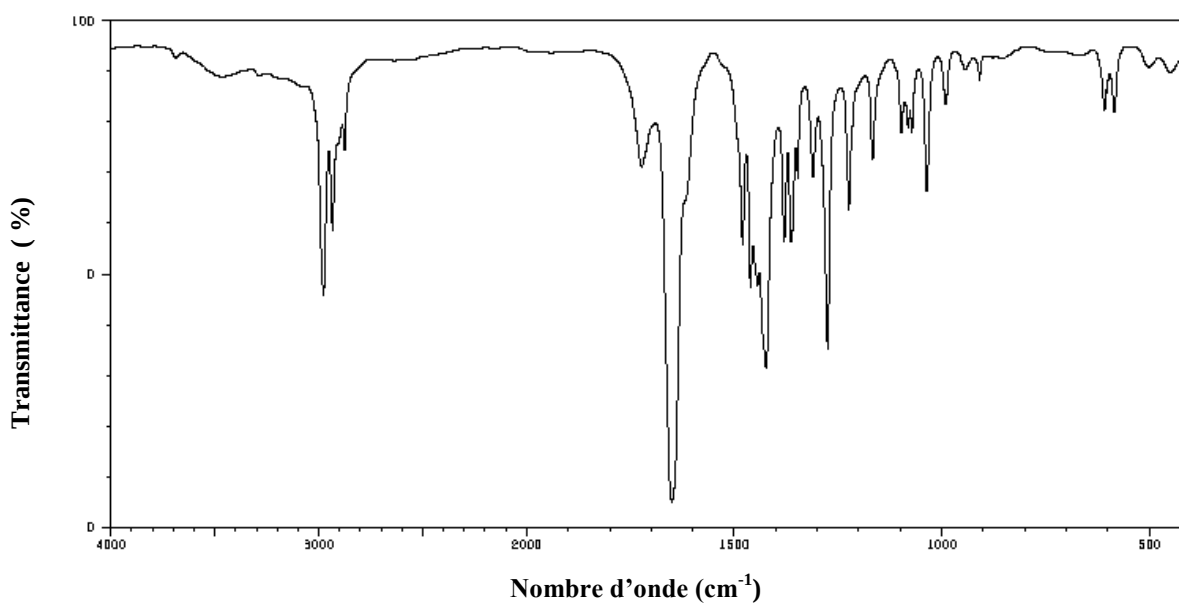
Un composé organique de formule brute $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NO}$ donne le spectre ci-dessous.

1. Calculer le nombre de mode de vibration pour cette molécule.
2. A quel type de vibration et à quelle liaison correspondent les nombres d'ondes suivants : 2990, 2943, 1651, 1445 et 1275 cm^{-1} ?
3. parmi les trois molécules suivantes, indiquer celle qui correspond au spectre ci-dessous.

molécule A : $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_5 - \text{CH} = \text{NOH}$

molécule B : $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$

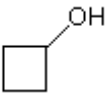
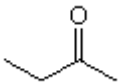
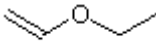
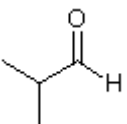
molécule C : $\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{N} - \begin{array}{l} \text{CH}_2 - \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_3 \end{array}$

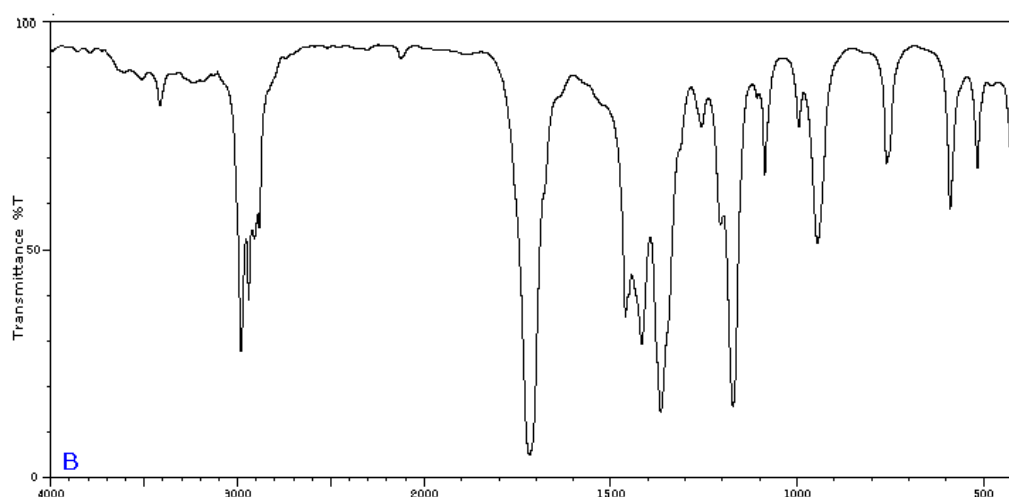
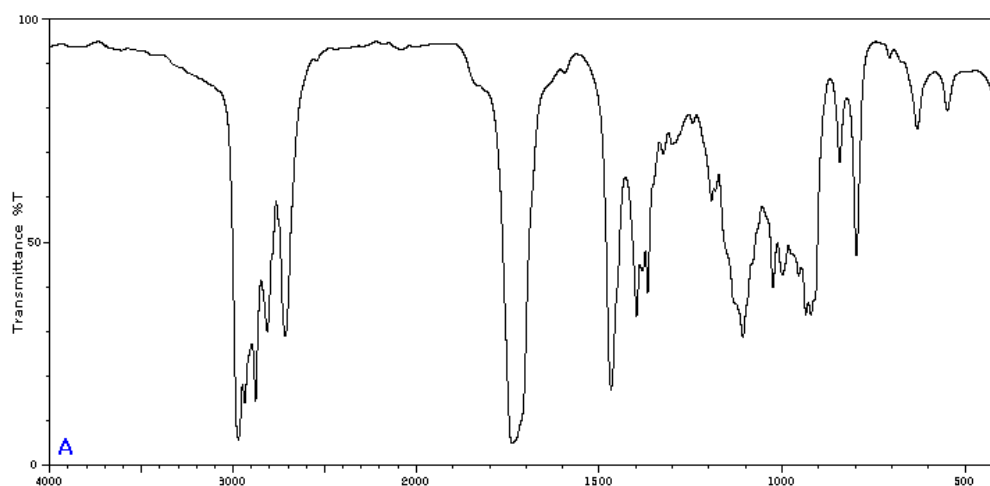


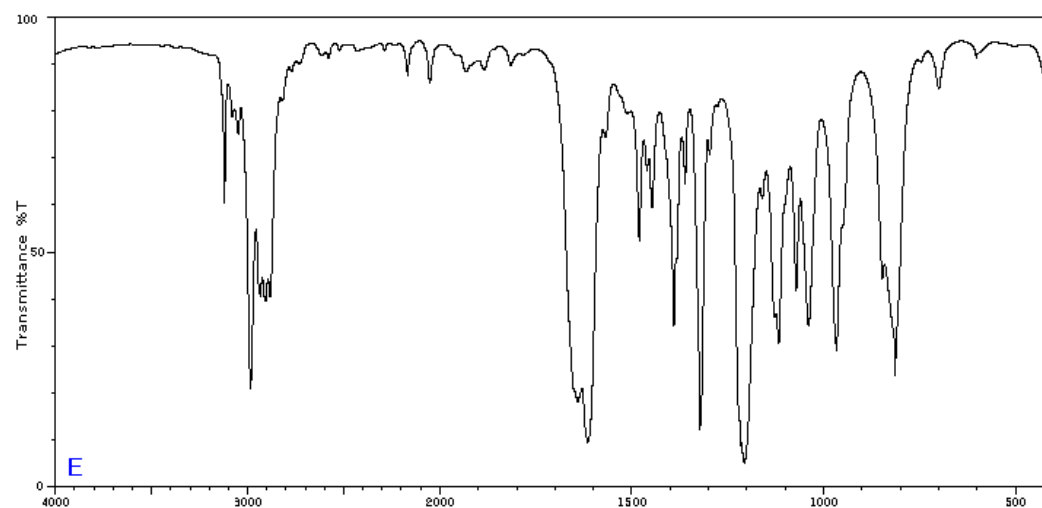
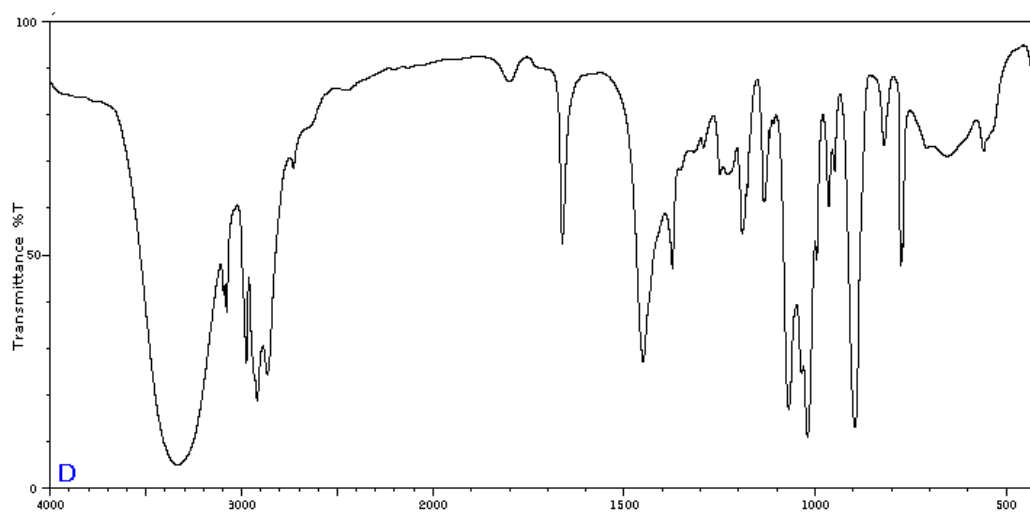
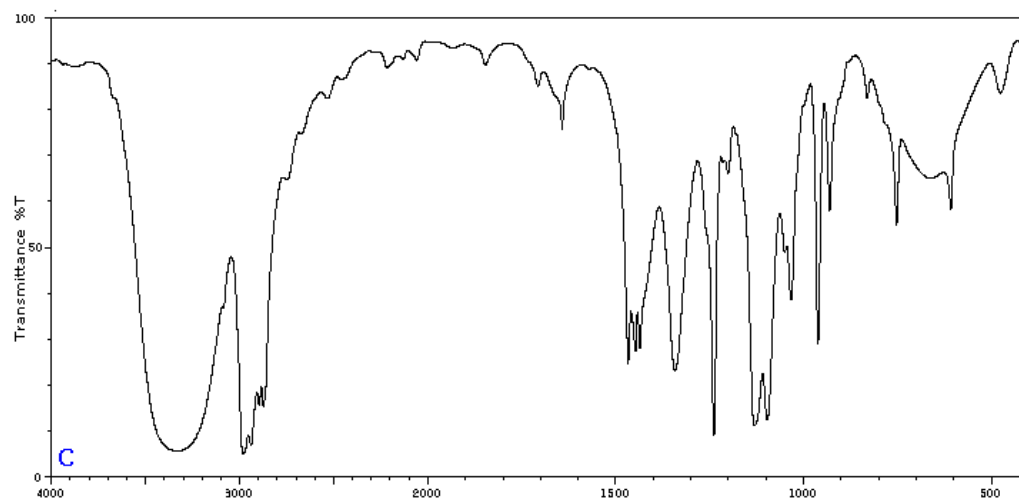
Exercice N° 06

Les spectres d'absorption infrarouge des cinq isomères de la molécule C_4H_8O sont présentés ci-après. Les cinq isomères sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

Essayez d'associer chaque spectre (A - E) à chacun des isomères.

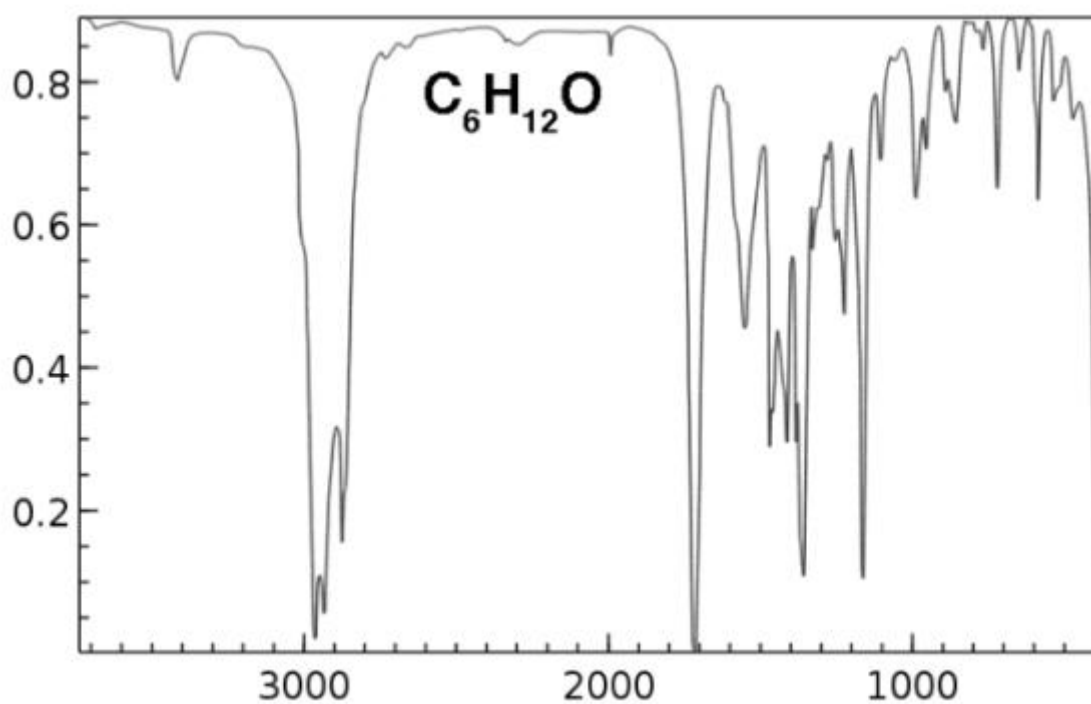
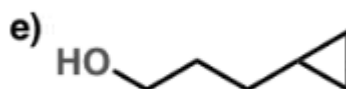
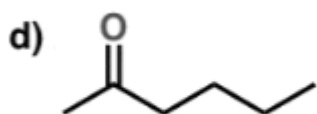
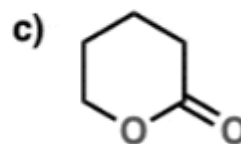
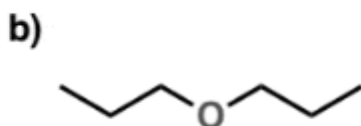
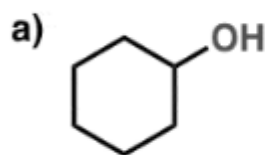
cyclobutanol	2-butanone	Ethyl vinyl ether	2-methyl-2-propen-1-ol	2-methylpropanal
				





Exercice N° 07

Une molécule inconnue de formule moléculaire $C_6H_{12}O$ donne le spectre IR ci-dessous. Laquelle de ces molécules correspond le mieux à ce spectre IR.



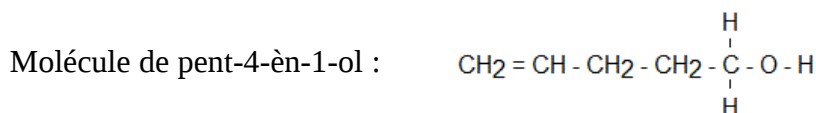
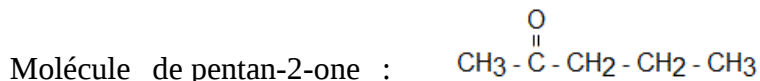
Corrigé des exercices

Exercice N°01

1- Citons les liaisons chimiques mises en évidence par le spectre.

- La bande d'absorption autour de 3300 cm^{-1} met en évidence la présence d'une vibration d'élongation de la liaison -OH lié par des "ponts" hydrogène à un autre groupe -OH (molécules voisines).
- La bande d'absorption autour de 3090 cm^{-1} met en évidence la présence d'une vibration d'élongation de liaison $\text{C}_{\text{tri}}\text{-H}$ (carbone trigonal lié à au moins un atome d'hydrogène).
- La bande d'absorption autour de 2950 cm^{-1} met en évidence la présence d'une vibration d'élongation de liaison $\text{C}_{\text{tetra}}\text{-H}$ (carbone tétragonal lié à au moins un atome d'hydrogène).
- La bande d'absorption autour de 1650 cm^{-1} met en évidence la présence d'une vibration d'élongation de liaison $\text{C}=\text{C}$ (liaison double entre 2 atomes de carbone).
- La bande d'absorption autour de 1440 cm^{-1} met en évidence les vibrations de déformation angulaires associées aux angles $\widehat{\text{HCH}}$ pour un carbone tétragonal.

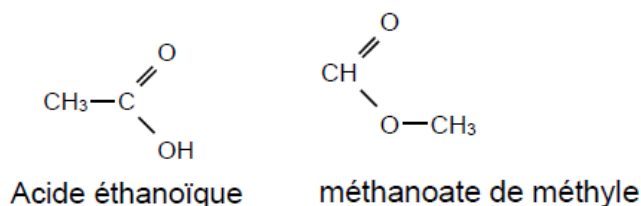
2- On doit choisir la molécule analysée parmi les 2 molécules suivantes :



- La molécule de pentan-2-one $\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$ ne contient pas de liaison $\text{C}=\text{C}$. De plus le spectre ne détecte pas de liaison $\text{C}=\text{O}$. Cette molécule n'est pas la bonne.
- La molécule de pent-4-èn-1-ol $\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH}$ donne bien les 5 bandes d'absorption détectées sur le spectre. C'est elle qui répond à la question posée.

Exercice N°03

1. Formule semi-développée de l'acide éthanoïque et du méthanoate de méthyle



- Dans le spectre IR1, on remarque la présence d'une bande large située entre 3000 et 3200 cm^{-1} caractéristique de la liaison OH de l'acide carboxylique. Une autre bande un peu fine et très intense est remarquée vers 1740-1800 cm^{-1} caractéristique de la liaison double C=O.
- Dans le spectre IR2, Une bande très intense est remarquée vers 1730-1750 cm^{-1} caractéristique de la liaison C=O de l'ester.

On peut conclure que le spectre IR1 correspond à celui de l'acide éthanoïque et le spectre IR2 à celui du méthanoate de méthyle.

Exercice N°04

D'après la loi de Hooke : $\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$ soit $k = 4\pi^2 \nu^2 \mu$.

Or $\nu = c \cdot \bar{\nu}$ D'où : $k = 4\pi^2 c^2 \bar{\nu}^2 \mu$ ($c = 3.10^8 \text{ m/s}$)

Calcul de la masse réduite μ : $\mu = \frac{m_C m_N}{m_C + m_N} = \frac{M_C M_N}{M_C + M_N} \times \frac{1}{N}$ ($N = 6,023.10^{23} \text{ mol}^{-1}$)

$$\text{A.N : } \mu = \frac{12.10^{-3} \times 14.10^{-3}}{(12+14).10^{-3}} \times \frac{1}{6,023.10^{23}} \rightarrow \mu = \mathbf{1,07.10^{-26} \text{ kg}}$$

Liaison simple (C-N) : $\bar{\nu} = 1200 \text{ cm}^{-1} = 1,2 \cdot 10^5 \text{ m}^{-1}$ d'où : $k_{\text{C-N}} = \mathbf{547 \text{ N.m}^{-1}}$

Liaison double (C=N) : $\bar{\nu} = 1650 \text{ cm}^{-1} = 1,65 \cdot 10^5 \text{ m}^{-1}$ d'où : $k_{\text{C=N}} = \mathbf{1035 \text{ N.m}^{-1}}$

- On peut déduire que : Plus l'indice de liaison entre les deux atomes (C et N) augmente plus la constante de force augmente, ce qui induit l'augmentation de l'énergie de liaison.

Exercice N° 05

1. Calcul du nombre de mode de vibration de la molécule $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NO}$

Le nombre de mode de vibration = $3N-6$ avec $N=24$ (nombre d'atomes de la molécule)

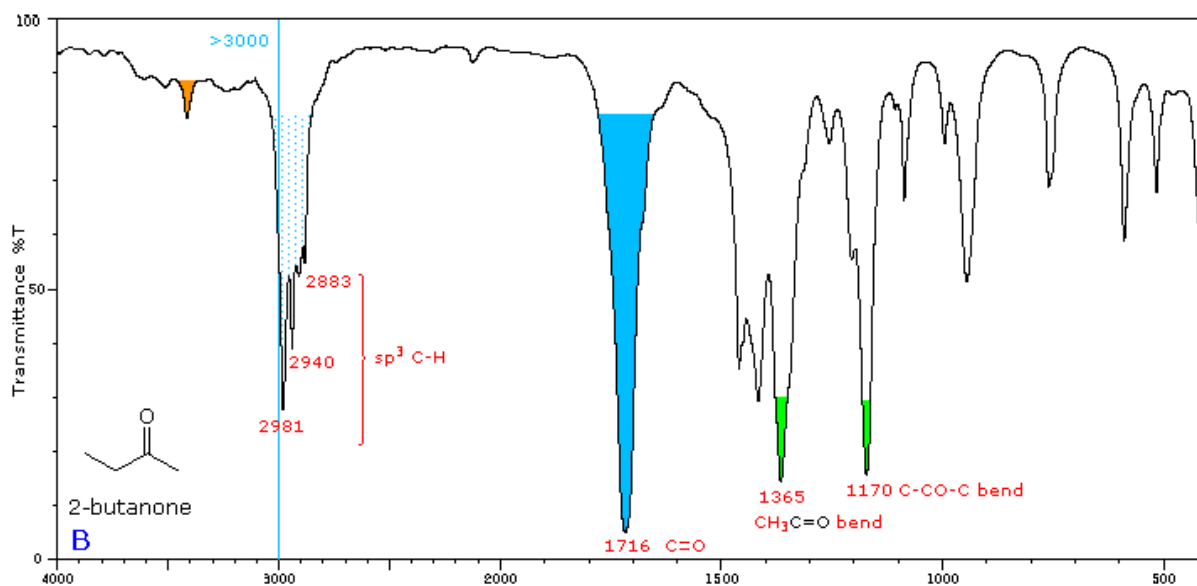
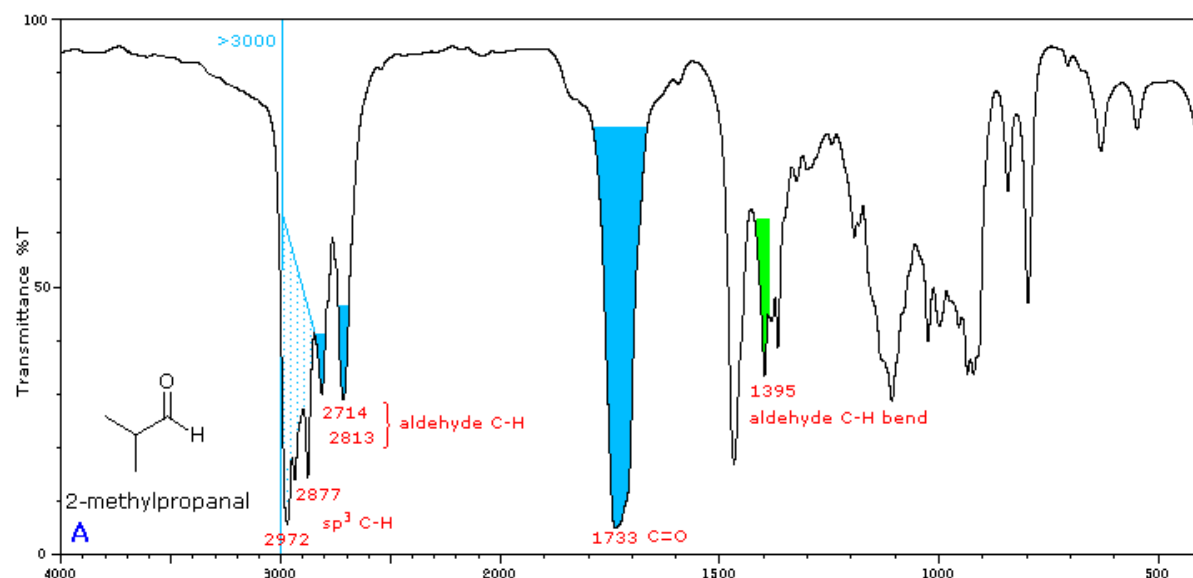
Donc cette molécule possède 66 modes de vibration.

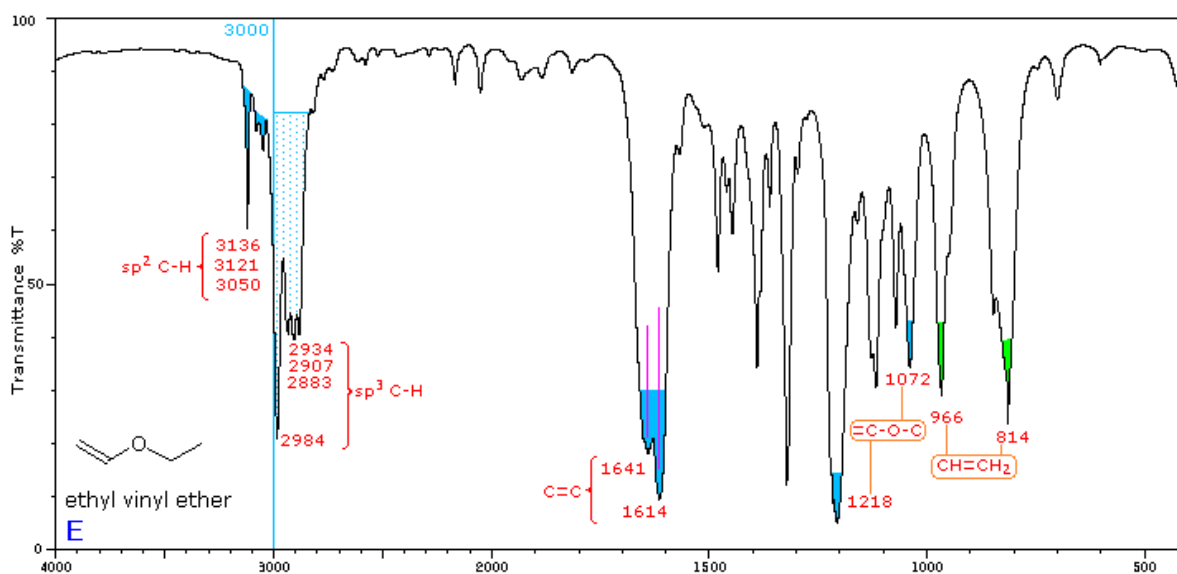
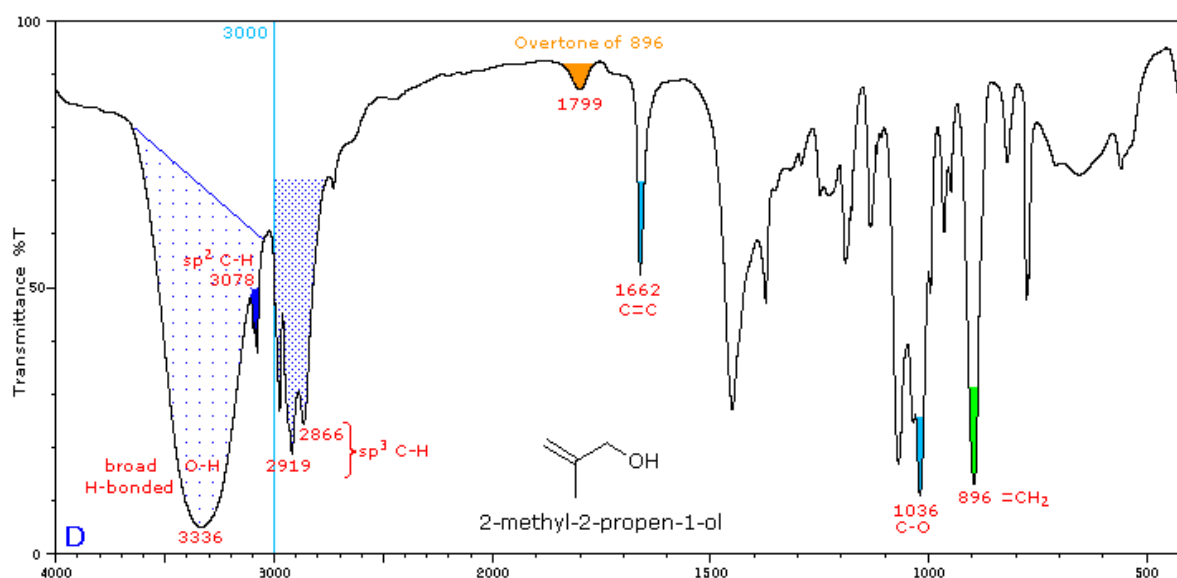
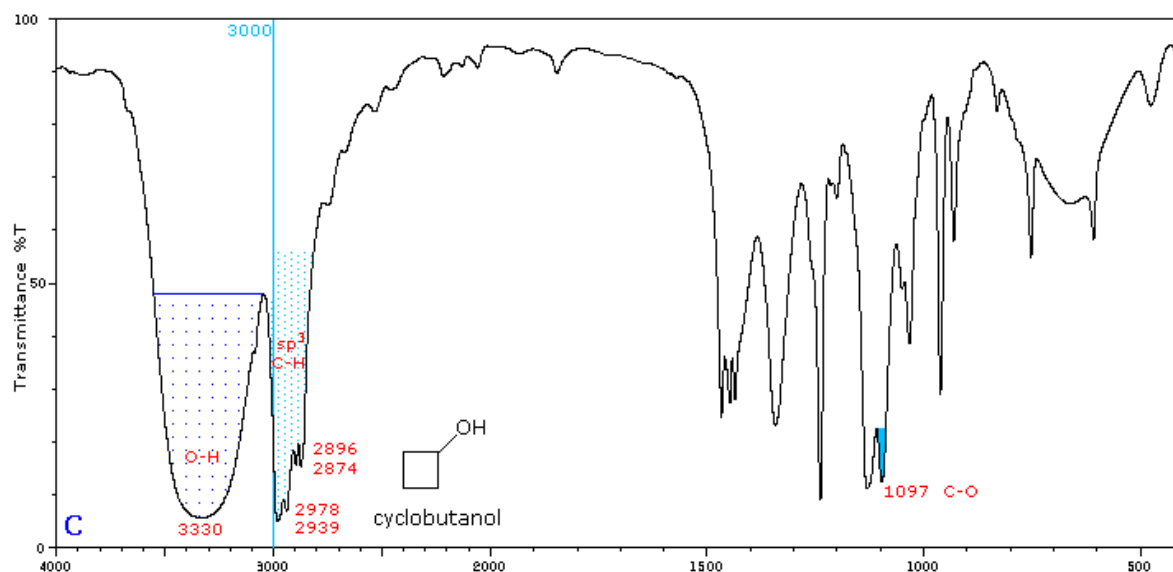
Nombre d'onde (cm^{-1})	2990	2943	1651	1445	1275
Type de vibration	élongation	élongation	élongation	Déformation angulaire	élongation
Liaison	$\text{C}_{\text{tri}}\text{-H}$	$\text{C}_{\text{tetra}}\text{-H}$	C=O	$\overline{\text{HCH}}$	C-N

3. La molécule qui correspond au spectre donné c'est la molécule C

Exercice N° 06

Chaque spectre (A - E) est associé à son isomère correspondant





Exercice N° 07

Une formule moléculaire de $C_6H_{12}O$ correspond à un IHD de 1, donc une double liaison ou un cycle est présent dans la molécule.

Il n'y a pas de fort pic OH autour de $3200-3400\text{ cm}^{-1}$ (ce petit pic autour de 3400 cm^{-1} est trop faible pour être un OH). Nous pouvons immédiatement exclure a) et e).

Cependant, nous voyons un pic un peu au-dessus de 1700 cm^{-1} qui est l'un des pics les plus forts du spectre. Il s'agit d'un pic classique $C=O$. Nous pouvons exclure en toute sécurité b) qui n'a pas de carbonyle.

La seule option qui a du sens est d) (2-hexanone) puisque c) ne correspond pas à la formule moléculaire (deux oxygènes, cinq carbones).

Notez également que la région C-H montre tous les pics inférieurs à 3000 cm^{-1} , c'est pour ça qu'on pourrait s'attendre pour une cétone saturée ("aliphatique").

Exercices non résolus

Exercice N° 01

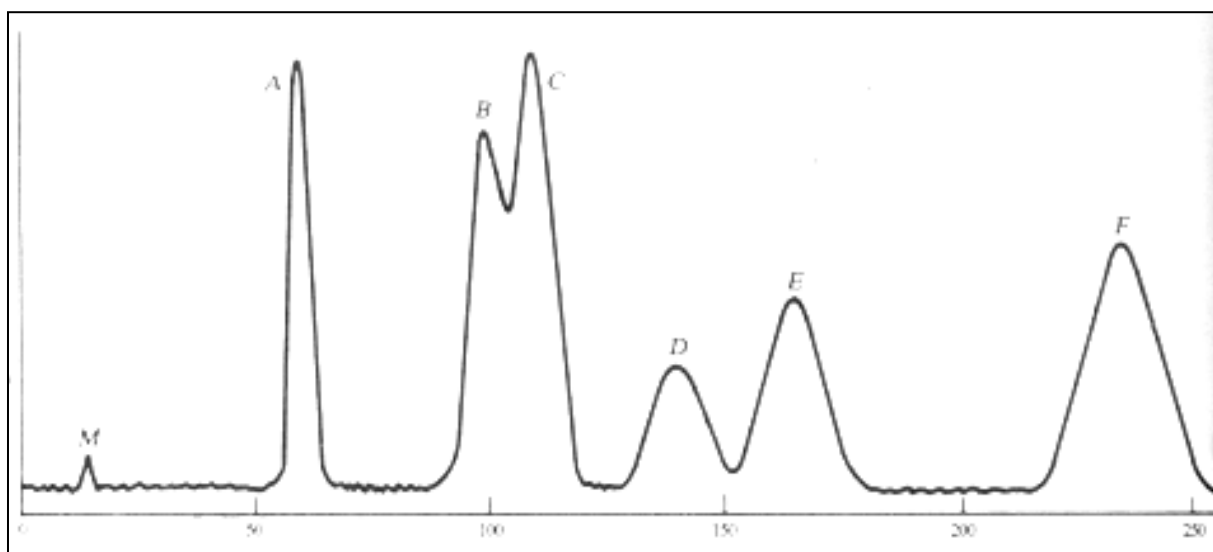
Les résultats de l'analyse d'un mélange par chromatographie en phase liquide sont regroupés dans le tableau ci-dessous. Les conditions opératoires sont les suivantes : $L=10\text{cm}$, $T=20^\circ\text{C}$, $D=1\text{ml/min}$ et $t_m=41\text{s}$.

Nom du soluté	uracile	phénol	Alcool benzylique	2-phényl-éthanol	Benzoate de benzyle
Temps de rétention réduit (s)	28	141	158	282	341
Largeur à mi-hauteur « δ » (s)	10,9	13,1	13,4	15,8	16,9

1. Indiquez les composés qui ne sont pas correctement séparés.
2. Déterminez pour ses 2 composés le facteur de capacité.
3. Calculer le nombre de plateaux théoriques effectifs en se basant sur l'uracile.

Exercice N° 02

Le chromatogramme suivant a été obtenu pour un mélange de chaînes droites d'hydrocarbures : $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$. Le pic M est dû à un corps non absorbé ; le pic A est celui de C_3H_8 ; le pic F est celui de $\text{C}_{20}\text{H}_{42}$. La colonne mesure 120 cm de longueur et est utilisée à température constante avec un débit de gaz de $50,0\text{ cm}^3/\text{min}$. On trouve les données concernant les temps de rétention et la largeur des pics dans le tableau 12-2.



Pic	M	A	B	C	D	E	F
t (sec)	15	60	100	110	140	165	235
ω (sec)	0,01	9,00	15,00	16,50	21,00	24,75	23,25
Aire (cm ²)	0,001	0,900	1,200	1,650	0,610	1,040	1,900

1. Trouver le nombre de plateaux théoriques N_A en se basant sur le pic A ?
2. Calculer la résolution entre les pics B-C, D-E ?
3. Quelle longueur de colonne aurait il fallu pour que la résolution des pics B et C ait été de $R' = 1,5$?
4. En déduire la nouvelle résolution des pics D et E ?
5. Déterminer le t_R de F sur une colonne de longueur déterminée au (d) et conclure ?

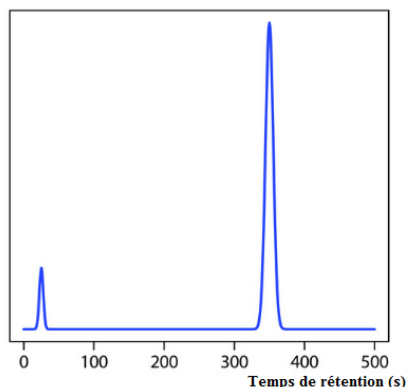
Exercice N° 03

Les données suivantes ont été obtenues pour quatre composés séparés sur une colonne capillaire de 20 m.

composé	t_r (min)	ω (min)
A	8.04	0,15
B	8.26	0,15
C	8.43	0,16

1. Calculer le nombre de plateaux théoriques pour chaque composé et le nombre moyen de plateaux théoriques pour la colonne.
2. Calculer la hauteur équivalente à un plateau théorique.
3. Expliquez pourquoi il est possible que chaque composé ait un nombre différent de plateaux théoriques.
4. calculez la résolution et les facteurs de sélectivité pour chaque paire de composés adjacents.
5. Expliquez comment vous pourriez améliorer la résolution entre les deux composés B et C. Sachant que le temps de rétention pour le soluté non retenu est de 1,19 min.

6. À l'aide du chromatogramme de la Figure ci-dessous, obtenu à l'aide d'une colonne de 2 m, déterminez les valeurs de t_r , w , t_r' , k , N et H .



Exercice N° 04

Deux substances A et B ont des temps de rétention respectivement de 13 min et 15 min sur une colonne de 50 cm de long. Le temps mort de la colonne est de 1.50 min. Les largeurs de pic à la base sont respectivement 70 et 100 sec.

1. Calculer la résolution de la colonne, le nombre de plateaux théoriques et la hauteur de plateau théorique équivalente.

Pour améliorer les performances de la séparation, on peut allonger la colonne ou améliorer le pouvoir de rétention de la phase stationnaire. Afin de quantifier ces deux approches, effectuer les calculs suivants :

- 1.1. La longueur de colonne qu'il faudrait utiliser pour avoir une résolution de 2 ?
- 1.2. Le temps de rétention qu'aurait B sur cette nouvelle colonne ?
- 1.3. La HETP nécessaire pour obtenir une résolution de 2 avec une colonne de 50 cm et les temps de rétention donnés ci-dessus ?

Exercice N° 05

Une analyse chromatographique pour le pesticide chloré Dieldrine donne un pic avec un temps de rétention de 8,68 min et une largeur à la base du pic de 0,29 min.

1. Calculer le nombre de plateaux théoriques ?

Sachant que la colonne mesure 2,0 m de long.

2. Quelle est la hauteur d'un plateau théorique en mm ?

Exercice N° 06

Dans une analyse chromatographique de l'huile de citron, un pic de limonène a un temps de rétention de 8,36 min avec une largeur à la base du pic de 0,96 min. γ -Terpinene élué à 9,54 min avec une largeur à la base du pic de 0,64 min.

1. Quelle est la résolution entre les deux pics ?
2. Calculer le nombre de plateaux théoriques en se basant sur le pic élué en dernier

Exercice N° 07

Les peintures et vernis extérieurs doivent être protégés de l'effet des radiations solaires pour ralentir leur dégradation (photolyse et réactions photochimiques). Le spectre UV-Visible d'une peinture montre une absorbance maximale à une longueur d'onde égale à 410 nm.

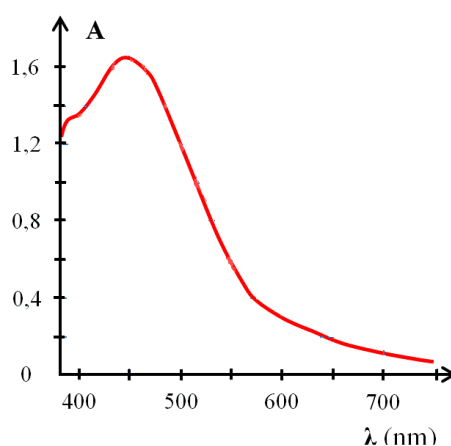
1. Calculer l'énergie, la fréquence et le nombre d'onde correspondants à la longueur d'onde donnée.
2. Déduire la couleur de cette peinture. justifier votre réponse.
3. Quelle doit être la concentration massique, en g/L, d'un additif UV de masse molaire ($M = 500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) pour que 90 % du rayonnement soit absorbé sur une épaisseur de 0,3 mm?

Exercice N° 08

Le complexe coloré de formule $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ est obtenu en réagissant les ions fer III, Fe^{3+} avec les ions thiocyanate SCN^- . Ce complexe permet de détecter des traces d'ions Fe^{3+} .

Le spectre UV-visible d'une solution diluée contenant cet ion est donné ci-dessous.

Quelle est la couleur de la solution ?



Exercice N° 09

A partir d'une solution mère de sulfate de cuivre à 1 mol/l, On prépare plusieurs solutions filles et on mesure pour chacune d'elles l'absorbance à 655 nm. Cette longueur d'onde correspond au maximum de la courbe $A = f(\lambda)$ pour une solution de sulfate de cuivre. La largeur de la cuve utilisée est de 1cm.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

C (mol/l)	0,40	0,20	0,10	0,04	0,02	0,01
A	0,60	0,30	0,15	0,06	0,03	0,015

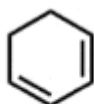
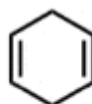
1. Pourquoi a-t-on choisi de travailler à cette longueur d'onde ?
2. La loi de Beer-Lambert est-elle vérifiée ?
3. Calculez d'après la courbe le coefficient de proportionnalité entre l'absorbance et la concentration.
4. Déterminer le coefficient d'absorbance molaire dans ces conditions.
5. Quelle est la concentration d'une solution de sulfate de cuivre dont l'absorbance est $A = 0,4$.

Exercice N° 10

1. Quelles sont toutes les transitions électroniques possibles pour les molécules suivantes : CH_4 , CH_3Cl , $\text{H}_2\text{C}=\text{O}$
2. Expliquez les variations suivantes dans le λ_{max} (en nm) des composés suivants : $\text{CH}_3\text{-X}$, quand $\text{X}=\text{Cl}$ ($\lambda_{\text{max}} = 173$), $\text{X}=\text{Br}$ ($\lambda_{\text{max}} = 204$) et $\text{X}=\text{I}$ ($\lambda_{\text{max}} = 258$).

Exercice N° 11

Quelle molécule absorbe à la plus grande longueur d'onde, le 1,3-hexadiène ou le 1,4-hexadiène ?

**1,3 hexadiene****1,4 hexadiene**

Exercice N° 12

Une solution X absorbe 13 % de l'intensité d'une radiation monochromatique dans une cuve de 1 cm. Le coefficient d'extinction est de $61300 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$.

- Quelle est la concentration de la solution X en mole/l.

Exercice N° 13

Les concentrations de Fe^{3+} et de Cu^{2+} dans un mélange sont déterminées à la suite de leur réaction avec l'hexacyanoruthénate (II), $\text{Ru}(\text{CN})_6^{4-}$, qui forme un complexe bleu pourpre avec Fe^{3+} ($\lambda_{\text{max}}=550 \text{ nm}$) et un complexe vert pâle avec Cu^{2+} ($\lambda_{\text{max}}=396 \text{ nm}$). Les coefficients d'absorption molaires ($\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) pour les complexes métalliques aux deux longueurs d'onde sont résumés dans le tableau suivant.

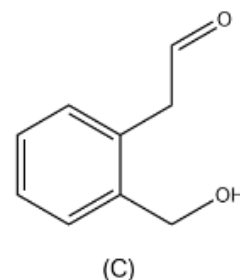
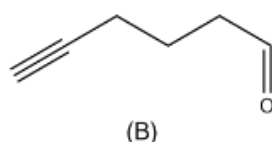
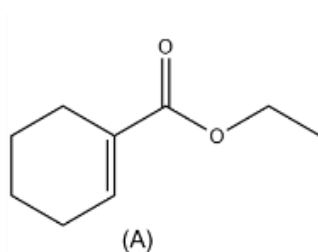
	ϵ_{550}	ϵ_{396}
Fe^{3+}	9970	84
Cu^{2+}	34	856

Lorsqu'un échantillon contenant Fe^{3+} et Cu^{2+} est analysé dans une cellule d'une longueur de trajet de 1,00 cm, l'absorbance à 550 nm est de 0,183 et l'absorbance à 396 nm est de 0,109.

- Quelles sont les concentrations molaires de Fe^{3+} et de Cu^{2+} dans l'échantillon?

Exercice N° 14

Quelles seraient les absorptions des composés suivants dans un spectre IR ?



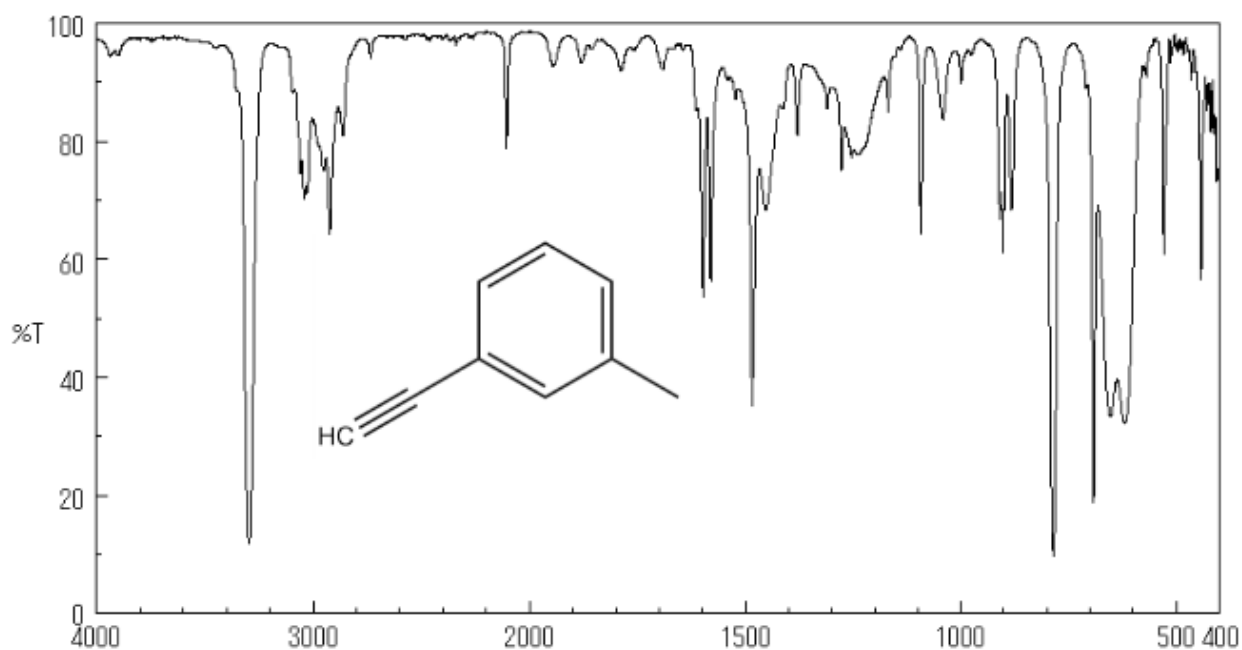
Exercice N° 15

Quels groupes fonctionnels donnent les signaux suivants dans un spectre IR ?

- A) 1700 cm^{-1}
- B) 1550 cm^{-1}
- C) 1700 cm^{-1} et $2510\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$

Exercice N° 16

Le spectre ci-dessous est obtenu pour la molécule correspondante.



- Quels sont les pics que vous pouvez identifier dans le spectre?

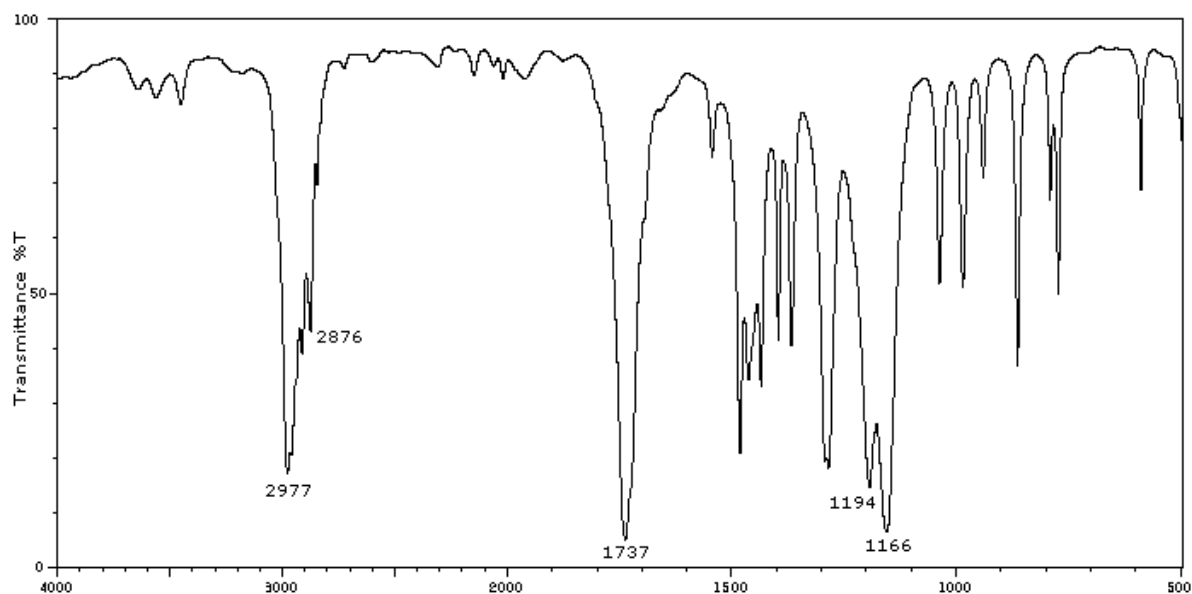
Exercice N° 17

Comment pouvez-vous distinguer les paires suivantes de composés par l'analyse IR?

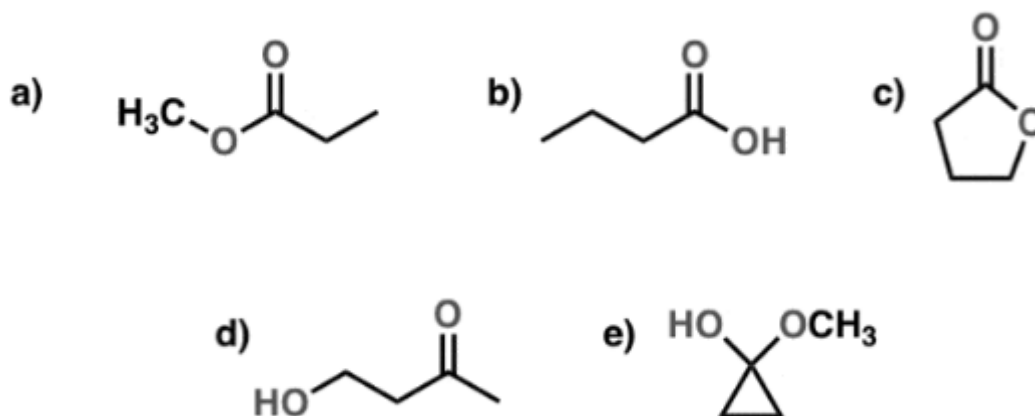
- A) méthanol et diéthyléther
- B) Cyclopentane et 1-pentene.
- C) Propanone et propanal

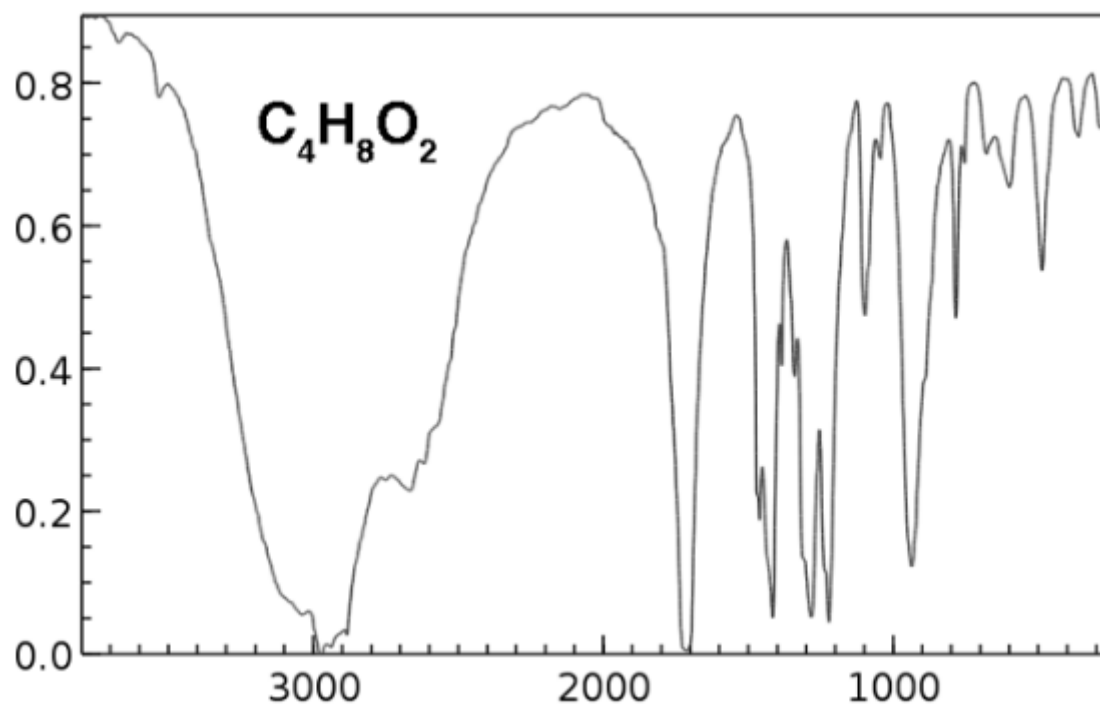
Exercice N° 18

Interpréter le spectre suivant en précisant pour chaque pic le type de vibration ainsi que le type de liaison. S'agit-il d'un ester, d'une cétone ou d'un alcool ?

**Exercice N° 19**

Une molécule inconnue de formule moléculaire $C_4H_8O_2$ donne le spectre IR suivant. Laquelle de ces molécules correspond le mieux à ce spectre IR ?





Références bibliographiques

- Francis Rouessac , Annick Rouessac , Daniel Cruché, « Analyse chimique : Méthodes et techniques instrumentales modernes », 6ème Edition Dunod, 2004.
- David Harvey, « Analytical Chemistry 2.1 », McGraw-Hill Companies, 2016.
- Elsa Lundanes, Léon Reubsaet, Tyge Greibrokk, « Chromatography : Basic Principles, Sample Preparations and Related Methods », Wiley-VCH, 2014.
- Colin F. Poole, « The essence of chromatography », ELSEVIER, 2003.
- Harold M. McNair, James M. Miller, “ Basic Gas Chromatography”, John Wiley and sons, Inc, 1998.
- Gwenola Burgot, Jean-Louis Burgot, « Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications : méthodes chromatographiques, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques », 3ème Edition, Tech & Doc, 2011.
- Hesse M, Meier H, Zeeh B, « Méthodes Spectroscopiques Pour La Chimie Organique », Masson, 1997.
- Primer A, « Fundamental Of Modern Uv-Visible Spectroscopy », Hewlett-Packard® Company, 1996.
- BELAID Sabrina eps BENMERAD, « Polycopié de Cours : Méthodes Spectroscopiques d'Analyse Physico-Chimiques », Université de Bejaia.
- James M. Thompson, « Infrared Spectroscopy », Taylor and Francis, 2018
- LEROY G. WADE, Jan William Simek, “Organic Chemistry”, 9 ème Edition pearson, 2016.
- MAGHCHICHE Abdelhak, « Spectroscopie de Vibration dans l’Infrarouge », Université de Batna 2.
- Dominique Gennet, Christian Ley, « Introduction à la spectroscopie Infrarouge (I.R.) », 07.01.2004.« <https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-analytique/spectroscopies/introduction-a-la-spectroscopie-infrarouge-ir> »
- William Reusch, «Infrared Spectroscopy » 05.05.2013.
« <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/InfraRed/infrared.htm#ir1> »
- Thierry COLLET, « La spectroscopie infrarouge », Photoniques N 82, 2016.
- Yannis FRANCOIS, « TD Chromatographie en phase gazeuse - L3 Chimie Physique », Université de Strasbourg.
- Structure Determination: Mass Spectrometry and Infrared Spectroscopy (Exercises). (04/07/2020). <https://chem.libretexts.org/@go/page/61717>