

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

Université Akli Mohand Oulhadj - Bouira -
Institut de Technologie



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة أكلي محمد أولحاج
- البويرة -
معهد التكنولوجيا

Département: Technologie chimie industrielle

Polycopié de cours

ANALYSES CHIMIQUES

Partie I

Cours et exercices corrigés

Réalisé par

Dr. HAMIDOUCHE sabiha, Epouse BERKANE

(Maitre de conférences classe B)

2023-2024

Liste des Figures

N°	Titre	page
I.1	Schéma d'un spectrophotomètre à double faisceau.	4
I.2	Zone d'absorption de certains solvants	5
I.3	Cellules	6
I.4	Un rayonnement traversant une solution à analyser	7
I.5	Additivité des absorbances	7
II.1	Modèle de l'oscillateur harmonique	11
II.2	Différents types de vibrations	14
II.3	Echantillonnage liquide.	15
II.4	Spectromètre à transformée de Fourier.	16
II.5	Allure d'un spectre IR	17
III.1	Schéma d'un spectromètre de masse type	22
III.2	Présentation du pic moléculaire et différents fragments.	25
IV.1	illustration des processus d'émission et d'absorption.	29
IV.2	Schéma éclaté du dispositif d'un spectromètre d'absorption atomique.	30
IV.3	Lampe à cathode creuse	31
V.1	Chromatogramme d'un constituant	35
VI.1	Schéma d'un chromatographe HPLC	43

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
II.1	Les bandes caractéristiques des liaisons dans IR	18

SOMMAIRE

Préface.....	1
--------------	---

CHAPITRE I : Spectroscopie UV-Visible

I.1.Introduction.....	2.
I.2. Le domaine spectral UV-VIS.....	2
I.3 Principe.....	3
I.4 Le Spectre UV-VIS.....	3
I.5 Appareillage.....	3
I.5.1 Source lumineuse.....	4
I.5.2 Monochromateur.....	4
I.5.3 Détecteur.....	5
I.5.4 Enregistreur.....	5
I.6 Les solvants.....	5
I.7 Cellules.....	5
I.8 Loi de Beer et Lambert.....	6
I.8.1 Condition d'utilisation de la loi de Beer et Lambert.....	7
I.8.2 Additivité de la loi de Beer-Lambert.....	7
I.9 Application de la spectroscopie UV-Visible.....	8
I.9.1 Analyse qualitative.....	8
I.9.2 - Analyse quantitative.....	8
I.10. Intérêts de la spectroscopie UV-Visible	8
I.11.Exercices d'application.....	8
I.12.Corrigés des exercices.....	9

Chapitre II : Spectroscopie Infrarouge IR

II.1 Introduction.....	11
II.2 Origine de l'absorption lumineuse dans l'infrarouge.....	11
II.3 Vibrations moléculaires.....	11
II.3.1 - Molécule diatomique.....	11
II.4. Principe de l'analyse IR.....	12
II.5. Types de vibration.....	13

II.5.1. Vibration d'élongation	13
II.5.2. Vibration de déformation	13
II. 6. Appareillage.....	14
II.6.1. La source.....	15
II.6.2. Le système de séparation des rayonnements (monochromateur).....	15
II.6.3.Le détecteur.....	16
II.7.Préparation de l'échantillon.....	16
II.7.1 Echantillon liquide.....	16
II.7.2 .Echantillon solide.....	17
II.7.3.Echantillon gaz.....	17
II.8. Allure du spectre IR.....	17
II.9. Analyse spectrale.....	17
II.10. Bandes d'absorption.....	18
II.11. Application.....	19
II.12.Exercices d'application.....	19
II.13.Corrigés des exercices.....	20

CHAPITRE III : Spectroscopie de Masse

III.1 Introduction.....	21
III.2. Buts de la spectrométrie de masse.....	21
III.3.Principe de la Technique.....	21
III .4. Structure d'un spectromètre de masse.....	22
III.4.1.Système d'introduction de l'échantillon.....	23
III.4.2. La source d'ionisation.....	24
III.4.3. L'analyseur.....	23
III.5. Performances des spectromètres de masse.....	23
III.5.1. Limite en masse.....	23
III.5.2. Sensibilité.....	23
III.5.3. Pouvoir de résolution.....	23
III.6. Interprétation d'un spectre de masse.....	24
III.6.1. Identification du pic de l'ion moléculaire.....	24
III.6.2. Le pic de base.....	25
III.7. Utilité de la spectrométrie de masse.....	25

III.7.1 Identification.....	25
III.7.2.Analyse structurale.....	25
III.8.Avantages de la spectrométrie de masse.....	26
III.9. Inconvénients de la spectrométrie de masse.....	26
III.10.Exercices d'application.....	26
III.11.Corrigés des exercices.....	27

CHAPITRE IV: SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION ATOMIQUE

IV.1.Introduction.....	28
IV.2.Principe.....	28
IV.3.Appareillage.....	29
IV.3. 1. La source.....	30
IV.3.2. L'atomiseur.....	31
IV.3.3. Le sélecteur de longueur d'onde (monochromateur).....	32
IV.3.4. Le détecteur.....	32
IV.4. Interférences.....	32
IV.4.1 Interférences spectrales.....	32
IV.4.2 Superposition de l'émission et de l'absorption d'un même élément.....	32
IV.4.3 Interactions chimiques.....	33
IV.5. Avantages et limitations.....	33
IV.6. Applications.....	33
IV.7. Sensibilité et limite de détection en SAA.....	34
IV.8.Exercices d'application.....	34
IV.9.Corrigés des exercices.....	34

CHAPITRE V : GENERALITES SUR

LA CHROMATOGRAPHIE

V.1. Définitions	35
V.2.Classification	36
V.3. Grandeurs chromatographiques.....	36
V.3.1 Rapport de distribution K du soluté	36
V.3.2 Temps de rétention du soluté.....	36
V.3.3 Facteur de résolution	36
V.3.4. Facteur de séparation	37

V.3.5. Volume d'élution ou volume de rétention	38
V.3.6. Volume de la phase mobile dans la colonne.....	38
V.3.7. Volume de la phase stationnaire.....	38
V.3.8. Facteur de rétention	38
V.4. Théorie de base de la chromatographie	38
V.4.1 Théorie des plateaux	38
V.5.Exercices d'application.....	39
V.6.Corrigés des exercices.....	40

CHAPITRE VI

LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE

HPLC

VI.1.Introduction	42
VI.2.Principe.....	42
VI.3 .Polarité de phase.....	42
VI.4.Appareillage	43
VI.4.1. Réservoir de la phase mobile (solvant)	43
VI.4.2. Pompe	43
VI.4.3. Injecteur	43
VI.4.4.Vanne à boucle d'échantillonnage	44
VI.5. Colonnes	44
VI.6. Détecteurs	44
VI.7. Phases stationnaires	44
VI.7.1 Le gel de silice, matière de base des phases actuelles	44
VI.7.2. Les silices greffées	44
VI.8. Phases mobiles	45
VI.9.Exercices d'application	45
VI.10.Corrigés des exercices	46

CHAPITE VII

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE CPG

VII.1 Principe de la technique	47
VII.2.Appareillage de CPG	47
VII.2.1. Injecteurs	47

VII.2.2. Détecteur.....	47
VII.2.3. Colonnes	47
VII.3. Choix de la phase stationnaire	48
VII.3.1. Polysiloxanes	48
VII.3.2. Polyéthylèneglycols	48
VII.4. Gaz vecteur	49
VII.5. Exercices d'application	49
VII.6. Corrigé des exercices	50
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	52

Préface

Ce présent polycopié de cours que je présente, dans le cadre de mon habilitation est destiné essentiellement aux étudiants des tronc-communs L2 de l'institut de technologie.

Ce polycopié est le fruit d'enseignements que j'ai réalisé avec les étudiants des deux spécialités de L2, Génie des procédés et hydraulique de l'institut de Technologie à l'Université de Bouira, dans le module d'Analyse chimique.

Le programme proposé englobe les méthodes d'analyse les plus utilisées pour caractériser, quantifier et identifier les produits de synthèse organiques ou les produits formulés.

Les techniques d'analyses spectroscopies UV-Visible, Infra-Rouge, absorption atomique et spectroscopie de masse sont très appliquées comme techniques d'analyse. Les cours sont présentés de façon simplifiée, exposent les concepts des méthodes d'analyses spectroscopiques et chromatographiques en génie des procédés et surtout génie de la formulation.

Le but de ce polycopié est d'être un support pour mieux comprendre l'intérêt et l'application des méthodes d'analyses.

Le manuscrit est composé de sept chapitres :

Chapitre I : Spectrométrie UV-Visible. (UV-VIS).

Chapitre II : Spectrométrie Infra rouge. (IR).

Chapitre III : Spectroscopie de masse. (SM).

Chapitre IV : Spectroscopie d'absorption atomique. (SAA).

Chapitre V : Généralités sur la chromatographie.

Chapitre VI : Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Chapitre VII : Chromatographie en phase gazeuse (CPG).

CHAPITRE I

Spectroscopie UV-Visible

I.1.Introduction

Absorption des rayonnements lumineux par la matière dans le domaine spectrale s'étendant entre 200 et 800 nm, a été abondamment étudiée d'un point de vue fondamental. Cette région spectrale est désignée par l'« UV/Visible », parce qu'elle englobe les radiations perceptibles par l'oeil humain. D'une façon générale elle apporte peu d'informations structurales, mais elle a beaucoup d'applications en analyse quantitative.

La spectroscopie est une méthode d'analyse qui utilise les propriétés d'absorption des substances inconnues, que ce soit sous formes liquide, solide ou gazeuse pour caractériser, quantifier ou identifier et connaître la composition chimique. Nombreux application dans les domaines de la physique et de la chimie. Cette technique est basée sur la répartition de la lumière, permettant d'observer et de quantifier les longueurs d'onde qui la constituent. Pour une source utilisée peut être devisé par un spectromètre en des radiations monochromatiques correspondant chacune à une vibration de fréquence ν donnée.

L'origine de l'absorption des rayonnements lumineux est l'interaction des photons de la source lumineuse avec la molécule à analyser. Ainsi lorsqu'une molécule seule absorbe un photon de la lumière visible, l'énergie correspondante est captée par un ou plusieurs de ses électrons superficiels. Il y a alors modification de son énergie électronique.

I.2. Le domaine spectral UV-VIS

Le domaine des radiations UV-visibles est divisé en trois catégories :

- *proche UV* (185-400 nm),
- *visible* (400-800 nm)
- *très proche infrarouge* (800-1 100 nm).

La majorité des spectromètres vont de 200 à 800 nm. La limite inférieure des spectromètres dépend de la nature des matériaux optiques utilisés et de la présence ou non sur le trajet optique de l'air ambiant.

I.3 Principe

L'absorption de photons se traduit par des transitions électroniques dans les orbitales moléculaires (les électrons des liaisons σ et π ainsi que les non liants n) de l'état fondamental d'un électron et les niveaux non occupés des états excités (σ^* et π^*).

Une transition électronique est caractérisée par une longueur d'onde λ_{\max} et par son coefficient d'absorption molaire: ϵ_{\max} à cette longueur d'onde. Dans une molécule, les transitions électroniques UV-visibles mettent en jeu les énergies les plus importantes.

I.4. Le spectre UV-VIS

Les appareils utilisés en analyse spectroscopique uv-visible permettent d'obtenir le tracé des échantillons examinés sous la forme d'un spectre de la transmittance, ou de l'absorbance en fonction des longueurs d'ondes repérées en abscisses, ici en nanomètres.

I.5 Appareillage

Un spectrophotomètre est conçu autour de trois modules : ceux de la *source* et du *système dispersif* (souvent conçu comme un monochromateur), qui constituent la partie optique et celui qui est responsable **de la détection**.

L'ensemble est réuni dans un bâti unique. Un compartiment échantillon est inséré sur le trajet optique après ou avant le système dispersif selon la conception du montage.

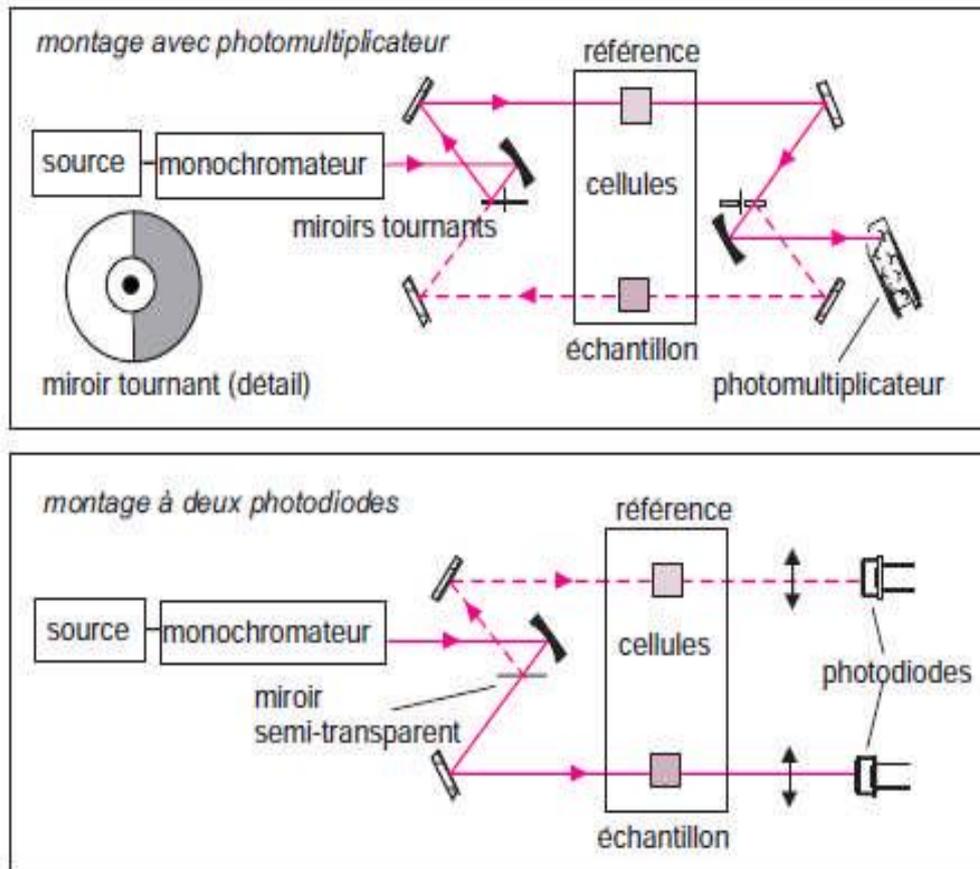


Figure I.1 : Schéma d'un spectrophotomètre à double faisceau.

I.5.1. Source

Son rôle est de fournir les rayonnements lumineux. Dans la région de l'UV, il existe deux types de source :

- une lampe à décharge au deutérium.
- Une lampe à hydrogène.

Et pour la région allant du visible, il existe une source d'une lampe à filament de tungstène.

I.5.2 Monochromateur: est l'élément qui fait disperser le rayonnement polychromatique, provenant de la source et d'obtenir des rayonnements monochromatiques.

I.5.3 Détecteur: est un tube photomultiplicateur, a pour rôle de convertir le rayonnement reçue en un signal électrique.

I.5.4 Enregistreur: ordinateur, permet de tracer un spectre d'absorption de l'échantillon analysé.

I.6 Les solvants

Le choix du solvant utilisé pour la préparation des échantillons à analyser est important dans cette technique. Il doit être:

- Inerte vis à vis du soluté.
- absorbe pas dans la région spectrale à la longueur d'onde utilisée.

La figure suivante donne la zone d'absorption de certains solvants.

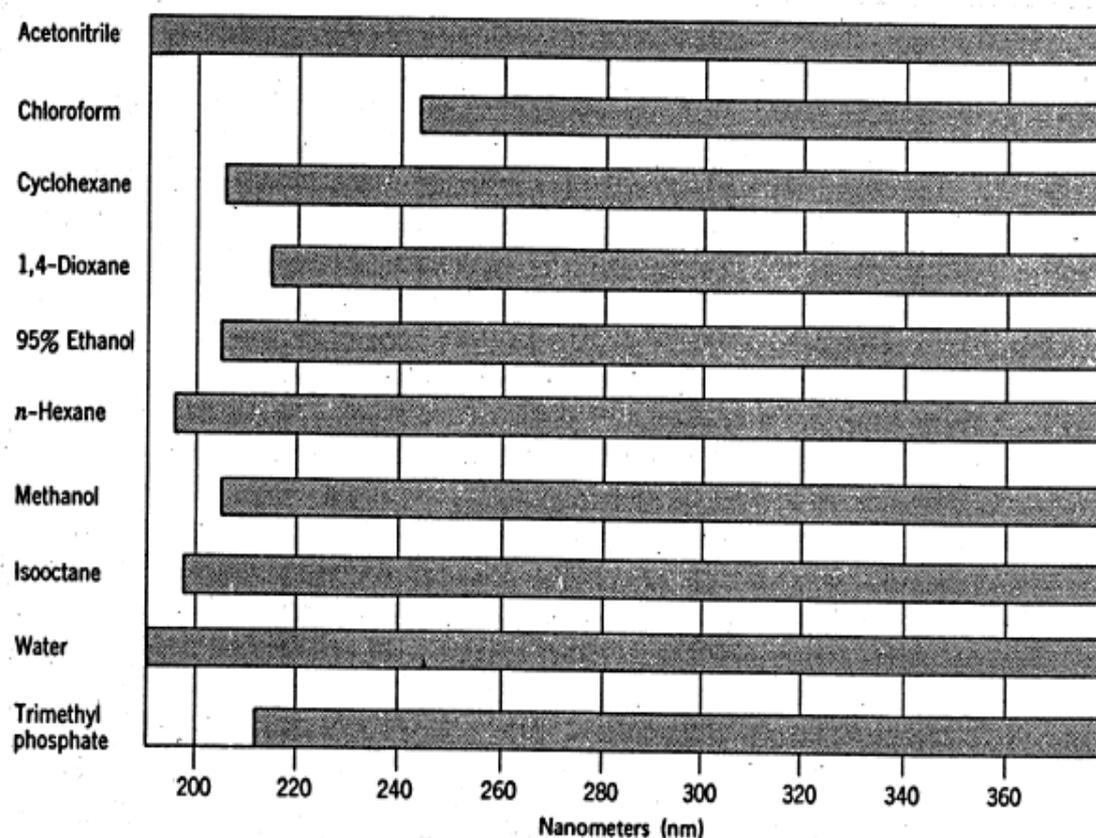


Figure I.2 : Zone d'absorption de certains solvants.

I.7 Cellules

Les échantillons à analyser doivent être placés dans une cellule ou cuve. Les cuves ont différentes épaisseurs et sont :

- En quartz pour le domaine UV-visible.
- En Le verre est réservé aux mesures dans le domaine visible uniquement.

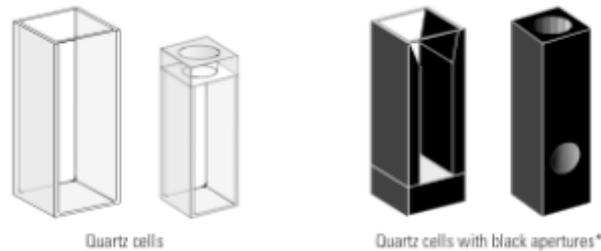


Figure I.3 Cellules.

I.8 Loi de Beer et Lambert

L'analyse UV/Visible est exploitée en analyse quantitative. Les mesures des absorbances et même les quantités des molécules de l'échantillon analysé reposent sur la loi de Beer et Lambert qui relie l'absorbance (A), la concentration d'un composé en solution. L'origine de cette loi est les travaux du mathématicien français Lambert qui avait, défini les bases de la photométrie.

Par la suite Beer, physicien allemand du XIXe siècle, a posé une loi qui permet de calculer la quantité de lumière transmise à travers une épaisseur donnée d'un composé en solution dans une matrice non absorbante, la relation suivante dite loi de Beer-Lambert, est

$$A = \epsilon l c \quad \text{avec } A = -\log T, \quad T = I/I_0$$

I_0 : présente l'intensité de rayonnement incident ;

I : présente l'intensité transmise ;

l : est le trajet optique (largeur de la cuve en cm) ;

T : est la transmission (% T est la transmittance) ;

C : est la concentration molaire de l'échantillon en solution (mol/l)

ϵ : est le coefficient d'absorption molaire ; Il dépend de la température et de la longueur d'onde. L'unité de ϵ est en $l.mol^{-1}.cm^{-1}$.

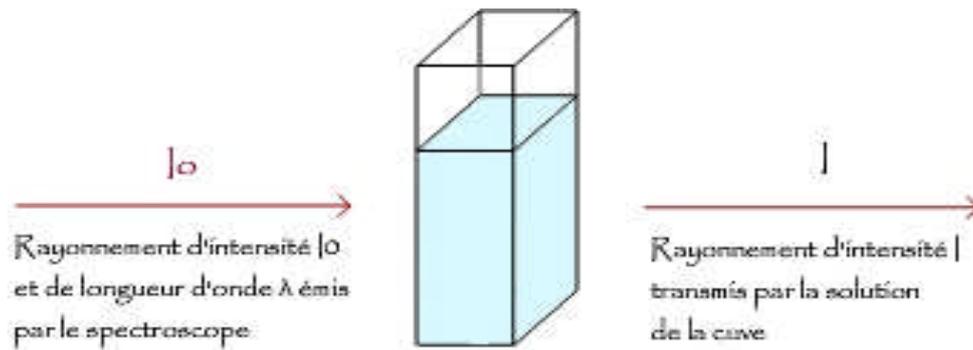


Figure I.4 : Un rayonnement traversant une solution à analyser.

I.8.1 Conditions d'utilisation de la loi de Beer et Lambert:

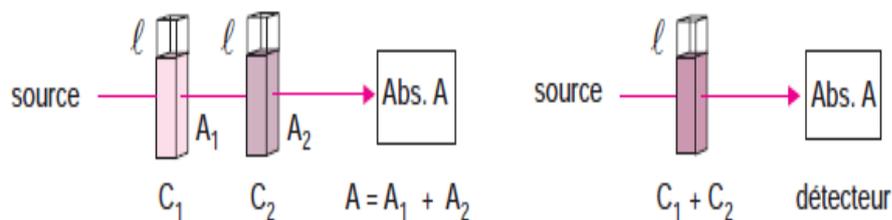
Cette loi est vérifiée dans les conditions suivantes :

- la lumière utilisée doit être monochromatique ;
- les concentrations des solutions doivent être faibles ;
- la solution doit être homogène et non fluorescente ;
- le soluté ne doit pas donner lieu à des transformations photochimiques ;
- le solvant utilisé pour la préparation des échantillons à analyser doit être inerte.

I.8.2 Additivité de la loi de Beer-Lambert

La loi de Beer et Lambert est additive, pour l'absorbance A , dans une cuve d'épaisseur l , d'un mélange de deux échantillons 1 et 2, on obtiendra la même absorbance totale si la lumière passe successivement à travers deux cuves d'épaisseur l , placées l'une après l'autre, une contenant un échantillon 1 (Abs. A_1) et l'autre échantillon 2 (Abs. A_2).

$$A = A_1 + A_2 = l(\epsilon_1 c_1 + \epsilon_2 c_2)$$



$$A_I = \epsilon_A l c_A + \epsilon_B l c_B = \epsilon l (c_A + c_B)$$

Figure I.5 : Additivité des absorbances.

I.9 Application de l'analyse spectroscopique UV/Visible

I.9.1 Analyse qualitative

- Spectroscopie UV et Visible est très utile dans le contrôle de pureté d'une substance.
- Si le composé est transparent, et si l'impureté à rechercher absorbe, l'extinction molaire décroît en fonction de l'augmentation de la pureté. Le composé pur doit être transparent.
- Détermination du coefficient d'absorption molaire, si le composé n'est pas transparent, et si l'impureté à rechercher n'absorbe pas ou peu, il est maximum pour le composé pur.

I.9.2 Analyse quantitative

L'analyse quantitative par la spectrométrie UV-visible est très utile grâce à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert. Comme applications, on peut citer :

- Le dosage d'impureté dont l'identité est connue;
- Le dosage d'un principe actif d'un médicament ;
- Le dosage des métaux de transition par complexométrie.

I.10. Les avantages de la spectroscopie UV-Visible :

- Large domaine d'applications (Chimie analytique, minérale, organique, biochimie), 90% des analyses médicales.
- Analyses quantitatives du à l'application de la loi de Beer-Lambert;
- Sa grande sensibilité : limite de détection $\approx 10^{-5}$ M;
- forte précision : 1 - 5% erreur.

I.11. Exercices d'application

Exercice 01

1)- Calculez le ϵ_{\max} d'un composé dont l'absorption maximale (A) est de 1,2. La longueur de la cellule l est 1 cm, la concentration est 1,9 mg par 25 ml de solution et la masse moléculaire du composé est de 100 g/mol.

2)- Calculer le coefficient d'absorption molaire d'une solution de concentration 10^{-4} M, placée dans une cuve de 2 cm, avec $I_0 = 85,4$ et $I = 20,3$.

Exercice 02

Les concentrations de Fe^{3+} et Cu^{2+} dans un mélange peuvent être déterminées en suivant leur réaction avec l'hexacyanoruthénate (II), $\text{Ru}(\text{CN})_6^{4-}$, qui forme un bleu violet complexe avec Fe^{3+} ($\lambda_{\text{max}} = 550 \text{ nm}$), et un complexe vert pâle avec Cu^{2+} ($\lambda_{\text{max}} = 396 \text{ nm}$). Les absorptivités molaires ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$) du métal aux deux longueurs d'onde sont résumées dans le tableau suivant.

	ϵ_{550} $\text{mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$	ϵ_{396} $\text{mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$
Fe^{3+}	9970	84
Cu^{2+}	34	856

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

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

I.12. Corrigés des exercices

Exercice 01

1)- On applique la loi de Beer Lambert, $\epsilon = 1578,94 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$.

2)- $\epsilon = 3119,8 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Exercice 02

Nous avons l'équation de l'absorbance du mélange :

$$A_{550} = 0.183 = 9970C_{\text{Fe}} + 34 C_{\text{Cu}} \dots \dots \dots (1)$$

$$A_{396} = 0.109 = 84C_{\text{Fe}} + 856C_{\text{Cu}} \dots \dots \dots (2)$$

De (1) on a

$$C_{\text{Cu}} = \frac{0.183 - 9970C_{\text{Fe}}}{34} \dots \dots \dots (3)$$

On remplace (3) dans (2).

$$0.109 = 84C_{\text{Fe}} + 856 \left(\frac{0.183 - 9970C_{\text{Fe}}}{34} \right) = 4.607 - (2.51 \times 10^5)C_{\text{Fe}}$$

On obtient :

La Concentration de Fe^{3+} est $1.80 \times 10^{-5} \text{M}$ et Celle de Cu^{2+} est $1.26 \times 10^{-4} \text{M}$

Chapitre II

Spectroscopie Infrarouge IR

II.1 Introduction

Le rayonnement infrarouge (IR) fut découvert en 1800 par « Frédéric wilhelm herschel ». Ces radiations localisées au-delà des longueurs d'ondes dans le rouge.

Analyse infrarouge met à profit la région des radiations électromagnétiques comprise entre 1 et 50 μm pour identifier ou doser des composés basée sur l'absorption de la lumière par l'échantillon.

Elle est divisée en trois catégories :

- Le proche infrarouge (0,8 - 2,5 μm);
- Le moyen infrarouge (2,5 - 25 μm);
- Le lointain infrarouge (25 - 100 μm).

II.2 Origine de l'absorption dans l'infrarouge

Cette absorption infrarouge a pour origine l'interaction entre les radiations de la source lumineuse et les liaisons chimiques de la molécule. Plus précisément, on sait que les atomes situés aux deux extrémités d'une liaison chimique sont animés d'un mouvement de vibration l'un par rapport à l'autre, ils forment un dipôle électrique oscillant à cette même fréquence. Si on irradie une telle liaison non symétrique entre les atomes par un rayonnement monochromatique dont la fréquence est la même que la fréquence de vibration.

II.3 – Vibrations moléculaires

II.3.1 - Molécule diatomique

On peut comparer la vibration de deux atomes liés par une liaison chimique à celle de deux boules de masses m_A et m_B reliées par un ressort de raideur k .



Figure II.1 : Modèle de l'oscillateur harmonique

Lorsque le mouvement de vibration est assimilé à celui d'un ressort parfaitement élastique, la force F de rappel est proportionnelle à l'écart de son élongation c'est la définition même de l'oscillateur harmonique.

Par analogie d'un oscillateur harmonique, la fréquence ν est donnée par la formule suivante (loi de Hooke) :

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \mu = \frac{m_A m_B}{m_A + m_B}$$

ν : présente la fréquence en s^{-1} .

μ : présente la masse réduite des deux atomes A et B en (kg)

k : présente la constante de force de la liaison en ($N \cdot m^{-1}$)

m_A et m_B : les masses des atomes A et B respectivement

Cette fréquence calculée dépend de k et de μ .

Effet de k : La fréquence de vibration est proportionnelle à la constante de force k , est liée au nombre des liaisons établies entre les deux atomes, mais aussi de la longueur de liaison chimique.

Effet de μ : La fréquence de vibration est inversement proportionnelle à la masse réduite μ .

- Si l'un des deux atomes en vibration est de masse petite, la masse réduite est faible.
- Dans le cas de liaison avec un atome d'hydrogène, la masse réduite est proche de 1.
- Si les atomes attachés à la liaison sont gros, la fréquence de vibration est petite. Par exemple une liaison simple C-H devrait avoir une fréquence plus élevée qu'une liaison C- C.

II.4. Principe de l'analyse IR

Quelque soit leur état physique, les atomes d'une molécule ne sont pas immobiles : ils

subissent des vibrations d'élongation ou de déformation à une fréquence bien déterminée qui dépend des atomes mais aussi de l'environnement de la liaison pour une fréquence donnée de lumière IR absorbée, ces liaisons rentrent en résonance : l'énergie apportée est alors consommée : les molécules absorbent et la transmittance T (proportion d'énergie transmise par un échantillon) diminue. Un spectre IR renseigne donc sur la nature des liaisons dans une molécule, sur ses groupes caractéristiques. Une transmittance de 100% signifie que l'échantillon n'absorbe rien, d'où des bandes vers le bas en cas d'absorption.

II.5. Types de vibration

L'absorption d'une radiation IR aura pour effet de faire vibrer la molécule en modifiant les angles et les longueurs des liaisons. Deux atomes reliés par une liaison covalente peuvent effectuer une vibration d'élongation/contraction. Quand il y a plus de deux atomes dans la molécule, les atomes peuvent vibrer ensemble selon une variété d'élongation et de déformations. On peut citer deux types de vibrations : vibrations d'élongation (ou allongement) et vibration de déformation.

II.5.1. Vibration d'élongation

On a deux possibilités de vibration d'élongation : symétrique et asymétrique. Ce type de vibration on l'appelle aussi vibrations de valence et elle se produit à des longueurs d'onde faibles.

II.5.2. Vibration de déformation

Origine de cette vibration est due à des modifications de l'angle de liaison. Plusieurs types de vibration sont possibles : dans le plan et hors du plan (figure II.2). Ce type de vibration est observé vers les faibles nombres d'onde.

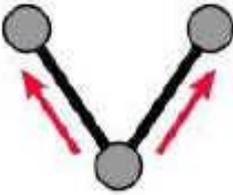
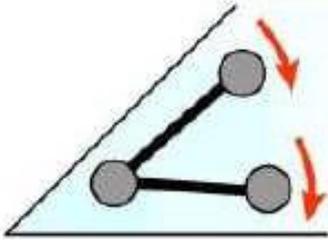
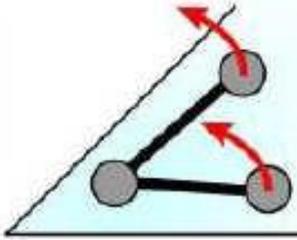
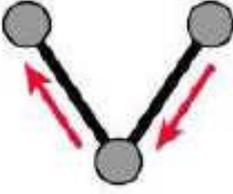
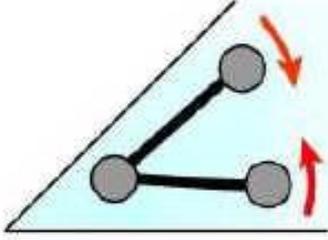
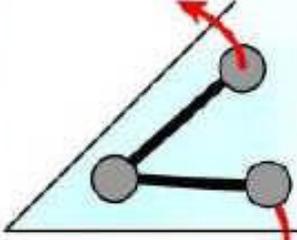
vibrations d'allongement (stretching)	vibrations de déformation (bending)	
	dans le plan	hors du plan
 <p><i>symétrique</i></p>	 <p><i>bascule (rocking)</i></p>	 <p><i>balancement (wagging)</i></p>
 <p><i>asymétrique</i></p>	 <p><i>cisaillement (scissoring)</i></p>	 <p><i>torsion (twisting)</i></p>

Figure II.2: Différents types de vibrations.

II. 6. Appareillage

Les spectromètres infrarouges sont composés d'éléments principaux avec quelques modifications sur les matériaux utilisés ou de leur montage selon la région spectrale infrarouge exploitée.

Les composants principaux d'un spectromètre IR sont :

- une source de rayonnement infrarouge;
- un système dispersif (monochromateur);
- un détecteur du signal et un enregistreur.

Deux techniques principales sont utilisées pour l'obtention des spectres IR :

- La première, et la plus ancienne, est dite à balayage.
- La seconde est dite à transformée de Fourier (Fourier's Transform ou FT).

On représente les schémas d'un spectromètre à balayage et d'un spectromètre FT-I dans la figure suivante.

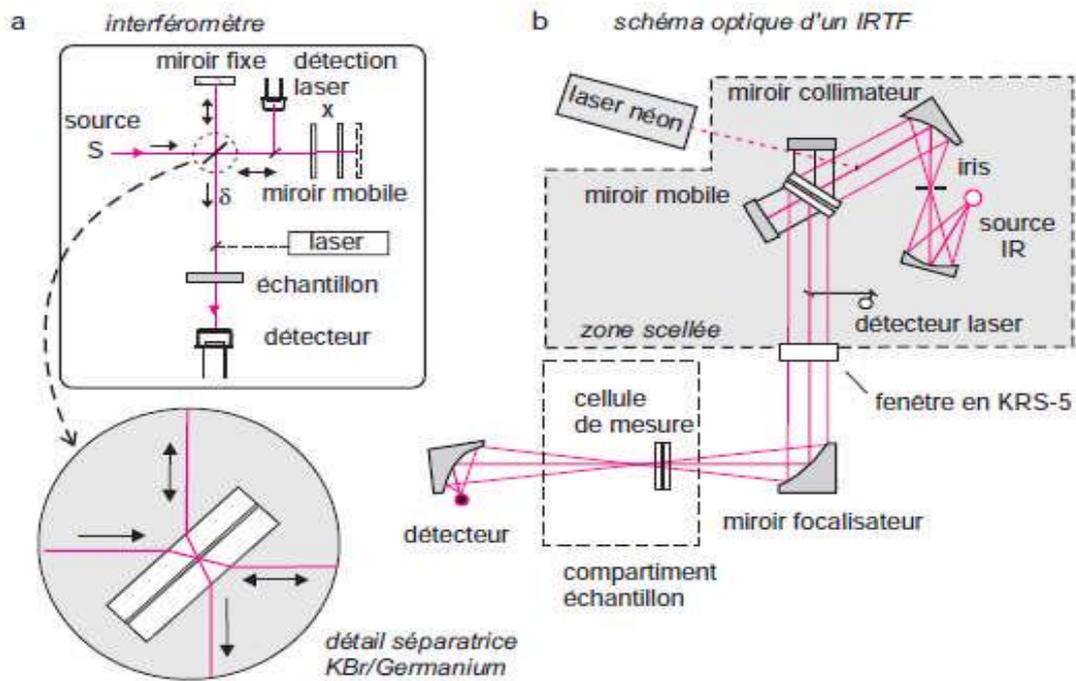


Figure II.3 : Spectromètre à transformée de Fourier.

Il comporte cinq éléments:

- Une source lumineuse ;
- Un dispositif qui génère les interférences ;
- Un compartiment échantillon ;
- Un détecteur ou capteur photosensible ;
- Un convertisseur analogique numérique qui interroge le détecteur à des intervalles réguliers et transforme le signal numérique manipulable par le système informatique.

II.6.1. La source lumineuse

On travaille dans la zone de l'infrarouge moyen (4000 et 400 cm^{-1}). Le type de source utilisée, est une source **Globar** à base de carbure de silicium.

II.6.2. Le monochromateur

L'échantillon est éclairé avec un rayonnement IR polychromatique.

- Pour les spectromètres à balayage, on utilise comme système dispersif les prismes ou les réseaux de diffraction.

- Pour les spectromètres à transformée de Fourier, on utilise un interféromètre (interféromètre de Michelson). L'interféromètre contient trois principaux composants : une séparatrice, deux miroirs, un fixe et l'autre mobile.

II.6.3. Le détecteur

Il assure la conversion de la radiation lumineuse en un signal électrique. Le détecteur utilisé est de type thermique. Il détecte les variations de température et les transforme en variation d'intensité.

II.7. Echantillonnage

Il est possible d'établir des spectres IR de composés solides, liquides ou gazeux. Suivant l'état physique de l'échantillon.

II.7.1 Echantillon liquide

- Les échantillons liquides peuvent être placés entre deux plaques de chlorure de sodium, ou le bromure de potassium. On écrase modérément et place une goutte de l'échantillon pour en faire un film.
- Les plaques soient transparentes aux rayonnements infrarouges.
- Les solvants utilisés pour la préparation des solutions doivent très peu absorber dans l'infrarouge. On utilise en général : CCl_4 , CH_2Cl_2 , CHCl_3 .

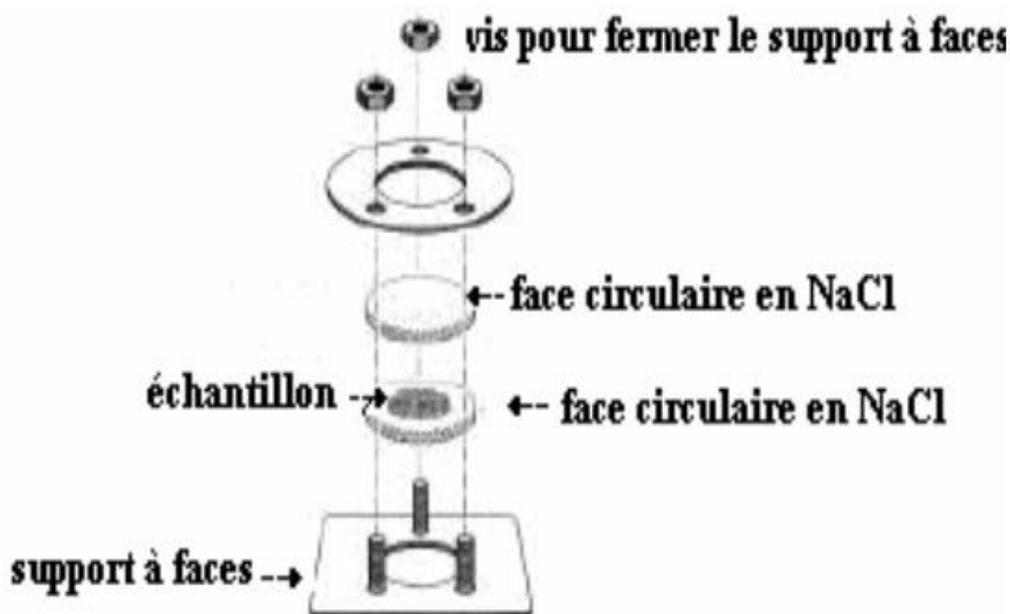


Figure II.4: Echantillonnage liquide.

II.7.2 .Echantillon solide

Les échantillons solides à analyser sont obtenus en mélangeant et en broyant très finement une petite quantité d'échantillon avec du KBr (bromure de potassium) pur spécialement séché, dans un petit mortier en agate.

Ce mélange est comprimé dans un moule sous une pression de 5 à 8t/cm² avec une presse manuelle. La pastille obtenue est placée dans le faisceau infrarouge.

II.7.3.Echantillon gaz

Les composés gazeux sont placés dans des cellules à gaz de grands volumes.

II.8. Allure du spectre IR

Spectre infrarouge est un document de base obtenu avec le spectromètre, qui porte en ordonnées du graphe des intensités transmises, et les longueurs d'onde en abscisse.

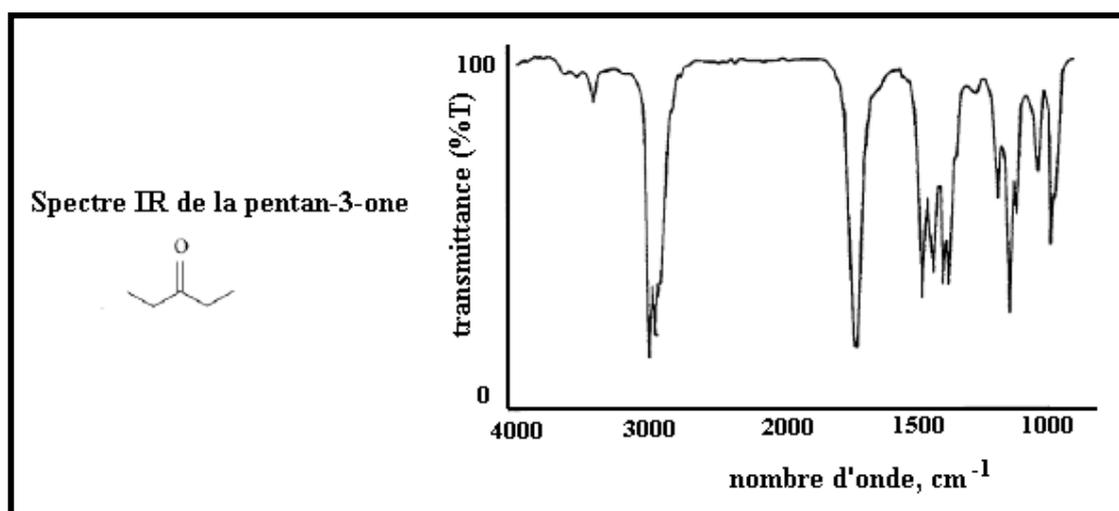


Figure II.5 : Allure d'un spectre IR

II.9. Analyse spectrale

Pour analyser un spectre IR, on utilise des tables donnant les nombres d'ondes des vibrations de valence ou de déformation des principales fonctions chimiques.

L'analyse d'un spectre IR consiste à :

1. Examiner le spectre en commençant par les plus grands nombres d'onde.
2. Identifier les bandes les plus caractéristiques à l'aide des tables.
3. Déterminer l'absence de bandes dans les régions caractéristiques.

II.10. Bandes d'absorption

Plusieurs nombres d'onde de certaines fonctions sont regroupés dans le tableau suivant:

Tableau II.1 : Les bandes caractéristiques des liaisons dans IR.

Fonction	Liaison	Nombre d'onde (cm ⁻¹)
Alcane	C-H (C tétraédrique)	2850–3000
Alcène	C-H (C trigonal)	3010–3100
	C=C	1620–1680
Alcool	O-H libre	3500–3700
	O-H lié	3200–3600
Aldéhyde	C=O	1650–1730
	C-H (C trigonal)	2750–2900
Cétone	C=O	1650–1730
Acide carboxylique	C=O	1680–1725
	O-H	2500–3300
	C-O	1210–1320
Ester	C=O	1700–1740
	C-O	1000–1300
Amine	N-H	3100–3500
	N-H	1560–1640
Amide	N-H	3100–3500
	N-H	1560–1640
	C=O	1650–1700

II.11. Application de la spectroscopie IR

L'étude d'un spectre IR permet :

- ✓ D'identifier un composé inconnu ou, ses groupes fonctionnels ;
- ✓ Contrôler la pureté d'un produit connu, par l'absence de bande signalant la présence des impuretés ;
- ✓ De suivre un processus réactionnel en étudiant l'apparition ou la disparition des bandes caractéristiques de certaines fonctions organiques.

II.12.Exercices d'application

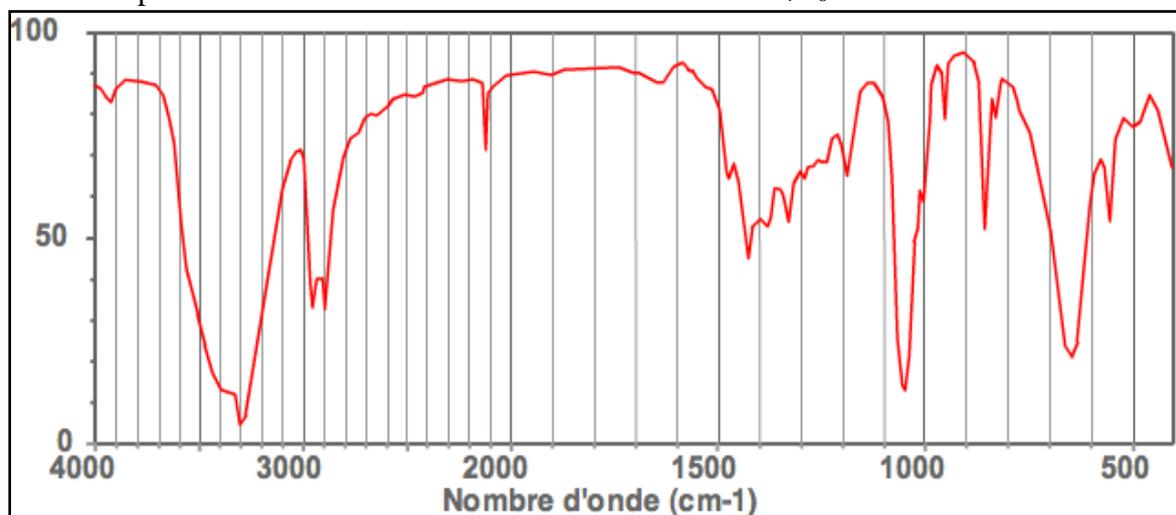
Exercice 01

Une extraction des composés hydrocarbonés par le tétrachlorure de carbone en milieu acide, une analyse spectrophotométrique a été réalisée aux quatre longueurs d'onde dans l'IR: 3 290 nm, 3 380 nm, 3 420 nm et 3 510 nm.

1. Déterminer, en cm^{-1} , les nombres d'onde correspondant à ces longueurs d'onde.
2. À quelles vibrations correspondent ces nombres d'onde ?
3. Pourquoi utilise-t-on le tétrachlorure de carbone comme solvant ?

Exercice 02

On dispose de deux molécules de même formule brute $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$.



Pour identifier une de ces deux molécules, on a utilisé une technique d'analyse qui a donné la représentation ci après. En utilisant les données du tableau ci-dessous,

1. Analyser la représentation précédente.

1. Associer cette représentation à la molécule correspondante en justifiant.

Liaison	C-C	C=O	O-H (acide carboxylique)	C-H	O-H (alcool)
Nombre d'onde (cm ⁻¹)	1000 - 1250	1700 - 1800	2500 - 3200	2800 - 3000	3200 - 3700

II.13. Corrigés des exercices

Exercice 01

1- $\lambda_1=3\ 040$, $\lambda_2=2\ 959$, $\lambda_3=2\ 924$, $\lambda_4=2\ 849\ \text{cm}^{-1}$;

2- λ_1 s'agit de vibrations d'élongation des liaisons C-H aromatiques, les longueurs λ_2 , λ_3 et λ_4 correspondent aux vibrations d'élongation des liaisons alcaniques.

3- la molécule CCl₄ ne contient pas de liaisons C-H.

Exercice 02

1. Présence des pics dans les zones suivantes :

[1000-1200] qui caractérise les liaisons C-C ;

[2800-3000] qui caractérise les liaisons C-H ;

[3200-3700] qui caractérise les liaisons O-H.

Et absence des pics dans la zone [1700-1800] qui caractérise la liaison C=O.

2. La présentation IR est associée à la molécule $\text{H-C}\equiv\text{C-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$

CHAPITRE III

Spectroscopie de Masse

III.1 Introduction

La spectrométrie de masse (SM) désigne une méthode de caractérisation de la matière, qui repose sur la détermination des masses atomiques ou moléculaires des espèces individuelles présentes dans l'échantillon.

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui permet de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt (composés organiques) par mesure de leur masse mono-isotopique. Soit pour des molécules connues en comparant leurs spectres avec d'autres spectres de référence. Soit de molécules complètement inconnues.

III.2. Objectifs de la spectrométrie de masse

L'objectif de la spectroscopie de masse est de mesurer le rapport m/z de la molécule et des ions résultants de sa fragmentation, d'où:

- Proposition de structure ;
- Identification des espèces inconnues ;
- Dosage des molécules connues.

III.3.Principe de la Technique

- Une technique basée sur l'ionisation et la fragmentation des molécules, qui entraîne en effet une accumulation d'énergie qui, en se dissipant, peut provoquer la rupture des liaisons interatomique.
- Une méthode d'analyse qui repose sur la détermination des masses atomiques ou moléculaires des atomes présents dans l'échantillon. Le principe de la technique est la séparation en phase gazeuse de molécules en fonction de leur rapport masse /charge. Son concept est assez simple, consiste à bombarder le composé par un faisceau d'électrons, Le nombre d'ions de chaque unité m/z est enregistré sous forme de pic.
- Un spectre de masse obtenu représente l'intensité des pics en fonction de m/z .

L'analyse s'effectue en 4 étapes :

- 1) Vaporisation de l'échantillon ;
- 2) Production d'ion ;

- 3) Séparation de ces ions par des pics selon leur masse (m/Z_e) ;
 - 4) Enregistrement de l'abondance relative des ces ions.
- L'enregistrement des ces abondances relatives constitue le spectre de masse.

III .4. Structure d'un spectromètre de masse

Il existe plusieurs nombreux modèles de spectromètres de masse, et l'instrumentation est toujours en développement. En général, chaque spectromètre est composé d'une section d'ionisation et d'autre de séparation.

Les éléments de base d'un spectromètre de masse est:

1. Un système d'introduction ;
2. Une source d'ions ou chambre d'ionisation ;
3. Un analyseur qui sépare les ions en fonction de leur masse et de leur charge ;
4. Un détecteur qui détecte les ions sortant de l'analyseur.



Figure III.1 : Schéma d'un spectromètre de masse.

III.4.1. Système d'introduction de l'échantillon

L'échantillon est injecté directement dans la source, sous forme liquide (infusion directe, dépôt sur plaque MALDI) ou encore par l'association à une méthode séparative.

III.4.2. La source d'ionisation

A pour rôle de vaporiser les molécules et à les ioniser. Une source d'ionisation peut être utilisée :

- Soit en mode positif pour étudier les ions cationiques.
- Soit en mode négatif pour étudier les ions anioniques.

III.4.3. L'analyseur

L'analyseur est l'élément le plus important d'un spectromètre de masse. Il permet de séparer les ions en fonction de leur rapport masse / charge (m / z). Il existe des analyseurs à basse résolution : le quadripôle (Q), le piège à ions 3D (IT) ou linéaire (LIT), et des analyseurs à haute résolution, qui sert à la mesure de la masse exacte des analytes.

III.5. Performances des spectromètres de masse

III.5.1. Limite en masse

Le rapport m/z pour chaque ion est déterminé par spectroscopie de masse jusqu'à une valeur maximale. La valeur la plus élevée de masse qui lui correspond, en daltons (Da), dépend donc du numéro z portées par l'ion.

Par exemple si l'appareil peut mesurer les rapports masse /charge jusqu'à 2 000, il sera possible de détecter un ion de masse 80 000 Da porteur de $z= 40$.

III.5.2. Sensibilité

On mesure la sensibilité d'un spectromètre de masse en poids d'échantillon consommé par seconde pour avoir un bon signal d'intensité. Les spectres sont obtenus par balayages successifs.

III.5.3. Pouvoir de résolution

Dans un spectre obtenu en mode gaussien. on pourra observer des masses d'autant plus voisines que les pics correspondants seront plus étroits. Cette caractéristique importante des spectromètres est évaluée par le pouvoir de résolution R pour lequel plusieurs définitions coexistent.

Pour calculer R , on calcule le rapport m/z du pic par la largeur du pic D (m/z).

III.6. Interprétation d'un spectre de masse

Dans un spectre de masse on trouve:

- Sur l'axe des abscisses le rapport m/z des ions détectés s'exprime en dalton.
- Sur l'axe des ordonnées, l'absorbance relative de ces ions et celle du pic le plus intense est fixé arbitrairement à 100%.

L'analyse d'un spectre de masse peut se faire en deux étapes :

- Exploitation de propriétés de l'ion moléculaire (les masses moléculaire, la parité, les isotopes, la formule brute...).
- Exploitation des ions fragments qui dépendent de la nature et de la structure de la molécule étudiée.

III.6.1. Identification du pic de l'ion moléculaire

Le pic moléculaire ou appelé aussi pic parent dépend de la stabilité de l'ion moléculaire, les ions les plus stables sont ceux qui se trouvent dans les composés aromatiques.

Certains pics sont très faible ou même inexistant (ex ; alcools aliphatiques, les nitrites, les nitrates et les dérivés nitrés), dans ce cas on passe à l'ionisation chimique pour déterminer leur masses.

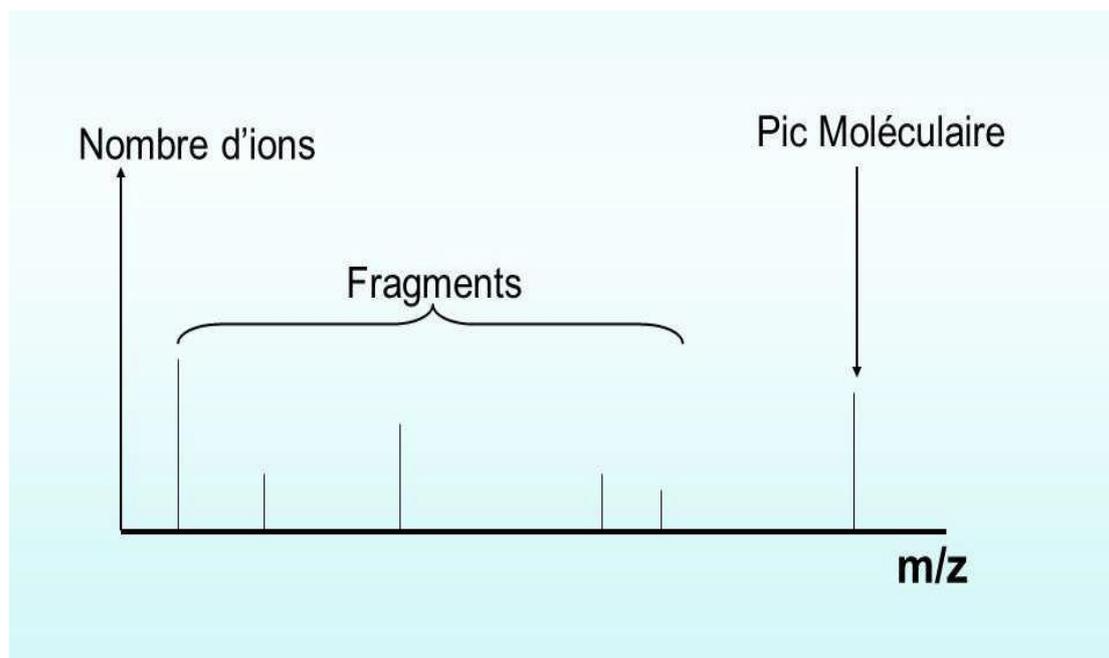


Figure III.2 : Présentation du pic moléculaire et différents fragments.

III.6.2. Le pic de base

C'est le plus intense du spectre de masse, ce pic correspond à l'ion le plus abondant alors le plus stable.

III.7. Utilité de la spectrométrie de masse

La spectroscopie de masse a plusieurs applications sachant que pourra être couplée avec des méthodes séparatives, pour faire des analyses élémentaires, isotopiques, identifier les structures des composés organiques.

III.7.1 Identification

Un spectre de masse peut être caractéristique d'une molécule ainsi en le comparant avec des spectres de référence, donc il est possible d'identifier la molécule. La spectrométrie de masse sert à mesurer avec une grande précision la masse monoisotopique d'un ion et d'identifier sa formule brute.

III.7.2. Quantification

Un spectromètre de masse est un détecteur universel est très sensible. Sa gamme linéaire va de trois à sept ordres de grandeurs, d'où la possibilité d'obtenir une quantification fiable sur un domaine large.

III.8. Avantages de la spectrométrie de masse:

- Une versatilité ;
- Une grande sensibilité aux ions ;
- couplage aux techniques séparatives.

III.9. Inconvénients de la spectrométrie de masse

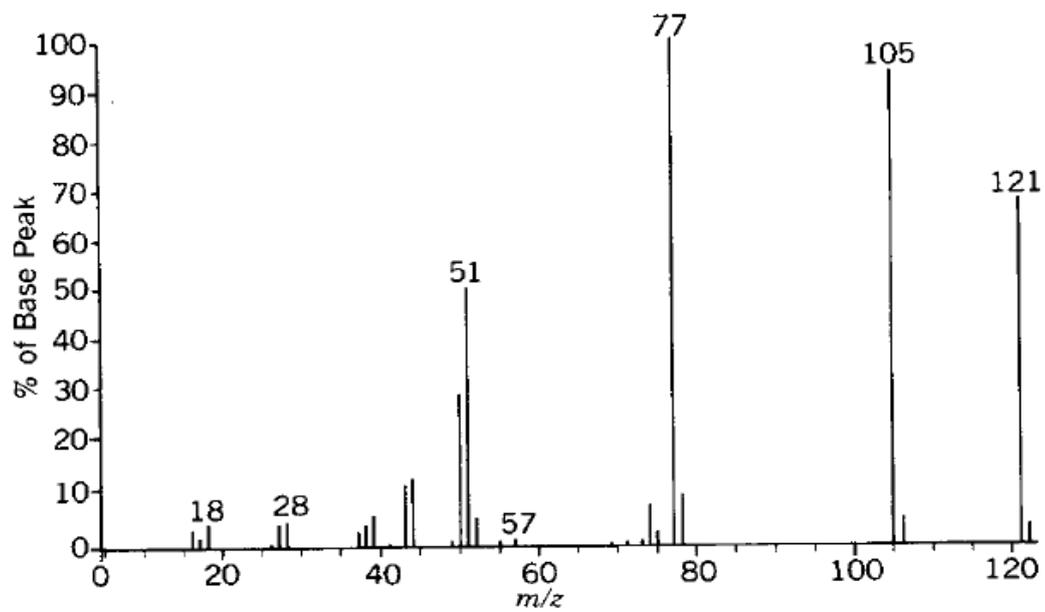
- La mesure doit être effectuée que sur une molécule isolée,
- Un échantillon (liquide ou solide) doit être transformé généralement en gaz dilué nécessitant un vide poussé.

III.10. Exercices d'application

Exercice 01

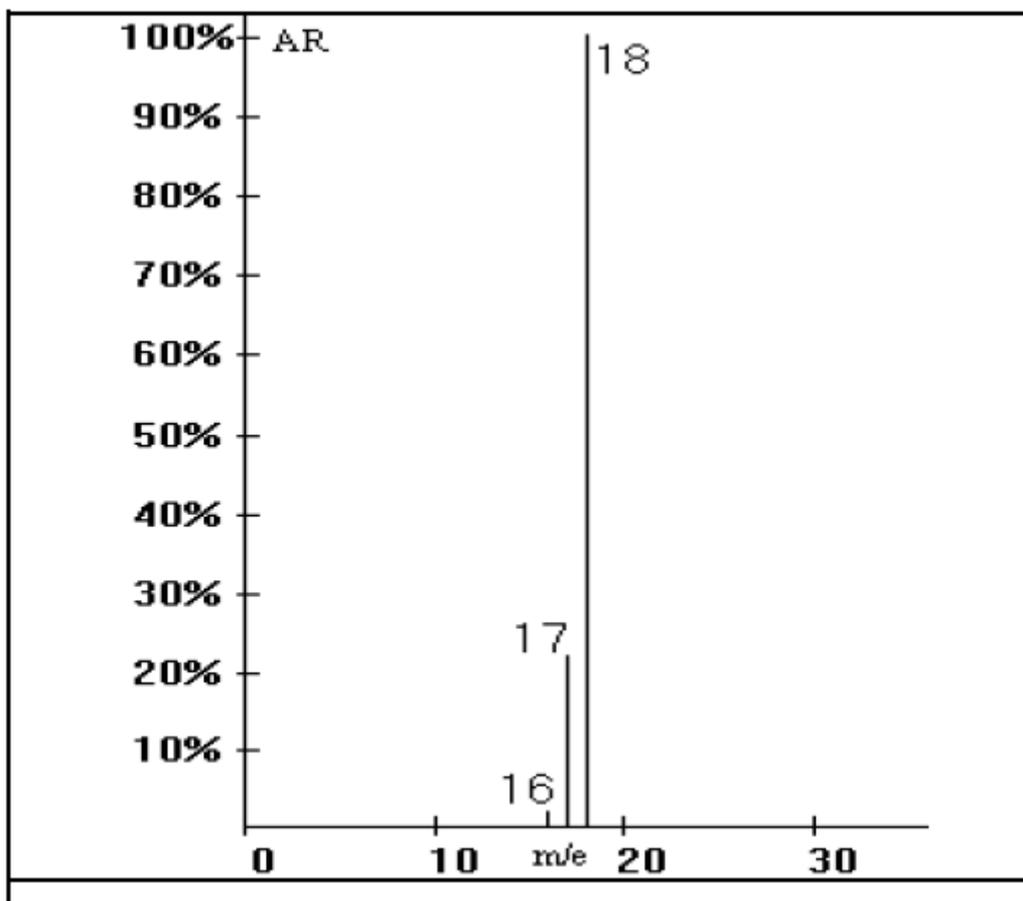
Soit un composé organique comporte un cycle aromatique de formule brute (C_7H_7ON)
donne le spectre de masse ci-dessous.

1. Repérez le pic de base et le pic moléculaire.
2. Attribuez les principales fragmentations de ce spectre.



Exercice 02

Analyser le spectre de masse suivant



III.11. Corrigés des exercices

Exercice 01

1. Le pic de base est à $m/z = 77$ et le pic moléculaire est à $m/z = 121$.
2. Il s'agit d'un composé contenant la fonction amide, la fragmentation a lieu autour de la fonction $C=O$.

Exercice 02

Le Pic de base à $m/z = 18$

Pic moléculaire à $m/z = 18$

Il s'agit du spectre de l'eau H_2O .

$[m/z=18]$ représente l'ion moléculaire,

$[m/z=17]$ représente l'ion OH^+ et non pas OH^- car, en spectrométrie de masse on s'arrange généralement pour ne détecter que les cations (ions positifs).

CHAPITRE IV

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION

ATOMIQUE

SAA

IV.1.Introduction

L'analyse spectroscopique d'absorption atomique (SAA) est une technique utilisée pour la première fois en 1955 par Walsh. Elle étudie les absorptions de rayonnement lumineux par l'atome libre. C'est une des principales techniques mettant en jeu la spectroscopie atomique dans le domaine UV-visible utilisée en analyse chimique.

Plus de soixante-dix éléments chimiques (métaux et non-métaux) du tableau de périodique pouvant être analysés par cette analyse.

IV.2.Principe

C'est l'analyse par l'absorption de radiations dans un domaine de longueur d'ondes situé au UV-Vis, par des atomes à l'état fondamental conduisant à un passage d'un de ses électrons de la couche de valence d'une orbitale électronique à une autre et un changement de l'énergie. Cette absorption est spécifique à chaque atome.

Une source lumineuse émet des radiations spécifiques correspondant à la différence d'énergie entre l'état fondamental et un état excité de l'échantillon à analyser. L'analyte transformé en atomes libres à l'état fondamental capables d'absorber une certaine quantité de lumière. La lumière non absorbée passe par un monochromateur jusqu'à un détecteur.

L'absorption atomique de flamme est une technique qui permet de doser surtout les métaux en solution. Cette méthode d'analyse élémentaire impose que la mesure soit faite à partir d'un élément à doser transformé à l'état d'atomes libres. L'élément est porté à une température de 2000 à 3000°C pour que les liaisons chimiques dans lesquelles les éléments sont engagés soient détruites.

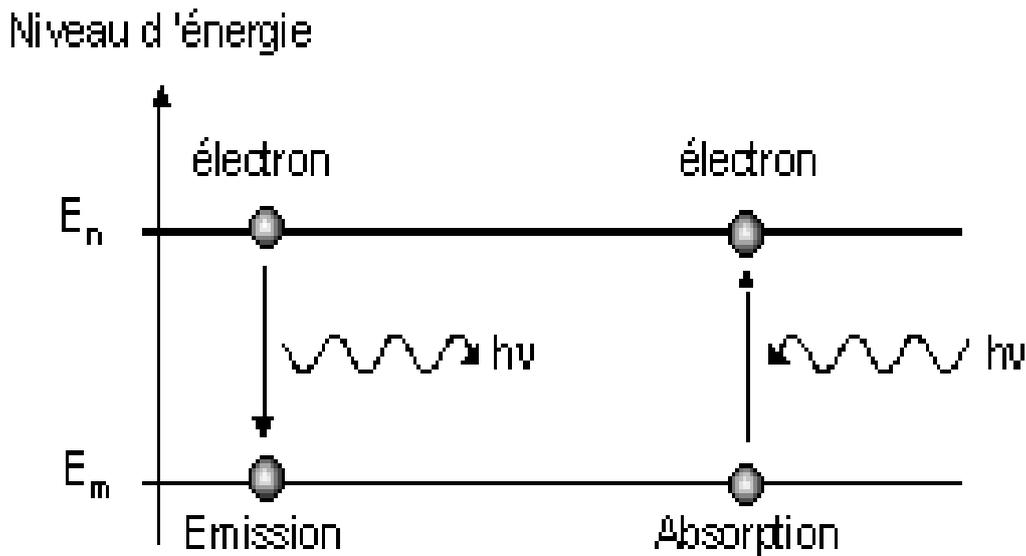


Figure IV.1 : Illustration des processus d'absorption et d'émission.

La loi de Beer - Lambert.

En spectrométrie d'absorption atomique, on mesure l'absorbance : $A = K \cdot c$

Avec

A: présente l'absorbance (sans unité) ;

c: présente la Concentration de l'élément ;

k: présente le coefficient propre à chaque élément pour la longueur d'onde donnée.

Cette technique permet de mesurer les concentrations des éléments à doser. S'il y a plusieurs atomes à doser, on réalise cette manipulation pour chaque élément de l'échantillon en se plaçant à une longueur d'onde fixée. Il faut donc à chaque manipulation choisir une source adaptée pour éclairer l'élément que l'on cherche à exciter, pour cela utilisation de différentes lampes (lampe Mg. Ca. Mn etc...).

Les lampes à cathode creuse sont utilisées pour déterminer des composants élémentaires d'un point de vue quantitatif et qualitatif dans un échantillon de liquides ou solides.

IV.3.Appareillage

L'appareillage est identique pour toutes les méthodes atomiques, bien que la configuration des composantes doive y être modifiée. Un spectrophotomètre d'absorption atomique est composé d'une source, un atomiseur, un monochromateur, un détecteur et un dispositif d'acquisition. Son coût est relativement faible, on retrouve des spectromètres à simple faisceau et ceux à double faisceaux.

La sensibilité est déterminée par la source de rayonnement et l'atomiseur. Puisque les lampes utilisées usuellement ont la même largeur de raies, la plus grande différence est attribuable au type d'atomiseur.

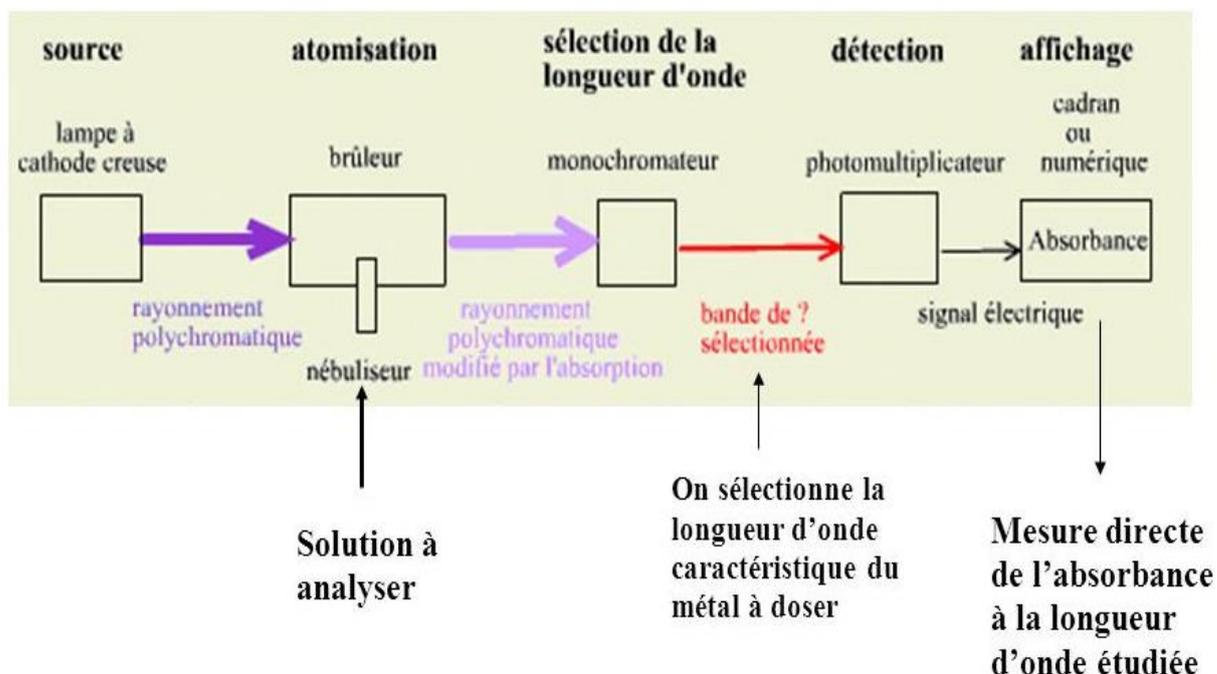


Figure IV.2 : Schéma d'un spectromètre d'absorption atomique.

IV.3. 1. La source

A pour rôle d'émission des radiations lumineuses caractéristique de l'élément à analyser. Il est important que cette source émette des raies plus étroites que la raie d'absorption. Ainsi, deux types de lampes répondent bien à cette exigence :

a) Lampe à cathode creuse

Ce type de source la plus utilisée, elle émet un spectre discontinu. Elle est composée d'une enveloppe de verre scellée contenant une cathode métallique cylindrique creuse et une anode en tungstène ou en nickel. L'enveloppe est aussi pourvue d'une fenêtre en verre ou en quartz.

L'ampoule est remplie d'un gaz rare (argon ou néon) sous une pression de quelques mmHg.

La sélectivité élevée de la SAA est due au fait qu'on utilise pour chaque élément une lampe particulière.

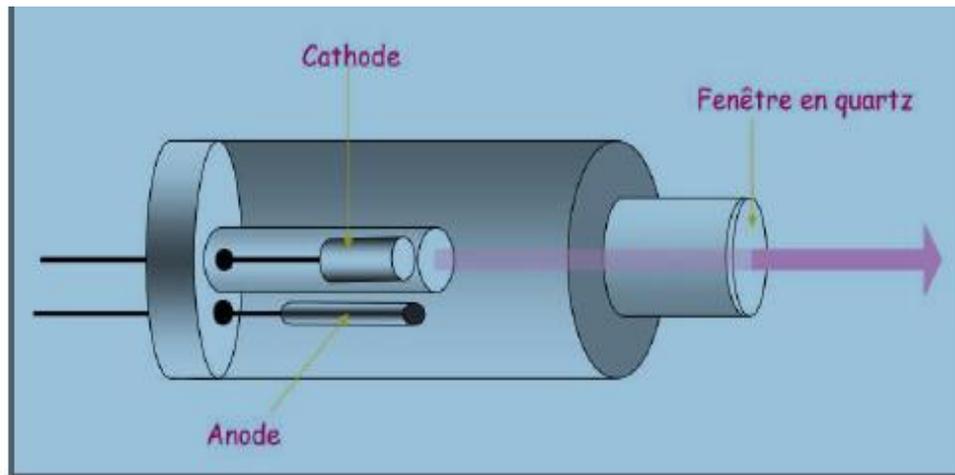


Figure IV.3 : Lampe à cathode creuse.

b) Lampe à décharge sans électrode

Cette lampe est constituée d'un tube en quartz scellé contenant un gaz inerte plus d'une petite quantité d'une espèce métallique et de ses sels, le tout sous une pression de quelques mmHg.

Un champ électrostatique fournit une énergie. Le gaz inerte s'ionise et les ions sont accélérés jusqu'à une énergie nécessaire pour exciter les atomes métalliques.

IV.3.2. L'atomiseur

Cette technique nécessite d'avoir les atomes à l'état fondamental. L'atomiseur doit donc fournir des atomes libres sans les exciter.

L'atomisation nécessite une chaleur pour faire passer l'échantillon généralement en solution à l'état gazeux atomique. Cette chaleur peut être générée par une flamme ou par un four de graphite.

Il consiste en un nébuliseur et un brûleur. A l'orifice du nébuliseur, du fait de l'éjection d'un gaz à grande vitesse et sous l'effet de la différence de pression, la solution de l'analyte généralement aqueuse, est alors aspirée dans un capillaire et à la sortie, elle est pulvérisée en un aérosol constitué de fines gouttelettes. Cet aérosol contenant le comburant (en général le gaz à haute pression) est mélangé au carburant,

Ce mélange arrive au brûleur qui libère une large flamme composée de quatre zones. Le solvant est éliminé dans la zone primaire. Il reste les sels ou particules solides qui sont alors fondus, vaporisés puis atomisés. C'est dans la région secondaire qu'a lieu la vaporisation. L'atomisation a lieu dans la zone tertiaire. La flamme est caractérisée par sa réactivité chimique, sa température et son spectre.

La durée du passage de l'échantillon dans la flamme est très courte donc une portion significative n'a pas le temps d'être atomisée, ce qui limite la sensibilité de la méthode.

IV.3.3. Le sélecteur de longueur d'onde

Un simple filtre de verre est souvent utilisé comme un monochromateur adéquat pour quelques métaux alcalins. la plupart des appareils de SAA sont munis d'un monochromateur. Son rôle consiste à choisir la raie la plus intense et d'éliminer toute lumière, parasite quelle que soit son origine, ayant une longueur d'onde différente de celle à laquelle on travaille.

IV.3.4. Le détecteur

Il calcule les intensités nécessaires au calcul des absorbances. L'absorption spécifique est due à l'élément à doser. L'absorption non spécifique est due à l'absorption continue de la matrice.

Cette absorbance est donnée par la relation suivante :

Absorbance spécifique = Absorbance totale – Absorbance non spécifique.

Le choix de détecteur adéquat se fera, pour chaque raie d'absorption sélectionnée pour l'analyse, en fonction de sa réponse en fréquence. Le détecteur le plus utilisé est un photomultiplicateur.

IV.4. Interférences

IV.4.1 Interférences spectrales

Appareil à four graphite peut conduire à une émission parasite due aux parois du tube. Les constituants de la matrice peuvent conduire également à des absorptions parallèles. On sera jamais à l'abri de la superposition de deux radiations : celle choisie pour le dosage avec une raie secondaire appartenant à un autre élément.

Pour cette analyse, les confusions sont rares, mais il est quelquefois conseillé d'effectuer deux mesures en changeant la longueur d'onde.

IV.4.2 Superposition de l'émission et de l'absorption

Une partie non négligeable des atomes de certains éléments analysés passe à l'état excité sous l'effet thermique. Ces atomes émettent précisément des photons de même énergie que les atomes restés à l'état fondamental sont susceptibles d'absorber.

La correction de la mesure des absorbances, se fait par alimentation de la lampe avec une tension pulsée, ce qui permet de différencier le signal de l'émission, constant, du signal dû à l'absorption qui lui est pulsé.

IV.4.3 Interactions chimiques

Dans l'absorption atomique pour rechercher des éléments à l'état de traces, il est important de tenir compte de la molécule dans laquelle ils sont présents. Il faut suivre des protocoles expérimentaux bien établis pour corriger les interférences chimiques. À titre correctif, on introduit dans les solutions à doser des sels minéraux ou des réactifs organiques servant d'« agents libérateurs ».

IV.5. Avantages et inconvénients

Avantages :

- la SAA est une technique quantitative simple, rapide et sensible ;
- très sélective et relative, il faut donc faire une courbe d'étalonnage ;
- Elle nécessite une faible quantité d'échantillon;
- Les solutions étalons sont faciles à préparer.

Cependant, on peut noter un certain nombre de limites :

- Pour des raisons technologiques, certains éléments ne peuvent pas être analysés ;
- L'existence parfois d'interférences chimiques sévères ;
- L'aspect non qualitatif de la technique impose la connaissance des éléments à doser afin de choisir la source adaptée ;
- Ne permet pas l'analyse simultanée d'éléments ;
- Nécessité d'avoir des concentrations assez faibles (afin de respecter le domaine de linéarité de la loi de Beer-Lambert).

IV.6. Applications

L'analyse SAA est utilisée presque pour tous les métaux (Cu, Zn, Pb, Cr, Fe, Cd, etc....) en biologiques, en métallurgie, en archéologie, domaine pharmaceutique et atmosphérique.

IV.7. Sensibilité et limite de détection en SAA

En spectrométrie la sensibilité est définie à partir d'un élément, comme étant la concentration exprimée en mg/mL qui, en solution aqueuse, conduit à une diminution de la lumière transmise de 1 %. La concentration la plus basse pouvant être quantifiée dans un échantillon dépend de beaucoup de facteurs.

La limite de détection correspond à la concentration de l'élément qui donne un signal dont l'intensité est définie sur la base de trois fois l'écart-type d'une série de mesures effectuées pour le blanc analytique ou sur une solution très diluée.

Concrètement, les concentrations doivent être au moins dix fois supérieures pour avoir des mesures fiables.

IV.8. Exercices d'application

Exercice 01

Potassium d'un sérum sanguin est analysé par SAA, on prépare deux solutions identiques : on prélève 0,5 mL de sérum et on complète à 5 mL avec de l'eau distillée. Dans l'une d'elles on ajoute 10 mL de KCl 0,2 M. Les valeurs lues sur l'appareil sont respectivement 32,1 et 58,6.

1. Calculer la concentration en potassium du sérum ?

Exercice 02

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

1. Donner une valeur de l'épaisseur de la cuve pour que l'absorbance soit de l'ordre de 0,40.

IV.9. Corrigés des exercices

Exercice 01

La concentration en potassium du sérum: $c = 4,84 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (ou $4,84 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$).

Exercice 02

Calcul de l'épaisseur l :

On applique la loi de Beer Lambert $A = l \cdot c \cdot \epsilon$

Il faut calculer en premier lieu C (la Concentration molaire)

$C = n/v = C_m/M$ et $l = A/C \cdot \epsilon$ (Loi de B.L), On trouve **$l = 4.98 \text{ cm}$**

CHAPITRE V

GENERALITES SUR LA CHROMATOGRAPHIE

V.1. Définitions :

- **Chromatographie:** c'est une technique de séparation des constituants dans un mélange homogène qui est basée sur un processus de migration différentielle, où les analytes se répartissent en 2 phases, l'une mobile par rapport à l'autre stationnaire.
- **Le chromatogramme** est un tracé qui donne la variation au cours du temps d'un paramètre relié à la concentration instantanée du soluté à la sortie d'une colonne.

$$tr' = t_r - t_m$$

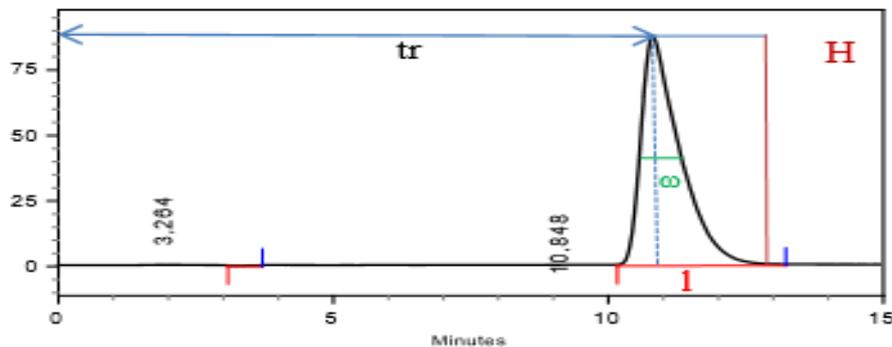


Figure V.1: Chromatogramme d'un constituant.

On porte sur l'axe des abscisses le temps (ou très rarement le volume d'élution) et l'intensité du signal de détection sur l'axe des ordonnées.

- **phase stationnaire :** c'est la phase qui reste fixée en place dans une colonne ou sur une plaque.
- **phase mobile:** une phase qui est en mouvement sur ou à travers la phase stationnaire, elle entraîne les constituants à analyser
- **Eluat:** c'est la solution recueillie à la sortie de la colonne chromatographique, permet l'identification et le dosage des substances.
- **Elution :** processus au cours duquel on sépare les phases.

V.2. Classification

- **chromatographie en phase liquide** : phase mobile est liquide, phase stationnaire est solide ou liquide.
- **chromatographie en phase gazeuse** : phase mobile est un gaz, phase stationnaire est solide ou liquide.
- **Chromatographie ionique** : La phase stationnaire solide comporte en surface des sites ioniques et la phase mobile est une solution-tampon aqueuse.

V.3. Grandeurs chromatographiques

V.3.1 Rapport de distribution K

Dans une séparation chromatographique la répartition des solutés dans deux phases est un facteur important, La constante d'équilibre soluté A (phase mobile) \leftrightarrow soluté A (phase stationnaire) est appelée: rapport de distribution K.

K est égal au rapport des concentrations du soluté A dans les deux phases:

$$K_A = [A]_{\text{stat}} / [A]_{\text{mob}}$$

$[A]_{\text{stat}}$ = concentration en mol. L⁻¹ du soluté dans la phase stationnaire = $[A]_s$

$[A]_{\text{mob}}$ = phase mobile = $[A]_M$

V.3.2 Temps de rétention du soluté

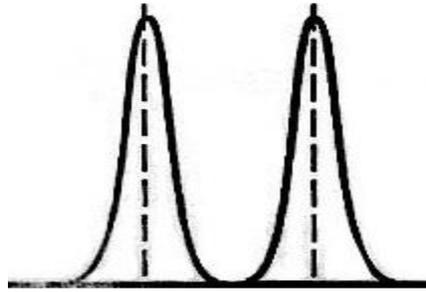
- **Le temps initial t_0** est le temps du début de l'injection.
- **Le temps mort (t_m)** : est déterminé par le temps mis par un soluté non retenu par la phase stationnaire pour traverser la colonne (temps passé dans la phase mobile).
- **Le temps de rétention (t_r)**: qui représente le temps écoulé entre l'instant t_0 de l'injection et celui qui correspond sur le chromatogramme au maximum du pic.
- **Le temps de rétention réduit (t'_r)**: est le temps passé par un soluté dans la phase stationnaire, calculé par la différence entre le temps de rétention et le temps mort.

V.3.3 Facteur de résolution (R) :

C'est la grandeur qui caractérise l'aptitude d'un système chromatographique (colonne, solutés, solvants) à séparer 2 solutés.

Le but de la chromatographie est d'obtenir la meilleure résolution dans le temps le plus court.

$$R = 2 \frac{(tr_B - tr_A)}{(W_A + W_B)}$$



Avec :

t_{rA} : temps de rétention de soluté A

t_{rB} : temps de rétention de soluté B

W_A : largeur du pic de soluté A

W_B : largeur du pic de soluté B

Si :

$R < 1$: mauvaise résolution ;

$1 < R < 1,4$: résolution acceptable ;

$1,4 < R < 1,6$: résolution optimale ;

$R > 1,6$: résolution trop bonne.

V.3.4. Facteur de séparation

Le facteur de séparation α , une grandeur chromatographique qui permet de localiser les positions relatives de deux pics adjacents 1 et 2 de deux solutés sur un chromatogramme. Il est défini par les relations suivantes :

$$\alpha = \frac{t'r_B}{t'r_A}$$

Il ne peut, par définition, être inférieur à 1, toujours supérieur à 1

V.3.5. Volume d'éluion ou volume de rétention V_r

Le volume d'élution (de rétention) V_r de chaque soluté représente le volume de 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, $V_r = t_r \cdot D$

V.3.6. Volume de la phase mobile (volume mort V_M)

Le volume mort est le volume de la phase mobile dans la colonne V_M correspond au volume interstitiel accessible. Il sera calculé d'après le chromatogramme obtenu, et exprimé en fonction de t_m et du débit D :

$$V_M = t_m \cdot D$$

V.3.7. Volume de la phase stationnaire V_S

Le volume V_S n'apparaît pas sur le chromatogramme. on le calcule en retranchant du volume total interne de la colonne vide le volume de la phase mobile.

V.3.8. Facteur de rétention K' :

$$K_A' = t_r' / t_m$$

V.4. Théorie de base de la chromatographie

V.4.1 Théorie des plateaux

- La colonne chromatographique est assimilée à une colonne à distiller de longueur L .
- La colonne est constituée de plusieurs plateaux fictifs appelés plateaux théoriques.
- La taille des plateaux H , est appelée hauteur équivalente à 1 plateau théorique (HEPT)

$$\text{HEPT} = L/N \quad (1)$$

$$N = 16 \left(\frac{t_{r1}}{w_1} \right)^2$$

$$N = 16 \left(\frac{t_{r2}}{w_2} \right)^2$$

On calcule N_{moyen}

V.5. Exercices d'application

Exercice 01

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). Le tableau donne les résultats relevés.

Pic	Identité	t_R (min)	ω (min)
1	Air	$t_M = 0,5$	Petite
2	CH_3I	6,60	0,55
3	$\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$	9,82	1,00
4	Iso- $\text{C}_3\text{H}_7\text{I}$	11,90	1,04
5	<i>n</i> - $\text{C}_3\text{H}_7\text{I}$	13,04	1,08
6	CH_2I_2	19,10	1,60

- (a) Calculer la résolution entre les pics 2-3, 3-4, 4-5, 5-6 ?
- (b) la séparation vous convient elle ?
- (c) Calculer le facteur de séparation α entre les pics 4-5 et 2-3.

Exercice 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 suivant :

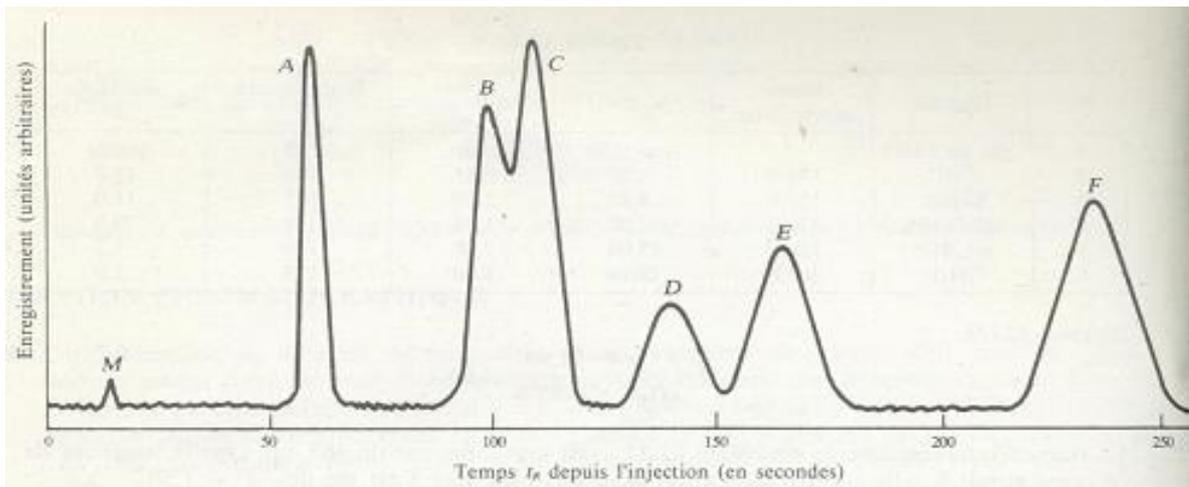


Fig. 12-2

Tableau 12-2

Pic	M	A	B	C	D	E	F
t_R, s	15	60	100	110	140	165	235
t_L, s	petit	9,00	15,00	16,50	21,00	24,75	35,25
Aire, cm^2	petit	0,900	1,200	1,650	0,610	1,040	1,900

- (a) Trouver le nombre de plateaux théoriques N_A en se basant sur le pic A ?
- (b) Calculer la résolution entre les pics B-C, D-E ?
- (c) Calculer la hauteur équivalente de plateau théorique.

V.6. Corrigés des exercices

Exercice 01

- (a) Calculer la résolution entre les pics 2-3, 3-4, 4-5, 5-6 ?

$$R_{2-3} = 4.15$$

$$R_{3-4} = 2.03$$

$$R_{4-5} = 1.075$$

$$R_{5-6} = 4.52$$

- (b) la séparation vous convient elle ?

$R > 1.6$ donc la séparation est bonne

- (c) Calculer le facteur de séparation α entre les pics 4-5 et 2-3.

$$\alpha_{4,5} = 1.12$$

$$\alpha_{2,3} = 1.52$$

Exercice 02

- (a) Trouver le nombre de plateaux théoriques N_A en se basant sur le pic A ?

$$N = 16(t_A/w_A)^2 = 711 \text{ plateaux}$$

- (b) Calculer la résolution entre les pics B-C, D-E ?

$$R_{B,C} = 0.63$$

$$R_{D,E} = 1.09$$

- (c) Calculer la hauteur équivalente de plateau théorique.

$$H=L/N = 0.168 \text{ cm.}$$

CHAPITRE VI

LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE

HPLC

VI.1.Introduction :

A l'origine la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte.

VI.2.Principe :

- Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.
- La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, Le mélange à analyser est injecté puis transporté. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.
- A la sortie de la colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

VI.3. Polarité de phase

- Si la phase stationnaire est polaire, les composés polaires seront plus retenus que les composés non polaires.
- Si la phase stationnaire est apolaire, les composés apolaires seront plus retenus que les composés polaires.
- L'ensemble "phase stationnaire polaire et phase mobile peu polaire" forme la chromatographie à **polarité de phase normale.**

- L'ensemble "phase stationnaire apolaire et phase mobile polaire" forme la chromatographie à **polarité de phase inversée**.

Classement de polarité des solvants: hydrocarbures < éthers < esters < cétones < aldéhydes < amides < amines < alcools < acides < H₂O.

VI.4. Appareillage :

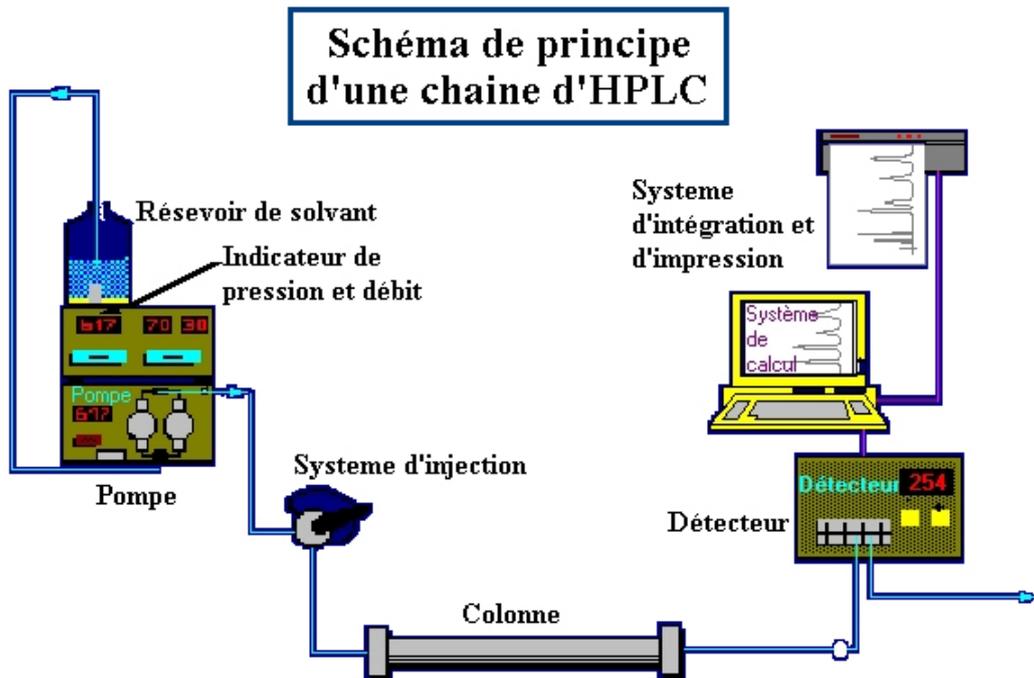


Figure VI.1 : Schéma d'un chromatographe HPLC.

VI.4.1. Réservoir

Le réservoir est une bouteille en verre dans lequel est plongé un tube avec une extrémité filtrante en téflon.

VI.4.2. Pompe :

A pour rôle de délivrer en continu la phase mobile. Actuellement les paramètres d'une pompe sont :

- * débit : 0,01 à 10 mL/min.
- * pression maximale > 350 bars.

VI.4.3. Injecteur :

Le type d'injecteur le plus couramment utilisé comporte une vanne à boucle d'échantillonnage d'une capacité fixe (10, 20, 50 µL...). Cette boucle permet d'introduire l'échantillon dans la colonne.

VI.4.4. Vanne à boucle d'échantillonnage :

Elle possède 2 positions, la première permet le remplissage de la boucle d'injection de volume fixe, la seconde permet la mise en circulation de l'échantillon dans le système chromatographique.

VI.5. Colonnes

Type des colonnes utilisées en inox ont généralement :

- Un diamètre interne de 4,6mm. La longueur est de 5, 10, 15, ou 25cm ;
- Le remplissage (en silice, silice greffée ou particules polymériques) a une granulométrie de 3, 5, ou 10 μ m ;
- Le diamètre interne d'une colonne est usuellement de 4 ou 4,6 mm.

VI.6. Détecteurs

Le détecteur suit en continu l'apparition des solutés. Le signal obtenu est enregistré en fonction du temps.

Le détecteur le plus utilisé en HPLC est un spectrophotomètre d'absorption UV-visible (190-600 nm) relié à la sortie de la colonne.

VI.7. Phases stationnaires

La bonne résolution chromatographique et par voie de conséquence d'une efficacité élevée, a conduit à la recherche des phases stationnaires de nature et de structures variées.

VI.7.1 Le gel de silice

Parmi tous les matériaux qui ont été ou sont actuellement utilisés pour la confection des phases stationnaires. Le gel de silice contient des pores de tailles différentes, pour le remplissage de colonne d'une manière homogène, il est préparé sous forme de microparticules sphériques.

VI.7.2. Les silices greffées

Les gels de silice précédents, comportant des greffons alkyles à C₈ ou C₁₈ atomes de carbone, sont polyvalents et par conséquent très utilisés (65 % des applications), ayant une capacité d'adsorption élevée.

VI.8. Phases mobiles

Un principe général est appliqué pour le bon choix des deux phases, à une phase stationnaire polaire on oppose une phase mobile peu ou pas polaire et vice-versa.

VI.9. Exercices d'application

Exercice 01

Indiquez l'ordre d'éluion des composés suivant sur une colonne de HPLC contenant un support à **phase normale**.

1. Acétate d'éthyle $\text{CH}_3\text{COOHC}_2\text{H}_5$,
2. Acide acétique CH_3COOH ,
3. Diméthylamine $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$,
4. Propylène $\text{CH}_3\text{-CH=CH}_2$,
5. Hexane $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$.

Exercice 02

Nous étudions la séparation de trois composés par chromatographie haute performance. L'expérience a lieu à 20 °C avec une pression en tête de colonne de 49.105 Pa. Le débit de la phase mobile est de 1 mL.min⁻¹ et la longueur de la colonne est de 15 cm. La phase mobile traverse la colonne dans 41 s. La séparation chromatographique a donné les résultats présentés dans le tableau ci-dessous: Résultats de la séparation par HPLC de trois composés.

Composés	t_R (min)	w (min)
Toluène	1,83	0,14
Diéthylphtalate	2,62	0,34
Diméthylphtalate	3,23	0,42

- 1- Quel est le principe de la chromatographie ?
- 2- Comment on évalue l'efficacité d'une colonne chromatographique.
- 3- Calculez le facteur de rétention et le nombre de plateaux théoriques.
- 4- Calculez les facteurs de séparation et de résolution.

VI.10.Corrigés des exercices

Exercice 01

Phase normale ; la phase stationnaire est polaire et la phase mobile peu polaire. Dans ce cas là, la phase stationnaire aura l'affinité vers les composés les plus polaires et les composés moins polaires sortent les premiers.

L'ordre d'élution est : 5. (hexane), **4.** (propylène), **1.** (acétate d'éthyle), **3.** (diméthyle amine), **2.** (acide acétique).

CHAPITE VII

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

CPG

VII.1. Principe de la technique

Un appareil de CPG, composé de trois modules classiques, injecteur, colonne et détecteur, en plus d'un four thermostaté qui permet de porter, si nécessaire, la colonne à une température élevée.

- Un gaz appelé gaz vecteur entraîne l'échantillon dans la phase mobile.
- L'analyse commence à l'instant où on introduit une très faible quantité de l'échantillon, sous forme liquide ou gazeuse, dans l'injecteur, qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne.
- La phase gazeuse mobile traverse la colonne passe dans un détecteur avant de sortir à l'air libre.

VII.2. Appareillage de CPG :

Un chromatographe est composé de trois éléments essentiels : l'injecteur, le détecteur et la colonne.

VII.2.1. Injecteurs

Cet élément est la porte d'entrée de l'échantillon dans le chromatographe. Il a deux autres fonctions : vaporiser et entraîner en tête de colonne l'échantillon mélangé au gaz vecteur.

VII.2.2. Détecteur:

Le détecteur le plus utilisé en CPG est celui à conductibilité thermique appelé catharomètre. Sa température est généralement la même que celle de l'injecteur.

VII.2.3. Colonnes

Les trois grandes familles de colonnes utilisées en CPG et leurs principales caractéristiques.

Colonnes remplies :

- Tube de diamètre (3,18 ou 6,35 mm) ;
- Avec un débit: 10 à >40 ml / min ;
- Sont remplies de petites sphères, d'environ 0,2 mm de diamètre, d'un support poreux sur lequel est greffée ou imprégnée la phase stationnaire.

Colonnes capillaires :

Les colonnes les plus utilisées sont :

- Préparées à partir de "silice fondue" très pure, obtenue par combustion de SiH_4 ou SiCl_4 dans une atmosphère d' O_2 ;
- Ont un diamètre interne varie de 0,1 à 0,35 mm et une longueur de 5 à 100 m ;
- Les phases stationnaires greffées sur la paroi interne sont de silice ;
- Ces colonnes ont des chromatogrammes de très bonnes résolutions pour des débits de quelques ml/min.

Colonnes "wide bore"

- Ont une conception proche des colonnes capillaires (phase stationnaire greffée sur la paroi interne) ;
- Mais ont un diamètre de 0,53 mm et une longueur de 5 à 50 m ;
- Sont moins efficaces que les colonnes capillaires, Ils ont l'avantage de permettre toutes sortes d'analyses.

VII.3. Choix de la phase stationnaire

Le choix de la phase stationnaire conditionne la bonne séparation des constituants. Il faudra la choisir polaire ou apolaire en fonction de la nature des substances à séparer.

VII.3.1. Polysiloxanes : Les **siloxanes** sont une classe de composés du silicium dont la formule empirique est R_2SiO , où R est un groupe radical qui peut être organique.

Des exemples représentatifs sont $[\text{SiO}(\text{CH}_3)_2]_n$ (*diméthylsiloxane*) Le mot *siloxane* est dérivé de **Silicium**, **Oxygène** et **alkane**.

VII.3.2. Polyéthylèneglycols (PEG): On appelle polyéthylène glycol ou PEG des polyéthers linéaires de masse molaire inférieure à $20\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ fabriqués à partir de monomères d'éthylène glycol, de **Formule** : $\text{C}_{2n}\text{H}_{4n+2}\text{O}_{n+1}$.

VII.4. Gaz vecteur

On utilise comme phase mobile l'un des trois gaz suivants : l'hélium (He), le diazote (N₂) ou le dihydrogène (H₂).

- Ce gaz vecteur ou gaz porteur pousse les constituants à travers la colonne, en chaque point de cette dernière.

VII.5. Exercices d'application

Exercice 01

Un mélange de trois composés volatils A, B et C est analysé par CPG sur une colonne de 50 m de longueur. Les données concernant les temps de rétention, les largeurs des pics à leur base sont indiqués dans le tableau ci-dessous. Dans les mêmes conditions, un composé ne présentant aucune affinité pour la colonne est élué avec un temps de 2.3 min.

Produits	Temps de rétention (min)	La largeur du pic (min)
A	9.55	0.81
B	10.20	1.05
C	12.45	1.15

- 1- Calculez l'efficacité de la colonne dans les trois cas.
- 2- Calculez la hauteur équivalente à un plateau théorique pour les trois composés.
- 3- En vous basant sur les dérivés B et C, déterminez le facteur de résolution de la colonne. Commentez le résultat.
- 4- calculez le facteur de séparation entre les produits A et B, B et C.
- 5- Donner l'expression de R en fonction de facteur de séparation entre A et B.

Exercice 02

Compléter le tableau suivant

	HPLC	CPG
Phase mobile		
Phase stationnaire		
Détecteur		

VII.6. Corrigé des exercices

Exercice 01

1- l'efficacité de la colonne dans les trois cas.

On calcule les N_{th} pour chaque produit :

$$N_{th} = 16(\text{Tr}/W)^2$$

$$N_A = 16(\text{Tr}_A/W_A)^2 = 16(9.55/0.81)^2 = \mathbf{2224}.$$

$$N_B = 16(\text{Tr}_B/W_B)^2 = 16(10.20/1.05)^2 = \mathbf{1510}.$$

$$N_C = 16(\text{Tr}_C/W_C)^2 = 16(12.45/1.15)^2 = \mathbf{1875}.$$

2- Calculez la hauteur équivalente à un plateau théorique pour les trois composés.

$$\text{HEPT} = L/N$$

$$N_{\text{moy}} = \sum N_i / 3 = (2224 + 1510 + 1875) / 3 = \mathbf{1870}$$

$$\text{HEPT} = 50 / 1870 = \mathbf{0.0267 \text{ m}}$$

En vous basant sur les dérivés B et C, déterminez le facteur de résolution de la colonne. Commentez le résultat.

$$R = 2 \frac{(tr_C - tr_B)}{(W_C + W_B)} = 2 \frac{(12.45 - 10.20)}{(1.15 + 1.05)} = 2.045$$

$R > 1.6$ donc la résolution est très bonne.

4- le facteur de séparation entre les produits A et B, B et C.

$$\alpha = \frac{tr_B}{tr_A} = \frac{tr_B - tm}{tr_A - tm} = \frac{10.20 - 2.3}{9.55 - 2.3} = \mathbf{1.08}$$

$$\alpha = \frac{tr_C}{tr_B} = \frac{tr_C - tm}{tr_B - tm} = \frac{12.45 - 2.3}{10.20 - 2.3} = \mathbf{1.28}$$

5- Donner l'expression de R en fonction de facteur de séparation entre A et B.

$$R = 2 \frac{(tr_B - tr_A)}{(W_A + W_B)} = 2 \frac{(t'r_B + t_m - t'r_A - t_m)}{(W_A + W_B)} = 2 \frac{t'r_A(t'r_B/t'r_A - 1)}{(W_A + W_B)}$$

$$= 2 \frac{t'r_A(\alpha - 1)}{(W_A + W_B)}$$

Exercice 02

Comparaison entre HPLC et CPG :

	HPLC	CPG
Phase mobile	Mélange des composés à séparer en solution.	est un gaz, appelé <i>gaz vecteur</i> .
Phase stationnaire	Le gel de silice, Les silices greffées	Polysiloxanes , Polyéthylèneglycols
Détecteur	est un spectrophotomètre d'absorption UV-visible.	à conductibilité thermique appelé catharomètre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Constantin E., Schnell, « Spectrometrie de masse, principe et applications. » Technique et documentation, Lavoisier, (1986).
2. David Harvey, « Modern analytical chemistry», DePauw university, 1st edition, ISBN 0-07-237547-7.
3. Francis Rouessac, Annich Rouessac, avec la collaboration de Daniel Cruché, Claire Duverger-Arfulso, Arnaud Martel, « Analyse Chimique, Méthodes et Techniques instrumentales », 7^e édition, DUNOD.
4. Francis Rouessac, Annich Rouessac, Analyse Chimique, Méthodes et Techniques instrumentales, 4^{eme} édition, DUNOD (1998).
5. Francis Rouessac, Annich Rouessac, avec la collaboration de Daniel Cruché, Claire Duverger-Arfulso, Arnaud Martel, Analyse Chimique, Méthodes et Techniques instrumentales, 6^{eme} édition, DUNOD (2004).
6. Francis Rouessac, Annich Rouessac, avec la collaboration de Daniel Cruché, Claire Duverger-Arfulso, Arnaud Martel, Analyse Chimique, Méthodes et Techniques instrumentales, 9^{eme} édition, DUNOD (2019).
7. J.Dauchot, T.Doneux , « Chimie Analytique », 3^e édition. (2014).
8. M.hamon, F.Pellerin, M.Guernet, G.Mahuzier, « Méthodes spectrales et analyse organique », 2^{eme} édition, Tome 3, MASSON.
9. Sturat, B.H, « Infrared spectroscopy : Fundamentals and Applications », Wiley, 244p , (2004).
10. <http://scurca.univ-reims.fr/exl-doc/GED00000629.pdf>.
11. <http://www.emse.fr/fr/transfert/spin/formation/ressources/sam96/fichierspdf/gener-al.pdf>.
12. <http://nte-serveur.univ-lyon.fr/spectroscopie/gbdocspedagogiques.html>