

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

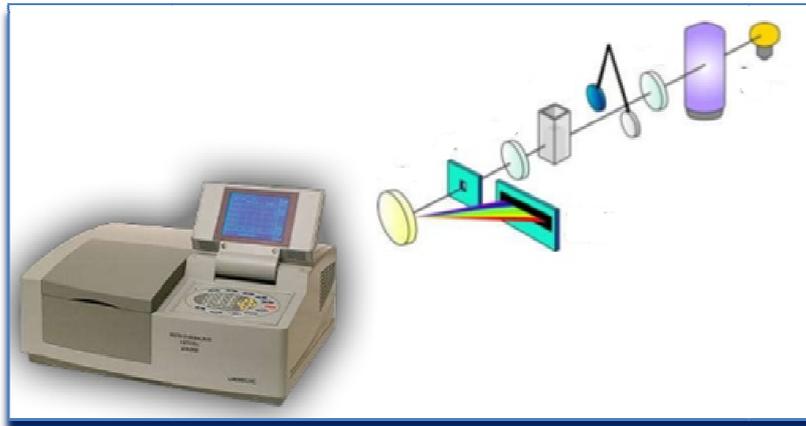


Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed Seddik Ben Yahia- Jijel
Faculté des Sciences et de la Technologie

Techniques d'Analyse



Dr. BELFERDI Fatiha

Cours destiné aux étudiants en Génie des Procédés, Chimie, Biologie, Agro-alimentaire et Pharmacie.

Préface

Le présent cours est destiné aux étudiants de Licence en génie des procédés, et à ceux de Master en génie de l'environnement. Il peut également servir aux étudiants en chimie, biologie, agro-alimentaire et pharmacie.

Ce cours est le fruit des enseignements que j'ai effectués pendant une dizaine d'années au département de Génie des procédés dans le module « Techniques d'Analyse » pour le niveau L3 et M1 ainsi que le module de chimie analytique pour le niveau L3 contrôle de qualité.

Le cours a été préparé et structuré d'une manière simplifiée, pour faciliter la compréhension aux étudiants et pallier à l'absence de travaux dirigés dans ce module.

Il est composé de trois chapitres conformes au programme dicté par le canevas de licence en génie des procédés:

Chapitre 1 : Méthodes chromatographiques : Généralités sur les méthodes chromatographiques ; Principe général de la séparation chromatographique ; Chromatographie en phase liquide; Chromatographie en phase gazeuse.

Chapitre 2 : Spectroscopie moléculaire UV-Visible: Principe ; Notions théoriques ; Appareillage ; spectre d'absorption UV-Visible.

Chapitre 3: Spectroscopie Infrarouge (IR) : Principe ; Notions théoriques ; Appareillage ; Interprétation d'un spectre d'absorption IR



A mes étudiants



Introduction	1
Chapitre I : Méthodes Chromatographiques	
I. Généralités sur la chromatographie	2
I.1. Définition	2
I.2. Historique	3
I.3. Principe de la chromatographie	3
I.4. Classification des techniques chromatographiques	3
I. 4.1. La technologie mise en œuvre	3
I.4.2. La nature des phases	3
I.4.3. Classification selon le mécanisme de rétention	4
I. 5. Choix de la technique	4
II. Grandeurs fondamentales et définitions	4
II. 1. Le chromatogramme	4
II. 2. Notion de temps	4
II. 3. Notion de volume	5
II. 4. Facteur de rétention	6
II. 5. Notion d'efficacité	6
II. 5. 1. Efficacité théorique (nombre de plateaux théoriques)	6
II. 5. 2. Efficacité réelle (nombre de plateaux théoriques effectifs)	7
II. 5. 3. Hauteur équivalent à un plateau théorique H	7
II. 6. Qualité de la séparation	8
II. 6. 1. Sélectivité	8
II. 6. 2. Résolution	8
II. 7. Notion de pression	9
II.7.1. Théorie cinétique	10
III. Chromatographie liquide	12
III. 1. Chromatographie sur couche mince (CCM)	13
III.1.1. Principe de la technique	13
III. 1. 2. Description d'une analyse par CCM selon l'ordre chronologique	13

III. 1. 3. Applications de la CCM	16
III. 2. Chromatographie sur colonne	16
III.2.1. Description d'une analyse par chromatographie sur colonne selon l'ordre chronologique	17
III.3. Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)	20
III.3.1. Introduction	20
III.3.2. Principe de la technique et Appareillage	21
III.4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	24
III. 4. 1. Introduction	24
III.4. 2. Principe de la technique et appareillage	24
III.4.2.1. Phase mobile (ou gaz vecteur)	25
III.4.2.2. Injecteur	25
III.4.2.3. Colonne	26
III.4.2.4. Four	28
III.4.2.4. 1. Programmation de la température	28
III.4.2.5. Détecteur	29
III.4.2.6. Phase stationnaire	30
Exercices	31

Chapitre II : Spectroscopie moléculaire UV – Visible

I. Introduction	34
II - Interaction rayonnement-matière	34
II.1 - Rayonnement - Nature ondulatoire	34
II.2. Le spectre électromagnétique	35
III. Spectrométrie UV-Visible	36
III.1. Domaine UV-Visible	36
III.2. Principe	36
III.3. Les différents types de transitions électroniques	36
III.4. Groupements chromophores	38
III.5. Effet de l'environnement sur les transitions électroniques	39
III.5.1. Terminologie	39
III.5.2. Effet de la substitution	39
III.5.3. Effet de la conjugaison	40
III.5.3.1. Conjugaison et couleur	41

III.5.4. Effet de solvant : solvatochromie	44
III.5.5. Effet du pH	44
III.6. Loi d'absorption de la lumière : Loi de Beer-Lambert	45
III.6.1. Validité de la loi de Beer-Lambert	46
III.6.2. Spectre d'absorption	46
III.6.3. Appareillage	47
III.6.3.1. Solvants	48
III.7. Analyse quantitative	49
III.7.1. Détermination de la concentration d'une solution par étalonnage	49
III. 8. Analyse qualitative	49
III. 8. 1. Règles de Woodward-Fieser et Scott	50
III. 8.2. Les diènes conjugués	50
III. 8. 3. Les composés carbonylés α , β -insaturés	51
Exercices	53

Chapitre III : La spectroscopie infrarouge (IR)

I. Introduction	54
II. Principe	54
II.1. Les molécules diatomiques	54
II.2. Molécules polyatomiques	55
III. Les divers types de vibrations	55
III.1. vibration de valence ou d'élongation (stretching)	55
III.2. Vibration de déformation angulaire (bending)	56
III.3. Appareillage	58
III.3.1. Préparation de l'échantillon	59
III. 4. Etude des principales bandes caractéristiques	61
III.5. Facteurs influençant l'absorption IR	64
VI. Application de l'IR à la détermination des fonctions organiques.	66
VI.1. Les alcanes	66
VI.2. Les alcènes	67
VI. 3. Les alcynes	68

VI. 4. Les hydrocarbures aromatiques	69
VI. 5. Les alcools	70
VI. 6. Les cétones	71
VI. 7. Les Aldéhydes	72
VI. 8. Acides carboxyliques	72
VI. 9. Les amines	73
VI.10. Les amides	74
VI. 11. Les éthers	75
VI. 12. Les nitriles	75
Exercices	76
Corrections des exercices	78
Références bibliographiques	82

Introduction

Les techniques d'analyse désignent un ensemble de méthodes de caractérisation et d'analyse pour la détection, l'identification ainsi que la quantification des produits connus ou non.

Les techniques d'analyse sont indispensables pour acquérir des informations sur la nature, la composition et la structure de composés par conséquent, elles sont utilisées dans de nombreux secteurs comme ceux de la chimie, de la pharmacie, de la biochimie, de la géologie, de l'agro-alimentaire, de l'environnement, du diagnostic médical, du contrôle de qualité, et de la police scientifique (déterminer la nature d'une trace, la provenance d'une terre, d'une peinture, etc).

Les techniques les plus connues sont la spectroscopie, l'analyse élémentaire, la chromatographie, l'électroanalyse, le titrage, l'analyse gravimétrique, l'analyse radiochimique, etc...

Chapitre I

Méthodes Chromatographiques



Méthodes Chromatographiques

I. Généralités sur la chromatographie

I. 1. Définition

La chromatographie est une technique de séparation dans laquelle, les constituants d'un mélange sont entraînés par un courant de phase mobile, qui peut être liquide, gaz ou fluide supercritique, le long d'une phase stationnaire, qui peut être du papier, de la gélatine, de la silice, un polymère, de la silice greffée etc. Chaque substance se déplace à une vitesse donnée, dépendant de ses caractéristiques (polaire, non polaire, ionique, etc...) et de celles des deux phases.

Intéressons nous maintenant à savoir comment est née la chromatographie, à travers un peu d'histoire :

I. 2. Historique

1906 : le botaniste russe Mikhail Semenovitch Tswett décrit la purification des pigments végétaux d'une feuille d'épinard. Il faisait écouler des solutions contenant ces substances dans une colonne remplie de carbonate de calcium finement divisé. Les pigments étaient entraînés avec de l'éther de pétrole (mélange de pentane et d'hexane). Les espèces ainsi séparées se manifestaient sous forme de bandes colorées dans la colonne ce qui explique l'origine du nom de la méthode (En grec, chroma signifie « couleur » et graphein, « écrire » enregistrement graphique des couleurs).

1931 : Khun et Lederer séparent à une échelle préparative les carotènes et des xanthophylles.

1938 : Reichstein introduit la chromatographie liquide.

1941 : Martin et Synge introduisent la chromatographie de partage sur gel de silice, et développent la pratique et la théorie de la chromatographie, ils obtiennent le prix Nobel en 1952.

1944 : Consden, Gordon et Martin inventent la chromatographie de partage sur papier, méthode très ingénieuse, permettant d'analyser non plus quelques milligrammes, mais quelques grammes d'acides aminés, de sucres, etc.

1940-1947 : Wilson, Devault, Weiss, Glückauf, Martin, Synge et d'autres développent des théories détaillées de la chromatographie.

1952 : mise au point de la chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).

1968 : mise au point de la chromatographie Liquide Haute Performance CLHP ou HPLC.

I. 3. Principe de la chromatographie

Le principe de la chromatographie repose sur l'équilibre de concentrations des composés présents entre deux phases en contact : la phase stationnaire et la phase mobile.

- La phase stationnaire est une phase qui reste en place, soit dans une colonne, ou fixée sur un support.
- La phase mobile est une phase qui se déplace sur ou à travers la phase stationnaire. L'entraînement à des vitesses différentes des composés présents dans la phase mobile conduit à leur séparation.
- L'élution est un processus au cours duquel les analytes sont entraînés à travers une phase stationnaire par le mouvement d'une phase mobile.

La séparation est fondée sur l'entraînement différentiel des composants du mélange. Ces derniers traversent la phase stationnaire avec des temps proportionnels à leurs propriétés principales (taille, structure, ...) ou à leur affinité avec la phase stationnaire (polarité, ...).

I. 4. Classification des techniques chromatographiques

Sous le nom de chromatographie, on regroupe un très grand nombre de techniques différentes qui, peuvent se classer en 3 catégories selon :

I. 4. 1. La technologie mise en œuvre

- Chromatographie sur colonne
- Chromatographie de surface: sur papier ou sur couche mince (CCM)

I. 4. 2. La nature des phases

-La nature de la phase mobile on distingue:

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

- Selon la nature de la phase stationnaire on distingue:

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

I. 4. 3. Classification selon le mécanisme de rétention

Cette classification repose sur la nature de la phase stationnaire et son interaction avec les substances à séparer. On distingue : la chromatographie d'adsorption, de partage, d'exclusion, d'échange d'ions et la chromatographie d'affinité.

I. 5. Choix de la technique

Les différentes techniques sont complémentaires plutôt que concurrentes. Le choix de l'une ou l'autre dépend de deux facteurs:

1. la nature du soluté : solide, liquide volatil, liquide peu volatil, gaz, macromolécule, espèce organique, ionique, polaire...
2. le but de l'analyse : purification de produits, contrôle de pureté, identification, suivi d'une réaction en continu pour optimiser des paramètres, ...

II. Grandeurs fondamentales et définitions

II. 1. Le chromatogramme

Le chromatogramme est un diagramme à deux dimensions présenté sur un écran ou sur papier. Il montre l'évolution d'un paramètre qui dépend de la concentration instantanée du soluté en sortie de colonne en fonction du temps (figure I.1). Le temps (ou le volume d'élution) est porté en abscisse et l'intensité du signal de détection en ordonnée.

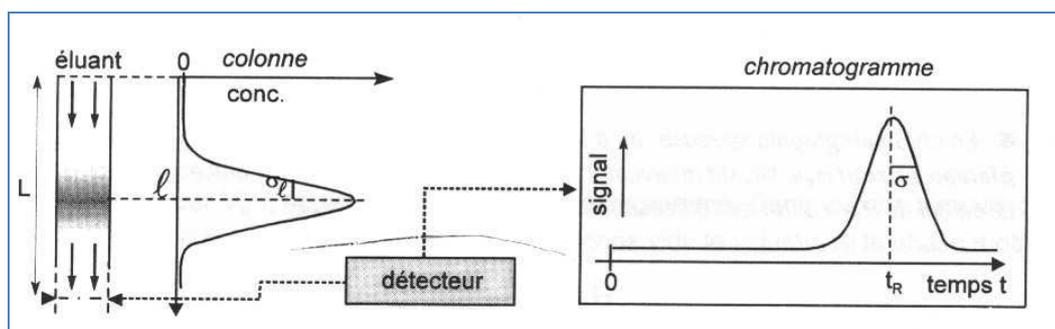


Figure I. 1 : représentation d'un chromatogramme

II. 2. Notion de temps

- ⚡ **Temps de rétention (t_R)** : Le temps de rétention (t_R) représente le temps écoulé par un constituant, entre le moment de l'injection et celui qui correspond sur le chromatogramme au maximum du pic qui lui est lié (Figure I.2).

✚ **Temps mort (t_m)** : Le temps mort (t_m) est le temps mis par un soluté non retenu par la phase stationnaire pour traverser la colonne (temps passé dans la phase mobile).

Remarque : La mesure du temps mort (t_m) peut se faire en injectant un composé dont on est sûr qu'il n'est pas retenu sur la colonne dans les conditions choisies.

✚ **Temps de rétention réduit (t_r')** : Le temps de rétention réduit est la différence entre le temps de rétention et le temps mort: $t_r' = t_r - t_m$

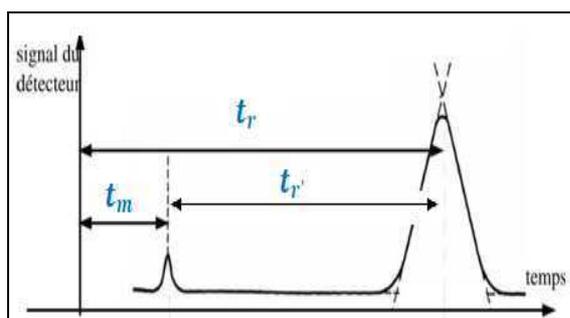


Figure I.2: courbe d'élution (ou chromatogramme)

II. 3. Notion de volume

✚ **Volume d'élution ou volume de rétention (V_r)** : Le volume de rétention (V_r) de chaque soluté représente le volume de phase mobile indispensable pour le faire migrer d'une extrémité à l'autre de la colonne. Sur le chromatogramme c'est le volume de la phase mobile qui s'est écoulé entre le moment de l'injection et celui correspondant au maximum du pic. Si D est le débit alors :

$$V_r = t_r \times D$$

✚ **Le volume mort V_m** : volume de phase mobile indispensable à l'élution d'un composé non retenu par la colonne.

$$V_m = t_m \times D$$

✚ **Le volume de rétention réduit** : c'est la différence entre volume de rétention et volume mort.

$$V_r' = V_r - V_m$$

✚ **Volume d'un pic (V_{pic})** : Il correspond au volume de phase mobile dans lequel le composé est dilué en sortie de colonne. Il vaut par définition :

$$V_{pic} = \omega \cdot D \quad (\omega : \text{correspond à la largeur du pic à la base})$$

II. 4. Facteur de rétention

Le facteur de rétention (ou de capacité) K' est le rapport de la quantité d'un même soluté dans la phase stationnaire et dans la phase mobile.

$$K'_A = m_S/m_M = C_S \cdot V_S / C_M \cdot V_M$$

V_S : volume de la phase stationnaire

V_M : volume de la phase mobile ou volume mort

K' est un paramètre très important en chromatographie. Ce n'est pas une constante, bien qu'il ne varie pas avec le débit ou la longueur de la colonne, car il dépend des conditions opératoires. Une valeur de K' élevée indique que le composé est fortement retenu par la colonne. Idéalement $1 < K' < 10$ pour les différents solutés d'un mélange. K' peut être déterminé expérimentalement par l'équation suivante :

$$K' = (t_r - t_m) / t_m = t_r' / t_m$$

II. 5. Notion d'efficacité

II. 5. 1. Efficacité théorique (nombre de plateaux théoriques)

En 1941, Martin et Synge ont considéré la colonne de chromatographie comme une colonne de distillation en N petits disques cylindriques successifs (Figure I. 3). La phase mobile progresse non pas de façon continue, mais par sauts successifs d'un plateau théorique à l'autre. Au niveau de chaque plateau, l'équilibre est réalisé entre les deux phases.

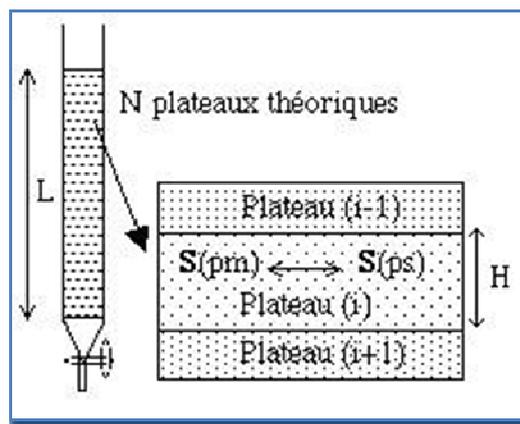


Figure I.3. Model des plateaux théoriques

L'efficacité est mesurée par le nombre de plateau théorique N . Les pics chromatographiques ont une allure gaussienne. Les caractéristiques géométriques de la

courbe de Gauss (Figure I. 4) permettent de calculer, pour un soluté donné, N à partir du chromatogramme.

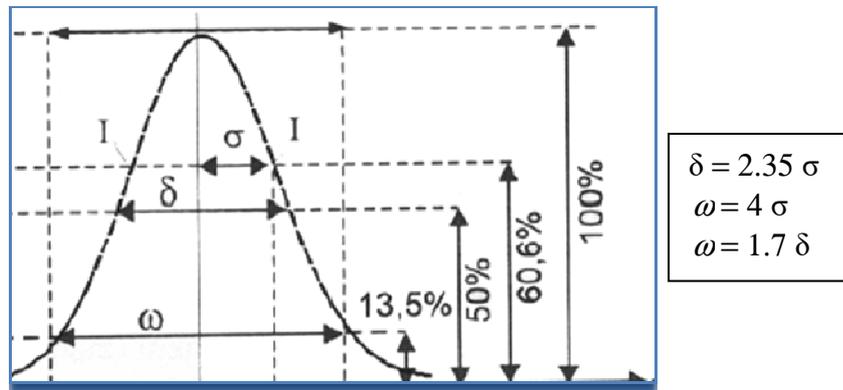


Figure I.4:Caractéristiques d'un pic idéal chromatographique

La largeur d'un pic est caractéristique de l'efficacité de la séparation : plus le pic est fin plus la chromatographie est efficace.

II. 5. 2. Efficacité réelle (nombre de plateaux théoriques effectifs N_{eff})

Lorsqu'on veut comparer les performances de deux colonnes de conception différentes, il est préférable de remplacer (t_r) par le temps réduit (t'_r) qui ne tient pas compte du temps mort (t_m) passé pour tout composé dans la phase mobile. Les expressions deviennent :

$$N_{eff} = 5,54 \left(\frac{t'_R}{\delta} \right)^2$$

$$N_{eff} = 16 \left(\frac{t'_R}{\omega} \right)^2$$

Ces grandeurs corrigées ne sont utiles à considérer que si le temps mort est grand par rapport au temps de rétention du composé. Ceci est notamment le cas en CPG lorsqu'on voulait comparer les performances d'une colonne capillaire et d'une colonne remplie.

II. 5. 3. Hauteur équivalent à un plateau théorique H

Connaissant la longueur L de la colonne et le nombre de plateaux théoriques (N) on définit une Hauteur Equivalente à un Plateau Théorique (HEPT ou H).

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

La HEPT permet de comparer entre elles des colonnes de différentes longueurs. Elle est fonction de différents paramètres qui eux-mêmes sont susceptibles de varier avec la vitesse de la phase mobile. En HPLC les HEPT sont comprises entre 0,001 et 1 mm. L'efficacité des colonnes chromatographiques augmente si le nombre de plateaux théoriques augmente ou si la hauteur équivalente à un plateau théorique diminue à longueur constante.

II. 6. Qualité de la séparation

II. 6. 1. Sélectivité (α)

Le facteur de sélectivité caractérise la distance qui sépare les sommets de deux pics. Ce facteur est égal au rapport des facteurs de capacité de deux solutés dont on veut réaliser la séparation. Il s'exprime par :

$$\alpha = (t_{r2} - t_m) / (t_{r1} - t_m) = k_2' / k_1' \quad (\text{Avec } k_2' > k_1')$$

k_2' : facteur de capacité du composé 2 ; k_1' : facteur de capacité du composé 1

La sélectivité doit être supérieure à 1.

Un exemple de calcul de la sélectivité est représenté dans la figure I.5.

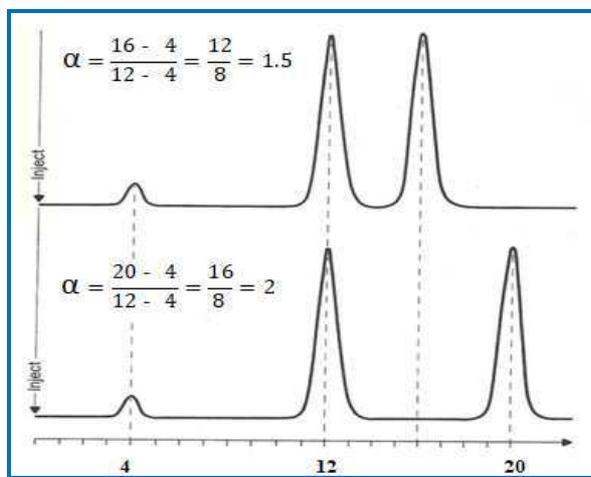


Figure I.5 : exemple de calcul de la sélectivité

II. 6. 2. Résolution

La résolution est la grandeur qui caractérise l'aptitude d'un système chromatographique (colonne, solutés, solvants) à séparer deux solutés. Le but de la chromatographie est d'obtenir la meilleure résolution dans le temps le plus court.

Si dans certaines conditions, deux constituants sortent à des temps proches, leurs pics risquent de se chevaucher. En optimisant les conditions analytiques, il est possible d'améliorer l'allure du chromatogramme. Le paramètre de résolution R quantifie la qualité

de cette séparation. Bien qu'on la mesure, en général, sur deux pics contigus, elle peut être calculée sur n'importe quel couple de pics.

$$R_S = 2 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(\omega_2 + \omega_1)} = 2 \frac{(t'_{R2} - t'_{R1})}{(\omega_2 + \omega_1)}$$

$R < 1$: mauvaise résolution

$1 < R < 1.4$: résolution acceptable

$1.4 < R < 1.6$: résolution optimale

$R > 1.6$: résolution trop bonne car le temps d'analyse est rallongé.

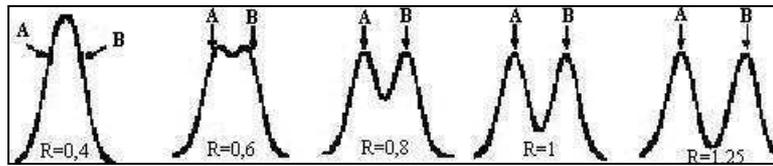


Figure I.6 : qualité de la séparation de deux pics d'intensité égale

La résolution est une mesure de la qualité d'une séparation et pour l'optimiser, il est parfois utile d'exprimer cette résolution en fonction de la sélectivité et de l'efficacité du dernier des deux pics étudiés.

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'_2}{1 + k'_2} \right)$$

II. 7. Notion de pression

A l'intérieur d'une colonne la phase mobile frotte sur les parois de la colonne mais aussi sur les particules de phase stationnaire. Ces frottements définissent la résistance à l'écoulement. En HPLC on travaille, en tête de colonne, à des pressions entre 20 et 150 bars. La perte de charge qui est la différence de pression entre l'entrée et la sortie de la colonne est donnée par *la loi de Darcy* :

$$\Delta P = \frac{\Phi \eta L u}{D^2}$$

Φ : facteur de résistance à l'écoulement (sans dimension).

D : diamètre moyen des particules (m).

η : viscosité (Pa.s).

L : longueur de la colonne (m).

u : vitesse de la phase mobile (m.s⁻¹).

II. 7. 1. Théorie cinétique

La théorie des plateaux a permis d'arriver à un certain nombre de conclusions expérimentalement vérifiées, mais elle néglige le fait que la chromatographie est un phénomène dynamique résultant du passage continu de la phase mobile sur la phase stationnaire. Les conditions dans lesquelles s'effectuent ces passages ne sont pas sans importance sur le phénomène chromatographique comme on peut le constater lorsque l'on modifie par exemple le débit de la phase mobile. On observe en effet, un élargissement ou un rétrécissement des pics que la théorie des plateaux ne peut pas exprimer.

La théorie cinétique due à Giddings lie le nombre de plateaux H (HEPT) d'une colonne à la vitesse d'écoulement de la phase mobile u dans la colonne (figure I.7). Cette théorie cinétique est représentée par l'équation de **Van Deemter** :

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u$$

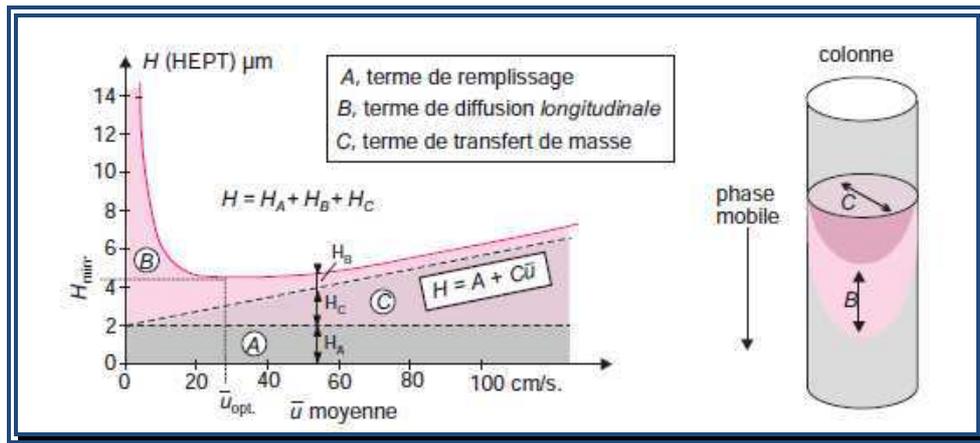


Figure I.7 : Allure de la courbe de Van Deemter

Les trois coefficients numériques expérimentaux A , B et C sont reliés à divers paramètres physico-chimiques, à la colonne et aux conditions opératoires. Si on choisit d'exprimer H en cm, A sera en cm, B en cm^2/s et C en s (la vitesse étant en cm/s). La courbe représentative de cette fonction est une branche d'hyperbole qui passe par un minimum (H_{min}) pour :

$$u_{opt} = \sqrt{\frac{B}{C}}$$

- u : vitesse moyenne de la phase mobile (gaz vecteur).

- **A** : diffusion turbulente due à l'écoulement irrégulier de la phase mobile à travers la phase stationnaire (particules plus ou moins régulières)

$$A=2\lambda d_p$$

λ : paramètre d'irrégularité du remplissage

d_p : diamètre des particules

- **B** : diffusion longitudinale, rend compte de la diffusion des molécules dans la direction de l'écoulement, elle est d'autant plus importante que la vitesse est faible

$$B=2 \cdot \gamma \cdot D_m$$

D_m coefficient de diffusion dans la phase mobile ; γ facteur de tortuosité

- **C** : transfert de masse des molécules de soluté entre la phase stationnaire C_S et la phase mobile C_M

$$C=C_S+C_M$$

En général :

- ✚ Toutes les molécules ne sont pas entraînées à la même vitesse.
- ✚ Le contact entre phase mobile et phase stationnaire ne s'effectue pas partout de manière identique.
- ✚ Les molécules de solutés dans la phase stationnaire sont situées à des distances variables de la phase mobile.

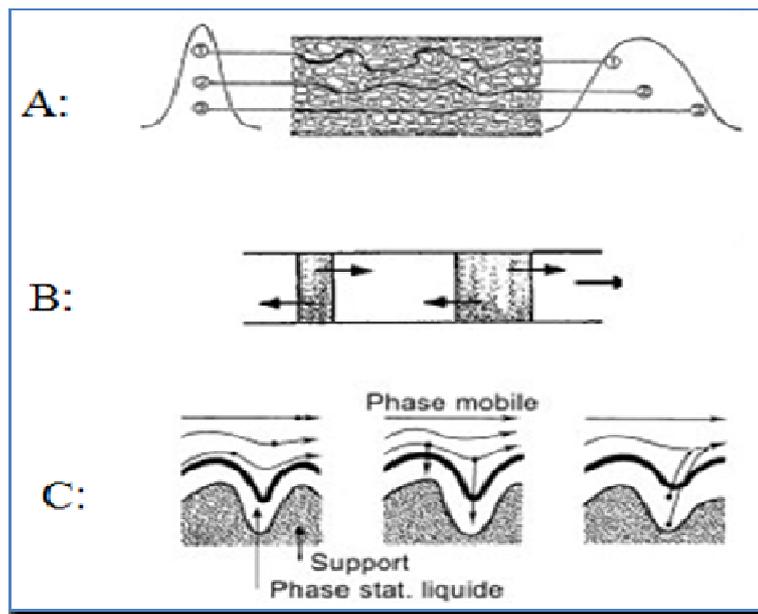


Figure I.8 : Equation de Van Deemter

III. La chromatographie liquide

La chromatographie liquide est une technique de séparation où la phase mobile est un liquide, souvent constituée d'un mélange de solvant, et la phase stationnaire est un solide. C'est la forme la plus anciennement connue en tant que méthode préparative de séparation. Cette catégorie très répandue peut être subdivisée d'après le phénomène mis en jeu :

- ✚ **La chromatographie liquide/solide (ou d'adsorption)** : elle est basée sur la répartition des solutés entre l'adsorbant fixe et la phase liquide mobile. Chacun des solutés est soumis à une force de rétention (par adsorption) et une force d'entraînement par la phase mobile. L'équilibre qui en résulte aboutit à une migration différentielle des solutés de l'échantillon à analyser, ce qui permet leur séparation.
- ✚ **Chromatographie liquide/liquide ou de partage (CLL)** : La phase stationnaire est un liquide immobilisé sur un matériau inerte et poreux qui n'a qu'un rôle de support. L'imprégnation, le procédé le plus ancien pour immobiliser un liquide, est une voie maintenant abandonnée, par suite d'un risque important de lessivage de la colonne.
- ✚ **Chromatographie liquide/phase greffée** : basée sur les différences de solubilité des molécules entre la phase stationnaire (liquide) et la phase mobile. Les phases stationnaires sont généralement des polymères liquides qui sont greffés sur un matériau inerte poreux qui n'a qu'un rôle de support. La séparation repose sur le *coefficient de partage* K du soluté entre les deux phases, un phénomène comparable à l'extraction d'une phase aqueuse avec un solvant dans une ampoule à décanter.
- ✚ **Chromatographie ionique** : La phase stationnaire solide comporte en surface des sites ioniques et la phase mobile est une solution-tampon aqueuse. La séparation met en jeu des échanges entre les ions de l'échantillon avec ceux de la phase stationnaire. La séparation repose sur les coefficients de distribution ionique.
- ✚ **Chromatographie d'exclusion** : La phase stationnaire est un matériau comportant des pores dont les dimensions sont choisies en rapport avec la taille des espèces à séparer. Les molécules sont séparées en fonction de leur taille et leur masse moléculaire.

III. 1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM), également connue sous le nom de chromatographie plane, est une technique très utile et simple à mettre en œuvre, elle s'effectue généralement sur une fine couche de silice (phase stationnaire) déposée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire (figure I.9)



Figure I.9 : plaques CCM

III. 1. 1. Principe de la technique

Le mélange à étudier est déposé sur la plaque CCM à l'aide d'un capillaire à environ 1 cm du bord puis, placé dans une cuve contenant l'éluant.

Les substances migrent sur la plaque de silice par capillarité à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant et entraîne les composés du mélange étudié. Si les vitesses de migration des composés sont différentes, ils seront séparés.

La plaque de chromatographie est ensuite lue directement si les composés sont visibles, ou placé sous une lumière UV. Ils peuvent également être révélés avec un révélateur chimique tel que l'iode (c'est le premier révélateur à tester, car il est non destructif et il permet de révéler des doubles liaisons et les halogénures). De nombreux autres existent comme : KMnO_4 , d'acide sulfurique acide phosphomolybdique, vanilline, ninhydrine...

III. 1. 2. Description d'une analyse par CCM selon l'ordre chronologique.

1. Préparation de la cuve chromatographique.

- ✚ Introduire l'éluant (exemple : 8 mL Hexane + 2 mL Acétate d'éthyle) dans la cuve
- ✚ Ajuster le niveau à environ 0,5 cm du fond de la cuve.
- ✚ Fermer le récipient (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant)

2. Choix de l'éluant

Il ya deux facteurs qui interviennent lors du choix de l'éluant :

- **la solubilité**: on doit être en mesure de dissoudre le soluté dans l'éluant pour que la migration se fasse.

- **la polarité** : la polarité de l'éluant va déterminer à quelle vitesse le composé migre :

Moins un composé est polaire, moins il s'accroche à l'adsorbant, plus il migre avec l'éluant, ce qui nécessite l'utilisation d'un éluant peu polaire. Plus un composé est polaire, plus il s'accroche à l'adsorbant, moins il migre avec l'éluant, et dans ce cas, on doit choisir un éluant polaire.

Tableau 1 : force éluante de quelques solvants.

Solvant	force éluante	Solvant	force éluante
Ether de pétrole	0.01	Acétone	0.56
Hexane	0.01	Dioxane	0.56
Cyclohexane	0.04	Butanol	0.56
Tétrachlorure de carbone	0.18	Acétate d'éthyle	0.58
Ether isopropylique	0.28	Acétonitrile	0.65
Toluène	0.29	Pyridine	0.71
Benzène	0.32	Diméthylsulfoxyde	0.75
Ether éthylique	0.38	Isopropanol	0.82
Chloroforme	0.40	Ethanol	0.88
Chlorure de méthylène	0.42	Méthanol	0.95
Dichloro éthane	0.49	Eau	> 0.95
		Acide acétique	> 0.95

3. Dépôt de l'échantillon sur la plaque.

- ✚ Dissoudre l'échantillon dans un solvant adéquat (Et_2O , CH_2Cl_2 , AcOEt ...), qui n'est pas forcément le même que l'éluant.
- ✚ Poser une goutte (ou deux) de la solution en un point situé à 1 cm de l'extrémité inférieure de la plaque; le diamètre de la tache doit être approximativement 2 mm pour la disposition de plusieurs produits (On peut spotter 2 à 3 fois si l'échantillon est très dilué).
- ✚ Sécher à l'air libre ou à l'aide d'un séchoir ; éventuellement faire de nouvelles applications.

4. Développement du chromatogramme

- ✚ Mettre la plaque dans la cuve en position verticale en veillant à ce que la ligne soit au-dessus du liquide.
- ✚ Refermer le récipient qui ne doit plus être déplacé.
- ✚ Faire éluer jusqu'à ~1 cm de l'extrémité supérieure de la plaque, retirer la plaque et tracer un trait pour marquer le front de solvant. (le trait peut être tracé à l'avance et servir de repère pour arrêter l'élution).

5. Révélation et calcul de R_f

- ✚ Sécher la plaque à l'air libre ou à l'aide d'un séchoir
- ✚ Révéler les taches sous une lampe U V (ou autre révélateur)
- ✚ Cercler les taches et pointer leur centre.
- ✚ Calculer les R_f

6. Résultats et interprétation d'une CCM

Dans une chromatographie sur couche mince, les composés apparaissent sous forme de taches rondes ou ovales, ou parfois sous forme des traînées si l'échantillon déposé était trop concentré.

Pour une phase stationnaire et une phase mobile données, chaque composé est caractérisé par son rapport frontal (R_f) calculé par l'expression suivante :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par le composé } x}{\text{distance parcourue par l'éluant } x_0}$$

La distance parcourue par le composé (x) est calculée à partir du niveau de déposition jusqu'au centre de la tache, tandis que la distance parcourue par l'éluant (x_0) est calculée à partir du niveau de déposition de l'échantillon jusqu'au front de l'éluant, marqué à la fin de l'élution (Figure I.10). Le R_f est un nombre sans unités qui varie entre 0 et 1; il est rapporté à deux décimales près (Exemple : $R_f = 0.73$).

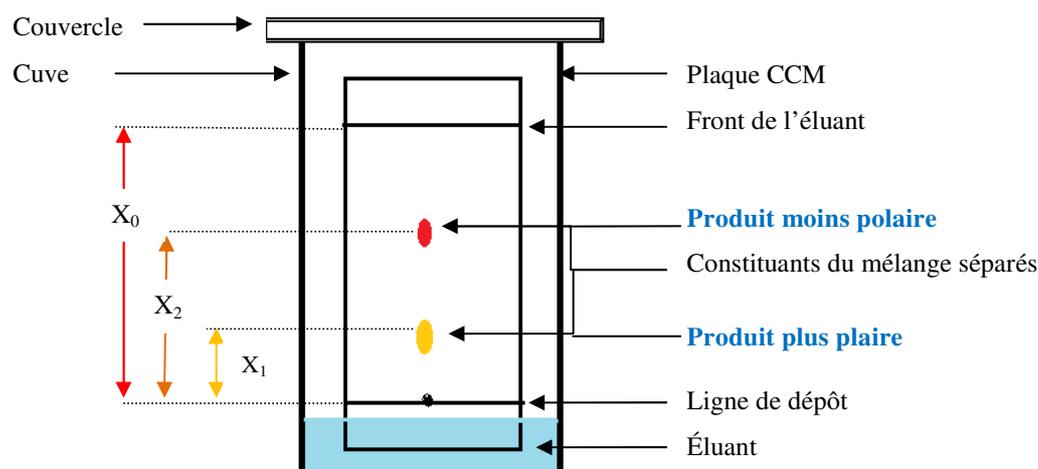


Figure 1. 10 : Plaque CCM

On définit l'efficacité N , la résolution R et le H de la plaque CCM pour un composé dont la distance de migration est x et le diamètre du spot w par les relations suivantes :

$$N = 16 \frac{x^2}{w^2}$$

$$R = 2 \frac{x_2 - x_1}{w_1 + w_2}$$

$$H = \frac{x}{N}$$

III. 1. 3. Applications de la CCM

- ✚ Vérifier la pureté d'un produit, quelques microgrammes suffisent
- ✚ Suivre l'avancement d'une réaction
- ✚ Vérifier l'efficacité d'une extraction liquide-liquide
- ✚ Déterminer l'éluant pour la chromatographie éclair sur gel de silice

III. 2. Chromatographie sur colonne

Cette chromatographie est basée sur le même principe que la CCM, sauf que la silice est placée dans une colonne et non sur une plaque. Le but est toutefois différent:

La chromatographie sur colonne sert à séparer des produits, et à purifier un produit de réaction. C'est la méthode standard de purification dans un laboratoire de chimie organique. Elle permet de purifier 50 mg à environ 20 g en laboratoire, et jusqu'à 1 kg en industrie. La quantité de la phase stationnaire (gel de silice) est en fonction de la quantité de produit à purifier, la hauteur et le diamètre de la colonne (tableau 2).

Tableau 2: masse du produit à purifier en fonction quantité du gel de silice et le diamètre de la colonne

Masse du produit	Masse de silice	Diamètre de la colonne	Hauteur de silice obtenue
15-500 mg	15 g	30 mm	45 mm
500 mg – 3 g	30 mg	40 mm	50 mm
2 – 15 g	100 g	70 mm	55 mm

Ils existent deux types de chromatographie :

- **Chromatographie par gravité:** elle utilise des particules de silice de 70 à 200 μm et le solvant s'écoule au goutte-à-goutte. Cette technique demande une plus grande quantité de silice et de solvant.
- **Chromatographie éclair (flash):** elle utilise des particules de silice de 35 à 70 μm et le solvant s'écoule sous pression d'air comprimé.

III. 2. 1. Description d'une analyse par chromatographie sur colonne selon l'ordre chronologique

1. Choix de l'éluant

Il faut d'abord, faire les premiers tests sur CCM avec différents éluants et cela pour choisir l'éluant le plus approprié (qui donne une meilleur séparation), tout en recherchant un $R_f \sim 0.3$ pour le produit le moins polaire. La polarité de l'éluant peut rester la même tout au long de la chromatographie (élution isocratique) ou aller en augmentant (gradient de solvant).

2. Remplissage de la colonne

C'est l'étape clé pour la réussite d'une séparation. Malheureusement, c'est également la plus délicate car le remplissage doit être le plus homogène possible et exempt de bulle d'air. Il existe deux modes de remplissage :

2.1. Remplissage par voie humide.

- Dans un bécher, on prépare un mélange homogène de l'adsorbant et du moins polaire des solvants en ajoutant par petites quantités l'adsorbant dans le solvant pour obtenir une bouillie suffisamment fluide pour couler facilement.

- A l'aide d'un entonnoir, on verse suffisamment de bouillie dans la colonne pour que l'adsorbant qui se dépose progressivement forme une couche d'environ 2 cm.
- On tapote les parois de la colonne pour faciliter le tassement de l'adsorbant.
- On ouvre le robinet pour que le solvant s'écoule lentement et on continue l'addition de la bouillie.
- Quand tout l'adsorbant est introduit, on laisse décanter jusqu'à ce que le liquide qui surnage soit limpide.

Remarque : Durant l'opération, on veillera à ce que le niveau de solvant soit toujours supérieur à celui de l'adsorbant.

2.2. Remplissage par voie sèche.

- A l'aide d'un entonnoir, on remplit la colonne au deux tiers par le moins polaire des deux solvants.
- l'adsorbant en poudre est ajouté ensuite, en portions successives dans la colonne
- On tapote les parois de la colonne pour obtenir un tassement maximal.
- Quand la première portion forme une couche d'environ 2 cm, on ouvre le robinet pour faire couler lentement le solvant.
- On termine comme précédemment.

3. Dépôt du mélange à séparer.

L'échantillon liquide est déposé tel quel, tandis que l'échantillon solide est dissout dans un minimum du moins polaire des deux solvants.

Avant de réaliser le dépôt, on ajuste d'abord le niveau du solvant pour qu'il soit juste au-dessus de la surface supérieure de l'adsorbant. Ensuite, robinet fermé, à l'aide d'une pipette pasteur on coule l'échantillon au sommet de la colonne en essayant de le distribuer de la façon la plus homogène possible sur les parois de la colonne et sans la déformer. On ouvre le robinet un petit instant pour que l'échantillon pénètre dans la colonne et soit adsorbé en une zone cylindrique de faible épaisseur au sommet de la colonne.

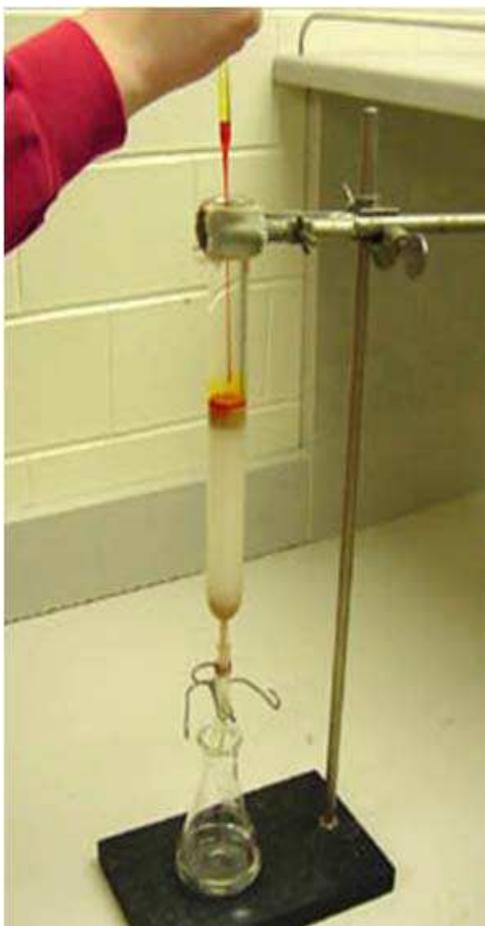


Figure I.11: colonne chromatographique

4. Alimentation de la colonne en éluant.

La colonne peut être alimentée en continu à l'aide d'une ampoule à décanter ou bien en ajoutant manuellement l'éluant. Le débit de l'alimentation est réglé de façon qu'il soit le même que celui de l'écoulement au bas de la colonne. Il ne faut jamais attendre que la colonne soit presque à sec pour la réalimenter en éluant, parce qu'il ya un risque de fissures apparaissant dans la colonne et l'élution se transformerait en simple ruissellement. L'adsorbant devra toujours être surmonté d'au moins 2 cm de l'éluant.

5. Récupération et analyse des fractions.

Les fractions sont récupérées dans des tubes numérotés, puis analysées par CCM (Figure I.12). Les fractions de même composition seront rassemblées, puis concentrées à l'évaporateur rotatif.

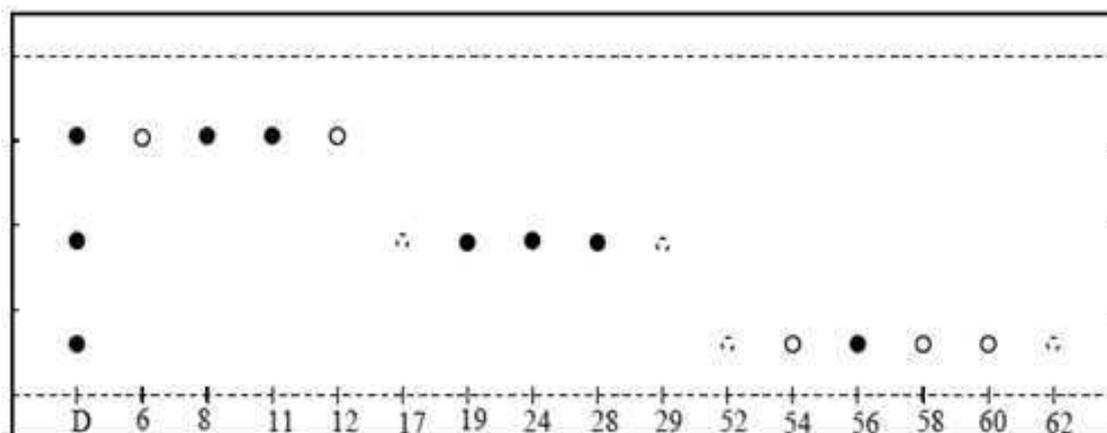


Figure I.12: analyse des fractions par CCM

Les paramètres influençant la séparation sont :

- ✚ Le diamètre et la hauteur de la colonne
- ✚ La quantité de la phase stationnaire et sa granulométrie
- ✚ Le débit de l'éluant et sa polarité

III. 3. Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

III. 3. 1. Introduction

La chromatographie liquide de haute performance (HPLC) est devenue une méthode de séparation analytique très polyvalente et puissante au cours des années. C'est une forme avancée de la chromatographie liquide qui permet de séparer les composants d'un mélange non volatile, thermosensible, de polarité élevée afin de les identifier et les quantifier. Cette forme de chromatographie est fréquemment utilisée en biochimie, ainsi qu'en chimie analytique. A l'origine le P de H.P.L.C correspondait au mot Pression, la grande efficacité de la technique fait que le P désigne actuellement le mot Performance.

La HPLC a le même principe fondamental que la chromatographie. La seule différence est que la vitesse et la sensibilité de la HPLC est beaucoup plus élevée à cause de l'application d'une haute pression.

L'importance de pression appliquée dépend de plusieurs facteurs tels que la longueur et le diamètre de la colonne, le débit, la taille des particules pendant la phase stationnaire, et la composition de phase mobile.

III. 3. 2. Principe de la technique et appareillage

✚ **Réservoir** : Un appareil de HPLC comprend un ou plusieurs réservoirs, en verre ou en acier inoxydable résistants à la corrosion et contenant chacun au moins 500 mL de solvant. L'élution peut se faire avec un seul solvant de composition constante ou à l'aide d'un mélange de deux solvants de polarités différentes en proportions variables. Le rapport des volumes des deux solvants qu'on mélange est modifié de manière continue ou discontinue, selon un programme préétabli. La programmation de solvant est destinée à améliorer l'efficacité de la séparation.

✚ **Pompe** : Elle délivre en continu la phase mobile. La pompe est équipée d'un système de gradient permettant de réaliser une programmation de la nature du solvant. Elle permet de travailler:

- en mode isocratique, c'est-à-dire avec 100% d'un même éluant tout au long de l'analyse.
- en mode gradient, c'est-à-dire avec une variation de la concentration des constituants du mélange d'éluants.

Le système de pompage doit atteindre des pressions élevées: ~200 bars (20 000kPa) ou plus. Il existe deux types de pompes:

Pompes à seringue ou à déplacement : Le solvant est poussé par un piston qui se déplace à vitesse constante dans une chambre cylindrique de type seringue, à volume constant. De fortes pressions peuvent être atteintes et la programmation d'un gradient d'élution peut se faire facilement.

Pompes alternatives : Le solvant est pompé par le mouvement de va et vient d'un piston. Environ 10-400 μ L de phase mobile sont déplacés à chaque mouvement. Les pressions atteintes peuvent être élevées (jusqu'à ~700 bars).

✚ **Système d'injecteur**: L'échantillon est injecté dans la colonne par un injecteur qui est capable de traiter des volumes témoin de l'ordre de 0.1-100 mL sous des hautes pressions de jusqu'à 600 bars.

✚ **Colonne**: Une colonne est un tube construit d'un matériau inerte aux produits chimiques, souvent en inox ou en verre, de diamètre compris entre 4 et 20 mm pour des longueurs généralement de 15 à 30 cm.



Figure I.13: colonne HPLC

- ✚ **Détecteur** : Le détecteur dans un système de HPLC est situé à l'extrémité de la colonne. Différents types de détecteurs sont employés tels que, les détecteurs de fluorescence, masse-spectrométriques, UV-spectroscopiques, et électrochimiques.
- ✚ **Systèmes de collecte des informations** : Le signe du détecteur est reçu par les enregistreurs qui sont utilisés pour traiter, enregistrer, et reproduire des caractéristiques chromatographiques. La caractéristique est interprétée et intégrée par un ordinateur qui produit un chromatographe convivial.

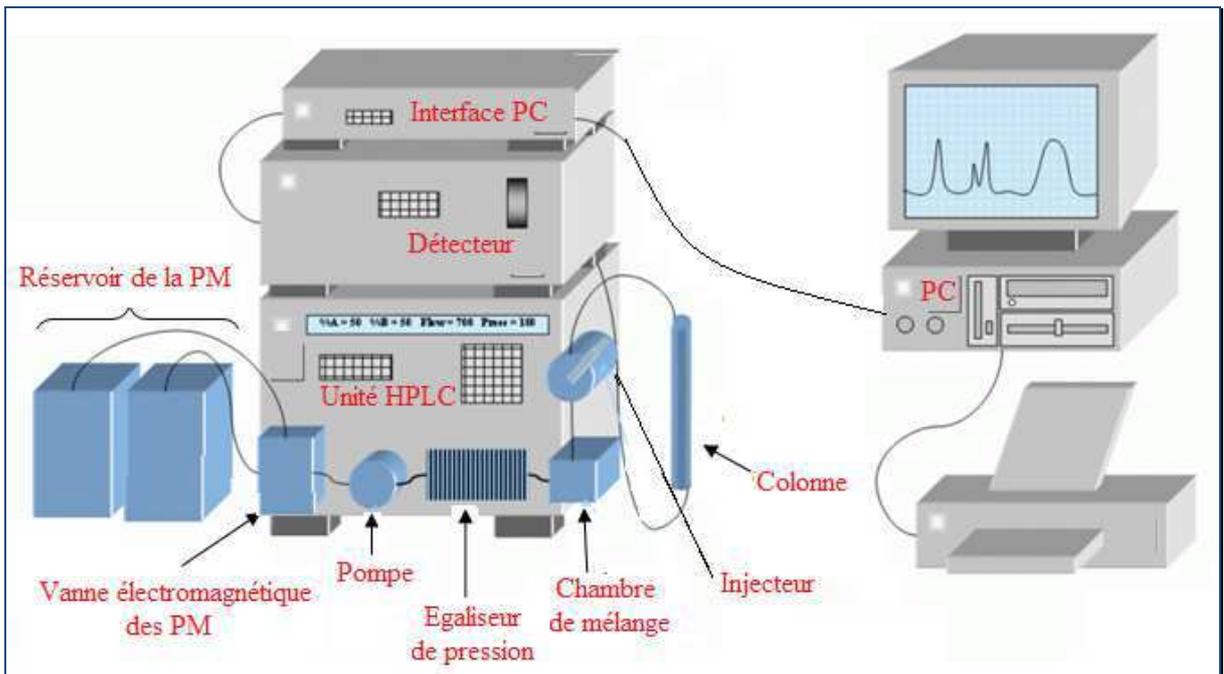


Figure I.14 : Schéma d'un appareil HPLC

- ✚ **La phase stationnaire** : il existe deux types différents :

- **La phase normale**

La phase normale est constituée de gel de silice (figure I. 15). Ce matériau est très polaire, ce qui nécessite d'utiliser un éluant non polaire.

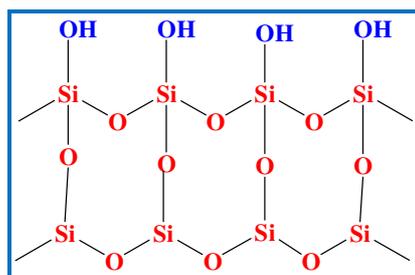


Figure I.15: structure du gel de silice

En général, les gels de silice sont stables dans une grande gamme de pH mais, ils ne supportent pas des pH trop extrêmes. Il y a des risques de dissolution pour des pH trop acides ou trop basiques, on se limite donc à la gamme $2 < \text{pH} < 12$. Des gels spéciaux existent pour une utilisation à pH extrêmes.

▪ La phase inverse

La phase stationnaire est peu polaire ou apolaire, elle est majoritairement composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (Figure I.16).

Cette phase nécessite donc un éluant polaire. Dans ce cas, les composants polaires ont une plus grande affinité pour la phase mobile et sont donc élués rapidement. Inversement les solutés peu polaires ont une plus grande affinité pour la phase stationnaire et sont élués lentement.

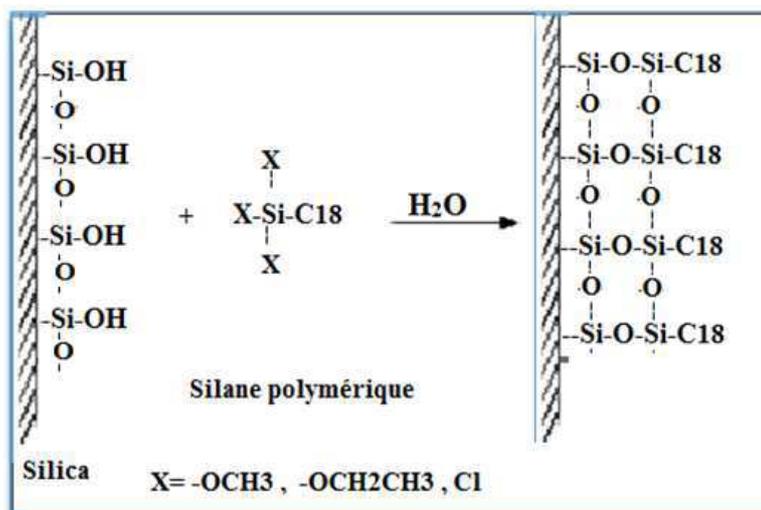


Figure I.16: silice greffée

✚ La phase mobile

- si la phase stationnaire est polaire, on utilisera une phase mobile peu polaire la chromatographie est dite en phase normale.

- si la phase stationnaire est très peu polaire, on choisira une phase mobile polaire (le plus souvent des mélanges de méthanol ou d'acétonitrile avec de l'eau), c'est la chromatographie en phase inverse.

III. 4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

III. 4. 1. Introduction

Le concept de Chromatographie en phase gazeuse a été introduit par Archer Martin et Richard Synge en 1941 (Nobel Chimie en 1952 pour le développement de la chromatographie de partage liquide liquide). Elle constitue la méthode la plus puissante et la plus fine pour séparer, identifier et quantifier les composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. C'est une chromatographie dont la phase mobile est un gaz et la séparation exige des quantités de l'ordre de mg seulement, parfois même de μg .

Il existe deux types de chromatographies en phase gazeuse (CPG) :

- **Chromatographie gaz-solide (CGS):** C'est une chromatographie d'adsorption, peu utilisée, elle est utilisée dans l'analyse de mélanges de gaz ou de liquides à bas points d'ébullition.
- **Chromatographie gaz-liquide (CGL):** basé sur le partage des constituants à séparer entre une phase gazeuse mobile inerte appelé gaz vecteur et une phase stationnaire liquide immobilisée sur un support solide par imprégnation ou par greffage. Cette dernière est très utilisée dans de nombreux domaines.

III. 4. 2. Principe de la technique et appareillage

L'échantillon (un liquide volatil) est introduit en tête de colonne à l'état de gaz à l'aide d'une microsiringue qui va traverser une pastille en caoutchouc, appelée septum, pour se retrouver dans une petite chambre en amont de la colonne appelée injecteur. L'injecteur est traversé par le gaz vecteur et porté à une température appropriée à la volatilité de l'échantillon. Les quantités injectées peuvent varier de 0.2 à 5.0 μl . La température de la chambre d'injection est donc, par principe, toujours supérieure à celle de la colonne.

Les constituants gazeux ou volatils de l'échantillon vont ensuite être emportés par un gaz porteur (phase mobile) qui va les amener dans la phase stationnaire (la colonne) pour qu'ils y soient séparés. Plus un constituant possède d'affinité avec la phase stationnaire, plus il prendra de temps pour sortir de la colonne. A la sortie de la colonne se trouve un détecteur relié à un enregistreur.

Si l'échantillon contient, en plus des composés volatils à analyser, des composés totalement non volatilisables aux températures de l'analyse, ceux-ci vont se déposer et encrasser la tête de colonne. La colonne va perdre peu à peu ses performances, il faudra en changer ou la nettoyer).

L'appareil de la chromatographie en phase gazeuse comprend trois parties essentielles : injecteur, colonne et détecteur à travers lesquels un gaz vecteur entraîne les substances d'un mélange à séparer (figure I.17).

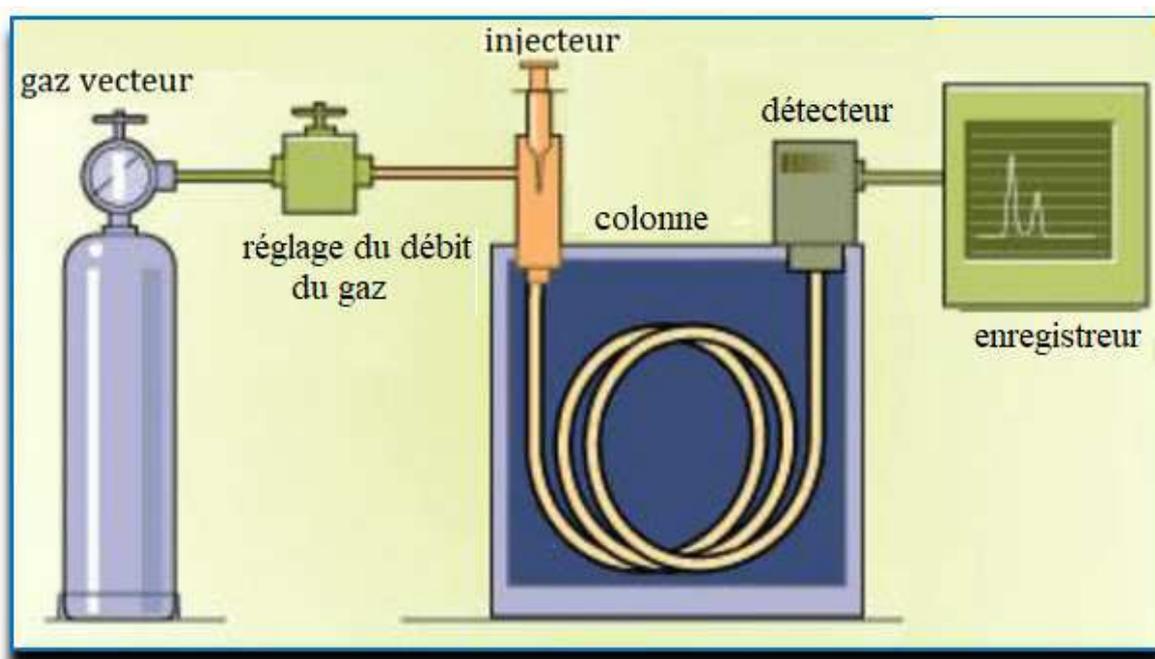


Figure I.17 : Schéma d'un appareil de chromatographie gaz

III. 4. 2. 1. Phase mobile (ou gaz vecteur)

L'élution est assurée par un flux de gaz inerte appelé gaz vecteur ou porteur. Ce dernier doit être pur, inerte (il ne doit pas réagir avec les constituants du mélange à séparer) et le moins miscible possible avec la phase stationnaire.

L'hélium est le gaz porteur le plus courant, bien que l'on utilise aussi l'argon, l'azote et l'hydrogène. Le choix du gaz vecteur est conditionné par l'efficacité de la séparation et la sensibilité du détecteur.

III. 4. 2. 2. Injecteur

Son rôle est d'introduire un liquide qui doit être vaporisé instantanément avant d'être transféré dans la colonne. Sa température doit être supérieure d'environ 20°C à la température du produit le moins volatil.

III. 4. 2. 3. Colonne

La colonne est l'organe principal, elle est placée dans un four pour maintenir une température suffisante afin de garder les solutés en phase gazeuse pendant l'analyse.

Elle est constituée d'un tube généralement métallique de diamètre intérieur de l'ordre du millimètre. Ce tube contient la phase stationnaire composée d'un liquide adsorbant fixé sur un solide inerte. On distingue les colonnes remplies (à garnissage), les colonnes capillaires et les colonnes semi-capillaires (figure 18-19)

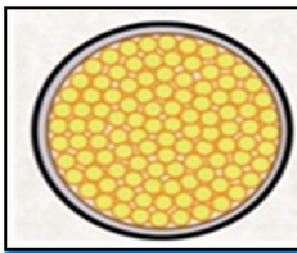


Figure I.18 : colonnes remplies

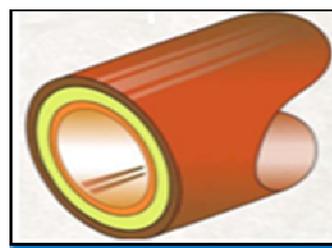


Figure I.19 colonne capillaire

• **Colonne remplie** (à garnissage):

Au début des années 50, toutes les analyses chromatographiques s'effectuaient sur des colonnes remplies. Aujourd'hui, les colonnes remplies sont en voie d'abandon au profit des colonnes capillaires beaucoup plus performantes. Les colonnes remplies sont des tubes en verre, en métal (acier inoxydable, cuivre ou aluminium) de 1 à 3 mètres de longueur et de 2 à 4 mm de diamètre intérieur. Les colonnes remplies sont enroulées en spirales d'environ 15 cm de diamètre. Ces colonnes supportent des débits de gaz vecteur variant de 10 à 40 ml min⁻¹. Chaque colonne est remplie du support granuleux désiré :

- en CPG d'adsorption, on utilise la silice.
- en CPG liquide on utilise le polyéthylène glycol.



Colonne en Cuivre (2m x 6,4 mm)

Colonne en Aluminium (6m x 1cm)

Colonne en Verre (2m x 0,25)

Figure I.20: colonnes à remplissage

- **Colonne capillaire (ou colonne tubulaire ouverte)**

Les colonnes capillaires sont, comme leur nom l'indique, des colonnes de très faible diamètre interne qui varie de 0,1 à 0,35 mm et de longueur de 15 à 100 m (Figure I.21). Elles permettent des séparations sur des quantités très faibles d'échantillon (inférieur à 1 µg).

Elles se présentent sous forme de tubes vides (enroulement spiral) à l'intérieur desquels la phase stationnaire est déposée sur la paroi interne sous forme d'un film régulier.

Les colonnes capillaires sont préparées à partir de la silice fondue très pure. Leurs parois sont renforcées par une gaine extérieure en polyimide (polymère mécaniquement et chimiquement protecteur $T_{\max} = 370^{\circ}\text{C}$).

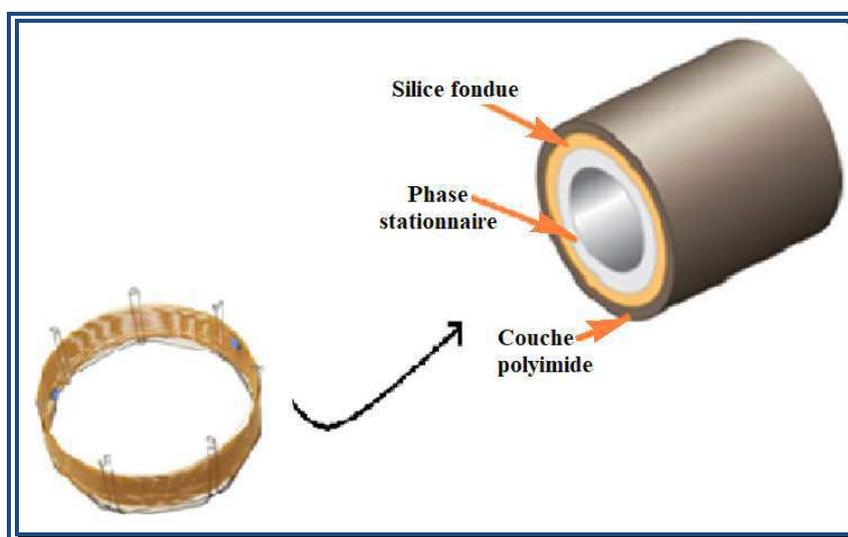


Figure I.21: colonne capillaire

- **Les colonnes semi-capillaires**

Ces colonnes semi-capillaires sont apparues plus récemment (vers 1983). Elles sont l'intermédiaire entre la colonne remplie et la colonne capillaire. Elles sont constituées d'un tube de 0,53 mm de diamètre interne et de 5 à 50 m de longueur. Les colonnes-semi capillaires sont préparées suivant la même technologie que les colonnes capillaires avec un diamètre intérieur plus élevé.

La résolution de ces colonnes est plus faible que celle des colonnes capillaires (plus le diamètre est petit meilleure est la résolution) mais elle est nettement supérieure à celle d'une colonne remplie.

III. 4. 2. 4. Four

La colonne est placée dans un four qui permet une programmation de température ajustable de 20°C (-100°C pour certains systèmes) à 450°C et qui est également équipé d'un système de refroidissement rapide.

Dans certaines analyses on travaille en technique isotherme : la température du four (et donc de la colonne) est la même pendant toute l'analyse. Pour des analyses complexes, pour des échantillons comportant des analytes aux températures d'ébullition très différentes, il n'est pas possible d'obtenir une séparation convenable en technique isotherme, on travaille alors en gradient de température.

III. 4. 2. 4. 1. Programmation de la température en CPG

Les températures utilisables en pratique dépendent des domaines de stabilité en température de la colonne utilisée, et de ceux des composés analysés. Plus la température du four est élevée, plus les analytes se déplacent rapidement dans la colonne, mais moins ils interagissent avec la phase stationnaire, et donc moins séparés. Plus la température du four est basse, meilleure est la séparation des analytes mais plus longue est l'analyse.

Le choix de la température est donc un compromis entre la durée de l'analyse et le niveau de séparation désiré. D'une manière générale, une méthode isotherme tend à donner des pics larges pour les espèces les plus retenues, et donc une mauvaise séparation. Ce phénomène est dû à la diffusion c'est-à-dire plus une espèce chimique circule longuement dans la colonne, plus elle a le temps de diffuser, élargissant ainsi le pic, et donc diminuant la hauteur des pics.

Un exemple sur la différence entre une séparation isotherme, et en gradient de température est illustré dans la **figure I.22**.

La figure (I.22) reproduit trois chromatogrammes d'un même échantillon réalisés dans des conditions différentes :

-Chromatogramme (a) avec une méthode isotherme à 45°C : les produits légers sont séparés. Par contre les produits lourds (à haut point d'ébullition) traînent sur la colonne, ils apparaissent sous forme de pics très larges. et leur séparation est trop longue.

-Chromatogramme (b) avec une méthode isotherme à 145°C : les produits légers sont élués ensemble (T trop élevée) et ne sont pas séparés, les produits lourds ont des pics larges.

-Chromatogramme (c): avec une méthode utilisant un gradient de température de 30 °C à 180 °C sur 30 minutes : les pics sont bien résolus, également espacés.

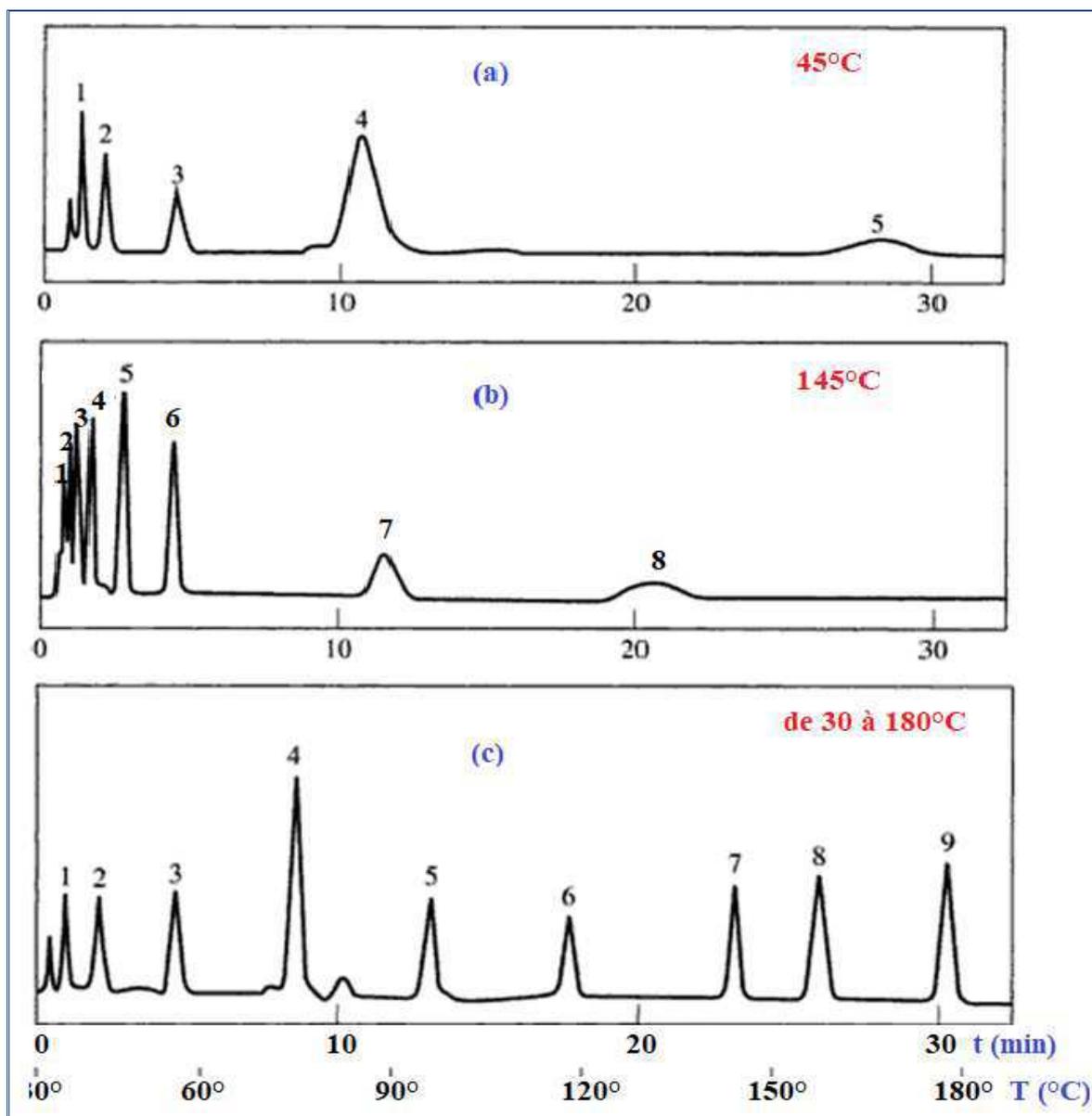


Figure I.22 : effet de la température sur la séparation dans la CPG

III. 4. 2. 5. Détecteur

Il permet de mettre en évidence le passage des différents gaz séparés par la colonne. On peut disposer :

- D'un spectromètre de masse : c'est l'un des détecteurs les plus puissants pour la chromatographie gazeuse. On appelle GC-MS (Gaz Chromatography-Mass Spectroscopy) la combinaison de la chromatographie gazeuse et de la spectrométrie de masse.
- D'un détecteur à conductibilité thermique (catharomètre) : c'est le détecteur le plus répandu aux débuts de la chromatographie en phase gazeuse mais, il est très peu utilisé de nos jours.

- D'un détecteur à ionisation de flamme (FID) : c'est le plus utilisé en CPG.
- Des détecteurs spécifiques : comme le détecteur thermo-ionique spécifique des composés azotés et phosphorés, celui à capture d'électrons (DCE) particulièrement sensible aux composés halogénés, celui à photométrie de flamme spécifique des composés contenant du soufre et du phosphore et le détecteur à photoionisation (PID) pour des composés aromatiques.

III. 4. 2. 6. Phase stationnaire

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.

- **Polysiloxanes** : Les polysiloxanes (connus sous le nom d'huiles et gommages silicones) correspondent à la répétition d'un motif de base comportant deux chaînes carbonées par atome de silicium (figure I.23). Grâce à leur gamme de température très étendue (-50°C à 325°C), ce sont, pour les colonnes capillaires, les phases les plus utilisées.

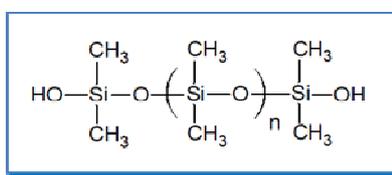


Figure I.23: structure des polysiloxanes

- **Polyéthylèneglycols (PEG)** : Polyéthylèneglycols sont des polyéthers linéaires de masse molaire inférieure à 20 000 g·mol⁻¹ fabriqués à partir de monomères d'éthylène glycol, comme exemple la **Carbowax®** est une colonne capillaire comportant un film polaire de polyéthylène glycol greffé en surface, film qui constitue la phase stationnaire.

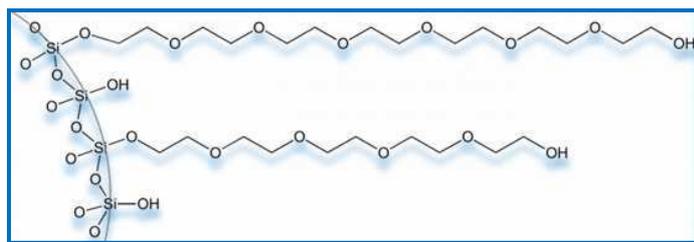


Figure I.24 : Illustration des phases stationnaires polaire Carbowax®

Exercices

Exercice 1

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 :

a) V_M, V_A, V_B ; b) V'_A, V'_B ; c) k'_A, k'_B ; d) α et H

2. Quelles sont les largeurs à la base des pics A et B ?

Exercice 2 : Deux étudiants ont réalisé deux plaques CCM d'un mélange de deux composés. Le premier a préparé une solution dans l'éther diéthylique (plaque 1) tandis que le deuxième a opté pour un dépôt des produits non dilué (plaque 2). Les CCM obtenues après élution sont représentées ci-après.

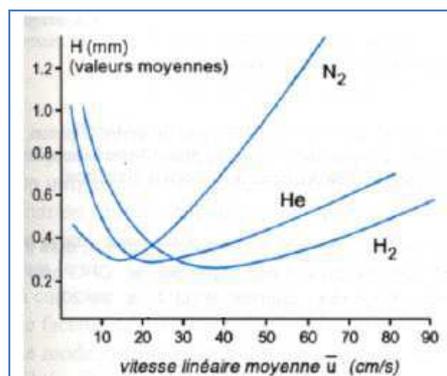


Plaque (1)



plaque (2)

1. A votre avis, quelle est la meilleure des deux CCM ? Pourquoi ?
2. Sur la plaque 2, les taches sont déformées et les R_f des deux produits sont plus grands que celle de la plaque 1. Expliquer pourquoi ?
3. Les deux chimistes ont injecté le mélange en CPG.
 - A leur place, et en tenant compte notamment de l'allure des courbes de Van Deemter ci-après, quel gaz vecteur utiliseriez-vous ? Justifier ?



Exercice 3

Au laboratoire, nous avons en réserve ces quatre solvants de qualité HPLC : hexane, eau, éther diéthylique, méthanol. Classer ces quatre solvants selon leur pouvoir éluant lorsque l'on utilise :

- une colonne avec une phase polaire normale,
- une colonne avec une phase à polarité inversée

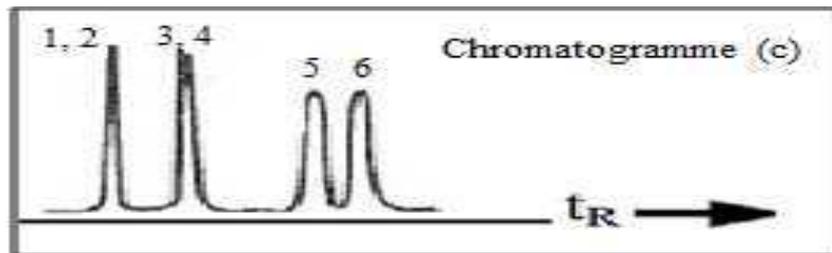
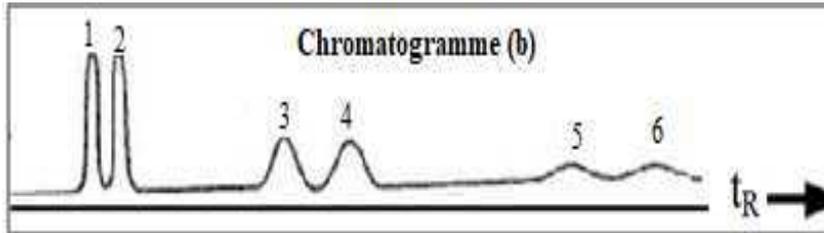
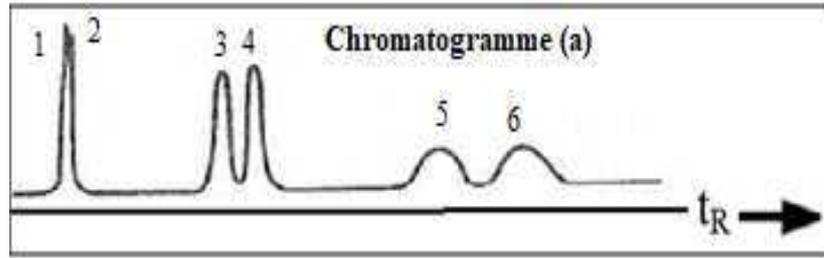
Exercice 4

Les temps de rétention de 2 constituants A et B d'un mélange à séparer sont respectivement égaux à 10.60 et 11.53 min sur une colonne de 25 cm. Une espèce non retenue passe sur la colonne en 1.20 min. Les largeurs (à la base) des pics de A et B sont respectivement égales à 1.05 et 1.15 min. Calculer :

1. La résolution de la colonne
2. Le nombre moyen de plateaux théoriques dans la colonne
3. La hauteur équivalente à un plateau théorique
4. La longueur de la colonne nécessaire pour obtenir une résolution de 1.5
5. Le temps requis pour éluer la substance B sur cette colonne

Exercice 5

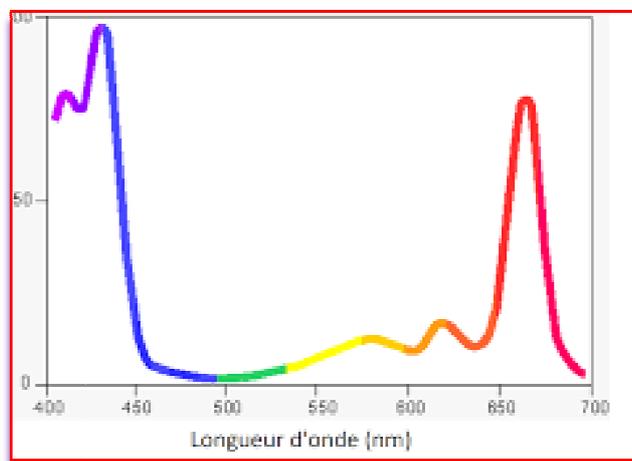
Pour la séparation d'un mélange de 6 constituants, nous avons réalisé trois essais en changeant à chaque fois les conditions expérimentale. Les chromatogrammes obtenus sont représentés ci-après :



1. Interpréter les trois chromatogrammes
2. Proposer une solution pour bien séparer tous les pics. Justifier

Chapitre II

Spectroscopie moléculaire UV – Visible



Spectroscopie moléculaire UV – Visible

I. Introduction

La spectroscopie est l'étude du rayonnement électromagnétique émis, absorbé ou diffusé par les atomes ou les molécules. Elle regroupe l'ensemble des méthodes d'analyses permettant d'accéder à la composition et à la structure de la matière.

II. Interaction rayonnement-matière

II. 1. Rayonnement - Nature ondulatoire

Un rayonnement électromagnétique (ou radiation électromagnétique) est une onde constituée par deux champs oscillants : un champ électrique E et un champ magnétique B perpendiculaires entre eux et perpendiculaires à la direction de propagation (figure II.1).

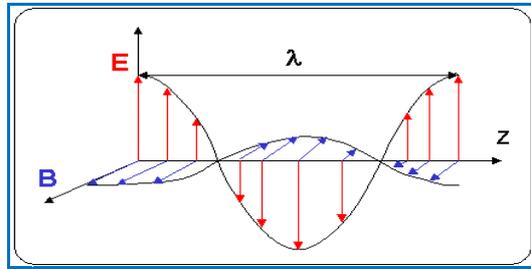


Figure II.1 : onde électromagnétique

Une onde électromagnétique peut être caractérisée par l'un ou l'autre des paramètres suivants:

- La fréquence ν en hertz (Hz)
- La longueur d'onde λ en mètre (m) ou en (nm) surtout en UV-visible
- Le nombre d'onde $\bar{\nu}$ en (m^{-1}) ou en (cm^{-1}) surtout en infra rouge

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

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

c : vitesse de la lumière ; $c = 3.10^8 \text{ m.s}^{-1}$

T : la période (s)

La fréquence est reliée aussi à son énergie exprimée par l'équation de Bohr :

$$E = h\nu$$

h est la constante de Planck ; $h = 6,624.10^{-34} \text{ J.s}$.

II.2. Le spectre électromagnétique

Le spectre électromagnétique représente la répartition des ondes électromagnétiques en fonction de leur longueur d'onde, de leur fréquence ou bien encore de leur énergie. (Figure II.2)

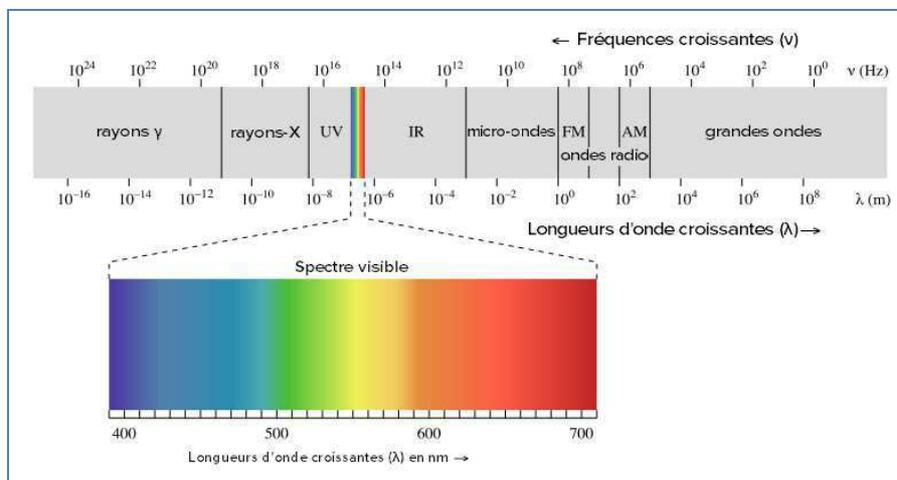


Figure II.2 : spectre électromagnétique

Suite à l'échange d'énergie, le rayonnement électromagnétique entraîne une perturbation du mouvement interne moléculaire. Il se produit une transition d'un niveau d'énergie vers un autre niveau d'énergie dépendant du mouvement provoqué. Tableau 1

Tableau 1 : Effet de la matière en fonction de la radiation absorbée

Radiation absorbée	Effet sur la matière
Ondes radio	rayonnement très faiblement énergétique et ne peut affecter que l'orientation des noyaux (résonance magnétique nucléaire RMN)
Micro-onde	rayonnement très faiblement énergétique et ne peut affecter que les modes de rotation des molécules.
Infrarouge	rayonnement est faiblement énergétique et ne peut affecter principalement que les modes de vibrations des molécules.
Visible et ultraviolet	rayonnement énergétique pour pouvoir affecter les électrons des orbitales atomiques périphériques et des orbitales moléculaires.
Rayons X et γ	le rayonnement est extrêmement énergétique pour pouvoir affecter les électrons des orbitales atomiques de cœur (Extraction des électrons des couches internes de l'atome)

III. Spectrométrie UV-Visible

III. 1. Domaine UV-Visible

La spectrométrie UV-Visible repose sur l'interaction de la matière et du rayonnement électromagnétique dans le domaine 180-800 nm.

Le domaine (UV-Visible) se divise en :

- ✚ UV lointain : 10 – 200 nm
- ✚ UV proche : 200 - 400 nm
- ✚ Visible : 400 - 780 nm.

III. 2. Principe

Lorsqu'une molécule isolée absorbe un photon de l'UV-Visible, l'énergie correspondante est captée par un ou plusieurs de ses électrons superficiels qui passent de l'état fondamental à l'état excité, c'est-à-dire des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules. Il ya alors modification de son énergie électronique (E_{elec}), l'une des trois composantes avec l'énergie de rotation (E_{rot}) et l'énergie de vibration (E_{vib}) de l'énergie mécanique totale de la molécule.

$$E = E_{\text{elec}} + E_{\text{vib}} + E_{\text{rot}} \quad \text{avec} \quad E_{\text{elec}} \gg E_{\text{vib}} \gg E_{\text{rot}}$$

Une transition électronique UV-visible correspond à un saut d'un électron d'une orbitale moléculaire fondamentale occupée liante (σ et π) ou non liantes (n) vers une orbitale moléculaire excitée vacante (σ^* et π^*). La matière absorbe alors un photon dont l'énergie correspond à la différence d'énergie entre ces niveaux fondamental et excité.

III.3. Les différents types de transitions électroniques

Il existe trois types d'électrons :

- les électrons des liaisons σ
- les électrons des liaisons π
- les électrons n (doublet non liant)

Les transitions électroniques correspondent au passage des électrons des orbitales moléculaires liantes et non liantes remplies, vers des orbitales moléculaires antiliantes non remplies. Le diagramme (Figure II.3) suivant illustre ceci pour des orbitales de type σ , π et n .

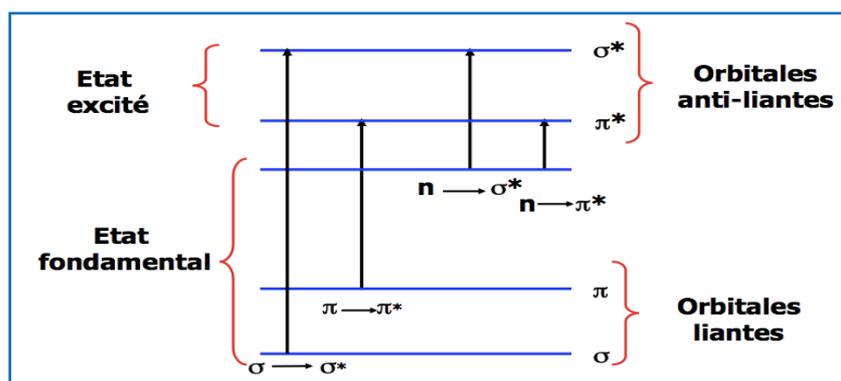


Figure II.3. Niveaux relatifs des différents types d'OM d'une molécule

Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$

La grande stabilité des liaisons σ fait que la transition d'un électron d'une OM liante σ vers une OM antiliante σ^* demande beaucoup d'énergie. La bande correspondante est intense et située dans l'UV-lointain, vers 130 nm.

Les hydrocarbures saturés ne présentent que des liaisons de ce type, ils sont transparents dans le proche UV c'est pourquoi ils sont utilisés comme solvants dans le proche UV.

Exemple : l'hexane C_6H_{14} ($\lambda_{\max} = 135$ nm)

Transition $n \rightarrow \sigma^*$

Elle correspond à des longueurs d'onde entre 150 et 250 nm. Elle requière moins d'énergie que la précédente. Les composés constitués d'un ou plusieurs atomes porteurs de doublets libres (O, N, S) présentent ce type de transition. Cette transition donne une bande d'intensité moyenne qui se situe à l'extrême limite du proche UV, comme exemple les alcools vers 180 nm pour, les éthers vers 190 nm et les amines vers 220 nm.

Transition $n \rightarrow \pi^*$

Ce sont des transitions rencontrées dans les molécules contenant un hétéroatome avec un doublet non liant appartenant à un système insaturé. Les longueurs d'ondes s'étendent pour des valeurs de λ_{\max} supérieur à 190 nm avec des coefficients d'extinction molaire faibles ($10 < \epsilon < 100 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). Exemple : Ethanal ($\lambda_{\max} = 293$ nm).

Transitions $\pi \rightarrow \pi^*$

Ce sont des transitions rencontrées dans les composés comportant des doubles liaisons, elle conduit à une forte bande d'absorption entre 165 nm et 200 nm avec ($10^3 < \epsilon < 10^4 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). Pour les systèmes fortement conjugués les λ_{max} se déplacent vers les valeurs $> 400 \text{ nm}$.

Exemple : éthylène ($\lambda_{\text{max}} = 165 \text{ nm}$)

Transition $d \rightarrow d$

De nombreux sels inorganiques, comportant des électrons engagés dans des orbitales moléculaires d, conduisent à des transitions d'un électron d'une orbitale d peuplée à une orbitale d vide. Ces transitions sont situées dans le domaine visible, responsables de colorations. Ainsi les solutions des sels métalliques de titane $(\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_6)^{3+}$ ou de cuivre $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ sont bleues. Les coefficients d'extinction molaire sont souvent très faibles, de 1 à $100 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

III.4. Groupements chromophores.

L'absorption d'un photon dans le domaine UV-visible peut souvent être attribuée à des électrons appartenant à de petits groupes d'atomes appelés chromophores comme : C=C, C=O, C=N, (Tableau 2).

Tableau 2 : différents groupements chromophores

Chromophore	Exemple	Transition électronique	λ_{max} (nm)	ϵ	Solvant
C=C	Ethène	$\pi \rightarrow \pi^*$	171	15 000	hexane
C≡C	1-Hexyne	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	10 000	hexane
C=O	Ethanal	$n \rightarrow \pi^*$	290	15	Hexane
		$\pi \rightarrow \pi^*$	180	10 000	
N=O	Nitrométhane	$n \rightarrow \pi^*$	275	17	éthanol
		$\pi \rightarrow \pi^*$	200	5 000	
X=Br	Methylbromide	$n \rightarrow \sigma^*$	205	200	hexane
X=I	Methyl Iodide	$n \rightarrow \sigma^*$	255	360	

III.5. Effet de l'environnement sur les transitions électroniques

III.5.1. Terminologie

- **Effet bathochrome** : déplacement des bandes d'absorption vers les grandes longueurs d'onde dû à une substitution ou à un effet de solvant.
- **Effet hypsochrome** : déplacement des bandes d'absorption vers les courtes longueurs d'onde dû à une substitution ou à un effet de solvant.
- **Effet hyperchrome** : augmentation de l'intensité d'absorption (ϵ augmente).
- **Effet hypochrome** : diminution de l'intensité d'absorption (ϵ diminue).
- **Groupement chromophore** : groupement insaturé responsable de l'absorption.
- **Un auxochrome** : groupement saturé renfermant un hétéroatome à doublet libre non liant qui modifie à la fois la longueur d'onde et l'intensité du maximum d'absorption de la molécule à laquelle ils sont liés. Ces groupements absorbent dans l'UV lointain.

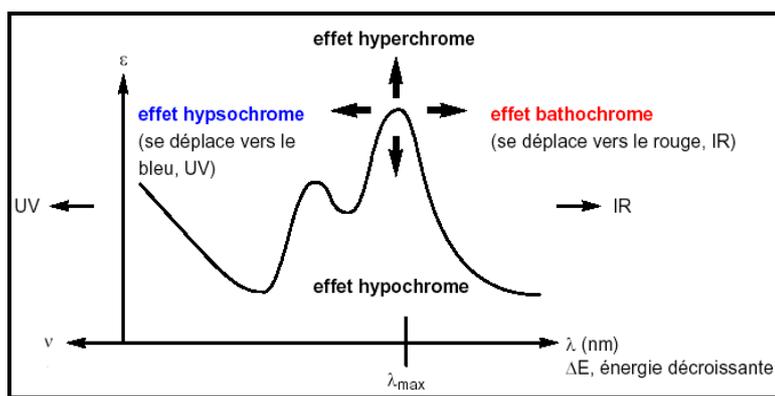


Figure II.4 : Effet de l'environnement sur les transitions électroniques

III.5.2. Effet de la substitution

La présence ou non de substituant sur le groupement chromophore influe sur la position de la bande d'absorption. Par exemple, plus le groupe éthylénique est substitué, plus la bande d'absorption due à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ est déplacée vers le visible, il en résulte un effet bathochrome (Tableau 3).

Tableau 3 : effet de substitution sur la transition électronique $\pi \rightarrow \pi^*$

Composé			
λ_{\max} (nm)	165	170	174
ϵ	15000	20000	24000

III. 5. 3. Effet de la conjugaison

Pour absorber de la lumière, la molécule doit être un système chimique conjugué : un système conjugué est une partie de la molécule dans laquelle il y a alternance de doubles liaisons et de simples liaisons.

Deux doubles liaisons sont dites conjuguées si elles sont séparées par une liaison simple, par exemple le buta-1,3-diène est un système conjugué car les doubles liaisons sont séparées par une liaison simple (Figure II.5), par contre le hexa-1,4-diène n'est pas un système conjugué ; les doubles liaisons sont séparées par deux liaisons simples (Figure II.6)

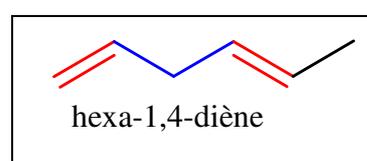
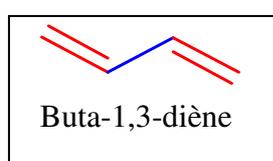


Figure II.5 : système conjugué

Figure II.6 : système non conjugué

La position de la bande d'absorption dépend aussi de la conjugaison: Quand on ajoute une conjugaison, la longueur d'onde d'absorption augmente, car la délocalisation du nuage π va abaisser l'énergie. Plus il y a de délocalisations plus la molécule sera stable (Figure II.7)

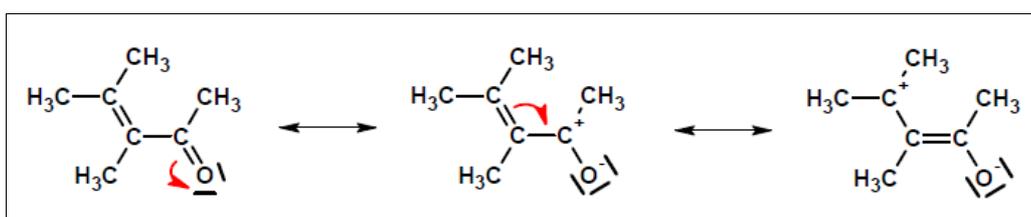


Figure II.7 : délocalisation des électrons dans un système conjugué

Si on ajoute une délocalisation supplémentaire, on déplace le spectre vers les grandes longueurs d'onde, ce qui provoque un effet bathochrome et un effet hyperchrome sur la bande d'absorption correspondant à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ (tableau 4). Le même effet est observé sur la transition $n \rightarrow \pi^*$ (tableau 5).

Tableau 4: effet de conjugaison sur les transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$

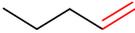
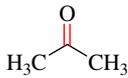
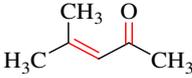
Composés	Structure	transition $\pi \rightarrow \pi^*$	E
Ethylène		165	15000
Pent-1-ène		184	20000
Hexa-1,5-diène (deux C=C non conjuguées)		185	21000
Buta-1,3-diène (deux C=C conjuguées)		217	24000

Tableau 5: effet de conjugaison sur les transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$

Composés	Structure	transition $\pi \rightarrow \pi^*$	transition $n \rightarrow \pi^*$
Propanone		188 nm	279 nm
Méthyl isobutylycétone		236 nm	315 nm

Plus la délocalisation sera importante, plus ϵ et λ_{\max} seront importants.

III. 5. 3. 1. Conjugaison et couleur

Pour qu'une molécule soit colorée elle doit absorber des rayonnements dont les longueurs d'ondes appartiennent au domaine du visible

Généralement, lorsque le nombre de doubles liaisons conjuguées augmente-au sein de la molécule, la longueur d'onde absorbée augmente aussi et par conséquent, la molécule absorbe dans le visible (tableau 6).

La figure (II.8) montre aussi l'évolution du λ_{\max} et de ϵ des polyènes en fonction du nombre n de liaisons conjuguées.

Tableau 6: Evolution du maximum d'absorption des polyènes en fonction du nombre **n** de liaisons conjuguées

Polyène conjugué	n	λ_{\max}	Couleur
	1	165	Incolore
	2	217	Incolore
	3	268	Incolore
	4	296	Incolore
	5	335	Incolore
	6	364	Incolore
	7	405	Jaune-vert
	8	440	Jaune
	11	485	Jaune-orangé

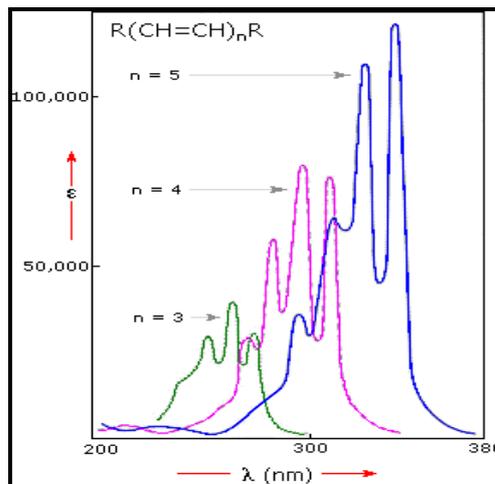


Figure II.8 : Evolution du λ_{\max} et de ϵ en fonction du nombre n de liaisons conjuguées

Par exemple, la couleur orangée du β -carotène provient de la réunion de onze doubles liaisons conjuguées.



Figure II.9 : β -carotène

La couleur perçue est toujours complémentaire de la radiation absorbée : En effet, la couleur correspond aux radiations non absorbées.

Par exemple, une solution qui absorbe l'orange aura une couleur bleu-vert. Le tableau ci-après (tableau 6) liste quelques exemples de correspondances entre la couleur absorbée et la couleur complémentaire.

Tableau 6 : couleur absorbée et la couleur complémentaire.

Longueur d'onde (nm)	Couleur absorbée	Couleur complémentaire
650-780	Rouge	Vert- Bleu
595-650	Orange	Bleu-verdâtre
560-595	Jaune-vert	pourpre
500-560	Vert	Rouge-pourpre
490-500	Vert-bleu	rouge
480-490	Bleu-verdâtre	Orange
435-480	Bleu	Jaune
380-435	violet	Jaune-vert

Par exemple une solution de permanganate de potassium (KMnO_4) présente une bande d'absorption maximale à une longueur d'onde de 540 nm (vert), alors que la couleur aperçue par l'œil est violette (rouge-pourpre). L'œil perçoit la couleur complémentaire du vert, c'est à dire le magenta.

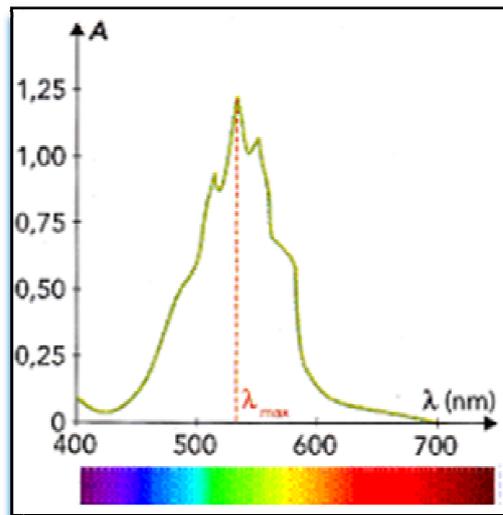


Figure II.10 : Spectre d'absorption d'une solution de KMnO_4

III. 5. 4. Effet de solvant : solvatochromie

La position et l'intensité des bandes des composés en solution dépendent du solvant. Ces changements traduisent les interactions physiques soluté-solvant qui modifient la différence d'énergie entre état fondamental et état excité :

- **Cas de transition $n \rightarrow \pi^*$** : Si le chromophore responsable de la transition observée est plus polaire dans son état fondamental que dans son état excité, un solvant polaire stabilisera la forme avant absorption du photon par solvation. Il faudra donc plus d'énergie pour provoquer la transition électronique concernée, d'où un déplacement du maximum d'absorption vers les courtes longueurs d'onde comparativement. C'est l'effet hypsochrome.
- **Cas de transition $\pi \rightarrow \pi^*$** : L'état excité est plus polaire que l'état fondamental et le solvant polaire tends à stabiliser la forme excitée, ce qui favorise la transition. C'est effet bathochrome. On peut conclure donc, l'augmentation de la polarité du solvant s'accompagne, en général, d'un effet bathochrome pour les transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ et d'un effet hypsochrome pour les transitions $n \rightarrow \pi^*$. (Figure II.11).

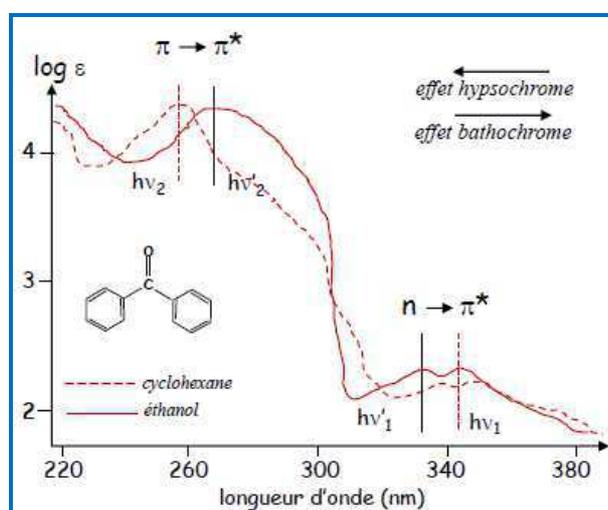


Figure II.11: Représentation de l'effet du solvant sur l'absorption de benzophénone

III. 5. 5. 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 indicateurs colorés dont le changement de couleur est mis à profit au cours des

dosages acidimétriques. Par exemple la phénolphtaléine est incolore à pH inférieur à 8 et elle devient nettement rouge à pH 10. (Figure II.12).

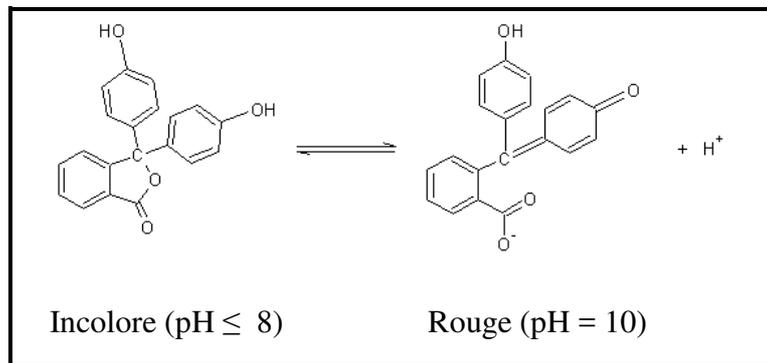


Figure II.12 : effet du pH sur la couleur

III. 6. Loi d'absorption de la lumière : Loi de Beer-Lambert

L'UV/Visible est largement exploité en analyse quantitative, depuis fort longtemps dans le domaine du visible. Les mesures reposent sur la loi de **Beer et Lambert** qui relie dans certaines conditions, l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution.

Lorsque une lumière monochromatique I_0 traverse une solution absorbante de concentration C contenue dans une cuve d'épaisseur l , une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise (Figure II.11). La fraction de la lumière incidente absorbée par l'échantillon est donnée par la loi de Beer-Lambert :

$$A = \log (I_0/I) = \epsilon l C$$

A : absorbance, sans dimension, elle est aussi appelée densité optique (d.o)

l : épaisseur (en cm) de la solution traversée,

C : concentration molaire

ϵ : coefficient d'extinction. C'est une grandeur caractéristique du composé. Si la concentration est en gramme par litre, ϵ est appelé coefficient d'extinction spécifique. Si la concentration est en mole par litre, ϵ est appelé coefficient d'extinction molaire. Sa valeur peut varier sur une large plage allant de quelques unités à plus de 200 000.

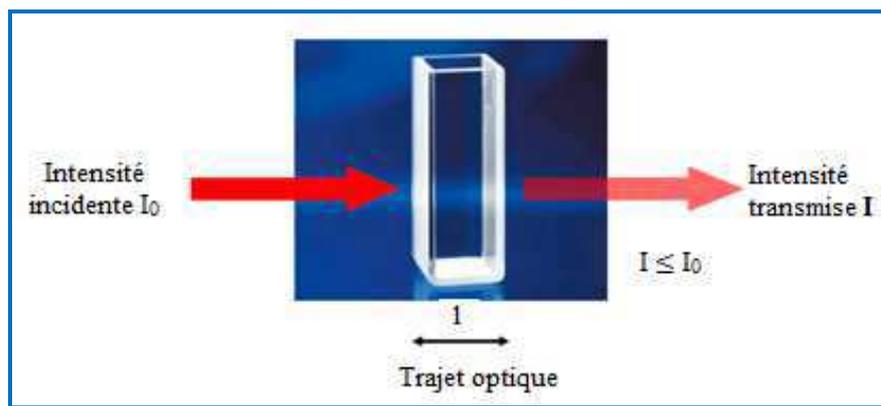


Figure II.13: Absorption de la lumière par l'échantillon

On définit également la transmission T comme le rapport de l'intensité transmise à

l'intensité incidente : $T = I / I_0 \iff A = \log (1/T)$

$$\iff A = - \log T = \epsilon l C$$

III. 6. 1. Validité de la loi de Beer-Lambert

- la lumière utilisée doit être monochromatique.
- les concentrations doivent être faibles.
- la solution ne doit être ni fluorescente ni hétérogène.
- le soluté ne doit pas donner lieu à des transformations photochimiques.
- le soluté ne doit pas donner des associations variables avec le solvant.

III. 6. 2. Spectre d'absorption

Pour chaque longueur d'onde, l'absorbance est mesurée et les données recueillies sont utilisées pour tracer les courbes d'absorbance A (en ordonnée) en fonction de la longueur d'onde λ (en abscisse). Afin d'obtenir un spectre UV-visible, la solution est soumise aux rayonnements dont la longueur est comprise dans l'intervalle 200-400 nm (domaine des ultraviolets proches) et dans l'intervalle 400-800 nm (domaine de la lumière visible). Le graphique ainsi obtenu constitue un spectre UV-visible.

Un spectre UV-visible (Figure II.14) comporte toujours une longueur d'onde λ_{\max} pour laquelle l'absorbance est maximale A_{\max} .

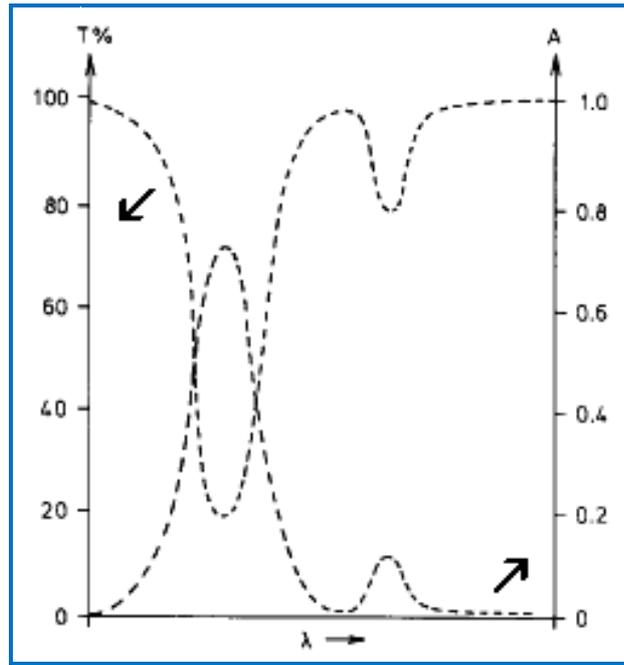


Figure II.14: allure d'un spectre UV-visible

III. 6. 3. Appareillage

L'étude des absorptions nécessite l'utilisation d'un appareil appelé spectromètre. La figure suivante représente le schéma de principe d'un spectromètre d'absorption UV-visible.

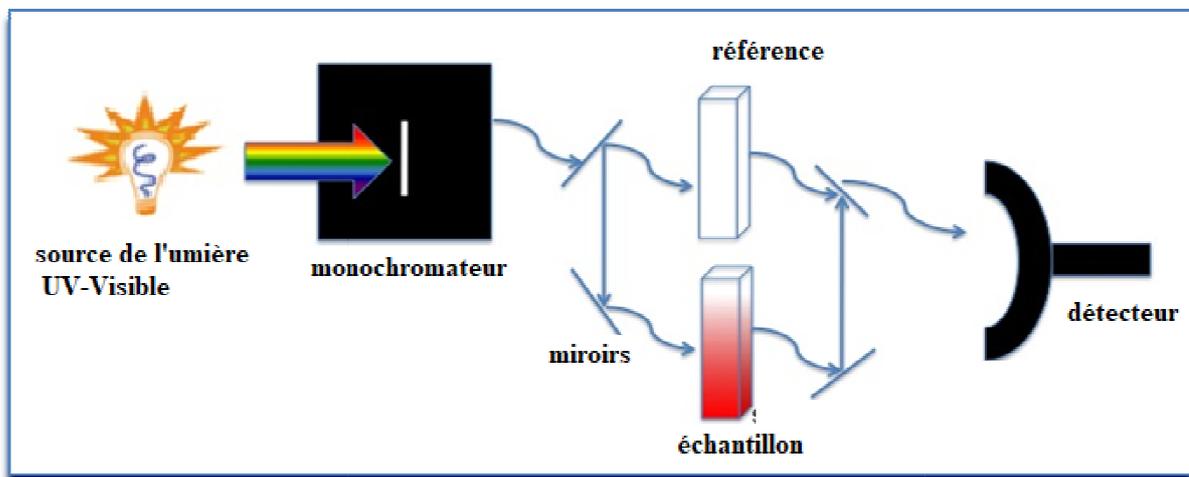


Figure II.15 : instrumentation d'un spectrophotomètre UV-visible

Un spectrophotomètre d'absorption UV-visible est constitué des éléments suivants :

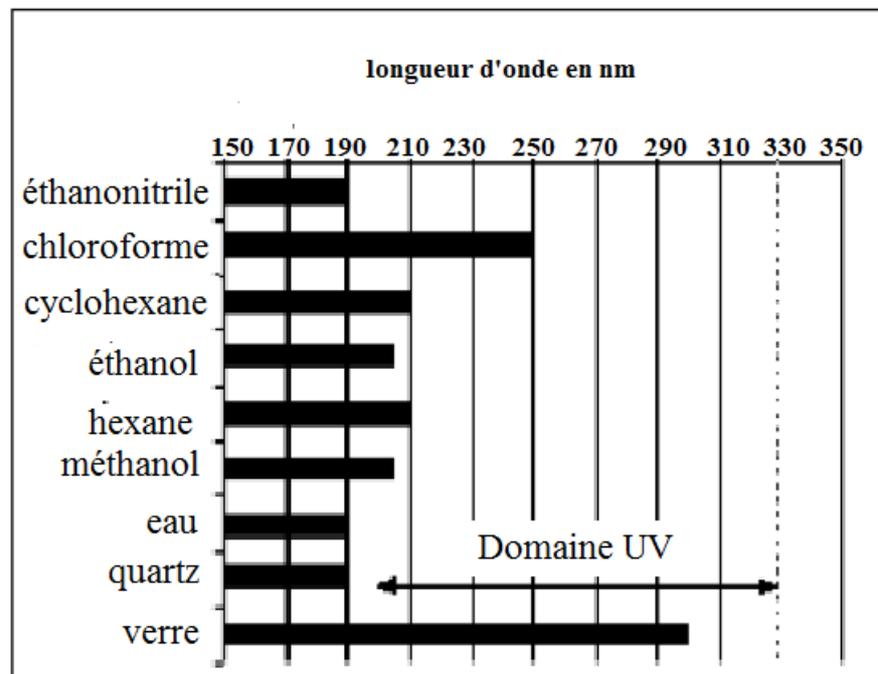
- **Source** : Le rôle de la source est de fournir la radiation lumineuse. Dans la région de l'UV (190 à 400 nm), la source est une lampe à décharge au deutérium, pour la région allant de 350 à 800 nm, la source est une lampe à filament de tungstène.

- **Monochromateur** : Le monochromateur a pour rôle de disperser le rayonnement polychromatique provenant de la source et d'obtenir des radiations monochromatiques.
- **Détecteur** : Le détecteur est un tube photomultiplicateur qui assure la conversion de l'intensité de la radiation reçue en un signal électrique puis numérique. Il est relié à un enregistreur qui permet de tracer un spectre d'absorption de l'échantillon analysé.
- **Echantillonnage** : Les composés peuvent être étudiés dans divers états physiques (gazeux, liquide, solide ...). La plupart du temps, l'étude se fait en solution
- **Cuves** : l'échantillon doit être placé dans une cellule ou cuve. Les cuves ont différentes épaisseurs et sont en quartz pour le domaine UV-visible. Le verre est réservé aux mesures dans le domaine visible uniquement.

III. 6. 3. 1. Solvants

Pour l'étude en solution, le composé doit être dissous dans un solvant convenablement choisi : il doit dissoudre le produit et être transparent (n'absorbe pas) dans la région examinée. Le tableau 7 donne la zone d'absorption de certains solvants et matériaux.

Tableau 7 : zone d'absorption de certains solvants et matériaux.



Par exemple le cyclohexane peut être utilisé comme solvant pour des échantillons qui absorbent à des longueurs d'onde supérieures à 210 nm.

III. 7. Analyse quantitative

L'UV/Visible est largement exploité en analyse quantitative, depuis fort longtemps grâce à l'application de Beer-Lambert.

III. 7. 1. Détermination de la concentration d'une solution par étalonnage :

A partir de la loi de Beer Lambert, il est possible de déterminer la concentration d'une espèce par mesure de son absorbance. Pour cela, on peut suivre le protocole expérimental suivant :

- On détermine la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption λ_{\max} .
- On prépare une série de solution à différentes concentrations C_i , et on mesure l'absorbance A_i de chacune de ces solutions à λ_{\max} .
- On trace la courbe d'étalonnage $A_i = f(C_i)$.
- On mesure l'absorbance A de notre solution de concentration inconnue à λ_{\max} .
- A partir de la courbe on peut lire la concentration C de notre solution d'absorbance

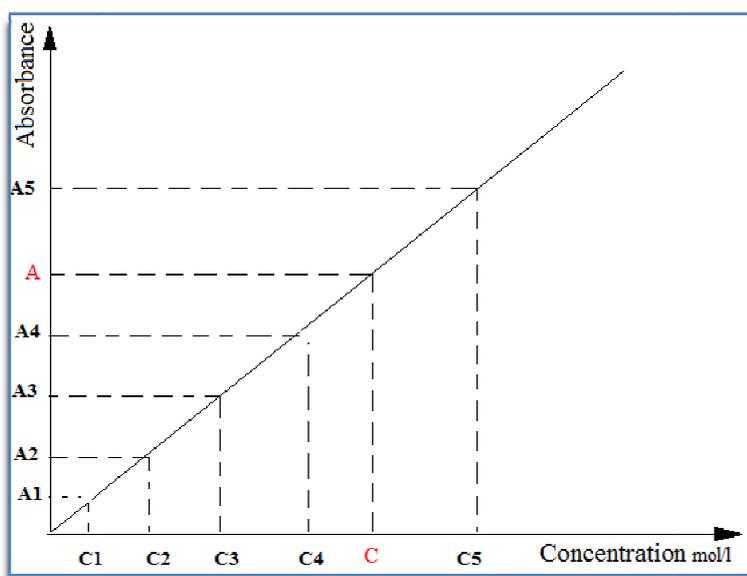


Figure II.16: courbe d'étalonnage

III. 8. Analyse qualitative

La spectrométrie UV-Visible n'est pas utile pour caractériser les composés organiques, les spectres présentent peu de bandes qui ne sont pas caractéristiques. En effet, des groupements chromophores différents peuvent absorber à la même longueur d'onde en raison des déplacements dus à leur environnement.

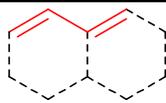
III. 8. 1. Règles de Woodward-Fieser et Scott

L'étude des spectres d'un grand nombre de molécules a permis d'établir des corrélations entre structures et maxima d'absorption. Les plus connues sont les règles empiriques, dues à Woodward, Fieser et Scott, qui concernent les diènes et composés carbonylés insaturés.

A partir de tableaux qui rassemblent, sous forme d'incrément, les divers facteurs de structure à considérer, on peut prévoir la position de la bande d'absorption de ces systèmes conjugués. La concordance est bonne entre les valeurs calculées et les positions expérimentales.

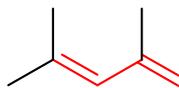
Pour calculer une longueur d'onde au moyen de cette méthode, on commence par considérer une structure de base :

III. 8. 2. Les diènes conjugués

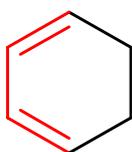
	Hétéroannulaire	Homoannulaire	Diène
Structure de base			
λ de base (nm)	214	253	217

Selon la nature du substituant sur cette structure de base, différents incréments sont ajoutés :

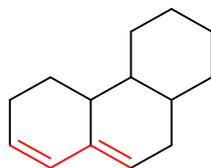
Substituant	Quantité à ajouter par substituant (nm)
double liaison conjuguée	30
double liaison exocyclique	5
alkyle, reste de cycle	5
-NR ₁ R ₂	60
-O-	6
-S-	30
-Cl, -Br	5

Exemple 1: (Diène parent linéaire)


λ de base	217 nm
3 groupes alkyles	$3 \times 5 = 15$ nm
λ_{\max} (calculée)	232 nm
λ_{\max} (Observée)	234 nm

Exemple 2: Diène parent homoannulaire


λ de base	253 nm
2 restes de cycles	$2 \times 5 = 10$ nm
λ_{\max} (calculée)	263 nm
λ_{\max} (Observée)	256 nm

Exemple 3: Diène parent hétéroannulaire


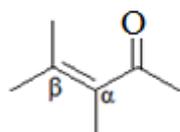
λ de base	214 nm
3 restes de cycles	$3 \times 5 = 15$ nm
double liaison exocyclique	5 nm
λ_{\max} (calculée)	234 nm
λ_{\max} (Observée)	235 nm

III. 8. 3. Les composés carbonylés α , β -insaturés

Structure de base				
λ de base	207	215	202	215
Particularités de structure	Valeur à ajouter (nm)			
Nature exocyclique d'une double liaison	5			
Conjugaison supplémentaire	30			
Composante diénique homoannulaire	39			

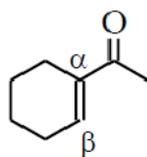
autre substituants	Valeur à ajouter (nm)			
	α	β	γ	Δ
-R ; -OR ; -CH ₃ CO ₂ ; -PhCO ₂ ; résidu de cycle	10	12	18	18
-OH	35	30	-	50
-Br	25	30	-	-

Exemple 1 :



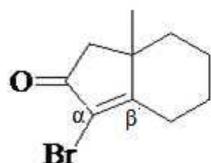
λ de base	215 nm
Alkyle en α	10 nm
2 alkyle en β	2x12= 24 nm
λ_{\max} (calculée)	249 nm
λ_{\max} (Observée)	249 nm

Exemple 2 :



λ de base	215 nm
substituant en α	10 nm
substituant en β	12 nm
liaison exocyclique	5 nm
λ_{\max} (calculée)	242 nm
λ_{\max} (Observée)	245nm

Exemple 3:



λ de base	202 nm
Brome en α	25 nm
Deux substituants en β	2x12 nm
liaison exocyclique	5 nm
λ_{\max} (calculée)	256 nm
λ_{\max} (Observée)	251nm

✚ Facteur de correction pour les cétones

Solvant	Correction (nm)
Ethanol	0
Méthanol	0
Eau	-8
Chloroforme	+1

Solvant	Correction (nm)
Dioxane	+5
Ether	+7
Hexane	+11
Cyclohexane	+11

Exercices

Exercice 1 :

On remplit une cuve de 2 mm avec une solution de benzène de concentration 10^{-5} mol. L⁻¹. Le spectre UV-visible de cette solution montre une bande à la longueur d'onde 256 nm.

1- Sachant que la transmittance de l'échantillon est de 48%, calculer le coefficient d'extinction molaire du benzène à 256 nm

2- Quelle sera à 256 nm l'absorbance du même échantillon placé dans une cuve de 4 mm.

Exercice 02 :

1) A partir des valeurs de λ_{\max} (en nm) de ces molécules, quelles sont les conclusions que l'on peut tirer concernant la relation entre λ_{\max} et la structure de la molécule qui absorbe ?

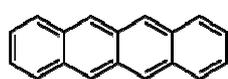
Éthylène (170) ; Buta-1,3-diène (217) ; 2,3-Diméthylbuta-1,3-diène (226) ; Cyclohexa-1,3-diène (256) et Hexa-1,3,5-triène (274).

2) Expliquez les variations suivantes dans le λ_{\max} (en nm) des composés suivants :

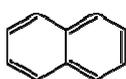
CH₃-X, quand X=Cl (λ_{\max} = 173), X=Br (λ_{\max} = 204) et X=I (λ_{\max} = 258).

Exercice 3 :

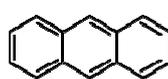
Les molécules suivantes absorbent dans l'ultraviolet et le proche visible



1



2



3



4

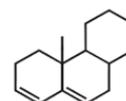
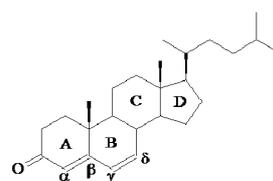
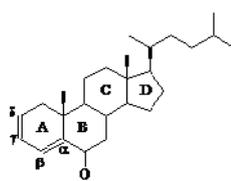
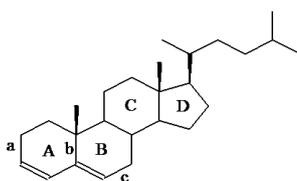
Les longueurs d'onde (λ_{\max}) de ces molécules sont classées dans le tableau suivant :

λ_{\max} (nm)	215	314	380	480
-----------------------	-----	-----	-----	-----

- Redonnez à chaque molécule sa valeur λ_{\max}
- La quelle de ces molécules absorbe dans le domaine visible?

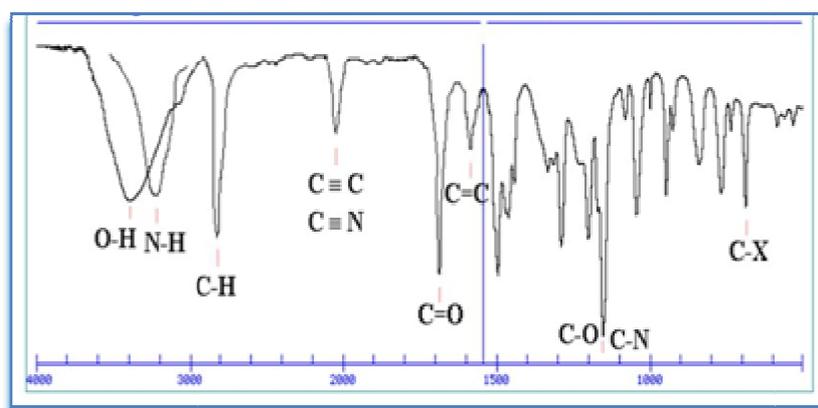
Exercice 4 :

Calculer λ_{\max} des composés suivants :



Chapitre III

Spectroscopie Infrarouge (IR)



La spectroscopie infrarouge (IR)

I. Introduction

La spectroscopie infrarouge (IR) est l'une des techniques spectroscopiques les plus exploitées pour la caractérisation des molécules dont les principes de base sont très proches de ceux qui régissent la spectroscopie UV-visible.

La partie infrarouge du spectre électromagnétique est divisée en trois régions :

Le proche: de 14000 à 4000 cm^{-1} ($2.5 - 0.7\text{ }\mu\text{m}$)

Le moyen: de 4000 à 400 cm^{-1} ($25 - 2.5\text{ }\mu\text{m}$)

Le lointain: de 400 à 10 cm^{-1} ($1000 - 25\text{ }\mu\text{m}$)

II. Principe

Dans l'infrarouge, l'absorption de la lumière par la matière a pour origine l'interaction entre les radiations de la source lumineuse et les liaisons chimiques. Les molécules, au passage du rayonnement IR, subissent des mouvements de vibration internes (d'élongation et de déformation).

II.1. Les molécules diatomiques

Les molécules diatomiques (H-H, H-Cl, C=O,...), ne vibrent que d'une seule façon, elles se déplacent, comme si elles étaient liées par un ressort, en se rapprochant et s'éloignant l'une de l'autre : c'est la vibration de valence. Une molécule diatomique peut être représentée comme étant constituée de deux masses (m_A et m_B) reliées par un ressort de constante de force k et de longueur r , qui se tend et se détend à une certaine fréquence ν .

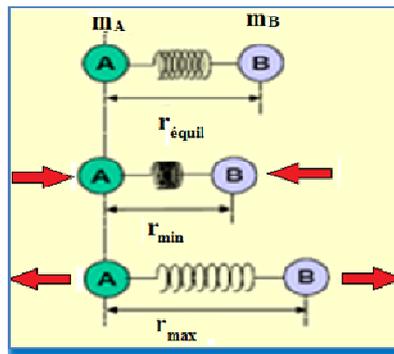


Figure III.1 : vibration d'une molécule diatomique

La fréquence de vibration (ν) est donnée par la loi de Hooke : $\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{k/\mu}$

k : constante de force de la liaison (considérée ici comme un ressort) (dyne.cm^{-1} ; N.m^{-1})

μ : masse réduite $\mu = \frac{m_A \cdot m_B}{m_A + m_B}$

m_A et m_B : masses (g) des atomes A et B respectivement

La grandeur pratique en spectroscopie vibrationnelle est le nombre d'onde $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}):

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

c : vitesse de la lumière ($\text{cm} \cdot \text{sec}^{-1}$)

II.2. Molécules polyatomiques

Dans le cas de molécules polyatomiques, le nombre de liaisons augmente et la géométrie des liaisons se complexifie. Cependant, toutes les liaisons inter-atomiques ne sont pas capables d'absorber de l'énergie lumineuse infrarouge, même dans le cas où la fréquence de la lumière est la même que la fréquence propre de la liaison. Seules les liaisons qui présentent un moment électrique dipolaire oscillant sont actives dans l'infrarouge.

Les molécules triatomiques tel que le H_2O , disposent deux modes de vibration de valence. Dans la vibration symétrique chaque atome d'hydrogène s'éloigne de l'atome d'oxygène au même moment. Dans la vibration antisymétrique un hydrogène s'approche de l'atome d'oxygène et l'autre s'éloigne, d'où les angles de liaisons changent continuellement, le mode ainsi obtenu est un mode de déformation angulaire.

Pour les molécules possédant plus de deux atomes (n atomes), on pourra distinguer $(3n-6)$ modes de vibration ($3n-5$ si la molécule est linéaire).

III. Les divers types de vibrations

L'absorption du rayonnement IR par les composés organiques correspond à deux types principaux de vibrations :

- vibration de valence ou d'élongation : correspondant à l'étirement d'une liaison A - B, notée ν_{A-B}
- vibration de déformation angulaire : correspondant à la variation d'un angle de valence, notée δ_{A-B}

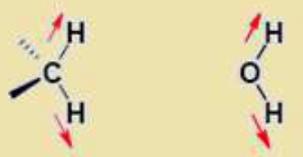
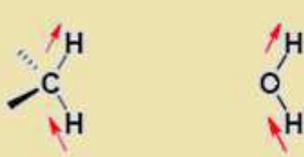
III.1. vibration de valence ou d'élongation (stretching)

Une vibration de valence (d'allongement ou d'élongation) est un mouvement des atomes le long de l'axe de la liaison. Ce mouvement implique une variation de la distance interatomique. Les vibrations de valence sont représentées par « ν ».

On peut distinguer deux modes de vibrations de valence (tableau 1):

- Symétrique (ν_s) : vibration avec conservation de la symétrie moléculaire.
- Asymétrique (ν_{as}): vibration avec perte d'un ou plusieurs éléments de symétrie de la molécule exige plus d'énergie.

Tableau 1: modes de vibrations de valence

Vibrations de valence (stretching)	
Symétrique (ν_s)	Asymétrique (ν_{as})
 $\nu_s = 2850 \text{ cm}^{-1}$ $\nu_s = 3652 \text{ cm}^{-1}$	 $\nu_{as} = 2930 \text{ cm}^{-1}$ $\nu_{as} = 3756 \text{ cm}^{-1}$

III.2. Vibration de déformation angulaire (bending)

Ce sont des vibrations caractérisées par une modification de l'angle de liaison. Elles peuvent se réaliser dans le plan ou perpendiculairement au plan. Les vibrations de déformation sont représentées par (δ). Lors de ce mouvement, la distance interatomique reste constante.

Considérons par exemple une molécule à 3 atomes non linéaire, on pourra donc distinguer $(3n-6)$ modes de vibration : $3n-6 = 9-6 = 3$

On a alors trois degrés de liberté de vibration (figure III.2):

1. vibration de valence symétrique, (stretching) notée (ν_s)
2. vibration de valence asymétrique, (stretching) notée (ν_{as})
3. vibration de déformation dans le plan (bending) notée (δ)

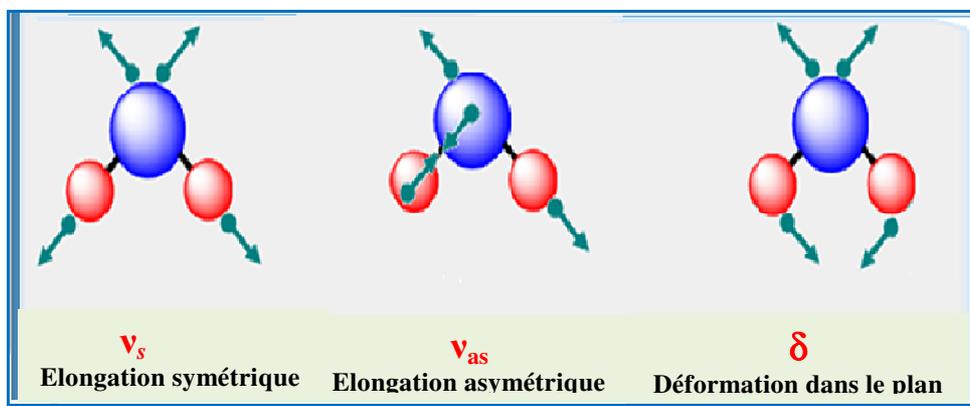


Figure III.2 : modes de vibration d'une molécule triatomiques

Avec une molécule qui possède 4 atomes, le nombre de degrés de liberté est égal à 6. La molécule peut alors vibrer hors du plan formé par 3 de ses 4 atomes.

On peut distinguer quatre modes de vibrations de déformation (figure 3).

- Cisaillement (Scissoring) : vibration de sens contraire des deux liaisons autour d'un axe, noté (δ).
- Rotation (Rocking) : vibration simultanée de même sens des deux liaisons autour d'un axe, noté (ρ).

Ces deux modes sont dits dans le plan, car le plan de symétrie est conservé.

- Balancement (Wagging) : vibration simultanée de même sens faisant varier les angles hors du plan noté (ω)
- Torsion (Twisting) : vibration en sens contraire faisant varier les angles, noté (τ)

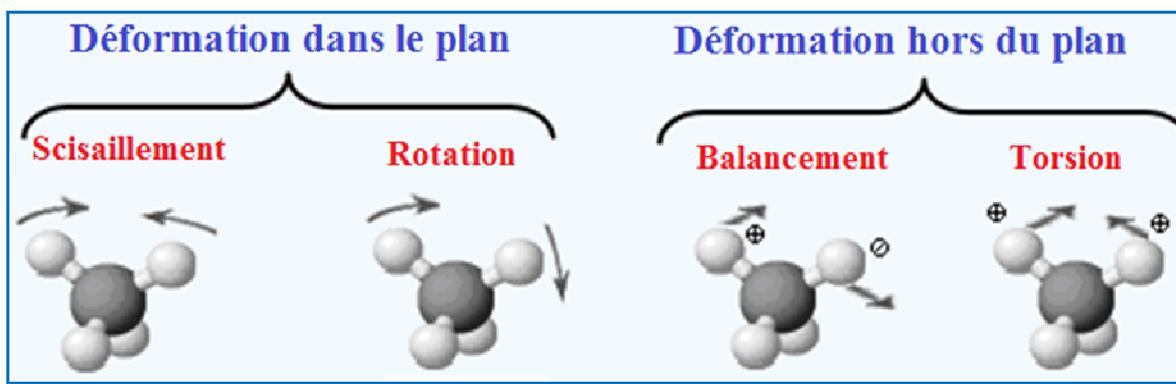


Figure III.3: modes de vibrations de déformation

Les transitions vibrationnelles de déformation sont de plus faible énergie que les transitions vibrationnelles d'élongation. Ces vibrations sont nombreuses et souvent difficiles à attribuer, elles constituent la région du spectre dite «empreinte digitale» située dans la zone de 1000 à 600 cm^{-1} .

En plus des vibrations fondamentales, ils existent d'autres types de vibrations :

- ✚ Les **harmoniques** qui apparaissent à des fréquences qui sont des multiples de la vibration fondamentale (moins intenses car moins probables)
- ✚ Les **bandes de combinaison** qui résultent de l'interaction de deux ou plusieurs modes de vibration pour le même groupe fonctionnel

III.3. Appareillage

Il existe deux types de spectromètre IR:

- ✚ Un spectromètre IR à balayage s'agit du modèle le plus classique, semblable aux spectrophotomètres utilisés en spectroscopie UV-visible.
- ✚ Un spectromètre IR à transformée de Fourier (**IRTF**) est identique à un spectromètre à balayage sauf que, le système dispersif est remplacé par un interféromètre (interféromètre de Michelson) dont la position est ajustée par laser.

Un spectromètre FT-IR comporte essentiellement cinq parties:

- Une source lumineuse
- Un dispositif permettant de générer les interférences (l'interféromètre)
- Un compartiment échantillon
- Un détecteur
- Convertisseur analogique numérique qui transforme le signal analogique en un signal numérique manipulable par le système informatique.

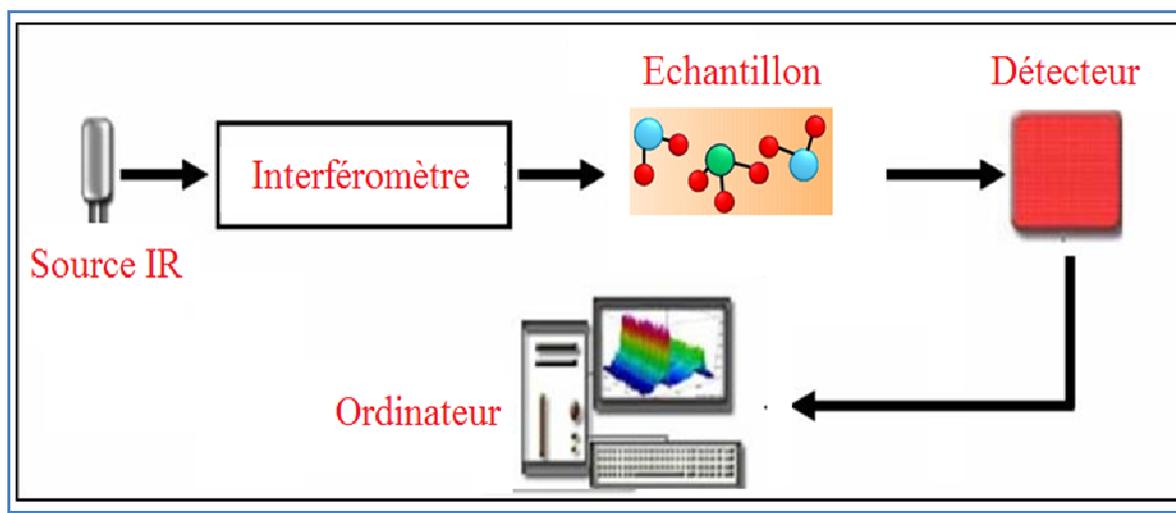


Figure III.4: spectromètre à transformée de Fourier

Source : Le choix de la source dépend de la région infrarouge où l'on veut travailler. Dans la plupart des cas on travaille dans la région appelée infrarouge moyen c'est à dire entre 4000 et 400 cm^{-1} . On distingue:

- ✚ **Lampe de Nernst:** bâtonnet creux (cylindre) composé d'un mélange d'oxydes de zirconium, d'yttrium, thorium dans un tube chauffé à 1900°C (par une résistance intérieure).
- ✚ **Lampe de Globalar:** baguette ou barreau de carbure de silicium chauffé à 1300°C.

III.3.1. Préparation de l'échantillon

Suivant l'état de l'échantillon (liquide, solide, gaz) les techniques diffèrent. Pour les cellules, on doit utiliser un matériau qui n'absorbe pas dans l'infrarouge comme le bromure de potassium (KBr) qui est le sel le plus utilisé, d'autres sels peuvent être utilisés aussi (tableau 2):

Tableau 2: Les sels les plus utilisés en IR

Sel	NaCl	KBr	CsI	KCl
Limite de transmission en cm^{-1}	650	400	150	500

✚ Echantillon liquide

-Liquide volatil ou solution : A l'aide d'une seringue adaptable, le liquide est introduit dans une cuve fermée d'épaisseur déterminée puis placée dans un support adapté au spectromètre (figure III.5).

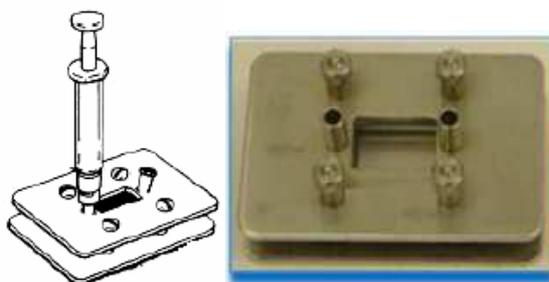


Figure III.5 : porte-échantillon pour un liquide volatil

-Liquide visqueux et peu volatil : Une goutte du liquide est placée entre 2 faces de KBr (ou NaCl) puis déposée sur un support adapté au spectromètre (figure III.6).

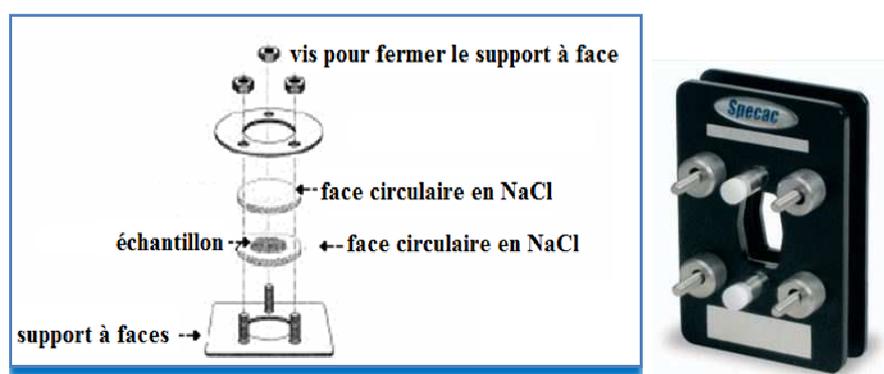


Figure III.6: porte-échantillon pour un liquide visqueux et peu volatil

✚ Echantillon solide :

En général, Les solides sont plus difficiles à étudier. Si le solide peut être mis en solution, on est ramené au cas général de l'examen d'un liquide, sachant bien qu'il n'existe malheureusement pas de solvant transparent sur toute l'étendue du moyen infrarouge. Si le solide peut être réduit en poudre fine, on en disperse quelques milligrammes dans une huile de paraffine (appelée aussi NUJOL) ou du bromure de potassium anhydre (KBr) :

-Le NUJOL ne présente que trois bandes principales d'absorption en dehors desquelles le spectre de l'échantillon est exploitable.

-Quant au KBr, on le broie finement avec le solide (de 0.1 à 1%) dans un mortier en agate. Le mélange homogène est déposé dans la pastilleuse puis soumis à une très forte pression (à environ 10 tonnes) dans une presse hydraulique. Il est ensuite extrait du moule sous forme d'un petit disque (pastille) translucide puis placé dans un support adapté au spectromètre (figure III.7).



Figure III.7 : Préparation d'un échantillon solide

- **Echantillon gaz :** Les gaz sont introduits dans une cuve (cellule) de plus grand volume que celle utilisée pour les liquides (Figure III.8)

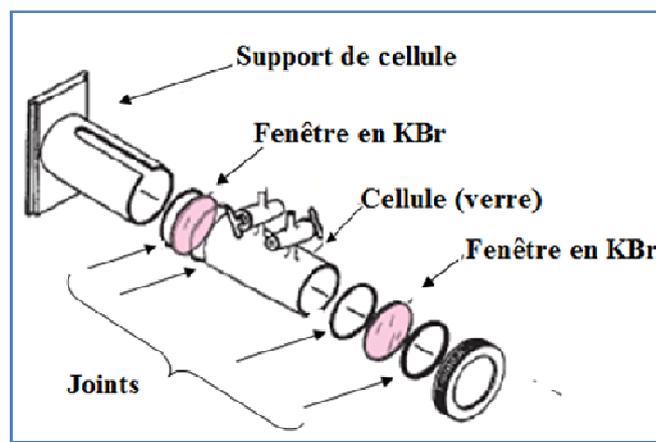


Figure III.8 : cellule pour échantillon gaz

III.4. Etude des principales bandes caractéristiques

En spectroscopie IR, les spectres représentent la transmittance (T) ou l'absorbance (A) en fonction du nombre d'onde ($\bar{\nu}$). Un spectre IR est constitué de trois principales régions (figure III.9) :

- 4000-1500 cm^{-1} : Zone des groupes fonctionnels, c'est dans cette région que se trouvent les pics correspondant aux transitions vibrationnelles d'allongement de la plupart des groupes fonctionnels : O-H ($\sim 3500 \text{ cm}^{-1}$), C=O ($\sim 1700 \text{ cm}^{-1}$).
- 1500-1000 cm^{-1} : région intermédiaire, appelée région de l'empreinte digitale, il s'agit d'une région comportant de nombreux petits pics correspondant aux transitions vibrationnelles de déformation. Cette zone est unique pour chaque espèce moléculaire.
- 1000-400 cm^{-1} : Région de faible énergie, on observe surtout des transitions vibrationnelles de déformation hors du plan. Les composés aromatiques montrent des bandes intenses dans cette région. Il s'agit en fait d'une région moins importante que les deux précédentes.

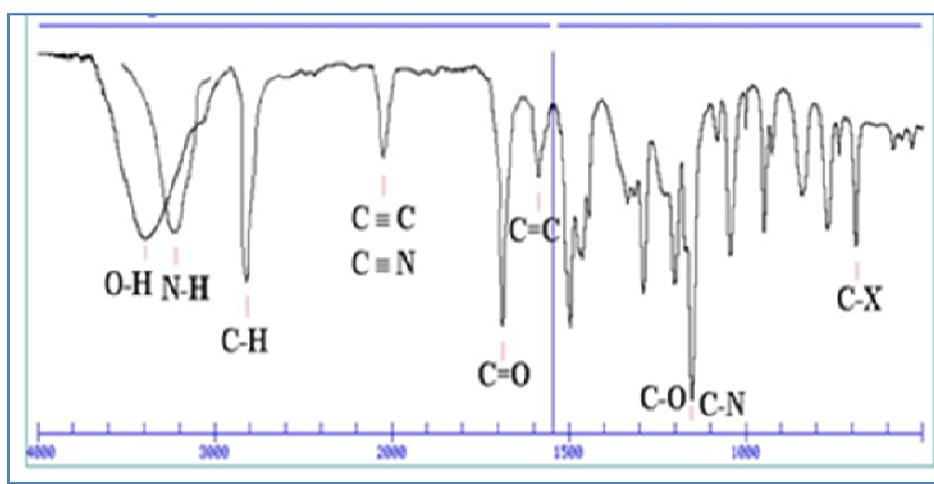


Figure III.9: absorptions des différents groupes chimiques

Remarque : seules les vibrations accompagnées par un changement du moment dipolaire sont observables. Par exemple la liaison (C=O) est très polaire à cause de la grande différence d'électronégativité entre le carbone et l'oxygène ce qui provoque une bande d'absorption très intense, par contre les liaisons (C-C) ou (N=N) présentent des bandes d'absorption faibles à cause du faible moment dipolaire associé à leur vibration.

Les plages d'absorption caractéristiques des différentes fonctions chimiques sont rassemblées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Absorption caractéristiques des différentes fonctions chimiques en infrarouge

Groupement	Liaison	Nombre d'onde	Vibration	Bande
alcanes	C-H du groupe (-CH ₃)	2960 2870 1460 1380	Elongation asymétrique Elongation symétrique déformation (cisaillement) déformation	Forte Moyenne Moyenne Moyenne
	C-H du groupe (-CH ₂)	2925 2850 1470 720	Elongation asymétrique Elongation symétrique déformation (cisaillement) déformation hors du plan	Forte Forte Moyenne Moyenne
	C-H du groupe (-CH)	2890 1340	Elongation déformation	Faible Faible
alcènes	C-H	3080 2975 675-730	Elongation asymétrique Elongation symétrique déformation hors du plan	Moyenne moyenne moyenne
	C=C	1645	Elongation	Moyenne
Alcynes	C-H	3340-3300 600-700	Elongation déformation	moyenne et fine forte
	C ≡ C	2150-2100	Elongation	Faible
Alcools primaires	O-H	3640	Elongation	intense et large
	C-O	1050	Elongation	Variable
Alcools secondaires	O-H	3630	Elongation	intense et large
	C-O	1100	Elongation	Variable
Alcools tertiaires	O-H	3620	Elongation	intense et large
	C-O	1150	Elongation	Variable
Alcools	O-H	1410-1330 650-770	déformation dans le plan déformation hors du plan	Moyenne variable-faible
Acides	O-H	3550-3500	Elongation	intense et très large
	O-H	1380-1280	déformation dans le plan	moyenne
	C=O C-O	1800-1740 1190-1075	Elongation Elongation	Forte Forte
Amines	C-N	1230-1030	Elongation	Moyenne
Amines primaires	N-H	3500 3410 1640-1560 900-650	Elongation asymétrique Elongation symétrique déformation cisaillement déformation torsion	Faible faible moyenne moyenne et large

Amines secondaires	N-H	3350-3310 1580-1490	Elongation Déformation	Faible Très faible
Amides primaires	N-H	3500 3400 1650-1590	Elongation asymétrique Elongation symétrique déformation	Faible faible moyenne
	C=O	1690-1620	Elongation	Forte
Amides secondaires	N-H	3400-3300 1570-1510	Elongation Déformation	Faible Faible
	C=O	1700-1630	Elongation	Forte
Aldéhydes	C-H	2830-2720 2650	Elongation asymétrique Elongation symétrique	Faible Moyenne
Aldéhydes aliphatiques	C=O	1740-1720	Elongation	Forte
Aldéhydes aromatiques	C=O	1715-1695	Elongation	Forte
Nitrile	-C≡N	2260-2210	Elongation	moyenne à forte
Cétones	C=O	1725-1705	Elongation	Forte
Esters	C=O	1750-1730	Elongation	Forte
	C-O	1300-1050	Elongation	Forte
Aromatiques	=C-H	3080-3030 2000-1600	Elongation Déformation	Variable
	C=C	$\left\{ \begin{array}{l} 1600 \\ 1580 \\ 1500 \\ 1450 \end{array} \right.$	Elongation	Variable Variable Moyenne Moyenne
Aromatiques selon substitution	=C-H	$\left\{ \begin{array}{l} 730-690 \\ 770-730 \\ 770-740 \\ 800-765 \\ 860-800 \\ 910-835 \end{array} \right.$	déformation hors du plan	forte
	mono subst		déformation hors du plan	forte
	4H adjacent		déformation hors du plan	moyenne à forte
	3H adjacent		déformation hors du plan	moyenne à forte
	2H adjacent		déformation hors du plan	moyenne à faible
1H adjacent				
Ether	C-O	1150-1070	Elongation	
C-X	C-F	$\left\{ \begin{array}{l} 1000-1100 \\ 1100-1200 \\ 540-760 \\ 500-600 \\ 500 \end{array} \right.$	Elongation	2 fortes, bandes larges
	C-Cl		Elongation	faible à moyenne
	C-Br		Elongation	moyenne à forte
	C-I		Elongation	moyenne à forte

Composés nitro	N=O	1550-1530 1350-1320	Elongation asymétrique Elongation symétrique	forte forte
Composés soufrés	S-H	2550-2600	Elongation	faible & fine
	S-S	550- 620	Elongation	faible
	S-C	705-570	Elongation	Moyenne
	C=S	1200-1050	Elongation	forte
	S=O (Sulfoxyde)	1070-1030	Elongation	Forte
	S=O (Sulfoné)	1160-1140 1350-1300	Elongation asymétrique	Forte
	S=O (Sulfite)		Elongation symétrique	Forte
acide sulfonique	1430-1350 1230-1150	Elongation	Forte	
		1345	Elongation	Forte
Silane	Si-H	2100-2360	Elongation	Forte
Alkoxysilane	Si-OR	1000-1100	Elongation	forte & large
Phosphine	P-H	2280-2440 950-1250	Elongation Déformation	moyenne & fine faible

Remarque : Ces plages de fréquence sont données à titre indicatif. Des effets tels que des effets inductifs ou de conjugaison peuvent provoquer des déplacements des fréquences des bandes d'absorption.

III.5. Facteurs influençant l'absorption IR

🚩 Force de liaison :

L'absorption augmente avec l'augmentation de la force de liaison (k) selon la loi de

$$\text{Hooke : } \bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{k/\mu} \quad ; \quad \mu = \frac{m_A \cdot m_B}{m_A + m_B}$$

Tableau 4 : influence de la force de liaison sur l'absorption

Liaison	C ≡ C	=C-H	-C-H
Longueur de liaison (Å°)	1.08	1.10	1.12
k (N.m ⁻¹)	593	523	458
$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	3300	3100	2900

🚩 Effet de μ :

L'absorption est inversement proportionnelle à μ (tableau 5).

Tableau 5 : influence de μ sur l'absorption

Liaison	m_B (g)	μ (g)	$\bar{\nu}$ (cm^{-1})
C-H	1	0.923	3000
C-C	12	6.00	1200
C-O	16	6.857	1100
C-Cl	35.5	8.968	800
C-Br	80	10.43	550
C-I	127	10.96	~500

⚡ Effet inductif :

L'effet inductif attracteur (-I) entraîne une polarisation de la liaison, donc une augmentation du moment dipolaire et de la constante de force. L'effet (-I) provoque alors un effet hypsochrome (augmente la fréquence des bandes de vibration d'élongation).

⚡ Effet mésomère : La conjugaison avec une double liaison provoque un effet bathochrome (diminue la fréquence).

Par exemple, dans le spectre IR du 2-chloroacétonitrile ($\text{Cl-CH}_2\text{-C}\equiv\text{N}$), on observe une augmentation de la vibration $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ par rapport à celle du propionitrile ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-C}\equiv\text{N}$) à cause de l'effet inductif attracteur du Chlore Par contre, on observe une diminution de la fréquence de cette bande dans le spectre IR du ($\text{CH}_2=\text{CH-C}\equiv\text{N}$) à cause de l'existence d'une double liaison (effet mésomère) figure III.10.

Tableau 6 : effet de l'environnement sur l'absorption du groupe ($\text{C}\equiv\text{N}$).

Composé	$\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ en cm^{-1}
$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-C}\equiv\text{N}$	2248
$\text{Cl-CH}_2\text{-C}\equiv\text{N}$	2261
$\text{CH}_2=\text{CH-C}\equiv\text{N}$	2230

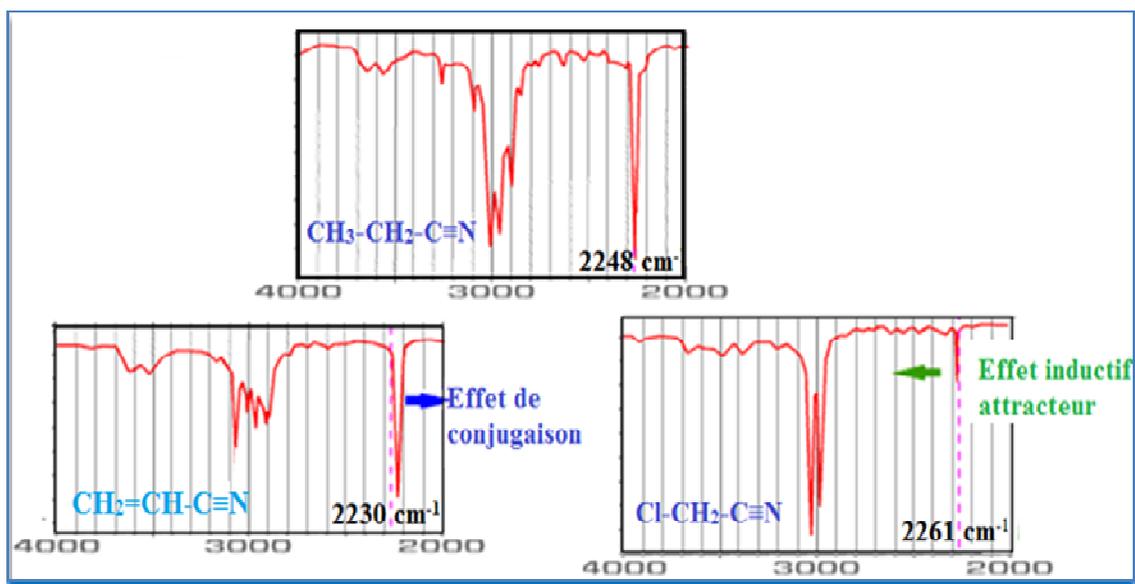
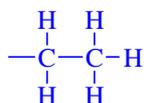


Figure III.10 : effet de l'environnement sur l'absorption

IV. Application de l'IR à la détermination des fonctions organiques.

L'analyse de quelques spectres infra rouge va nous permettre d'étudier les différentes fonctions.

IV. 1. Les alcanes



Les spectres IR des alcanes présentent les bandes des vibrations d'élongation et de déformations des liaisons C-H:

❖ Entre 3000 et 2840 cm^{-1} , on trouve principalement les vibrations d'élongation de la liaison C-H, elles sont de forte intensité.

Remarque: la présence d'un pic d'absorption dans ce domaine permet d'envisager fortement la présence de liaisons C-H.

❖ On trouve également dans le domaine 1475-1340 cm^{-1} les vibrations de déformation dans le plan des liaisons C-H. elles sont aussi de forte intensité.

❖ Une vibration de déformation hors du plan des groupes CH_2 se situe à 720-725 cm^{-1} .

❖ vibrations d'élongation et de déformations des liaisons C-C étant faibles et n'aident pas à l'identification :

- $\nu_{\text{C-C}}$ apparaissent dans la zone 1200-800 cm^{-1}
- $\delta_{\text{C-C}}$ apparaissent dans la zone ($\bar{\nu} < 500 \text{ cm}^{-1}$), elles ne sont pas toujours observées.

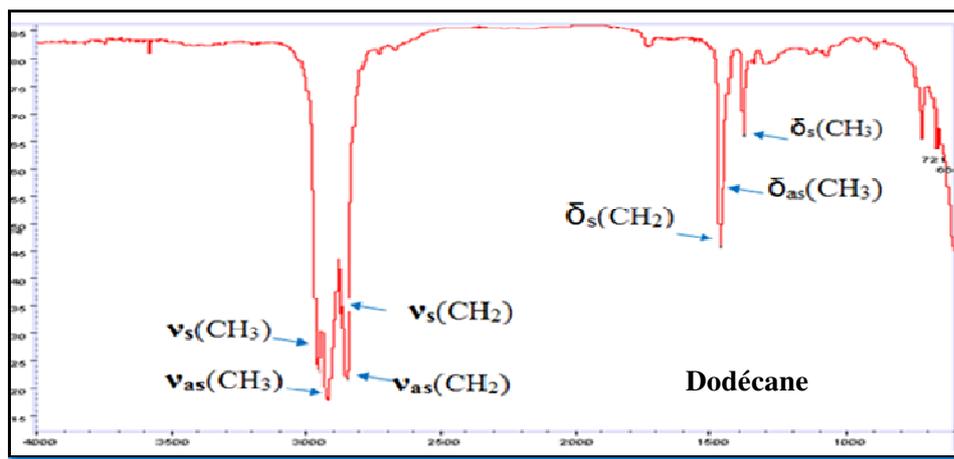
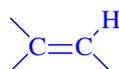


Figure III.11 : spectre IR du dodécane

Pour les alcanes cycliques, la bande de vibration d'élongation de la liaison (C-H) apparaît dans la zone de 3100 à 2990 cm^{-1} , l'augmentation de la tension dans le cycle augmente la fréquence de vibration $\nu_{\text{C-H}}$ par contre elle diminue la fréquence de vibration de déformation $\delta_{\text{C-H}}$.

IV. 2. Les alcènes



Dans les alcènes, on retrouve les mêmes bandes d'absorption que celles relevées dans le spectre de l'alcane (ν_{CH_3} et ν_{CH_2}). De plus, il apparaît trois nouvelles bandes qui correspondent aux :

- ❖ vibration d'élongation de la liaison (=C-H) dans la zone de 3090 à 2985 cm^{-1} de faible intensité.
- ❖ vibration d'élongation de la liaison (C=C) dans la zone de 1680 à 1610 cm^{-1} .
- ❖ vibration de déformation dans le plan de la liaison (=C-H) dans la zone de 1000 à 650 cm^{-1} .

Ces vibrations dépendent du mode de substitution de l'alcène, et de la conformation.

Comme exemple, l'étude du spectre IR du Déc-1-ène : $\text{CH}_2=\text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH}_3$ (figure III. 12) nous a donné les résultats suivant (tableau 7) :

Tableau 7 : différentes vibrations du Déc-1-ène

Type de vibration	Nombre d'onde en cm^{-1}
(=C-H)	3050
$\nu_{(\text{C}=\text{C})}$	1645
$\delta_{(\text{=C-H})}$	986 et 907

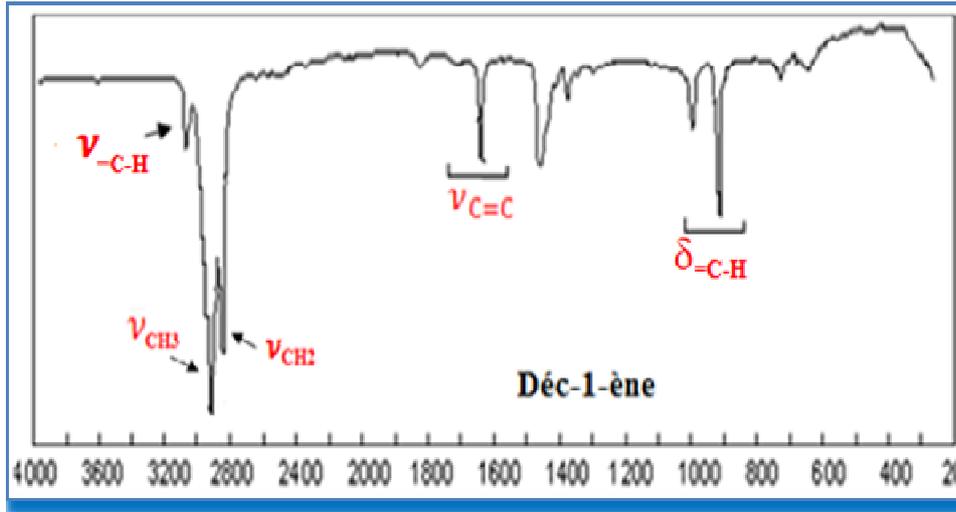


Figure III.12 : spectre IR du Déc-1-ène

IV.3. Les alcynes -C≡C-

Les alcynes sont caractérisés par les liaisons ($\equiv\text{C-H}$) et ($\text{C}\equiv\text{C}$) :

- ❖ La bande d'élongation de la liaison ($\equiv\text{C-H}$) apparaît vers 3268 cm^{-1} , elle est toujours intense.
- ❖ A 2110 cm^{-1} on trouve une faible bande : il s'agit de la vibration d'élongation de la liaison ($\text{C}\equiv\text{C}$). Cette bande n'est pas toujours visible en particulier quand il s'agit d'alcynes disubstitués.
- ❖ La bande de déformation de la liaison $\equiv\text{C-H}$ apparaît à 630 cm^{-1}

Comme exemple le spectre IR de l'hex-1-yne (Figure III.13):

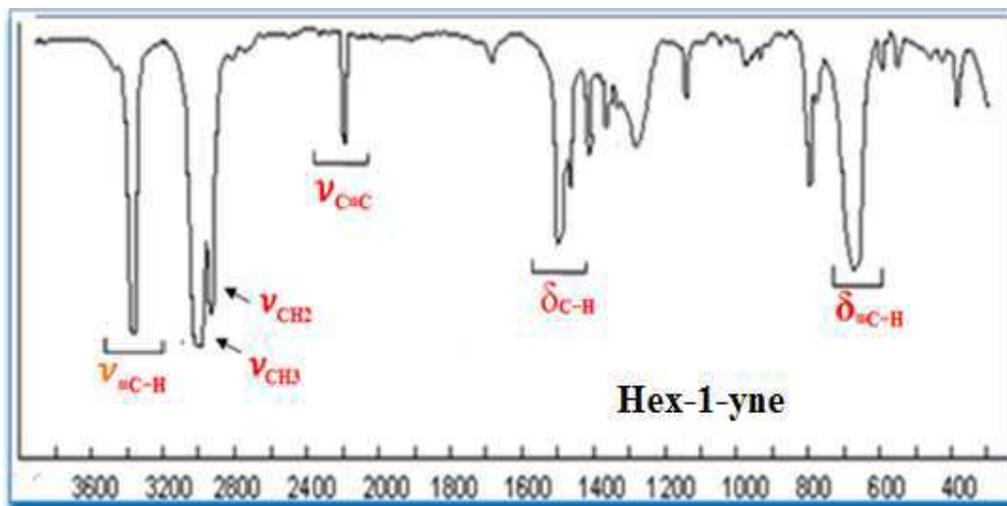


Figure III.13: spectre IR du 1- hexyne

IV. 4. Les hydrocarbures aromatiques

Sur un spectre IR d'un composé aromatique (figure III.14) il existe différentes zones qui apportent des informations sur la structure de la molécule :

- La zone des hautes fréquences supérieures à 3000 cm^{-1} se trouvent les bandes de vibration d'élongation de la liaison $C_{ar}-H$.
- Les bandes caractéristiques concernent les modes d'élongation des liaisons ($C=C$) aromatiques se trouvent dans la zone comprise entre $1605-1495\text{ cm}^{-1}$. S'il y a conjugaison du cycle avec un doublet π ou non liant, il peut apparaître une quatrième bande.
- La zone des basses fréquences inférieure à 1000 cm^{-1} est très importante aussi pour les aromatiques avec noyau benzénique car c'est là, que l'on trouve les renseignements concernant le nombre de substituant du cycle aromatique et leur position l'un par rapport à l'autre (table IR). Dans notre exemple (spectre IR du toluène) il y a deux bandes de déformation hors du plan de la liaison $C_{ar}-H$, l'une à 729 et l'autre à 694 cm^{-1} qui montrent l'existence d'un seul substituant sur le cycle aromatique.
- Intéressante aussi la zone comprise entre 2000 et 1667 (en absence du groupe carbonyle dans la molécule) où l'on retrouve les harmoniques des bandes de déformation hors du plan et dans le plan : c'est la signature de la molécule aromatique
- Dans la zone allant de 1300 à 1000 on trouve les bandes de déformation dans le plan des $C-H$ aromatiques. Elles sont plutôt faibles et nous ne nous en serviront pas pour la détermination fonctionnelle.

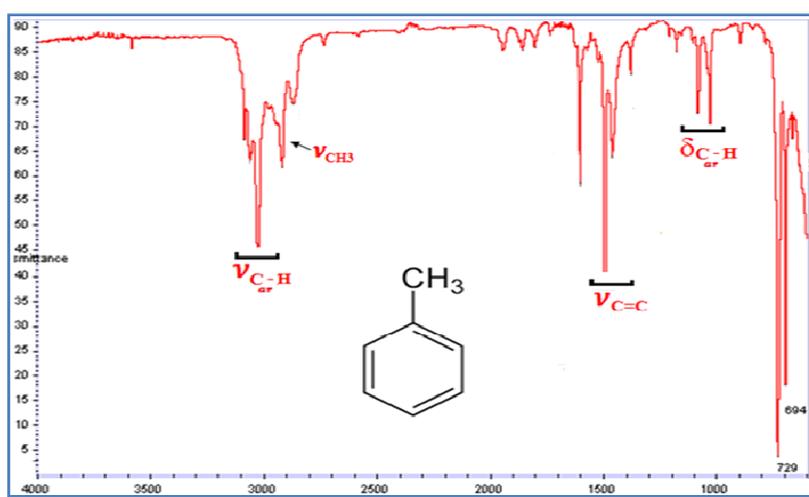


Figure III.14 : spectre IR du toluène

IV. 5. Les alcools (R-OH)

Les bandes caractéristiques d'un alcool sont les liaisons C-O et O-H.

- L'élongation de la liaison O-H d'un alcool donne une bande d'absorption intense et large dont la fréquence dépend de l'existence ou non de liaisons hydrogène.

Dans un milieu concentré, les alcools forment des liaisons d'hydrogène intermoléculaire entre deux ou plusieurs molécules d'alcool (figure III.15):

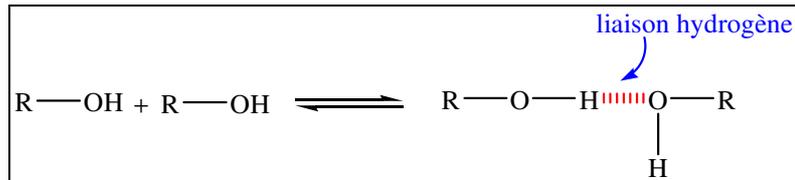


Figure III.15: formation d'une liaison hydrogène

C'est la liaison d'hydrogène qui est à l'origine de la variation de la valeur de la fréquence. Lorsqu'il y a une association, on aura une nouvelle fréquence.

Si la solution est concentré : $\nu_{\text{OH}} = \nu_{\text{OH (associé)}} = 3300 \text{ cm}^{-1}$.

Si la solution est diluée : $\nu_{\text{OH}} = \nu_{\text{OH (libre)}} \text{ (entre } 3700\text{-}3584 \text{ cm}^{-1}\text{)}$

- La vibration d'élongation $\nu_{\text{C-O}}$ un alcool se trouve dans la zone comprise entre 1260 et 1000 cm^{-1} .
- La vibration de déformation $\delta_{\text{O-H}}$ dans le plan apparait dans la zone de 1420 à 1330 cm^{-1} et hors du plan dans la zone de 769 à 650 cm^{-1} .

Exemple : spectre IR du 2,6,8-triméthyl-nonan-4-ol (figure III.16)

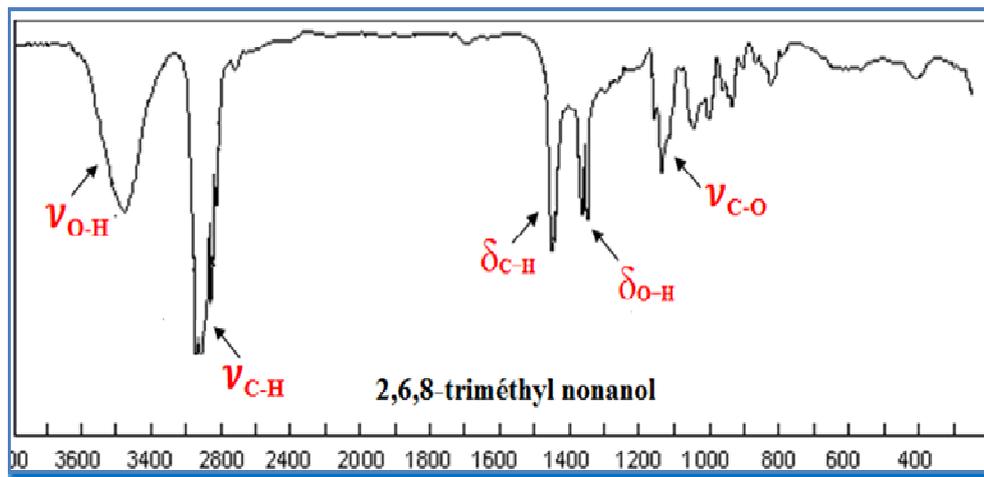


Figure III.16: spectre IR du 2,6,8-triméthylnonan-4-ol

Remarque : selon la classe de l'alcool (primaire, secondaire, tertiaire) les vibrations de déformation δ_{O-H} et d'élongation ν_{C-O} auront des fréquences d'absorption différentes :

	Alcool primaire	Alcool secondaire	Alcool tertiaire
δ_{O-H} (en cm^{-1})	1208	1355	Vers 1380
ν_{C-O} (en cm^{-1})	1017	1138	Vers 1160

IV.6. Les cétones C=O

En infra rouge, le groupe carbonyle (C=O) est l'un des groupes qu'on peut caractériser très facilement par sa bande de vibration d'élongation très intense et fine vers 1700 cm^{-1} . C'est la bande la plus intense et la plus nette d'un spectre IR.

La valeur de l'absorption du $\nu_{C=O}$ dépend de l'état physique (solide, liquide, vapeur, en solution), des effets dus aux groupes voisins, de la conjugaison, et des liaisons H éventuelles.

Sur le spectre 4-méthylpenta-2-one (figure III.16), la bande d'élongation $\nu_{C=O}$ apparaît à 1720 cm^{-1} et la bande d'élongation ν_{C-O} de faible intensité apparaît à 1171 cm^{-1} . Cette bande est à distinguer de celle des esters et des acides (beaucoup plus forte, dans la même zone de nombre d'onde).

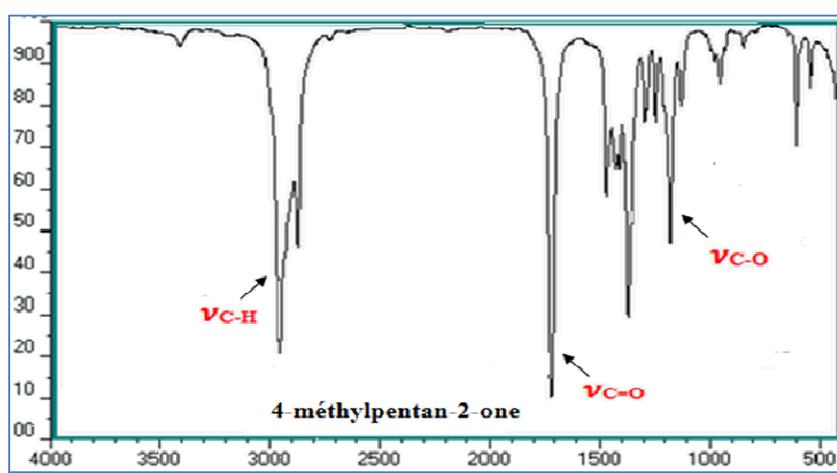
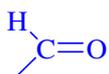


Figure III.17 : spectre IR du 4-méthylpenta-2-one

Remarque : les contraintes dues aux cycles ont un effet hypsochrome sur $\nu_{C=O}$

	Cyclohexanone	Cyclopentanone	Cyclobutanone
$\nu_{C=O}$ (en cm^{-1})	1715	1751	1775

IV. 7. Les Aldéhydes



La valeur de l'absorption du $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ des aldéhydes est un peu plus élevée que celle des cétones, elle apparaît dans la zone de 1740 à 1720 cm^{-1} . De nouvelles bandes apparaissent, celles dues à $\nu_{\text{C}(\text{ald}-\text{H})}$ et $\nu_{\text{C}(\text{ald}-\text{H})}$:

- La bande de l'absorption du $\nu_{\text{C}(\text{ald}-\text{H})}$ sort sous forme d'un doublet dans la zone de 2825 à 2715 cm^{-1} au dessous des bandes des $\nu_{\text{C}-\text{H}}$ aliphatiques.
- La bande de l'absorption du $\nu_{\text{C}(\text{ald}-\text{H})}$ sort vers 1387 cm^{-1}

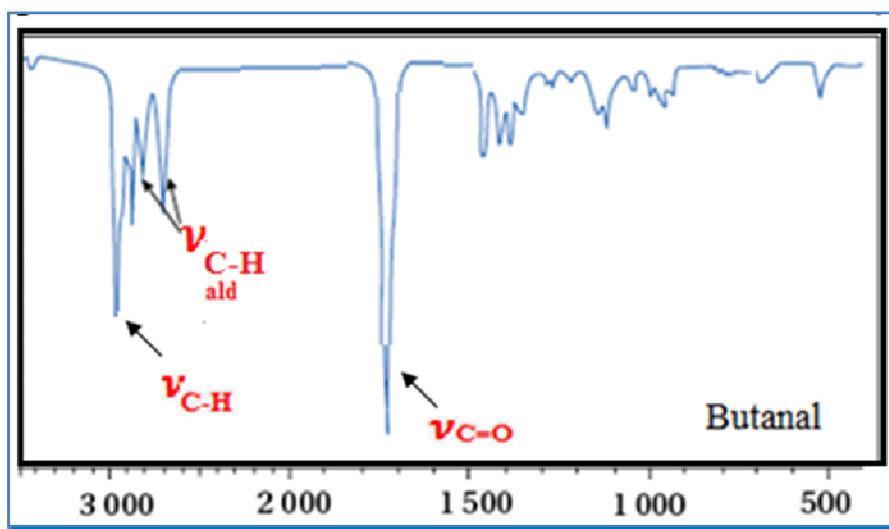


Figure III.18 : spectre IR du Butanal

IV. 8. Acides carboxyliques



En solution ou à l'état solide, les acides carboxyliques existent sous forme de dimère à cause des très fortes liaisons hydrogène.

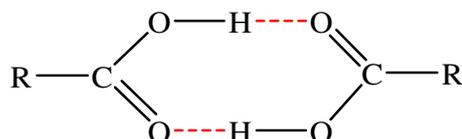


Figure III.19: formation de dimère

En solution très diluée dans un solvant apolaire, $\nu_{\text{O}-\text{H}}$ apparaît à 3520 cm^{-1} . Dans le cas des dimères, cette bande apparaît sous forme d'une bande très large et très intense dans la zone de 3300 à 2500 cm^{-1} à cause des fortes liaisons hydrogène, sur laquelle se superposent les vibration $\nu_{\text{C}-\text{H}}$ alkyles et aryles.

La bande de vibration $\nu_{C=O}$ est plus intense que celles des aldéhydes et cétones :

Dans le monomère, $\nu_{C=O}$ apparaît vers 1760 cm^{-1} (effet $-I$ de O). Dans le dimère (qui est la structure habituelle), la liaison $C=O$ est affaiblie par la liaison H et la bande d'absorption $\nu_{C=O}$ subit un effet bathochrome important elle apparaît entre 1720 et 1706 . Deux autres bandes sont caractéristiques des acides carboxyliques, celle de la vibration d'élongation ν_{C-O} qui apparaît dans la zone de 1320 à 1210 cm^{-1} , et celle de la déformation δ_{O-H} dans la zone de 1440 à 1395 cm^{-1} .

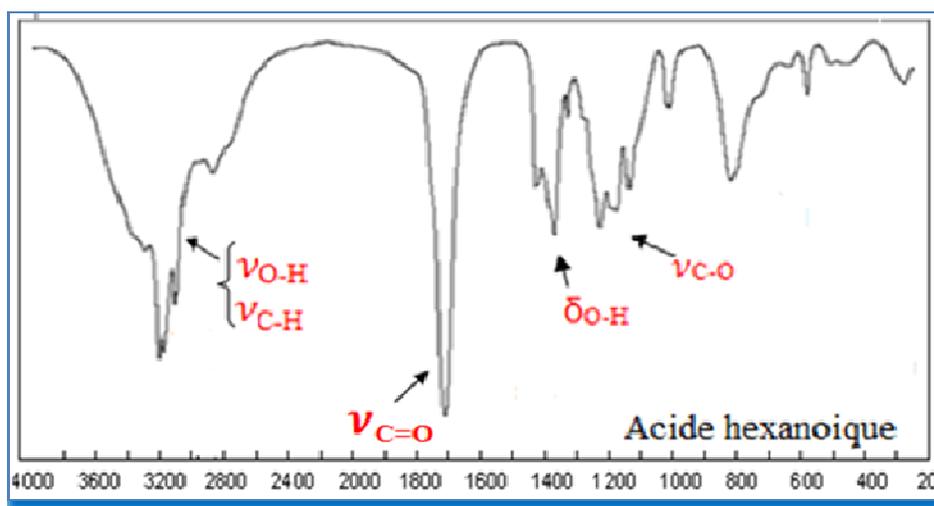


Figure III.20: spectre IR de l'acide hexanoïque

IV. 9. Les amines $R-NH_2$

Les amines sont caractérisées les bandes de vibration suivantes :

- ν_{N-H} : deux bandes si amine primaire (dans la zone de 3400 à 3250 cm^{-1}), une bande pour les amines secondaires (dans la zone de 3350 - 3310 cm^{-1}) et aucune pour les amines tertiaires (car pas il n'y a pas de liaison N-H).
- ν_{C-N} d'intensité faible à moyenne dans le domaine 1250 - 1020 cm^{-1} pour les amines aliphatiques (pas de conjugaison), et dans le domaine 1342 - 1266 cm^{-1} pour les amines aromatiques.
- δ_{N-H} d'intensité moyenne à forte dans la zone de 1650 à 1580 cm^{-1} pour les amines primaires, et vers 1515 cm^{-1} dans le cas des amines secondaires.
- γ_{N-H} : dans la zone de 910 à 660 cm^{-1} .

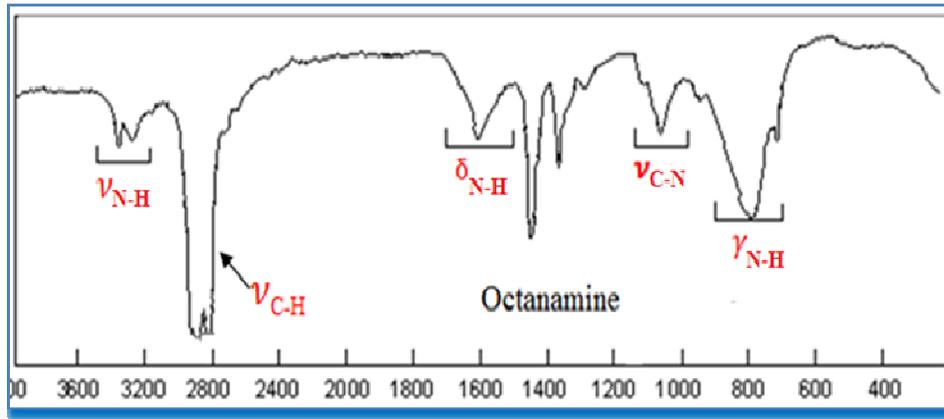


Figure III.21 : spectre IR de l'octanamine

IV. 10. Les amides $\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$

Les amides sont caractérisés par les vibrations relatives aux liaisons (C=O) et (N–H). La bande de vibration $\nu_{\text{C=O}}$ apparaît à une fréquence plus faible que celle des cétones (à 1680 cm^{-1}) à cause de l'effet mésomère donneur de l'atome N. Cette bande recouvre la bande correspondante à la vibration de la liaison $\delta_{\text{N-H}}$.

- Les bandes de vibration $\nu_{\text{N-H}}$ sortent vers 3250 cm^{-1} dans les produits purs à cause des liaisons hydrogène. Pour les amides primaires, il y a deux bandes (élongations symétrique et asymétrique). Pour les amides secondaires on ne trouve qu'une seule bande dans cette zone par contre les amides tertiaires ne présentent aucune bande.
- La vibration $\nu_{\text{C-N}}$ apparaît vers 1425 cm^{-1} .
- La vibration $\gamma_{\text{N-H}}$ apparaît sous forme d'une bande large entre 700 et 600 cm^{-1} .

Exemple: spectre IR du 2-méthyle propanamide (figure III.22)

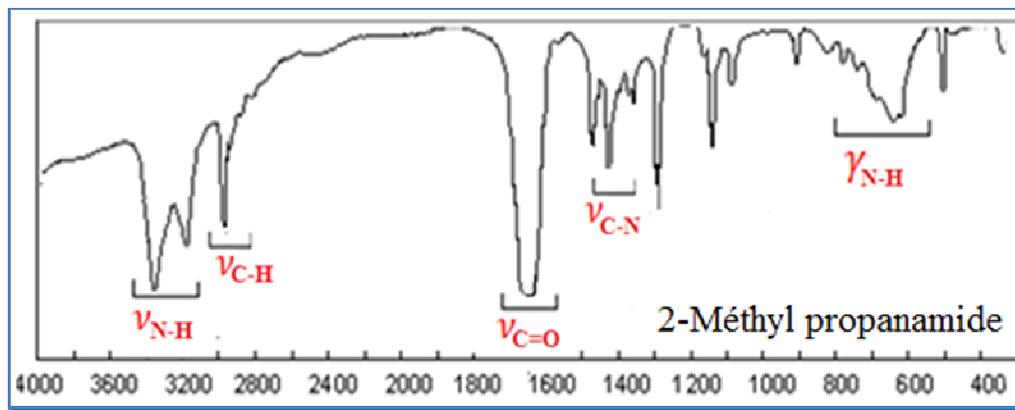


Figure III.22 : spectre IR du 2-méthyle propanamide

IV.11. Les éthers (R-O-R')

Les éthers sont caractérisés par deux bandes liées à la vibration d'élongation du système C-O-C :

- une bande d'élongation symétrique apparait dans la zone de 1150 à 1070 cm^{-1} .
- Une bande d'élongation asymétrique toujours forte vers 1245 cm^{-1} .

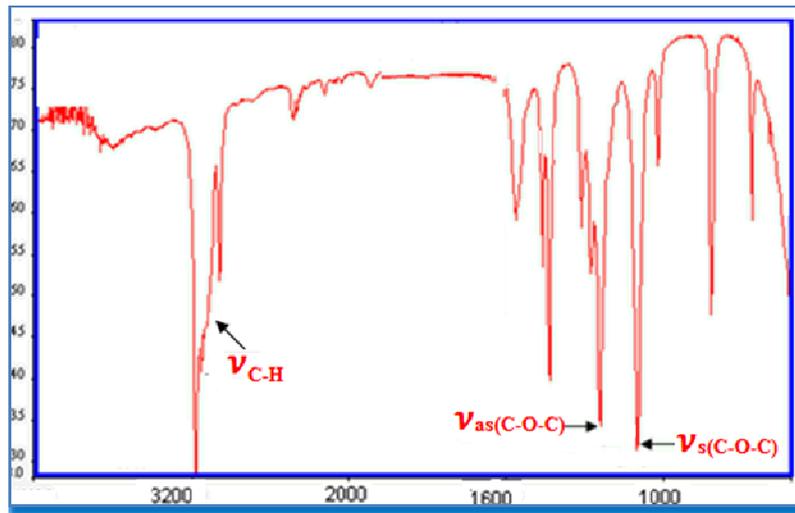


Figure III.23 : spectre IR de l'éther de méthyle et de tertio-butyle

IV. 12. Les nitriles (R-C≡N)

Les nitriles sont caractérisés par une bande intense vers 2200 cm^{-1} qui correspond à la vibration $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$. Exemple : Spectre IR du butyronitrile.

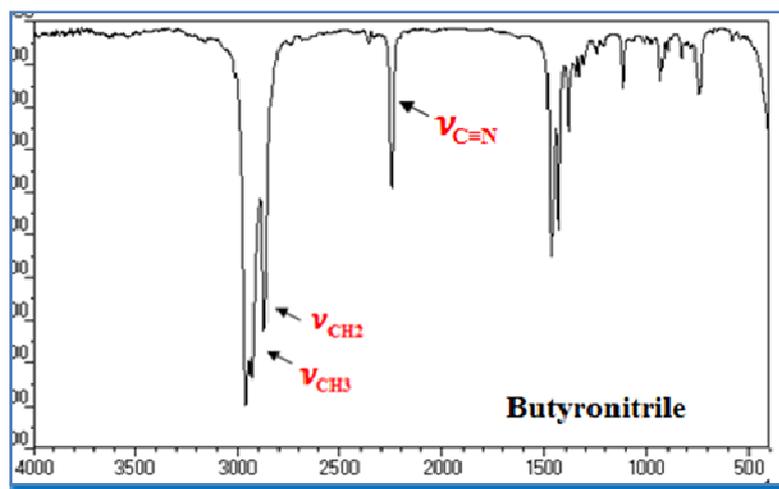
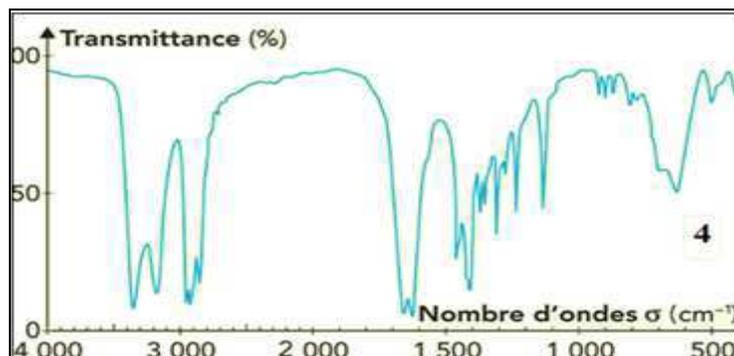
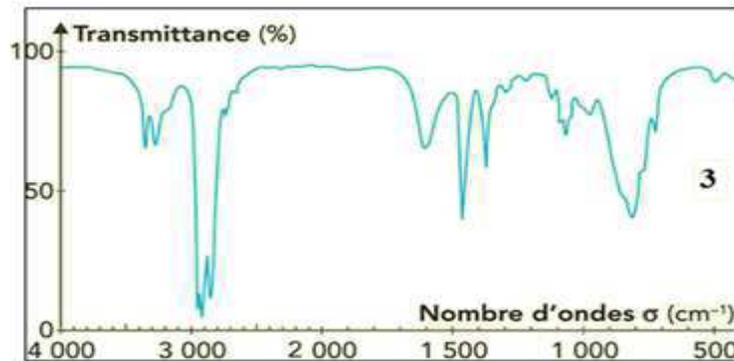
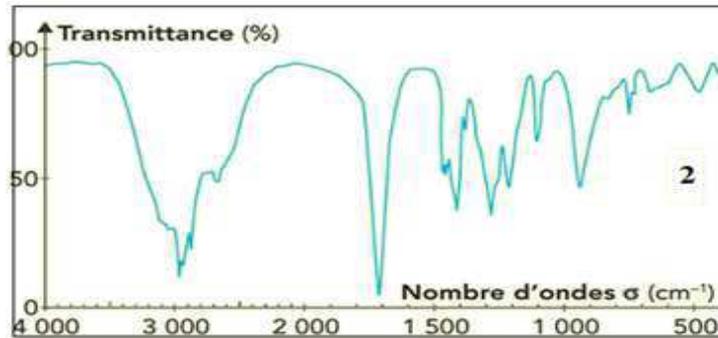
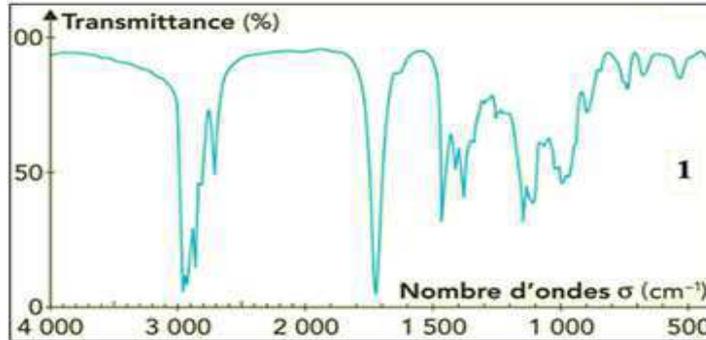


Figure III.24 : Spectre IR du butyronitrile

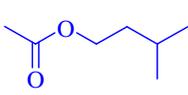
Exercices

Exercice 1

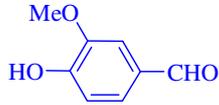
Attribuer les spectres IR suivants aux composés ci-dessous. Justifier votre réponse en indiquant sur les spectres l'attribution des signaux d'absorptions IR caractéristiques de chaque composé : Acide pentanoïque ; pentanal ; pentan-1-amine ; pentanamide.



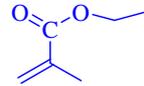
Exercice 2 : Attribuer les spectres IR suivants aux composés ci-dessous. Justifier votre réponse en indiquant sur les spectres l'attribution des signaux d'absorptions IR caractéristiques de chaque composé.



1



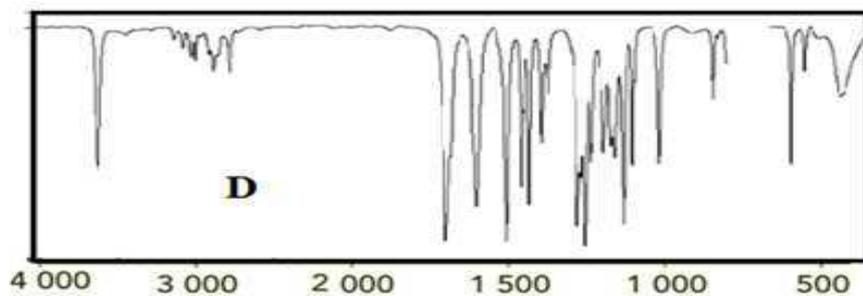
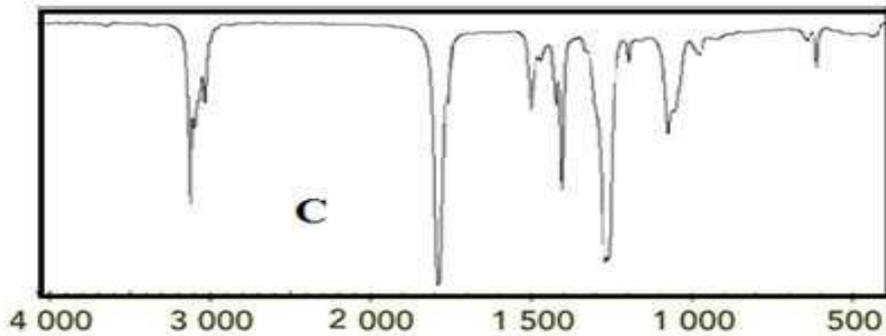
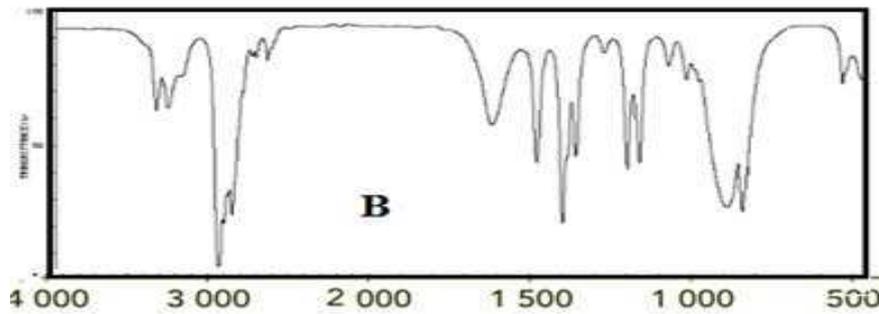
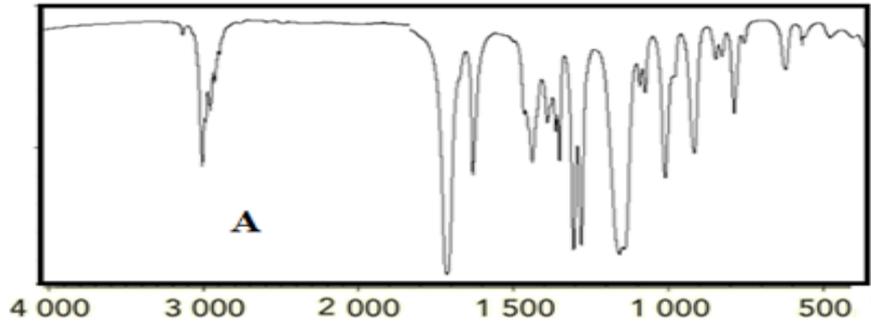
2



3



4



Correction des exercices

Chapitre IExercice 1

1. (a) $V_M = 7,5 \text{ ml}$; $V_A = 75 \text{ ml}$; $V_B = 180 \text{ ml}$
 (b) $t'_A = 4,5 \text{ min}$; $t'_B = 11,5 \text{ min}$
 $V'_A = 67,5 \text{ ml}$; $V'_B = 172,5 \text{ ml}$
 (c) $k'_A = 9$; $k'_B = 23$
 (d) $H = 0,04 \text{ cm/plateau}$; $\alpha = 2,56$
2. $\omega_A = 17,0 \text{ sec}$; $\omega_B = 40,8 \text{ sec}$
 $R = 14,5$

Exercice 2

1. La plaque CCM (1) est la meilleure car les taches correspondant à chaque produit sont bien séparées
2. Sur la plaque 2, les taches sont déformées car le dépôt est trop concentré ce qui a provoqué un phénomène de saturation de la phase stationnaire de sa plaque CCM. Une part du produit est donc entraînée par la phase mobile sans interactions avec la phase stationnaire et donc sans être ralentie par celle-ci ce qui provoque des taches déformées dont des R_f plus grands
3. les courbes de Van Deemter des trois gaz vecteurs montrent que la HEPT la plus petite est obtenue avec H_2 . De plus, ce minimum est obtenu avec une vitesse moyenne de gaz vecteur élevée. Donc le H_2 est le gaz vecteur le plus approprié pour cette analyse. (une réserve peut toutefois être émise concernant la dangerosité de ce gaz, il est alors préférable de choisir l'Hélium (He))

Exercice 3

Une colonne avec une phase polaire normale :

Hexane < éther diéthylique < méthanol < eau

Une colonne avec une phase à polarité inversée :

Eau < méthanol < éther diéthylique < hexane

Exercice 4

1. La résolution R:

$$R_S = 2 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(\omega_2 + \omega_1)} \Rightarrow R_S = \frac{2(11.53 - 10.60)}{1.15 + 1.05}$$

$$\Rightarrow R_S = 0.84$$

2. N=1608

3. H= 0.015 cm

4. L₂ = 80 cm5. t_{rB} = 20,99 min**Chapitre 2****Exercice 1**

1. On applique la loi de Beer-Lambert :

$$\varepsilon = \frac{-\log T}{l \cdot C} \Rightarrow \varepsilon = \frac{-\log 0.48}{0.2 \times 10^{-5}}$$

$$\varepsilon = 160000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

2. A=ε.l.C

$$A = 160000 \times 0.4 \times 10^{-5} \Rightarrow A = 0.64$$

Exercice 2

1) On peut conclure que 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.

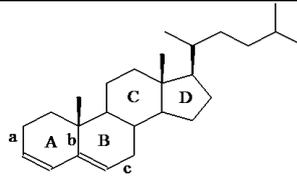
2) Il s'agit de la transition $n \rightarrow \pi^*$. Plus l'électronégativité diminue, plus la transition est facile et λ augmente

Exercice 3

1.

Molécule	1	2	3	1
λ_{\max} (nm)	215	314	380	480

2. La molécule qui absorbe dans le domaine visible c'est la molécule 1

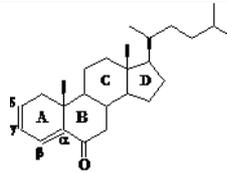
Exercice 4

Diène hétéroannulaire (les deux dl dans deux cycles différents) : valeur de base 214 nm

- Une double liaison est exocyclique au cycle A : incrément 5
- Trois restes alkyles (liaisons a, b,c) : incrément 3×5

$$\lambda_{\max} (\text{calculée}) = 214 + 5 + (3 \times 5)$$

$$= 234 \text{ nm}$$

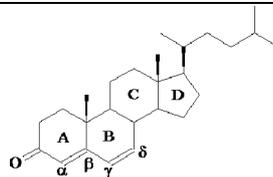


Chromophore de base (B) : valeur de base : 215

- 1 double liaison conjuguée supplémentaire (A) : incrément 30
- Composante diénique homoannulaire : incrément 39
- 1 double liaison est exocyclique : incrément 5
- 2 restes alkyles (en position α et δ) : incrément $10 + 18$

$$\lambda_{\max} (\text{calculée}) = 215 + 30 + 39 + 5 + 10 + 18$$

$$= 317 \text{ nm}$$

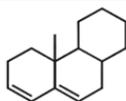


Chromophore de base (A) : valeur de base : 215

- 1 double liaison conjuguée supplémentaire (B) : incrément 30
- 1 double liaison est exocyclique : incrément 5
- 2 restes alkyles (en position β et δ) : incrément $12 + 18$

$$\lambda_{\max} (\text{calculée}) = 215 + 30 + 5 + 12 + 18$$

$$= 280 \text{ nm}$$



Diène hétéroannulaire (les deux doubles liaisons dans deux cycles différents) :

Valeur de base : 214 nm

- Une double liaison est exocyclique au cycle A :incrément 5

- Trois restes alkyles (liaisons a, b, c) : incrément 3 x 5

$$\lambda_{\max} (\text{calculée}) = 214 + 5 + (3 \times 5)$$

$$= 234 \text{ nm}$$

Chapitre III

Exercice 1

Acide pentanoïque : correspond au spectre 2

Pentanal : correspond au spectre 1

pentan-1-amine : correspond au spectre 3

pentanamide : correspond au spectre 4

Exercice 2

Composé 1 : correspond au spectre C

Composé 2 : correspond au spectre D

Composé 3 : correspond au spectre A

Composé 4 : correspond au spectre B



- [1] Burgot, D.G., Burgot, J-L. *Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications : Méthodes chromatographiques, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques*, 3^{ème} édition, Lavoisier, 2011, 368p.
- [2] Coates, J. Interpretation of Infrared Spectra, In *A Practical Approach*, Encyclopedia of Analytical Chemistry, Edition: R.A. Meyers, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2000, 24p.
- [3] Cuq, J-L. *Chromatographie liquide*, université Montpellier, 2007, 98p.
- [4] Grob, R.L. et al. *Modern Practice of Gas Chromatography*, Ed. John Wiley & Sons, 2004, 1064p.
- [5] Harris, W.E., Habgood, H.W. *Programmed Temperature Gas Chromatography*, New York : Wiley, 1966, 305p.
- [6] Hollas, J. M. *Modern Spectroscopy*, 4th edition, John Wiley & Sons, 2004, 439p.
- [7] Mahuzier, G., Hamon, M. *Chimie analytique : Méthodes de séparation*, 2^{ème} édition, Masson, Paris, 1990, 312p.
- [8] Miller, J.M. *Chromatography: concepts and contrasts*. 2^{ème} édition, John Wiley & Sons. 2005, 520p
- [9] Rouessac, F., Rouessac, A., Cruché, D. *Analyse chimique : Méthodes et techniques instrumentales modernes*, 6^{ème} édition, Dunod, 2004, 457p.
- [10] Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. *Principes d'analyse instrumentale*. De Boeck Supérieur. 2003, 956p.
- [11] Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F. J. *Chimie Analytique*, 7^{ème} édition, De Boek & Larcier, Paris & Bruxelles, 1997, 956p.
- [12] Touchstone, D.J.C. *Practice of Thin Layer Chromatography*, 3th edition, John Wiley & Sons, 1992, 315p.
- [13] Yost, R.W., Ettore, L.S., Conlon, R.D., Vaumoron, J. *Pratique de la chromatographie liquide*. Ed.Technique et Documentation, Paris, 1981.

Si vous avez des commentaires ou des suggestions, adressez-les S.V.P

fbelferdi@gmail.com



fatiha.belferdi@univ-jjijel.dz