

Francis Rouessac  
Annick Rouessac  
Avec la collaboration de  
Daniel Cruché, Claire Duverger-Arfuso, Arnaud Martel

# Analyse chimique

Méthodes et techniques instrumentales

8<sup>e</sup> édition

RESSOURCES



NUMÉRIQUES

Licence  
Pharmacie  
IUT

DUNOD

# TABLE DES MATIÈRES

<b>AVANT-PROPOS</b>	xiv
<b>INTRODUCTION</b>	1
<b>PARTIE I</b>	
<b>MÉTHODES SÉPARATIVES</b>	
<b>CHAPITRE 1 • CHROMATOGRAPHIE, ASPECTS GÉNÉRAUX</b>	<b>5</b>
1.1 Généralités sur la chromatographie analytique	5
1.2 Le chromatogramme	7
1.3 Pics d'élution gaussiens et pics réels	8
1.4 Modèle des plateaux	10
1.5 Coefficient (ou Constante) de distribution de Nernst ( $K$ )	12
1.6 Efficacité d'une colonne	12
1.7 Grandeurs de rétention	15
1.8 Facteur de séparation (ou sélectivité) entre deux solutés	17
1.9 Facteur de résolution entre deux pics	18
1.10 Influence de la vitesse de la phase mobile	20
1.11 Optimisation d'une analyse chromatographique	22
1.12 Classification des techniques chromatographiques	23
<b>ANALYSE QUANTITATIVE PAR CHROMATOGRAPHIE</b>	<b>26</b>
1.13 Principe et relation de base	26
1.14 Logiciels de chromatographie	27
1.15 Méthode de l'étalonnage externe	27
1.16 Méthode de l'étalonnage interne (étalon interne)	29
1.17 Méthode par normalisation interne	31
Exercices	33
<b>CHAPITRE 2 • CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE</b>	<b>36</b>
2.1 Principe d'une installation de CPG	36
2.2 Gaz vecteur et régulateur de débit	37
2.3 Introduction de l'échantillon et chambre d'injection	39
2.4 Enceinte thermostatée	44

## Table des matières

2.5	Colonne	44
2.6	Phases stationnaires	47
2.7	Principaux détecteurs	52
2.8	Optimisation d'une séparation en CPG	58
2.9	CPG « rapide », « ultra-rapide » et microchromatographie	58
2.10	Indices de rétention et constantes des phases stationnaires	60
	Exercices	65
<b>CHAPITRE 3 • CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE</b>		<b>69</b>
3.1	Conception générale d'un appareil de CLHP	69
3.2	Pompes et gradients d'élution	71
3.3	Injecteurs	74
3.4	Colonne chromatographique	74
3.5	Phases stationnaires	76
3.6	Phases mobiles	84
3.7	Phases mobiles et colonnes particulières	86
3.8	Principaux détecteurs	89
3.9	Optimisation en CLHP	97
3.10	Nouveaux développements de la CLHP	99
	Exercices	101
<b>CHAPITRE 4 • CHROMATOGRAPHIE PAR ÉCHANGE D'IONS</b>		<b>105</b>
4.1	Principe de la chromatographie par échange d'ions	105
4.2	Phases stationnaires pour la CEI	108
4.3	Phases mobiles	110
4.4	Détecteur à conductivité	110
4.5	Pic de l'eau et pic système	112
4.6	Le suppresseur d'ions de l'électrolyte	113
4.7	Chromatographie par exclusion d'ions	117
4.8	Analyseurs d'acides aminés	117
	Exercices	119
<b>CHAPITRE 5 • CHROMATOGRAPHIE PLANAIRE</b>		<b>121</b>
5.1	Mise en œuvre de la chromatographie plane	121
5.2	Particularités liées à la CCM	125
5.3	Phases stationnaires	126
5.4	Paramètres de séparation et de rétention	128

5.5	CCM quantitative .....	129
	Exercices .....	130
<b>CHAPITRE 6 • CHROMATOGRAPHIE EN PHASE SUPERCRITIQUE .....</b>		<b>132</b>
6.1	Rappel sur les fluides supercritiques .....	132
6.2	Le dioxyde de carbone comme phase mobile .....	133
6.3	Instrumentation en CPS ou SFC .....	135
6.4	Comparaison entre CPS, CLHP et CPG .....	136
6.5	Séparation des énantiomères par CPS .....	138
6.6	Autres applications de la CPS .....	139
<b>CHAPITRE 7 • CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION STÉRIQUE .....</b>		<b>140</b>
7.1	Principe de la chromatographie d'exclusion stérique (CES) ..	140
7.2	Phases stationnaires et phases mobiles .....	142
7.3	Instrumentation .....	144
7.4	Domaines d'application .....	144
<b>CARACTÉRISATION DES MACROMOLÉCULES .....</b>		<b>145</b>
7.5	Caractéristiques des polymères .....	146
	Exercices .....	151
<b>CHAPITRE 8 • ÉLECTROPHORÈSE CAPILLAIRE HAUTE PERFORMANCE .....</b>		<b>153</b>
8.1	Électrophorèse de zone, Électrophorèse capillaire .....	153
8.2	Migration des analytes dans le capillaire .....	155
8.3	Instrumentation .....	160
8.4	Techniques électrophorétiques .....	163
8.5	Performances .....	165
8.6	Électrochromatographie capillaire (ECC) .....	167
	Exercices .....	169
<b>PARTIE II</b>		
<b>MÉTHODES SPECTROSCOPIQUES</b>		
<b>CHAPITRE 9 • SPECTROMÉTRIE D'ABSORPTION DE L'ULTRAVIOLET ET DU VISIBLE .....</b>		<b>173</b>
9.1	Le domaine spectral de l'UV au très proche IR .....	173
9.2	L'origine des absorptions .....	175

## Table des matières

9.3	Transitions électroniques des molécules organiques .....	177
9.4	Groupements chromophores .....	179
9.5	Effets dus aux solvants : solvatochromie .....	180
9.6	Instrumentation dans l'UV/Visible .....	182
9.7	Les différentes configurations des spectromètres UV/Vis ...	188
9.8	Cellules et dispositifs de mesure .....	190
9.9	Analyse quantitative : lois de l'absorption moléculaire .....	193
9.10	Méthodes utilisées en analyse quantitative .....	196
9.11	Méthodes de correction de ligne de base .....	202
9.12	Distribution des erreurs relatives dues aux appareils .....	204
9.13	Spectrométrie dérivée .....	205
9.14	Colorimétrie visuelle par transmission ou réflectance .....	207
	Exercices .....	209
	<b>CHAPITRE 10 • SPECTROMÉTRIES INFRAROUGE ET RAMAN .....</b>	<b>212</b>
10.1	Origine de l'absorption lumineuse dans l'infrarouge .....	212
10.2	Présentation des absorptions dans l'infrarouge .....	213
10.3	Bandes de vibration-rotation dans l'infrarouge .....	214
10.4	Modèle mécanique des vibrations entre atomes .....	215
10.5	Les composés réels .....	217
10.6	Bandes caractéristiques des composés organiques .....	218
10.7	Spectromètres et analyseurs infrarouges .....	221
10.8	Sources et détecteurs dans le moyen IR .....	226
10.9	Examen des échantillons .....	229
10.10	Techniques couplées .....	236
10.11	Comparaisons de spectres .....	237
10.12	Analyse quantitative .....	238
	<b>LE PROCHE INFRAROUGE .....</b>	<b>240</b>
10.13	Analyse dans le proche infrarouge .....	240
	<b>SPECTROMÉTRIE RAMAN .....</b>	<b>245</b>
10.14	Principe de l'effet Raman .....	246
10.15	Instrumentation .....	247
10.16	Domaines d'applications .....	250
	Exercices .....	252

<b>CHAPITRE 11 • FLUORIMÉTRIE ET CHIMILUMINESCENCE</b> .....	<b>255</b>
11.1 Origine de la fluorescence .....	255
11.2 Les composés fluorescents .....	259
11.3 Relation entre fluorescence et concentration .....	260
11.4 Diffusion Rayleigh et diffusion Raman .....	262
11.5 Instrumentation .....	265
11.6 Particularités et applications .....	269
11.7 Chimiluminescence .....	272
Exercices .....	275
<b>CHAPITRE 12 • SPECTROMÉTRIE DE FLUORESCENCE X</b> .....	<b>277</b>
12.1 Principe de base .....	277
12.2 Le spectre de fluorescence X .....	279
12.3 Sources d'excitation en fluorescence X .....	280
12.4 Détection des rayons X .....	284
12.5 Les diverses catégories d'instruments .....	286
12.6 Préparation des échantillons .....	290
12.7 Absorption des rayons X - densimétrie X .....	291
12.8 Analyse quantitative par fluorescence X .....	293
12.9 Applications de la fluorescence X .....	293
Exercices .....	295
<b>CHAPITRE 13 • ABSORPTION ATOMIQUE ET ÉMISSION DE FLAMME</b> .....	<b>298</b>
13.1 Effet de la température sur un élément .....	298
13.2 Application aux appareils actuels .....	300
13.3 Dosages par SAA .....	302
13.4 Instrumentation de base .....	303
13.5 Perturbations physiques et chimiques .....	310
13.6 Corrections des absorptions non spécifiques .....	313
13.7 Sensibilité et limite de détection en SAA .....	316
13.8 Photométrie de flamme .....	317
Exercices .....	320
<b>CHAPITRE 14 • SPECTROMÉTRIE D'ÉMISSION ATOMIQUE</b> .....	<b>323</b>
14.1 Spectrométrie d'émission optique (OES) .....	323
14.2 Principe de l'analyse par émission atomique .....	324
14.3 Procédés pour dissocier l'échantillon en atomes ou ions .....	325

## Table des matières

14.4	Systèmes dispersifs et raies spectrales .....	329
14.5	Appareils simultanés et appareils séquentiels .....	331
14.6	Performances .....	335
14.7	Applications de la spectrométrie d'émission atomique ....	336
	Exercices .....	338
<b>CHAPITRE 15 • SPECTROMÉTRIE DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE .....</b>		<b>341</b>
15.1	Généralités .....	341
15.2	Interaction spin/champ magnétique pour un noyau .....	342
15.3	Les noyaux qui peuvent être étudiés par RMN .....	343
15.4	Théorie de Bloch pour $I = 1/2$ .....	344
15.5	Fréquence de Larmor .....	346
15.6	Obtention du spectre par RMN impulsionnelle .....	348
15.7	Les processus de relaxation des noyaux .....	351
15.8	Le déplacement chimique .....	353
15.9	Mesure des déplacements chimiques .....	354
15.10	Noyaux blindés ou déblindés .....	354
15.11	Facteurs affectant les déplacements chimiques .....	355
15.12	Structure hyperfine – Couplages spin-spin .....	358
15.13	Découplage de spin et séquences particulières .....	364
15.14	RMN $^{13}\text{C}$ .....	365
15.15	RMN bi-dimensionnelle (RMN-2D) .....	366
15.16	RMN du fluor et du phosphore .....	368
15.17	Applications de la RMN .....	371
	Exercices .....	380
<b>PARTIE III</b>		
<b>AUTRES MÉTHODES</b>		
<b>CHAPITRE 16 • SPECTROMÉTRIE DE MASSE .....</b>		<b>385</b>
16.1	Principes de base .....	385
16.2	Introduction de l'échantillon .....	390
16.3	Principaux procédés d'ionisation sous vide .....	393
16.4	Procédés d'ionisation à pression atmosphérique .....	397
16.5	Les analyseurs .....	401
16.6	Détecteurs à ions .....	417

<b>QUELQUES APPLICATIONS EN SPECTROMÉTRIE DE MASSE</b>	<b>419</b>
16.7 Identification au moyen d'une spectrothèque	419
16.8 Analyse de la composition élémentaire des ions	420
16.9 Fragmentation des molécules organiques	423
16.10 Couplage ICP-SM	428
Exercices	429
<b>CHAPITRE 17 • ANALYSES ISOTOPIQUES ET MÉTHODES DE MARQUAGE</b>	<b>431</b>
17.1 Principe des méthodes par dilution isotopique	431
17.2 Dosage par ajout d'un radio-isotope	432
17.3 Dosage par ajout d'un isotope stable	434
17.4 Mesure des rapports isotopiques d'un élément	435
17.5 Dosages par marquage enzymatique	437
17.6 Analyse par activation neutronique (NAA)	443
<b>COMPLÉMENTS DE RADIOCHIMIE</b>	<b>446</b>
17.7 Rappel sur les isotopes radioactifs	446
17.8 Période $\tau$ , constante de radioactivité $\lambda$ et activité $A$	447
17.9 Molécules organiques marquées radioactives	447
17.10 Détection et comptage de l'activité radioactive	448
17.11 Précautions particulières	449
Exercices	450
<b>CHAPITRE 18 • ANALYSEURS SPÉCIFIQUES</b>	<b>454</b>
18.1 Analyses particulières	454
18.2 Analyse élémentaire organique	454
18.3 Analyseurs d'azote total	458
18.4 Analyseurs de soufre total	459
18.5 Analyseurs de carbone total	460
18.6 Analyseurs de mercure	461
18.7 Spectrométrie à mobilité d'ions (IMS)	462
Exercices	464
<b>CHAPITRE 19 • MÉTHODES POTENTIOMÉTRIQUES IONOMÉTRIE</b>	<b>465</b>
19.1 Généralités sur les cellules de mesure	465
19.2 Une électrode sélective particulière : l'électrode pH	467
19.3 Les principaux types d'électrodes ioniques sélectives (EIS)	469



## Table des matières

19.4	Les différentes méthodes de quantification .....	472
19.5	Quelques applications.....	475
	Exercices.....	476
<b>CHAPITRE 20 • MÉTHODES VOLTAMPÉROMÉTRIQUES ET COULOMÉTRIQUES .....</b>		<b>478</b>
20.1	Généralités sur la méthode voltampérométrique .....	478
20.2	L'électrode à goutte de mercure .....	480
20.3	Polarographie à courant continu .....	481
20.4	Le courant de diffusion.....	482
20.5	Polarographie à impulsions .....	484
20.6	Polarographie à courant alternatif (ACP) .....	486
20.7	Voltampérométrie à redissolution .....	486
20.8	Dosages coulométriques à courant ou à potentiel constant .....	488
20.9	Le dosage de la teneur en eau d'après la méthode de Karl Fischer.....	489
20.10	Conduite d'un dosage selon la méthode de Karl Fischer... ..	491
20.11	Détection voltampérométrique en CLHP et ECHP .....	493
20.12	Capteurs de type ampérométrique.....	494
	Exercices.....	500
<b>CHAPITRE 21 • TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS .....</b>		<b>502</b>
21.1	La nécessité d'un traitement préalable .....	502
21.2	Extraction en phase solide (SPE) .....	503
21.3	Cartouches d'immuno-extraction .....	505
21.4	Procédés de micro-extraction .....	506
21.5	Extraction gazeuse sur colonne ou sur disque .....	507
21.6	Espace de tête ( <i>headspace</i> ).....	509
21.7	Extraction par solvant à l'état supercritique .....	511
21.8	Digesteurs à micro-ondes .....	512
21.9	Analyseurs en ligne .....	513
<b>CHAPITRE 22 • PARAMÈTRES STATISTIQUES DE BASE .....</b>		<b>514</b>
22.1	Valeur centrale, justesse et fidélité d'un ensemble de mesures.....	514
22.2	Variance et écart-type .....	515
22.3	Erreurs aléatoires ou « indéterminées » .....	517

22.4 Intervalle de confiance de la moyenne ..... 519  
 22.5 Comparaison de résultats — Tests paramétriques ..... 520  
 22.6 Test de rejet – Quotient Q ou test de Dixon ..... 522  
 22.7 Courbes d'étalonnage ..... 523  
 22.8 Méthodes robustes ou tests non-paramétriques ..... 526  
 22.9 Optimisation par la méthode *un seul facteur à la fois* ..... 527  
 Exercices..... 528

**RÉPONSES AUX EXERCICES 530**

**TABLE DES CONSTANTES PHYSICO-CHIMIQUES 547**

**BIBLIOGRAPHIE 548**

**INDEX 549**