

SCIENCES SUP

Cours et exercices corrigés

1^{er} cycle/Licence • Pharmacie

ANALYSE CHIMIQUE

Méthodes et techniques
instrumentales modernes

6^e édition

*Francis Rouessac
Annick Rouessac*

avec la collaboration de Daniel Cruché

DUNOD

Table des matières

AVANT-PROPOS	XVII
INTRODUCTION	1
PARTIE 1 • MÉTHODES SÉPARATIVES	
L'invention de la chromatographie	6
CHAPITRE 1 • CHROMATOGRAPHIE, ASPECTS GÉNÉRAUX	7
1.1 Généralités sur la chromatographie analytique	7
1.2 Le chromatogramme	9
1.3 Pics d'éluion gaussiens	11
1.4 Modèle des plateaux	11
1.5 Coefficient (ou Constante) de distribution de Nernst (K)	14
1.6 Efficacité d'une colonne	15
1.7 Grandeurs de rétention	17
1.8 Facteur de séparation (ou sélectivité) entre deux solutés	18
1.9 Facteur de résolution entre deux pics	19
1.10 Influence de la vitesse de la phase mobile	20
1.11 Optimisation d'une analyse chromatographique	23
1.12 Les diverses techniques chromatographiques	24
ANALYSE QUANTITATIVE PAR CHROMATOGRAPHIE	27
1.13 Principe et relation de base	27
1.14 Aires des pics et logiciels de chromatographie	27
1.15 Méthode de l'étalonnage externe	28
1.16 Méthode de l'étalonnage interne (étalon interne)	30
1.17 Méthode par normalisation interne	32
EXERCICES	33

CHAPITRE 2 • CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE	36
2.1 L'origine de la CLHP	36
2.2 Conception générale d'un appareil de CLHP	37
2.3 Pompes et gradients d'élution	38
2.4 Injecteurs	40
2.5 Colonnes	41
2.6 Phases stationnaires	42
2.7 Chromatographie liquide chirale	47
2.8 Phases mobiles	48
2.9 Chromatographie d'appariement d'ions	50
2.10 Chromatographie d'interaction hydrophobe	51
2.11 Principaux détecteurs	52
2.12 Tendances actuelles de la CLHP	57
EXERCICES	59
CHAPITRE 3 • CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE	61
3.1 Principe d'une installation de CPG	61
3.2 Gaz vecteur et régulateur de débit	63
3.3 Introduction de l'échantillon et chambre d'injection	64
3.4 Enceinte thermostatée	68
3.5 Colonnes	68
3.6 Phases stationnaires	70
3.7 Principaux détecteurs	73
3.8 Détecteurs conduisant à des données structurales	77
3.9 Chromatographie rapide	78
3.10 Indices de rétention et Constantes des phases stationnaires	80
3.11 Chromatographie « multidimensionnelle »	84
EXERCICES	85
CHAPITRE 4 • CHROMATOGRAPHIE IONIQUE	88
4.1 Principe de la chromatographie ionique (CI)	88
4.2 Phases stationnaires	90
4.3 Phases mobiles	92
4.4 Détecteurs à conductivité	94

4.5	Le supprimeur d'ions de l'électrolyte	95
4.6	Analyseurs d'acides aminés	96
	EXERCICE	99
	CHAPITRE 5 • CHROMATOGRAPHIE PLANAIRE	100
5.1	Mise en œuvre de la chromatographie planaire	100
5.2	Particularités liées à la CCM	102
5.3	Phases stationnaires	103
5.4	Paramètres de séparation et de rétention	105
5.5	CCM quantitative	105
	EXERCICES	107
	CHAPITRE 6 • CHROMATOGRAPHIE EN PHASE SUPERCRITIQUE	108
6.1	Rappel sur les fluides supercritiques	108
6.2	Les phases supercritiques comme phase mobile	109
6.3	Instrumentation en SFC	110
6.4	Comparaison de la SFC avec la CLHP et la CPG	111
6.5	Place de la SFC en chromatographie	112
	CHAPITRE 7 • CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION STÉRIQUE	114
7.1	Principe de la chromatographie d'exclusion stérique (CES)	114
7.2	Phases stationnaires et phases mobiles	115
7.3	Traitement du chromatogramme	117
7.4	Instrumentation	118
7.5	Domaines d'application	119
	EXERCICES	121
	CHAPITRE 8 • ÉLECTROPHORÈSE CAPILLAIRE ET ÉLECTROCHROMATOGRAPHIE	123
8.1	De l'électrophorèse de zone à l'électrophorèse capillaire	123
8.2	Mobilité électrophorétique et flux électro-osmotique	125
8.3	Instrumentation	129
8.4	Techniques électrophorétiques	131
8.5	Performances	133
8.6	Électrochromatographie capillaire (ECC)	135
	EXERCICES	137

PARTIE 2 • MÉTHODES SPECTROMÉTRIQUES

Les inventeurs de la colorimétrie	140
CHAPITRE 9 • SPECTROMÉTRIE D'ABSORPTION DE L'ULTRAVIOLET ET DU VISIBLE	141
9.1 Le domaine spectral UV-Vis et l'origine des absorptions	141
9.2 Le spectre UV-VIS	143
9.3 Transitions électroniques des composés organiques	144
9.4 Groupements chromophores	146
9.5 Effets dus aux solvants : solvatochromie	148
9.6 Règles de Woodward-Fieser	149
9.7 Instrumentation dans l'UV/Visible	150
9.8 Les différentes configurations des spectromètres UV/Vis	154
9.9 Analyse quantitative : lois de l'absorption moléculaire	158
9.10 Méthodes utilisées en analyse quantitative	161
9.11 Analyse d'un seul analyte et contrôle de pureté	162
9.12 Analyse multicomposants (MCA)	164
9.13 Méthodes de correction de ligne de base	167
9.14 Distribution des erreurs relatives dues aux appareils	168
9.15 Spectrométrie dérivée	169
9.16 Colorimétrie visuelle par transmission ou réflexion	171
EXERCICES	172
CHAPITRE 10 • SPECTROMÉTRIE DU MOYEN ET DU PROCHE INFRAROUGE	175
10.1 Origine de l'absorption lumineuse dans l'infrarouge	175
10.2 Présentation des absorptions dans l'infrarouge	176
10.3 Bandes de vibration-rotation dans l'infrarouge	177
10.4 Modèle simplifié des interactions vibrationnelles	178
10.5 Les composés réels	179
10.6 Bandes caractéristiques des composés organiques	181
10.7 Spectromètres et analyseurs infrarouges	182
10.8 Sources et détecteurs dans le moyen IR	187
10.9 Examen des échantillons	189
10.10 Spectroscopie d'imagerie chimique	193
10.11 Archivage des spectres	193

10.12 Comparaisons de spectres	197
10.13 Analyse quantitative	197
EXERCICES	202
CHAPITRE 11 • FLUORIMÉTRIE ET CHIMILUMINESCENCE	205
11.1 Fluorescence et phosphorescence	205
11.2 Origine de la fluorescence	206
11.3 Relation entre fluorescence et concentration	208
11.4 Diffusion Rayleigh et diffusion Raman	210
11.5 Instrumentation	212
11.6 Quelques applications de la fluorescence	215
11.7 Fluorimétrie résolue dans le temps	217
11.8 Chimiluminescence	218
EXERCICES	221
CHAPITRE 12 • SPECTROMÉTRIE DE FLUORESCENCE X	223
12.1 Principes de base	223
12.2 Le spectre de fluorescence X	224
12.3 Modes d'excitation des éléments en fluorescence X	226
12.4 Détection des rayons X	230
12.5 Les diverses catégories d'instruments	231
12.6 Préparation des échantillons	235
12.7 Absorption des rayons X - densimétrie X	236
12.8 Analyse quantitative par fluorescence X	237
12.9 Applications de la fluorescence X	237
EXERCICES	239
CHAPITRE 13 • ABSORPTION ATOMIQUE ET ÉMISSION DE FLAMME	242
13.1 Effet de la température sur un élément	242
13.2 Application aux appareils actuels	244
13.3 Absorption atomique contre Émission de flamme	245
13.4 Dosages par SAA ou par EF	246
13.5 Instrumentation de base en absorption atomique	247
13.6 Photomètres de flamme	253

13.7	Correction des absorptions parasites	253
13.8	Perturbations physiques et chimiques	257
13.9	Sensibilité et limite de détection en SAA	258
	EXERCICES	260
	CHAPITRE 14 • SPECTROMÉTRIE D'ÉMISSION ATOMIQUE	262
14.1	Spectrométrie d'émission optique des atomes (OES)	262
14.2	Principe de l'analyse par émission atomique	263
14.3	Procédés pour dissocier l'échantillon en atomes ou ions	264
14.4	Systèmes dispersifs et raies spectrales	267
14.5	Appareils simultanés et appareils séquentiels	269
14.6	Performances	272
14.7	Couplage CPG/émission atomique (CPG/ICP-OES)	273
14.8	Applications de la spectrométrie d'émission atomique	274
	EXERCICES	275
	CHAPITRE 15 • SPECTROMÉTRIE DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE	277
15.1	Généralités	277
15.2	Interaction spin/champ magnétique pour un noyau	278
15.3	Les noyaux qui peuvent être étudiés par RMN	280
15.4	Théorie de Bloch pour un noyau dont $I = 1/2$	281
15.5	Fréquence de Larmor	282
15.6	Obtention du spectre par RMN impulsionnelle	284
15.7	Les processus de relaxation des noyaux	287
15.8	Le déplacement chimique	288
15.9	Mesure des déplacements chimiques	288
15.10	Noyaux blindés ou déblindés	289
15.11	Facteurs affectant les déplacements chimiques	290
15.12	Structure hyperfine – Couplages spin-spin	292
15.13	Couplages hétéronucléaires	292
15.14	Couplages homonucléaires	295
15.15	Découplage de spin et séquences particulières	298
15.16	Couplage CLHP/RMN	300
15.17	RMN du fluor et du phosphore	301

15.18 RMN quantitative	302
15.19 Analyseurs utilisant la RMN impulsionnelle	305
EXERCICES	310
PARTIE 3 • AUTRES MÉTHODES	
Les analyses de trace	314
CHAPITRE 16 • SPECTROMÉTRIE DE MASSE	315
16.1 Principe de base	315
16.2 Le spectromètre de Bainbridge (1933)	318
16.3 Analyseurs électromagnétiques de type « EB »	320
16.4 Analyseurs à temps de vol (TOF)	323
16.5 Analyseurs à filtre quadripolaire par transmission	325
16.6 Analyseurs à piégeage d'ions par quadripole	329
16.7 Analyseurs à résonance cyclotronique (FTMS)	330
16.8 Performances des spectromètres de masse	332
16.9 Principaux procédés d'ionisation sous vide	335
16.10 Procédés d'ionisation à pression atmosphérique	339
16.11 Spectromètres de masse en tandem (MS/MS)	342
16.12 Détecteurs à ions	343
QUELQUES APPLICATIONS EN SPECTROMÉTRIE DE MASSE	345
16.13 Identification au moyen d'une spectrothèque	345
16.14 Analyse de la composition élémentaire des ions	346
16.15 Mesure des rapports isotopiques d'un élément	349
16.16 Fragmentation des molécules organiques	350
EXERCICES	355
CHAPITRE 17 • MÉTHODES DE DOSAGE PAR MARQUAGE	357
17.1 Principe des méthodes de marquage	357
17.2 Dilution isotopique avec un marqueur radioactif	358
17.3 Méthode substœchiométrique	359
17.4 Tests radio-immunologiques (RIA)	359
17.5 Mesure des activités radio-isotopiques	360
17.6 Antigènes et anticorps	363
17.7 La méthode de dosage immunoenzymatique (EIA)	363

17.8	Autres techniques immunoenzymatiques	366
17.9	Avantages et défauts des tests ELISA en chimie	367
17.10	Fluoro-immunologie (IFA)	367
17.11	Marquage avec un isotope stable	368
17.12	Analyse par activation neutronique (NAA)	369
17.13	Sources de neutrons thermiques	369
17.14	Activité induite — Durée d'irradiation	370
17.15	Détection par comptage — principe des mesures	370
17.16	Applications	371
	EXERCICES	372
	CHAPITRE 18 • ANALYSEURS ÉLÉMENTAIRES	374
18.1	Analyses particulières	374
18.2	Analyse élémentaire organique	375
18.3	Analyseurs d'azote total	377
18.4	Analyseurs de soufre total	379
18.5	Analyseurs de carbone total	380
18.6	Analyseurs de mercure	380
	EXERCICES	382
	CHAPITRE 19 • MÉTHODES POTENTIOMÉTRIQUES	383
19.1	Généralités sur les cellules de mesure	383
19.2	Une électrode sélective particulière : l'électrode pH	385
19.3	Les principaux types d'électrodes ioniques sélectives	386
19.4	Les calculs et les différentes méthodes	389
19.5	Quelques applications	391
	EXERCICES	392
	CHAPITRE 20 • MÉTHODES VOLTAMPÉROMÉTRIQUES ET COULOMÉTRIQUES	394
20.1	Généralités sur la méthode voltampérométrique	394
20.2	L'électrode à goutte de mercure tombante	396
20.3	Polarographie à courant continu	396
20.4	Le courant de diffusion	397
20.5	Polarographie à impulsions	398

20.6	Détection voltampérométrique en CLHP et ECHP	400
20.7	Capteurs de type ampérométriques	401
20.8	Voltampérométrie à redissolution (<i>stripping voltammetry</i>)	405
20.9	Dosages coulométriques à courant ou à potentiel constant	406
20.10	Le dosage de l'eau d'après la méthode de Karl Fischer	407
20.11	Conduite d'un dosage selon la méthode de Karl Fischer	409
	EXERCICES	412
	CHAPITRE 21 • TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS	414
21.1	La nécessité d'un traitement préalable	414
21.2	Extraction en phase solide (SPE)	415
21.3	Cartouches d'immuno-extraction	417
21.4	Procédés de micro extraction	418
21.5	Extraction gazeuse sur colonne ou sur disque	419
21.6	Espace de tête (<i>headspace</i>)	420
21.7	Extraction par solvant à l'état supercritique	422
21.8	Réacteurs à digestion par micro-ondes	423
21.9	Analyseurs en ligne	424
	CHAPITRE 22 • PARAMÈTRES STATISTIQUES DE BASE	426
22.1	Valeur centrale, justesse et fidélité d'un ensemble de mesures	426
22.2	Variance et écart-type	427
22.3	Erreurs aléatoires ou « indéterminées »	429
22.4	Intervalle de confiance de la moyenne	431
22.5	Comparaison de résultats — Tests paramétriques	432
22.6	Test de rejet – Quotient <i>Q</i> ou test de Dixon	434
22.7	Courbes d'étalonnage	434
22.8	Méthodes robustes ou tests non-paramétriques	437
22.9	Optimisation par la méthode <i>un seul facteur à la fois</i>	438
	EXERCICES	439
	RÉPONSES AUX EXERCICES	441
	TABLE DES CONSTANTES PHYSICO-CHIMIQUES	454
	BIBLIOGRAPHIE	455
	INDEX	459

SCIENCES SUP

Francis Rouessac • Annick Rouessac
avec la collaboration de Daniel Cruché

Préface de Guy Ourisson

ANALYSE CHIMIQUE

Méthodes et techniques instrumentales modernes

Cours et exercices corrigés

Cet ouvrage offre un panorama très détaillé des méthodes actuelles d'analyse présentes dans des secteurs aussi variés que les industries chimiques, agroalimentaires, les laboratoires d'analyse médicale, les sciences de l'environnement. Le principe adopté est de relier les aspects pratiques de chaque méthode étudiée aux notions scientifiques qui l'expliquent.

Abondamment illustré par plus de 250 figures et photos originales, ce livre est organisé en trois sections : **les méthodes séparatives** (les différentes techniques de chromatographie et d'électrophorèse), **les méthodes d'analyse spectrale** (RMN, IR, UV, fluorimétrie, fluorescence X, absorption et émission atomique), **les autres méthodes** (spectrométrie de masse, méthodes avec marquage, électrochimie). Quelques notions sur les statistiques et sur la préparation des échantillons sont données en complément.

En fin de chaque chapitre, une liste de sites internet invite le lecteur à découvrir des démonstrations de matériels présentés dans le livre.

Dans cette nouvelle édition, le texte a été entièrement remanié et mis à jour pour tenir compte des progrès technologiques les plus récents, et quelques nouveaux exercices corrigés sont proposés au lecteur.

Ce livre s'adresse aux étudiants des 1^{ers} cycles universitaires/Licence et de pharmacie. Il sera aussi utile aux étudiants des deuxièmes cycles/Master orientés vers les sciences de la matière et aux personnels des laboratoires et des entreprises confrontés à tous niveaux à des problèmes d'analyse.



9 782100 484256

ISBN 2 10 048425 7



www.dunod.com



6^e édition

FRANCIS ET ANNICK ROUESSAC sont respectivement professeur émérite de l'IUT du Mans et maître de conférences honoraire.

DANIEL CRUCHÉ est professeur agrégé à l'IUT du mans.

MATHÉMATIQUES

PHYSIQUE

CHIMIE

SCIENCES DE L'INGÉNIEUR

INFORMATIQUE

SCIENCES DE LA VIE

SCIENCES DE LA TERRE

