

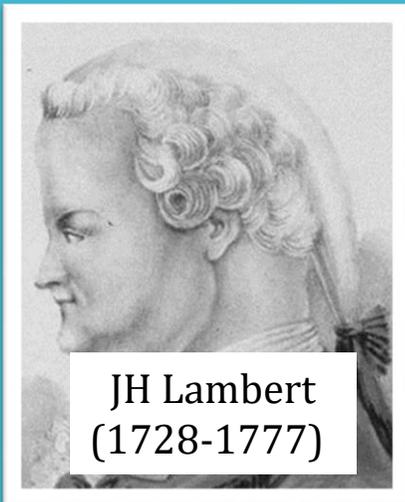
Chimie analytique

Dr Béatrice GARGADENNEC-LEGOUIN / UFR Pharmacie / Rennes

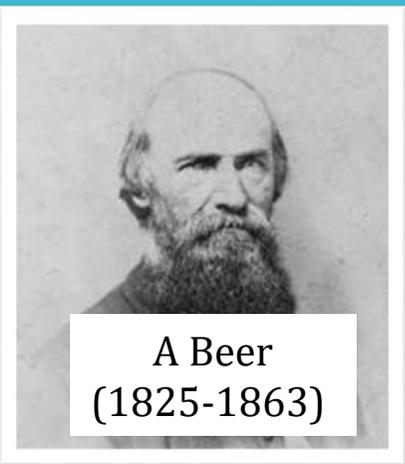
Dr Nicolas GOUAULT / UFR Pharmacie / Rennes



UFR Pharmacie - Rennes



JH Lambert
(1728-1777)



A Beer
(1825-1863)

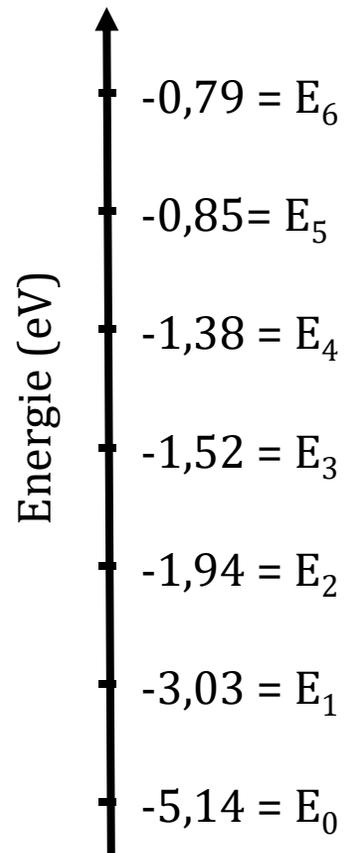
Spectrophotométrie

Utilisée pour l'identification et le dosage de nombreuses molécules, principes actifs ou impuretés

- Entraînement

Exercice 1

Niveaux énergétiques du sodium



Cas du sodium : 1 seul électron périphérique

Transition :

3s 3p : 590 nm

3s 4p : 330 nm

3s 5p : 285 nm

Sachant que les électrons externes sont sur le niveau E_0 et que les longueurs d'onde absorbées observées sont 590 nm, 330 nm et 285 nm. Indiquer par des flèches les transitions électroniques correspondantes.

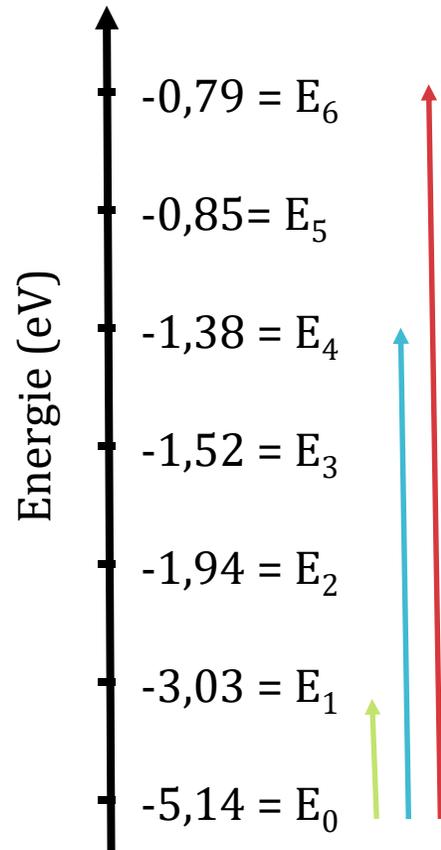
Données :

$h = 6,62 \cdot 10^{-34}$ Js

$c = 3,00 \cdot 10^8$ m/s

$1\text{eV} = 1,6 \cdot 10^{-19}$ J

Niveaux énergétiques
du sodium



Cas du sodium : 1 seul électron périphérique

Transition :

3s 3p : 590 nm

3s 4p : 330 nm

3s 5p : 285 nm

Données :

$h = 6,62 \cdot 10^{-34}$ Js

$c = 3,00 \cdot 10^8$ m/s

$1\text{eV} = 1,6 \cdot 10^{-19}$ J

La différence d'énergie est liée à la longueur d'onde par l'expression :

$$E_n - E_0 = \Delta E = \frac{hc}{\lambda}$$

$$E_n = E_0 + \frac{hc}{\lambda}$$

λ (nm)	ΔE (J)	ΔE (eV)	E_n (eV)
590	$3,37 \cdot 10^{-19}$	2,10	-3,04
330	$6,02 \cdot 10^{-19}$	3,76	-1,38
285	$6,97 \cdot 10^{-19}$	4,36	-0,79

Exercice 2 : Une solution contenant le complexe formé par la thiourée et le Bi^{III} a un coefficient d'absorption molaire de $9\,320 \text{ L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$ à 470 nm

- 1- Quelle est l'absorbance d'une solution à $6,24\cdot 10^{-5} \text{ M}$ du complexe à 470 nm dans une cellule de 1 cm ?
- 2- Quelle est la transmittance de la solution?
- 3- Quelle est la concentration du complexe dont la transmittance est le double de celle trouvée en (2)?
- 4- Quelle est la concentration du complexe dans une solution qui a l'absorbance trouvée en (1) dans une cellule de 5 cm ?

Remarque

$$A = \varepsilon \ell C$$

Les unités de ε , C et ℓ doivent être homogènes dans l'application numérique :

Si C en g/L alors ε en $\text{cm}\cdot\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$ (coefficient d'extinction spécifique)

Si C en mol/L alors ε en $\text{cm}\cdot\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$ (coefficient d'extinction molaire = coefficient d'absorption molaire)

Exercice 2 : Une solution contenant le complexe formé par la thiourée et le Bi^{III} a un coefficient d'absorption molaire de $9\,320 \text{ L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$ à 470 nm

1- Quelle est l'absorbance d'une solution à $6,24\cdot 10^{-5} \text{ M}$ du complexe à 470 nm dans une cellule de 1 cm ?

$$A = \varepsilon \ell C$$

ε : coefficient d'extinction molaire

C : Concentration soluté

ℓ : trajet optique en cm

$$A = 9320 \times 1 \times 6,24 \cdot 10^{-5}$$

$$A = 0,582$$

2- Quelle est la transmittance de la solution?

$$T = 10^{-A}$$

$$T = 10^{-0,582}$$

$$T = 0,262$$

$$T\% = 26,2\%$$

3- Quelle est la concentration du complexe dont la transmittance est le double de celle trouvée en (2)?

concentration = f(A) \Leftrightarrow chercher la correspondance de la transmittance en absorbance

$$T' = 2T = 0,524$$

$$A' = -\log T' = -\log 0,524$$

$$A' = 0,281$$

$$A' = \varepsilon \ell C'$$

$$C' = \frac{A'}{\varepsilon \ell} = \frac{0,281}{9320}$$

$$C' = 3,02 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$$

Alternative

$$A' = -\log 2T = -\log T - \log 2 = A - \log 2 = 0,281$$

4- Quelle est la concentration du complexe dans une solution qui a l'absorbance trouvée en (1) dans un cellule de 5cm?

$$A = \varepsilon \ell C = \varepsilon \ell "C" = \varepsilon 5\ell C"$$

$$C = 5C"$$

$$C" = \frac{C}{5} = \frac{6,24 \cdot 10^{-5}}{5}$$

$$C" = 1,25 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$$

Entrainement

Exercice 3 : Identifier les molécules présentant un spectre d'absorption dans l'UV-visible

↪ Conjugaison, aromaticité et hétéroatome

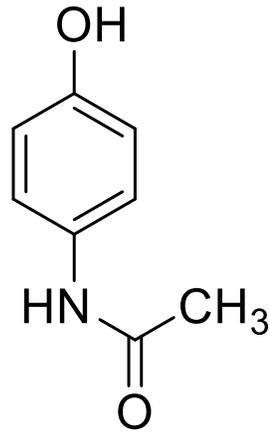
↪ Domaine UV et coeff d'extinction molaire suffisamment élevé

CH_3COOH
Acide acétique

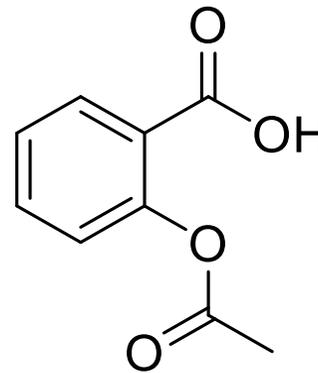
CO_3^{2-}
Ion carbonate

H_2PO_4^-
Ion dihydrogénophosphate

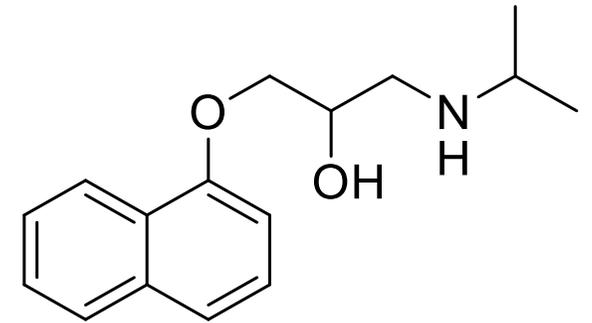
NH_4OH
Ammoniaque



Paracétamol



Acétyl
salicylique
(Aspirine)



Propranolol
(bétabloquant)

Entrainement

Exercice 3 : Identifier les molécules présentant un spectre d'absorption dans l'UV-visible

↪ Conjugaison, aromaticité et hétéroatome

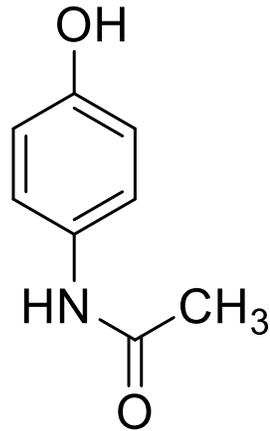
↪ Domaine UV et coeff d'extinction molaire suffisamment élevé

CH_3COOH
Acide acétique

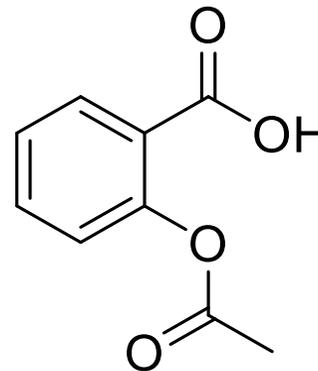
CO_3^{2-}
Ion carbonate

H_2PO_4^-
Ion dihydrogénophosphate

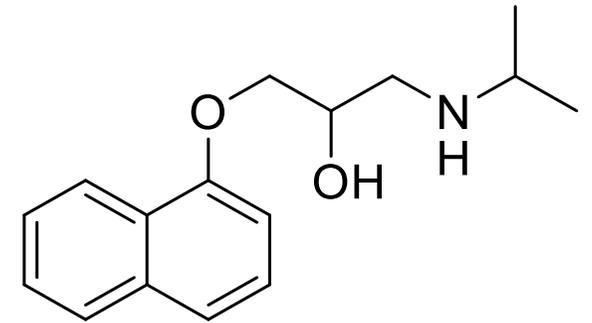
NH_4OH
Ammoniaque



Paracétamol



Acétyl
salicylique
(Aspirine)



Propranolol
(bétabloquant)

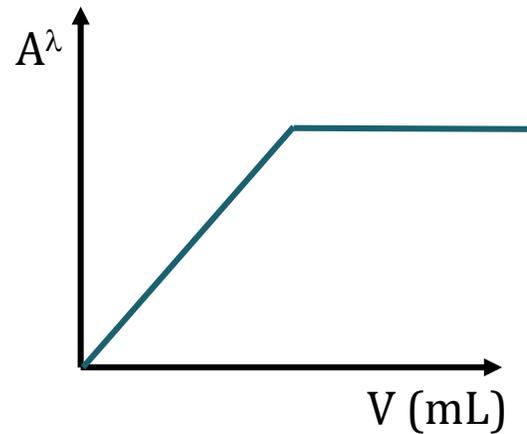
Exercice 4 : Au cours d'un titrage spectrophotométrique, on suit la réaction : $A + B \longrightarrow C$

A : espèce à doser

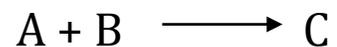
B : titrant

C : produit de la réaction

Sachant que la loi d'additivité est suivie ($A^\lambda = A^\lambda_A + A^\lambda_B + A^\lambda_C$) et au vu de la courbe de titrage, indiquer en argumentant si une ou plusieurs espèces possèdent un coefficient d'extinction molaire nul.



Applications



$$A^\lambda = A^\lambda_A + A^\lambda_B + A^\lambda_C$$

A : espèce à doser

B : titrant

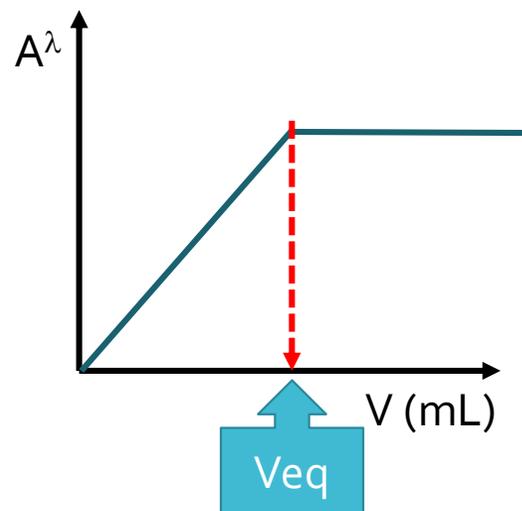
C : produit de la réaction

$$t=0 : A^\lambda = A^\lambda_A = [A]\varepsilon_A^\lambda \quad A^\lambda = 0 \Rightarrow \varepsilon_A^\lambda = 0$$

$$t < \text{Eq} : A^\lambda = A^\lambda_A + A^\lambda_C \text{ avec } \varepsilon_A^\lambda = 0 \Rightarrow \varepsilon_C^\lambda \neq 0$$

$$t > \text{Eq} : A^\lambda = A^\lambda_B + A^\lambda_C$$

$$\text{Or } A^\lambda = [B]\varepsilon_B^\lambda + [C]\varepsilon_C^\lambda = \text{cte avec } [B] \nearrow \Rightarrow \varepsilon_B^\lambda = 0$$



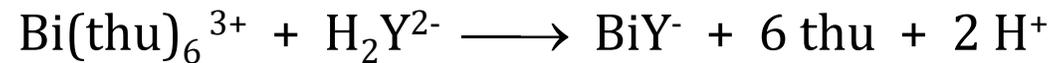
$$\varepsilon_A^\lambda = 0$$

$$\varepsilon_B^\lambda = 0$$

$$\varepsilon_C^\lambda \neq 0$$

Les espèces A et B possèdent un coefficient d'extinction nul.

Exercice 5 : L'acide éthylènediaminetétraacétique (H_2Y^{2-}) extrait le bismuth (III) de son complexe avec la thiourée :

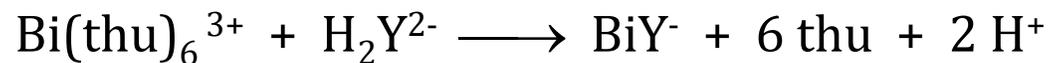


Où thu : thiourée $(NH_2)_2CS$

Prédire l'allure d'une courbe de titrage photométrique basée sur cette réaction, sachant que le complexe Bi(III)/thiourée est la seule espèce dans le système qui absorbe à 465 nm, la longueur d'onde choisie pour l'analyse.

Entrainement

L'acide éthylènediaminetétraacétique (H_2Y^{2-}) extrait le bismuth (III) de son complexe avec la thiourée :



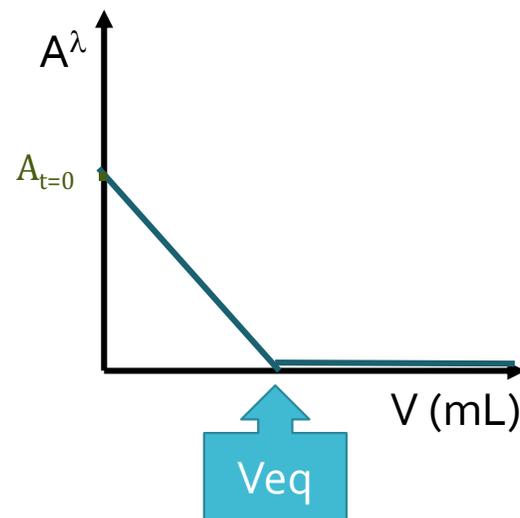
Où thu : thiourée $(NH_2)_2CS$

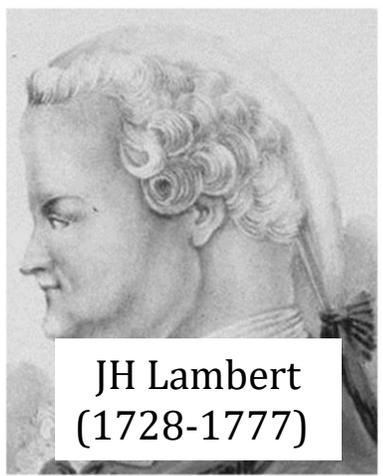
Prédire l'allure d'une courbe de titrage photométrique basée sur cette réaction, sachant que le complexe $Bi(III)/$ thiourée est la seule espèce dans le système qui absorbe à 465 nm, la longueur d'onde choisie pour l'analyse.

$$t=0 : A^\lambda = A^\lambda_A = [A]\varepsilon_A^\lambda \Rightarrow A^\lambda > 0$$

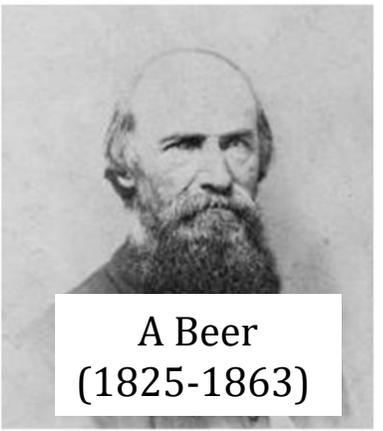
$$t < Eq \quad [A] \searrow \Rightarrow A^\lambda \searrow$$

$$t > Eq : [A] = 0 \Rightarrow A^\lambda = 0$$





JH Lambert
(1728-1777)



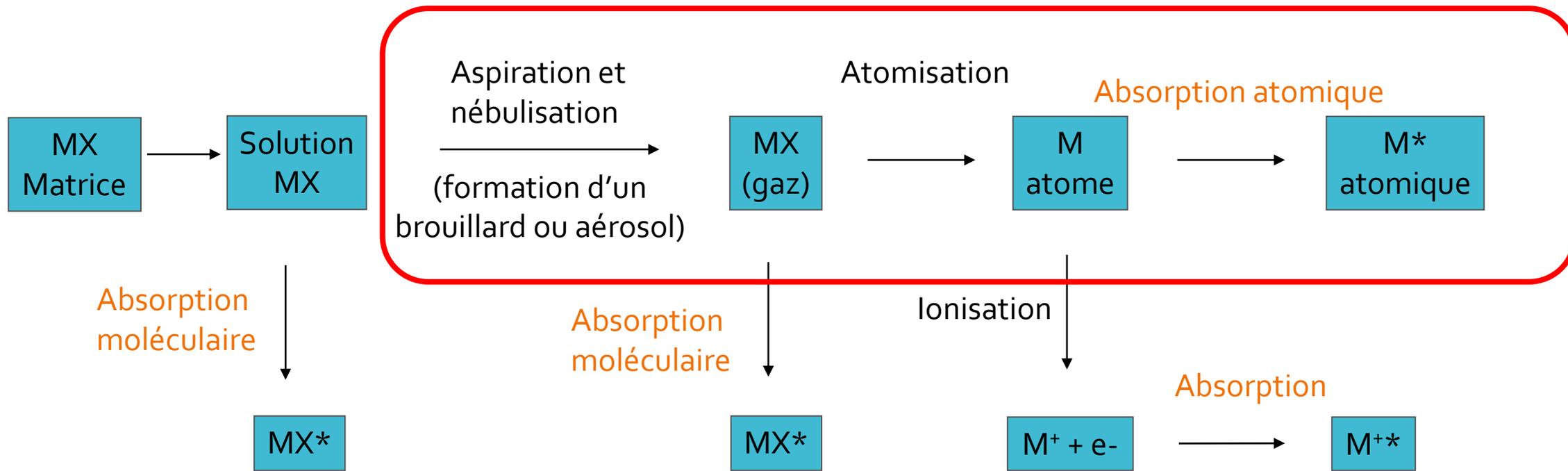
A Beer
(1825-1863)

Spectrophotométrie

Utilisée pour l'identification et le dosage de nombreuses molécules, principes actifs ou impuretés

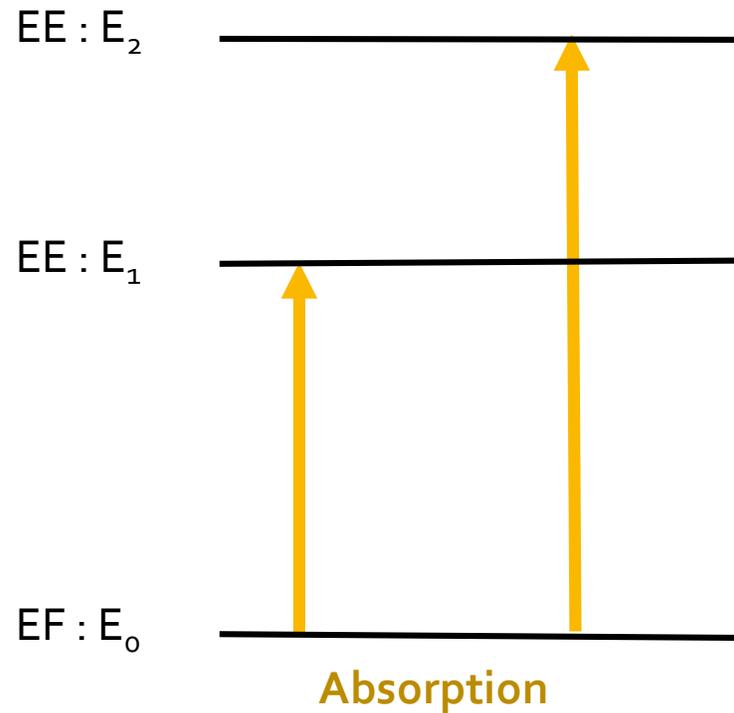
- Introduction
- Phénomène d'absorption
- Absorption moléculaire
- **Absorption atomique**

Spectrophotométrie d'absorption atomique



Spectres de bandes
Spectrophotométrie UV-visible

Spectres de raies



- ✓ Concerne les électrons les électrons externes
- ✓ Seules certaines transitions sont permises selon règles de sélection
- ⇒ entre états électroniques : diagramme énergétique est spécifique de l'élément ⇔
 λ Absorbée spécifique de l'élément
- ⇒ Spectres de raies \pm fines

Atomisation et passage à l'état gazeux

Etape clé : De la qualité de l'atomisation, dépendent la sensibilité, l'exactitude et la précision de la méthode

Liquide : Introduction de l'échantillon en continu par aspiration ou en discontinu par injection

Atomisation d'autant plus efficace que les solutions sont dispersées et en fines gouttelettes ⇔ nébuliseur : aérosol

Solide : Introduction en discontinu. L'atomisation se fait par ablation laser. La vaporisation se fait ensuite par chauffage rayonnant. (n'apparaît pas sur le schéma récapitulatif)

L'atomisation et le passage à l'état gazeux se font par apport d'énergie

- Atomiseurs électrothermiques Spectroscopie d'absorption électrothermique
- Flamme T° jq'à 3000 K : spectroscopie d'absorption atomique de flamme

L'apport d'énergie permet l'excitation des électrons de l'état fondamental vers un état excité ⇔ absorption

Application : SAA : Spectroscopie d'Absorption Atomique

Concerne 70 éléments du tableau périodique

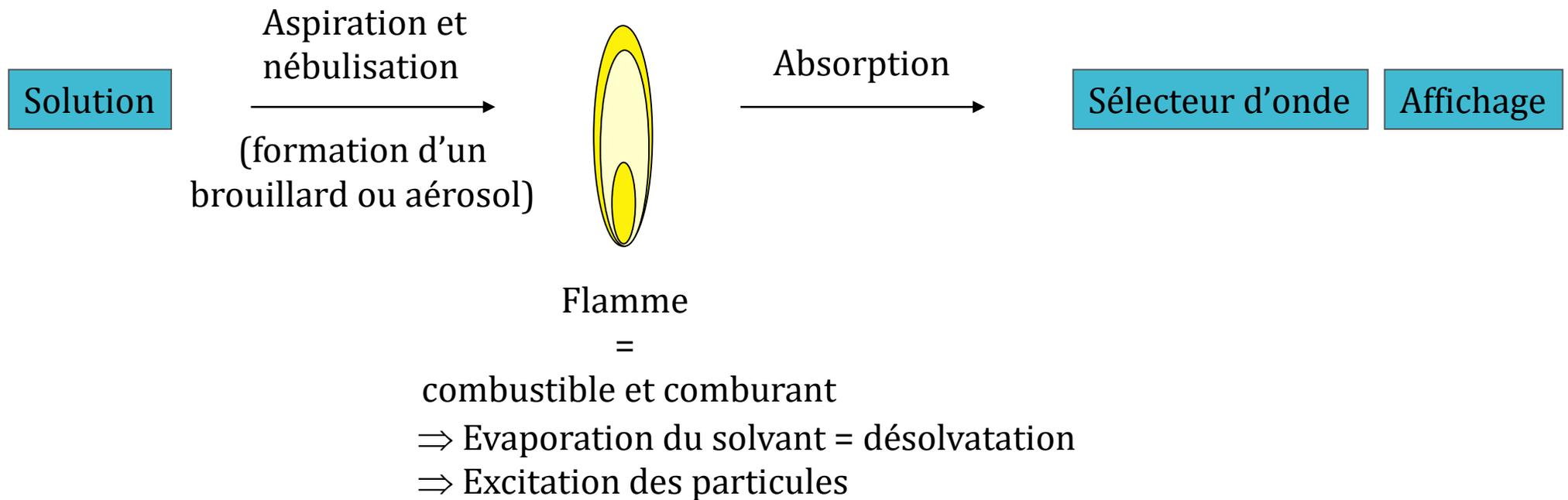
Éléments sont à l'état gazeux lors de la mesure

Quantification à λ spécifique de l'élément \Leftrightarrow Absorption proportionnelle à quantité d'atomes

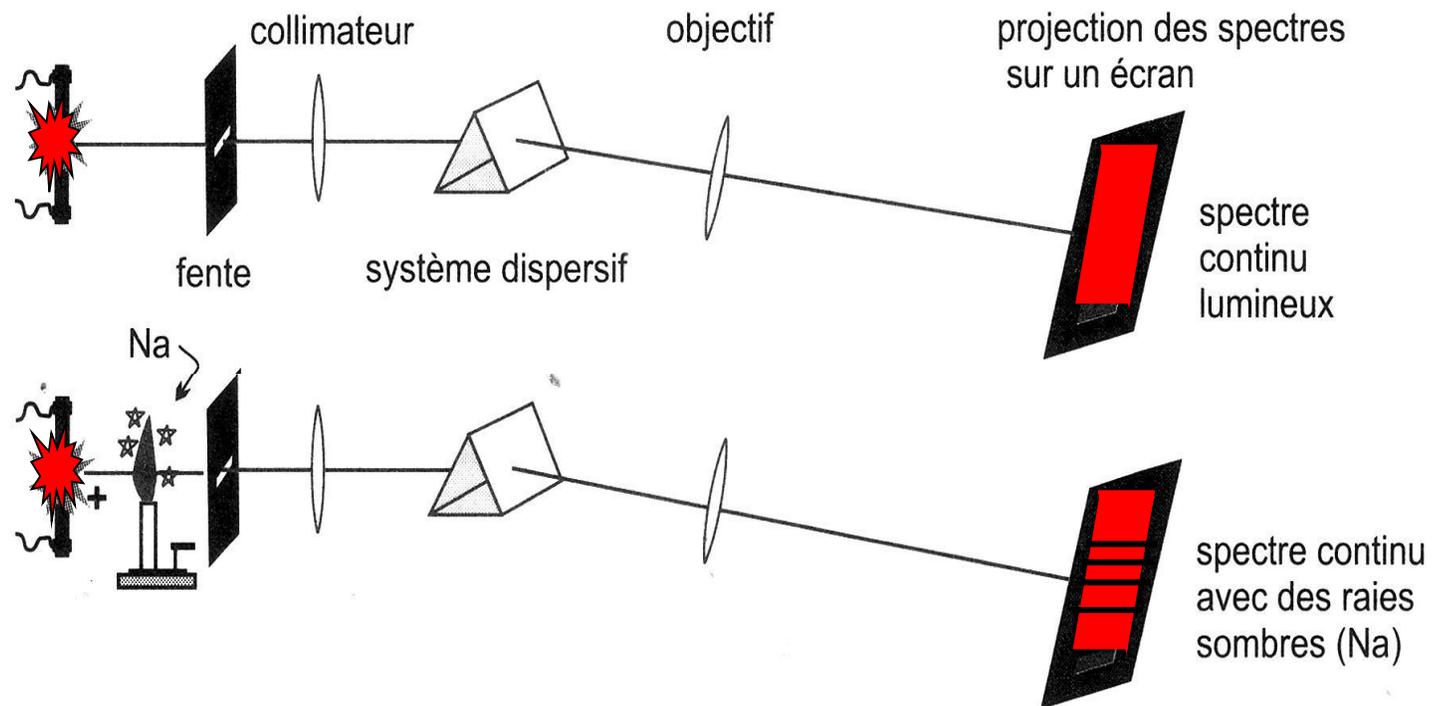
Nécessité d'une flamme et d'une source lumineuse

SAA : Spectroscopie d'Absorption Atomique

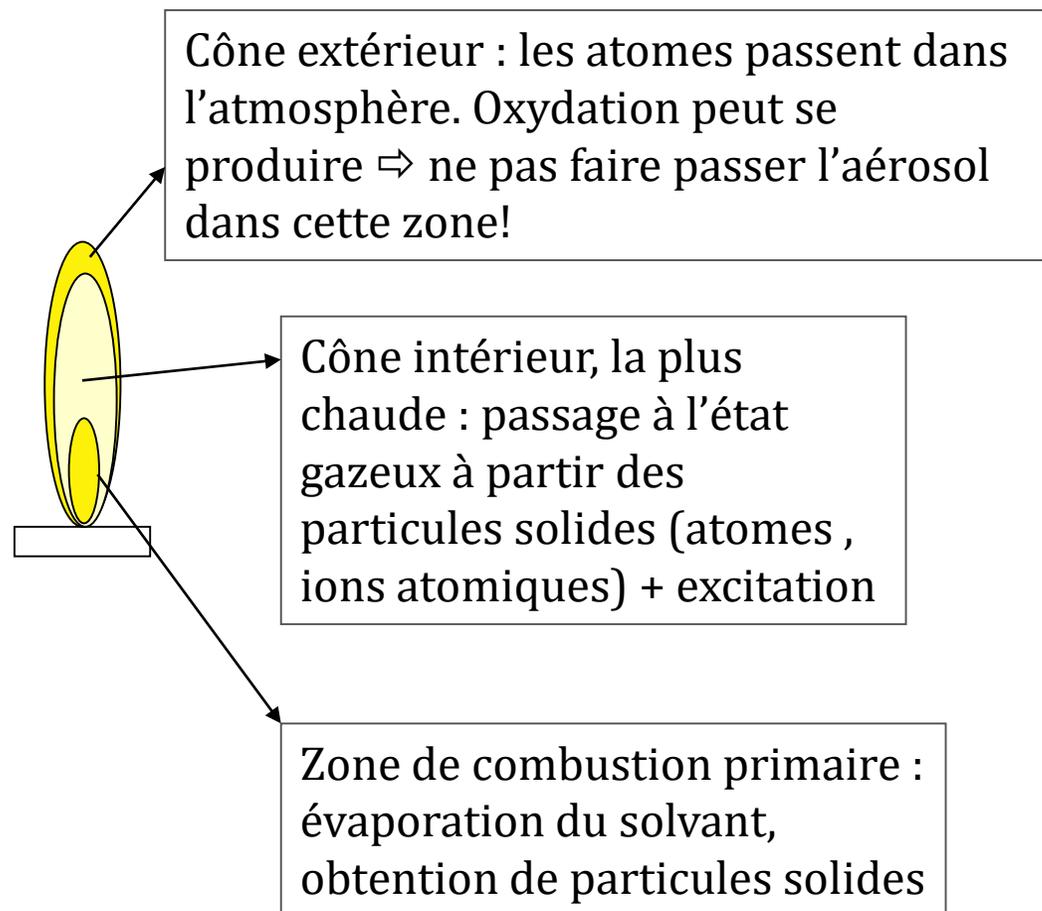
Principe de l'appareillage



Principe



Importance de la flamme



Flammes utilisées

Combustible et comburant	Température (°C)
Gaz-air	1700-1900
Gaz-O ₂	2700-2800
H ₂ -air	2000-2100
H ₂ -O ₂	2550-2700
C ₂ H ₂ -air	2100-2400
C ₂ H ₂ -O ₂	3050-3150
C ₂ H ₂ -N ₂ O	2600-2800

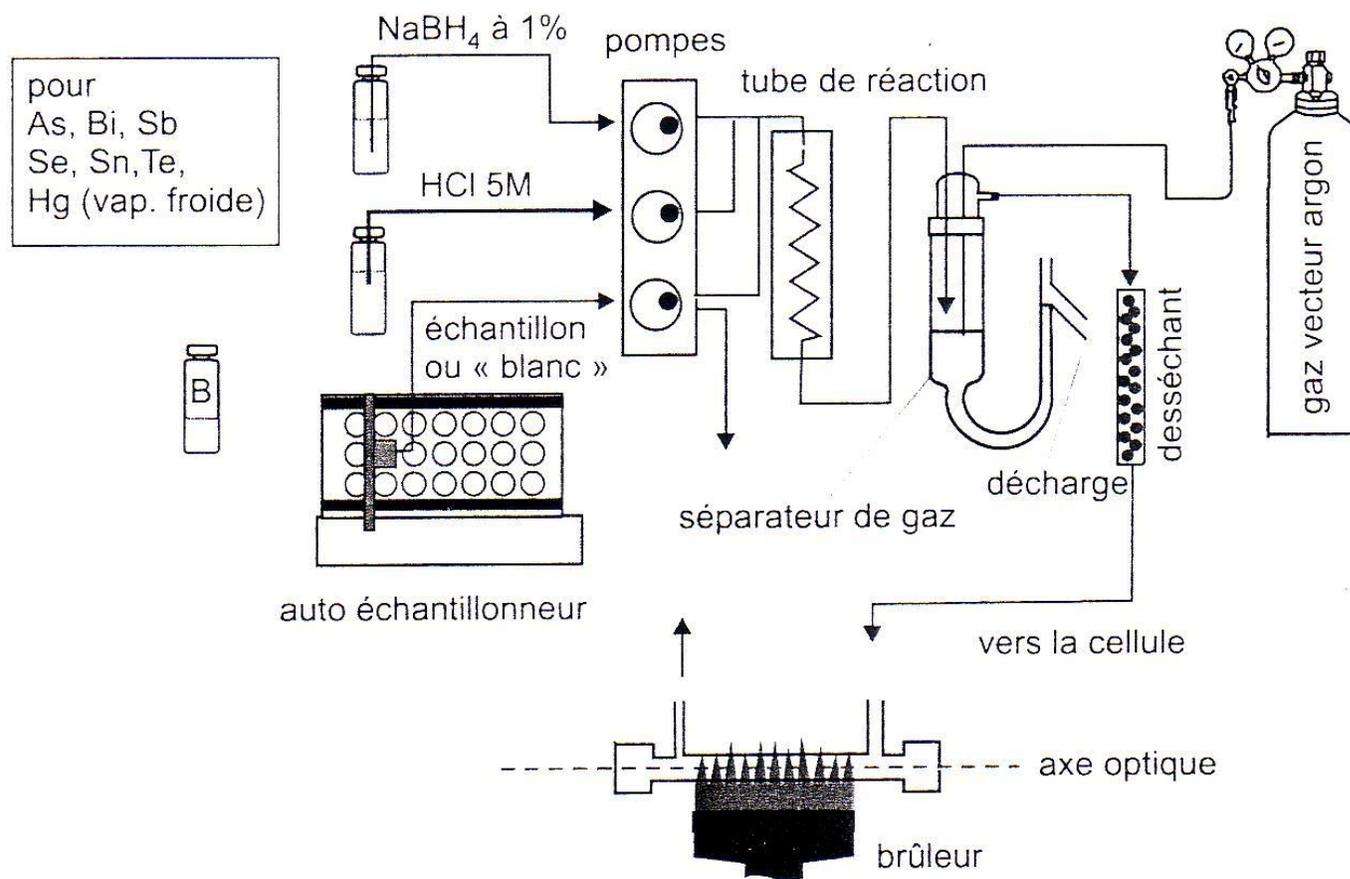
Excitation des alcalins et alcalino-terreux

Excitation des métaux lourds

Passage dans la flamme bref, peu de solution subit l'ensemble du processus \Leftrightarrow flamme n'est pas un atomiseur efficace.
Remarque : Atomiseur électrothermique plus performant à ce niveau

Atomisation : prétraitement

Remarque : qd produits pas suffisamment volatils, possibilité de prétraitement de l'échantillon.
Ex : formation d'hydrures (\Leftrightarrow passage à l'état MX)

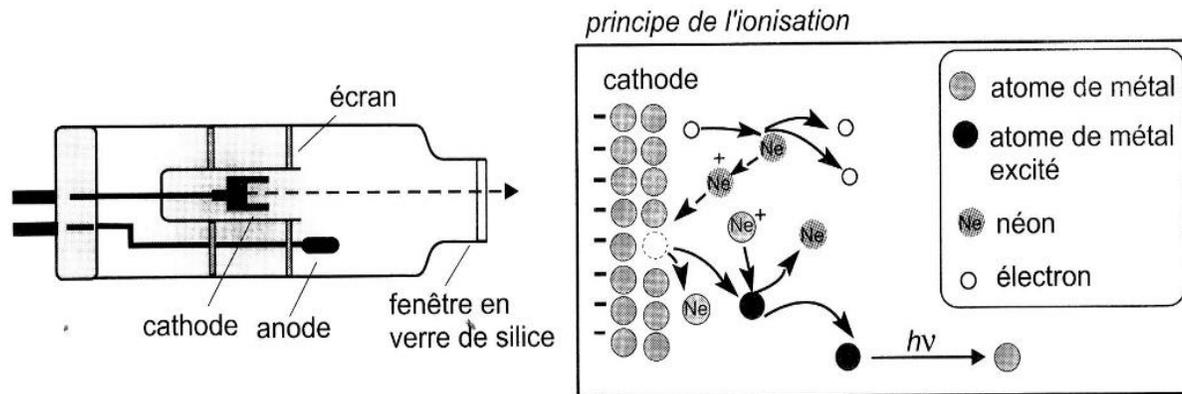


Source lumineuse

Bande passante ne permet pas de lumière monochromatique \Leftrightarrow Absorption optimisée par un faisceau incident à la longueur d'onde qui sera absorbée \Leftrightarrow La source lumineuse est spécifique de l'élément à doser

Ex Pb : lampe émet à 283 nm
Se : lampe émet à 196 nm

Lampe à Cathode creuse : des lampes existent pour chacun des 70 éléments que l'on peut doser par SAA



Lampe à cathode creuse d'un modèle classique.

La cathode est un cylindre creux dont l'axe de révolution correspond à l'axe optique de la lampe. L'intensité est de quelques milliampères. À droite, dans l'encadré, représentation imagée de l'excitation des atomes de la cathode sous l'impact des ions néon.

Anode tungstène
Cathode faite du métal à analyser dans
Ne(gaz inerte) sous pression
Courant de qq mA

Lampe à décharge sans électrode

10 à 100 fois plus intenses que lampe à cathode creuse. Energie fournie par un champ électromagnétique de fréquence radio ou micro-ondes.

Gaz inerte s'ionise dans le champ électromagnétique et cations formés y sont accélérés jusqu'à entrer en collision avec le métal qui sera alors atomisé et excité

Pour As, Se, Te (énergie des cations de gaz inerte dans la cathode creuse trop faible pour arracher les atomes de la cathode)

Application : analyse quantitative

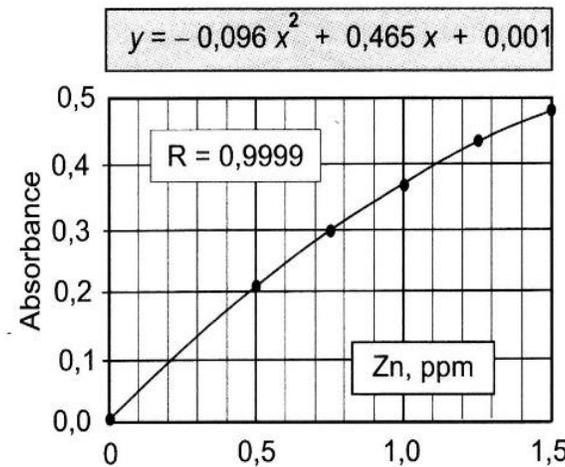
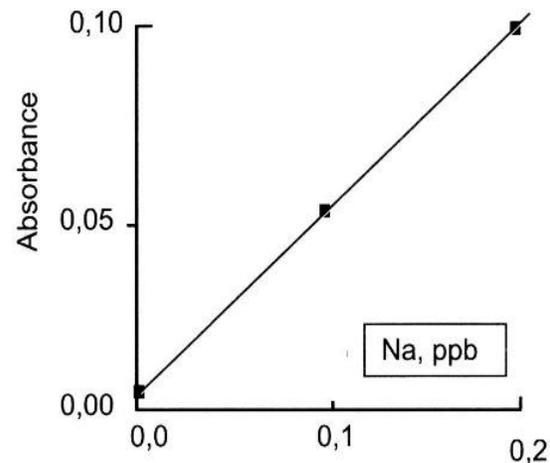
Étalonnage

- Écart à la linéarité fréquent \Rightarrow étalonnage sur plusieurs pts $A = k C$ avec k : coeff propre à chq élément à λ donnée.
- Application pour $C < 3\text{ppm}$ (rappel : $1\text{ ppm} = 1\text{mg/L}$)

2 méthodes fréquemment utilisées :

- *l'étalonnage externe* : le domaine de concentration dans lequel la linéarité existe est étroit. On trace $A = f(C)$.

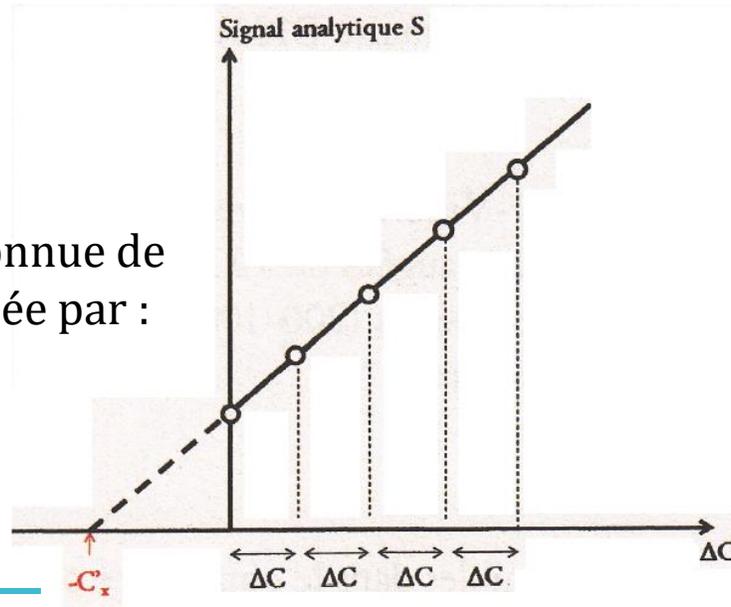
Réponse linéaire



Réponse quadratique

Application : analyse quantitative

- *la méthode des ajouts dosés* : pour éviter les effets de matrice. Des quantités connues et croissantes de l'élément à doser sont ajoutées à l'échantillon. On trace $A = f(q \text{ ou } V)$.



La concentration inconnue de l'échantillon est donnée par :

$$C_x = -b/a$$

Equation de la droite obtenue

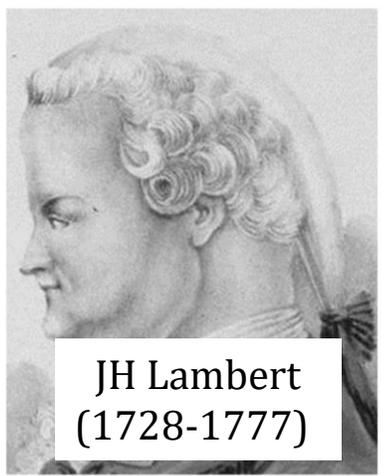
$$\text{Signal} = a C + b$$

Courbe obtenue par la méthode des ajouts dosés

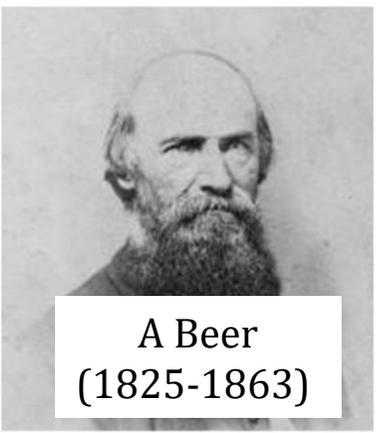
Application : analyse quantitative

Limites de détection

Elément	LD (ng/mL)
Ag	3
Al	30
Ba	20
Ca	1
Cu	2
Fe	6
K	2
Na	0,2
NI	3
Pb	5
Sn	15



JH Lambert
(1728-1777)



A Beer
(1825-1863)

Spectrophotométrie

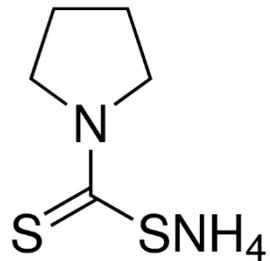
Utilisée pour l'identification et le dosage de nombreuses molécules, principes actifs ou impuretés

- Entraînement (suite)

Exercice 6

Un échantillon de 5,00 mL de sang est traité par de l'acide trichloracétique pour précipiter les protéines. Après centrifugation, la solution résultante est amenée à pH 3 et extraite par deux portions de 5 mL d'isobutylméthylcétone contenant de l'APDC (Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate) qui complexe le plomb. L'extrait est aspiré directement dans une flamme air/acétylène et présente une absorbance de 0,502 à 283,3 nm.

Des prises de 5 mL de solutions étalons contenant 0,400 et 0,600 ppm de plomb sont traitées de la même manière et donnent des absorbances de 0,396 et 0,599. Calculez la teneur en plomb en ppm dans l'échantillon en admettant que la loi de Beer est suivie.

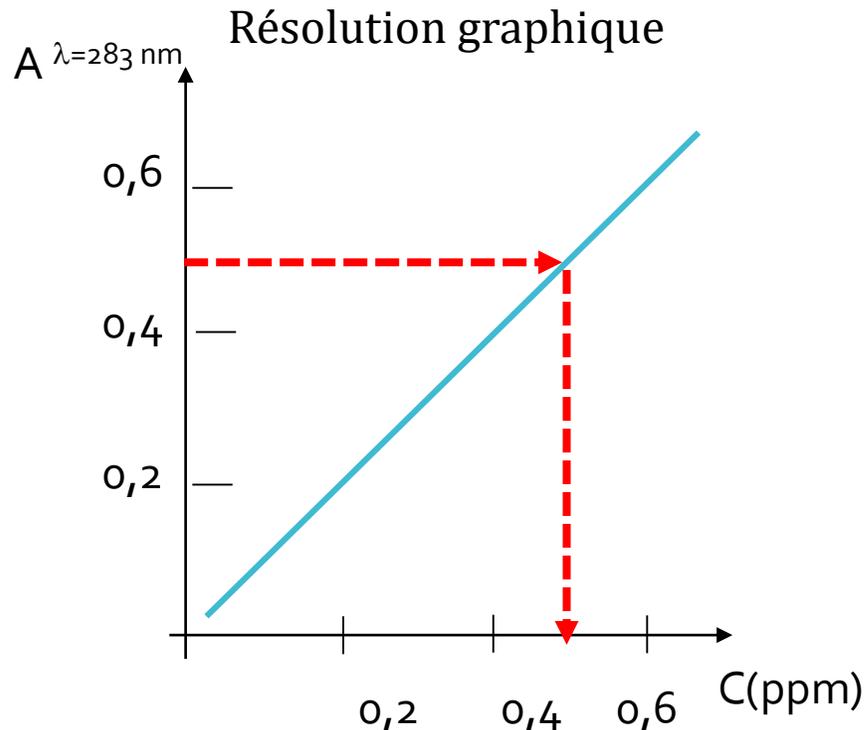


Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate

Exercice 6

Un échantillon de 5,00 mL de sang est traité par de l'acide trichloracétique pour précipiter les protéines. Après centrifugation, la solution résultante est amenée à pH 3 et extraite par deux portions de 5 mL d'isobutylméthylcétone contenant de l'APDC (Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate) qui complexe le plomb. L'extrait est aspiré directement dans une flamme air/acétylène et présente une absorbance de 0,502 à 283,3 nm.

Des prises de 5 mL de solutions étalons contenant 0,400 et 0,600 ppm de plomb sont traitées de la même manière et donnent des absorbances de 0,396 et 0,599. Calculez la teneur en plomb en ppm dans l'échantillon en admettant que la loi de Beer est suivie.



Résolution mathématique

Loi de Beer-Lambert suivie \Leftrightarrow équation de la forme $A = k C$

$$K = \text{Pente} = \frac{0,599 - 0,396}{0,6 - 0,4} = 1,015$$

$$[\text{Pb}_{\text{éch}}] = \frac{A}{k} = \frac{0,502}{1,015} = 0,495 \text{ ppm}$$

Ce document est la propriété exclusive de B Gargadennec-Legouin et ne saurait être utilisé, reproduit, représenté, transmis ou divulgué sans son accord préalable et explicite.

Dr Béatrice GARGADENNEC-LEGOUIN / UFR Pharmacie / Rennes

Dr Nicolas GOUAULT / UFR Pharmacie / Rennes



UFR Pharmacie - Rennes

Une question... Une précision... RDV sur le forum

Dr Béatrice GARGADENNEC-LEGOUIN / UFR Pharmacie / Rennes

Dr Nicolas GOUAULT / UFR Pharmacie / Rennes



UFR Pharmacie - Rennes