

DUT: AGRO BIOLOGIE



المدرسة العليا للتكنولوجيا - العيون
+ΣΙCΗ +οοЖИИο+ I +ΣΚΙΣΗΣ+ - ΗΑΥΣΙ
ÉCOLE SUPÉRIEURE DE TECHNOLOGIE - LAAYOUNE

Intitulé du module :
*Méthodes d'analyses physicochimiques et
biologiques*

Cours: Méthodes d'analyses physicochimiques

2019/2020

Pr: H.ADDI

PLAN

Chapitre I: Méthodes de préparation et de prélèvement des échantillons

Introduction

I. Techniques d'échantillonnage

II. Principes généraux pour la préparation des échantillons

III. Principes généraux pour le prélèvement d'aliquotes

Introduction

Les principaux constituants alimentaires sont:

- ✓ l'eau
- ✓ les protéines
- ✓ les lipides
- ✓ les glucides
- ✓ les minéraux

Dans les laboratoires d'industries alimentaires, il est nécessaire, pour diverses raisons, de faire l'analyse de certains de ces constituants alimentaires.

- Teneur en eau
- Teneur en solides totaux
- Teneur en protéines
- Teneur en lipides
- Teneur en glucides
- Teneur en cendres
- Acidité totale titrable
- Acidité volatile

Introduction

Préparation de
l'échantillon

Prélèvement de
la portion

Analyse physico-
chimiques

les deux premières étapes d'une analyse physicochimiques



Ces étapes sont importantes pour la réussite d'une analyse, car l'exactitude du résultat en dépend. Les techniques qui seront utilisées lors de ces étapes devront permettre de respecter le principe suivant:



L'aliquote prélevé pour l'analyse doit être le plus représentatif possible du lot

Introduction

Chaîne de prélèvement

Lot:

Ensemble d'une production alimentaire ou d'une matière première.

Echantillon:

Portion du lot prélevée au hasard ou selon des méthodes statistiques.

Sous échantillon:

Portion de l'échantillon prélevée qui servira à la prise de l'aliquote.

Aliquote:

Appelé parfois la prise d'essai, c'est la portion de l'échantillon ou du sous-échantillon utilisée pour **une analyse physico-chimique**.

I. Techniques d'échantillonnage

Echantillonnage:

Définitions:

Echantillon: « un élément d'un tout qui présente les qualités de l'ensemble d'où il provient »

Il est souvent impossible de prélever un échantillon parfait, la composition et l'altération supposée de la plupart des aliments n'étant pas homogènes.



L'échantillonnage consiste à choisir une partie, un certain nombre de récipients ou d'unités de produit représentant le mieux le lot d'aliments d'où ils proviennent.



Un lot peut être une portion d'une livraison ou d'aliments stockés portant le même code, un produit différent du reste de l'envoi ou se distinguant d'une autre façon.



L'effectif de l'échantillon doit être suffisant pour permettre l'analyse de laboratoire et, le cas échéant, une deuxième analyse.

I. Techniques d'échantillonnage

Echantillonnage:

L'état de l'échantillon doit refléter l'état du produit au moment du prélèvement.

Exemple 1: Un échantillon contenant ou risquant de contenir des insectes vivants doit subir une fumigation destinée à tuer les insectes et à empêcher une multiplication de ceux-ci dans l'échantillon entre le prélèvement et l'analyse au laboratoire.

Exemple 2: Un échantillon ne doit pas être exposé à des températures extrêmes susceptibles de modifier le produit, et donc les résultats de l'analyse à effectuer, par exemple le dosage de l'enrichissement d'un aliment.

I. Techniques d'échantillonnage

Echantillonnage:

But:

On doit indiquer clairement à l'avance le but de tout échantillonnage.

Avant de procéder au prélèvement, il faut connaître:

- la capacité du laboratoire,
- les méthodes d'analyse,
- la quantité à prélever, et choisir les méthodes et techniques d'échantillonnage à utiliser.

I. Techniques d'échantillonnage

Echantillonnage:

Il doit se rappeler que la fiabilité des résultats du laboratoire dépend de **la qualité de l'échantillon**.

- ➔ Des erreurs telles que le prélèvement d'un échantillon insuffisant ou un prélèvement occasionnant ont **une influence sur les résultats de l'analyse**.

L'échantillon fourni peut être le seul élément motivant l'interdiction d'entrée d'une livraison d'aliments dans un pays, le retrait d'un produit de la vente ou l'application d'autres procédures juridiques ou administratives qui peuvent être lourdes de conséquences pour le fabricant.

Un mauvais échantillonnage des aliments peut aussi entraîner le maintien en vente de produits dangereux pour le consommateur. Il est important donc d'utiliser de bonnes techniques d'échantillonnage pour être certain que l'échantillon analysé par le laboratoire est dans le même état que celui où était, au moment du prélèvement, le lot dont il provient.

I. Techniques d'échantillonnage

Echantillonnage:

Il faut préparer un plan d'échantillonnage en fonction des critères suivants :

- Type d'aliment;
- Effectif du lot à échantillonner (unités de production, boîtes, emballages, etc.);
- Nature de l'éventuel défaut: contamination bactérienne, produit chimique, toxine ou résidu, traitement thermique insuffisant, etc.;
- Gravité du risque pour la santé humaine;
- Possibilité de fraude;

I. Techniques d'échantillonnage

Types d'échantillonnages:

a. Echantillonnage sélectif:

En général, les échantillons sont prélevés en vue de l'analyse en laboratoire d'un aliment suspect. L'échantillonnage peut être effectué à n'importe quel stade de la vie d'un produit alimentaire (inspection ou constat pendant le traitement, stockage, vente en gros, au marché, ou au détail).

Les échantillons prélevés sont en général "**sélectifs**", c'est-à-dire choisis de manière à confirmer certains faits connus.

Exemple: un technicien responsable de l'unité de production constate qu'un employé verse dans une trémie une matière première provenant d'un sac dont l'extérieur est souillé de crottes de rongeur. Le technicien craint que ces crottes n'aient pénétré dans les aliments à traiter. Il sélectionne donc un échantillon du produit portant le code utilisé au moment de l'observation.

I. Techniques d'échantillonnage

Types d'échantillonnages:

a. Echantillonnage objectif:

L'échantillonnage sélectif est relativement simple car on dispose généralement de certains indices ou d'autres renseignements qui permettent de remonter aux aliments que l'on choisit de prélever.



Quant à l'**échantillonnage objectif**, il peut être complexe parce qu'il est difficile de déterminer objectivement la qualité réelle d'un lot donné d'aliments non homogènes.

Les échantillons objectifs sont le plus souvent prélevés dans un lot de produits alimentaires de manière systématique à des fins de surveillance, pour réunir des données à telle ou telle fin, ou lors d'un contrôle.

Pour procéder à un échantillonnage objectif, il faut avoir accès à toutes les unités qui constituent le lot à échantillonner; chaque unité doit être identifiable et avoir une probabilité égale d'être choisie. Il faut prélever alors au hasard de petites unités à de nombreux endroits du lot et les regroupe en un seul échantillon, au lieu de prélever l'échantillon entier en un seul endroit choisi au hasard.

I. Techniques d'échantillonnage

Modes opératoires de prélèvement de denrées alimentaires:

A. Organisation: Fiche de prélèvement

Il s'appelle aussi document d'enregistrement, c'est un document renseigné par le préleveur pour assurer la traçabilité complète des conditions de prélèvement :

- Conditions de prélèvement des échantillons : nom du préleveur, date et heure.
- Conditions de réception des échantillons : "reçu de", par, date et heure.
- Caractéristiques de chaque échantillon : dénomination, endroit, état, température de l'échantillon...

I. Techniques d'échantillonnage

Modes opératoires de prélèvement de denrées alimentaires:

B. Technique de prélèvement:

Si le préleveur entre dans la "zone propre" (zone de production, chambre froide...), il doit revêtir une tenue de travail adéquate propre (blouse, charlotte, surchaussures...). Ne pas porter de bijoux aux mains ou mettre des gants propres lors du prélèvement.

a. Collecte de denrée alimentaire

Lorsque les denrées sont conditionnées sous-vide, emballées ou en barquette de petite portion, le prélèvement est assimilé à une simple collecte. Pour cela, il convient uniquement d'identifier et de placer le prélèvement dans la glacière de transfert avec blocs réfrigérants en ayant pris soin de renseigner la fiche d'analyse alimentaire :

- dénomination de la denrée
- sa composition
- son état (cru, cuit, fumé...)
- son type d'emballage
- sa température au moment de la collecte si possible, sinon la température ambiante
- ses dates de fabrication, cuisson, emballage, tranchage, DLC...
- les problèmes éventuels rencontrés (emballage percé, quantité insuffisante, températures de conservation trop élevées...).

I. Techniques d'échantillonnage

Modes opératoires de prélèvement de denrées alimentaires:

B. Technique de prélèvement:

b. Prélèvement de denrée alimentaire

- ✓ Se laver ou se désinfecter les mains.
- ✓ Identifier l'échantillon sur le pot ou le sachet (dénomination, N° identification...).
- ✓ Prendre la température de l'aliment avec un thermomètre désinfecté au préalable.
- ✓ Prélever avec des couverts propres et stériles ou désinfectés, à un endroit différent de la piqûre du thermomètre, une quantité suffisante pour la prise d'essai destinée aux analyses (environ 100g ou 100 ml) et la placer dans un sachet ou un pot stérile hermétique.
- ✓ Éviter tout contact avec les mains.
- ✓ Placer l'échantillon dans la glacière de transfert avec blocs réfrigérants.

I. Techniques d'échantillonnage

Modes opératoires de prélèvement de denrées alimentaires:

C. Transport et conservation:

Transport:

- Arrivé au véhicule, transférer le ou les échantillon(s) dans la glacière de transport.
- Les échantillons chauds et froids doivent être stockés séparément.
- Le ou les prélèvement(s) ainsi réalisé(s) doi(ven)t être acheminé(s) au laboratoire dans les plus brefs délais.
- Durant le transport, l'(es) échantillon(s) est (sont) conservé(s) dans une enceinte réfrigérée avec pain de glace.
- A l'arrivée au laboratoire, mesurer la température de l'enceinte et la noter sur la fiche de demande d'analyse.
- Examiner les échantillons le plus rapidement possible après leur réception, de préférence sous 24h ou comme convenu entre les parties concernées (analyse à DLC...).
- Pour les produits rapidement périssables (tels que les mollusques), il est recommandé de commencer l'essai dans les 24h suivant le prélèvement.
- Pour les produits périssables (tels que le poisson, le lait cru...), il est recommandé de commencer l'essai dans les 36h suivant le prélèvement.

I. Techniques d'échantillonnage

Modes opératoires de prélèvement de denrées alimentaires:

C. Transport et conservation:

Conservation:

- Arrivés au laboratoire et dans l'attente d'analyses, les échantillons alimentaires sont conservés au réfrigérateur à $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.
- Après analyse, l'échantillon est conservé au réfrigérateur $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ pendant une semaine et en tout cas jusqu'au rendu des résultats d'analyse.

II. Principes généraux pour la préparation des échantillons

Enlèvement des matières étrangères et des parties non comestibles :

- Lavage des fruits et légumes (sable, terre)
- Enlèvement des os (viandes)
- Enlèvement de la partie habituellement non consommée (fromage à pâte molle)

II. Principes généraux pour la préparation des échantillons

Homogénéisation:

Aliments liquides

- Brassage par inversion, rotation ou transfert d'un récipient à un autre
- Brassage énergétique pour émulsification (vinaigrette)
- Enlèvement des gaz (les boissons gazeuses)
- Décongélation complète d'un échantillon avant le prélèvement de l'aliquote

Aliments solides

- Découpage adéquat de l'échantillon (viande,)
- Broyage approprié (hache-viande, moulin à farine, malaxeur, appareil Stomaker, mortier, bêcher et spatule, râpe, etc ...)

II. Principes généraux pour la préparation des échantillons

Prévention des altérations de l'échantillon:

- a. Altération physique ou chimique due à l'action de la chaleur
 - Séparation de la matière grasse (lait cru)
 - Caramélisation (aliments sucrés)
- b. Altération chimique au contact avec l'air ambiant
 - Oxydation par l'action de O₂ (rancissement)
- c. Modification de la concentration des constituants
 - Absorption d'humidité par les aliments hygroscopiques
 - Evaporation d'eau ou des constituants volatils d'un aliment

N.B. Un gain ou une perte d'eau modifie la concentration de tous les constituants d'un échantillon alimentaire.

II. Principes généraux pour la préparation des échantillons

Conservation des échantillons

- Réfrigération ou congélation selon la nature de l'échantillon et le délai d'analyse
- Utilisation de contenants hermétiquement fermés
- Utilisation de préservatifs inhibant la croissance microbienne

Exemple: pastilles de bichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$ pour les laits crus

II. Principes généraux pour la préparation des échantillons

Exemples de préparation d'échantillons tirés du AOAC (Association of Official Analytical Chemists)

Produits laitiers

Laits

1. Pour les laits homogénéisés: amener la température à 20°C, mélanger par inversion ou par trans-vidage entre deux contenants et prélever immédiatement l'aliquote.
2. Pour les laits crus : chauffer l'échantillon à 38°C, mélanger par inversion ou par trans-vidage entre deux contenants, ramener la température à 20°C, mélanger de nouveau et prélever immédiatement l'aliquote.

Crème glacée

Déposer la crème glacée dans un malaxeur Waring Blender, fermer hermétiquement et laisser l'échantillon ramollir. Broyer 2 minutes pour la crème glacée sans fruits et environ 5 minutes pour celle avec fruits. Transvider tout l'échantillon liquide dans un contenant et fermer hermétiquement. Bien mélanger par inversion avant de prélever l'aliquote.

Beurre et margarine

Chauffer l'échantillon dans un bain d'eau à une température ne dépassant pas 39°C et en brassant périodiquement. La consistance optimale est obtenue quand l'émulsion est intacte mais fluide. Brasser de nouveau à la température de la pièce avant de prélever l'aliquote.

II. Principes généraux pour la préparation des échantillons

Exemples de préparation d'échantillons tirés du AOAC (Association of Official Analytical Chemists)

Produits végétaux

- Produits végétaux en conserve :
- Déposer tout le contenu de la boîte de conserve dans un malaxeur Waring Blender et broyer jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène.
- Transvider tout l'échantillon dans un contenant et fermer hermétiquement.
- Bien mélanger avant de prélever l'aliquote.

Boissons gazeuses

- Enlever le CO₂ par brassage dans un grand erlenmeyer.
- Brasser lentement au début puis vigoureusement pour expulser tout le gaz.
- Si nécessaire, filtrer dégazée pour enlever les matières en suspension.
- Prélever l'aliquote.

Aliments à base de céréales

- Pain:
- Peser le pain frais. Couper en tranches de 2 à 3 cm d'épaisseur et laisser sécher sur un papier dans une chambre tiède pendant 15 à 20 heures. Peser les tranches séchées. Broyer les tranches de pain pour obtenir des particules qui traversent un tamis de 20 mesh.
- Conserver les particules dans un récipient fermé hermétiquement.
- Bien mélanger avant de prélever l'aliquote.

II. Principes généraux pour la préparation des échantillons

Exemples de préparation d'échantillons tirés du AOAC (Association of Official Analytical Chemists)

Sucres et produits sucrés

- Miel:
- Si l'échantillon est liquide, bien mélanger avant de prélever l'aliquote.
- Si l'échantillon est solide ou liquide avec début de cristallisation, chauffer dans un bain-marie à 60°C pendant 30 minutes, puis à 65°C pour liquéfier complètement le miel.
- Bien mélanger avant de prélever l'aliquote.

Produits carnés

- Viande fraîche:
- Séparer les os de la viande.
- Hacher trois fois la viande avec un hachoir ayant des ouvertures de 3 mm en mélangeant la viande entre chaque hachage.
- Prélever l'aliquote.

Produits Marins

- Poissons en conserve:
- Déposer tout le contenu de la boîte de conserve dans un malaxeur Waring Blender.
- Broyer jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène.
- Prélever l'aliquote.

III. Principes généraux pour le prélèvement d'aliquotes

Les principes généraux pour le prélèvement d'aliquotes sont:

- Assurer que l'échantillon est le plus homogène possible juste avant le prélèvement.
- Pour le prélèvement d'un volume exact d'échantillon:
 - Tenir compte de la température, car la masse volumique d'un liquide varie en fonction de celle-ci.
 - Le prélèvement s'effectue normalement à la température ambiante (20°C).
 - Utiliser les instruments les plus précis (pipettes)
- Pour le prélèvement d'une masse d'échantillon:
 - Procéder le **plus rapidement possible pour la pesée** d'un échantillon (solide ou liquide) qui perd facilement son humidité.

III. Principes généraux pour le prélèvement d'aliquotes

Prélèvement par pesée directe de l'aliquote :

Le récipient dans lequel doit être déposée l'aliquote pour effectuer l'analyse est placé sur la balance et l'aliquote est pesée directement dans le récipient.

Exemple:

1. Placer un plat d'aluminium sur la balance analytique et noter sa masse.
2. Tarer le plat puis ajouter rapidement environ 2 ml de lait.
3. Noter la masse de l'échantillon aussitôt que la balance affiche en g.

III. Principes généraux pour le prélèvement d'aliquotes

Prélèvement par pesée indirecte de l'aliquote:

Le récipient dans lequel doit être déposé l'aliquote pour effectuer l'analyse n'est pas placé sur la balance, pour des raisons diverses (poids trop élevé du récipient, récipient trop volumineux, échantillon perdant rapidement son eau, impossibilité de transférer adéquatement l'aliquote directement dans le récipient, etc). On place plutôt l'instrument servant à prélever l'aliquote sur la balance et on procède généralement par différence de poids.

Exemple:

1. Placer sur la balance analytique un support métallique et une pipette remplie d'environ 10 ml de lait.
2. Noter la masse.
3. Retirer la pipette et verser le lait dans un tube .
4. Replacer la pipette sur le support et noter de nouveau la masse.

III. Principes généraux pour le prélèvement d'aliquotes

Instruments de prélèvement:

- pipette
- seringue jetable en plastique
- compte-gouttes jetable
- nacelle jetable, bêcher
- cuillère graduée,
- pincette en métal
- spatule
- papier-filtre
- etc ...



La technique utilisée pour le prélèvement de l'aliquote dépend de plusieurs facteurs:

- la nature de l'échantillon
- ses caractéristiques physiques (viscosité, produit hygroscopique, etc)
- le récipient dans lequel il sera placé
- la suite du protocole expérimental
- etc ...



CHAPITRE II: MÉTHODES D'ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

Plan

Introduction

I. Composition des aliments

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

III. Méthodes de dosage des métaux lourds et des éléments minéraux

IV. Méthodes de dosage des glucides

V. Analyses organoleptiques des denrées alimentaires

VI. Méthodes de dosage des arômes

VII. Méthodes de Dosage des facteurs anti-nutritionnels

VIII. Méthodes de Dosage des protéines

IX. Méthodes de dosage des lipides

X. Méthodes de dosage des vitamines

Introduction

La recherche d'une méthode d'analyse physico-chimique se fait normalement en consultant les manuels d'analyse publiés périodiquement par des organismes internationaux, dont les principaux sont:

- l'**AOAC**: Association of Official Analytical Chemists : Cet organisme publie à tous les 4 ou 5 ans une version révisée du manuel *Official Methods of Analysis*. Ce manuel contient plusieurs milliers de méthodes d'analyses physicochimiques applicables au domaine alimentaire.
- la **FIL**: Fédération Internationale de Laiterie : Cet organisme publie des méthodes, appelées normes, pour l'analyse des produits laitiers.
- l'**ISO (International Organization for Standardization)** : L'ISO (ISO vient du grec «isos» signifiant égal) a son siège à Genève en Suisse. C'est une organisation internationale créée en 1947 et composée de représentants des organismes nationaux de plus de 150 pays.
- **Norme AFNOR**: L'Association française de normalisation (abrégiée AFNOR) est l'organisation française qui représente la France auprès de l'Organisation internationale de normalisation (ISO) et du Comité européen de normalisation (CEN). Les normes AFNOR constituent des standards parfois légalement obligatoires pour les entreprises, les administrations ou les associations.

Introduction

Types de Méthodes d'analyse:

On retrouve deux types de méthodes d'analyse, les méthodes officielles et les méthodes de référence:

Méthode officielle:

Une méthode officielle est une méthode analytique acceptée et recommandée par les organismes internationaux qui en ont évalué les caractéristiques de performance (précision, exactitude, etc ...) par des études collaboratives impliquant plusieurs laboratoires à travers le monde.

Méthode de référence:

Une méthode de référence est une méthode officielle reconnue par les organismes internationaux comme étant la méthode qui donne le résultat le plus exact, c'est-à-dire le plus près de la valeur réelle de la concentration d'un constituant sous analyse. La méthode de référence donne habituellement les résultats les plus précis, par comparaison avec les autres méthodes d'analyse du constituant.

I. Compositions des aliments

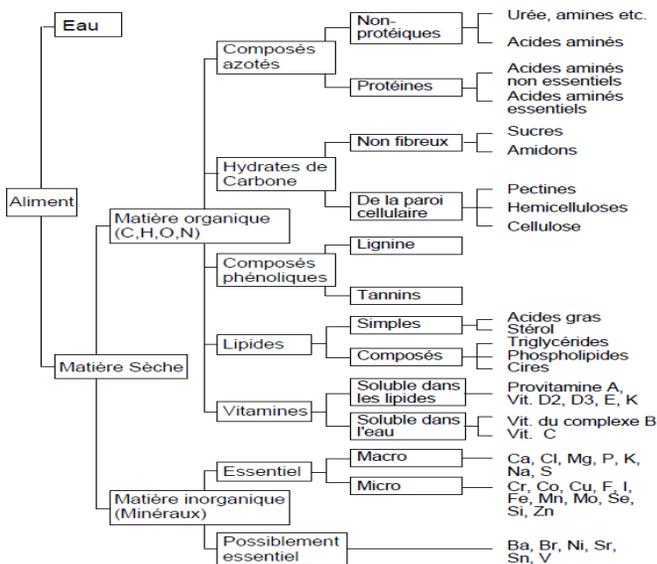


Fig 1: Composition des aliments

Lorsqu' un échantillon d'aliments est placé dans une étuve maintenue à 105°C pendant 24 heures, toute l'eau (H₂O) s'évapore et le résidu sec reste s'appelle la *matière sèche (MS)*.

Aliment

L'eau et la matière sèche

I. Compositions des aliments

L'eau et la matière sèche:

Les aliments contiennent des quantités variables d'eau. Par exemple, une jeune plante contient de 70 à 80% d'eau (c'est-à-dire, 20 à 30% de MS). Cependant, les semences ne contiennent pas plus de 8 à 10% d'eau (c'est-à-dire, 90 à 92% de MS).

A l'exception de l'eau,
toutes les substances
nutritives se trouvent dans
la MS de l'aliment.



N.B : La concentration d'une substance nutritive, comme par exemple la protéine, est en général exprimée sur base de la quantité de MS contenue dans l'aliment et non sur base de la matière fraîche (le poids de la MS et de l'eau que l'aliment contient) parce que la quantité d'eau dans les aliments est variable.

I. Compositions des aliments

La matière organique et minérale:

La matière sèche d'un aliment contient de la matière organique et de la matière inorganique, ou minérale.



Les composés qui contiennent du carbone (C), de l'hydrogène (H), de l'oxygène (O) et de l'azote (N) sont des **composés organiques**.

Par contre, les autres éléments chimiques trouvés dans les aliments (calcium, phosphore, sodium, etc..) font partie de la **matière minérale**.



Lorsqu' un échantillon d'aliment est placé dans un four maintenu à 550°C pendant 24 heures, **la matière organique est consommée** et la matière résiduelle est minérale (**cendres**).

I. Compositions des aliments

La matière organique et minérale:

Les minéraux sont souvent classifiés en deux classes:

- les macro-minéraux
- les micro-minéraux

Cette distinction est basée sur la quantité requise par l'Homme.

Les macro-minéraux sont nécessaires dans l'ordre d'une ou **quelques dizaines de grammes par jour**.

Par contre, le besoin en micro-minéraux ne dépasse pas les **quelques milligrammes par jour**.

Macro Minéral	Symbole chimique	Micro Minéral	Symbole chimique
Calcium	Ca	Iode	I
Phosphore	P	Fer	Fe
Magnésium	Mg	Cuivre	Cu
Sodium	Na	Cobalt	Co
Potassium	K	Manganèse	Mn
Chlore	Cl	Molybdène	Mo
Sulfure	S	Zinc	Zn
		Sélénium	Se

Tableau 1: Minéraux nécessaires dans la ration des ruminants ainsi que leur symbole chimique.

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

La matière sèche (MS):

La matière sèche (MS) appelée aussi solides totaux (ST) est représentée par le poids de matière solide restante dans un creuset après séchage de l'échantillon à l'étuve jusqu'à poids constant (Rodier, 2009).

Mode opératoire:

10 ml ou 10 mg (prise d'essai) d'aliments sont mis dans un creuset en porcelaine préalablement séché et taré, il est gardé à l'étuve à 105°C jusqu'à poids constant. La teneur en matière sèche, exprimée en g/l, est donnée par la formule suivante :

$$MS = (M_1 - M_2) \times 1000/V$$

MS: matière sèche en g/l.

M₁: masse du creuset avec matière sèche en g.

M₂: poids du creuset vide en g.

V : volume de la prise d'essai en ml ou poids de la prise d'essai en mg

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

La matière sèche volatile (MSV):

La matière sèche volatile est déterminée de la perte en poids produite sur la MS par cacination. Elle est donnée par la formule suivante :

$$\text{MSV (g/l)} = (\mathbf{m_1} - \mathbf{m_0})/\mathbf{V}$$

m₁ : masse du creuset avec la matière sèche totale (g)

m₀: masse du creuset avec les cendres (g)

V : volume de la prise d'essai (l)

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

La matière en suspension (MES):

La matière en suspension (MES) est déterminée ((AFNOR T 90-105), (1983)) par filtration sur des membranes à 0,45 µm de diamètre de pore. La teneur en MES est déterminée par différence de poids du filtre avant et après filtration et séchage à l'étuve à 105°C pendant 4 h ; elle est donnée par la formule suivante :

$$\text{MES (g/l)} = (\mathbf{m_2} - \mathbf{m_3})/\mathbf{V}$$

m₂: masse finale du disque (g)

m₃: masse du disque vide (g)

V : volume de la prise d'essai (l)

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Le taux de cendre:

Les cendres totales sont le résidu de composés minéraux qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique.

Les cendres représentent environ 1 à 5% de la masse d'un aliment sur une base humide, comme le montre le tableau ci-contre.

TENEUR EN CENDRES DE QUELQUES ALIMENTS

Aliment	% cendres (base humide)	% cendres (base sèche)
Pain	1,7-2,6	2,6-4,7
Lait	0,7	5,4
Saumon	1,0	2,7
Pomme	0,3	1,9
Bacon	2,7-6,2	3,2-14,1
Boeuf frais	0,8-1,0	1,9-3,2
Poulet cru	1,0-1,2	3,0-4,7
Asperge	0,7	10,0
Cresson	1,1-1,9	14,9-17,2
Épinard	1,5	20,6

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Le taux de cendre:

Les cendres ou matière sèche fixe est obtenue par calcination de la MS ou de l'échantillon, dans un four à moufle, sous une température de 600°C pendant 4 heures. La teneur en cendres exprimée en g/l est donnée par la formule suivante :

$$Cd = (M_3 - M_4) \times 1000/V$$

Cd : cendres en g/l.

M₄ : poids du creuset vide en g.

M₃ : poids du creuset avec cendres en g.

V : volume de la prise d'essai en ml.

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Le taux de cendre:

Principe de la méthode

On pèse l'échantillon, On le sèche puis on le pèse de nouveau si la teneur en cendres doit être déclarée sur une base sèche. On incinère l'échantillon à haute température (600°C), puis on pèse le résidu, c'est-à-dire les minéraux. Le % de cendres totales est calculé sur une base humide, mais le plus souvent sur une base sèche pour plus de reproductibilité dans les résultats.

$$\% \text{ cendres totales (base humide)} = \frac{\mathbf{M \text{ (cendres)} \times 100}{\mathbf{M(\text{éch. humide})}}$$

$$\% \text{ cendres totales (base sèche)} = \frac{\mathbf{M \text{ (cendres)} \times 100}{\mathbf{M(\text{éch. Sec})}}$$

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Le taux de cendre:

Cendres solubles et insolubles dans l'eau

Les cendres solubles et insolubles dans l'eau peuvent être utiles dans certains aliments. Par exemple, elles servent à évaluer le contenu en fruits des confitures, ou la quantité de corps étrangers (ajout de sable) dans les épices.

Principe de la méthode

Pour déterminer les cendres insolubles dans l'eau, on dissout la partie soluble des cendres totales dans l'eau chaude qu'on filtre sur un papier filtre. Le résidu insoluble sur le papier filtre est incinéré de nouveau pour brûler le papier filtre. On pèse les cendres insolubles. Le % de cendres solubles est déduit par calcul.

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Le taux de cendre:

1) Calculs par rapport à l'échantillon sec ou humide

$$\% \text{ cendres insolubles} = \frac{\text{M (cendres insolubles)} \times 100}{\text{M(éch. sec ou humide)}}$$

$$\% \text{ cendres solubles} = \% \text{ cendres totales} - \% \text{ cendres insolubles}$$

2) Calculs par rapport aux cendres totales

$$\% \text{ cendres insolubles} = \frac{\text{M (cendres insolubles)} \times 100}{\text{M (cendres totales)}}$$

$$\% \text{ cendres solubles} = \frac{\text{M (cendres solubles)} \times 100}{\text{M (cendres totales)}}$$

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Le taux de cendre:

Facteurs influençant la précision et l'exactitude des résultats :

1. Aliments riches en gras (poissons, fromages) ou en substances volatiles (épices).

- éclaboussures pendant l'incinération (résultats non reproductibles).
- condition particulière d'opération

2. Aliments riches en sucres (sirops, confitures).

- formation de mousse pendant l'incinération
- condition particulière d'opération

3. Incinération incomplète.

Une incinération sera incomplète si la température est trop basse ou si le temps d'incinération est insuffisant. Les cendres doivent être de couleur blanche ou grise, occasionnellement de couleur rougeâtre ou verte. Elles doivent être libres de particules de carbone imbrûlées ou de morceaux liquéfiés.

4. Manipulation et pesée des cendres.

Les cendres sont très légères et ont une masse habituellement faible. De plus, certaines cendres, contenant du carbonate de potassium, sont hygroscopiques.

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Méthodes de dosage de l'eau:

Les solides totaux sont définis comme étant le résidu d'un aliment restant après élimination de l'eau, dans des conditions expérimentales données.



À l'exception des aliments contenant des constituants volatils (alcool, huile essentielle, etc ...), la somme de la teneur en eau et en solides totaux représente la totalité de l'aliment.

$$\% \text{H}_2\text{O} + \% \text{S.T.} = 100\% \text{A}$$



On rapporte la teneur en eau ou en solides totaux selon le type d'aliment ou les normes de composition s'appliquant à l'aliment sous analyse.

Exemples: - crème glacée:
- fromage
- céréales ou légumineuses en g

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Méthodes de dosage de l'eau:

➔ Types d'eau:

Presque tous les aliments contiennent deux types d'eau:

- l'eau libre, facilement évaporable,
- l'eau liée par des ponts hydrogène aux macromolécules, tels les polysaccharides et les protéines. Cette eau est beaucoup plus difficile à évaporer et son élimination par la chaleur dépend des conditions expérimentales utilisées.

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Méthodes de dosage de l'eau:

A. Méthode thermogravimétrique:

La méthode thermogravimétrique est la méthode de référence pour la détermination de l'eau ou des solides totaux dans les aliments. L'analyse nécessite l'emploi d'une étuve ventilée ou d'un four à vide, ainsi que d'un dessiccateur contenant un agent desséchant.

Principe de la méthode

On pèse l'échantillon. On élimine l'eau par chauffage dans des conditions prédéterminées jusqu'à ce que la masse de l'échantillon demeure constante. On pèse l'échantillon sec, c'est-à-dire les solides totaux.

$$\% \text{ S.T} = \frac{\text{Masse (S.T.)}}{\text{Masse (échantillon)}} \times 100$$

$$\% \text{ H}_2\text{O} = 100 - \% \text{ S.T}$$

Conditions de chauffage et de pression:

- a) à 100-105°C (étuve ventilée) ou à 70-75°C (four à vide)
- b) pression atmosphérique (étuve ventilée) ou pression réduite (four à vide)

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Méthodes de dosage de l'eau:

A. Méthode thermogravimétrique:

Méthode avec la balance avec lampe à infrarouge

Cette méthode est une version rapide de la méthode conventionnelle. L'échantillon pesé est chauffé à l'aide d'une lampe à rayons infrarouge pendant un temps déterminé. La balance calcule la perte de poids de l'échantillon par rapport au temps. La balance doit être calibrée de façon à ce que le résultat obtenu corresponde à celui obtenu avec la méthode de référence. Les variables ajustables sont:

1. masse d'échantillon déposée sur la balance
2. intensité lumineuse de la lampe (l'échantillon ne doit pas brûler)
3. temps de chauffage

Méthode avec le four à micro-ondes

Cette méthode utilise le même principe que la méthode précédente. L'élimination de l'eau se fait à l'aide de micro-onde.

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Méthodes de dosage de l'eau:

A. Méthode thermogravimétrique:

Pourquoi le % H₂O obtenu plus élevé ou moins élevé que le résultat attendu?

Facteurs influençant la précision et l'exactitude des résultats :

1. Échantillon contenant de la matière organique volatile.

L'analyse d'un aliment contenant des huiles volatiles, des acides volatils, de l'éthanol ou toute matière organique susceptible de s'évaporer en même temps que l'eau dans les conditions de l'analyse donnera des résultats inexacts pour la teneur en eau.

2. Échantillon formant un gel à la chaleur.

L'analyse d'un aliment contenant des composés formant un gel à la surface pendant le chauffage donnera des résultats imprécis (non reproductibles) et inexacts.

3. Échantillon riche en sucres.

L'analyse d'un aliment à haute teneur en sucres peut subir, pendant le chauffage, une décomposition pyrolytique des sucres conduisant à la formation d'eau. On obtient des résultats inexacts.

4. Échantillon séché hygroscopique.

Un échantillon, une fois séché, peut réadsorber l'humidité de l'air pendant les manipulations. Les résultats sont imprécis et inexacts.

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Méthodes de dosage de l'eau:

A. Méthode thermogravimétrique:

Pourquoi le % H₂O obtenu plus élevé ou moins élevé que le résultat attendu?

Facteurs influençant la précision et l'exactitude des résultats :

5. Autres sources d'erreurs affectant la précision ou l'exactitude.

- a) dépôt de la graisse des doigts sur le plat avant la pesée.
- b) plat non conditionné.
- c) perte d'eau par évaporation pendant la pesée de l'échantillon.
- d) quantité et répartition de l'échantillon dans le plat.
- e) nombre trop élevé d'échantillons placés dans le four.
- f) intensité lumineuse et temps de chauffage non calibrés (balance à rayons infrarouge)

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Méthodes de dosage de l'eau:

B. Méthode thermovolumétrique:

Cette méthode est utilisée pour la détermination de l'humidité dans les aliments à faible teneur en eau (graines, moulées, épices, etc...). La méthode mesure directement la quantité d'eau éliminée de l'aliment.

Principe de la méthode

On pèse l'échantillon. On élimine l'eau par distillation avec un solvant non miscible avec l'eau qui forme un mélange azéotrope avec l'eau. L'eau éliminée de l'échantillon est piégée dans un tube collecteur gradué. Lorsque toute l'eau est distillée, on mesure le volume d'eau recueilli dans le tube collecteur gradué

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Méthodes de dosage de l'eau:

B. Méthode thermovolumétrique:

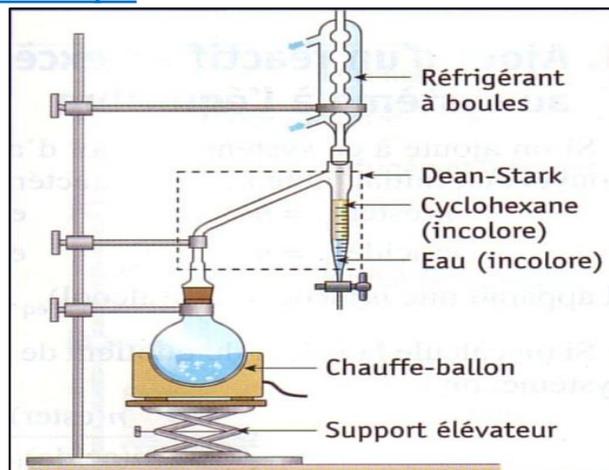


Fig 2. Appareil pour le dosage de l'eau par distillation azéotrope

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Méthodes de dosage de l'eau:

B. Méthode thermovolumétrique:

- on utilise un solvant immiscible avec l'eau et moins dense que l'eau, tel le benzène, le toluène ou le xylène. Par exemple, le toluène (P.E. 110°C) forme à la distillation un azéotrope avec l'eau ayant un point d'ébullition de 85°C.
- pour les calculs, on considère que la masse volumique de l'eau est de 1 g/ml à la température ambiante.

$$\% \text{H}_2\text{O} = \frac{V(\text{eau})}{M(\text{échantillon})} \times 100 = \frac{M(\text{eau})}{M(\text{échantillon})} \times 100$$

II. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Méthodes de dosage de l'eau:

B. Méthode thermovolumétrique:

Facteurs influençant la précision et l'exactitude des résultats

- état de l'échantillon: légumineuses entières
- temps de la distillation pour une extraction complète de l'eau.
- formation d'émulsion à l'interface de l'eau et du solvant, conduisant à une lecture imprécise du volume d'eau.
- gouttes d'eau accrochées à la paroi du réfrigérant et du tube collecteur.
- volume d'eau recueilli: devrait se situer entre 2 et 5 ml.
- incertitude sur le volume: $\pm 0,1\text{ml}$

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Plan

- INTRODUCTION
- HISTORIQUE
- DOMAINES D'APPLICATION
- RAYONNEMENT ELECTROMAGNETIQUE : DUALITE ONDE CORPUSCULE
- INTERACTION RAYONNEMENT - MATIERE
- ETATS D'ENERGIE
- PRESENTATION D'UN SPECTRE
- SPECTRE ELECTROMAGNETIQUE

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Introduction:

La spectroscopie est l'ensemble des techniques qui permettent d'analyser :

- la lumière émise par une source lumineuse
- la lumière transmise ou réfléchiée par un corps absorbant.

L'interaction de la lumière avec la matière est à l'origine de la majeure partie des phénomènes électriques, magnétiques, optiques et chimiques observés dans notre environnement proche.

Donc la spectroscopie permet l'analyse du rayonnement électromagnétique émis, absorbe ou diffuse par les atomes ou les molécules. Elle fournit des informations sur l'identité, la structure et les niveaux énergétiques des atomes et des molécules du fait de l'interaction des rayonnements électromagnétiques avec la matière.

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Historique:

L'histoire de la spectroscopie commence avec la théorie des couleurs proposée par Isaac Newton en 1672. La lumière « blanche » est décomposée par un prisme en ses composantes élémentaires (élémentaires puisqu'elles ne sont plus décomposées par un autre prisme) constituant les sept couleurs de l'arc en ciel. Ces couleurs sont en fait une succession de radiations visibles de longueurs d'onde continuellement variables.

Le rayonnement infrarouge fut découvert par Frédéric Wilhelm Herschel en 1800 : en mesurant les températures dans différentes zones du spectre solaire, il constata que le maximum se situait en dehors du domaine visible. Il a découvert les effets thermiques du rayonnement infrarouge.

En 1803, Inglefield suggéra qu'il pouvait y avoir des rayons invisibles au-delà du violet. L'existence de ces rayons ultraviolets fut démontrée par Ritter et Wollaston.

Le physicien Gustav Robert Kirchhoff et le chimiste Robert Wilhelm Bunsen énoncèrent, en 1860, le principe de l'analyse chimique fondée sur l'observation du spectre.

Au début du XX^{ème} siècle, il n'existait que quelques spectromètres permettant d'étudier ces radiations. Après 1945, leur nombre s'est accru dans des proportions considérables. Cela est dû d'une part au développement de la technologie et d'autre part à l'utilisation croissante de la spectroscopie.

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Domaine d'application:

La spectrophotométrie est utilisée dans divers domaines : chimie, pharmacie, environnement, agroalimentaire, biologie etc..., aussi bien au laboratoire que sur site industriel.

Exemple :

- Dans l'industrie Agroalimentaire, de nombreux dosages de denrées alimentaires sont réalisés par spectrophotométrie d'absorption UV-VIS.
- Dans les laboratoires, elle permet :
 - L'identification des molécules
 - La détermination des structures
 - L'étude des cinétiques de réaction
 - La détermination des mécanismes réactionnels
 - Les dosages
 - Les analyses médicales (IRM, scintigraphie, mammographie...)

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Rayonnement électromagnétique : Dualité onde-corpuscule

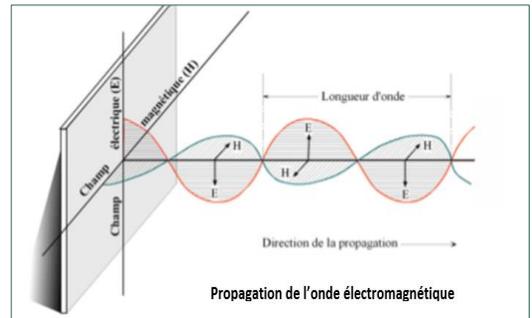
Le rayonnement électromagnétique désigne une forme de transfert d'énergie. Il peut être décrit de manière corpusculaire comme la propagation de photons ou de manière ondulatoire comme une onde électromagnétique.

A. Dualité du rayonnement électromagnétique:

La théorie ondulatoire du rayonnement électromagnétique:

On peut considérer l'onde comme formée d'un champ électrique et d'un champ magnétique périodiques en phase, perpendiculaires entre eux et perpendiculaires à la direction de propagation de l'onde.

Cette propagation se fait à une vitesse d'environ 3.108 m.s^{-1} .



NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Rayonnement électromagnétique : Dualité onde-corpuscule

A. Dualité du rayonnement électromagnétique:

La théorie ondulatoire du rayonnement électromagnétique:

On caractérise un rayonnement électromagnétique par sa fréquence, sa longueur d'onde ou son nombre d'onde.

<p>fréquence (Hertz)</p> $\nu = \frac{1}{T}$ <p>période (seconde)</p>

<p>longueur d'onde (mètre)</p> $\lambda = cT = \frac{c}{\nu}$ <p>vitesse de la lumière (3.10^8 m.s^{-1})</p>

<p>nombre d'onde (cm^{-1} ou m^{-1})</p> $\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$
--

L'énergie du rayonnement est reliée aux grandeurs précédentes par la relation fondamentale de Planck :

$$E = h\nu$$

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

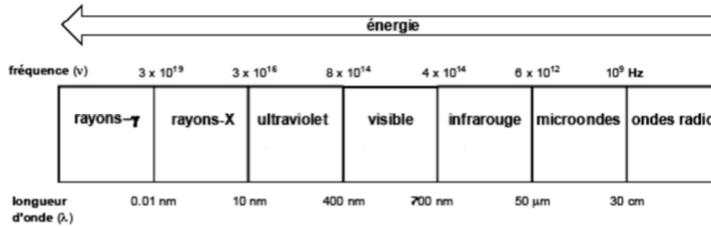
NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Rayonnement électromagnétique : Dualité onde-corpuscule

A. Dualité du rayonnement électromagnétique:

La théorie ondulatoire du rayonnement électromagnétique:

L'ensemble des radiations constitue le spectre électromagnétique.



NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Rayonnement électromagnétique : Dualité onde-corpuscule

A. Dualité du rayonnement électromagnétique:

La théorie corpusculaire du rayonnement électromagnétique:

La propagation de l'onde est bien décrite par la théorie ondulatoire. Cependant, l'interaction du rayonnement avec la matière a conduit à attribuer également une nature corpusculaire à l'onde électromagnétique. Le rayonnement électromagnétique se comporte comme un flux de particules, les photons se déplaçant à la vitesse de la lumière.

L'énergie d'un photon est donnée par l'équation de Bohr :

$$E = h\nu$$

Où:

$h = 6,624 \cdot 10^{-34}$ J.s est la constante de Planck

ν est la fréquence classique de l'onde.

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Rayonnement électromagnétique : Dualité onde-corpuscule

B. Dualité de la matière: Postulat de De Broglie

Après la quantification du champ électromagnétique par Einstein en lui donnant un caractère corpusculaire, Louis de Broglie, à son tour, reprend le dualisme "onde-corpuscule" et attribue l'aspect ondulatoire à toute particule constituant la matière : De la même façon que les ondes peuvent se comporter comme des particules, les particules peuvent se comporter comme des ondes.

En 1924, De Broglie associa donc à toute particule matérielle douée d'une quantité de mouvement $E=mv$ une longueur d'onde dite onde de De Broglie : $\lambda = h/E$.

où h est la constante de Planck

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Interaction rayonnement – matière:

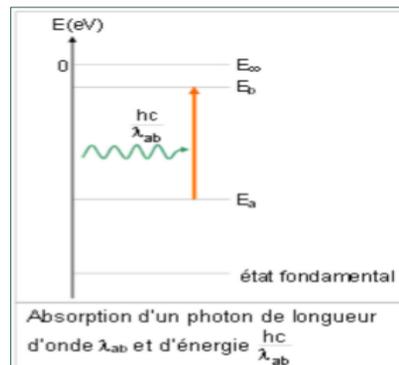
L'interaction du rayonnement électromagnétique avec la matière peut prendre différentes formes ; nous distinguerons ainsi successivement les processus qui sont à la base de tous les phénomènes spectroscopiques : l'absorption, l'émission et la diffusion.

Absorption:

Lorsqu'un atome est soumis à une onde lumineuse, il peut absorber un photon.

L'atome, initialement dans un état d'énergie électronique E_a , passe alors dans un état électronique d'énergie supérieure

$$E_b > E_a.$$



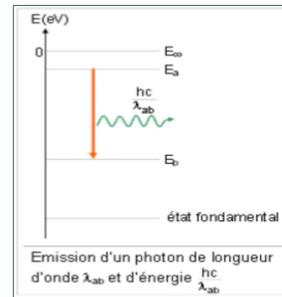
NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Interaction rayonnement – matière:

Émission:

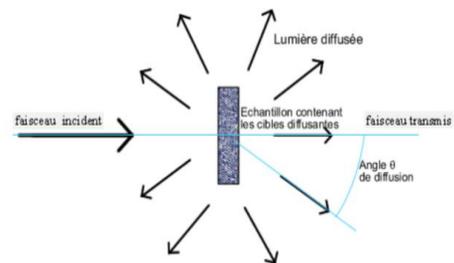
La présence d'un rayonnement incident peut induire un atome excité à émettre un photon ayant les mêmes caractéristiques que les photons incidents.

Ce processus est à la base du fonctionnement des lasers



Diffusion:

La diffusion est le phénomène par lequel un rayonnement, comme la lumière, le son ou une particule en mouvement, est dévié dans de multiples directions par une interaction avec d'autres objets.



NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

États d'énergies:

L'énergie des atomes et des molécules est quantifiée. Cette énergie peut être d'origine diverse :

- Molécules : rotation, vibration et énergie électronique.
- Atomes : énergie électronique.

On distingue 4 modes de mouvement, et donc d'énergie, pour les molécules :

- 1) La translation
- 2) La rotation
- 3) La vibration
- 4) Electronique (déformation du nuage)

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

États d'énergies:

Une première simplification consiste à séparer le mouvement de translation uniforme d'ensemble de la molécule dont l'énergie n'est pas quantifiée.

Ensuite, on distingue électrons et noyaux, particules de masses très différentes (les noyaux sont 103 à 105 fois plus lourds).



Les mouvements des électrons sont donc « beaucoup plus rapides » que ceux des noyaux.

Les mouvements des électrons pourront être étudiés en considérant les noyaux comme fixes (approximation de Born-Oppenheimer). Ceci revient à séparer les énergies : d'une part l'énergie électronique E_e et d'autre part l'énergie due au mouvement des noyaux dont on distingue deux composantes : l'énergie de vibration E_v et l'énergie de rotation E_r .

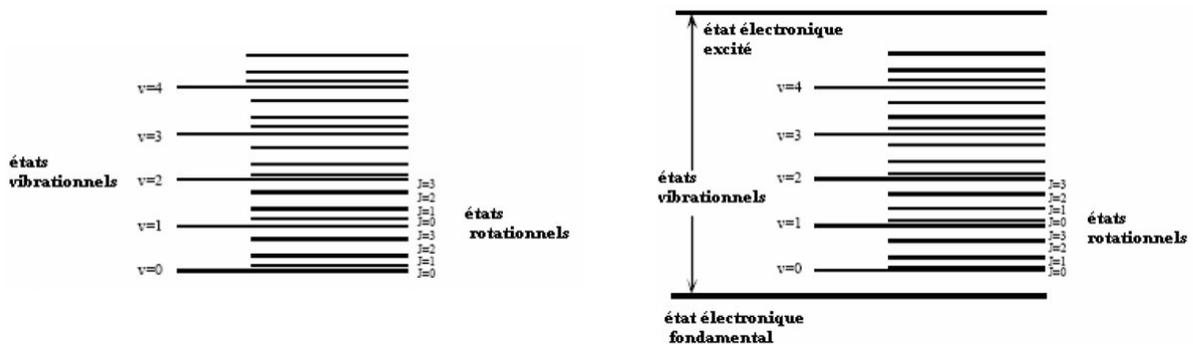
Ainsi, on peut écrire l'énergie totale sous la forme :

$$E_T = E_e + E_v + E_r.$$

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

États d'énergies:

Ces trois énergies ont des ordres de grandeurs très différents : $E_e \gg E_v \gg E_r$. On peut résumer ceci sur le diagramme d'énergie suivant :



NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Présentation d'un spectre:

C'est un diagramme à deux dimensions :

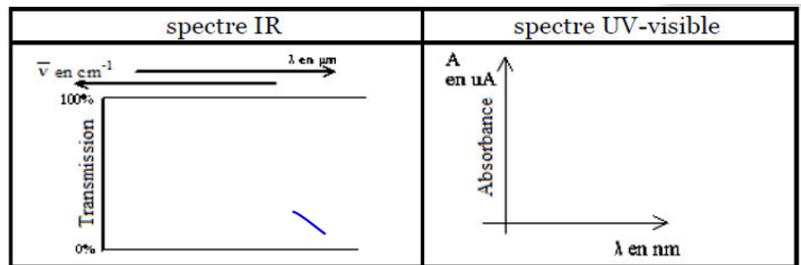
➤ Les abscisses :

- soit la longueur d'onde λ en cm pour le domaine micro-onde, en μm pour l'IR et en nm pour l'UV-visible
- soit le nombre d'onde en cm^{-1} quel que soit le domaine concerné.

➤ Les ordonnées :

En absorption : deux grandeurs peuvent être utilisées : la transmission et l'absorbance

Présentation des spectres :

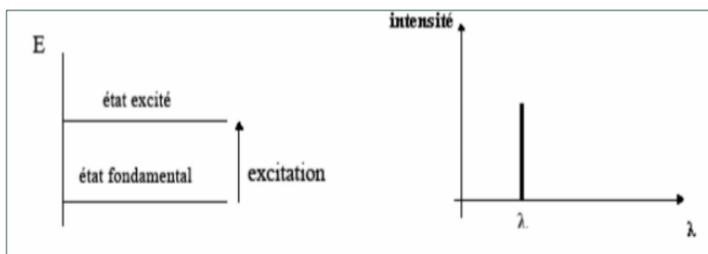


NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Présentation d'un spectre:

Spectres de raies:

Dans un atome, une variation de l'énergie électronique donne naissance à une seule raie spectrale. La position de chaque raie correspond à une radiation monochromatique.



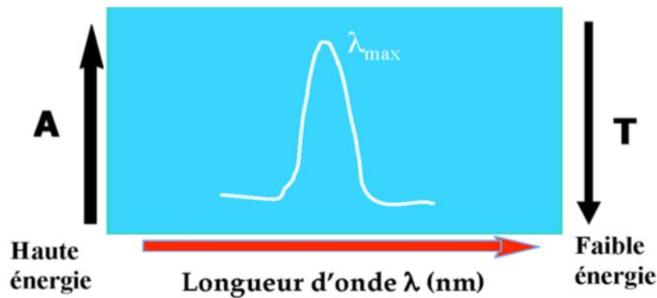
NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Présentation d'un spectre:

Spectres de bandes:

Théoriquement, le spectre d'une molécule est un spectre de raies (quantification, valeurs discrètes d'énergie).

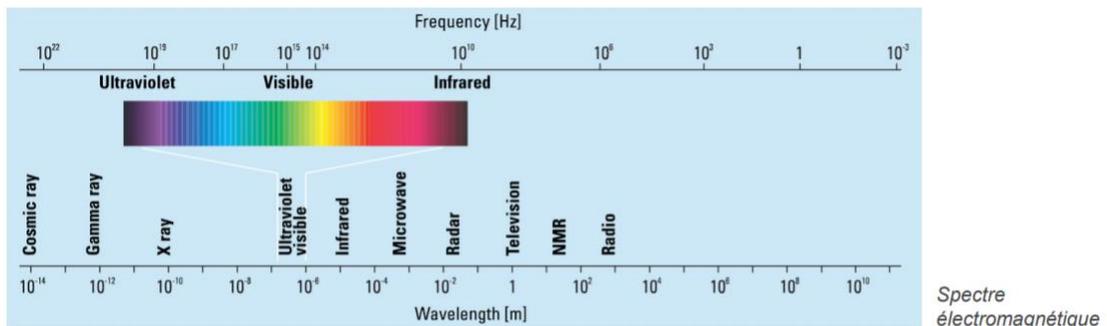
Cependant expérimentalement par exemple une transition entre deux niveaux électroniques peut conduire à une modification des énergies à la fois de vibration et de rotation, donc à un ensemble de transitions d'énergies très voisines ce qui conduit à un spectre de bandes.



NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Spectre électromagnétique:

Un spectre électromagnétique est la décomposition d'un rayonnement électromagnétique en fonction de sa longueur d'onde, ou de sa fréquence. Pour des raisons historiques, les ondes électromagnétiques sont désignées par différents termes, en fonction des gammes de fréquence (ou de longueurs d'onde).



NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Spectre électromagnétique:

Le rayonnement γ : est produit par la radioactivité lors de la désexcitation d'un noyau. Ils sont donc en particulier émis par les matériaux radioactifs et les réacteurs nucléaires. Ils sont dangereux pour les cellules humaines. Les spectres des rayons γ sont caractéristiques de l'espèce nucléaire.

Les rayons X : sont produits lors des transitions électroniques de haute énergie. Ils correspondent à des modifications dans l'état des électrons internes. De ce fait, ils ne dépendent pas des combinaisons chimiques dans lesquelles les atomes sont engagés.

L'UV et le visible : Les spectres dépendent essentiellement de la structure électronique des couches externes. Cette région est concernée par divers types de spectroscopies atomiques et moléculaires.

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Spectre électromagnétique:

Spectroscopies atomiques:

Les spectres de particules atomiques analysées par un spectroscope permettent de caractériser l'espèce en présence à l'aide des raies caractéristiques. Ces spectres sont utilisés en astronomie (**exemples** : spectre d'émission de l'hydrogène ou des alcalins).

Il y a aussi les spectres d'émission atomique (spectres de flamme) ou d'émission ionique (spectres d'étincelles), les spectres d'absorption atomique ou de fluorescence atomique de flamme. Ils sont utilisés pour l'analyse qualitative et quantitative des éléments.

Spectroscopies moléculaires:

On distingue les spectroscopies d'absorption UV-visible et de fluorescence UV-visible. Elles permettent l'étude qualitative et quantitative de certains composés moléculaires.

NOTIONS DE BASE DE LA SPECTROSCOPIE

Spectre électromagnétique:

Le rayonnement infrarouge:

Est divisée en trois régions : le proche, le moyen et le lointain infrarouges, nommés en relation avec le spectre visible. Comme pour toutes les techniques de spectroscopie, la spectroscopie infrarouge est employée pour l'identification de composés ou pour déterminer la composition d'un échantillon. Les spectres sont dus à des modifications dans l'état de rotation et de vibration des molécules.

Les micro-ondes: sont de longueur d'onde intermédiaire entre l'infrarouge et les ondes de radiodiffusion. Le terme de micro-onde provient du fait que ces ondes ont une longueur d'onde plus courte que celles de la bande VHF, utilisée par les radars pendant la Seconde Guerre mondiale. On peut citer dans cette catégorie la spectroscopie de rotation en micro-onde qui est concernée par les mouvements de rotation des molécules.

Les ondes radio: sont produites par des courants électriques de haute fréquence. Une spectroscopie se rattachant à cette région est la résonance magnétique nucléaire (RMN). La technique consiste à induire des transitions entre les niveaux énergétiques que peuvent occuper les spins de certains noyaux sous l'action d'un champ magnétique intense.

TD

Problème 1:

La lumière est une onde électromagnétique de fréquence ν et un faisceau de particules appelées photons transportant l'énergie E telle que :

$$E = h.\nu$$

où h est la constante de Planck $h = 6,63.10^{-34}$ J.s

ν est la fréquence de l'onde électromagnétique associée au photon.

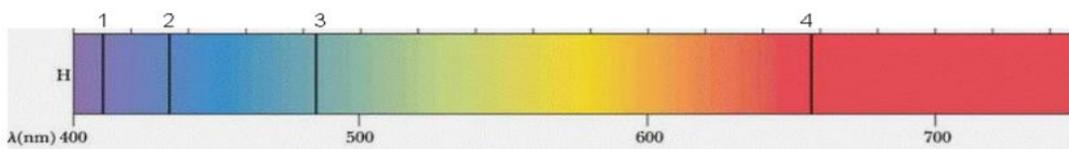
Q1: Sachant que la fréquence ν d'une onde électromagnétique est égale au rapport de la vitesse de propagation c sur la longueur d'onde λ , déterminer l'expression de l'énergie des photons en fonction de la longueur d'onde de la radiation.

Q2: Le laser Hélium-Néon émet de la lumière rouge à la longueur d'onde $\lambda = 632,8$ nm. Quelle est l'énergie des photons émis ? Donnée : $c = 3,0.10^8$ m.s⁻¹

Q3: Les rayons gamma sont des ondes électromagnétiques de très hautes énergies de l'ordre de 0,001 milliardièmes de Joules. Comparer les longueurs d'onde des rayons gamma aux longueurs d'onde du domaine visible.

Problème 2:

Prenons l'exemple de l'atome d'hydrogène. C'est l'élément le plus simple et le plus répandu dans l'univers. Son spectre d'absorption est le suivant :



Q1: Quelles sont les énergies des photons associés aux radiations absorbées ? Remplir la dernière ligne du tableau.

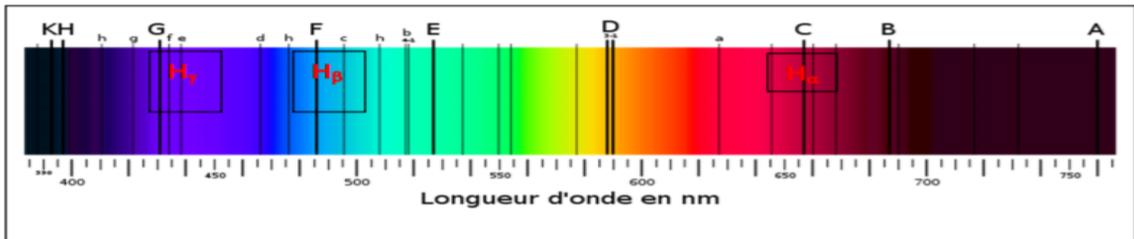
Raies	1	2	3	4
Longueur d'onde (nm)	410	434	486	656
Energie (J)				

Q2: Quand un atome absorbe de l'énergie lumineuse, il est excité ! Qu'est ce que cela veut dire ?

Q3: A votre avis, pourquoi seulement certains photons possédant une énergie bien particulière sont absorbés ?

Problème 3:

Voici le spectre de la lumière solaire obtenu par Fraunhofer



Longueurs d'onde, exprimées en nm de certaines raies caractéristiques de quelques éléments chimiques

Éléments chimiques	Hydrogène H	Sodium Na	Magnésium Mg	Calcium Ca	Fer Fe	Titane Ti	Manganèse Mn	Dioxygène O ₂
Longueurs d'onde (nm)	434	589,0	470,3	396,8	438,3	466,8	403,6	686,7
	486,1	589,6	516,7	422,7	489,1	469,1		762,1
	656,3			458,2	491,9	498,2		
				526,2	495,7			
				527	532,8			
					537,1			
					539,7			

Q1: Dans le spectre du soleil ci-dessus, s'agit-il de raies d'émission ou d'absorption ?

Q2: En vous aidant du tableau ci-contre identifier les raies principales (en majuscule) du spectre solaire de Fraunhofer.

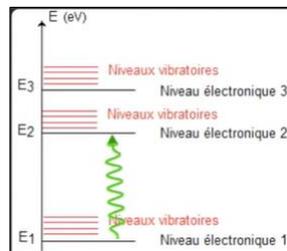
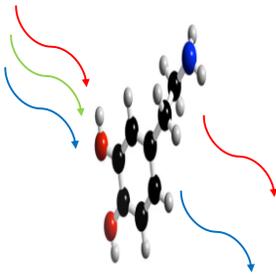
Raie d'absorption	A	B	C	D ₁	D ₂	E	F	G	H	K
Élément chimique										

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

L'absorbance de la lumière:

- la couleur est la manifestation de l'absorption de lumière visible (λ de 400 à 800 nm, soit de 0,4 à 0,8 μm)



Représente les radiations de la lumière absorbées par la molécule

- Les substances qui absorbent seulement:
 - Dans l'UV (ultra-violet) proche ($\lambda = 200$ à 400 nm)
 - Dans l'IR (infra rouge: $\lambda > 800$ nm)



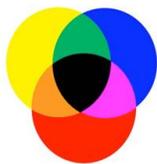
Apparaissent incolores

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

L'absorbance de la lumière:

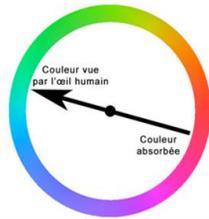
Une solution colorée absorbe certaines radiations du spectre de la lumière blanche. La couleur de la solution est la somme des radiations non absorbées.

Le diagramme des couleurs complémentaires ci contre permet de connaître rapidement les radiations absorbées en fonction de la couleur de la solution:



Il existe 3 couleurs primaires : Bleu, Jaune et Rouge. C'est en les mélangeant que l'on obtient d'autres teintes. Il y a 3 couleurs secondaires : L'Orange, le Vert et le Violet. Elles sont obtenues en additionnant 2 couleurs primaires. Et 6 couleurs tertiaires résultent du mélange des couleurs primaires avec les secondaires.

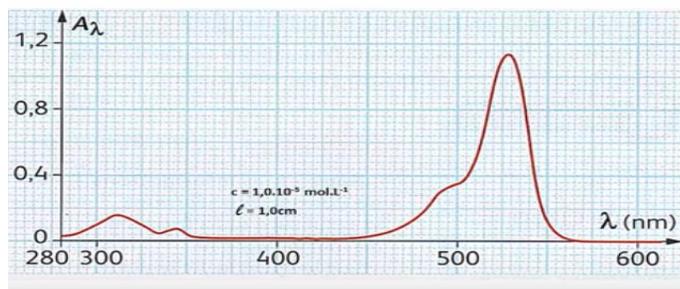
Toutes ces couleurs peuvent encore s'additionner. Elles donnent des nuances que l'on retrouve dans la « **roue chromatique** »



- Une solution de couleur violette absorbe principalement dans la couleur complémentaire, ici la jaune.
- Une solution de couleur orangée absorbe principalement dans le bleu, couleur complémentaire de l'orange.

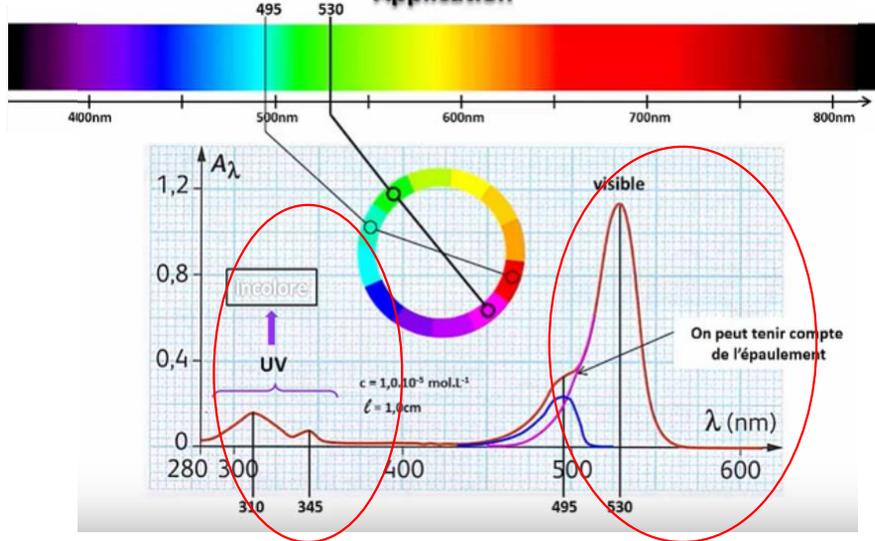
Application

Le spectre de l'éosine en solution dans l'éthanol à la concentration $c = 1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ est représenté ci-dessous. L'épaisseur de cuve traversée vaut $\ell = 1,0 \text{ cm}$.



À quoi ressemble la solution d'éosine????

Le spectre de la lumière blanche:

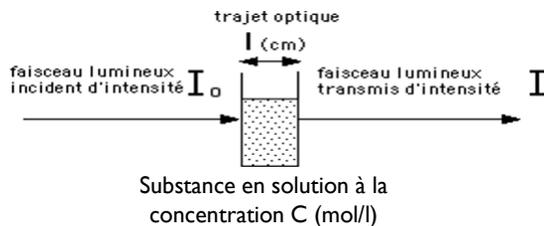


La couleur de l'éosine est le magenta tirant sur le rouge

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

La spectroscopie UV- visible

Absorbance (A): mesure quantitative de l'absorption d'une radiation UV- visible à une longueur d'onde donnée par un composé.



Où:

I_0 est l'intensité incidente de la lumière sur l'échantillon

I est l'intensité sortante de l'échantillon

A est aussi appelé « densité optique D.O. ».

Transmittance ou Transmission (%)

$$T = \frac{I}{I_0} \times 100$$

**Absorbance ou Densité Optique (D.O)
ou Extinction (E) (sans unité)**

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I}$$

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Loi de Beer-Lambert:

La loi de Beer-Lambert est la loi qui traduit la relation entre l'absorbance, la concentration et la longueur de solution traversée par la lumière dans la cuve de mesure.

$$\text{Loi de Beer-Lambert: } A = \epsilon.l.c$$

Où:

A : absorbance ou D.O.

ϵ : le coefficient d'absorption molaire en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$

l : la largeur de cuve (longueur de solution traversée) en cm

c : la concentration de la solution en mol/L

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

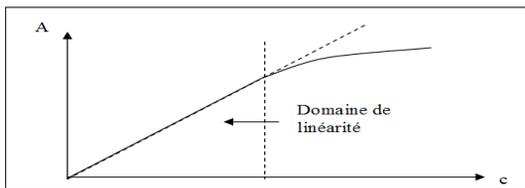
Loi de Beer-Lambert:Condition de validité de la loi de Beer-Lambert:

- La lumière utilisée est monochromatique:

Il faut travailler en lumière monochromatique car ϵ est fonction de la nature du corps absorbant, de la température et de la longueur d'onde.

Pour avoir une bonne sensibilité, il faut déterminer la longueur d'onde que la solution absorbe le plus, c'est-à-dire la longueur d'onde dont **la teinte est complémentaire de celle de la solution.**

- La concentration n'est pas trop élevée: $c \approx 10^{-2}$ mol.L⁻¹ en général pour que les interactions entre molécules soient négligeables.



SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Loi de Beer-Lambert:Condition de validité de la loi de Beer-Lambert:

- La solution n'est pas fluorescente: pas de réémission de lumière dans toutes les directions
- La solution n'est pas trop concentrée en sels incolores
- La dilution n'entraîne pas un déplacement de l'équilibre chimique:



- La solution doit être limpide (pas de précipité ou de trouble qui entraîneraient une diffusion de la lumière)

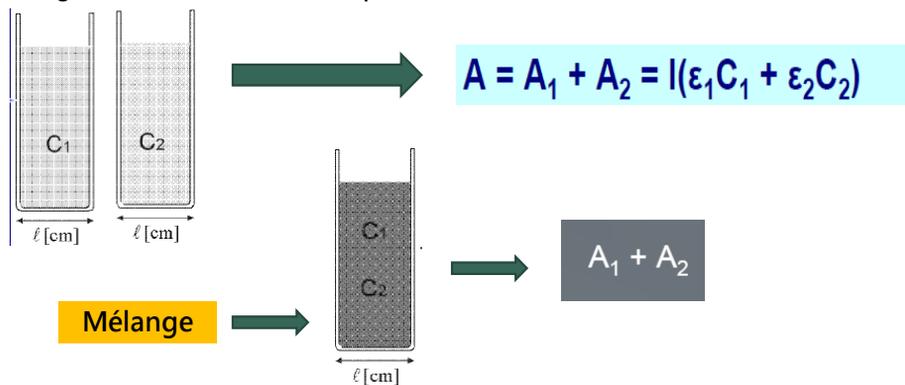
SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Loi de Beer-Lambert:

Analyse Multicomposants (MCA)

La Loi de Beer- Lambert est additive

L'absorbance d'un mélange de deux composés est égale la somme des absorbances de chaque composant du mélange à une longueur d'onde λ , une cuve d'épaisseur l .



SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Loi de Beer-Lambert:

Analyse Multicomposants (MCA)

A une longueur d'onde donnée

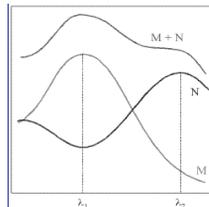
L'absorbance A d'un mélange de n espèces absorbantes est égale la somme des absorbances individuelles.

$$A = A_1 + A_2 + \dots + A_n = l(\epsilon_1 C_1 + \epsilon_2 C_2 + \dots + \epsilon_n C_n)$$



Additivité des absorbances

Si la solution contient deux composés M et N



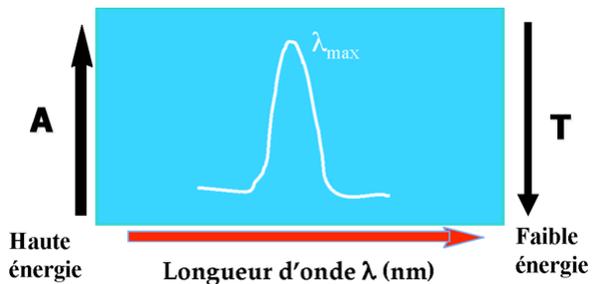
Le spectre du mélange correspond à la somme pondérée des spectres de chacun des constituants

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Spectre UV-Visible:

Un spectre UV – Visible décrit la variation de l'absorbance (A) en fonction de la longueur d'onde λ .

- À chaque longueur d'onde correspond un ϵ
- Un composé est caractérisé par son λ_{\max} et son ϵ_{\max}



SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Spectre UV-Visible:

La région ultraviolette s'étend de 10 nm à 400 nm mais les spectromètres UV ne permettent le tracé des spectres que pour les longueurs d'onde comprises entre 200 nm et 400 nm (proche UV).

La région du visible s'étend de 400 nm à 800 nm; cette gamme de mesure est atteinte avec le même type de spectromètre que celui utilisé en UV, par la simple commutation de la source lumineuse.

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Application de la spectroscopie UV-Visible

Analyse qualitative:

La spectroscopie UV-visible fournit généralement moins de renseignements sur la structure moléculaire que les autres méthodes spectrométriques comme la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) ou la spectroscopie infra-rouge (IR).

Néanmoins on l'utilise pour une confirmation de structure, soit par une identification grâce à des règles empiriques performantes soit en procédant à des comparaisons avec des spectres de référence.

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Application de la spectroscopie UV-Visible**Analyse quantitative:**

L'utilisation de la loi de Beer-Lambert, lorsqu'elle s'applique, est une très bonne méthode d'analyse quantitative. En effet nous avons vu que l'absorbance d'une solution A (ou sa densité optique D.O.) est proportionnelle à la concentration c de la solution étudiée.

$$A = \epsilon.l.c$$

Donc, quand on connaît l' ϵ du produit analysé à la longueur d'onde utilisée, toute mesure de A équivaut à une mesure de c.

Remarque : la loi de Beer-Lambert ne s'applique bien que pour des faibles valeurs de c.

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

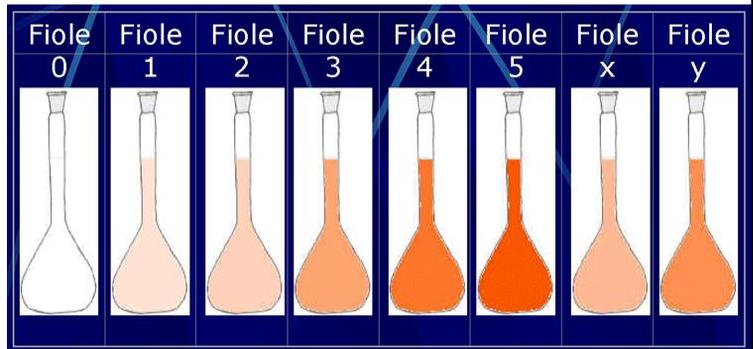
Dosage par spectrophotométrie UV-Visible

Un **dosage colorimétrique** est un type de dosage possible lorsqu'une réaction chimique donne des produits colorés et si l'intensité de la coloration est proportionnelle à la **concentration de l'élément à doser**. c'est-à-dire la longueur d'onde dont la **teinte est complémentaire de celle de la solution colorée**. Les dosages colorimétriques s'appuient sur la loi de Beer-Lambert.

Un dosage colorimétrique est également possible en utilisant des indicateurs colorés tels que l'hélianthine, la phénolphtaléine,...

1. Préparation d'une gamme colorimétrique:

une **gamme d'étalonnage (fiolle de 0 à 5)** doit être réalisée dans les mêmes conditions physico-chimiques que les essais (fiolle x et y)



Gamme colorimétrique

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Dosage spectrophotométrie UV-Visible

Deux techniques de dosages sont utilisées en spectrophotométrie:

➤ Méthode de la gamme d'étalonnage:

consiste à préparer des solutions dont la concentration encadre la solution de concentration inconnue. L'absorbance mesurée pour chacune de ces solutions permet d'établir un graphe où l'on trace $A = f(C)$. Il ne reste plus qu'à placer l'absorbance de la solution inconnue et l'on obtient la concentration inconnue.

➤ la méthode des ajouts dosés:

consiste à ajouter plusieurs fois un même volume d'une solution de concentration connue à un volume donné de concentration inconnue. Un travail graphique ou mathématique se basant aussi sur la proportionnalité entre A et C permet de trouver la concentration inconnue.

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

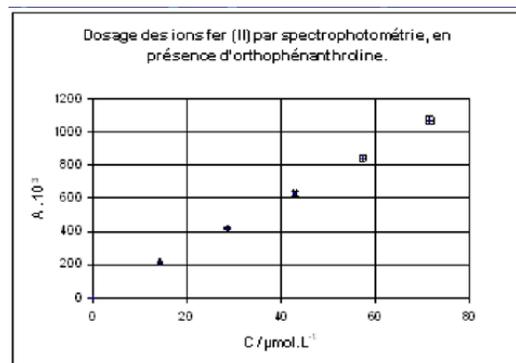
Dosage spectrophotométrie UV-Visible

2. Traçage de la courbe d'étalonnage (ou gamme des ajouts dosés):

La modélisation sous forme de régression linéaire de type : $A = a.C + b$



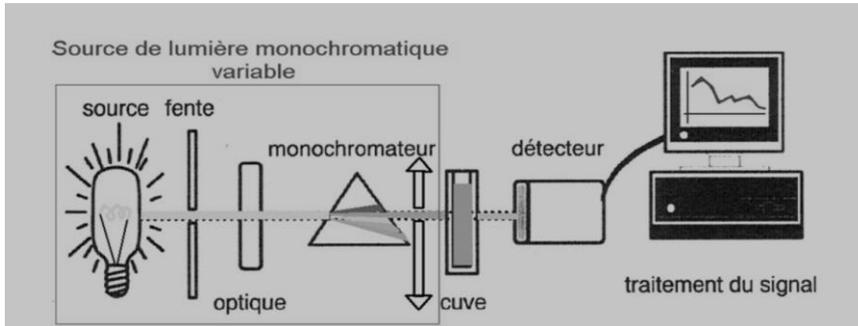
la courbe d'étalonnage tracé nous permet de calculer la concentration de la solution à doser



SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Les spectromètres UV-Visible

Les spectromètres UV-Visible comportent une source de lumière suivie d'un monochromateur, d'un compartiment pour place les échantillons, puis d'un dispositif de réception associé à un dispositif de traitement des données permettant au final le tracé d'un spectre



SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Les spectromètres UV-Visible

Sources lumineuses:

- Lampe à décharge au deutérium utilisée ans le domaine de 190 à 400 nm avec un maximum d'émission à 652,1 nm.



SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Les spectromètres UV-Visible

Sources lumineuses:

- Lampe à filament de tungstène pour la région allant de 350 à 800 nm.



SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Les spectromètres UV-Visible

Sources lumineuses:

Lampe à décharge au xénon utilisée dans le domaine UV et Visible, c'est une lampe très énergétique (fonctionne sous forme de flash, juste au moment de faire une mesure)

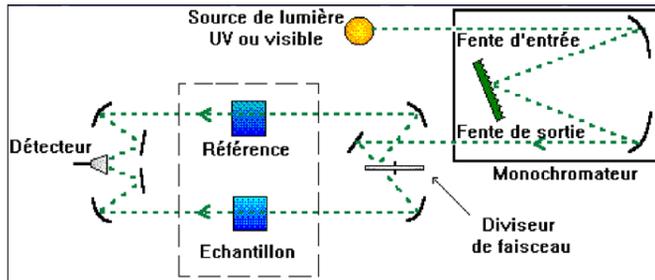


Lampes flash au xénon Oriel

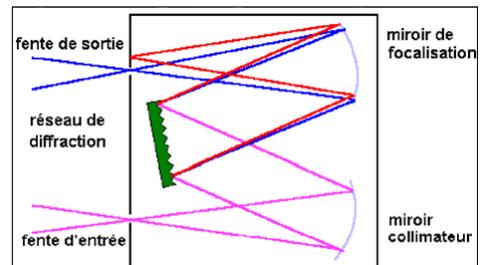
SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Les spectromètres UV-Visible

Monochromateur:



**Prisme réseau ou filtre coloré:
système dispersif/fente d'entrée / fente de sortie.**



SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Les spectromètres UV-Visible

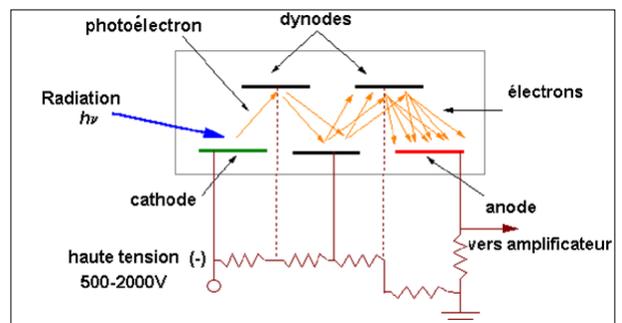
Photomultiplicateur:

Photon arrache un électron de la cathode par effet photoélectrique. Electron accéléré vers une seconde électrode (dynode, un potentiel supérieur).

Energie de l'électron incident permet d'arracher d'autres électrons:

Effet multiplicatif

(1 photon \rightarrow 100 électrons sur l'anode)

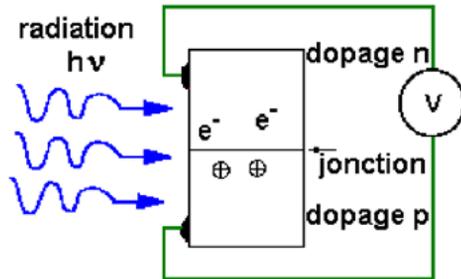


SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Les spectromètres UV-Visible

Détecteur: photodiode

Semi-conducteur.
Un photon transfère un électron de la bande de valence (niveau bas) vers la bande de conduction (niveau haut); création d'une paire électron-trou.
Le nombre de paires électrons-trous est fonction de la quantité de lumière reçue.



SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Techniques expérimentales:

Les cellules (les cuves):



- La plupart du temps, on utilise des cellules dont le trajet optique est égal à 1 cm (ceci permet d'avoir $l = l$ pour l'application de la loi de Beer-Lambert)
- Elles doivent être en quartz et pas en verre pour $\lambda < 310\text{nm}$
- Les cellules doivent être maintenues très propres, particulièrement les faces polies car elles sont placées sur le trajet lumineux.

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Techniques expérimentales:

Les solvants:

- Ils doivent bien dissoudre le produit et être transparents dans la région examinée.
- L'éthanol à 95 % est le solvant le plus utilisé. Il est suffisamment bon solvant pour de nombreux composés organiques
- Les hydrocarbures sont des solvants utilisés pour des substances non polaires ; ils doivent être purifiés soigneusement pour éliminer toute trace de substances aromatiques ou éthyléniques
- L'eau distillée et les acides sont de bons solvants : leur transmission est très bonne
- Les solvants ont tout de même des effets : leur polarité exerce une influence sur les spectres d'absorption; on observe dans certains cas des changements importants de λ_{\max} et de ϵ_{\max} : **régle de solvatochromie**

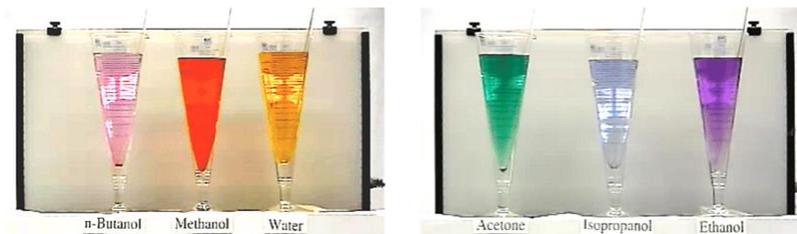
Le **solvatochromisme** est la propriété d'une molécule à changer de couleur selon la polarité du solvant dans lequel elle est dissoute.

SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV-VISIBLE

Techniques expérimentales:

Les solvants:

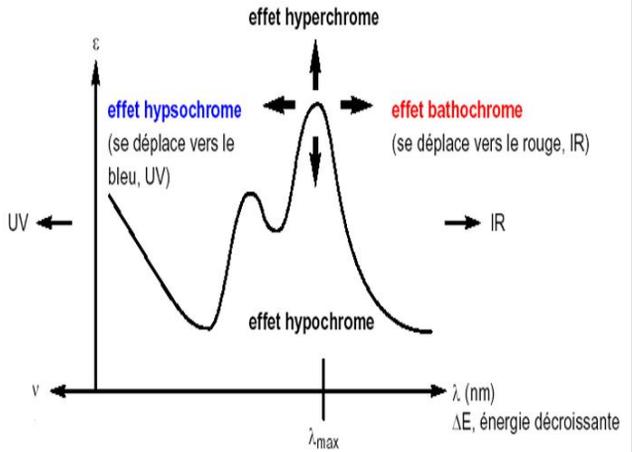
Exemple de solvatochromie : la couleur d'une solution d'un même composé dépend de la nature du solvant



EXEMPLE D'EFFET DE L'ENVIRONNEMENT SUR LES TRANSITIONS

I. Les Chromophores et les groupement Auxochrome

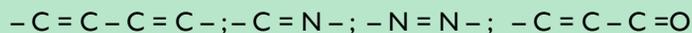
- Groupement **auxochrome** : groupement saturé lié à un chromophore et qui modifie la longueur d'onde et l'intensité de l'absorption.
Ex. : OH, NH₂, Cl...
- Effet **bathochrome** : déplacement des bandes vers les grandes longueurs d'onde.
- Effet **hypsochrome** : déplacement des bandes vers les courtes longueurs d'onde.
- Effet **hyperchrome** : augmentation de l'intensité d'absorption.
- Effet **hypochrome** : diminution de l'intensité d'absorption.



Définitions:

Chromophores : ce sont des groupes d'atomes liés dans une molécule et qui sont responsables de pics d'absorption importants dans l'ultraviolet ou le visible.

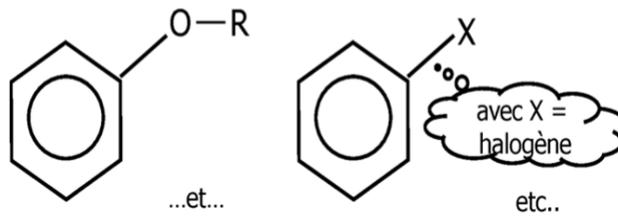
exemple:



Effet bathochrome : déplacement du λ_{\max} d'un chromophore vers le rouge (red-shift)

Effet hypsochrome : déplacement du λ_{\max} d'un chromophore vers le bleu (blue-shift)

Des groupements liés au cycle aromatique par un hétéroatome porteur de doublets libres n sont des substituants auxochromes

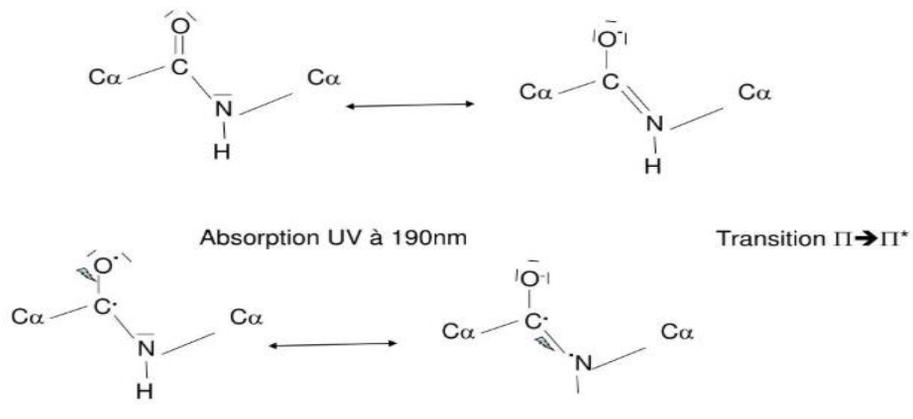


Caractéristiques de ces bandes E: les ϵ_{\max} varient entre 2000 et 14000 $M^{-1}.cm^{-1}$

Exemple de spectre UV -Visible

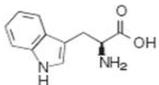
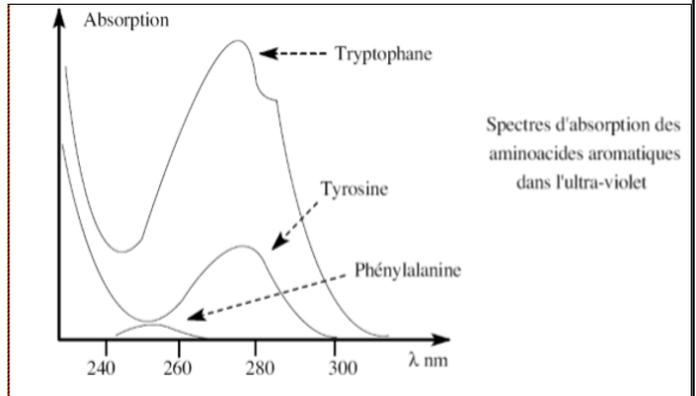
Ex de chromophore biologique

La liaison peptidique

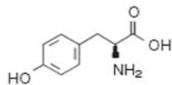


Exemple de spectre UV -Visible

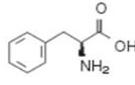
Certains acides aminés
Trp, Phe, tyr sont des systèmes conjugués



trp w Tryptophane



tyr y Tyrosine

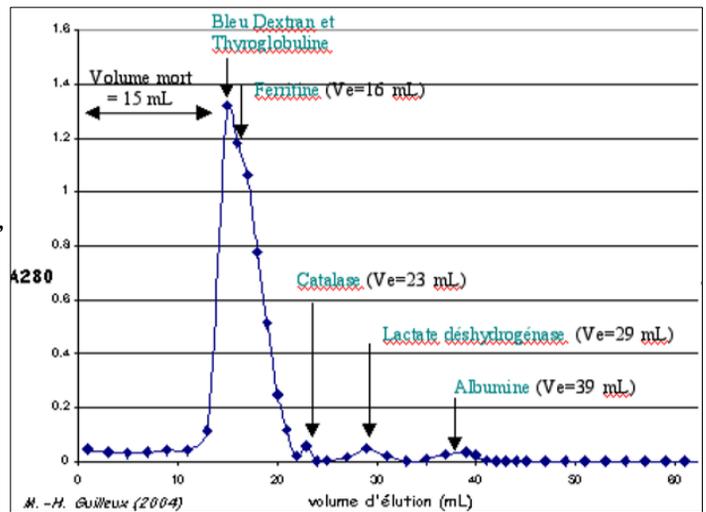


phe f Phénylalanine

Exemple de spectre UV -Visible

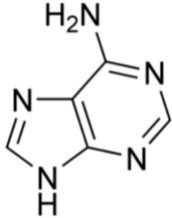
L'absorption UV à 280 nm permet de:

- déterminer la concentration de protéine,
- suivre les protéines (qui sont transparentes à l'œil) par exemple lors d'une purification).

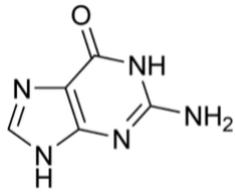


Exemple de spectre UV -Visible

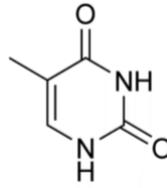
Les bases d'ADN ou d'ARN



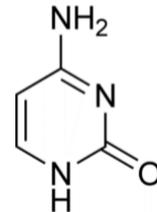
Adénine



Guanine



Thymine



cytosine

A cause de leurs systèmes de conjugaisons, ces bases absorbent dans l'UV.

L'absorption UV à 260 nm permet de:

- déterminer la concentration de L'ADN et L'ARN ,
- suivre les L'ADN et L'ARN.

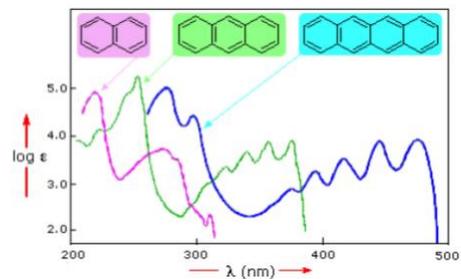
EXEMPLE D'EFFET DE L'ENVIRONNEMENT SUR LES TRANSITIONS

2. Effet de la conjugaison

Au niveau des composés éthyléniques
L'enchaînement d'insaturations entraîne
la délocalisation des électrons π .
Il en découle **un effet bathochrome**
et un effet hyperchrome

Composé	λ_{\max}	ϵ_{\max}
Ethylène $\text{CH}_2=\text{CH}_2$	165	15000
Buta-1, 3-diène $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$	217	20900

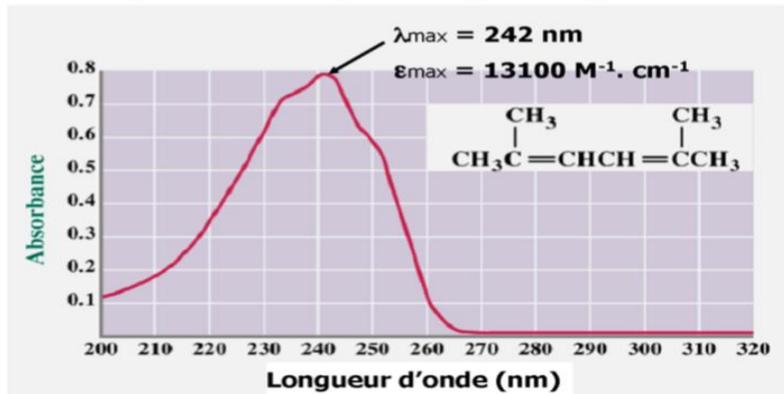
Pour les aromatiques polynucléaires, plus le nombre de cycles condensés augmente, plus l'absorption se déplace vers de plus grandes longueurs d'onde jusqu'à ce qu'elle atteigne la région du visible.



Cas des polyènes conjugués où n = nombre de liaisons doubles :

Exemple de spectre UV

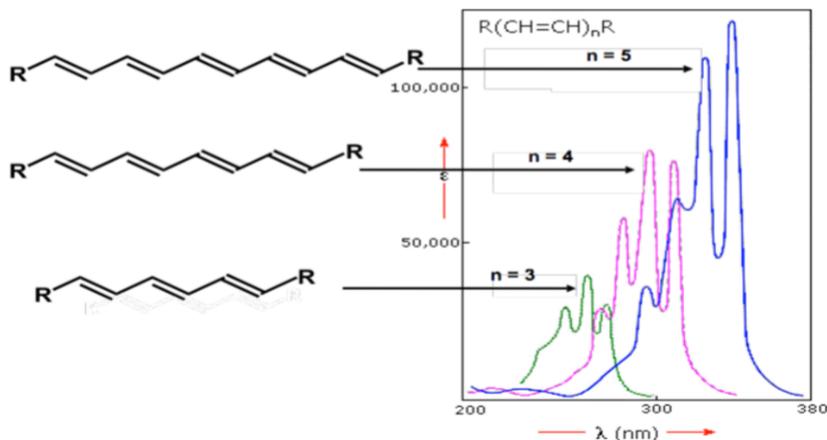
Spectre UV du 2,5-diméthylhexa-2,4-diène



Cas des polyènes conjugués où n = nombre de liaisons doubles :

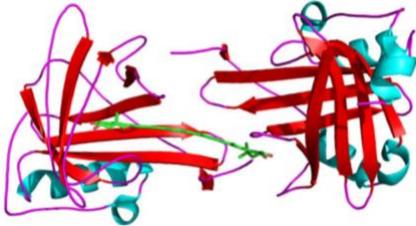
Exemples de spectres UV

Spectres UV de polyènes conjugués



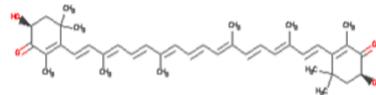
Remarque : Le déplacement **bathochrome** est à l'origine de la couleur de nombreux composés naturels qui présentent des chromophores conjugués étendus.

Exemple:



La **crustacyanine** est une protéine qu'on retrouve dans la carapace des crustacés. 2 monomères type tonneaux β (Lipocaline). Elle fixe **astaxanthine** qui est responsable de la coloration des homards

Astaxanthine



La protéine fixe un pigment l'astaxanthine. Qui est très conjugué. il absorbe le bleu d'où la couleur rouge



Quand on chauffe le homard, il change de couleur

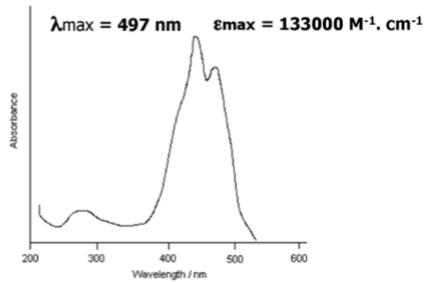
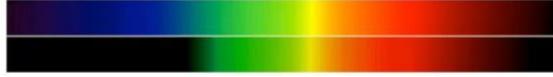


C'est à cause de la dénaturation de la crustacyanine.

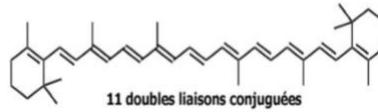
Dans la **protéine native**, le pigment est courbé. L'environnement du pigment lié (liaisons hydrogène) sera différent du pigment libre. Il absorbe le rouge d'où la couleur bleu

Dans la **protéine dénaturé**, le pigment retrouvera une géométrie et un environnement similaire au pigment libre. Il absorbera dans le bleu, d'où la couleur rouge

Exemple de spectre UV -Visible

Spectre d'absorption UV-visible du β -carotène

Le β -carotène est un polyène conjugué naturel



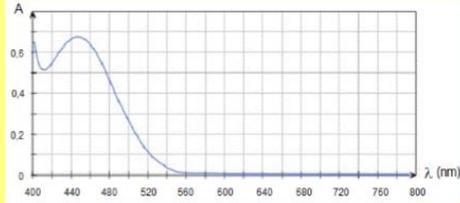
Le système est fortement conjugué, le carotène absorbe le bleu. Par conséquent il apparaît orange.



TD 2

Exercice I :

Un spectrophotomètre a permis de tracer le spectre d'absorption d'une solution orangée de dichromate de potassium de concentration $C_0 = 6,0 \times 10^{-4}$ mol / L. (figure 1 ci-dessous)



(1)

1- On réalise ensuite un tableau d'étalonnage en mesurant l'absorbance A pour différentes concentrations en ions dichromates $Cr_2O_7^{2-}$.

On utilise avec le spectrophotomètre la longueur d'onde $\lambda = 450$ nm (longueur d'onde dans le vide ou l'air).

C (mol / L)	$2,0 \times 10^{-4}$	$4,0 \times 10^{-4}$	$8,0 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-3}$	$1,6 \times 10^{-3}$
A	0,22	0,46	0,89	1,33	1,82

Pourquoi utilise-t-on la longueur d'onde $\lambda = 450$ nm ?

2- Tracer la courbe $A = f(C)$.

3- La loi de Beer-Lambert est-elle vérifiée ?

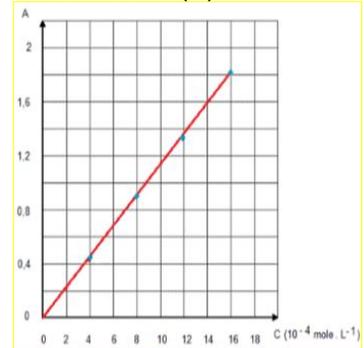
4- On possède une solution de dichromate de potassium orangée de concentration C_1 inconnue.

On la dilue 10 fois. On mesure l'absorbance de la solution diluée. On trouve $A_2 = 1,60$. Calculer la concentration C_2 de la solution diluée puis la concentration C_1 de la solution initiale.

Solution I :

1. La solution est orange, la couleur absorbée est donc le bleu (couleurs complémentaires). Le filtre à utiliser est celui qui ne laisse passer que les radiations de longueur d'onde proche de 450 nm.

3. La loi de Beer-Lambert $A = K \cdot C$ est traduite par une fonction linéaire. Sa représentation graphique doit être une droite passant par l'origine. D'après la figure qui représente bien une droite passant par l'origine donc la loi de Beer-Lambert est vérifiée.

2. La courbe $A = f(C)$ 

4. On possède une solution de dichromate de potassium orangée de concentration C_1 inconnue. On la dilue 10 fois. On mesure l'absorbance de la solution diluée. On trouve $A_2 = 1,60$.

D'après la figure: $C_2 = 14 \times 10^{-4}$ mol/L pour une absorbance de $A_2 = 1,60$

Nous avons: la solution initiale a une concentration C_1 10 fois plus grande que C_2

Donc: $C_1 = C_2 \times 10$
 $C_1 = 14 \times 10^{-3}$ mol/L

Exercice 2:

On dispose d'une solution mère de sulfate de cuivre à 1 mol.L^{-1} . On en réalise diverses dilutions dont on mesure l'absorbance pour la longueur d'onde 655 nm qui correspond au maximum de la courbe $A = f(c)$ pour une solution de sulfate de cuivre.

La largeur de la cuve est de 1 cm .

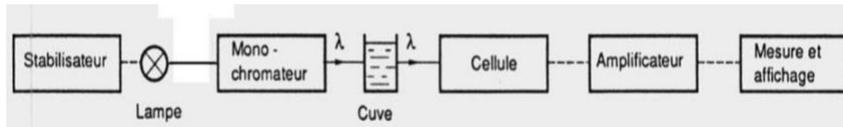
On obtient le tableau suivant :

C (mol.L^{-1})	0.20	0.10	0.050	0.020	0.010	0.0050
A	0.601	0.302	0.151	0.060	0.031	0.016

1. Faire un schéma de principe d'un spectrophotomètre UV-visible.
2. Pourquoi a-t-on choisi de travailler à cette longueur d'onde ?
3. La loi de Beer-Lambert est-elle vérifiée ?
4. Déterminer le coefficient d'absorbance linéique molaire dans ces conditions.
5. Quelle est la concentration d'une solution de sulfate de cuivre dont l'absorbance est $A = 0.200$.

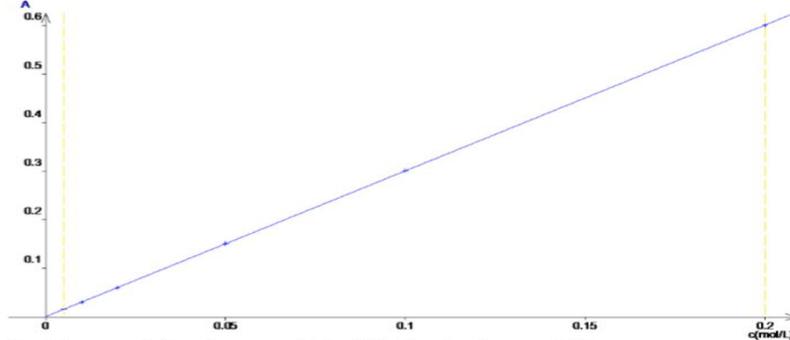
Solution 2:

1.



2. La loi de Beer-Lambert est $A = e.l.c$ avec e et l qui sont des constantes, on doit donc obtenir une droite qui passe par 0 si on trace $A = f(c)$.

Graphique :



On obtient une droite qui passe par 0 : La loi de Beer-Lambert est vérifiée.

Le coefficient directeur de cette droite est $a = \frac{Yb - Ya}{Xb - Xa} = 3.0 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$

L'équation de la droite est $A = 3c$.

3. On a $A = \epsilon \cdot l \cdot c$ donc $a = \epsilon \cdot l = 3$ et $\epsilon = \frac{3}{l} = \frac{3}{0.01} = 300 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{m}^{-1}$ soit $300 \text{ mol}^{-1} (10^{-3} \text{ m}^3) \cdot \text{m}^{-1}$ ou encore $0.30 \text{ m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ (unité du système international).

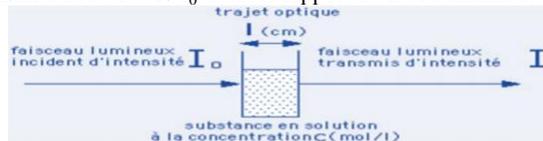
4. On a $A = \epsilon \cdot l \cdot c$ donc $c = \frac{A}{\epsilon l} = \frac{0.200}{3.0} = 0.067 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ soit $67 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$.

Exercice 3 :

1. Définir la transmittance T et l'absorbance A d'une solution.
2. Donner la loi de Beer-Lambert, expliciter tous ces termes et donner leurs unités dans le système international.
3. Quels sont les conditions de validité de la loi de Beer-Lambert.

Solution 3 :

1. Transmittance : $T = I / I_0$ C'est le rapport du flux transmis au flux incident.



Absorbance : $A = \log (I/I_0)$.

2. Loi de Beer-Lambert :

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

A est l'absorbance de la solution, ϵ est le coefficient d'absorbance linéique molaire ($\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$), l est la longueur de la cuve (en m) et c la concentration de la solution (en $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$).

3. Les conditions de validité de la loi de Beer-Lambert sont:

- La lumière utilisée doit être monochromatique.
- La concentration n'est pas trop élevée: $c \approx 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ en général pour que les interactions entre molécules soient négligeables.
- La solution n'est pas fluorescente: pas de réémission de lumière dans toutes les directions
- La solution n'est pas trop concentrée en sels incolores
- La dilution n'entraîne pas un déplacement de l'équilibre chimique:



- La solution doit être limpide (pas de précipité ou de trouble qui entraîneraient une diffusion de la lumière)