



Ministère de l'Enseignement Supérieur et
De la Recherche Scientifique
Université « Abbas Laghrou » Khenchela
Faculté des Sciences et Technologies
Département des Sciences de la Matière



N° de série :

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master (LMD)

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie analytique

Intitulé

Les techniques d'analyse physico-chimiques et les différentes méthodes d'assimilation pour détecter une structure moléculaire.

Réalisé par :

✚ Boutouil Warda
✚ Khenatla Nessrine

Dirigé par :

✚ Dr. Bousekine Houda

Membres de jury :

✚ Dr. DJBAILI Kanza Présidente université Abbas Laghrou Khenchela.
✚ Dr. BOUGHOGAL Amina Examinatrice université Abbas Laghrou Khenchela.

Année universitaire : 2021/2022

REMERCIEMENT

En tout premier lieu, nous remercions le bon dieu pour tout.

Nous remercions Allah qui nous a tout donné pour atteindre ce stade.

Nous remercions vivement les membres de jury pour leur disponibilité et l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à notre travail.

Nous remercions énormément notre encadrant, le Docteur Bousekijne Houda, qui a rendu tout le travail possible.

Enfin, Nous remercions nos amis, nos collègues et toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire, Ainsi que tous les responsables du département des sciences de la matière de l'Université Abbès Laghrour-Khenchela.

Nessrine

Warda

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

*A la lumière de ma vie, me très cher parent qui est toujours
encouragé, mon père Djab Allah protège pour moi*

A me cher frère : Ammer

A ma chère sœur : Madjida

A mon fiancé : Tarek

A toute ma famille

A mon amie, mon binôme : Nessrine.

A tous mes chères amies

A tous mes collègues de promotion Master 2 Chimie Analytique

Année 2021-2022

*Je dédie ce succès à ma mère, que dieu lui fasse miséricorde et
qu'elle repose en paix.*

Warda

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

Mon très cher « père » qui m'a toujours soutenu tout au long de ma vie, pour ses encouragements et tous l'effort qu'il a fourni depuis ma naissance jusqu' à aujourd'hui.

*La lumière qui me montre le chemin quand je me sens perdue,
Ma très chère mère « Aycha » ; que DIEU te garde pour moi*

A mes chères sœurs : Aya, Inasse

A mes chers frères : Mouhamed, Bhaa Adine

A Toute ma famille, ma belle famille

A mon binôme et mon amie : Warda ».

Résumé

Résumé

France :

Les méthodes d'analyse physico - chimique font appel à des techniques d'analyse très variées visant à connaître les propriétés intrinsèques des molécules ou les atomes.

Dans notre recherche nous abordant différentes méthodes.

La rayon X c'est une méthode plus utilisée dans la vie quotidienne.

La méthode de Hirshfeld se base sur les liaisons d'hydrogène, et la surface de cristal.

UV visible repose sur l'absorption du rayonnement par les molécules.

IR se basé sur l'analyse vibrationnelle de liaison.

La méthode de RMN spectroscopique d'étude de la matière qu'a été développe dans les nombreux domaines.

Spectroscopie de masse c'est une technique utilisée pour détecter, et identifier les molécules. Elle se compose d'une source d'ionisation d'un analyseur de masse.

La chromatographie se compose de CPG, HPLC, CCM qui sont utilisées pour séparer l'échantillons.

Chaque méthode a s'appareillage.

En fin, on a des méthodes qui compètent toutes les méthodes précédent, qui s'appellent PH mètre, et conductivité.

Anglais :

Abstract the Methods of physico-chemical analysis make use of a wide variety of analytical techniques aimed at knowing the intrinsic properties of molecules or atoms.

In our research,we approach different methods the rayon X is a method more used in evertday lifs , the Hirsfeld method is bass on hydrogen liaisons and the Crystal surfaces on the absorption of radiation by UV-Visible based molecules , IR is based vibrational analysis ,RMN spectroscopic stedy of matter that has been developed in many fields ,for Mass spectroscopic is a technique used to detect and identify molecules , it be composed of an ionization sequence , of a mass Analyzer the chromatography consists of CPG,HPLC,CCM which are used to separate the sample each method has its own apparatus .

Ultimately, we have methods that complement all the previous methods called PH-metr, and conductivity.

Résumé

Arabe :

تستخدم طرق التحليل الفيزيائية والكيميائية مجموعة متنوعة من تقنيات التحليل التي تهدف الى معرفة الخصائص الجوهرية للجزيئات او الذرات. في بحثنا نتعامل مع طرق مختلفة تعتبر الاشعة السينية طريقة أكثر استخداما في الحياة اليومية تعتمد طريقة هير شفيدل على الروابط الهيدروجينية والسطح البلوري تعتمد الاشعة فوق البنفسجية المرئية على امتصاص الجزيئات يعتمد IR للإشعاع على تحليل الربط الاهتزازي

طريقة التحليل الطيفي بالرنين المغناطيسي النووي لدراسة المادة التي تم تطويرها في مناطق كثيرة، التحليل الطيفي الشامل هو تقنية تستخدم لاكتشاف وتحديد الجزيئات. يتكون من مصدر التأين لمحلل الكتلة يتكون من CCM.HPLC.CPG والتي تستخدم لفصل العينات

كل طريقة لها أجهزتها

في النهاية لدينا طرق تختص بكل الطرق السابقة والتي تسمى

PH متر والتوصيل

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....3

CHAPITRE I : Les méthodes de détection d'une structure moléculaire solide

I.1.	Les Rayons X	05
I.1.1.	Définition.....	05
I.1.2.	La Découverte Des Rayons X.....	06
I.1.3.	Premières Utilisations En Imagerie Médicale.....	07
I.1.4.	Premières Résolutions Structurales Par La Diffraction Des RX...	08
I.1.5.	Définition des rayons X.....	08
I.1.6.	La nature des rayons X.....	09
I.1.7.	Production des rayons X.....	10
I.1.8.	Propriétés des rayons X.....	11
I.1.8.1.	Effets sur la santé.....	12
I.1.9.	Les rayons X en cristallographie.....	12
I.1.9.1.	La diffraction des rayons X.....	13
I.1.9.1. a.	Définition	13
I.1.9.1. b.	Les techniques de diffraction des rayons X.....	14
I.1.9.1. b.1.	Nature de l'échantillon.....	14
I.1.9.1. b.2.	Détermination structurale dans le cas d'un monocristal...	15

SOMMAIRE

I.1.9.1. b.2.1	Les monocristaux.....	15
I.1.9.1. b.2.2	La technique.....	16
I.1.9.2	La loi de Bragg.....	17
I.1.10.	Autres utilisations des rayons X.....	17
I.2.	Méthode de Hirshfeld.....	18
I.2.1.	La surface Hirshfeld.....	18
I.2.2.	Modes de représentations de la surface Hirshfeld...	19
I.2.2.1.	Propriétés des surfaces d_i et d_e	19
I.2.2.2.	Propriétés des surfaces d_{norm}	19
I.2.2.3.	Les empreintes 2D des surfaces Hirshfeld.....	21
I.3.	Diffraction de neutrons.....	21

CHAPITRE II : les méthodes spectrales

II.1.	Introduction.....	25
II.2	Les méthodes spectroscopiques	25
II.2.1.	Spectroscopie UV -Visible.....	25
II.2.1.1.	Généralités.....	25
II.2.1.2.	Domaine et longueur d'onde.....	25
II.2.1.3.	Transitions électroniques.....	26
II.2.1.4.	Source de rayonnement.....	28
II.2.1.5.	Appareillage.....	28
II.2.1.5.1.	Les source	28
II.2.1.5.2.	Le monochromateur	29
II.2.1.5.3	La cuve.....	29
II.2.1.5.4.	Les détecteurs.....	29
II.2.1.6.	Application analytique.....	29
II.2.1.6.1.	Analyse qualitative.....	29
II.2.1.6.2.	Analyse quantitative.....	29
II.2.1.7.	Lois de BEER et LAMBBEERT.....	30
II.2.2.	Spectroscopie infrarouge.....	31
II.2.2.1.	Principe.....	31

SOMMAIRE

II.2.2.2.	Appareillage.....	31
II.2.2.3.	Application de l'infrarouge.....	32
II.2.2.3.1.	Analyse qualitative.....	32
II.2.2.3.2.	Analyse quantitative.....	32
II.2.2.4.	Principales parties d'un spectrophotomètre IR.....	32
II.2.3.	Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire RMN.....	32
II.2.3.1.	Résonance magnétique du proton (RMN-1H)	33
II.2.3.2.	Résonance magnétique du carbone (RMN-13C)	34
II.2.3.3.	Principe de la RMN.....	34
II.2.4.	Spectroscopie de masse.....	35
II.2.4.1.	Les sources d'ionisation.....	35
II.2.4.2.	L'ionisation – désorption laser affutée par une matrice.....	35
II.2.4.3.	L'ionisation électro spray ou électro népolisation.....	36
II.2.4.4.	Les analyseur ou séparateur de masse.....	37
II.2.4.4.1.	L'analyseur a tempe de vols ou TOF.....	38
II.2.4.4.2.	Le quadripôle ou quadrupôles.....	39
II.2.4.4.3.	Le piège ionique quadripolaire.....	39
II.2.4.5.	Le détecteur.....	40
II.3.	Les Méthodes chromatographiques.....	41
II.3.1.	Histoire de la chromatographie.....	41
II.3.2.	La chromatographie.....	42
II.3.2.1.	La chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	42
II.3.2.1.1.	Principe de fonctionnement.....	42
II.3.2.1.2.	Appareillage.....	43
II.3.2.1.2.1.	L'injecteur.....	43
II.3.2.1.2.2.	Les diviseurs d'entrée.....	43
II.3.2.1.2.3.	Le détecteur.....	43
II.3.2.2.	Chromatographie liquide à haute performance	44
II.3.2.2.1.	Principe de fonctionnement.....	44
II.3.2.2.2.	Avantages de la chromatographie liquide à haute performance	45
II.3.2.2.3.	Appareillage.....	45
II.3.2.2.3.1.	Système de pompage.....	46
II.3.2.2.3.2.	Injecteurs.....	47

SOMMAIRE

II.3.2.2.3.3.	Colonne chromatographique.....	47
II.3.2.2.3.4.	La pré colonne.....	47
II.3.2.2.3.5.	Détecteurs.....	48
II.3.2.2.4.	Phase stationnaire.....	48
II.3.2.2.5.	Phase mobile.....	49
II.3.2.3.	La chromatographie sur couche mince CCM.....	49
II.3.2.3.1.	Principe.....	49
II.3.2.3.2.	Appareillage.....	50
<u>Chapitre III : les méthode physique</u>		
II.4.	La conductivité.....	52
II.4.1.	La conductivité volumique.....	52
II.4.2.	La conductivité électrique.....	52
II.4.3.	La conductivité surfacique.....	52
II.4.4.	La Conductivité hydrique.....	54
II.5.	Potentiel hydrogéné.....	54
II.5.1.	Introduction.....	54
II.5.2.	Définition.....	54
II.5.3.	PH-mètre.....	54
II.5.4.	Principale fonctionnement d'un ph mètre.....	55
II.5.5.	L'étalonnage de ph mètre.....	55
II.5.6.	Mode d'étalonnage.....	56
II.5.7.	Conditions de réétalonnage.....	56

Liste des abréviations

Tableaux des abréviations

Abréviation	Signification
RX	Rayons x
DRX	Diffraction De Rayons X
IR	Infrarouge
UV-Visible	Ultra-violet visible
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
VIS	Visible
TOF	Time of flight (Temps de vol)
MALDI	Matrice par assistée laser désorption l'ionisation
ESI	L'ionisation électro spray
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
HPLC	Chromatographie liquide a haute performance
CCM	Chromatographie sur couche Mance
CEC	La capacité d'échange cationique
PH	Potentiel hydrogène

Tableaux des figures

Chapitre I : Les méthodes de détection d'une structure moléculaire solide		
Figures	Titre	Page
Figure 1	<i>Une des premières radiographies aux Rayons X, la main d'Anna Bertha Röntgen (22 décembre 1895, pose de 20 minutes).</i>	05
Figure 2	<i>Premier-cliché Radiographique (Röntgen, 1895)</i>	07
Figure 3	<i>La radiographie : une attraction foraine</i>	08
Figure 4	Production de rayons X par un tube à rayons X (ici a anode fixe).	10
Figure 5	<i>Monocristal monte sur de la pâte à modeler sur le diffractomètre</i>	12
Figure 6	. Diffraction dans certaines directions de l'espace.	14
Figure 7	(a)- Image obtenue lors d'une exposition d'un monocristal a un faisceau de rayons X. (b)- Image obtenue lors d'une exposition d'une poudre cristalline a un faisceau de rayons X.	15
Figure 8	(a)- Transmission de la lumière naturelle par un monocristal. (b)- Transmission de la lumière polarisée par le même monocristal place entre deux polariseurs croises.	16
Figure 9	Monocristal monte sur un lasso.	16
Figure 10	Réflexion des rayons X par une famille de plans réticulaires espaces d'une distance d.	17

Liste des figures

Figure 11	Surfaces Hirschfeld tracées avec de pour le benzène.	19
Figure 12	Gradient de couleur employé pour couvrir les surfaces d'Hirschfeld d'un cristal.	20
Figure 13	Longueurs de diffusion cohérente neutronique des éléments en fonction de leur masse atomique	22
<u>Chapitre II : les méthodes spectrales</u>		
Figure	Titre	Page
Figure 1	Domaine spectral du rayonnement électromagnétique.	26
Figure 2	Transitions électroniques dans l'ultraviolet et le visible.	27
Figure 3	Schéma descriptif d'un spectrophotomètre UV-Visible	28
Figure 4	Appareil UV-VIS	30
Figure 5	Dispositif de l'IR.	31
Figure 6	Les différentes parties d'un spectrophotomètre IR	32
Figure 7	Le spectre RMN de proton.	33
Figure 8	Principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre IR	34
Figure 9	Schéma de l'ionisation – désorption laser assistée par une matrice (MALDI).	36
Figure 10	Schéma de l'ionisation par électro spray.	37
Figure 11	Schéma d'un spectromètre de masse à temps de vol équipé d'un réflectron.	38
Figure 12	Les différentes techniques chromatographiques	41
Figure 13	Chromatographe en phase gazeuse	44

Liste des figures

Figure 14	Schéma d'une installation HPLC. (ANONYME 9, 2015).	46
Figure 15	Colonne standard et pré colonne de HPLC. (ROUESSAC.A et ROUESSAC.F, 2009).	48
Figure 16	Schéma d'une expérience de chromatographie sur couche Mance	50
<u>Chapitre III : les méthode physique</u>		
Figure 1	Modèle de double couche électrique	53
Figure 2	Diagramme simplifié d'un pH-mètre	55
Figure 3	Les étapes de conversion de pH solution au pH lu	56

Tableaux des tableaux

<u>Chapitre I</u> : Les méthodes de détection d'une structure moléculaire solide		
Tableau	Titre	Page
Tableau I.1	Les Rayonnement Electromagnétique	09
Tableau I.2	Longueurs de diffusion cohérente et incohérente de l'hydrogène 1H et de son isotope, le deutérium 2H	23

Introduction générale



Introduction générale

La chimie est une science de la nature expérimentales qui étudie la composition des matières et ses transformations. La chimie s'intéresse ainsi aux éléments qui constituent la matière (atome, ions, structure, etc. ...) à leurs propriétés et aux liaisons chimiques qui peuvent se créer entre eux. Les principales divisions de la chimie sont la chimie analytique, la chimie inorganique, la chimie organique et la chimie physique.

Les analyses physico-chimiques permettent l'analyse des matériaux et de leurs caractéristiques afin de confirmer leurs compositions ou d'identifier des défauts.

Les investigations sur les matériaux ou bien les nouvelles molécules visant à produire des propriétés et des fonctionnalités souhaitables, mettre en évidence ou optimisent les caractéristiques optiques, électrochimiques, magnétique ou électroniques et en même temps réduire ou supprimer complètement les effets indésirables.

Le but de ce travail est l'étude détaillée des différentes méthodes physico chimique pour nous le maîtrisant et connaissant.

L'objectif de cette étude est la détection des molécules par des différentes méthodes Physico chimique, la caractérisation par diffraction des RX, par diffraction de neutrons à haute résolution des molécules solides et des méthodes spectrales ainsi que IR, UV, RMN, spectromètre de masse pour les molécules liquide pour les fonctions et la confirmation finales de la structure.

Notre travail comprend trois chapitres principaux :

Le premier chapitre rassemblant quelques concepts nécessaires concernant la diffraction des RX, la méthode de Hirsfeld, la diffraction par neutrons.

Quant au deuxième chapitre, il est constitué des méthodes d'analyses spectrales telles que les Infrarouge IR, Ultraviolet UV, RMN, la spectroscopie de masse.

Le troisième chapitre représente les méthodes complémentaires des analyses physiques Enfin, une conclusion qui conclurons ce travail.

Chapitre I :

Les méthodes de

détection d'une

structure moléculaire

solide

I.1. Les Rayons X :

I.1.1. Définition :

Les rayons X appartiennent à la famille des rayonnements électromagnétiques, au même titre que les ultraviolets ou les rayons γ . Ce sont des rayonnements ionisants. Ils ont été découverts en **1895** par le professeur allemand *Wilhelm Conrad Röntgen* ^[1], qui fit état de leur découverte dans un article intitulé «Sur une nouvelle sorte de rayonnement». Le nom de rayon X leur a été donné en référence à x , l'inconnue en mathématiques. En effet, ces rayons sont si étranges qu'ils traversent sans n'être aucunement déviés toute sorte de matériaux. De plus, aucun champ électrique ou magnétique ne peut les dévier. *Röntgen* suppose alors que ces rayonnements sont de même nature que la lumière ; il affirme cependant qu'ils sont beaucoup plus énergétiques, ce qui explique leurs propriétés différentes. Les effets des rayons X étant alors inconnus, faisant fi du principe de précaution, on utilise énormément la radiographie pour divers usages plus ou moins utiles. Les doses d'exposition n'étant pas du tout maîtrisées, ce n'est que quelques années après que les premiers cancers se déclarèrent.



Figure. I.1 : Une des premières radiographies aux Rayons X, la main d'Anna Bertha Röntgen (22 décembre 1895, pose de 20 minutes).

^[1] *Wilhelm Conrad Röntgen* (1845-1923) est un physicien allemand. Il a reçu le premier prix Nobel de physique en 1901 pour la découverte des rayons X, après avoir reçu la Médaille Rumford.

I.1.2. La Découverte Des Rayons X

En 1895, le physicien allemand Wilhelm Röntgen alors âgé de 50 ans étudie le rayonnement cathodique avec des tubes de Crookes. Il s'intéresse plus précisément à la pénétration des rayons dans le verre. Il a déjà été constaté à l'époque que les rayons cathodiques peuvent franchir la paroi du tube et pénétrer de quelques centimètres dans l'air.

Dans la soirée du 8 novembre, au cours de ses travaux préliminaires il décide de recouvrir le tube d'un cache en carton noir. Il constate alors qu'un écran recouvert d'une couche de platino-cyanure de baryum placé fortuitement en face du tube devient fluorescent lors de la décharge. Or il sait qu'à cette distance, la fluorescence ne peut pas être due aux rayons cathodiques. Il éloigne encore l'écran et constate que la fluorescence persiste malgré l'augmentation de la couche d'air à traverser. Puis il intercale des objets entre l'ampoule et l'écran : une feuille de papier, une feuille d'aluminium, du bois, du verre et même un livre de mille pages. À chaque fois la fluorescence persiste : il en conclut qu'il vient de découvrir un rayonnement distinct de celui émis par la cathode, très pénétrant puisqu'il est capable de traverser la matière. Ces rayons étant inconnus jusqu'alors, il les nomme « X » du nom de l'inconnue en mathématiques.

Il consacre les dernières semaines de 1895 à manipuler en solitaire et parvient à attribuer les caractéristiques suivantes aux rayons X :

- Ils sont faiblement absorbés par la matière. Mais cette absorption augmente avec la masse atomique des atomes absorbants : une fine couche de plomb suffit à stopper le rayonnement produit avec ses sources de rayons X.
- Ils sont diffusés par la matière. C'est l'origine du rayonnement de fluorescence.
- Ils impressionnent une plaque photographique.
- Ils déchargent les corps chargés électriquement.

Il montre également que les rayons ont pour origine la paroi du tube de verre à l'endroit où arrive le rayonnement cathodique (i.e. les électrons).

Dans sa première communication faite à la Société Physico-Médicale de Würzburg « Sur un nouveau type de rayon » [2] il remarque que « si l'on met la main entre l'appareil à décharges et l'écran, on voit l'ombre plus sombre des os de la main dans la silhouette un peu moins sombre de celle-ci. » Röntgen décrit la première image radiographique. Il réalise également le premier cliché radiographique le 22 décembre 1895 en intercalant la main de son épouse entre le tube de Crookes et une plaque photographique (**figure 2**). Les parties les plus denses et épaisses sont les plus sombres sur la plaque : on distingue une bague sur le majeur.

Röntgen se verra attribuer le premier Prix Nobel de physique en 1901 en récompense « des services extraordinaires rendus possibles par sa découverte des rayons remarquables qui portent son nom » [3].



Wilhelm Conrad Röntgen



Figure.I.2 : Premier cliché radiographique (Röntgen, 1895)

I.1.3. Premières Utilisations En Imagerie Médicale

Les rayons X suscitent immédiatement un vif intérêt au sein du public : les premières radiographies font le tour du monde par voie de presse et il ne faut pas longtemps pour que la radioscopie (observation sans prise de cliché) et la radiographie deviennent des attractions de foire (**figure 3**).

[2] W. C. Röntgen, « Ueber eine neue Art von Strahlen » Reproduction in *Annalen der Physik und Chemie*, 64, 1898, p. 1

[3] R. A. Brown, « X-Rays and After », *JCE*, 56, 1979, p. 191



Figure. I. 3 : La radiographie : une attraction foraine

I.1.4. Premières Résolutions Structurales Par La Diffraction Des RX

Les premières structures cristallines résolues par diffraction des rayons X sont celles de Na Cl ^[4], KCl ^[5], K Br et KI. À partir des clichés de diffraction, W. L. Bragg et M. Von Laue ont déterminé les arrangements atomiques dans les mailles de ces différentes structures qui leur ont valu le prix Nobel en 1915 et en 1914, respectivement.



Depuis, la diffraction des rayons X a continué à progresser comme méthode de détermination structurale pour les phases condensées et tout particulièrement les cristaux

I.1.5. Définition des rayons X :

Les rayons X sont une forme de rayonnement électromagnétique à haute fréquence constituée de photons dont la longueur d'onde est comprise approximativement entre 5 *pifomètres* et 10 *nanomètres*. L'énergie de ces photons va de quelques *eV* (électronvolt), à plusieurs dizaines de *MeV*. C'est un rayonnement ionisant utilisé dans de nombreuses

^[4]-Bragg, W. L. (1913). The structure of some crystals as indicated by their diffraction of X-rays. Proc. R. Soc. London Ser. A. 89, 248-277.

^[5]-Zachariasen, W. H. (1929). The crystal structure of potassium chlorate. Z. Kristallogr. 71, 501-516.

applications dont l'imagerie médicale («radiographie conventionnelle» ^[6]) et la cristallographie.

Tableau 1. Les Rayonnement Electromagnétique :

Classe de rayonnement	Ondes Radio	Micro-ondes	Infra rouge	Lumière visible (rouge-violet)	Ultra-violet	Rayon X	Rayons
Longueur d'onde $\lambda(\text{nm})$	> 109	109 -106	106-7.102	7.102-4.102	4.102 – 10	10 à 0.03	< 0.03
Fréquence ν (Hz)	< 3.108	3.108-3.1011	3.1011-4,3.1014	4,3.1014 - 7,5.1014	7,5. 1014 -3.1016	3.1016-1019	>1019

I.1.6. La nature des rayons X :

Les rayons *X* sont, comme la lumière, une forme de rayonnement électromagnétique. Ils se déplacent dans le vide à la vitesse de la lumière *c*. Un rayonnement (ou une onde) électromagnétique consiste en la propagation d'un champ électrique *E* et d'un champ magnétique *B* perpendiculaire. Ces champs oscillent en phase et sont eux-mêmes perpendiculaire à la direction de propagation. Une onde électromagnétique sinusoïdale est caractérisée par sa fréquence de vibration (ou par sa période $T=1/\nu$) et par son amplitude. La longueur d'onde est la distance que parcourt l'onde pendant une période, soit :

$$\lambda = c T = c/\nu$$

En général, un rayonnement électromagnétique est constitué par la superposition de rayonnement de fréquences différentes. On appelle spectre du rayonnement,

(*Tableau1*) la distribution de l'intensité du rayonnement en fonction de la fréquence, de la longueur d'onde ou de l'énergie.

Les principales caractéristiques de ce rayonnement sont :

- Sa fréquence ν exprimée en *Hertz (Hz)*
- Sa longueur d'onde λ exprimée (*m*) ou de manière plus commode en angström ($1\text{\AA} = 10^{-10} \text{ m}$)
 - Son énergie *E* exprimée en Joules (*J*) ou le plus souvent en électronvolt ($1\text{ev} = 1,6. 10^{-19} \text{ J}$)

^[6] Anatomie médicale, de Moore et Dalley, 2e édition, 2007, (ISBN 978-2-8041-5309-0)

- Son intensité I exprimée en Watts par stéradian (énergie traversant l'unité d'angle solide par unité de temps).

Certaines interactions du rayonnement électromagnétique avec la matière, comme l'effet photoélectrique, ne sont pas explicables dans la cadre du modèle ondulatoire, mais peuvent s'interpréter si l'on considère le rayonnement par la relation de Planck-Einstein :

$$E = \frac{hc}{\lambda} = h\nu$$
$$E = h\nu$$

Avec h est constante de Planck ($6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}$) et c vitesse la lumière ($3 \cdot 10^8 \text{ m. s}^{-1}$)

Les rayonnements électromagnétiques se présentent donc sous les deux aspects complémentaires, ondulatoires et corpusculaires. L'aspect corpusculaire devient marqué lorsque la longueur d'onde du rayonnement est plus petite que la dimension des objets avec lequel celui-ci interagit. On remarquera que l'énergie d'un photon X est de l'ordre de grandeur de l'énergie, de liaison ; des électrons des couches internes des atomes, c'est-à-dire de l'ordre du **KeV** (un eV correspond à $1,6 \cdot 10^{-19} \text{ J}$).

I.1.7. Production des rayons X :

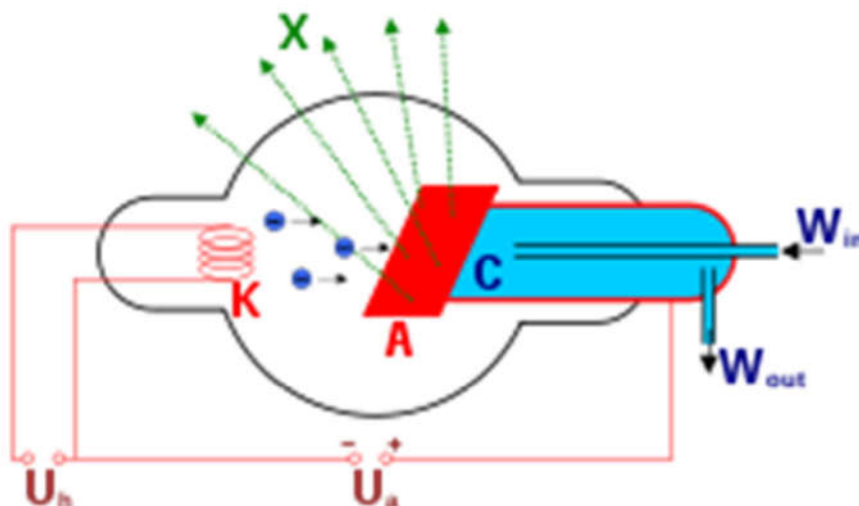


Figure. I. 4 : Production de rayons X par un tube à rayons X (ici a anode fixe).

Les rayons X sont un rayonnement électromagnétique comme les ondes radio, la lumière visible, ou l'infrarouge. Cependant, ils peuvent être produits de deux manières très spécifiques :

- 1- Par des changements d'orbite d'électrons provenant des couches électroniques ; les rayons X sont produits par des transitions électroniques faisant intervenir les couches internes, proches du noyau ; l'excitation donnant la transition peut être provoquée par des rayons X ou bien par un bombardement d'électrons.
- 2- Par accélération d'électrons (accélération au sens large : freinage, changement de trajectoire) ; on utilise deux systèmes :

2-a. Le freinage des électrons sur une cible dans un tube de rayons X : les électrons sont extraits par chauffage d'un filament métallique, la cathode, et accélérés par une tension électrique dans un tube sous vide. Ce faisceau est focalisé de manière à bombarder une cible métallique en tungstène ou en molybdène, appelée anode ou anticathode.

2-b Le ralentissement des électrons par les atomes de la cible provoque un rayonnement continu de freinage, dit Bremsstrahlung (nom commun féminin) ^[7].

La courbure de la trajectoire dans des accélérateurs de particules : c'est le rayonnement dit « synchrotron », qui est un cas particulier de Bremsstrahlung. Lors de la production de rayons X avec un tube à rayons X , le spectre est composé d'un rayonnement continu (*Bremsstrahlung*) auquel se superposent des raies spécifiques à l'anode utilisée et qui sont dues au phénomène de fluorescence. Anecdotiquement.

I.1.8. Propriétés des rayons X :

Historiquement, les rayons X étaient connus pour faire briller certains cristaux (fluorescence), ioniser les gaz et impressionner les plaques photographiques. Les principales propriétés des rayons X sont les suivantes :

- Ils pénètrent facilement dans la « matière molle », c'est-à-dire la matière solide peu dense et constituée des éléments légers comme le carbone, l'oxygène et l'azote.
- Ils sont facilement absorbés par la « matière dure » (matière solide dense constituée d'éléments lourds); C'est ce qui permet l'imagerie médicale (radiographie, scanner...ets): ils traversent la chair et sont arrêtés par les os; Ils sont facilement absorbés par la couche d'air très épaisse que constitue l'atmosphère; De fait, les télescopes à rayons X (qui détectent les rayons X émis par les étoiles) doivent être placés dans des satellites; L'ordre de grandeur de leur

^[7] Terme allemand adopté internationalement

longueur d'onde étant celui des distances interatomiques dans les cristaux (métaux, roches...), ils peuvent diffracter sur ces cristaux;

Ceci permet de faire de l'analyse chimique, et plus précisément de l'analyse de phase par diffraction de rayons X (ou radiocristallographie) ; Du fait de l'énergie importante des photons, ils provoquent des ionisations des atomes, ce sont des rayonnements dits « ionisants » ; Ceci donne naissance au phénomène de fluorescence X , qui permet une analyse chimique, mais cela modifie aussi les cellules vivantes.

I.1.8.1. Effets sur la santé :

Les rayons X sont des radiations ionisantes. Une exposition prolongée aux rayons X peut provoquer des brûlures (radiomes) mais aussi des cancers et des anomalies chez le nourrisson et l'enfant de moins de 1 an.

I.1.9. Les rayons X en cristallographie :

L'analyse des cristaux par diffraction de rayons X est aussi appelée radiocristallographie. Il permet soit de caractériser des cristaux et de connaître leur structure (on travaille alors en général avec des monocristaux), soit de reconnaître des cristaux déjà caractérisés (on travaille en général avec des poudres poly cristallines).

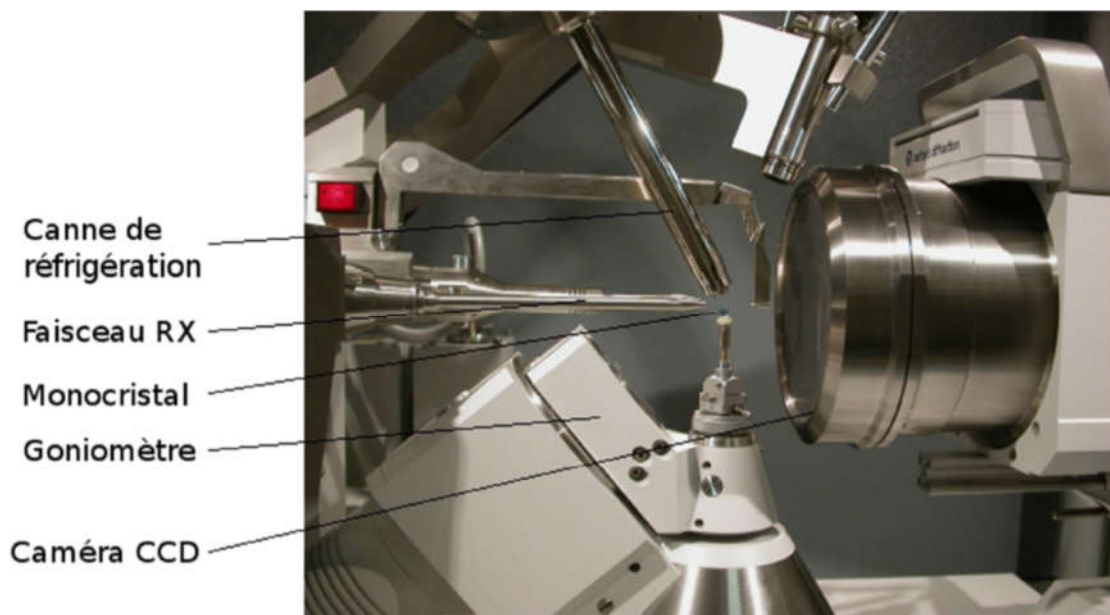


Figure. I.5 : Monocristal monte sur de la pâte à modeler sur le diffractomètre.

Pour travailler avec un monocristal, on utilise un diffractomètre: Les rayons X sortent par le tube vertical en haut; Le cristal au centre de la photo est trop petit pour être vu; il est fixe à l'extrémité d'une fine aiguille de verre manipulée par la tête goniométrique sur la droite selon trois axes successifs (un vertical, un à 45° et un horizontal) de tourner le cristal dans toutes les

orientations tout en le maintenant dans le faisceau de rayons X ; Une caméra vidéo (en noir en haut à gauche) permet de contrôler que le cristal est bien centré; Un puits en bas au milieu est tenu par une lame: le puits sert à arrêter les rayons X directs qui n'ont pas interagi avec le cristal; Un système de refroidissement (à gauche, tube avec des lettres en rouge) permet de refroidir le cristal; N'est pas visible sur la photo le détecteur de rayons X qui est depuis quelques années une caméra **CCD** permettant de remplacer à la fois les plaques photos et les compteurs; N'est pas visible aussi la source de rayons X et son monochromateur focaliseur qui est composé d'un multicouche miroir à rayons X ; N'est pas visible l'informatique d'acquisition des données expérimentales. Dans ce cadre, un monocristal de la molécule est mis dans un faisceau de rayons X monochromatiques et la diffraction observée pour différentes positions du cristal dans le faisceau de rayons X (manipulé par un goniomètre) permet de déterminer non seulement la structure du cristal, mais aussi et surtout la structure de la molécule. C'est notamment par radiocristallographie que Rosalind Franklin, puis James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins et leurs collaborateurs ont pu déterminer la structure hélicoïdale de l'**ADN** en **1953** ^[8].

I.1.9.1. La diffraction des rayons X :

La suite de la découverte des rayons X par *Röntgen* en **1895**, les premières applications ont été tournées vers l'étude des cristaux car on espérait mettre en évidence les atomes constitutifs des molécules et confirmer ainsi la justesse du nombre d'Avogadro.

En **1912** le physicien Laue détermine grâce à un réseau cristallin la longueur d'onde de rayons X . Il devient donc possible de faire l'inverse, c'est-à-dire de déterminer les distances entre les atomes grâce à ces mêmes rayons.

I.1.9.1.a. Définition :

La diffraction des rayons X est une méthode universellement utilisée pour identifier la nature et la structure des produits cristallisés. En effet, cette méthode ne s'applique qu'à des milieux cristallins (roches, cristaux, minéraux, pigments, argiles...) présentant les caractéristiques de l'état cristallin, c'est-à-dire un arrangement périodique, ordonné et dans des plans réticulaires tridimensionnels des atomes constitutifs. Les atomes s'organisent donc en plans réticulaires plus ou moins denses qui sont désignés par leurs coordonnées (***hkl***) dans un système tridimensionnel.

^[8] Prix Nobel de Médecine et Physiologie 1962 : Fondation Nobel [archive].

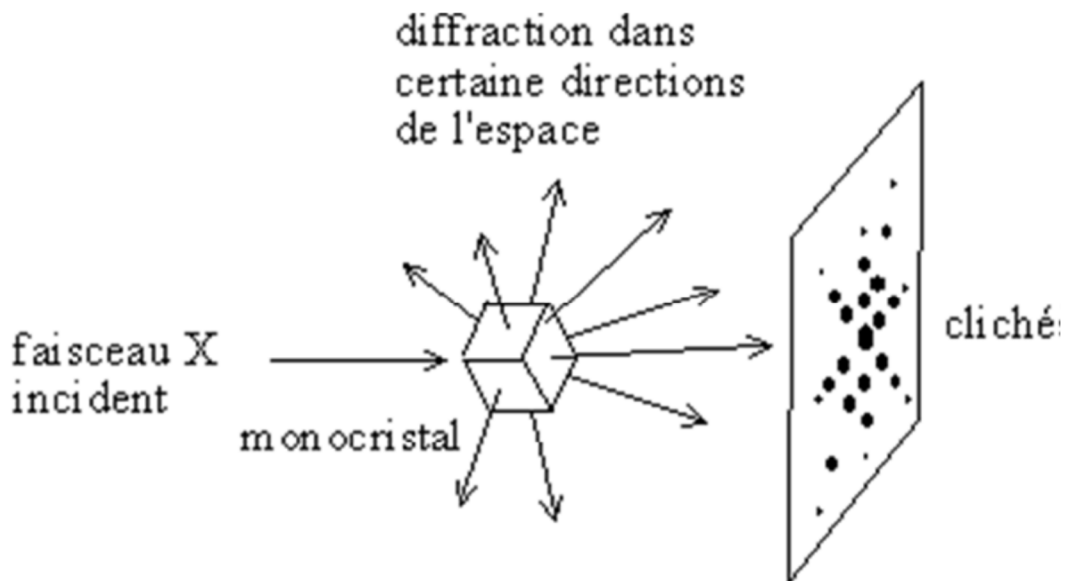


Figure. I. 6 : Diffraction dans certaines directions de l'espace.

I.1.9.1.b. Les techniques de diffraction des rayons X :

I.1.9.1.b.1. Nature de l'échantillon :

Nous venons de mettre en place les outils théoriques de description d'un cristal et de ses interactions avec les rayons X. Nous allons maintenant montrer en détail la mise en œuvre expérimentale par deux méthodes différentes, selon la nature de l'échantillon à analyser : soit un *monocristal* (dimension de l'ordre de 0,1 mm), soit une poudre cristalline (ensemble de cristaux microscopiques). L'exposition d'un monocristal à un faisceau de rayons X produit une image constituée de taches de diffraction bien définies (*fig. 7-a*). Les nombreuses orientations des petits cristaux d'une poudre produisent un très grand nombre de taches groupées en cercles concentriques autour du point $\theta = 0$, du fait de la symétrie de révolution autour de la direction du faisceau incident (*fig. 7-b*).

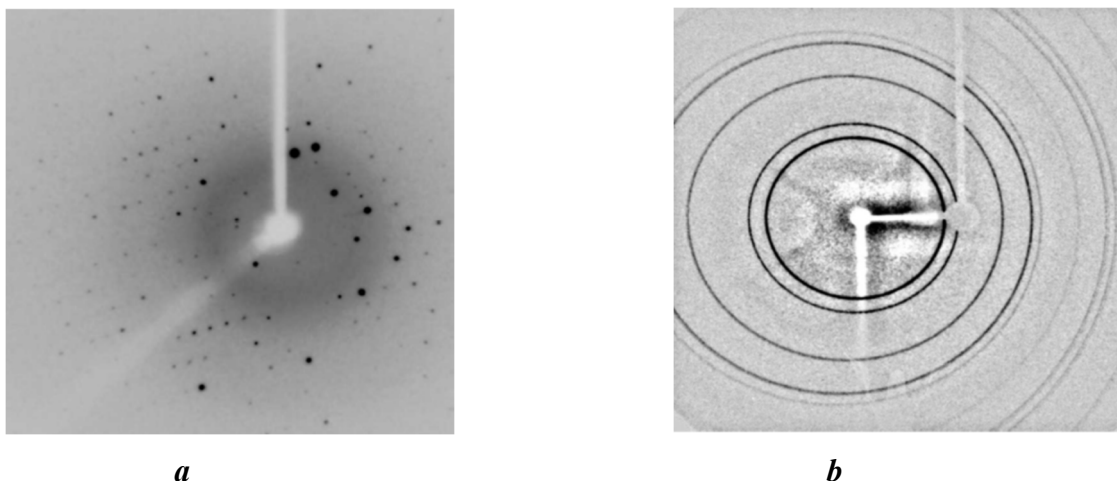


Figure. I. 7 : (a)- Image obtenue lors d'une exposition d'un monocristal a un faisceau de rayons X.

(b)- Image obtenue lors d'une exposition d'une poudre cristalline a un faisceau de rayons X.

I.1.9.1.b.2. Détermination structurale dans le cas d'un monocristal :

I.1.9.1.b.2.1. Les monocristaux :

Un monocristal est composé d'un seul arrangement périodique du même motif. Les cristaux étant des systèmes anisotropes compte tenu de leurs paramètres de maille différents, ils ont une direction privilégiée pour la propagation de la lumière ; c'est ce qui provoque le phénomène de biréfringence. Par exemple les *figures 8-a* et *8-b* montrent que la lumière polarisée est modifiée à la traversée d'un cristal biréfringent.



Figure. I. 8 : (a)- Transmission de la lumière naturelle par un monocristal.
(b)- Transmission de la lumière polarisée par le même monocristal placé entre deux polariseurs croisés.

Nous nous servons du phénomène de biréfringence pour faire une première sélection parmi les cristaux synthétisés et déterminer visuellement les monocristaux les plus adaptés à la mesure.

I.1.9.1.b.2.2. La technique :

Le cristal sélectionné est monté sur le diffractomètre, soit à l'aide d'un lasso (*fig. 9*), soit à l'aide de pâte à modeler pour les plus gros monocristaux (de l'ordre du cm). L'ensemble est fixé sur une tête goniométrique, ce qui va permettre de faire tourner le cristal dans les 3 dimensions et ainsi faire varier l'angle θ . Si le cristal est sensible à l'air, on l'insère dans un tube capillaire rempli de sa solution mère. Cela évite tout contact avec l'oxygène et l'humidité de l'air. On peut également envoyer un flux d'azote liquide grâce à une canne de réfrigération pour travailler à la fois à basse température et sous atmosphère inerte.

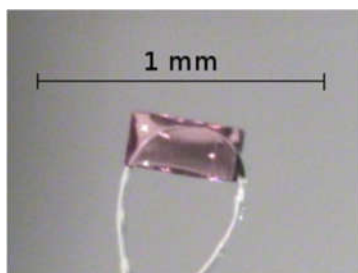


Figure. I. 9 : Monocristal monté sur un lasso.

I.1.9.2. La loi de Bragg :

Un cristal peut être vu comme la répétition périodique tridimensionnelle d'éléments (atomes ou molécules), appelés nœuds, repérés par des disques noirs sur la **figure (10)**. Le schéma représente une coupe de *plans réticulaires* passant par les centres de ces éléments, espaces d'une distance d . L'angle θ (*angle de Bragg*) détermine l'incidence d'un faisceau parallèle de rayons X sur ces plans réticulaires. Notez que θ est le complémentaire de l'angle d'incidence usuel en optique.

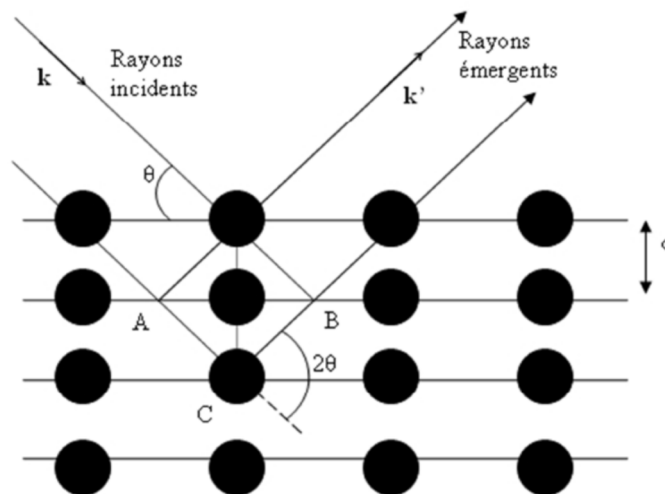


Figure. I. 10 : Réflexion des rayons X par une famille de plans réticulaires espacés d'une distance d .

La différence de chemin optique entre les deux rayons lumineux particuliers représentés vaut $AC + CB = 2 d \sin(\theta)$. Ils interfèrent de manière constructive lorsque la différence de marche est égale à un nombre entier n de longueur d'onde. C'est la loi de Bragg :

$$2d.\sin(\theta) = n \lambda$$

I.1.10. Autres utilisations des rayons X :

Les rayons X sont surtout connus du grand public pour l'imagerie médicale : radiographies, radiothérapies et tomographie (*scanner*). Cependant, outre le fait qu'ils traversent facilement la matière, les rayons X ont d'autres propriétés intéressantes, ils interagissent de manière particulière avec la matière. Ceci permet de faire de l'analyse chimique.

Mais l'utilisation des rayons X ne se limite pas au seul domaine de la médecine : les services de sécurité les utilisent pour examiner le contenu des valises ou des conteneurs aériens et maritimes sur écran. En minéralogie, on peut identifier divers cristaux à l'aide de la diffraction des rayons X

I.2. La Méthode de Hirshfeld :

I.2.1. La surface Hirshfeld :

Au cours des dernières années, une nouvelle façon d'explorer les modes d'emballage et les interactions intermoléculaires dans les cristaux est décrite en utilisant des surfaces d'Hirshfeld pour partitionner l'espace cristallin. [9] Cette méthode basée sur le schéma de partition d'Hirshfeld divise la distribution des électrons d'un cristal en fragments moléculaires, ainsi que les vides intermoléculaires de faible densité électronique. Les surfaces en trois dimensions d'Hirshfeld et les cartes d'empreintes digitales 2D sont spécifiques pour les molécules construisant l'unité asymétrique du composé étudié. Les surfaces d'Hirshfeld donnent une image en trois dimensions des interactions intermoléculaires dans un cristal en utilisant l'outil Crystal Explorer. [10,11]

En définissant $\rho_A(r)$ comme étant la densité électronique moyenne d'un noyau atomique A centré sur ce noyau, la surface d'Hirshfeld résulte d'une fonction de distribution $W(r)$ [12] définie par l'équation suivante :

$$W(r) = \frac{\rho_{\text{molécule}}(r) \sum \rho_A(r)[A_{\text{molécule}}]}{\rho_{\text{cristal}}(r) \sum \rho_A(r)[A_{\text{cristal}}]}$$

La surface d'Hirshfeld, entourant une molécule, divise le cristal en régions où la distribution électronique d'une somme d'atomes sphériques pour la molécule (la pro molécule) domine la somme correspondante sur le cristal (le pro Crystal). [13] c'est défini lorsque $w(r) \geq 0.5$. [14,15]

[9] J. J. McKinnon, A. S. Mitchell, M. A. Spackman, *J. Chem. Eur.*, 4, 1998, 2136 - 2141.

[10] T. V. Quoc, L. N. Ngoc, D. D. Ba, T. P. Chien, H. N. Huy, L. V. Meervelt, *Acta Cryst.*, E74. 2018, 812 - 815.

[11] A. Wahaibi, L. H. Joubert, J. Blacque, O. Blacque, N. H. Al-Shaalan, A. A. El-Emam, *Sci. Rep.*, 9, 2019, 41598 - 56331.

[12] M. A. Spackman, P. G. Byrom, *Chem. Phys. Lett.*, 267, 1997, 215 - 220.

[13] J. J. McKinnon, M. A. Spackman, A. S. Mitchell, *Acta Cryst.*, B59, 2004, 627 - 668

[14] A. L. Rohl, M. Moret, W. Kaminsky, K. Claborn, J. J. McKinnon, B. Kahr, *Cryst. Growth. Des.*, 8, 2008, 4517 - 4525.

[15] A. Parkin, G. Barr, W. D. Christophe, J. Gilmore, D. Jayatilaka, J. J. McKinnon, M. A. Spackman, C. C. Wilson, *CrystEngComm*, 9, 2007, 648 - 652.

Afin de tirer un maximum d'informations de façon pratique, il s'avère impératif de transposer les résultats qui en résultent sous forme graphique. Ces surfaces moléculaires d'Hirshfeld reflètent les interactions intermoléculaires d'une manière nouvelle et visuelle,

I.2.2. Modes de représentations de la surface Hirshfeld :

Plusieurs modes afin de présenter la surface d'Hirshfeld tels que d_i , d_{norm} , Shape index...

I.2.2.1. Propriétés des surfaces d_i et d_e :

Le terme d_e correspond à la distance séparant la surface d'Hirshfeld et le noyau atomique le plus près situé à l'extérieur de cette surface (Figure 11) Quant à lui, le terme d_i correspond à la distance séparant la surface d'Hirshfeld du noyau atomique le plus près situé à l'intérieur de la surface [16]. Lorsque le d_e est utilisé pour représenter la surface de la molécule analysée, l'image qui en résulte donne accès à une multitude d'informations quant à la nature de contacts intermoléculaires ayant lieu au sein du cristal [16,17].

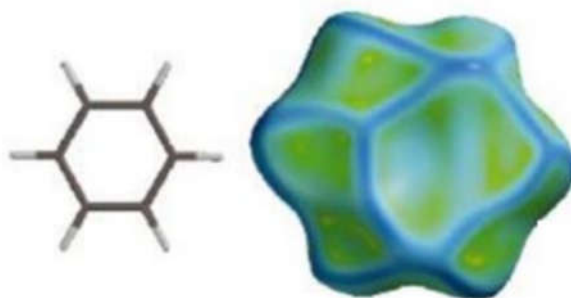


Figure.I.11 : Surfaces Hirshfeld tracées avec d_e pour le benzène.

I.2.2.2. Propriétés des surfaces d_{norm} :

Le mode d_{norm} est une représentation qui implique des distances de contact normalisées en tenant compte du rayon de van der Waals des atomes impliqués dans l'analyse. [18] Cette propriété est constituée par sommation de la contribution normalisée des d_e et d_i en rapport au

[16] Spackman, A. McKinnon, J. Fingerprinting Intermolecular Interactions In Molecular Crystals. Cryst Eng Comm, 4, 2002, 378–392.

[17] McKinnon, J. Mitchel, A. Spackm, M. Hirshfeld Surfaces A new tool for visualising And exploring molecular crystals. Chemistry A European Journal, 4, 1998, 2136-2141.

[18] S. I. Al-Resayes, M. Azam, M. Alam, R.S. Kumar, S. F. Adil, J. Saudi. Chem. Soc, 21, 2017, 481 - 486.

rayon de van der Waals des atomes impliqués dans l'expression. Le d_{norm} est donné par l'équation suivante :

$$d_{norm} = \frac{d_i - r_i^{vdw}}{r_i^{vdw}} + \frac{d_e - r_e^{vdw}}{r_e^{vdw}}$$

De façon plus concrète, ce type d'analyse permet d'illustrer de façon graphique le positionnement relatif des atomes voisins appartenant à des molécules interagissant ensemble. Encore une fois, un gradient de couleur est employé afin de quantifier les interactions ayant lieu entre les atomes au sein du cristal étudié. Tel qu'illustré à la (Figure II.12), ce gradient varie du bleu au rouge en passant par le blanc. En considérant des interactions intermoléculaires. [19]

1. Les domaines bleutés indiquent que la distance séparant des atomes voisins dépasse la somme de leurs rayons de van der Waals respectifs.
2. Les zones blanches marquent les endroits où la distance séparant les atomes voisins avoisine la somme du rayon de van der Waals des atomes considérés.
3. La couleur rouge est employée pour représenter les endroits où il y a interpénétration des rayons de van der Waals des atomes voisins.

De ces faits, il est approprié de suspecter la présence d'interactions non covalentes entre les atomes (ou groupe d'atomes) situés à l'interface des zones représentées en rouge qui mettent en évidence un rapprochement significatif entre ces atomes. La situation est plus délicate lorsque les domaines considérés sont dépeints en blanc, étant donné l'éloignement des atomes voisins qui est à la limite de la somme des rayons de van der Waals. Les zones bleutées illustrent les domaines où les atomes voisins sont trop éloignés pour interagir entre eux. [20]

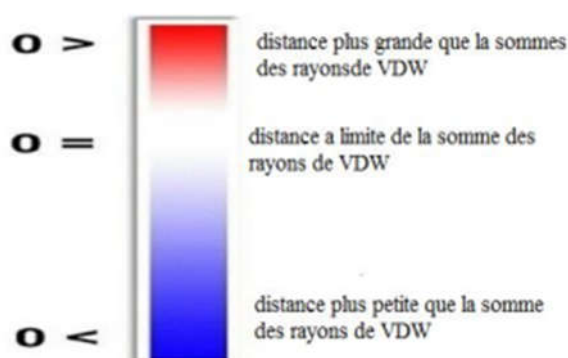


Figure. I .12 : gradient de couleur employé pour couvrir les surfaces d'Hirshfeld d'un cristal.[20]

[19] J. J. McKinnon, M. A. Spackman, J. ChemComm, 37, 2007, 3814 - 3838.

[20] M. B. Jomaa, H. Chebbi, N. F. Bourguiba, M. F. Zid, Acta Cryst, E7, 2018, 91 - 97.

I.2.2.3. Les empreintes 2D des surfaces Hirshfeld :

Une cartographie bidimensionnelle complémentaire est également présentée, qui résume quantitativement les types de contacts intermoléculaires entre les molécules dans le cristal désignée [21] : l'empreinte 2D des surfaces d'Hirshfeld constitue une autre façon d'analyser les informations complexes contenues dans la structure d'un cristal moléculaire. La distribution, sous forme graphique, de tous les couples (d_i , d_e) met en évidence les types d'interactions observés dans le cristal de même que la fréquence des recouvrements. Les diagrammes qui résultent de ce type d'analyse constituent une empreinte des interactions moléculaires dans le cristal.

À chaque point de la surface d'Hirshfeld est associée une valeur de d_i et d_e . Un graphique à deux dimensions est obtenu en rapportant tous les points correspondant à une paire unique (d_i , d_e). La couleur observée est associée à la densité de points occupant une région spécifique du graphique. Par défaut, les points sont de couleur bleue. Lorsque la densité de points augmente dans une région particulière du graphique, un gradient de couleur allant du bleu au rouge en passant par le vert illustre la densité de ceux-ci.

Les points laissés en gris pâle ne contribuent pas à l'analyse. Ce genre de représentation permet de caractériser des interactions intermoléculaires du fait que plusieurs d'entre elles génèrent un patron particulier dans les graphiques obtenus. En plus de répertorier tous les contacts présents dans le cristal, il est possible d'isoler des contacts particuliers ayant lieu entre certains atomes. [22] Cela permet de mettre en évidence des interactions non covalentes de type C – H \cdots π , halogène...halogène, C – halogène \cdots H et empilement π ayant lieu dans les arrangements étudiés. [23]

I.3. Diffraction de neutrons :

La diffraction neutronique est une technique de caractérisation utilisée pour la détermination de structure cristalline. Contrairement à la DRX où les rayons X interagissent avec le nuage électronique de l'atome, les neutrons interagissent avec le noyau atomique. La position des raies de diffraction détermine la structure cristalline et le paramètre de maille, les intensités relatives de ces raies permettent quant à elles de connaître la position

[21] H. Chebbi, A. Boumakhl, M. F. Zid, A. Guesmi, *Acta Cryst*, E73, 2017, 1453 - 1457.

[22] M. A. Spackman, J. J. McKinnon, *CrystEngComm*, 4, 2002. 378 - 392.

[23] M. A. Spackman, D. Jayatilaka, *CrystEngComm*, 11, 2009, 19 - 32.

des atomes dans la maille élémentaire. Des interactions à courte distance sont observées entre les neutrons incidents et l'échantillon - l'absence d'interaction à longue distance assure une forte pénétration du neutron dans le matériau (de l'ordre de quelques centimètres). L'interaction des neutrons incidents avec un atome (i.e. sa longueur de diffusion) dépend du nombre de nucléons (protons et neutrons) du noyau de cet atome et des niveaux d'énergies qu'ils occupent. Un élément composé de peu d'électrons pourra alors être visible en diffraction de neutrons (alors qu'il aurait été complètement invisible en DRX) en présence d'un élément de masse atomique élevée. En diffraction neutronique, la longueur de diffusion des éléments n'est pas fonction de la masse atomique mais varie d'un élément à l'autre, comme illustré Figure. I.13 [24].

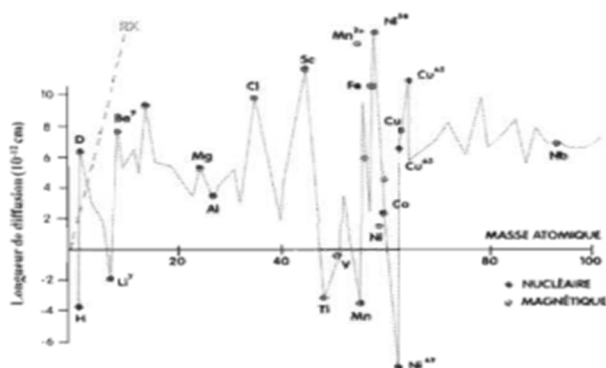


Figure. I .13 : Longueurs de diffusion cohérente neutronique des éléments en fonction de leur masse atomique [24]

La diffraction de rayon X ne permet pas d'étudier la présence de l'hydrogène dans un composé : en effet, la faible masse atomique de l'hydrogène l'empêche d'être visible en DRX. En revanche, la diffraction neutronique est une technique largement utilisée pour la localisation de l'hydrogène dans une structure atomique. Cependant, l'hydrogène ^1H ne peut être utilisé dans cette technique car il possède une longueur de diffusion neutronique incohérente très élevée, ce qui aura pour effet d'augmenter le bruit de fond du signal. Aussi, l'utilisation du deutérium ^2H lui est préférée. En effet, le deutérium possède une longueur de diffusion incohérente beaucoup plus faible que son isotope ^1H , et une longueur de diffusion cohérente plus importante que l'hydrogène (cf. Tableau 2. ci-dessous) [25]

[24] THÈSE PRÉSENTÉE À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES ALLIAGES CUBIQUES CENTRÉS Ti-V-X (X = Cr ou Mn) POUR LE STOCKAGE DE L'HYDROGÈNE D.p.L.L. Brillouin, http://www-llb.cea.fr/presllblPart_I.PDF, 2014
[25] N. Alan Munter, <http://www.ncnr.nist.gov/resources/n-lengths/list.html>, 2003

Tableau 2 : Longueurs de diffusion cohérente et incohérente de l'hydrogène $1H$ et de son isotope, le deutérium $2H$

	Longueur de diffusion cohérente (fm)	Longueur de diffusion incohérente (fm)
$1H$	-3.741	25.27
$2H$	6.671	4.040

Chapitre II :
**Les méthodes
spectrales**

II.1. Introduction :

À l'échelle microscopique, les méthodes spectroscopiques moléculaires sont les techniques les plus utilisées pour extraire des informations quantitatives ou qualitatives des substances chimiques. Cela peut être réalisé dans le domaine de la recherche scientifique (la physique, la chimie, la biologie...) ainsi que dans le secteur industriel (les industries chimiques, pharmaceutiques, agroalimentaire...). Ces méthodes sont basées essentiellement sur le phénomène d'interaction d'un rayonnement électromagnétique avec la matière. [26] La lumière interagissant peut être absorbée, émise ou diffusée par la substance analysée, cela dépend notamment du type de la méthode spectroscopique utilisée et de la nature du matériau étudié. Les rayonnements électromagnétiques connus sont classés dans un ordre croissant dans le spectre électromagnétique.

On a quatre techniques spectroscopiques moléculaires, auxquelles on a le plus souvent recours pour l'analyse structurale des nouveaux matériaux : la spectroscopie infrarouge (IR), la spectroscopie ultraviolette et visible (UV-Visible) et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) et spectroscopie de masse. Notre objectif est de voir quelles sont les informations structurales que l'on peut extraire des spectres obtenus avec chaque méthode spectroscopique mentionnées ci-dessus.

II.2. Les méthodes spectroscopiques :

II.2.1. Spectroscopie UV-Visible :

II.2.1.1. Généralités :

II.2.1.2. Domaine et longueur d'onde :

Les radiations UV/Visible constituent une petite partie du spectre électromagnétique dont l'énergie associée est définie par l'équation suivante. [27]

$$E = h \nu$$

h : constante de Planck $h=6,62 \times 10^{-34} \text{ m}^2 \text{ kg} / \text{s}$ ν : Fréquence (s⁻¹)

[26] Z. Demircioglu, Ç. A. Kastas, O. Büyükgüngör, Theoretical analysis (NBO, NPA, Mulliken Population Method) and molecular orbital studies (hardness, chemical potential, electrophilicity and Fukui function analysis) of (E)-2-((4-hydroxy-2-methylphenylimino) methyl)-3-methoxyphenol, Journal of Molecular Structure. 1091 (2015) 183–195.

[27] - Owen Tony. Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy. Primer

Le principe de la spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible repose sur l'absorption du rayonnement par les molécules dans le domaine allant de 190-800. [28]

La spectrophotométrie UV/Visible est une méthode d'analyse quantitative, fondée sur l'étude du changement d'absorption d'une lumière monochromatique par un milieu en fonction de la variation de la concentration d'un constituant. Cette méthode d'analyse est intéressante et s'applique à un très grand nombre de dosages. Elle permet de travailler sur de faibles quantités de substances et elle n'est pas destructrice vis-à-vis de l'échantillon.

On a quatre techniques spectroscopiques moléculaires, auxquelles on a le plus souvent recours pour l'analyse structurale des nouveaux matériaux : la spectroscopie infrarouge (IR), la

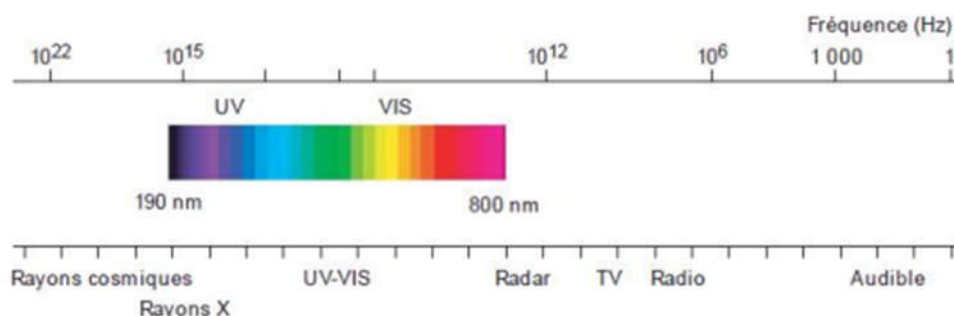


Figure. II. 1 : Domaine spectral du rayonnement électromagnétique. [29]

L'absorption de la lumière dans le domaine spectral a pour origine l'interaction des photons de la source lumineuse avec les électrons des liaisons des espèces présentes dans l'échantillon observé. [29]

Selon la théorie quantique chaque particule élémentaire possède un ensemble unique d'états énergétiques. L'état dont le niveau énergétique est le plus bas est l'état fondamental. [30]

II.2.1.3. Transitions électroniques :

Lorsqu'un photon passe au voisinage d'une particule, il peut être absorbé si (et seulement si) l'énergie du photon est exactement égale à la différence d'énergie entre l'état fondamental et un état d'énergie plus élevé de la particule. [30] Le nombre de photons absorbés entraînent une

[28] **Benedetto Dominique et Breuil Philippe.** Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible. Dossier Techniques de l'ingénieur, 2007, pp. 1-20.

[29] - **Roues sac Francis et Roues sac Annick.** Analyse Chimique Méthodes et techniques instrumentales modernes. Dunod, 2004.

[30] **Skog, West et Holler.** Chimie Analytique. De Boeck, 1997.

diminution de l'intensité du rayonnement UV-Visible transmis par le milieu. [28] Lorsque les molécules sont excitées par un rayonnement UV-Visible elles subissent trois types de transitions quantifiées : [30]

- Transition électronique ;
- Transition vibrationnelle ;
- Transition rotationnelle.

L'énergie potentielle totale de la molécule est généralement représentée comme la somme de ses énergies : électronique, vibrationnelle, rotationnelle. [27]

$$E_{\text{total}} = E_{\text{électronique}} + E_{\text{vibrationnelle}} + E_{\text{rotationnelle}}$$

$$E_{\text{électronique}} > E_{\text{vibrationnelle}} > E_{\text{rotationnelle}}$$

L'origine d'une transition électronique est le passage d'un électron sur une orbitale de niveau énergétique plus élevé que l'initial. [31] Les transitions électroniques impliquées, sont représentées dans la figure suivante.

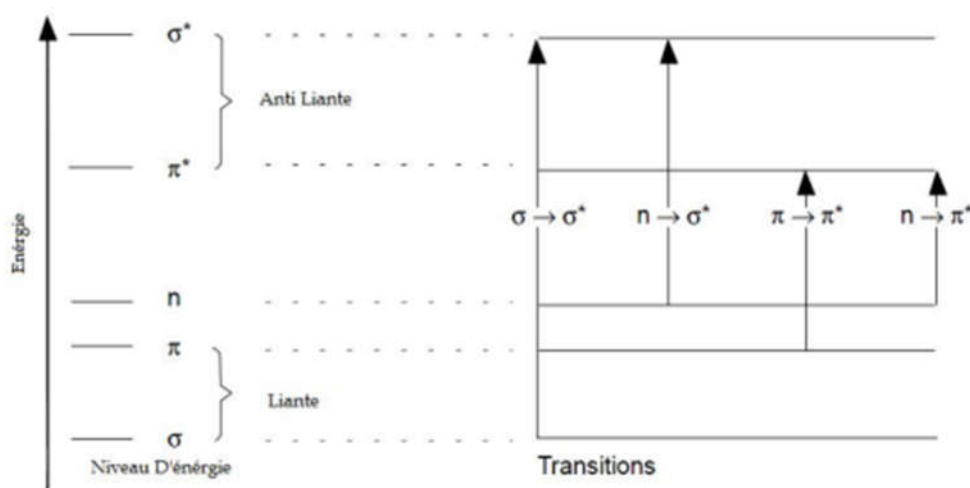


Figure. II.2 : Transitions électroniques dans l'ultraviolet et le visible.[31]

Les liaisons non liantes « n » tendent à être d'énergie plus faible que les liaisons « S » qui sont à leurs tours plus faible que les liaisons « V ». Quand une radiation électromagnétique de bonne fréquence est absorbée, une transition se produit d'une des 3 orbitales à une orbitale vacante, généralement une orbitale anti liante. Comme la plupart des transitions d'une orbitale liante ont

[31] - Burgot Gwenola et Burgot Jean Louis. Méthodes instrumentales d'analyses chimique et application. Lavoisier.

une fréquence trop élevée pour être facilement mesuré, [32] les absorptions suivantes sont majoritairement observées



II.2.1.4. Source de rayonnement :

Les lampes produisent un rayonnement lumineux de spectre continu qui est filtré par un monochromateur. Les photons sont obtenus par décharges électriques dans un gaz. [31] Les sources de rayonnement sont constituées généralement de deux lampes pour couvrir tous le domaine UV-Vis. [28]

- Une lampe à arc au deutérium sous moyenne pression pour la partie UV < 350nm ;
- Une lampe à incandescence avec un filament de tungstène et une enveloppe de verre de silice (quartz) pour la partie visible du spectre et au-delà. [29]

Dans certain cas une seule lampe peut être utilisée comme la lampe à xénon à haute pression dont le spectre couvre tous le domaine UV-Vis. [28]

II.2.1.5. Appareillage :

Les spectrophotomètres sont des appareils permettant une sélection continue des longueurs d'ondes par un monochromateur (Figure II.3) [33]

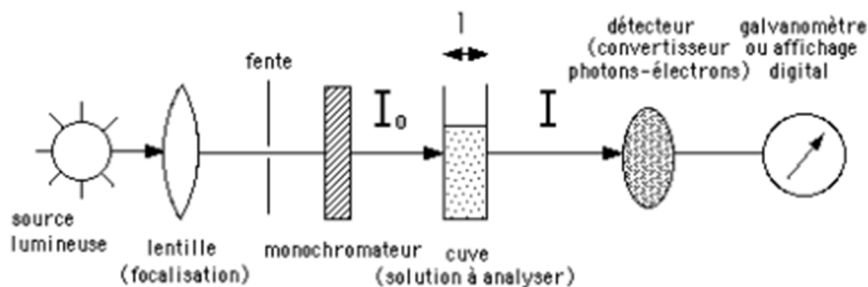


Figure. II.3 : Schéma descriptif d'un spectrophotomètre UV-Visible [33]

. Un spectrophotomètre comprend quatre parties essentielles

II.2.1.5.1. Les sources :

Les plus employées sont celle au deutérium qui émet fortement dans l'UV mais peu dans le VIS et une lampe au tungstène qui émet fortement dans le VIS mais peu dans la région basse de

[32] - Görög S., Rbnyei M. et Herbnyi B. The changing role of ultraviolet spectroscopy in Drug analysais. Journal of Pharmaceutical & Biomédical Analysais, 1989, pp.1527-1533.

[33] - Burgot G. Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications ; éd. TEC & DOC Lavoisier, 2eme édition ; 2006.

l'UV. Elles émettent un spectre continu et quelques raies atomiques qui permettent de faire un calibrage en longueur d'onde par exemple.

II.2.1.5.2. Le monochromateur :

Composé d'une fente d'entrée, d'un dispositif de dispersion (un prisme) et d'une fente de sortie. La lumière polychromatique de la source est focalisée sur la fente d'entrée du monochromateur qui transmet sélectivement une bande étroite de lumière.

II.2.1.5.3. La cuve :

Elle contient soit l'échantillon soit la référence. La largeur de la cuve est définie par le trajet optique. Elle doit être en quartz, transparente aux radiations.

II.2.1.5.4. Les détecteurs :

Les détecteurs couramment employés sont des photodiodes qui mesurent l'intensité I de la lumière non absorbée par l'élément à doser. Cette lumière passe donc à travers la cuve sans que les photons agissent sur les électrons de l'élément. Dans de tels spectromètres, tous les éléments sont situés sur la même ligne

II.2.1.6. Application analytique :

La spectroscopie UV-Vis a toujours eu un double rôle dans l'analyse des composés organiques et inorganiques : (Analyse qualitative et Analyse quantitative).

II.2.1.6.1. Analyse qualitative :

La méthode détecte les groupements fonctionnels chromophores mais ne présente cependant pas de structure suffisamment fine pour permettre l'identification certaine d'un analyte. [30]

Elle doit toujours être complétée par d'autres informations physiques d'origine spectral (IR, RMN, masse) ou chimiques comme les points de fusion, d'ébullition, réaction colorée. [31].

II.2.1.6.2. Analyse quantitative :

La spectroscopie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible est l'un des outils les plus utilisés en analyse quantitative. [30] L'absorption du rayonnement UV/visible par les molécules permet de mesurer leurs nombres dans le trajet du rayonnement. [28]

Cette mesure se fait en utilisant des mélanges étalons de concentrations connues des molécules à doser. La quantité de rayonnement absorbée par ces étalons est déterminée par le spectrophotomètre. A une longueur d'onde où la molécule absorbe, les mesures reposent sur la loi de BEER et LAMBERT qui relie dans certaines conditions l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution. [29]

II.2.1.7. Lois de BEER et LAMBERT :

A une longueur d'onde spécifique pour une substance donnée, il y a un rapport entre l'absorbance « A », le nombre des molécules (la concentration) C, la longueur du chemin traversé l aussi (l'épaisseur de l'échantillon) exprimée en cm, et une constante indiquant l'intensité de l'absorption, appelé coefficient d'extinction spécifique si la concentration est exprimée en g/l. ou coefficient d'extinction molaire si la concentration est en mol/l.

Cependant cette loi est définie par l'équation suivante :

$$\text{Log}(I_0 / I) = \epsilon \cdot l \cdot c$$

Cette loi exprime le fait que la diminution de l'intensité lumineuse est proportionnelle au nombre de particules qui s'absorbent. [34]



Figure. II.4: appareil UV-VIS

[34] Mémoire de fin d'étude THÈME : Synthèse, caractérisation et étude catalytique d'un nouveau ligand de bases de Schiff -A.S. Bernard, S. Clède, M. Emond, H. Monin-Soyer, J. Quérard. Techniques expérimentales en chimie. Deuxième édition. Paris. Dunod. 2012.

II.2.2. Spectroscopie infrarouge :

La spectroscopie d'absorption infrarouge est une technique d'analyse structurale fonctionnelle basée sur l'analyse vibrationnelle des liaisons elle permet de déterminer la nature des liaisons chimiques présentes dans une molécule. En effet, l'expérience montre que certaines fréquences de vibrations, dites « fréquence de groupe », sont caractéristiques de la présence d'un groupement chimique dans la molécule étudiée. La théorie mécanique des vibrations permet de prévoir l'existence des fréquences de groupe à partir des ordres de grandeur des différents types de constante de force. Ainsi, la spectroscopie infrarouge est un très puissant moyen de caractérisation pour identifier des groupements moléculaires et obtenir de nombreuses informations microscopiques sur leur conformation et leurs éventuelles interactions.

II.2.2.1. Principe :

L'échantillon est soumis à un rayonnement électromagnétique dans la gamme de longueur d'onde du centre infrarouge ($2.5 \mu\text{m} < \lambda < 50 \mu\text{m}$). Le spectrophotomètre émet une radiation qui traverse l'échantillon en balayant automatiquement une gamme de fréquences données.

La fréquence à laquelle est absorbé le rayonnement dépend de la nature des liaisons, de la masse des atomes concernés et de l'environnement proche du groupement considéré puis il trace un graphique du pourcentage de radiation transmise en fonction des nombres d'onde dans lesquels les radiations absorbées par les molécules apparaissent sous la forme de bandes (courbes orientées vers le bas) dans le spectre

II.2.2.2. Appareillage :

L'appareillage utilisé est un spectroscope infrarouge constitué de quatre éléments fondamentaux : la source infrarouge, un interféromètre, un détecteur et l'électronique de calcul. [35]

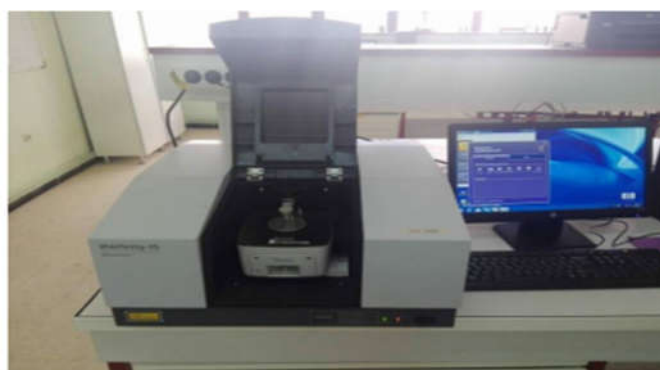


Figure. II .5 : Dispositif de l'IR.

[35] - M. Borella, Contrôle de la fonctionnalisation de surface de revêtements obtenus par PECVD à partir d'un composé organosilicié cyclique. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de lorraine - nancy, 2006.

II.2.2.3. Application de l'infrarouge :

II.2.2.3.1. Analyse qualitative :

Elle permet une identification des matières premières beaucoup plus sûre que les réactions colorées ou que la préparation de produits caractéristiques dont on mesure le point de fusion.

II.2.2.3.2. Analyse quantitative :

L'infrarouge est une méthode beaucoup plus laborieuse et parfois c'est la seule utilisable.

II.2.2.4. Principales parties d'un spectrophotomètre IR :

Il est composé des éléments suivants

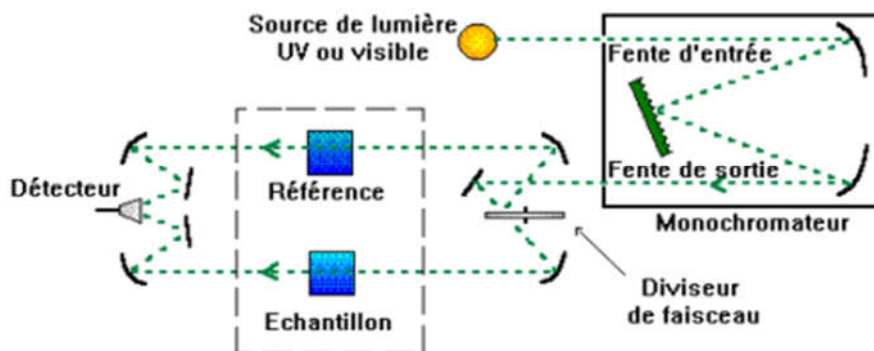


Figure. II. 6 : Les différentes parties d'un spectrophotomètre IR.[36]

Tous les spectrophotomètres IR sont contrôlés par quatre paramètres :

SLIT-WITCH : Contrôle de la résolution de l'instrument et l'admission de la radiation en monochromateur ainsi que le détecteur.

PERIODE : C'est le temps de réponse en seconde au moins à 98% de groupe de signaux.

GAINS : C'est un thermocouple, pour l'amplification des signaux.

SCANNING SPEED : C'est la vitesse nécessaire pour l'enregistrement du spectre. [36]

II.2.3. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

Développement de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire à partir de 1955 a fortement contribué aux progrès rapides de la synthèse organique, c'est en effet un moyen d'identification sûre et rapide de la structure d'une molécule. Elle concerne à la fois l'état liquide et l'état solide, elle est basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux

[36] Mémoire MASTER Mise au point et validation d'une méthode de dosage de la Méthylprednisolone par spectrophotométrie UV/Visible

atomiques. C'est la première méthode utilisée par les chimistes organiciens pour déterminer la structure des molécules [37]

La Résonance Magnétique Nucléaire ou RMN est une méthode spectroscopique d'étude de la matière qui a été développée dans les nombreux domaines. Elle concerne à la fois l'état liquide et l'état solide. La RMN est la plus performante des techniques spectroscopiques courantes pour déterminer la structure des molécules. C'est une technique qui peut être utilisée pour les éléments possédant un nombre de protons et de nucléons simultanés impairs. Les atomes de ^1H , ^{13}C sont les plus étudiés [38].

II.2.3.1. Résonance magnétique nucléaire du proton (RMN- ^1H) :

Le spectre RMN du proton est une méthode puissante utilisée dans la détermination structurale des composés organiques inconnus. Il fournit de nombreuses informations telles que, les différents types d'hydrogènes présents dans la molécule analysée, les différents types d'hydrogènes présents dans l'environnement électronique, le nombre d'hydrogènes "voisins" d'un hydrogène donné et le déplacement chimique caractéristique de chaque proton [39].

L'absorption de l'énergie par le proton se traduit par un signal de résonance (le déplacement chimique), exprimé en ppm (partie par million), est caractéristique de l'environnement du proton en question. Chaque zone de déplacement chimique correspond à un type de proton bien précis, les intensités relatives des signaux sont proportionnelles au nombre des noyaux, ce qui facilite encore leur identification [37].

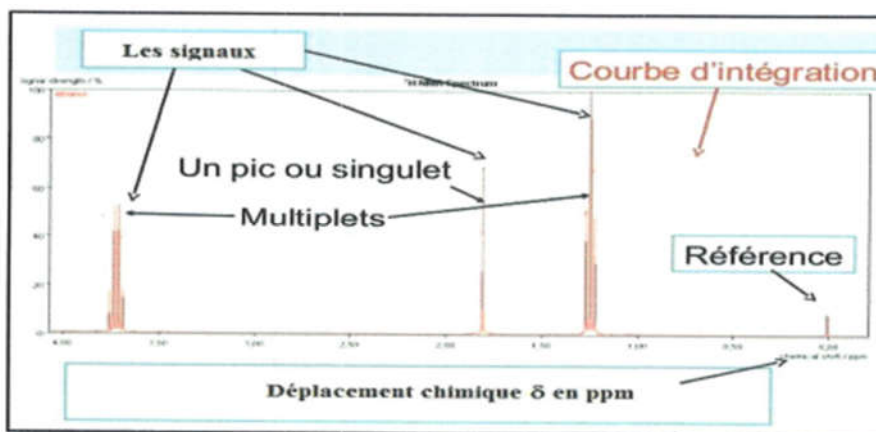


Figure. II .7 : Le spectre RMN de proton.[37]

[37] J'Mc Murry ; chimie organique, les grands principes, paris, (2000).

[38] C. Cohen-Tannoudji. B. Diu. F. Lalod. Mécanique quantique. Tomes I et II, collection enseignement des arts, Hermann, paris.1998.

[39]] Structure électronique des molécules cours et exercices corrigés.3 -ème édition YveJean FrancoisVolatron., Dunod, paris, 2003,

II.2.3.2. Résonance magnétique nucléaire du carbone (RMN-13C) :

Tandis que la spectroscopie RMN 1H fournit des données sur la disposition des atomes d'hydrogène dans une molécule, la spectroscopie RMN 13C nous renseigne sur le squelette carboné. La technique de RMN 13C isotopique est un outil puissant, qui permet théoriquement l'accès aux rapports isotopiques sur chaque site carboné de n'importe quelle molécule. L'application de cette méthode dans divers domaines d'études comme l'environnement, l'étude de métabolisme ou l'authentification de composés naturels est encourageant. [40] L'analyse du spectre est basée sur les déplacements chimiques observés en fonction de l'environnement de chaque atome de carbone. Cette expérience permet la mise en évidence des groupes méthyles, méthylènes, méthines et des carbones quaternaires. [41]

II.2.3.3. Principe de la RMN :

Le but de la spectroscopie RMN est de déterminer les fréquences qui permettent de retrouver le moment magnétique de chaque noyau d'hydrogène de la molécule dans le champ B_0 , pour ensuite déterminer le type d'atome d'hydrogène présent dans la molécule.

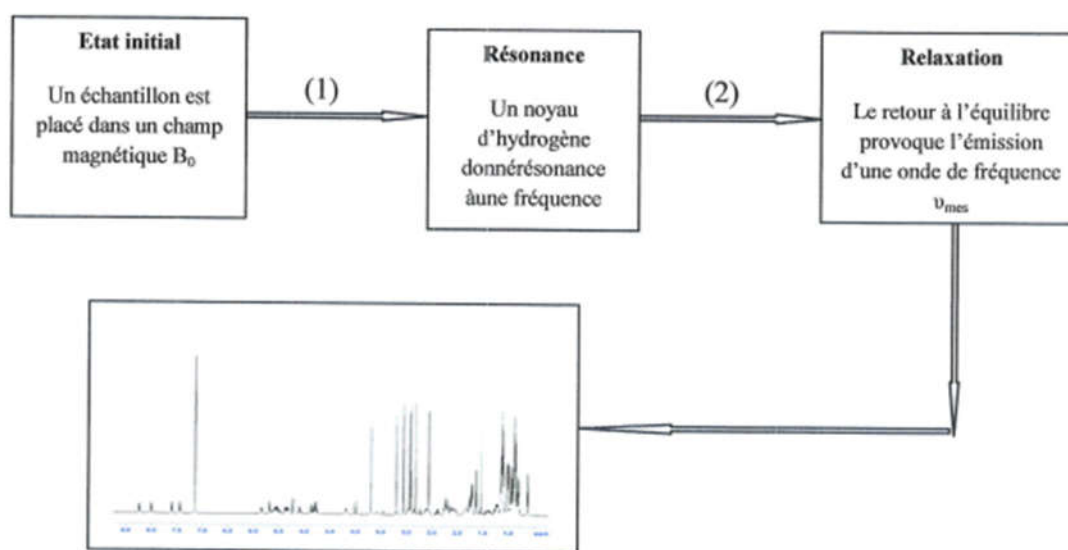


Figure. II. 8 : Principe de fonctionnement d'un spectromètre RMN.

[40]- Mémoire de fin d'étude THÈME : Synthèse, caractérisation et étude catalytique d'un nouveau ligand de bases de Schiff K. Bayle. Développements méthodologiques RMN 13C isotopique pour l'étude de voies métaboliques. Thèse de doctorat. France : Université de Nantes, 2014.

[41]- S. Louis. Transformations chimiques et évaluation des propriétés biologiques de quelques composés isolés. Thèse de doctorat en chimie organique. 2009. 192 pages

(1) : excitation par une onde radio (fréquence de plusieurs centaines de mégahertz).

(2) : enregistrement et traitement mathématique.

II.2.4. Spectroscopie de masse :

Est une technique physique permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse sur charge (m/z) et de caractériser leur structure chimique par fragmentation. Son principe réside dans la séparation sous vide de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z), avec pour certains détecteurs la mesure de leur temps d'atteinte du détecteur (TOF).

Par définition, un spectromètre de masse se compose d'une source d'ionisation, d'un analyseur de masse qui sépare les analytes ionisés selon leur ratio m/z et d'un détecteur qui enregistre le nombre d'ions relié directement à leur abondance pour chaque valeur de m/z .

Le système d'introduction de l'échantillon dans l'analyseur.

-Les échantillons peuvent être introduits de deux manières :

- directement dans la source d'ionisation : sous forme gazeuse, liquide (infusion), ou solide (canne d'introduction directe, dépôt sur plaque ...)

- par l'association à une méthode séparative : électrophorèse capillaire, chromatographie en phase gazeuse ou liquide.

II.2.4.1. Les sources d'ionisation :

La source d'ionisation est le dispositif qui permet d'ioniser les substances à analyser. Elle peut être utilisée en mode positif comme en mode négatif. Plusieurs types de sources existent et sont utilisés en fonction : de l'énergie interne transférée pendant le processus d'ionisation, et de la nature physico-chimique des analytes qu'elles peuvent ioniser.

Les sources d'ionisation peuvent être classées en trois catégories : l'ionisation en phase gazeuse, l'ionisation en phase liquide, et l'ionisation à l'état solide.

Nous nous intéresserons plus particulièrement aux deux types de sources d'ionisations utilisés au cours de ces études : l'ionisation – désorption laser assistée par une matrice (MALDI) et l'ionisation électro spray (ESI).

II.2.4.2. L'ionisation – désorption laser affutée par une matrice :

Cette technique fait appel à une matrice organique solide aromatique (acide α -cyano-4-hydroxycinnamique, acide sinapinique, acide 2.5-dihydroxybenzoïque ...) ayant une forte absorption à la longueur d'onde du laser, dans laquelle est dispersée l'échantillon (104 molécules de matrice pour une molécule d'échantillon, l'ensemble étant Co-cristallisé). Le

mélange matrice-échantillon doit être déposé préalablement sur une plaque métallique conductrice.

L'irradiation laser se produit sous vide à l'intérieur de la source du spectromètre de masse, et se traduit par une excitation électronique et thermique des molécules de la matrice qui peuvent céder des protons à l'échantillon, conduisant ainsi à son ionisation. La matrice sert donc de vecteur d'énergie entre le faisceau laser et la molécule d'échantillon ^[42] (Figure 22).

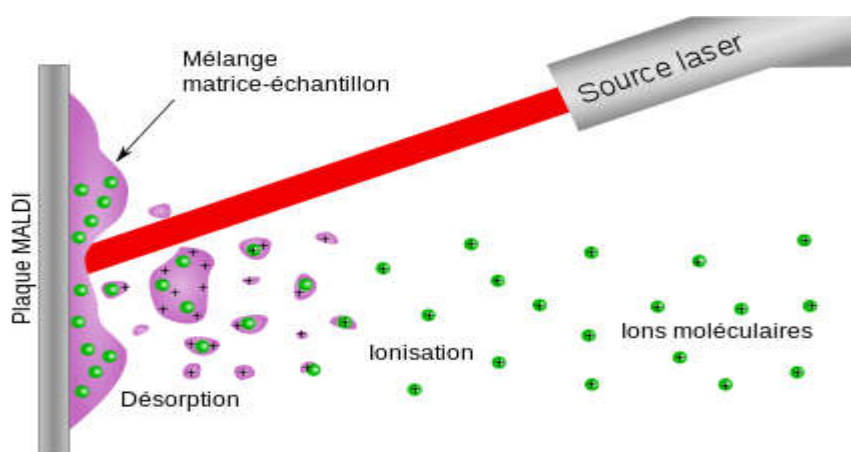


Figure. II. 9 : Schéma de l'ionisation – désorption laser assistée par une matrice (MALDI).[42]

Cette source d'ionisation est généralement couplée à un analyseur à temps de vol ^[43].

II.2.4.3. L'ionisation électro spray ou électro nébulisation :

Le principe de électro nébulisation consiste en la formation d'ions chargés (positifs/négatifs) dans un liquide à faible débit (1 à 100 $\mu\text{L}/\text{min}$), sous l'effet d'un champ électrique intense à pression atmosphérique. Ce phénomène peut être décomposé en trois étapes ^[44] (Figure10) : - Formation de gouttelettes (1 μL) chargées de l'analyte en solution par application d'une tension sur un capillaire fin métallique.

^[42]- S. Louis. Transformations chimiques et évaluation des propriétés biologiques de quelques composés isolés. Thèse de doctorat en chimie organique. 2009. 192 pages

^[43] Christ P, Rutzinger S, Seidel W, Uchaikin S, Pro F, Koy C, and Glocker MO (2004) High detection sensitivity achieved with cryogenic detectors in combination with matrixassisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry. Eur J Mass Spectrom (Chichester, Eng) 10 : 469-476.

^[44] De Hoffmann E. and Stroobant V. Spectrométrie de masse. Dunod (1994) [3]. Ref Type : Conference Proceeding

- Rencontre des gouttelettes avec un flux d'azote chaud à contre-courant conduisant à l'évaporation progressive du solvant. Il en résulte une diminution de la taille des gouttelettes, avec augmentation de la densité des charges au sein de la solution. La fission de ces gouttelettes est réalisée par répulsion coulombienne en dessous d'un rayon critique, appelé rayon de Rayleigh.

- Émission des ions solvatés en phase gazeuse.

Au cours de cette ionisation, les molécules non volatiles peuvent être ionisées et transmises en phase gazeuse sans fragmentation ou destruction de la molécule. De ce fait, cette technique est parfaitement adaptée pour l'étude des molécules polaires et thermolabiles.

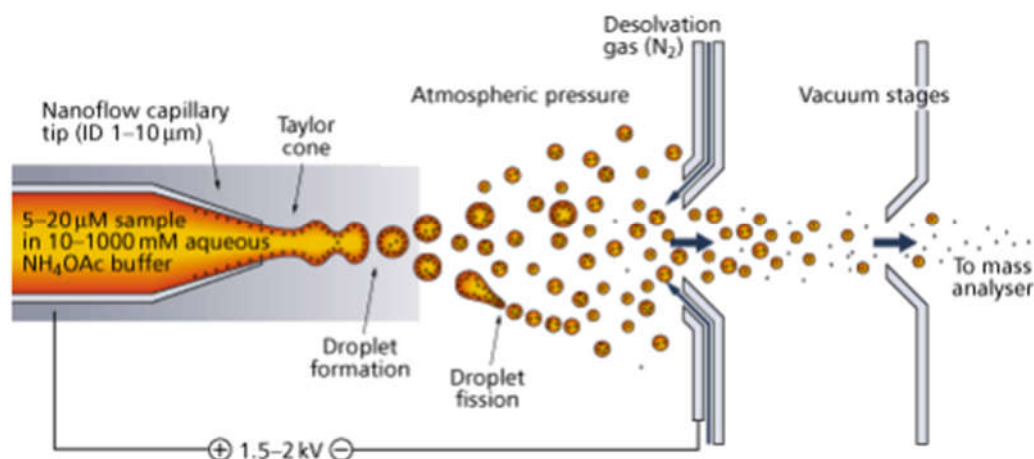


Figure. II. 10 : Schéma de l'ionisation par électrospray.[44]

La source ESI a rapidement été couplée à la chromatographie en phase liquide [45]. De plus, elle a été miniaturisée afin d'être utilisable en couplage direct avec des systèmes chromatographiques de type nano-débit [46]. Elle peut être couplée à plusieurs types d'analyseurs de masse, dont les analyseurs quadripolaires, à temps de vol, à trappe d'ions, ou à résonance cyclotronique...

II.2.4.4. Les analyseur ou séparateur de masse :

L'analyseur permet de séparer les ions en fonction de leur rapport m/z . Il en existe de basse et de haute résolution.

[45] Hopfgartner G, Varesio E, Tschappat V, Grivet C, Bourgogne E, and Leuthold LA (2004) Triple quadrupole linear ion trap mass spectrometer for the analysis of small molecules and macromolecules. *J Mass Spectrom* 39 : 845-855.

[46] Hilton GC, Martinis JM, Wollman DA, Irwin KD, Dulcie LL, Gerber D, Gillevet PM, and Twerenbold D (1998) Impact energy measurement in time-of-flight mass spectrometry with cryogenic microcalorimeters. *Nature* 391 : 672-675.

Ils peuvent être couplés entre eux pour réaliser des expériences de spectrométrie de masse en tandem. En général, un premier analyseur sépare les ions, une cellule de collision fragmente ces ions triés selon leur rapport m/z et un second analyseur sépare les ions fragments. Certains analyseurs (comme les pièges à ions ou la résonance cyclotronique ionique à transformation de Fourier) sont constitués de plusieurs analyseurs en un et permettent de fragmenter les ions et d'analyser les fragments directement. Seuls les analyseurs à temps de vol, quadripolaire et à piège quadripolaire seront exposés plus en détail

II.2.4.4.1. L'analyseur a temps de vols ou TOF :

Cette technique consiste en la mesure du temps que mettent les ions à parcourir une distance donnée dans une zone libre de champ, appelée tube de vol, après avoir été accélérés par un champ électrique. La séparation des ions ne dépend donc que de la vitesse acquise lors de la phase d'accélération. Par conséquent les ions ayant un rapport m/z très petit arrivent en premier au détecteur [47]

Le mode réflectron permet de pallier au manque de résolution de cet analyseur [48] : un miroir électrostatique impose un champ électrique de direction opposée à celle du champ accélérateur initial, et donc au mouvement des ions. Les plus énergétiques arrivent en premier au niveau du réflectron et vont y pénétrer plus profondément. Ils seront donc réfléchis dans un temps plus long. Ainsi, tous les ions ayant un rapport m/z identique se trouvent focalisés sur un même plan, le détecteur du réflectron étant placé sur le plan de focalisation de ces ions [49].

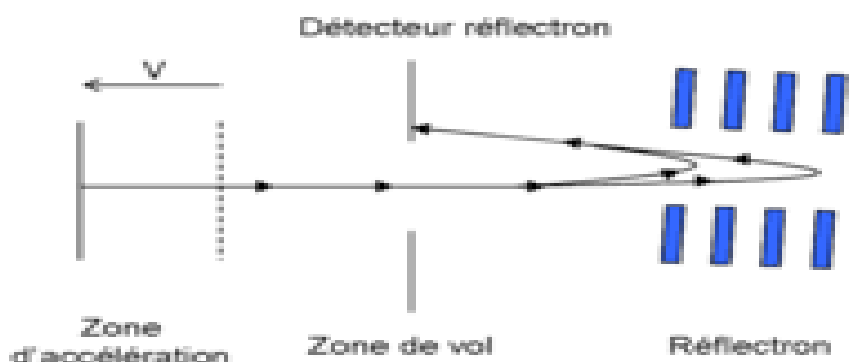


Figure II. 11 : Schéma d'un spectromètre de masse à temps de vol équipé d'un réflectron.[49]

[47] Jonscher KR and Yates JR, III (1997) The quadrupole ion trap mass spectrometer--a small solution to a big challenge. *Anal Biochem* 244 : 1-15.

[48] Olthoff JK, Lys IA, and Cotter RJ (1988) A pulsed time-of-flight mass spectrometer for liquid secondary ion mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2 : 171-175.

[49] Karas M and Hillenkamp F (1988) Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Anal Chem* 60 : 2299-2301.

II.2.4.4.2. Le quadripôle ou quadrupôle :

L'analyseur quadripolaire (Q) est constitué de quatre électrodes parfaitement parallèles, ayant une section circulaire ou, idéalement, hyperbolique. Les électrodes opposées deux à deux sont reliées entre elles et sont soumises au même potentiel.

Les ions cheminant au centre des électrodes sont soumis à l'influence d'un champ électrique total constitué d'un champ alternatif quadripolaire superposé à un champ constant. Le temps de traversée de l'analyseur doit être petit par rapport au temps nécessaire pour passer d'une masse à l'autre, mais doit être au moins égal au temps de quelques oscillations de la tension alternative [50].

Comme la vitesse de balayage peut être facilement très élevée, ce détecteur est bien adapté aux couplages chromatographiques.

II.2.4.4.3. Le piège ionique quadripolaire :

Le piège à ions quadripolaire (Ion-Trap ou Quistor) est constitué de trois électrodes à section hyperbolique : une électrode annulaire encadrée par deux électrodes (d'entrée et de sortie) formant les calottes supérieure et inférieure du dispositif. L'entrée des ions s'effectue à travers un orifice percé dans la calotte supérieure et leur sortie, au centre de l'électrode opposée (inférieure). Une tension en radiofréquence combinée ou non à une tension continue est appliquée entre l'électrode centrale et les deux électrodes calottes. Le champ résultant est alors tridimensionnel [51].

La préparation, l'analyse et la détection des ions sont réalisées dans un même espace, suivant des séquences temporelles successives. En augmentant de façon progressive la tension alternative, les ions sont déstabilisés de façon successive et expulsés de la trappe, ce qui permet l'enregistrement des spectres. Ces spectromètres sont très sensibles et ne tolèrent qu'un nombre d'ions limité dans l'enceinte. En effet, les répulsions mutuelles des ions induisent une augmentation du rayon de leur trajectoire, nuisant aux résultats. Afin de les garder confinés à proximité du centre, il est nécessaire d'introduire à l'intérieur du piège une pression de gaz neutre (généralement de l'hélium).

[50] Vestal ML and Campbell JM (2005) Tandem time-of-flight mass spectrometry. *Methods Enzymol* 402 : 79-108.

[51] Smith PC, Benet LZ, and McDonagh AF (1990a) Covalent binding of zomepirac glucuronide to proteins : evidence for a Schiff base mechanism. *Drug Metab Dispos* 18 : 639-644.

Le piège à ions linéaire quadripolaire peut être combiné avec différents analyseurs de masse : quadripôle, temps de vol ... [52].

II.2.4.5. Le détecteur :

Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse, doit être détecté et transformé en un signal électrique utilisable. Plus les ions sont nombreux, plus le courant est important. De plus, le détecteur amplifie le signal obtenu pour qu'il puisse être traité informatiquement.

Cette détection fait appel à la charge, à la masse et à la vitesse des ions. Il existe différents types de détecteurs capables de transformer un courant ionique faible en un signal mesurable.

La plaque photographique et le cylindre de Faraday permettaient une mesure directe des charges arrivant au détecteur, tandis que les détecteurs multiplicateurs d'électrons ou de photons permettent l'amplification de l'intensité du signal détecté. Les détecteurs à induction [53] et les détecteurs cryogéniques [54 ; 55] sont actuellement en cours de développement. Ils sont basés sur des principes physiques différents de ceux utilisés pour les détecteurs communément utilisés et présentent une efficacité indépendante de la masse et de la vitesse des ions détectés.

Les récentes avancées des techniques de séparation, de spectrométrie de masse et de traitement informatique des données pour les sciences biologiques sont très utiles pour la recherche de biomarqueurs.

La spectrométrie de masse a donc nettement amélioré les capacités de détection, de quantification, et d'identification des biomarqueurs avec des analyses plus rapides et plus sensibles.

[52] Weickhardt C, Draack L, and Amirav A (2003) Laser desorption combined with hyperthermal surface ionization time-of-flight mass spectrometry. *Anal Chem* 75 : 5602- 5607.

[53] Whitehouse CM, Dreyer RN, Yamashita M, and Fenn JB (1985) Electrospray interface for liquid chromatographs and mass spectrometers. *Anal Chem* 57 : 675-679.

[54] Wiley WC (1956) Bendix Time-of-Flight Mass Spectrometer. *Science* 124 : 817-820.

[55] Wilm M and Mann M (1996) Analytical properties of the nanoelectrospray ion source. *Anal Chem* 68 : 1-8

II.3. Les Méthodes chromatographiques :

II.3.1. Histoire de la chromatographie :

En 1906 un chimiste russe, TSWETT, a séparé des pigments végétaux colorés sur une colonne remplie de carbonate de calcium pulvérulent, les pigments étaient entraînés avec de l'éther de pétrole (mélange pentanes et d'hexanes). Il a observé sur la colonne la formation de bandes de couleur différente (vert, orange, jaune). Il a donné à cette technique le nom de chromatographie (écriture des couleurs). IL a défini également les termes : chromatogramme, élution et rétention. Cette technique fut quasi-abandonnée jusqu'en 1930, où EDGAR LEDERER a purifié par la méthode de TSWETT la lutéine du jaune d'œuf.

- Vers 1940, MARTIN et SYNGE développent la pratique et la théorie de la chromatographie, ils obtiennent le prix Nobel en 1952 ;
- En 1952, mise au point de la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) ;
- La chromatographe Liquide Haute Performance (CLHP ou HPLC) a été découverte en 1965 par HALASZ, HORVATH ;
- En 1968, mise au point de la Chromatographie Liquide Haute Performance CLHP ou HPLC en anglais
- En 1979, première séparation chirale par HPLC. [56]. La figure suivante illustre les différentes techniques chromatographiques.

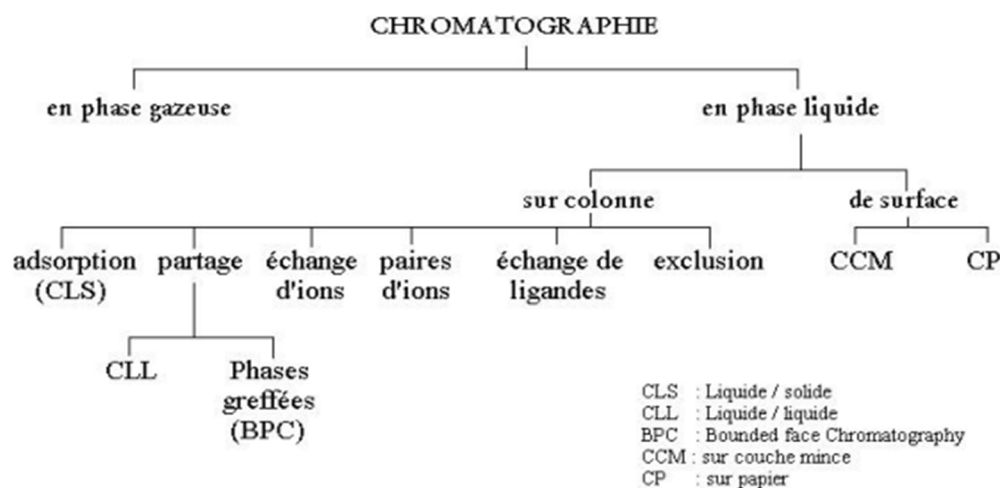


Figure. II.12 : Les différentes techniques chromatographiques [56]

[56] BERTHILIR. (2013). La chromatographie et ses applications. Édition DUNOD Paris.

II.3.2. La chromatographie :

La chromatographie est une technique analytique qui permet la séparation des constituants d'un mélange en phase homogène liquide ou gazeuse. Le principe repose sur l'équilibre de concentrations des composés présents entre deux phases en contact, l'une stationnaire et l'autre mobile. La séparation est basée sur l'entraînement différentiel des constituants présents dans la colonne. Ces derniers la parcourent avec des temps proportionnels à leurs propriétés intrinsèques (taille, structure etc.) ou à leur affinité avec la phase stationnaire (polarité). A leur arrivée en bout de colonne, le détecteur mesure en continu la quantité de chacun des constituants du mélange [57] Il existe trois principaux types de chromatographie :

- la chromatographie en phase gazeuse (CPG)
- la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)
- la chromatographie en couche mince (CCM).

II.3.2.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

La CPG est une méthode de séparation des composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décompositions. Elle permet ainsi l'analyse de mélange éventuellement très complexe dont les constituants peuvent différer d'une façon considérable par leur nature et leur volatilité [58]

II.3.2.1.1. Principe de fonctionnement :

Le mélange à séparer (l'ordre de μl) est injecté, à l'entrée d'une colonne grâce à l'injecteur qui est porté à une température supérieure à la température de la volatilisation des solutés à séparer. Les solutés à l'état gazeux sont transportés par le gaz vecteur le long de la colonne où ils se solubilisent dans la phase stationnaire liquide [58].

Si la phase stationnaire est bien choisie, ces solutés vont être inégalement retenus, ce phénomène appelé rétention. Les constituants du mélange sortent l'un après l'autre du fait de leur différence de déplacement dans la colonne.

Le temps de séjour du soluté dans la colonne est appelé temps de rétention [59].

[57] Martin A.J.P., Synger R.L.M. Biochemistry Journal. 1941, 35, 1358-1368.

[58] Tranchant J. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse 3ème Ed.1982.

[59] Heddar S., Kaoua G. Extraction de l'huile essentielle de Thym Algérien sis par entraînement à la vapeur. Contribution à son étude cinétique et analytique. PFE. U.S.T.H.B.1993.

A la sortie de la colonne, se trouve un détecteur qui émet un signal chaque fois qu'un soluté sort. Le signal produit est proportionnel à la quantité de chaque substance. Ce signal est amplifié, reproduit sur l'enregistreur et évalué à l'aide d'un intégrateur ou d'un ordinateur [58].

II.3.2.1.2. Appareillage :

La chromatographe gazeux (Figure13) comporte : La colonne C'est la partie la plus importante du chromatographe car c'est dans la colonne qu'a lieu le processus physico-chimique de séparation, on distingue les colonnes capillaires qui sont de longueur allant jusqu'à 60 m et de faible diamètre de l'ordre du dixième de millimètre, leur surface interne est couverte par une couche de 0,1 à 1,5 μ m d'épaisseur, elle est uniforme le long de la colonne, cette couche appelée phase stationnaire est lieu où s'effectue la séparation des constituants du mélange à analyser grâce au phénomène d'adsorption et aussi à la polarité des solutés [59].

II.3.2.1.2.1. L'injecteur :

Pour pouvoir introduire l'échantillon à analyser dans le chromatographe on utilise une micro seringue d'injection de l'ordre de 1 à 10 μ l, l'injection se fait dans l'injecteur qui est porté à une haute température ce qui permet l'évaporation instantanée de l'échantillon qui sera transféré dans la colonne grâce à un gaz porteur qui peut être l'hydrogène, l'azote ou l'hélium. La température de l'injection doit être de 20 à 300C supérieures à la température d'ébullition du soluté le moins volatil [59, 58].

II.3.2.1.2.2. Le diviseur d'entrée :

La faible capacité de la colonne capillaire fait qu'on peut injecter dans la colonne que très peu d'échantillon. Dans le cas d'une colonne remplie (phase stationnaire + support) la quantité d'échantillon injectée se situe entre 1 et 10 μ L. Mais pour une colonne capillaire une telle quantité sature très vite la colonne. Le rôle du diviseur d'entrée est d'éliminer à l'extérieur la plus grande partie de l'échantillon injecté par une fuite contrôlée alors qu'une faible partie 1/10 à 1/100 μ L pénètre dans la colonne. Il existe plusieurs types de diviseurs d'entrée. Pour notre travail nous avons utilisé le diviseur d'entrée « split-splittes » [60].

II.3.2.1.2.3. Le détecteur :

A pour rôle essentiel de reconnaître un soluté et d'envoyer un signal électrique chaque fois qu'un soluté est séparé. Il est caractérisé par sa sensibilité, on distingue les détecteurs suivants :

- Détecteur à conductibilité thermique (DCT)
- Détecteur à ionisation de flamme (DIF)
- Détecteur à capture d'électron (DCE)

[60] Tranchant J. Manuel. Pratique de chromatographie en phase gazeuse 4ème Ed.1995, 466

- Détecteur à azote phosphore DNP2

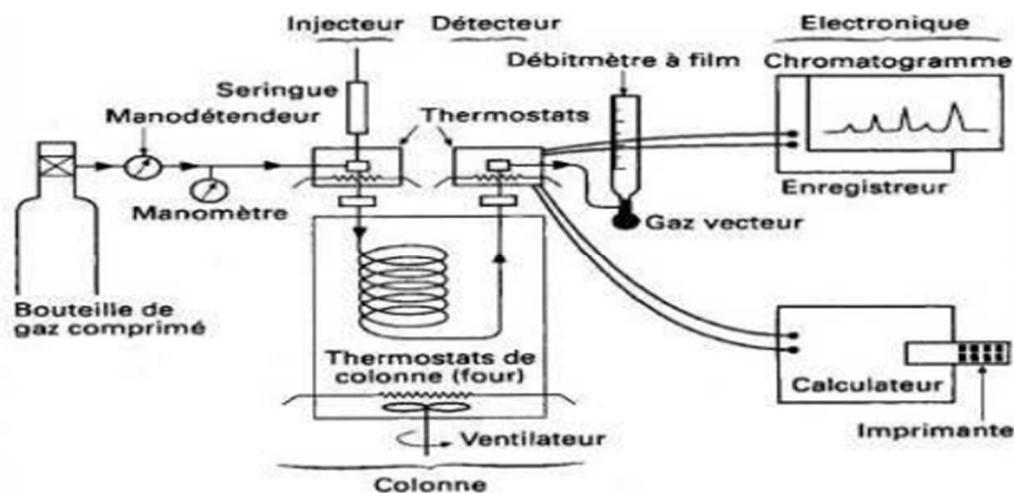


Figure. II.13. Chromatographe en phase gazeuse [58]

II.3.2.2. Chromatographie liquide à haute performance :

La HPLC est une technique de séparation analytique et préparative d'un mélange de composés à haut poids moléculaire. Cette forme de chromatographie est fréquemment utilisée en chimie analytique. Dans la plupart des cas, la HPLC est la méthode proposée dans la monographie pour les qualités de spécificité et de détection qu'elle présente. De plus, elle donne des résultats performants et permet de séparer une grande partie des composants d'un produit pharmaceutique [61].

II.3.2.2.1. Principe de fonctionnement :

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie qui permet une meilleure séparation des composants. Le seuil de détection est également plus bas. La combinaison de ces attributs - rapidité et résolution élevées - conduit à l'appellation « haute performance » [61].

Les solvants utilisés sont des combinaisons miscibles d'eau et de divers solvants organiques (alcools, acétonitrile, dichlorométhane, ...). Souvent, la composition de la phase mobile est modifiée au cours de l'analyse, c'est le mode dit "gradient" ou "élution graduée" (en opposition

[61] Burgot G. Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications ; ed. TEC & DOC Lavoisier, 2eme édition ; 2006

au mode "isocratique", pour lequel la composition de la phase mobile reste la même tout au long de l'analyse).

L'échantillon à analyser est injecté en amont de la colonne au moyen d'un injecteur online ou une micro seringue. Le volume d'échantillon est de l'ordre de 20 μl à 500 μl . Le composé séparé, au niveau de la phase stationnaire, est détecté à la sortie de la colonne qui est directement lié à un ou plusieurs détecteurs en série [61].

II.3.2.2.2. Avantages de la chromatographie liquide à haute performance :

Parmi les avantages de cette technique, on peut citer

- Efficacité, sélectivité et champ d'application étendu.
- Haute résolution.
- Séparation rapide.
- Ne nécessite que de petite quantité d'échantillon.
- Mesure quantitative précise.
- Répétabilité et reproductibilité des résultats pour une même colonne.
- Traitement des échantillons non volatils et thermiquement instable.
- Applicable aux ions inorganiques. [62].

II.3.2.2.3. Appareillage :

Un appareil d'HPLC comprend différents modules : un réservoir à solvant contenant la phase mobile, un système de pompage permettant d'effectuer des éluions graduées, un injecteur, une colonne, un détecteur et un système d'acquisition de données (ou d'un intégrateur ou enregistreur), la figure ci-dessous comporte les différentes composantes d'une chaîne HPLC.

[62] MENDHAM J ; DENNEY.R.C ; BORNES.J. D ; AND TOMASM.G. K (2006). Analyse chimique quantitative de Vogel.6 -ème Edition. Londres

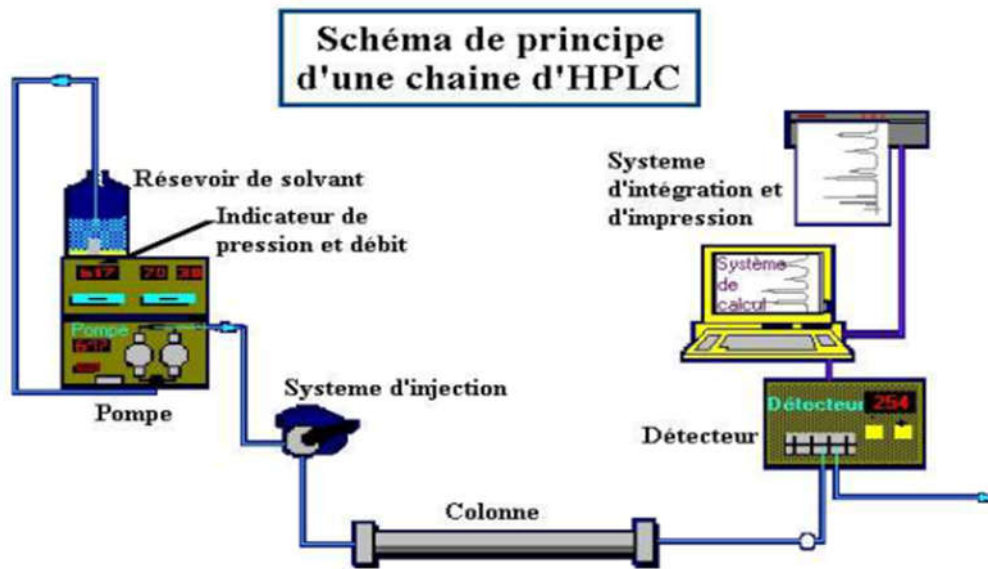


Figure. II.14 : Schéma d'une installation HPLC. (ANONYME 9, 2015).

La phase mobile, délivrée à partir d'un ou plusieurs réservoirs, circule à travers la colonne, généralement à débit constant, puis passe à travers le détecteur. Ces modules sont reliés entre eux par l'intermédiaire de canalisations de très faible diamètre interne (0,1 mm) pour assurer la circulation de la phase mobile. [63].

II.3.2.2.3.1. Système de pompage :

Les systèmes de pompage pour HPLC doivent fournir la phase mobile à un débit constant. Il convient de limiter autant que possible les fluctuations de pression, par exemple en faisant passer le solvant sous pression à travers un dispositif amortissant les pulsations. Les tubes et raccords doivent pouvoir résister aux pressions développées par la pompe. Les pompes pour HPLC peuvent être équipées d'un dispositif de purge qui permet de chasser les bulles d'air emprisonnées.

Les systèmes pilotés par microprocesseur sont capables de délivrer avec précision une phase mobile de composition constante (élution isocratique) ou variable (gradient d'élution), selon un programme défini. Pour les chromatographies à gradient d'élution, il existe des systèmes de

[63] KILADJIAN. (2011). Les phases de développement clinique d'un nouveau médicament. Centre d'investigations cliniques. Paris.79p.

pompage qui délivrent les solvants à partir de plusieurs réservoirs, le mélange pouvant être effectué soit en amont basse-pression soit en aval haute-pression de la des pompes. [64].

II.3.2.2.3.2. Injecteurs :

La solution à examiner est introduite dans la phase mobile circulante en tête de colonne, ou à proximité de celle-ci, à l'aide d'un système d'injection conçu pour fonctionner à pression élevée. Les injecteurs peuvent être à boucle fixe ou à volume variable, à fonctionnement manuel ou pilotés par un échantillonneur automatique. Le remplissage partiel des boucles, manuellement, peut entraîner une moindre fidélité du volume injecté. [65].

II.3.2.2.3.3. Colonne chromatographique :

La colonne se présente comme un tube, le plus souvent en acier inoxydable, dont la longueur et le diamètre intérieur présentent des différences selon les modèles. La plupart des colonnes ont une longueur de 10 à 30 cm et un diamètre intérieur de 4 à 10 mm, avec des tailles particulières de 5 à 10 μm . Ce type de colonne offre souvent de 40 000 à 60 000 plateaux théoriques par mètre. [66].

La longueur de la colonne peut influencer non seulement sur la résolution d'une séparation donnée (le nombre de plateaux est d'autant plus grand que la colonne est longue) mais aussi sur la vitesse de la séparation. Souvent c'est ce dernier critère qui dicte le choix de la longueur de la colonne. Les longueurs standard varient d'un fabricant à l'autre, mais les plus courantes sont de 300, 250, 150, 125, 100, 75 mm. Les colonnes les plus longues sont dites colonnes standards et les plus courtes colonnes rapides [62].

II.3.2.2.3.4. La pré colonne

La colonne est souvent précédée d'un pré colonne, dite colonne de garde, courte (0,4 à 1 cm), remplie de la même phase stationnaire, ce qui sert à retenir certaines impuretés (Figure 6). On augmente ainsi la durée de vie de la colonne principale en préservant ses performances. La phase stationnaire est retenue à chaque extrémité par un frite d'acier

[64] KOSTARMOI.A. V ; GOLUBITSKII G. B ; BASOVA E. M ; BUDKO E. V. IVANOV V. M. (2008). High-Performance Liquid Chromatography in the Analysis of Multicomponent Pharmaceutical Preparations. Analytical Chemistry, Journal of Analytical Chemistry (63). Russia. 516p

[65] ROUESSAC.A et ROUESSAC.F.(2009). Analyse chimique : méthode et technique instrumentales moderne.6Edition Dunod.Paris.457p

[66] YURI. K, ROSARIO. L. (2007). HPLC for pharmaceutical scientists, by john wiley & sons, Hoboken.inc.NEW. JERSEY.835p

inoxydable de porosité inférieure à 2 μm .

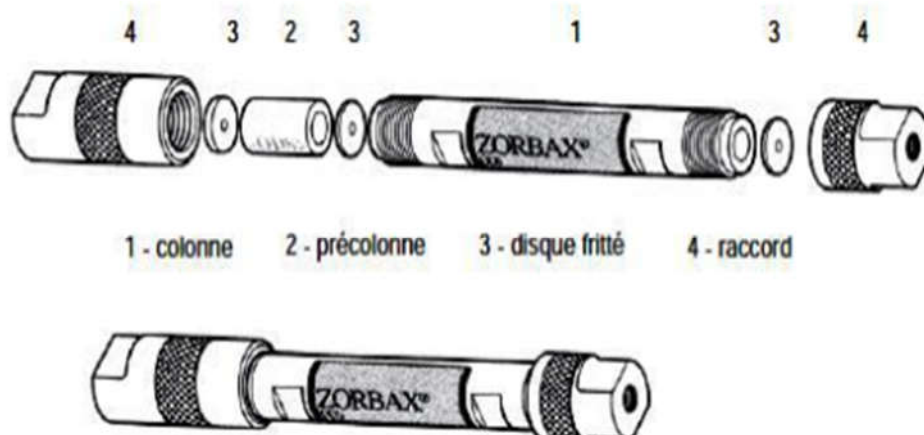


Figure. II .15 : Colonne standard et pré colonne de HPLC. (64).

II.3.2.2.3.5. Détecteurs :

Les détecteurs les plus utilisés sont les spectrophotomètres dans l'ultraviolet/visible (UV/Vis), ceux qu'on a utilisés. Ils mesurent l'absorption de la lumière par le produit à la sortie de la colonne. On trouve aussi les détecteurs à barrette de diodes, la fluorimétrie, la réfractométrie différentielle, des méthodes électrochimiques, la spectrométrie de masse, la dispersion de la lumière, la radioactivité...etc. Les détecteurs absorption métrique dans l'ultraviolet ou le visible et le réfractomètre différentiel sont les plus utilisés. Ces détecteurs sont les plus couramment utilisés en HPLC car ils sont peu sensibles aux fluctuations de débit et de température et un grand nombre de solvants ont une bonne transparence dans l'UV. [67]

II.3.2.2.4. Phase stationnaire :

La phase stationnaire est constituée de microparticules sphériques ou d'un solide poreux dont la surface au contact de la phase mobile atteint plusieurs centaines de m^2 par gramme, favorisant ainsi les mécanismes de partition avec les différents solutés présents [68]. De nombreux types de phases stationnaires sont utilisés citons : la silice (plus utilisé), l'alumine,

[67] VERONIQUE JACOB. (2010). La chromatographie liquide à haute performance. IUT de chimie de Grenoble.45p

[68] SKOOG.D; WEST.F; HOLLER.J and DOUGLAS. A. (1997). Chimie analytique.7 -ème Edition de Boeck. Bruxelles. P 812.

des résines ou polymères à groupements acides ou basique et des supports chimiquement modifiés, préparés à partir de polymères, de silice ou de graphite poreux.

II.3.2.2.5. Phase mobile :

Le choix et la préparation de la phase mobile est d'une grande importance vue qu'elle est le solvant et le vecteur de l'échantillon à analyser donc elle devrait être choisie et préparée en ayant une bonne compatibilité avec l'échantillon et le système. Suivant un principe général, à une phase stationnaire polaire on oppose une phase mobile peu ou pas polaire et vice-versa. La chromatographie est dite en phase normale dans le premier cas et à polarité de phase inversée dans le second. [65].

II.3.2.3. La chromatographie sur couche mince (CCM) :

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique d'analyse qualitative. Elle a pour but de séparer les produits d'un mélange et permet d'identifier un composé, de vérifier sa pureté ou de suivre l'avancement d'une réaction en analysant des prélèvements successifs du milieu réactionnel afin de mettre en évidence l'apparition de produits et/ou la disparition de réactifs.

II.3.2.3.1. Principe :

Lors d'une CCM, le mélange que l'on souhaite séparer est déposé sur un solide poreux adsorbant (gel de silice) appelé phase stationnaire qui recouvre une plaque rigide inerte d'aluminium. La partie inférieure de cette plaque est mise en contact avec un solvant (éluant) appelé phase mobile.

Lors de l'élution, les différents composés du mélange migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant avec un rapport frontal (R_f) qui est défini par le rapport suivant :

$$R_f = \frac{\sqrt{D_{sub}}}{\sqrt{D_{sol}}}$$

Tell que :

D_{sub} : Distance parcourue par le composé (mesurée au centre de la tache)

D_{sol} : Distance parcourue par le front du solvant. [69]

[69] THÈME : Synthèse, caractérisation et étude catalytique d'un nouveau ligand de bases de Schiff A.S. Bernard, S. Clède, M. Emond, H. Monin-Soyer, J. Quérard. Techniques expérimentales en chimie. Deuxième édition. Paris. Dunod. 2012

II.3.2.3.2. Appareillage :

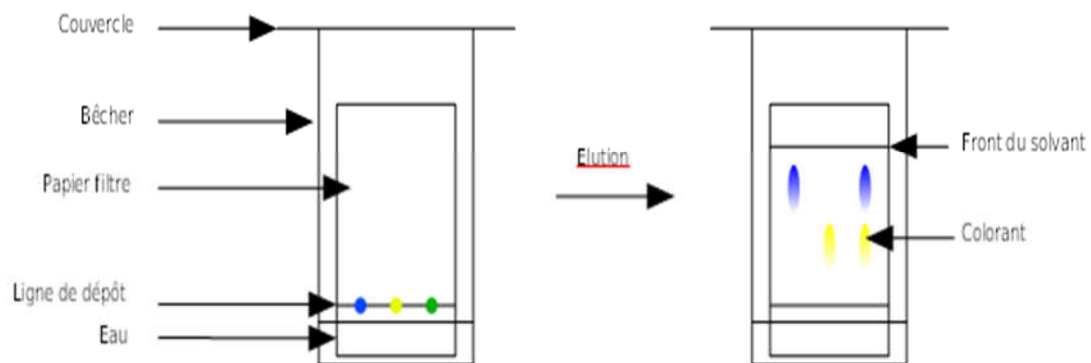


Figure. II .16 : Schéma d'une expérience de chromatographie sur couche Mance

Chapitre III :

Les méthodes

physiques

II.4. La Conductivité :

La conductivité c'est une caractéristique physico-chimique de l'eau ; Elle est liée à la concentration des substances dissoutes et à leur nature. Les matières organiques et colloïdales ne présentent qu'une faible conductivité. Elle varie avec la température [70]

II.4.1 La conductivité électrique :

Est l'aptitude à conduire un courant d'une solution mise entre deux électrodes métalliques de 1 cm² de surface séparée d'une distance de l'une de l'autre de 1 cm.

La conductivité électrique s'exprime en micro siemens/cm.

La mesure de la conductivité permet d'avoir très rapidement une idée sur la concentration des sels dissouts dans l'eau. Une conductivité élevée traduit une salinité élevée [71, 72].

II.4.2. Conductivité volumique :

Les charges électriques libres en solution soumises à un champ électrique migrent vers l'électrode de signe opposé : c'est l'électromigration. La viscosité μ de la solution et le rayonne Stokes des ions dissouts s'opposent à ce mouvement. Ici, plusieurs facteurs influencent la conductivité volumique : les caractères qualitatifs et quantitatifs de la solution du sol (type d'ions et concentration de la solution), la teneur en eau du sol ; la température du sol .la texture et structure du sol [73]

II.4.3. Conductivité surfacique :

En plus de l'électromigration des charges libres dissoutes dans la solution, les ions liés à la Surface des particules solides du sol subissent aussi les forces résultant d'un champ électrique ; de leur déplacement résulte également la conduction d'un courant. Les substances minérales ou humiques des sols peuvent être chargées en surface et ainsi adsorber les ions compensateurs présents en solution pour tendre à l'électro neutralité. La nature et le nombre des ions adsorbés dépendent à la fois de la nature même du solide constitutif et de la composition ionique de la solution. Les contre-ions à plus forte concentration, plus petits ou encore de plus forte valence seront préférentiellement adsorbés. Le phénomène qui se produit à l'interface solide/liquide dans les pores d'un sol est représenté par le concept de double couche électrique (cf. Figure 1). Généralement chargés négativement en surface, les solides adsorbent les cations présents en

[70] mémoire de master interaction bentonite- chitosane dans le traitement des eaux usées urbaines

[71] **franck rejsek**. Analyse des eaux aspects réglementaire et technique lycée de bodra.

[72] **RODIER J.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires eau de mer, 7^{ème} édition 1996

[73] mémoire de master 2 utilisation de la conductivité électrique pour l'analyse des propriétés hydrodynamiques des sols

solution. Les ions positifs se retrouvent fortement liés aux solides dans une première couche statique, la couche de Stern. La deuxième couche, couche de Gouy-Chapman, se trouve juste après la couche de Stern, dont la séparation est matérialisée par un plan de cisaillement. La composition ionique de cette couche (couche dite diffuse) résulte des forces d'adsorption du solide (qui s'appliquent au-delà de la première couche) et des forces de diffusion de la solution (« électrolytes libres »). Moins fortement liée, cette couche est le siège d'électromigration sous l'effet d'un champ électrique. Ce phénomène est à l'origine de la conductivité surfacique (σ_s) du milieu et interagit de fait sur la conductivité effective du sol. C'est pourquoi il a été montré que σ_s dépend de la capacité d'échange cationique (CEC), elle-même liée à la teneur en argiles (qui ont une capacité d'adsorption très élevée). De nombreuses études ont justifié la non-linéarité entre σ_a et σ_w par l'importance de σ_s .

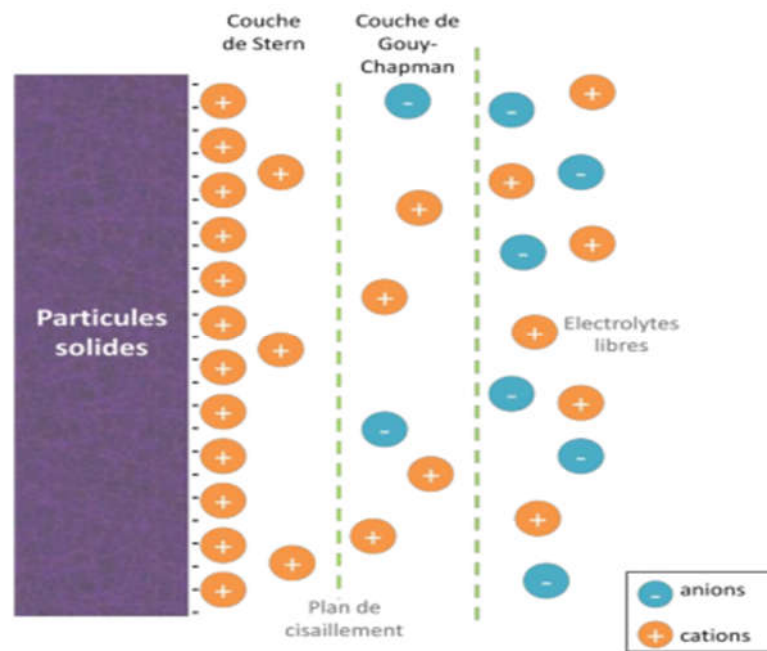


Figure. III. 1. Modèle de double couche électrique [73]

La forte interaction existante entre tous ces paramètres, la complexité des milieux poreux et des sols rend l'analyse théorique des signaux électriques dans ces milieux difficile. C'est la raison pour laquelle de nombreux modèles empiriques et semi-empiriques parfois très différents les uns des autres ont été établis en particulier en lien avec la saturation du milieu.[73]

II.4.4. Conductivité hydrique :

La courbe de conductivité hydraulique traduit la capacité du sol à transmettre l'eau. A saturation, tous les pores sont remplis d'eau, et l'ensemble des capillaires devient le réseau d'écoulement de l'eau. Ce réseau n'étant pas discontinu (saturation), la conductivité hydraulique y est maximale et est appelée conductivité hydraulique à saturation (K). En se désaturant, les plus gros pores du sol se vident en premier, et l'eau s'écoule donc par des pores de plus en plus petits. Les forces de frottement augmentant, l'écoulement va devenir de plus en plus difficile. La conductivité hydraulique décroît donc fortement avec la teneur en eau (ou le potentiel matriciel).[73]

II .5. Potentiel Hydrogène :

II .5.1. Introduction :

Dans les laboratoires d'analyse, la mesure du pH (Potentiel Hydrogène) est une des plus courantes. Elle est souvent répétée et parfois en série importantes. Cependant, cette routine ne doit pas faire oublier que la mesure du pH met en jeu des phénomènes complexes, qu'elle dépend de nombreux paramètres qu'il est parfois difficile à maîtriser, et qu'en définitive cette mesure n'est pas aussi simple qu'il est possible de le penser. La réalisation de mesure du pH fiables et d'un bon niveau d'exactitude dépend en tout premier lieu de la qualité de la chaîne de mesure utilisée, de son entretien et sa maintenance, ainsi que du respect des bonnes pratiques de laboratoire par l'utilisateur. [74]

II .5.2. Définition :

Le pH est un paramètre qui sert à définir si un milieu est acide ou basique. La valeur du pH s'exprime sur une échelle graduée de 0 à 14 ou la valeur 1 désigne une substance fortement acide, 7 une substance neutre (ni acide ni basique comme l'eau pure à 25°C), et 14, une substance fortement basique. Ainsi, les substances ayant un pH inférieur à 7 sont acides tandis que les substances ayant un pH supérieur à 7 sont basiques. Cependant, la plupart des réactions Chimiques et biochimiques sont régies par l'activité de l'ion hydrogène plutôt que par sa concentration. Cette définition fut modifiée pour donner la relation actuellement utilisée.[73]

$$pH = -\log_{10} [OH^-]$$

II.5.3. PH-mètre :

Le rôle du pH-mètre est de mesurer une différence de potentiel entre les électrodes et de convertir cette valeur en pH. Le résultat ainsi calculé est affiché par l'appareil. Ce type de mesure a pris tellement d'importance au cours de ces dernières années qu'il est devenu

[74] mémoire de fin d'études conception d'un système de dosage de produits chimique assiste par ordinateur

indispensable d'enregistrer électroniquement les résultats obtenus. C'est pourquoi il est utile de connecter directement les appareils à un PC pour obtenir et traiter plus facilement les informations.

Le diagramme de la figure 2 schématise le principe de fonctionnement d'un pH-mètre. [75 :76]

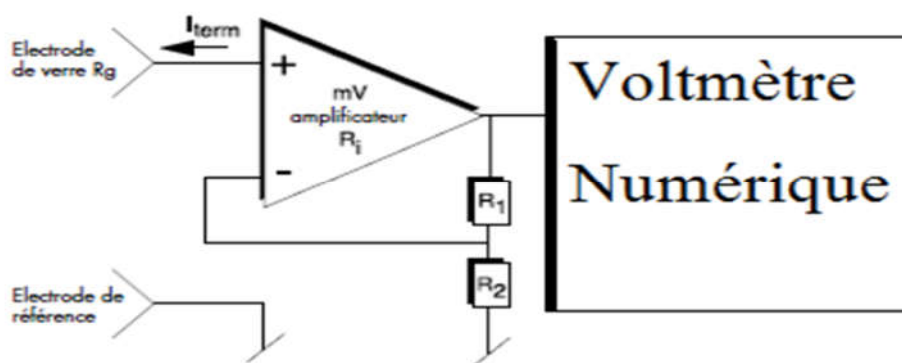


Figure. III. 2 : Diagramme simplifié d'un pH-mètre [75,76]

II .5.4. Principe de fonctionnement d'un pH-mètre :

La différence de potentiel entre l'électrode de référence et l'électrode de verre est amplifiée par un ou plus d'amplificateurs avant d'être transmise au microprocesseur par l'intermédiaire du convertisseur analogique/numérique A/N. Le microprocesseur se charge de traiter le signal et d'afficher le résultat.

La valeur typique de la résistance interne d'une électrode de verre R_G est de $10^8 \Omega$, la résistance d'entrée de l'amplificateur R_i doit être plus élevée, de l'ordre de $10^{12} \Omega$ pour effectuer une mesure correcte. Pour la même raison, l'intensité I envoyée par l'amplificateur à l'électrode de verre ne doit pas dépasser 10^{-12} A, car ceci influencerait sur le potentiel mesuré et risquerait de perturber l'électrode. [75.76]

II.5.5. L'étalonnage du pH-mètre :

La valeur lue (pH) n'est pas la valeur directement mesurée (tension). L'électrode transforme le pH en tension par une loi linéaire : $E = E_0 + a \text{ pH}$.

[75] André GALLETI, la mesure du pH, formation chimie 1STI-STL

[76] Mesure du pH d'une solution aqueuse, Contrôleur pH, Projet I3 ESIEE 2005.

Le pH-mètre transforme cette tension en pH par une autre loi linéaire (figure II.2). L'opération d'accorder l'électrode avec le pH-mètre appelé l'étalonnage.



Figure. III. 3 : Les étapes de conversion de pH solution au pH lu [77,76]

La loi de Nernst indique que l'électrode de verre doit avoir une réponse en millivolts linéaire en fonction du pH. Toute droite étant déterminée par deux points, il faudra donc au moins deux points d'étalonnage. Cela permettra donc de déterminer deux paramètres, la pente (sensibilité) et le pH_0 (pH pour lequel le pH-mètre mesure 0 mV), caractéristiques du système d'électrodes utilisées. [77,76]

II .5.6. Mode d'étalonnage :

Des solutions étalon ou tampons (solutions dont le pH est connu et constant : pH = 4 ; 7 et 9) sont nécessaires pour étalonner le pH-mètre.

Les solutions tampons avec certificat d'étalonnage sont commercialisées. Elles sont disponibles en ampoules de verre à usage unique.

L'étalonnage s'effectue de la façon suivante :

- Plonger tout d'abord les électrodes dans une solution tampon pH = 7 et régler l'indication du pH-mètre sur la valeur du pH de la solution étalon. Cette opération s'appelle la standardisation.
- Rincer les électrodes, les essuyer et les plonger dans une solution tampon pH = 4 (ou une valeur proche du pH de la solution à mesurer) et régler le pH-mètre pour afficher cette valeur.
- Rincer les électrodes avec de l'eau déminéralisée ou distillée puis les plonger dans l'autre solution tampon. Si le résultat obtenu correspond à la valeur connue du pH de la solution étalon, l'appareil est en état de marche et est convenablement étalonné. [77]

II.5.7. Conditions de réétalonnage :

Dans la mesure d'obtenir des résultats exactes, l'opération de réétalonnage est indispensable. Les cas où le pH-mètre doit être réétalonné sont les suivants :

Le pH-mètre doit être réétalonné :

- s'il est neuf,
- si l'électrode a été remplacée,
- au minimum une fois par mois, après prise de mesures dans des produits chimiques agressifs,

[77] Crison, Catalogue de Laboratoire 2004, 1 ère édition.

- après une procédure de nettoyage de l'électrode,
- pour une plus grande précision. [⁷⁸]

[⁷⁸] www.lyc-vinci-st-witz.ac-versailles.fr/IMG/pdf/etalonner_un_ph-metre.pdf

Conclusion

Conclusion

Les sens des techniques d'analyse physico - chimiques fondée par MENDELEEV, KOURNQKOU, VQNT-HOFF et des autres consiste en l'étude de la relation entre la composition et les propriétés des systèmes chimique équilibrée.

Le travail présenté dans ce mémoire peut être scindé en trois parts qui portent des définitions, des principes, bien détaillés sur les méthodes physico- chimiques pour détecter une structure moléculaire.

Les méthodes se composent de différents types telles que les méthodes spectrales IR, UV-visible, RMN, MASSE. Et chromatographies CPG, CCM, HPLC.

Les méthodes de détection d'une structure moléculaire solide RX, DN, surface Hirshfeld, PH mètre, conductivité.