

## I. Spectroscopie d'absorption dans l'UV – Visible

C'est une technique basée sur la propriété des molécules d'absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée. Le domaine UV-visible s'étend environ de 800 à 10 nm.

- Lorsque une longueur d'onde monochromatique  $I_0$  traversant une solution absorbante de concentration  $C_1$  contenue dans une cuve d'épaisseur  $L_1$ . Constate qu'une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise ( $I_1$ ).
- Lorsque une longueur d'onde monochromatique  $I_0$  traversant une solution absorbante de concentration élevés  $C_2$  ( $C_2 > C_1$ ) contenue dans une cuve d'épaisseur  $L_1$ . Constate qu'une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise ( $I_2$ ) ou ( $I_1 > I_2$ ).
- Lorsque une longueur d'onde monochromatique  $I_0$  traversant une solution absorbante de concentration élevés  $C_2$  contenue dans une cuve d'épaisseur  $L_2$  (ou  $L_2 > L_1$ ). Constate qu'une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise ( $I_3$ ) ou ( $I_2 > I_3$ ).

Donc on ne constate que la quantité d'absorbante est lie avec la concentration de solution et l'épaisseur de cuve.

- la transmission  $T = I/I_0$
- transmittance =  $T\%$
- absorbance  $A = -\log T$   
 $= -\log (I/I_0) = \log (I_0/I)$
- On obtient alors la relation connue sous le nom de loi de Beer-Lambert :

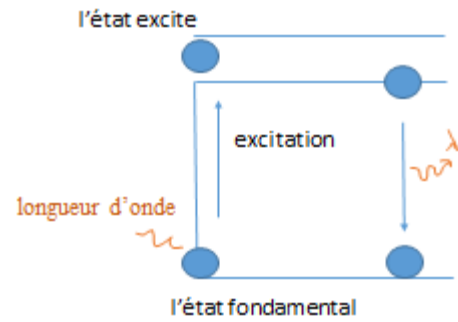
$$A = \epsilon l C$$

$\epsilon$  =le coefficient d'extinction molaire ( $L.mol^{-1}.cm^{-1}$ ) ; c'est une caractéristique de la substance étudiée à une longueur d'onde donnée.

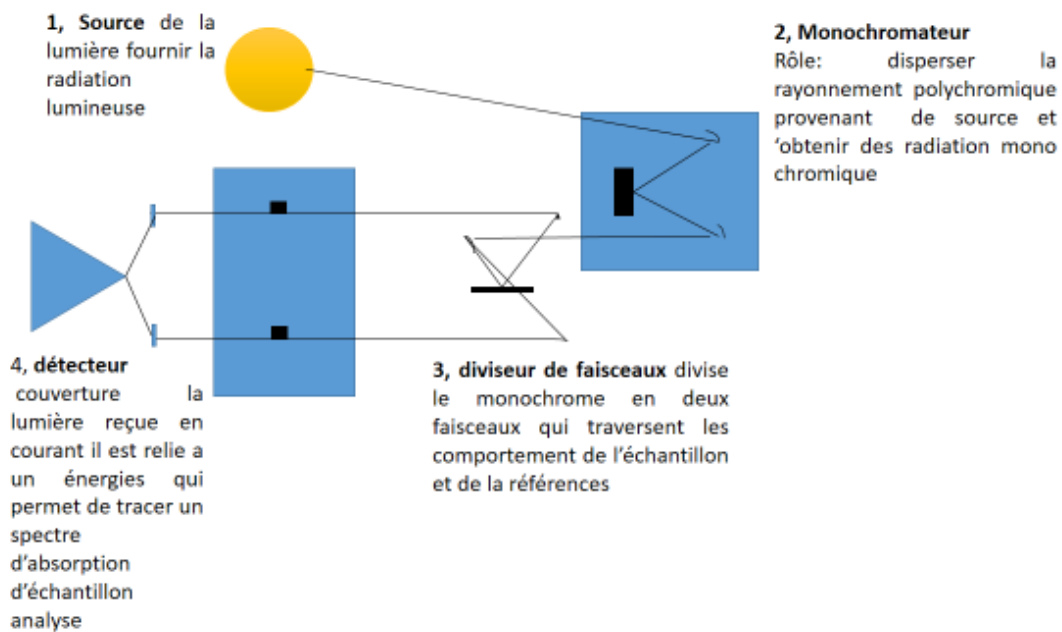
$C$  = la concentration et  $l$ = la longueur de cuve.

### 1. Excitation d'électron

Lorsque on mise une longueur d'onde sur une solution, les électrons sont absorbe une énergie et transfère de l'état fondamental à l'état excite. Pour retourne le a l'état fondamental, ils libèrent une longueur d'onde, celui-ci est détecte et donne un spectre qui appelés le spectre d'absorption. Il présente l'absorbance par rapport à la longueur d'onde.



### 2. spectromètre d'absorption UV- visible



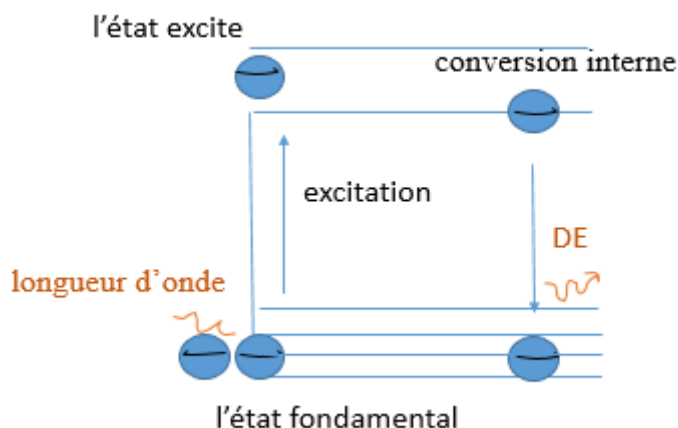
### 3. Applications de la spectroscopie UV-Visible

- Analyse qualitative qui utilise pour la confirmation au pour l'identification
- Analyse quantitative grâce à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert.
- Autres applications pour le contrôle qualité ou le suivi de la cinétique d'une réaction, ou pour la détermination des masses molaires.

## II. SPECTROSCOPIE A FLUORESCENCE

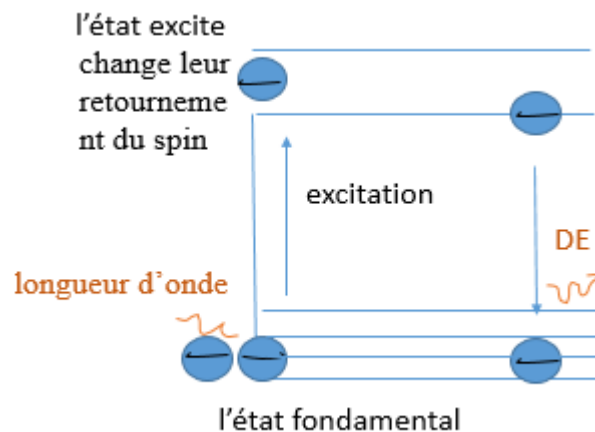
### 1. la fluorescence

Lorsque les électrons sont excités par des photons du domaine du visible ou du proche ultraviolet. Ils sont transformés de l'état fondamental à l'état excité il reste 10 à 12 s ensuite il évolue vers un état plus stable par des processus dits de conversion interne, ou les électrons vibrent et émettent des énergies sans changement de leur retournement du spin.



### 2. la phosphorescence

Les électrons sont excités par des photons du domaine du visible ou du proche ultraviolet. Ils sont transformés de l'état fondamental à l'état excité et change leur retournement du spin. La relaxation vibrationnelle est assez lente. Le retour ultérieur au niveau fondamental est provoqué la libération d'énergie photonique.



### 3. Relation entre fluorescence et concentration

Présente par :

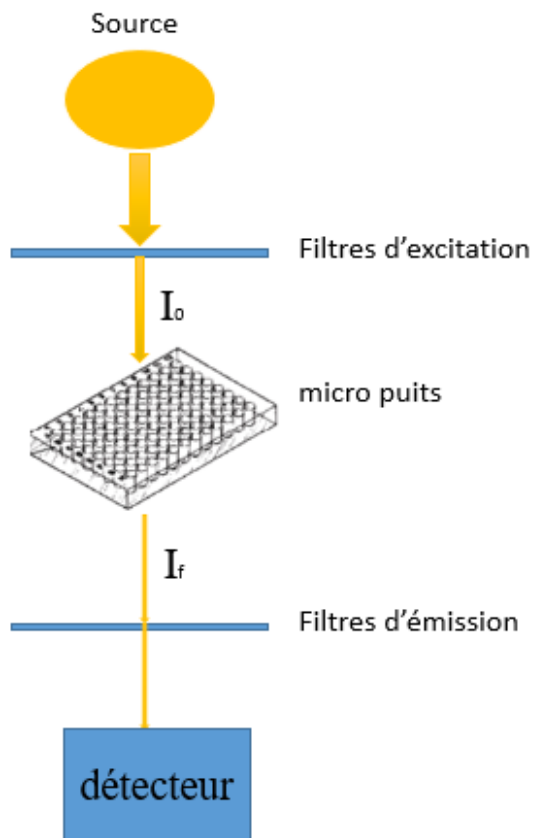
$$QF = I_f/I_a$$

QF : quantique fluorescence

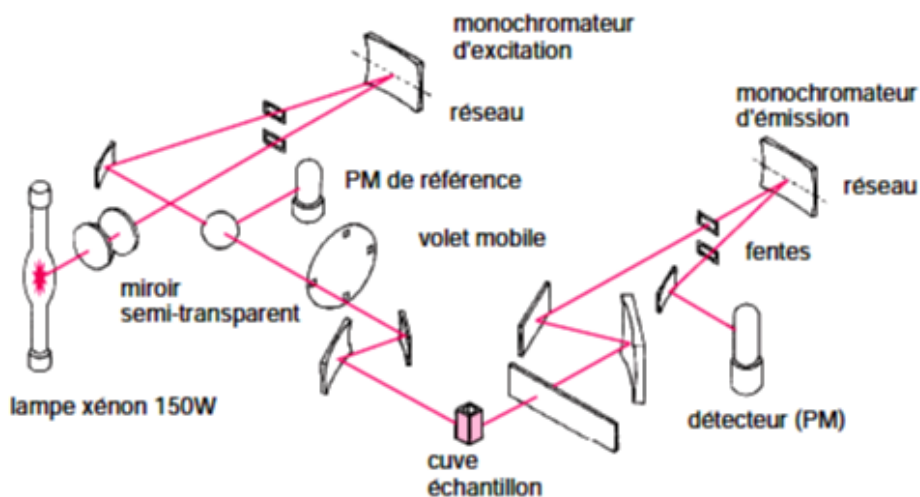
$I_f$  : nombre de photon émis

$I_a$  : nombre de photon absorbés

#### 4. fluorimètre à lecteur de micro-puits



#### 5. Spectrofluorimètres



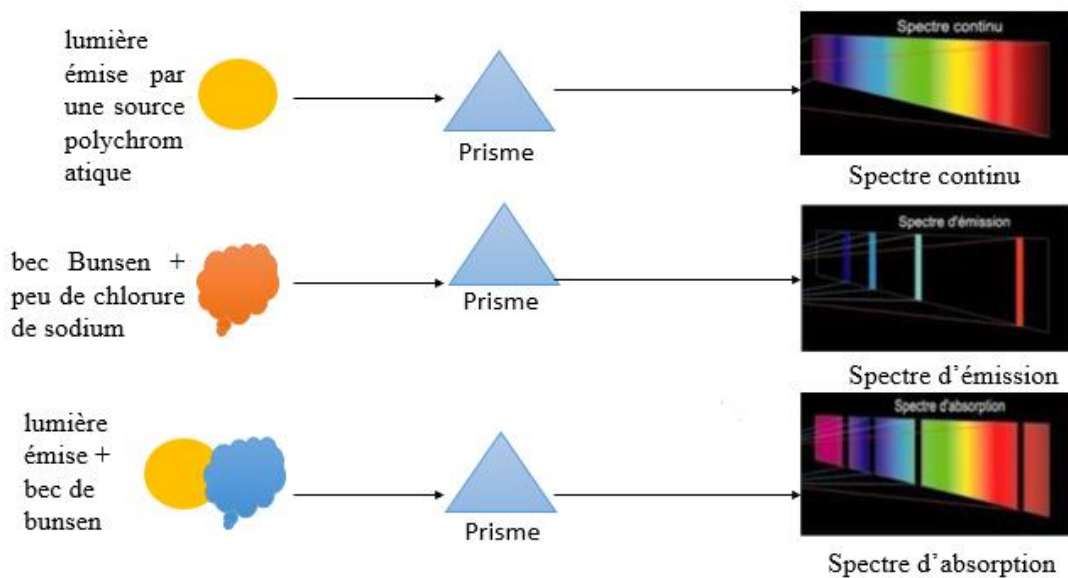
#### 6. L'application de la fluorescence

- Analyse d'un réactif fluorophore par réaction chimique
- Des applications pour quantifier les protéines et les acides nucléiques
- Chimifluorescence pour détection des protéines spécifique.

### III. SPECTROSCOPIE A ABSORPTION ATOMIQUE

Spectroscopie à absorption atomique (SAA) est une technique qui permet de doser dans pratiquement toute sorte d'échantillon.

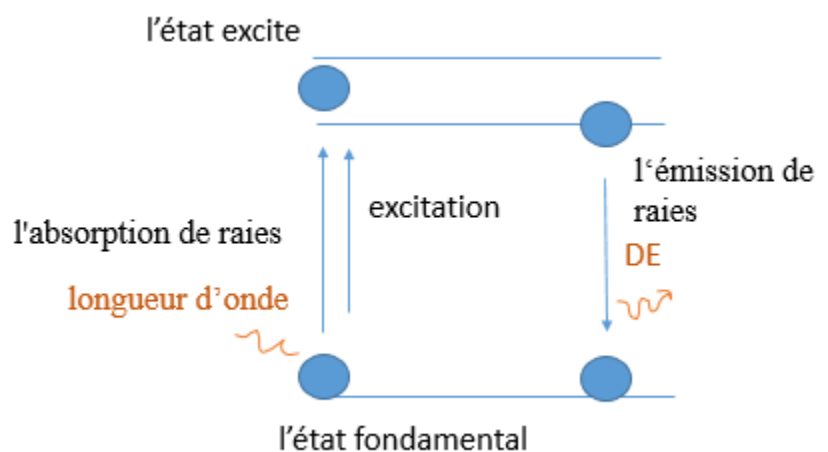
#### 1. Expérience de Kirchhoff



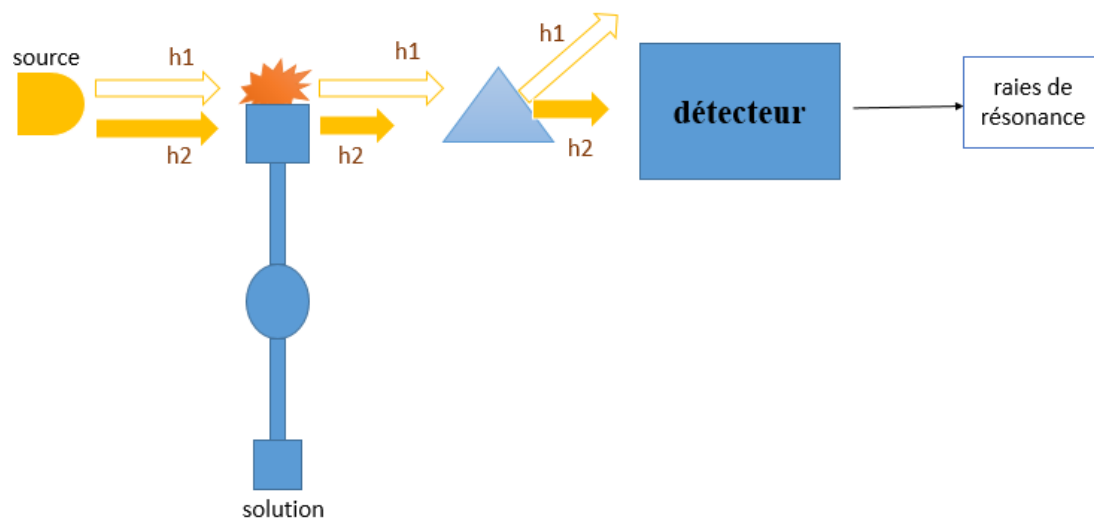
Donc dans l'expérience la flamme provoque les transitions les plus probables de l'atome de sodium.

#### 2. Principe de fonctionnement de la spectroscopie d'absorption

Dans l'absorption atomique, on travaille sur des atomes libres à l'état fondamental qui absorbent des photons et passent ainsi à leurs différents états excités. Donc il faut faire de l'absorption sur les raies qui correspondent au passage état fondamental - états excités. Ces raies sont appelées raies de résonance.

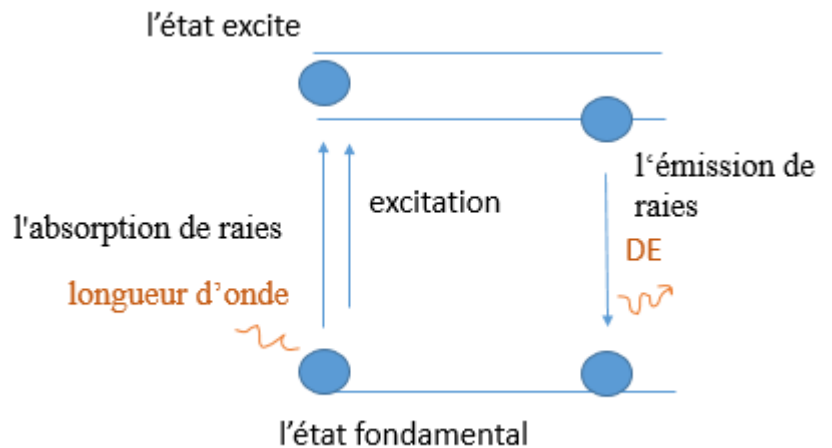


### 3. L'appareil de la spectroscopie d'absorption

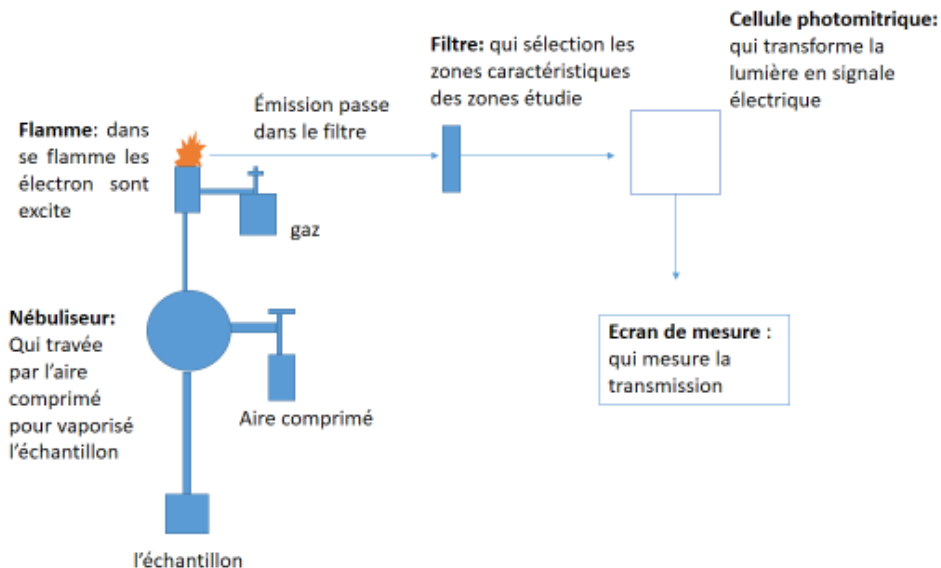


#### IV. SPECTROSCOPIE A EMISSION ATOMIQUE

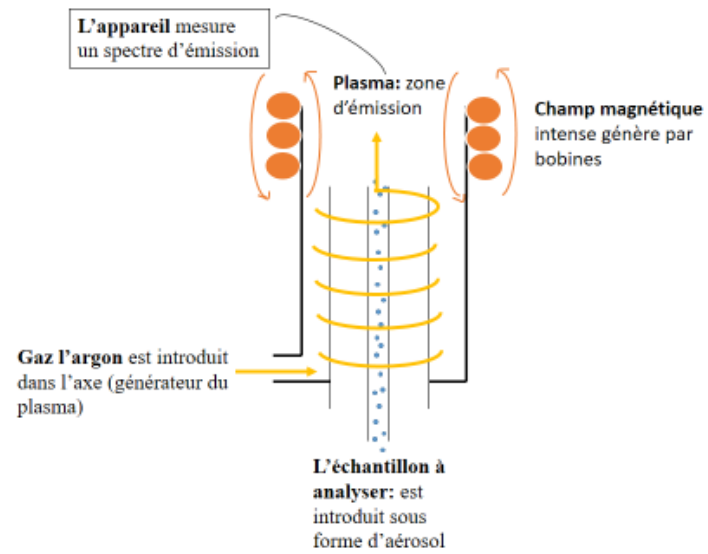
La photométrie d'émission atomique mesure l'émission d'un rayonnement électromagnétique due à la désexcitation d'atomes qui ont été excités par l'énergie apportée par le transfert à une température très élevée. La mesure quantitative de l'émission permet des dosages.



##### 1. photomètre de flamme



## 2. spectromètre d'émission atomique à plasma par couplage inductif





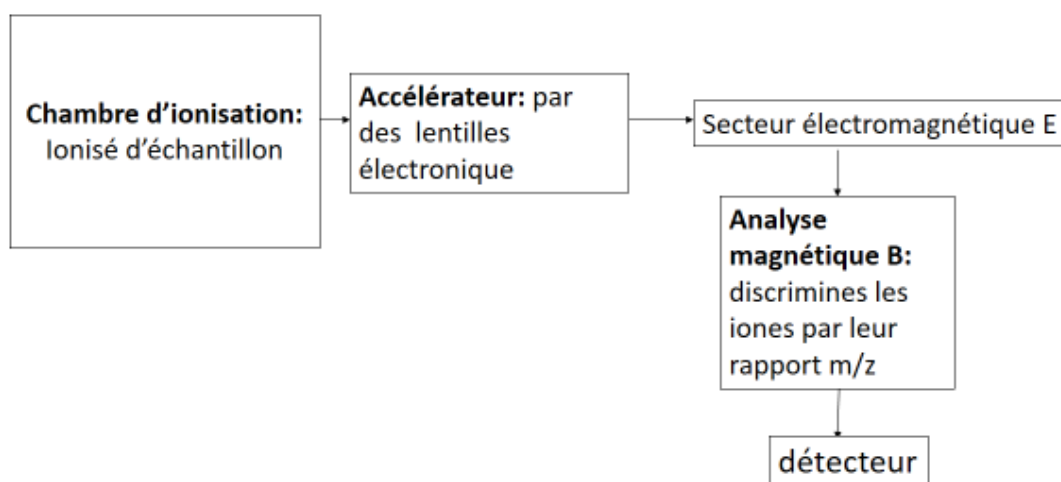
## V. SPECTROSCOPIE DE MASSE

La spectrométrie de masse est une méthode qui détermine la masse des molécules ou atomes d'un échantillon. Dans le spectromètre, L'échantillon est porté à l'état gazeux ou liquide et ionisé dans la source de l'appareil. Ces derniers sont ensuite soumis à des champs électromagnétiques et leur trajectoire dépendra du rapport  $m/z$ . ou  $m$  est la masse de l'atome ou de la molécule et  $z$  présente le nombre de charges portées par l'atome ou la molécule.

Le document de travail donné par l'appareil s'appelle le spectre de masse. Il en existe deux sortes :

- Le spectre de fragmentation
- Le spectre continu

### 1. Les spectromètres de type EB

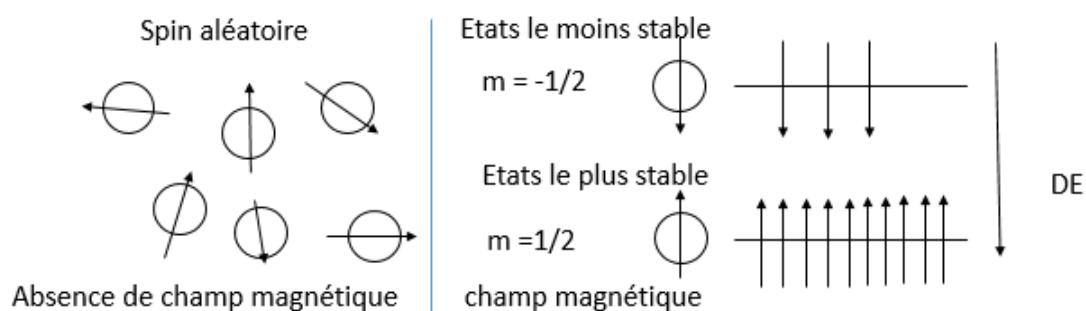


## VI. SPECTROSCOPIE A RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE

Spectroscopie a résonance magnétique nucléaire RMN est la propriété de certains noyaux atomique possèdent un spin nucléaire places dans un champ magnétique. C'est le phénomène de résonance (le passage des noyaux d'un état énergétique favorable à un état énergétique défavorable). Le RMN plus puissante que IR car il donne plusieurs information qui permet de déterminer la structure d'une molécule organique. Il utilise beaucoup plus H1 (RMN du proton) pour la collection des informations concernes bien entendu les groupes portant de l'hydrogène.

### 1. États de spin nucléaire

Retournement du spin nucléaire se fait par absorption d'un photon de fréquence  $\nu_0$ . On a une transition de l'état  $m = -1/2$  vers l'état  $m = 1/2$ . Il y a deux types de l'état de spin :

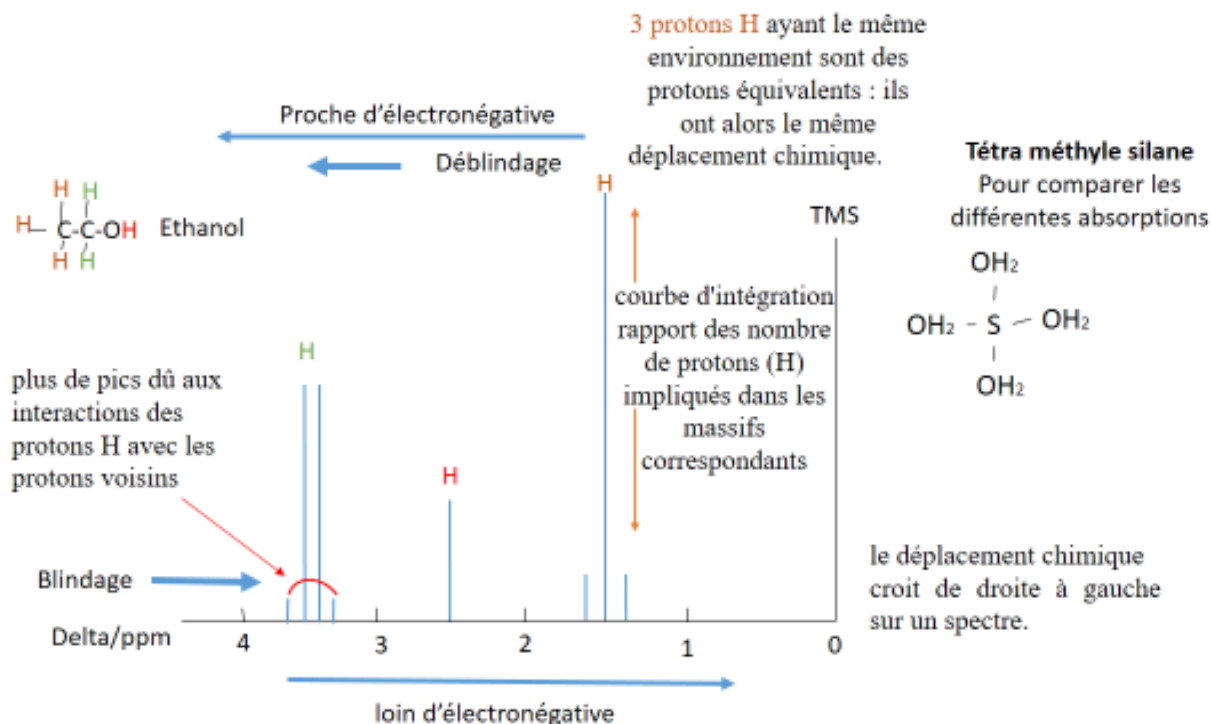


### 2. Molécule de référence

Pour comparer les différentes absorptions, on choisit un composé de référence, le tétra méthyl silane ou TMS. Ses 12 protons ont tous le même environnement et sont tous fortement blindés.

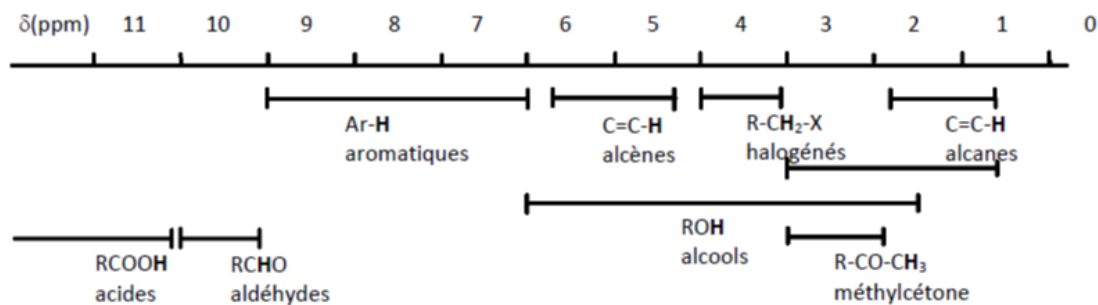
### 3. Déplacement chimique

Lorsque la molécule étudiée est proche de la référence le champ est croissance, et lorsque il est loin de la référence on détecte que la fréquence est croissance.



#### 4. Facteurs influençant le déplacement chimique

Des groupements voisins en chimie organique sont des facteurs influençant le déplacement chimique des divers environnements du proton.



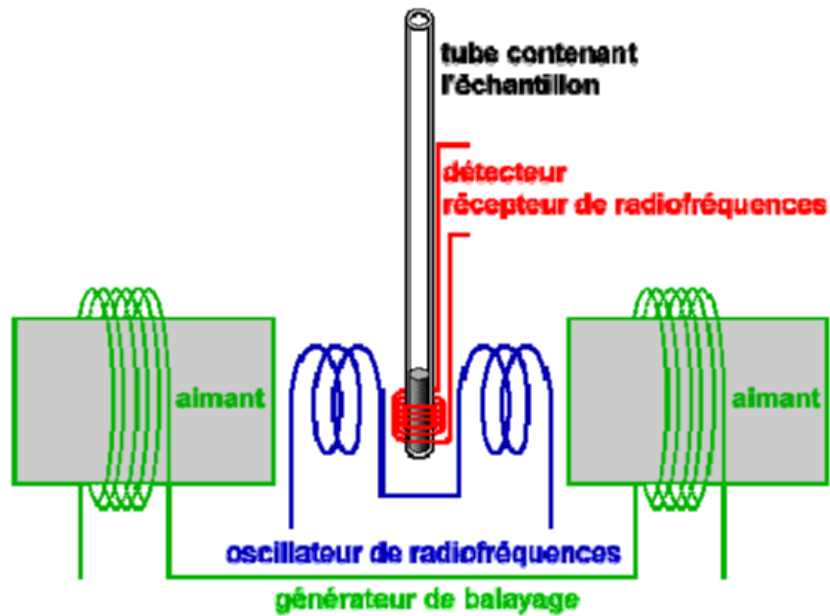
De façon générale :

- Les alcanes sont fortement blindés.
- Dans beaucoup de cas le déplacement chimique peut s'expliquer par l'électronégativité.
- Les groupes aromatiques induisent de fort déplacement chimique également mais ceci ne s'explique pas par l'électronégativité. Les déblindages s'effectuent

par circulation des électrons. La proximité d'un système aromatique diminue la densité d'électron autour des noyaux proches.

- Ces déplacements chimiques peuvent être très grands de l'ordre de 10 ppm.

**5. spectromètre R.M.N.**

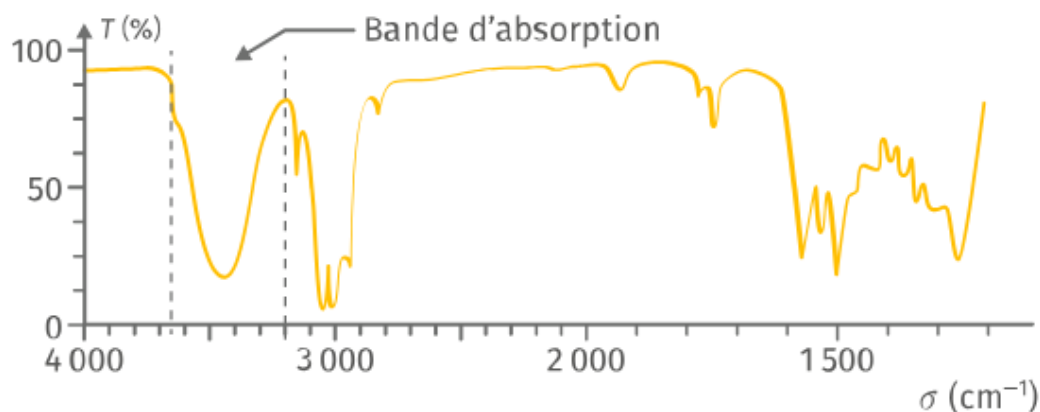


## VII. SPECTROSCOPIE A INFRAROUGE

Spectroscopie IR est une technique d'analyse de l'absorption de la lumière infrarouge par les molécules. Cette lumière permet de fait vibré les liaisons chimiques entre les atomes. L'absorption est liée à la vibration des liaisons qui permet d'identifier la nature des liaisons et les groupes caractéristiques.

### 1. La spectroscopie d'absorption infrarouge

Il représente la transmittance  $T$  en fonction du nombre d'onde. L'absorption de rayonnement se traduit par la présence de bandes d'absorption caractéristiques de certaines liaisons. L'identification de ces liaisons permet de déterminer les groupes caractéristiques présents dans la molécule et ainsi déterminer la famille à laquelle elle appartient.



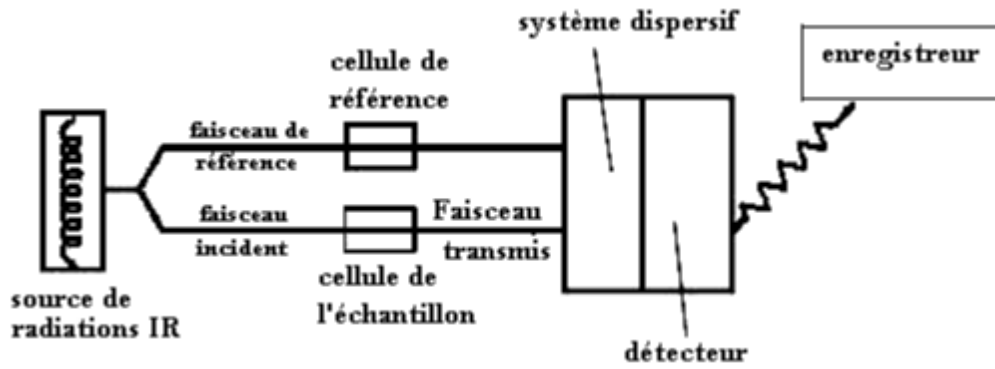
Liaison	Nombre d'ondes $\sigma$ ( $\text{cm}^{-1}$ )
O – H (sans liaison hydrogène)	3 580-3 650 (bande fine)
O – H (avec liaison hydrogène)	3 200-3 400 (bande large)
N – H	3 100-3 500
C – H	2 800-3 100
C – H <sub>aldéhyde</sub>	2 750-2 900

Liaison	Nombre d'ondes $\sigma$ ( $\text{cm}^{-1}$ )
O – H <sub>acide carboxylique</sub>	2 500-3 200
C = O <sub>ester</sub>	1 700-1 740
C = O <sub>aldéhyde, cétone</sub>	1 650-1 730
C = O <sub>acide</sub>	1 680-1 710
C = C	1 625-1 685

### 3. Types de spectromètres

Il existe deux grands types d'appareils. Leurs différences résident essentiellement dans le système de sélecteurs de longueurs d'onde.

#### 3.1. Spectromètres dispersifs



#### 3.2. Spectromètres à transformée de Fourier (FT-IR) (non dispersifs)

