

TRAVAUX PRATIQUES

De

SPECTROPHOTOMÉTRIE INFRAROUGE et de S.A.A

MOYEN INFRAROUGE (MIR) - (21 heures)

1. Prise en charge des spectrophotomètres infrarouges

① Pour les appareils MIR ALPHA & SPECTRUM 2 : (30 min)

- Vérification des conditions d'utilisation, énergie, etc... (à noter sur le CL)
- Prise en charge des logiciels d'acquisition de données.
- Spectre d'un film standard de polystyrène, position des bandes et comparaison avec celles données par la fiche étalon (NIST). Analyse du spectre.

② Sur ALPHA (30 min)

- Spectre d'un film standard de polystyrène, position des bandes et comparaison avec celles données par la fiche étalon (NIST). Analyse du spectre.

2. Analyse qualitative par transmission d'un liquide sur SPECTRUM 2 (2,5 heures)

- Contrôle de la qualité des fenêtres KBr d'analyse.
- Acquisition de 10 spectres de liquide purs.
- ☛ Écriture d'une procédure.
- Interprétation des spectres : utilisation de tables IR.
- Création d'une bibliothèque de spectres.
- Analyse d'un échantillon de mélange inconnu (cf partie 5).

3. Analyse qualitative par transmission d'un solide sur ALPHA (6,5 heures)

- Cas d'une poudre en milieu dispersant solide (poudre KBr).
- ☛ Écriture d'une procédure de pastillage.
- Interprétation des spectres : utilisation de tables IR.
- Recherche des conditions permettant d'obtenir une pastille optimisée.
- Contrôle qualité : test de conformité/étalon (reproductibilité).

① Le pastillage : contrôle de la conformité d'une pastille

☛ Matériel : moule à pastiller, broyeur, presse, pompe à vide
produits : KBr, parabènes, acide téréphtalique, ...

☛ Écrire une procédure complète de pastillage (pastille d'environ 300 mg)

- ☛ Optimisation de certains paramètres :
 - Quantité de PA dans la pastille 10 %, 5 %, 1 %, et 0,3 %.
 - temps de broyage (avec ou sans) ;
 - temps d'homogénéisation (avec ou sans) ;
 - durée d'application de la force (1 à 2 min) ;
 - force de pression (5, 8 et 12 t/cm²) ;

② Reproductibilité :

Chaque étudiant réalise 4 pastilles (3 dans le cas de trinôme) avec les paramètres bien établis et on effectue des mesures de masse et d'épaisseur de chaque pastille :

$$m_{\text{réelle}} = \frac{m_1 \cdot m_3}{m_1 + m_2},$$

avec m_1 : masse de PA mesurée ; m_2 : masse d'excipient mesurée ;
 m_3 : masse de la pastille réalisée et $m_{\text{réelle}}$: masse réelle de PA.

☛ Mesure de l'épaisseur e de chaque pastille à l'aide du micromètre électronique. Fournir le nuage de points $m_{\text{réelle}} = f(e)$, et $m_3 = f(e)$ en faisant apparaître les IC en masse et en épaisseur.

$$\begin{aligned} IC_{\min} &= \text{masse moyenne} - k_1 \times (\text{masse max} - \text{masse min}); \\ IC_{\max} &= \text{masse moyenne} + k_1 \times (\text{masse max} - \text{masse min}); \\ &\text{idem en épaisseur !} \end{aligned}$$

☛ Détermination du pourcentage de principe actif réel :

$$\% = (m_{\text{réelle}} \times 0,3 \%) / m_1$$

☛ Imprimer le spectre moyen ainsi que les spectres IC_{\min} et IC_{\max} (utilisation du calculateur spectral) :

$$\begin{aligned} IC_{\min} &= \text{Spectre moyen} - k_1 \times (\text{spectre max} - \text{spectre min}); \\ IC_{\max} &= \text{Spectre moyen} + k_1 \times (\text{spectre max} - \text{spectre min}); \end{aligned}$$

Valeurs de k_1 selon le nombre n de spectres réalisés :

nombre de détermination n	2	3	4	5	6	7	8	9
k_1 pour $\alpha=0,05$	6,343	1,230	0,710	0,500	0,395	0,330	0,283	0,250

Comparer les valeurs et Conclure.

4. Analyse qualitative et quantitative en réflexion totale atténuée (ATR sur TENSOR 27 ou sur ALPHA II) (5 heures)

- Utilisation d'un ATR PIKE monoréflexion (cristal diamant) :

* analyse quantitative : Réalisation d'une gamme de sucres en 6 points, puis dosage de la teneur totale en sucre dans une boisson commerciale (mesure en unité d'absorbance), faire deux ou trois mesures dépendant de la compatibilité métrologique (cf annexe métrologique).

Dans une solution aqueuse contenant un mélange des 3 sucres (saccharose, glucose et fructose) en concentrations égales, les bandes se recouvrent partiellement. On peut toutefois considérer que les nombres d'onde suivants sont attribués exclusivement à :

- **1063 cm⁻¹** : Fructose
- **1033 cm⁻¹** : Glucose
- **995 cm⁻¹** : Saccharose

Pour la gamme, les concentrations et masses de sucres pesées à la balance électronique sont les suivantes :

concentrations en mol.L ⁻¹	Fructose en g	Glucose en g	Saccharose en g
0,05	0,18016	0,18016	0,3423
0,1	0,36032	0,36032	0,6846
0,15	0,54048	0,54048	1,0269
0,2	0,72064	0,72064	1,3692
0,25	0,9008	0,9008	1,7115
0,3	1,08096	1,08096	2,0538

Pour les étalons de contrôles haut et bas, faire des pesées de façon à obtenir des concentrations de 0,08 mol.L⁻¹ et de 0,28 mol.L⁻¹.

Utiliser une méthode sur le domaine 900 – 1300 cm⁻¹ avec un minimum de 40 scan et une apodisation « légère ».

- Déterminer les limites de détection et de quantification pour chaque sucre. Faire une série de 10 spectres de l'eau. Faire le dosage aux trois nombres d'onde précédents. Donner une valeur moyenne notée \bar{b} ainsi que son écart-type $s(\bar{b})$.

Limite de détection :

$$L_D = \frac{3s(\bar{b})}{a}$$

Limite de quantification :

$$L_Q = \frac{10s(\bar{b})}{a}$$

Avec «a» : le coefficient directeur de la droite d'étalonnage ;

5. Analyse quantitative par transmission d'un liquide sur SPECTRUM 2 (4 heures)

- Identification et quantification des constituants d'un mélange liquide.
- Mesure d'une épaisseur de cellule (utilisation de spacers). Utilisation de fenêtres KBr, ZnSe, Si ou KRS-5. Choix du bon spacer.

Analyse monovariée : passage de la gamme et de l'inconnue.

- Gamme d'étalonnage : utilisation de 2 bandes caractéristiques (une bande par composé). Tracé de 2 droites $A = f(C)$, choix de la meilleure droite d'étalonnage.

(Utilisation d'un éventuel solvant si problème de saturation). Lors du passage de la gamme, la cellule n'est pas démontée mais doit être nettoyée à l'aide de 2 seringues et séchée à l'étuve pendant 5 min.

On peut utiliser aussi la méthode pour laquelle on démonte la cellule entre chaque analyse, nettoyage, remontage et analyse.

- Dosage de l'inconnue.

PROCHE INFRAROUGE (NIR) - (7 heures par binômes)**6. Analyse qualitative en PIR sur le MPA (7 heures)**

- **Analyse multivariée** : (cf procédure sur MPA)
 - Initiation à la création d'un modèle :
 - * importance de l'échantillonnage d'un mélange d'alcools
 - * constitution de lots : dendogramme
 - Test de conformité/contrôle-qualité sur un mélange d'alcools (propan-1-ol et propan-2-ol) ;
 - Discrimination.
- Dans chaque cas, élaboration d'au moins 6 méthodes d'analyse (**sans pré-traitement**, en **normalisation vectorielle** et en **dérivée 1^{ère}** sur tout le spectre, puis sur une bande particulière).
- Analyse cluster sur 3 alcools (méthanol, éthanol et butan-2-ol);
- Dans chaque cas, élaboration d'au moins 6 méthodes d'analyse (**sans pré-traitement**, en **normalisation vectorielle** et en **dérivée 1^{ère}** sur tout le spectre, puis sur une bande particulière).
- Analyse d'une inconnue : Test cluster.

7. Analyse quantitative en PIR sur le MPA (7 heures)

- **Analyse multivariée** : (cf procédure sur MPA)
 - Création d'un modèle sur un mélange de talc + glucose ; (création de méthode QUANT2)
 - * calibration et validation (**validation croisée** et **test de set de validation**) ;
 - * recherche de l'erreur de prédiction minimale RMSECV et RMSEE, en validation croisée ;
 - * recherche de l'erreur de prédiction minimale RMSEP et RMSEE en test du set de validation ;
- Dans chaque cas, élaboration d'au moins 6 méthodes d'analyse (**sans pré-traitement**, en **normalisation vectorielle** et en **dérivée 1^{ère}** sur tout le spectre, puis sur la bande du talc).
- Analyse d'une inconnue, à l'aide de toutes les méthodes mises au point : Analyse QUANT2.

SPECTROPHOTOMÉTRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE ÉLECTROTHERMIQUE (SAA Four) - (2 heures)

Un binôme travaillera avec le dosage **Pb** alors que l'autre binôme du quadrinôme travaillera avec le dosage **Cu**.

- Identification des étapes de programmation four (cf procédure sur VARIAN AA 240)
- Courbe d'étalonnage
- Modélisation affine
- Tableau de résultats
- Détermination de la concentration moyenne
- Détermination de l'écart-type
- Test de valeurs aberrantes
- Calcul de IC_{bi} et expression probabiliste
- Étude de la justesse, répétabilité et exactitude
- Conclusion

ANNEXE MÉTROLOGIQUE

Pour l'analyse quantitative en ATR

On considère que les qualités de justesse et de fidélité des procédures de mesure utilisées ont été étudiées et reconnues

1. Vérification de la bonne exécution de la procédure

Lorsqu'un mesurage est effectué, deux types de vérification sont possibles afin de pouvoir accepter les valeurs mesurées obtenues pour des échantillons inconnus.

On peut effectuer, dans la même série de mesurages :

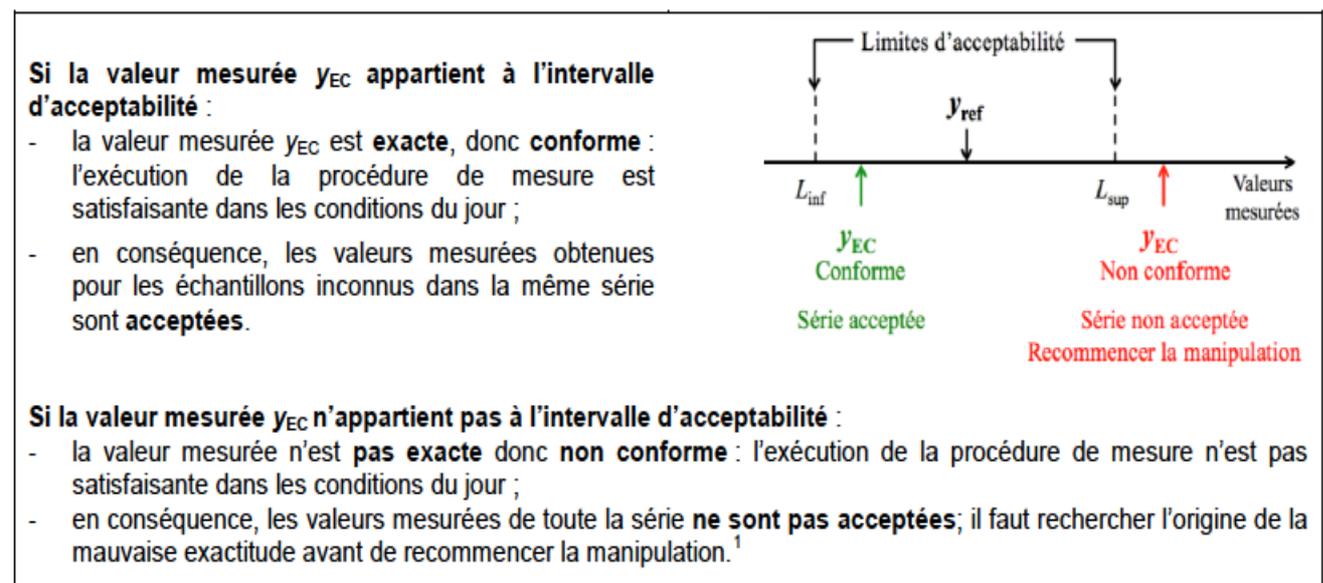
- un essai sur un ou plusieurs étalons de contrôle ; la valeur mesurée obtenue est notée y_{EC} .
- un, deux ou trois essais sur chacun des échantillons à doser.

1 Vérification de l'exactitude de mesure à l'aide d'un étalon de contrôle

On dispose d'un étalon de contrôle avec sa valeur conventionnelle (y_{ref}) ainsi que ses limites d'acceptabilité (L_{inf} et L_{sup}).

On recherche si la valeur mesurée (y_{EC}) est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité, soit :

$$L_{inf} < y_{EC} < L_{sup}.$$



$$L_{inf} = 90 \% y_{ref} \text{ et } L_{sup} = 110 \% y_{ref}.$$

2 Vérification de la compatibilité métrologique dans le cas de trois essais effectués en répétabilité

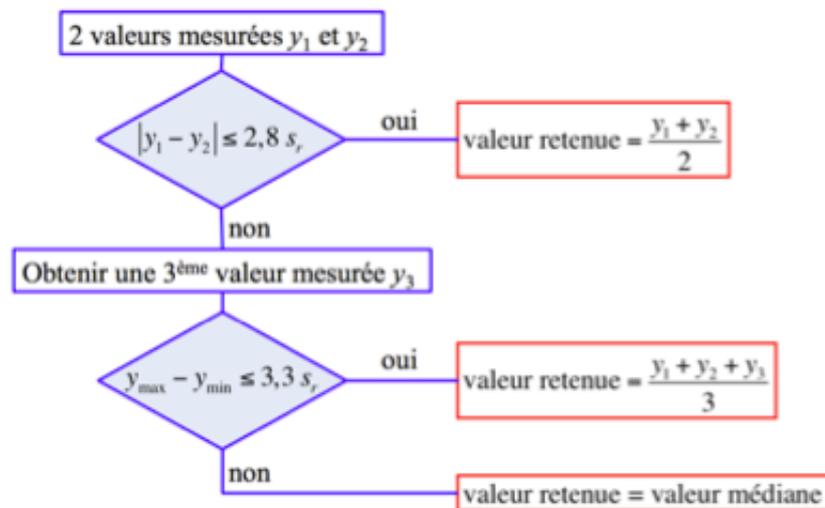
Le **coefficient de variation en répétabilité** est défini par la relation suivante :

$$CV_r = \frac{s_r}{C_{moy}}$$

On considérera que les valeurs sont répétables si $CV_r \leq 5\%$.

L'**écart-type de répétabilité** s_r se détermine donc par $s_r = CV_r \cdot C_{moy}$.

Ensuite on utilise le logigramme suivant (dans le cas où, il faudrait réaliser une 3^{ème} mesure, il faut au préalable recalculer C_{moy} et s_r) :



Logigramme de compatibilité en répétabilité à 2 ou 3 valeurs

Utilisation du logigramme

- Si, pour des raisons matérielles, il n'est pas possible de réaliser un troisième essai alors que celui-ci serait nécessaire, la moyenne ne sera pas effectuée et un résultat sera rendu pour l'un des essais.
- Ce logigramme ne peut, en aucun cas, être utilisé pour des numérations sur une suspension.

