

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Projet de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme de

LICENCE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie

Thème

**Etude et mise en marche d'un
appareil spectroscopique UV-vis**

PAR: GHERASLIA Lamia

BOUASRIA Fatima

Jury :

M. HADJ SAYED Abdelkader

Maître de conférences B

Univ. Ghardaïa

Encadreur

M. ADAMOU Yousef

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Examineur

Année universitaire 2013/2014

Dédicace Lamia

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et du but.

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie ma mère

BOUABDELLI Leila le symbole de tendresse,

A mon chère amie et mon binôme Lamia, j'espère de tout mon cœur que notre fraternité et notre amitié durera éternellement.

A mes adorables sœurs Sabrina, Nawel, et mes belles sœurs

LASGAA 'Fairoz, Naima.

A ma chère amie BOUASRIA 'Fatima

A mon frère Brahim et mes beaux frères LASGAA OMAR,

Mohamed, Youssef

A mes amies: HAMEL Noussiba, SOUCI Majda, DJAADJ 'Fadila, LEZHARI Cherifa, AZOUZ 'Fatna, HAMEL Marawa, HANICHI; ZIDI Hamza, Meriem à 'Fairouz, Abla, Sabrina,...

À mes cousines : BOUABDELLI Manel, 'Ferial, Samar, Lina, Meriem; CHAHBOUNJ Nawel, Wafa, Meriem; BOURENAME 'Farah.

A mes cousins BOUABDELLI Djounid, Chahine, Abdelmalek, Ali, 'Ihab;

NOUZZI Gyles, 'Farouk, 'Tarek, 'Chouki; CHAHBOUNJ Amine;

BOURENAME Karim, Hakim, Mohamed

Toute la grande famille GHERASLIA

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime.

Je dédie ce travail.

Dédicace Fatima

*A mes parents : Mohamed BOUASRA et Amina ELFATMA
Grâce à leurs encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice qui m'a permis de poursuivre mes études.
Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.*

Qu'Allah leur procure bonne santé et longue vie.

A ma chère sœur Zineb et mes chers frères Bachir, Abderezak, Abdessalem, Abdelkader, Abdeljalil, Abdessamed.

Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux plein de bonheur et de succès.

A mon chère amie et mon binôme Lamia, j'espère de tout mon cœur que notre fraternité et notre amitié durera éternellement.

A toute ma famille. BOUASRA, et ELFATMA

A mes cousines Amira, Mofida, Aya, Sabah, Karima, Imen, Hayet.

*A mes chère amie Nedjet KOUDDI et sa sœur Khadidja BELLI,
et SUCCI Majda, Noussaiba HAMEL, Cherifa LEZHARI
Khadidja, khaldiya, Hanan .*

A tous mes professeurs.

A tous mes amies et mes collègues Sabrina ANTAR, Abba BENSABA, Marwa HAMEL, Meriem

HANNACHI, Imen HAMEL pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble. , ,

Je dédie ce travail à toutes les personnes chères à mon cœur, qu'elles trouvent ici l'expression de toute ma gratitude et mon amour.

REMERCIEMENTS

La rigueur scientifique et les exigences d'un travail de recherche sont souvent au-delà des seules capacités de l'étudiant. Ceci dit, il serait audacieux pour nous d'entrer dans le vif du sujet sans remercier ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce modeste travail.

- M. HADJ SAYED Abdelkader chef département science et technique, De l'université de Ghardaïa pour avoir accepté de diriger nos travaux et qui a proposé le thème de ce mémoire, pour ses conseils et ses directives du début à la fin.
- Notre remerciement va également à l'Enseignant, BELHADJ AISSA Rachid de l'université KASDI Merbeh Ouargla.
- Tous les enseignants du Département sciences et technologie et particulièrement à Mme BOUAMEUR Kheira, et tous les enseignants du département de biologie de faculté de Ghardaïa
- Tout le personnel du laboratoire de chimie pour l'aide précieuse et surtout à la technicienne du laboratoire Mlle BOURTIMA Meriem
- Tous les camarades de la promotion biochimie 2014 pour les sympathiques moments passés ensemble.
- Notre remerciement va également à M. MEDAKENE Ahmed pour ses conseils ainsi que pour son soutien moral.
- À tout ceux que nous avons omis de citer et qui nous ont soutenus et aidés.

Sommaire

- Introduction	04
----------------	----

Chapitre I

1- Définition	06
2- Les différents types de spectrométrie	09
2-1 Spectrométrie d'absorption	09
2-2 Spectrométrie d'émission	11
2-3 Spectrométrie de diffusion Raman	13
2-4 Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire	14
2-5 Spectrométrie de masse	15
2-6 La spectrométrie de mobilité ionique IMS	16
3- Rayonnement électromagnétique	17
4- Spectroscopie d'absorption dans l'UV-visible	19
5- Domaine spectral	21
6- PRINCIPE	23
6-1 L'absorption	23
6-2 L'émission	23
6-3 Transition électromagnétique	24
6-3-1 Transitions $\sigma - \sigma^*$	24
6-3-2 Transitions $n - \sigma^*$	24
6-3-3 Transitions $n - \pi^*$	25
6-3-4 Transitions $\pi - \pi^*$	25
7- Loi d'absorption de la lumière - loi de Beer-Lambert	26
7-1 Validité de la loi de Beer-Lambert	27

Chapitre II

Matériel et Méthode :	29
1- Appareillage	29
2- caractéristiques du spectrophotomètre Spectroscan 40:	29
2-1 Caractéristiques principales	29
2-2 Spécifications et fonctions principales	30
2-2-1 Caractéristiques principales	30
2-2-2 fonctions principale	31
2-2-3 fonctions principale	31
3- Mise en marche de l'appareil Spectroscan 40	32
3.1. Mode de mesure de balayage de longueur d'onde	32
3-2 Mode de mesure photométrique	32
3-3 Mode mesure quantitative	33
3-4 Mode de mesure cinétique	33
3-5 Mode de mesure ADN /protéine	33

4-Méthode	34
4-1 Protocol d'étalonnage	34
4-2 Mesure de la concentration des ions ammonium dans l'échantillon	35

Chapitre III

1. Résultat et Discussion :	38
a) Courbe d'étalonnage	38
b) Résultat de mesures	39
Conclusion	41

RESUME

Le présent travail consiste à l'essai et à la mise en marche d'un appareil de spectroscopie UV-visible. Nous avons définis l'appareil et mise en évidence ces caractéristiques techniques, son mode d'utilisation et nous avons testé son fonctionnement par un exemple pratique consistant à un contrôle de la qualité de l'eau de robinet en ce qui concerne la détermination du taux d'ammonium. Pour cela une courbe d'étalonnage pour différentes concentration d'ammonium a été dressée en vue de mesurer la concentration dans l'échantillon considéré. Les résultats révèlent une quantité en ions ammonium de l'ordre de 0,023 mg/l dans l'échantillon analysé qui est acceptable en comparaison aux normes de qualité requises.

Mots clés : UV-visible, spectrométrie, mise en marche, analyse.

Liste des figures

Figure 01 : spectre continu (GILLET, 2003)	07
Figure 02 : spectre discontinu (GILLET, 2003)	07
Figure 03 : spectre combiné (GILLET, 2003)	08
Figure 04 : Les 3 principales raies (GILLET, 2003)	08
Figure 05 : Illustration du faisceau de lumière incident I_0 traversant une cuvette contenant l'échantillon étudié. Le faisceau sortant est désigné I. (STPHANE, 2008)	09
Figure 06 : spectre d'absorption du 4-méthylpent-3-én-2-one (STPHANE, 2008)	10
Figure 07 : Exemple de spectre d'IR de l'éthanol (TEIXEIRA., 1994)	11
Figure 08 : Exemple de raies d'émission, cas de sodium (HEULLEU, 2010)	12
Figure 09 : Exemple de spectre de méthane dans la spectrométrie Raman (LAURENT, 2011)	14
Figure 10 : Spectre RMN de l'éthanoate de méthyle (SOUAD, 2008)	15
Figure 11 : Exemple de spectre de masse à partir de l'ester méthylique (JESSI, 2009)	16
Figure 12 : La spectrométrie à mobilité ionique (DUGOURD, 2011)	17
Figure 13 : Domaines particuliers du rayonnement électromagnétique (MARSAT, 2008)	18
Figure 14 : spectre d'absorption UV-vis (GALEZ, 2011)	19
Figure 15 : spectre d'absorption d'un composé organique. (JACOB, 2007)	20
Figure 16 : Exemple de transition $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ (JACOB, 2007)	21
Figure 17 : domaine visible des radiations électromagnétiques (STPHANE, 2008)	22
Figure 18 : Transitions électroniques (FRANCIS, 2011)	24
Figure 19 :: Loi d'absorption de la lumière - loi de beer-Lambert (GUEDIRA, 2011)	26
Figure 20 : Le spectrophotomètre spectroscan 40	29
Figure 21 : Courbe d'étalonnage des ions ammonium dans l'eau	38

Liste des tableaux

Tableau01 : Unités des de spectres dans l’ultraviolet. (STPHANE , 2008)	21
Tableau 02 : Valeurs des concentrations des solutions étalons.	35
Tableau 03 : Valeurs des concentrations et d’absorbance des solutions étalons.	37
Tableau 04 : Résultat de mesure de la concentration d’ammonium de l’eau de robinet.	38
Tableau 05 : Les différentes normes de qualité des eaux.	38

- **Introduction :**

Les méthodes spectrométriques se décomposent globalement en deux grandes catégories, la spectrométrie des rayonnements qui elle-même regroupe la spectrométrie d'absorption, la spectrométrie d'émission, la spectrométrie de diffusion Raman et la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire et la spectrométrie de masse.

La spectroscopie et la spectrométrie des rayonnements regroupent un ensemble de méthodes d'analyse permettant d'accéder à la composition et à la structure de la matière fondées sur l'étude des spectres fournis par l'interaction des atomes et des molécules avec divers rayonnements électromagnétiques qu'ils émettent, absorbent ou diffusent. Selon leur énergie, les photons interagissent sélectivement avec les différents niveaux électroniques qui composent la structure électronique, atomique ou moléculaire.

L'une des méthodes les plus utilisées pour l'analyse et l'identification des composés organiques, la spectroscopie UV-visible.

Notre étude consiste à la mise en marche d'un appareil des mesures UV-visible (spectroscan 40) récemment acquis dans notre laboratoire de chimie

Nous avons ainsi présenté l'appareil et mis en évidence ses constituants et son mode d'utilisation.

Nous avons testé l'appareil par un exemple d'analyse de la qualité d'une eau de robinet en ce qui concerne la détermination de la concentration en ions ammonium après avoir élaboré une courbe d'étalonnage de ces ions dans de l'eau à différentes concentrations en ces ions.

Chapitre I

1. Définition :

La spectroscopie est l'étude du spectre électromagnétique d'un phénomène, visuellement (d'où le suffixe –scopie). Depuis un certain temps, maintenant, l'œil a été remplacé par différents types de détecteurs photoélectriques, moins subjectifs et il convient alors de parler de spectrométrie (le suffixe –métrie indiquant que l'on effectue une mesure et non une simple appréciation du phénomène). A de nombreux endroits de ce mémoire, il conviendrait donc de remplacer le terme « spectroscopie », par le terme plus exact de « spectrométrie » toutefois, les vieilles habitudes ayant la vie dure, il est courant de faire l'amalgame entre ces deux termes.

Quoiqu'il en soit, il nous reste à définir le spectre. Il s'agit de la distribution en énergie, puissance, intensité, absorbance, transmission, etc. (signal en général) en fonction de la longueur d'onde ou de la fréquence.

On distingue 4 types de spectres (GILLET, 2003) :

- 1- Les spectres continus, pour lesquels il existe un « signal » pour chaque longueur d'onde (ou fréquence), Ex: Figure 1.
- 2- Les spectres discontinus, ou spectres de raies, ou encore spectres discrets, qui ne disposent d'un signal que pour certaines fréquences (longueurs d'onde) spécifiques, caractéristique de la matière irradiante ou irradiée, Ex : figure2.
- 3- Les spectres combinés qui sont constitués d'une superposition d'un spectre continu et d'un spectre discret, Ex : figure3.
- 4- Les spectres de raies: certaines sources lumineuses, comme les lasers ou les diodes laser, n'émettent que dans de rares longueurs d'onde. Associées à des filtres à bande passante étroite, ces sources deviennent pratiquement monochromatiques, Ex : Figure4.

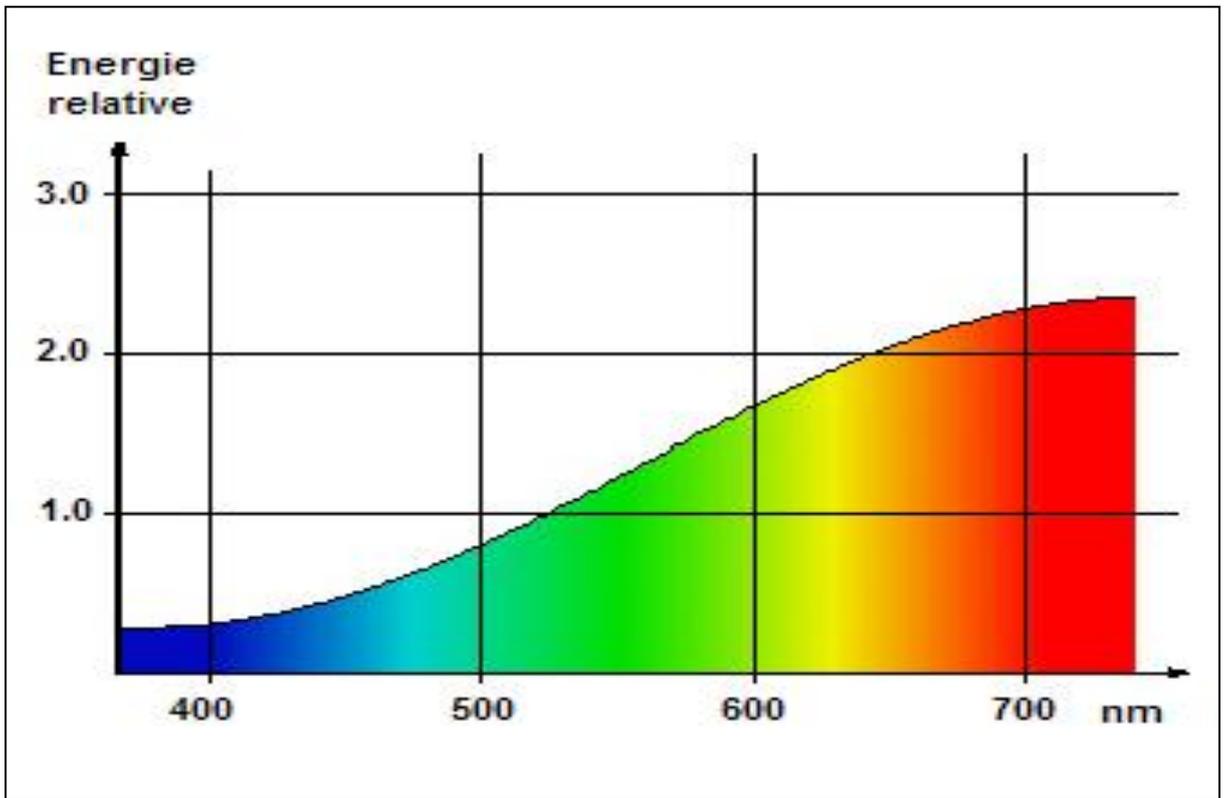


Figure 01 : spectre continu

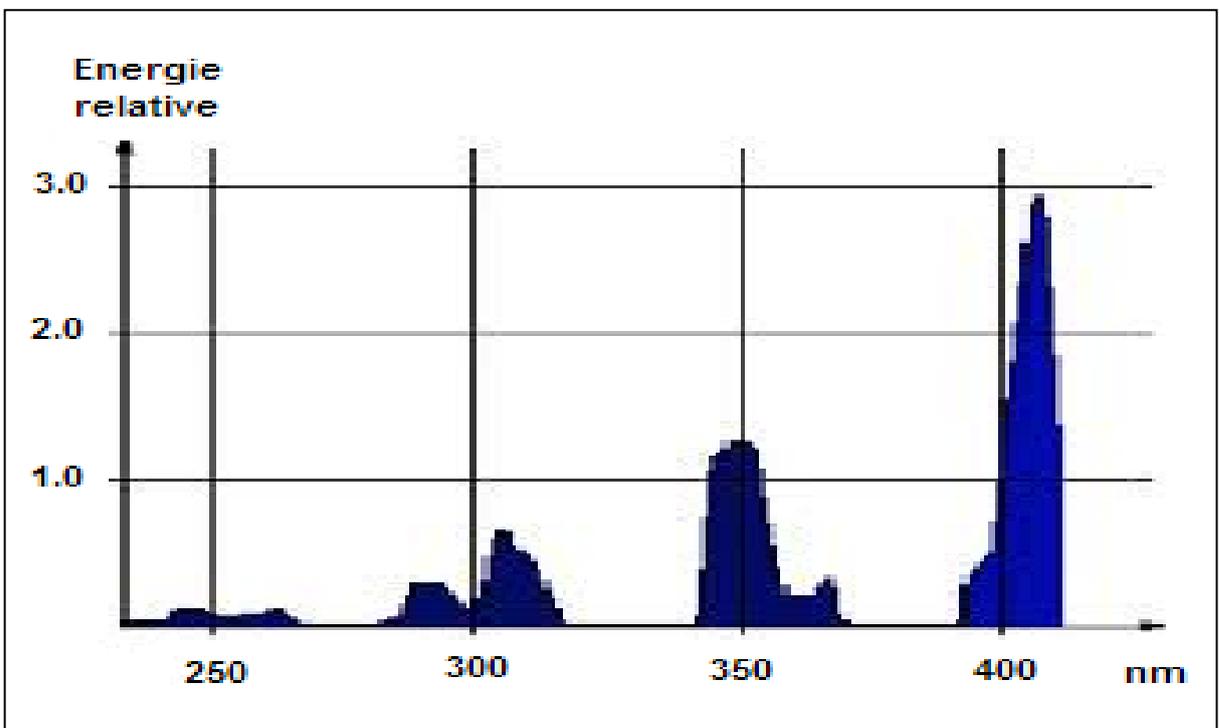


Figure 02 : spectre discontinu

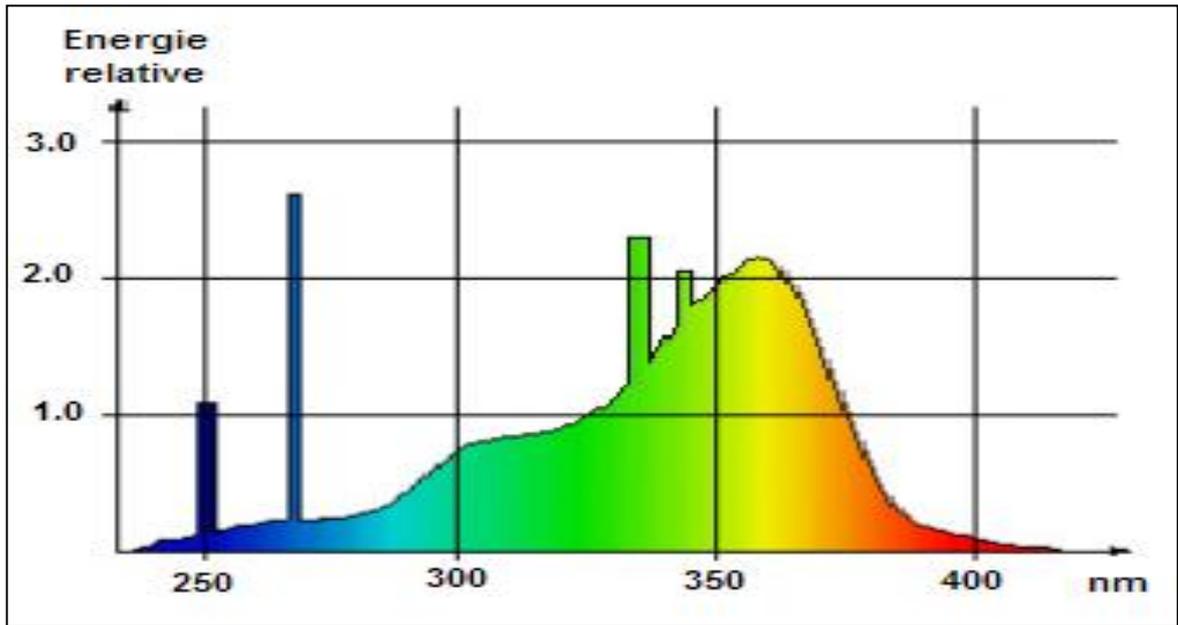


Figure 03 : spectre combiné

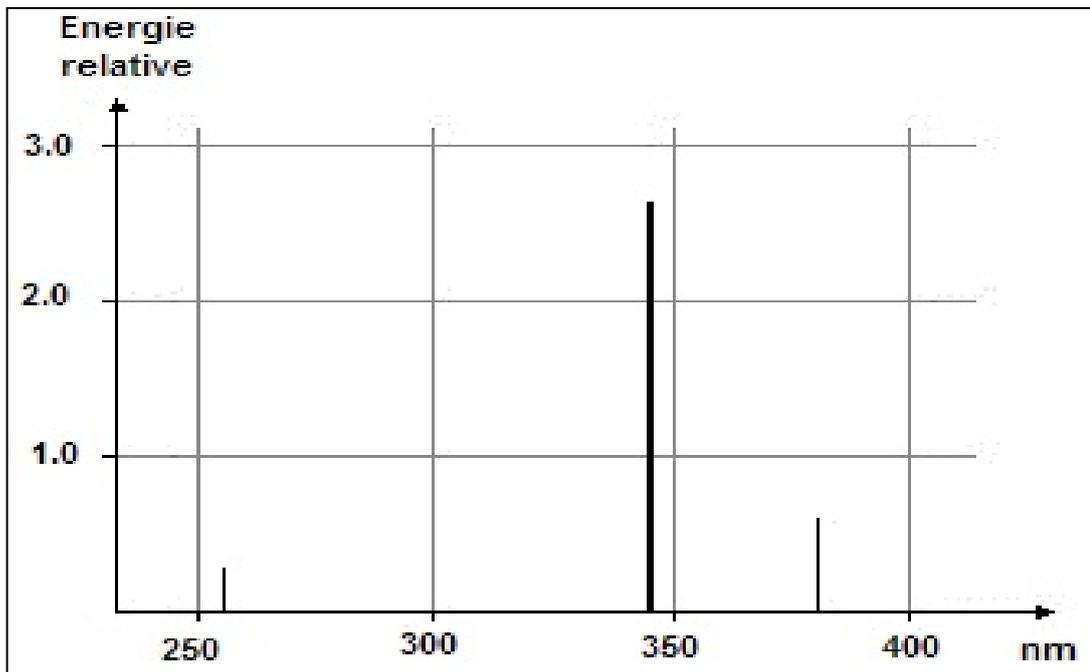


Figure 04 : Les 3 principales raies

2. Les différents types de spectrométrie

2.1 Spectrométrie d'absorption :

Les méthodes de spectroscopie fondées sur l'absorption utilisent la loi de Beer-Lambert, indiquant la proportionnalité entre l'intensité lumineuse absorbée et la quantité de matière absorbante :

$$A = \log (I_0 / I) = \epsilon l C$$

Où A est l'absorbance du milieu traversé par le rayonnement, I_0 l'intensité lumineuse incidente,

I l'intensité lumineuse transmise, ϵ le coefficient d'extinction molaire caractéristique de la substance étudiée à une longueur d'onde donnée en $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, l l'épaisseur traversée en cm et C la concentration en mole par litre. (Figure 5)

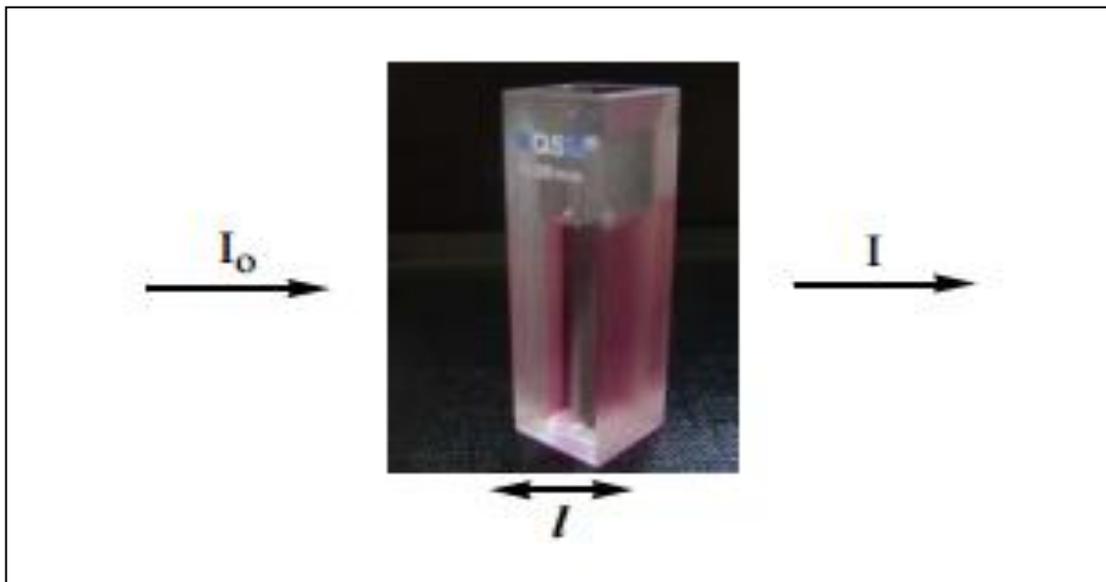


Figure 05 : Illustration du faisceau de lumière incident I_0 traversant une cuvette contenant l'échantillon étudié. Le faisceau sortant est désigné I.

(STPHANE, 2008)

En mesurant l'absorbance du milieu à une longueur d'onde donnée, il est donc possible de déterminer la concentration d'une substance dans un échantillon.

Dans un spectre d'absorption enregistré au moyen d'un spectromètre, les pics d'absorption correspondent aux longueurs d'onde que le milieu peut absorber. De même que le spectre de la lumière solaire est obtenu en la faisant passer par un prisme qui la décompose, les spectromètres

analysent la répartition spectrale de l'ensemble des rayonnements électromagnétiques en les séparant par longueur d'onde au moyen d'un réseau de diffraction par réflexion. Les spectres font apparaître des pics correspondant chacun à une longueur d'onde particulière.

Selon le type d'échantillon à analyser et le niveau de performances recherché, on utilise en laboratoire la spectrométrie d'absorption soit sur molécules en phase liquide ou gazeuse, soit sur vapeur atomique obtenue en décomposant thermiquement les échantillons liquides ou solides. La spectroscopie d'absorption moléculaire dans le domaine UV-visible est simple d'emploi mais ne s'applique qu'à des échantillons peu complexes car, du fait de la largeur des bandes d'absorption moléculaires, les spectres d'absorption ne permettent généralement pas de distinguer spécifiquement tous les composants d'un mélange complexe.

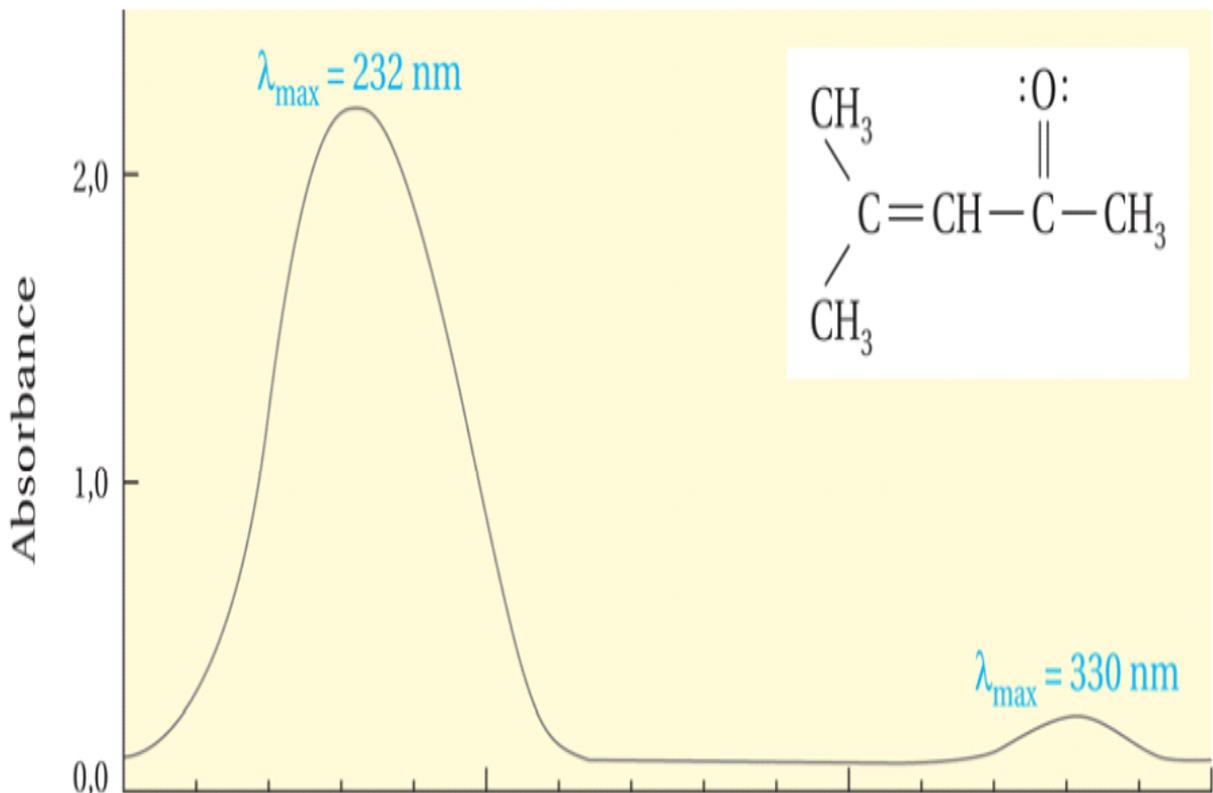


Figure 06 : spectre d'absorption du 4-méthylpent-3-én-2-one

(STPHANE, 2008)

En spectrométrie infrarouge (IR), l'absorption résulte des phénomènes de vibration et rotation des molécules. Les spectres d'absorption infrarouge permettent donc de déterminer la nature des

liaisons chimiques composant une molécule en accédant à la constante de rappel (comme un ressort remonte un poids) de la liaison et donc de confirmer des hypothèses structurales.

Lorsque le nombre d'atomes croît, le spectre devient rapidement complexe et l'interprétation devient très délicate, en particulier, pour les composés organiques.

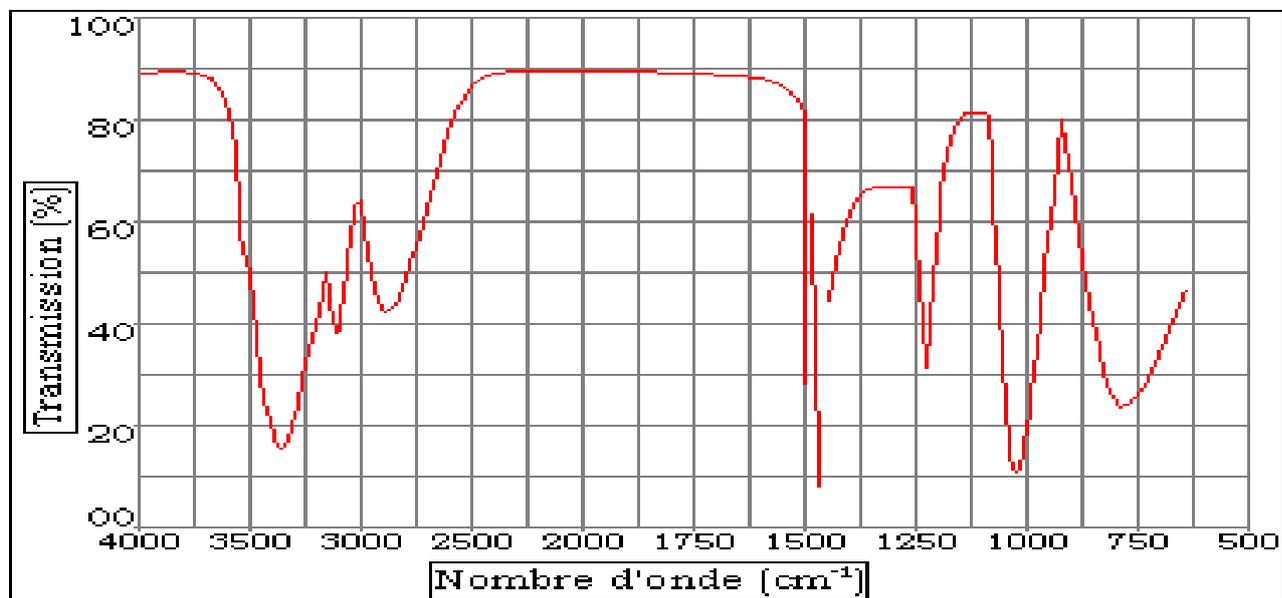


Figure 07 : Exemple de spectre d'IR de l'éthanol (TEIXEIRA, 1994)

La spectrométrie d'absorption atomique est de ce point de vue plus performant car les atomes absorbent avec des raies d'absorption très fines. Des mesures précises sont donc réalisables même lorsque l'échantillon est constitué d'un assemblage complexe d'éléments chimiques.

L'absorption atomique est une technique de référence pour l'analyse des éléments à l'état de traces dans une très grande variété d'échantillons, notamment biologiques.

(CALATHEA & R.OUAHEES, 2006)

2.2 Spectrométrie d'émission :

Les atomes ou molécules portés dans un état excité peuvent se désexciter en émettant un rayonnement appelé rayonnement d'émission. Lorsque l'excitation résulte de l'absorption sélective, par les atomes ou les molécules à analyser, d'un rayonnement électromagnétique, il s'agit d'émission de fluorescence (ou de phosphorescence selon l'état d'excitation électronique mis en jeu).

Comme pour l'absorption, la fluorescence peut être appliquée dans le domaine des rayonnements UV-visible aux molécules ou aux atomes. La spectrométrie de fluorescence X désigne quant à elle le rayonnement X émis par les atomes, excités par absorption d'un rayonnement X.

Les techniques de fluorescence sont plus complexes à mettre en œuvre que les techniques d'absorption car elles nécessitent que la particule à analyser soit excitée sélectivement par un rayonnement monochromatique. En revanche, comme le rayonnement émis est également spécifique de la particule, la spectrométrie de fluorescence présente une double sélectivité qui lui confère un très faible bruit de fond et la rend ainsi particulièrement bien adaptée à la mesure des très faibles concentrations.

L'émission de rayonnement peut également apparaître lorsque des atomes sont excités thermiquement dans un milieu porté à haute température. La spectroscopie d'émission est fondée sur le fait que les atomes ou les molécules excités à de hauts niveaux d'énergie se désexcitent vers des niveaux plus bas en émettant des radiations (émission ou luminescence). Elle se distingue de la spectrométrie de fluorescence par le fait que l'excitation n'est pas apportée de manière sélective, mais au contraire concerne indistinctement toutes les particules qui composent le milieu.

Les raies d'émission correspondent donc à des rayonnements émis directement par un corps porté à haute température et le spectre d'émission permet de déceler et de quantifier tous les atomes ou les molécules présentes dans la source d'émission. (THOMAS, 2007)

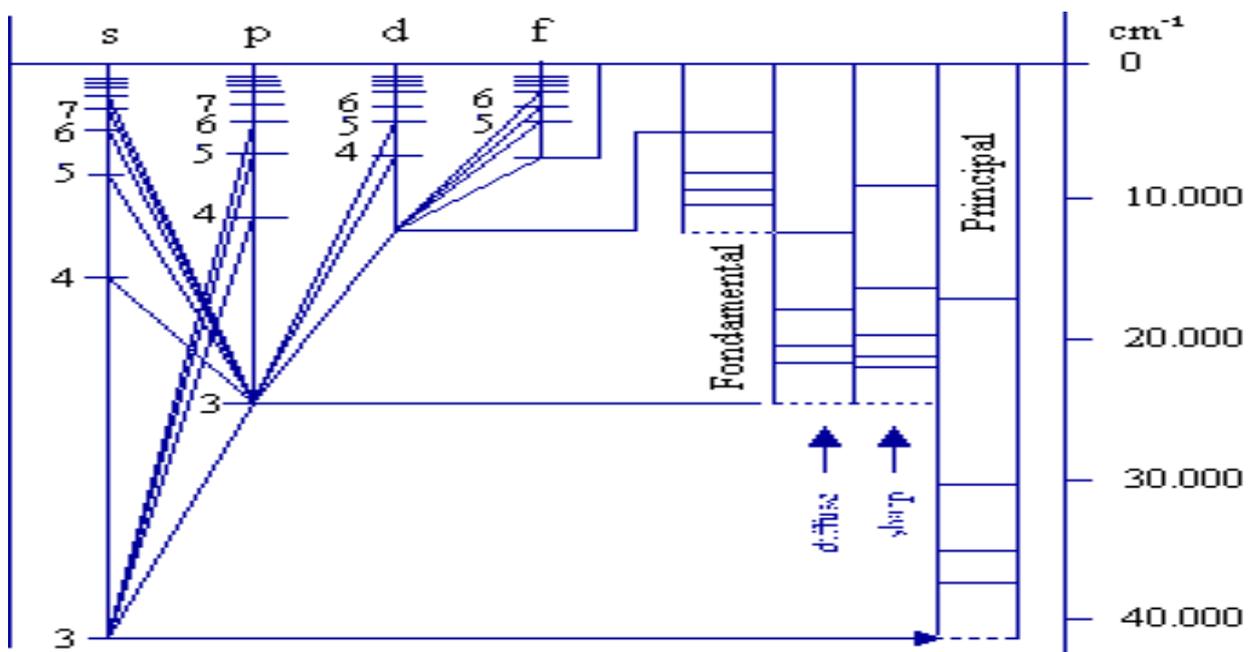


Figure 08 : Les raies d'émission, cas de sodium
(HELLEU, 2010)

2.3 Spectrométrie de diffusion Raman :

Les interactions entre la matière et les radiations électromagnétiques conduisent également à des phénomènes de diffusion comme la diffusion élastique et la diffusion inélastique. La diffusion peut avoir lieu à la rencontre d'une interface entre deux milieux ou à la traversée d'un milieu.

La spectrométrie Raman est une technique très utilisée pour l'analyse structurale en complément de la spectrométrie infrarouge et de la spectrométrie de masse.

Ce processus est le plus souvent "élastique", c'est-à-dire qu'il a lieu sans changement de fréquence des rayonnements composant le faisceau. La diffusion élastique du rayonnement solaire par l'atmosphère est, par exemple, responsable de la couleur bleue du ciel qui apparaît lorsque le regard n'est pas dirigé vers le soleil (effet Tyndall).

L'intensité diffusée est, en effet, d'autant plus forte que la longueur d'onde du rayonnement est courte ce qui, dans le spectre solaire, correspond au bleu.

En spectrométrie, la principale utilisation de la diffusion concerne la spectrométrie Raman. Il s'agit de la diffusion inélastique d'un rayonnement incident par les molécules qui composent l'échantillon. L'écart entre la fréquence du rayonnement diffusé et la fréquence du rayonnement incident permet d'identifier les liaisons chimiques mises en jeu. La spectrométrie Raman est une technique très utilisée pour l'analyse structurale en complément de la spectrométrie infrarouge et de la spectrométrie de masse. (LAURENT, 2011)

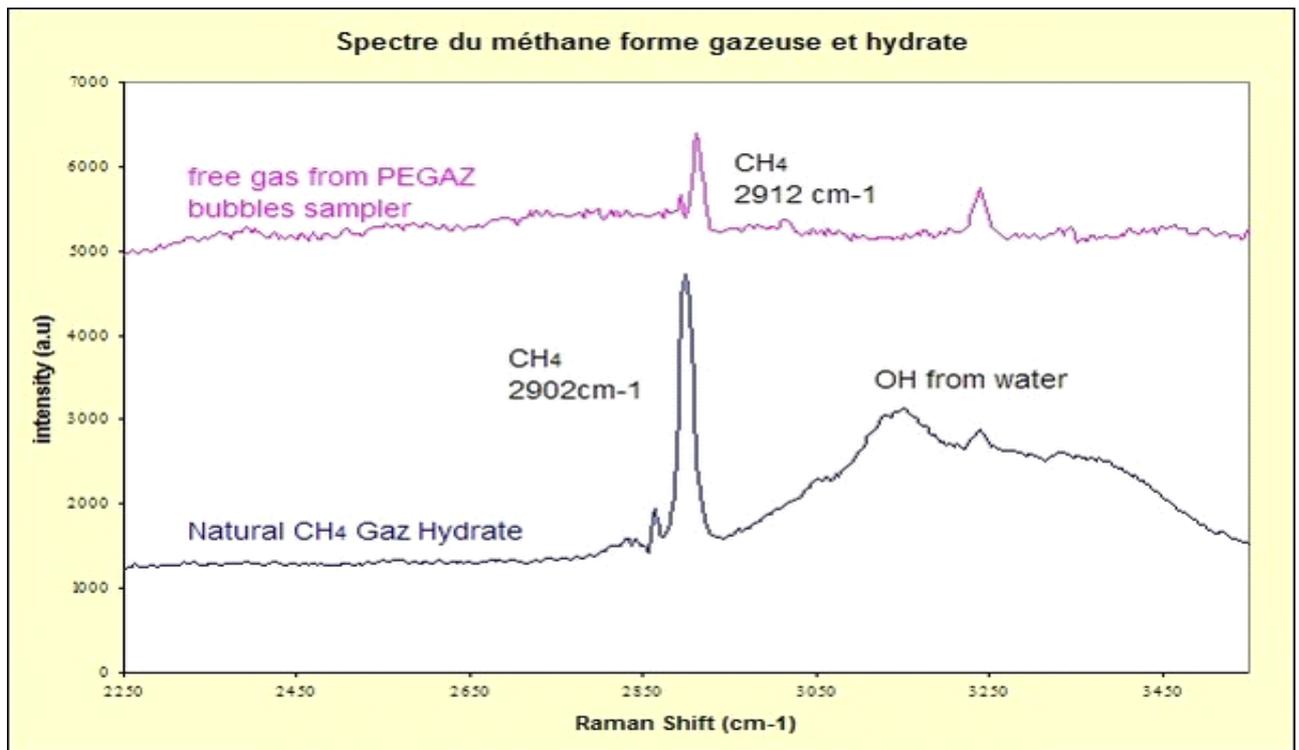


Figure 09 : Exemple de spectre de méthane dans la spectrométrie Raman
(LAURENT, 2011)

2.4 . Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire :

Le principe de la (RMN) est basé sur le fait qu'un atome possède un moment magnétique,

Le principe de la RMN consiste à induire et détecter la transition entre le moment magnétique nucléaire du niveau de plus basse énergie à celui de plus grande énergie par absorption d'un rayonnement électromagnétique dont la longueur d'onde se situe dans le domaine des radiofréquences lorsque l'énergie du photon correspond exactement à la différence d'énergie entre les deux niveaux, il y a absorption. Les noyaux dont le nombre de neutrons et de protons sont tous les deux pairs possèdent un spin nul. Les atomes de carbone 12 et d'oxygène 16 qui sont très répandus dans la nature ont ainsi un spin nucléaire nul. Par contre, l'hydrogène ne possède qu'un seul proton et son moment magnétique nucléaire est égal à 1/2 : il a donc deux états énergétiques possibles correspondant aux deux orientations possibles du spin par rapport au champ magnétique.

La mesure de la fréquence de résonance du champ électromagnétique qui permet le passage de l'un à l'autre des états d'énergie permet de faire l'analyse des molécules. (SOUAD, 2008)

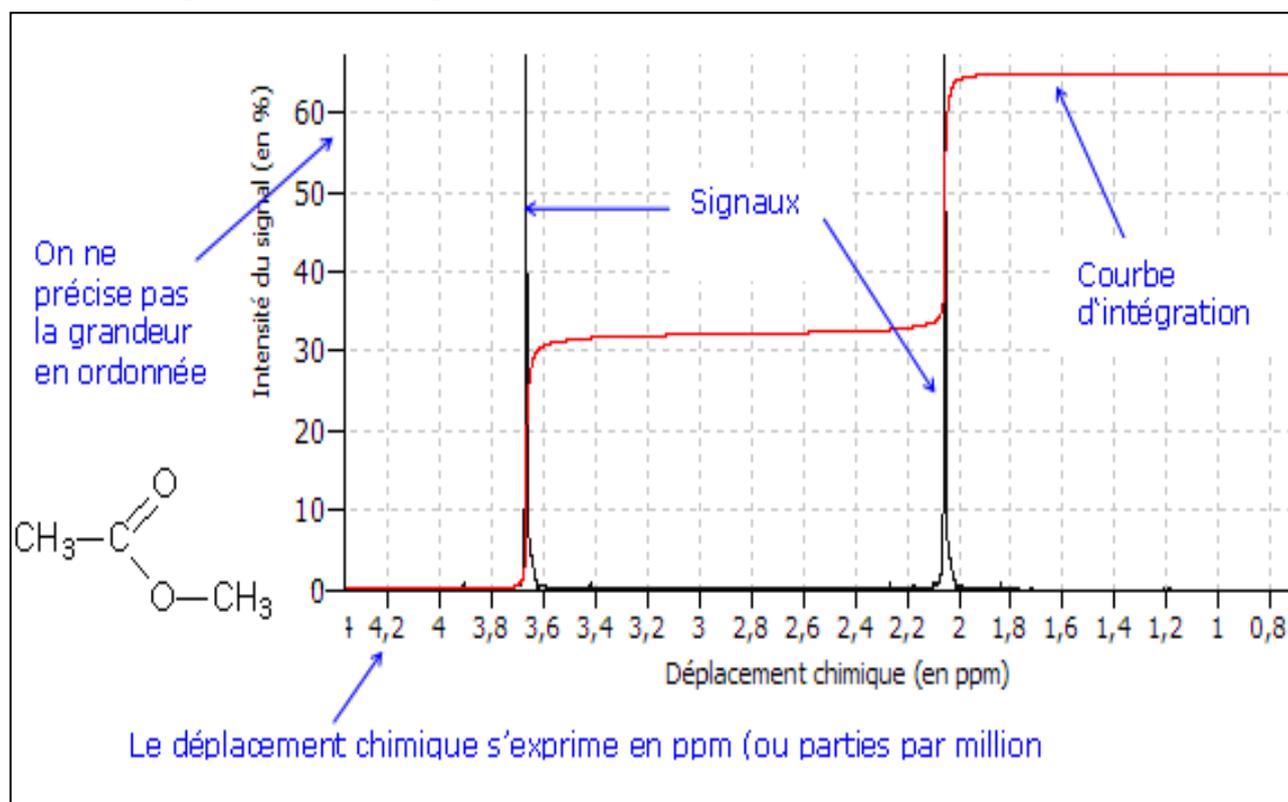


Figure 10 : Spectre RMN de l'éthanoate de méthyle

(SOUAD, 2008)

2.5 Spectrométrie de masse :

La spectrométrie de masse est une technique de détection et d'identification extrêmement sensible qui permet de déterminer les structures moléculaires et donc la composition de l'échantillon des ruptures des liaisons chimiques peuvent y former des ions fragments caractéristiques. Ceux-ci sont ensuite triés en fonction de leur rapport masse/charge dans un analyseur par l'application d'un champ magnétique et/ou électrique, puis collectés par un détecteur qui amplifie le signal associé aux ions qui arrivent en des temps différents. Un système de traitement des données transforme les informations du détecteur en un spectre de masse dont la lecture, par comparaison avec des spectres références, permet d'établir la carte d'identité de la molécule. (OULIVIER, 2009)

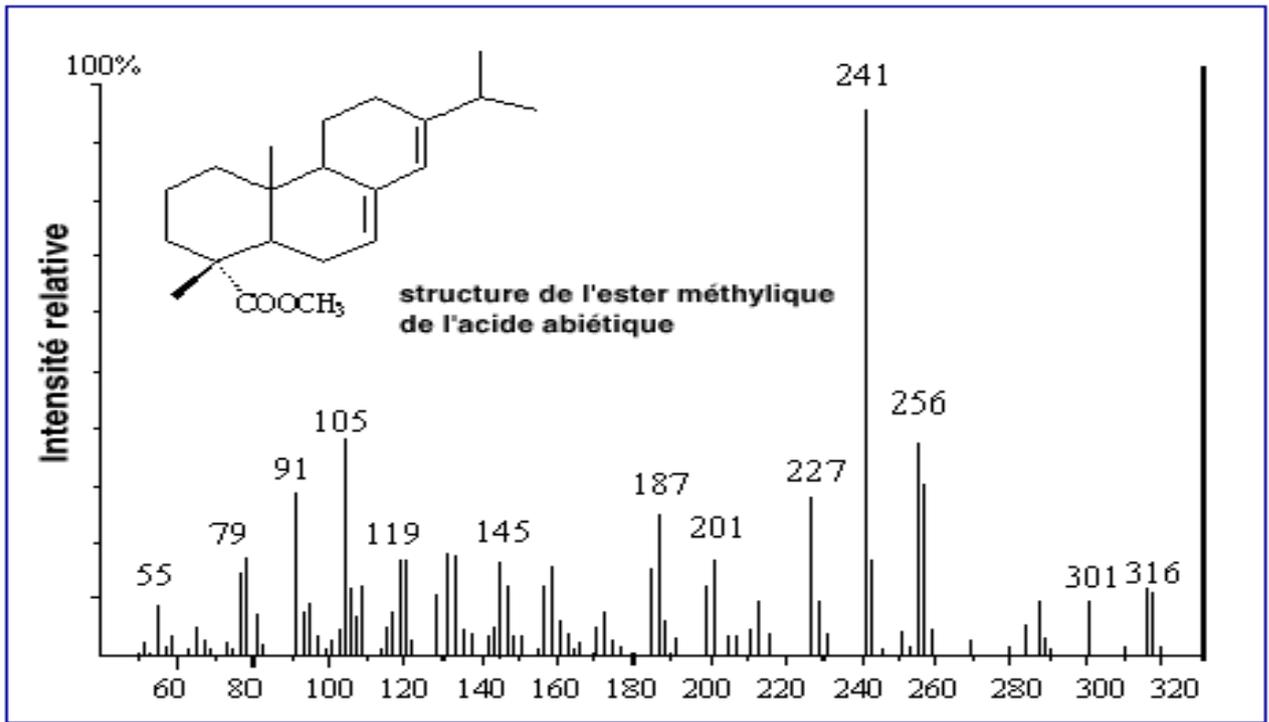


Figure 11 : Exemple de spectre de masse à partir de l'ester méthylique

(JESSIE., 2009)

2.6 La spectrométrie de mobilité ionique IMS :

(Ion mobility spectrometry) est une technique d'analyse chimique en phase gazeuse qui consiste à soumettre un gaz à un champ électrique. Les molécules ionisées acquièrent une vitesse caractéristique de l'ion car dépendant de la masse et de la charge. L'arrivée des ions sur une des plaques produisant le champ provoque un courant qui est enregistré. Il est possible de relier le temps au bout duquel un pic se produit avec la nature de l'ion l'ayant provoqué.

(DUGOURD, 2011)

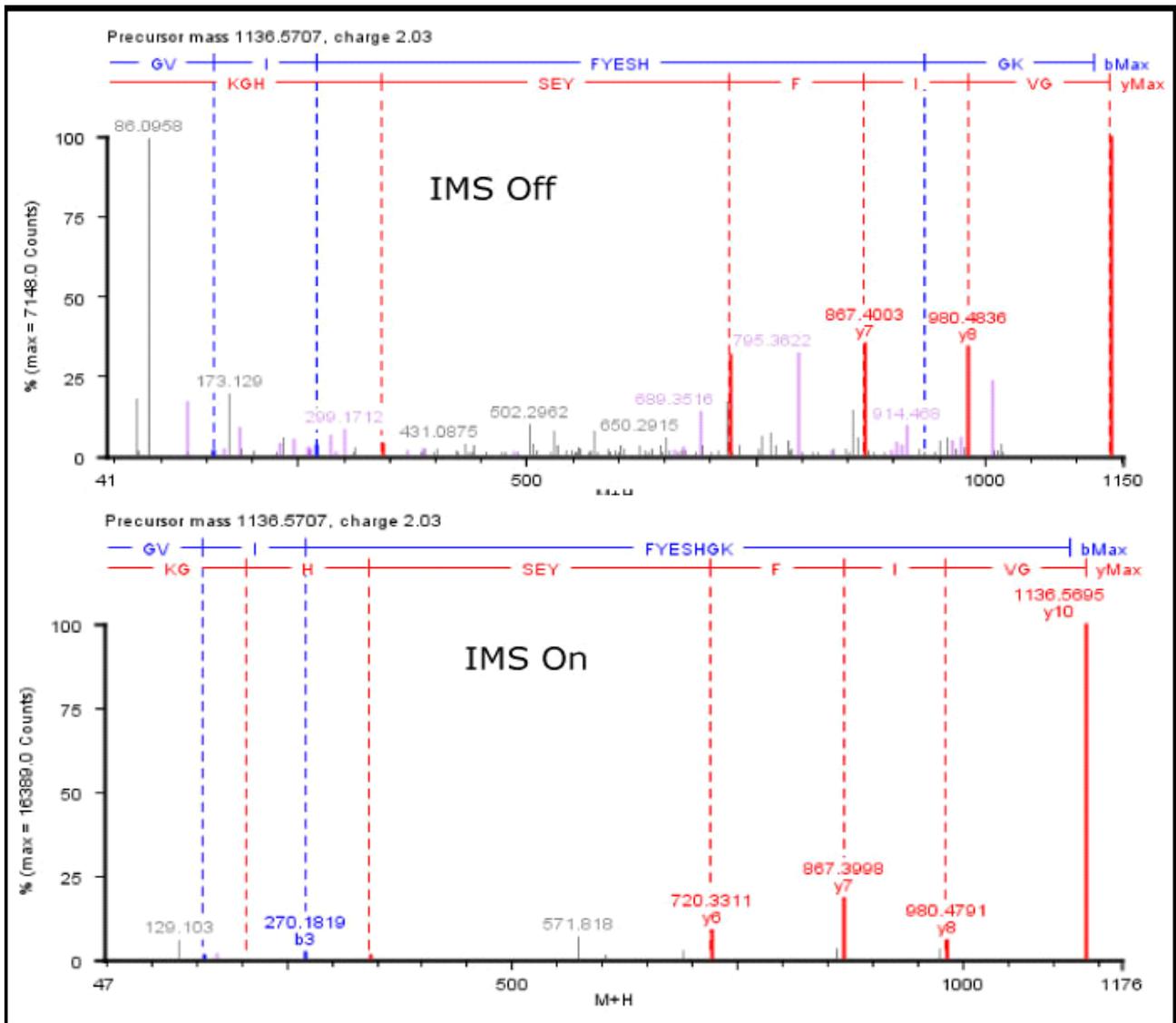


Figure 12 : La spectrométrie à mobilité ionique
(DUGOURD, 2011)

3. Rayonnement électromagnétique :

Le rayonnement électromagnétique, dont la lumière est un exemple, est une forme d'énergie constituée d'ondes, c'est-à-dire de phénomènes vibratoires caractérisés par : une vitesse de propagation (en l'occurrence $c = 3.108 \text{ m.s}^{-1}$, constante pour toutes les ondes électromagnétiques dans le vide), une fréquence ν (nombre de vibrations par seconde) et une longueur d'onde λ (distance parcourue pendant une vibration). Ces 3 longueurs sont liées par la relation $\lambda = c / \nu$. Bien qu'il y ait une continuité totale dans les valeurs possibles de longueur d'onde (ou de fréquence), on distingue (arbitrairement) sur cette base des domaines particuliers du rayonnement électromagnétique, comme indiqué sur la figure. Il est bon de rappeler également que l'énergie d'un rayonnement électromagnétique est liée à sa fréquence par la relation $E = h \cdot \nu$.

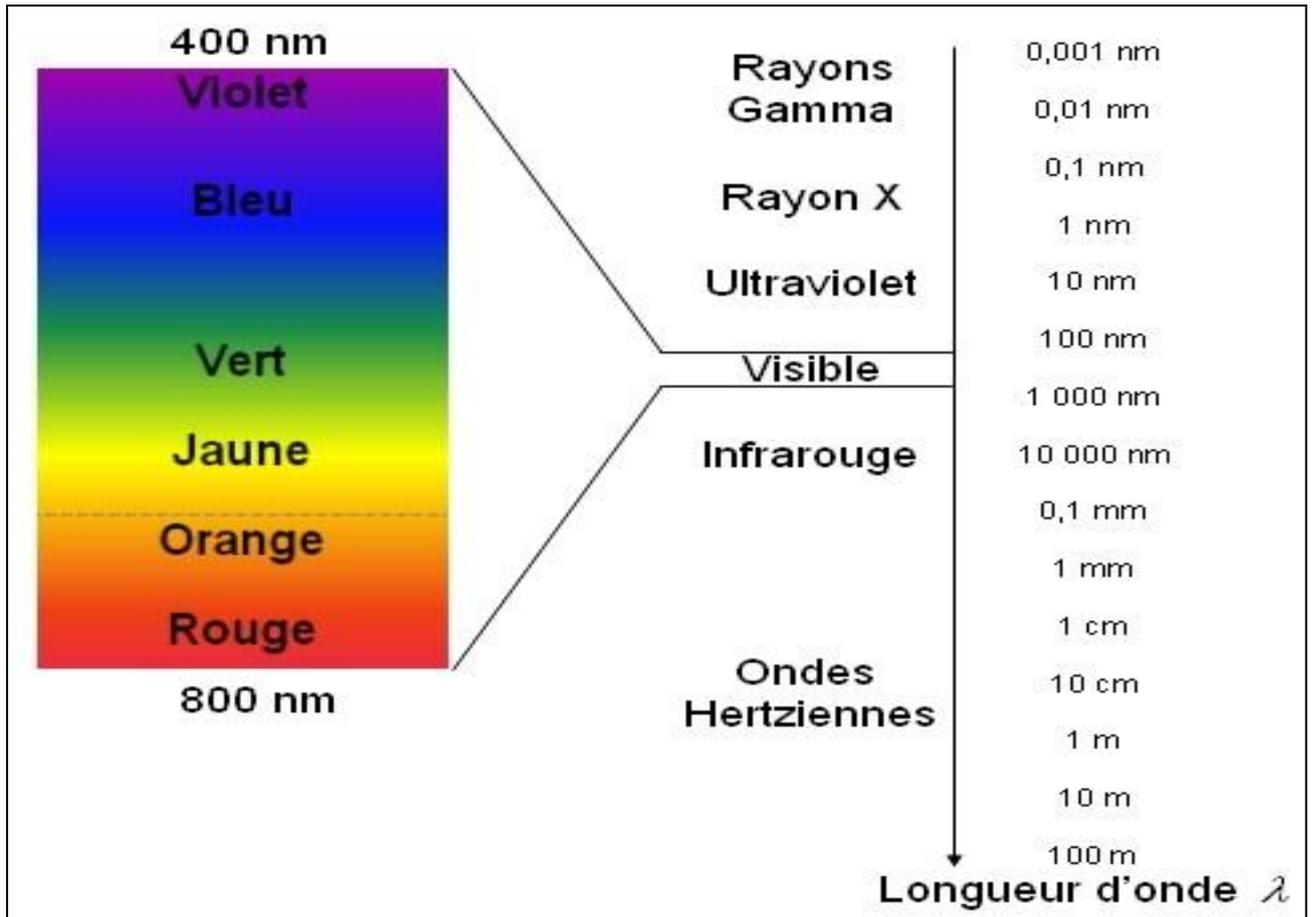


Figure 13 : Domaines particuliers du rayonnement électromagnétique (MARSAT, 2008)

A chacun des domaines particuliers du rayonnement électromagnétique, ou presque, correspond un type de spectroscopie qui repose sur une interaction particulière de la matière avec ce rayonnement. Ainsi pour le domaine :

Des rayons γ et des RX, le rayonnement est extrêmement énergétique et il va pouvoir affecter les électrons des orbitales atomiques de cœur. Ces Interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie γ et dans la fluorescence X.

Pour l'UV et le visible, le rayonnement est énergétique et il va pouvoir affecter les électrons des orbitales atomiques périphériques et/ou des orbitales moléculaires. Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie d'émission atomique (SEA), la spectroscopie d'absorption atomique (SAA) et la spectroscopie moléculaire (UV-vis).

De l'infra rouge (IR) le rayonnement est faiblement énergétique et ne peut affecter principalement que les modes de vibration des molécules. Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie IR et la spectroscopie Raman.

Concernant les micro-ondes, le rayonnement est très faiblement énergétique et ne peut affecter que les modes de rotation des molécules.

Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie micro-ondes. (JACOB, 2007)

4. Spectroscopie d'absorption dans l'UV-visible :

Ce type de spectroscopie repose principalement, pour les molécules organiques, sur des interactions entre les rayonnements électromagnétiques et les électrons des orbitales moléculaires, et plus spécifiquement des électrons π et des paires libres.

On appelle alors « chromophore » les groupes fonctionnels insaturés porteurs de tels électrons.

C'est une spectroscopie basée sur l'absorption du rayonnement électromagnétique et les spectres UV-vis seront en général représentés en Absorbance en fonction de la longueur d'onde (A vs λ).

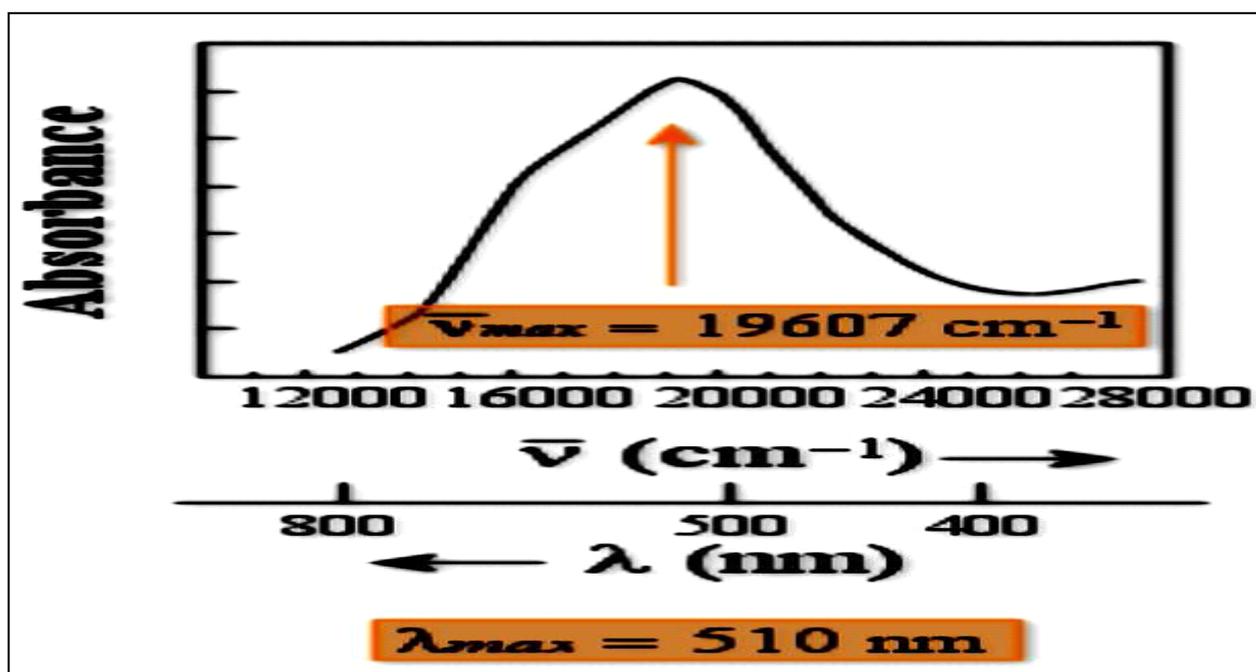


Figure 14 : spectre d'absorption UV-vis

(GALEZ,, 2011)

Dans la majeure partie des cas, les spectres UV-visibles sont continus et constitués de bandes larges (exception faite des spectres de lanthanides et actinides) qui correspondent à la superposition de transitions électroniques (fortement énergétiques), vibrationnelles (faiblement énergétiques) et de transitions rotationnelles (très faiblement énergétiques).

Ces spectres présentent un ou plusieurs maximum(s) d'absorbance, auquel correspond une longueur d'onde notée λ_{max} , qui sera, dans le cas des molécules organiques, plus ou moins caractéristique d'un certain motif de délocalisation des électrons.

Cela dit, les spectres UV-vis n'étant pas fins, de sorte que plusieurs molécules peuvent présenter le même spectre, ils ne servent en général pas à une identification des structures, mais se révèlent très pratiques au niveau des dosages. (GALEZ, 2011)

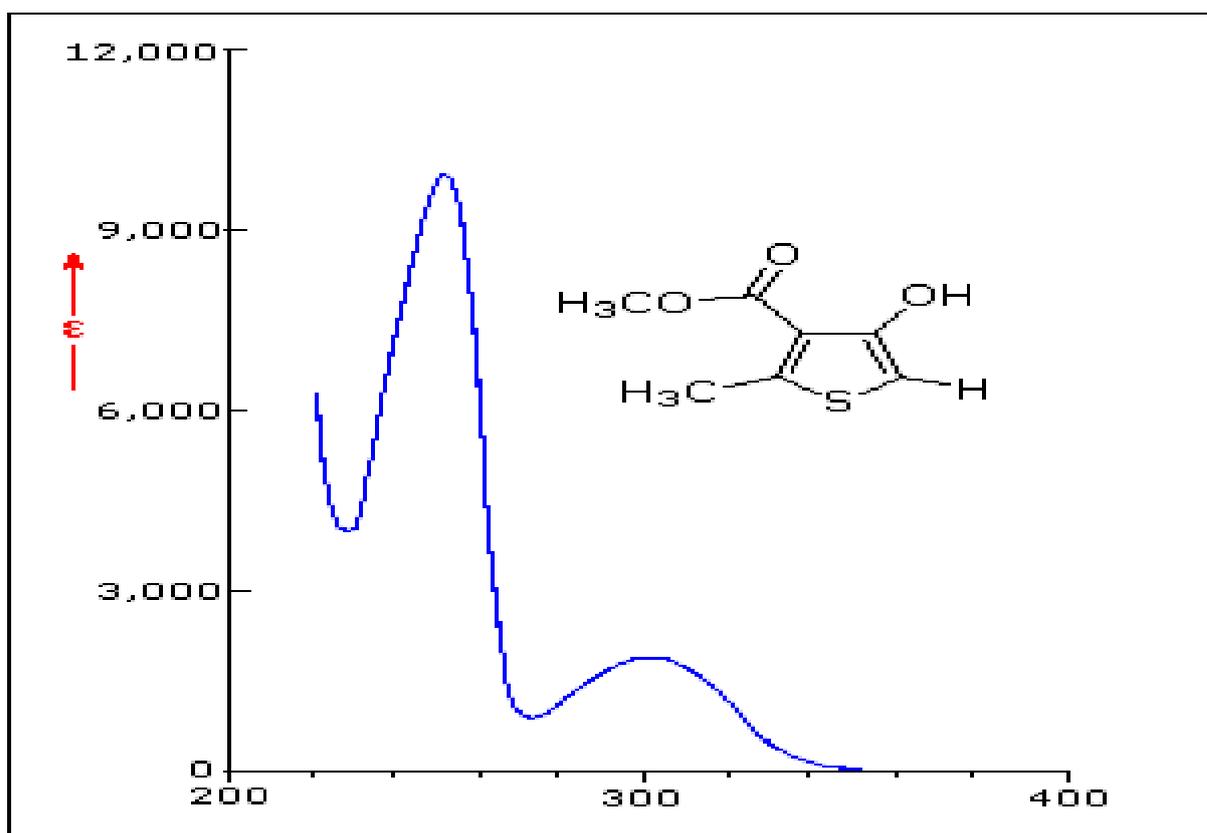


Figure 15 : spectre d'absorption d'un composé organique.

(JACOB, 2007)

En effet, l'absorbance UV-vis, dans certaines conditions, est fonction de la concentration suivant la loi de Beer-Lambert : $A = \epsilon l C$ (où ϵ est le coefficient d'extinction à une longueur d'onde donnée, pour une famille de composés donnée ; l est le trajet optique et C est la concentration de la solution étudiée). Notons que ϵ est de l'ordre de 10 à $100 \text{ l cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ pour les transitions $n \rightarrow \pi^*$ et de 10^3 à $10^4 \text{ l cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ pour les transitions $\pi \rightarrow \pi^*$. En pratique, donc, le spectre UV-vis est surtout représentatif des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$.

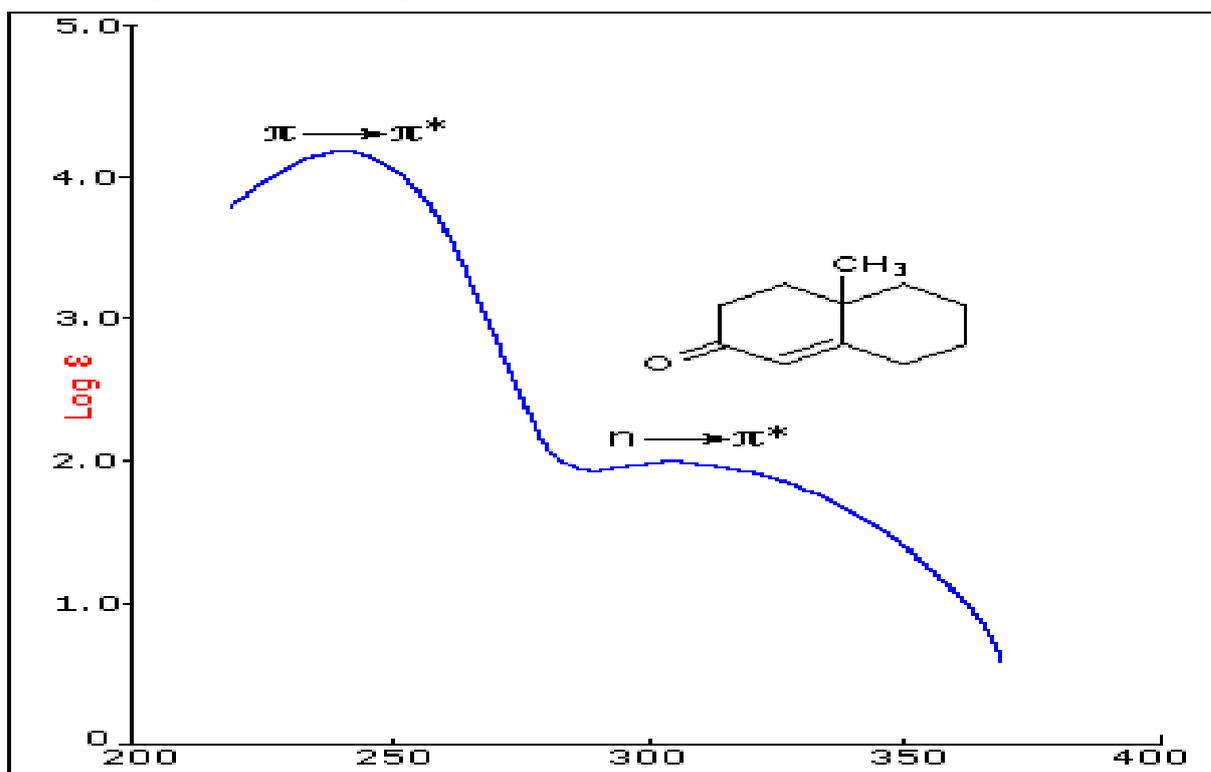


Figure 16 : Exemple de transition $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$

(JACOB, 2007)

5. Domaine spectral :

La région du visible du spectre électromagnétique correspond à la lumière dont les longueurs d'onde varient environ de 400 à 700 nanomètres ($1 \text{ nm} = 10^{-9}$ mètre).

Les longueurs d'onde de la lumière ultraviolette sont plus courtes, soit environ de 10 nm à 400 nm, alors que la lumière infrarouge possède des longueurs d'onde plus grandes, aux alentours de $2,5 \mu\text{m}$ à $25 \mu\text{m}$ ($1 \mu\text{m} = 10^{-6}$ mètre) dans le cas de l'IR moyen, région utilisée pour les spectres IR. Les anciennes unités utilisées pour ce type de spectroscopie étaient les millimicrons ($1 \mu\text{m} = 1 \text{ mm}$) ou angström ($10 \text{ \AA} = 1 \text{ nm}$).

Le tableau 1 ci-dessous dresse une liste des longueurs d'onde correspondant aux régions du visible et de l'ultraviolet exprimées avec les différentes unités.

Région du spectre	Unités actuelles	Anciennes unités
Visible (Vis)	400-800 nm	4000 – 8000 A
Ultraviolet (UV)	200-400 nm	2000 – 4000 A

Tableau 01 : Unités des de spectres dans l'ultraviolet

(STPHANE, 2008)

Le domaine UV-visible s'étend environ de 800 à 10 nm.

Visible: 800 nm (rouge) - 400 nm (indigo)

Proche-UV : 400 nm - 200 nm

UV-lointain : 200 nm - 10 nm (GUEDIRA, 2011)

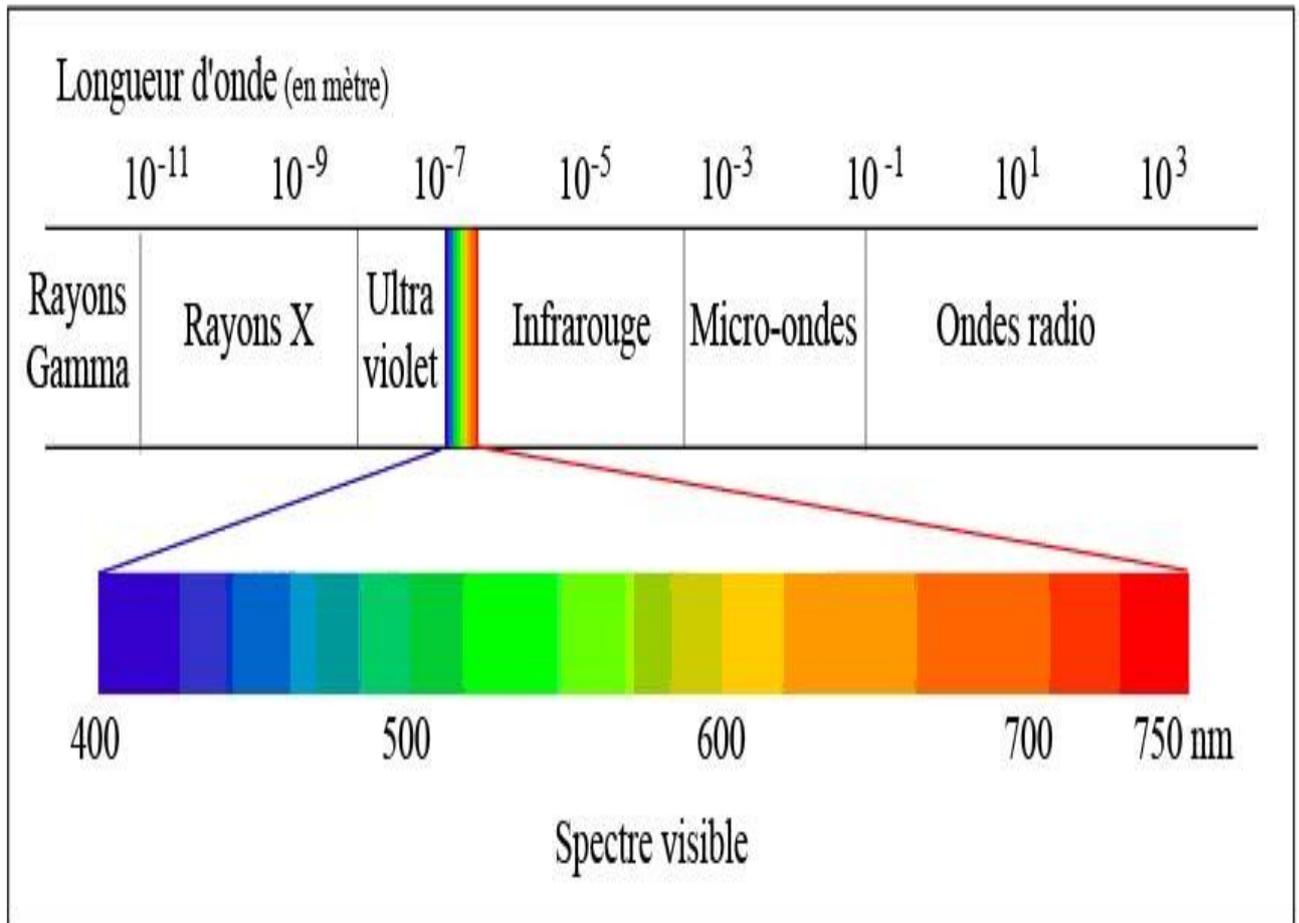


Figure 17 : domaine visible des radiations électromagnétiques
(STPHANE , 2008)

6. PRINCIPE :

Dans une molécule, les transitions électroniques UV-visibles mettent en jeu les énergies les plus importantes de la chimie (environ de 13000 à 50000 cm^{-1} soit 160 à $665 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$). L'ordre de grandeur des énergies mises en jeu est celui des énergies de liaison des molécules et ces rayonnements peuvent parfois provoquer des ruptures de liaisons. Plus généralement, ils provoquent des **transitions électroniques** entre les différents niveaux d'énergie des molécules.

(GUEDIRA, 2011)

6.1 L'absorption :

Ce type de spectroscopie est très utile pour étudier les structures électroniques des molécules insaturées et pour mesurer l'étendue de leur conjugaison.

Les groupes d'atomes qui absorbent sont appelés des groupes chromophores et ceux qui n'absorbent pas mais qui provoquent seulement des modifications de l'absorption par un chromophore sont dits auxochromes.

Quand un chromophore est soumis à des influences électroniques, la bande d'absorption peut se déplacer vers les grandes longueurs d'onde, c'est l'effet batochrome, ou vers les faibles longueurs d'onde, c'est l'effet hypsochrome.

Si l'absorption lumineuse est augmentée, on dit qu'il y a un effet hyperchrome. Si elle est diminuée, il y a un effet hypochrome.

6.2 L'émission :

Quand un électron passe de l'état fondamental S_0 à un état excité S_n ou T_n par l'effet d'un faisceau incident, il ne reste pas dans cet état mais revient à l'état initial soit directement soit par étapes en passant par des états de moindre énergie.

Le retour peut se faire de différentes façons, avec restitution d'énergie sous forme de radiations de:

-Fluorescence pour les passages de $S_n \rightarrow S_0$

-Phosphorescence pour les passages $T_n \rightarrow S_0$

Ou sous forme calorifique. (Académie martinique)

6.3 Transition électromagnétique :

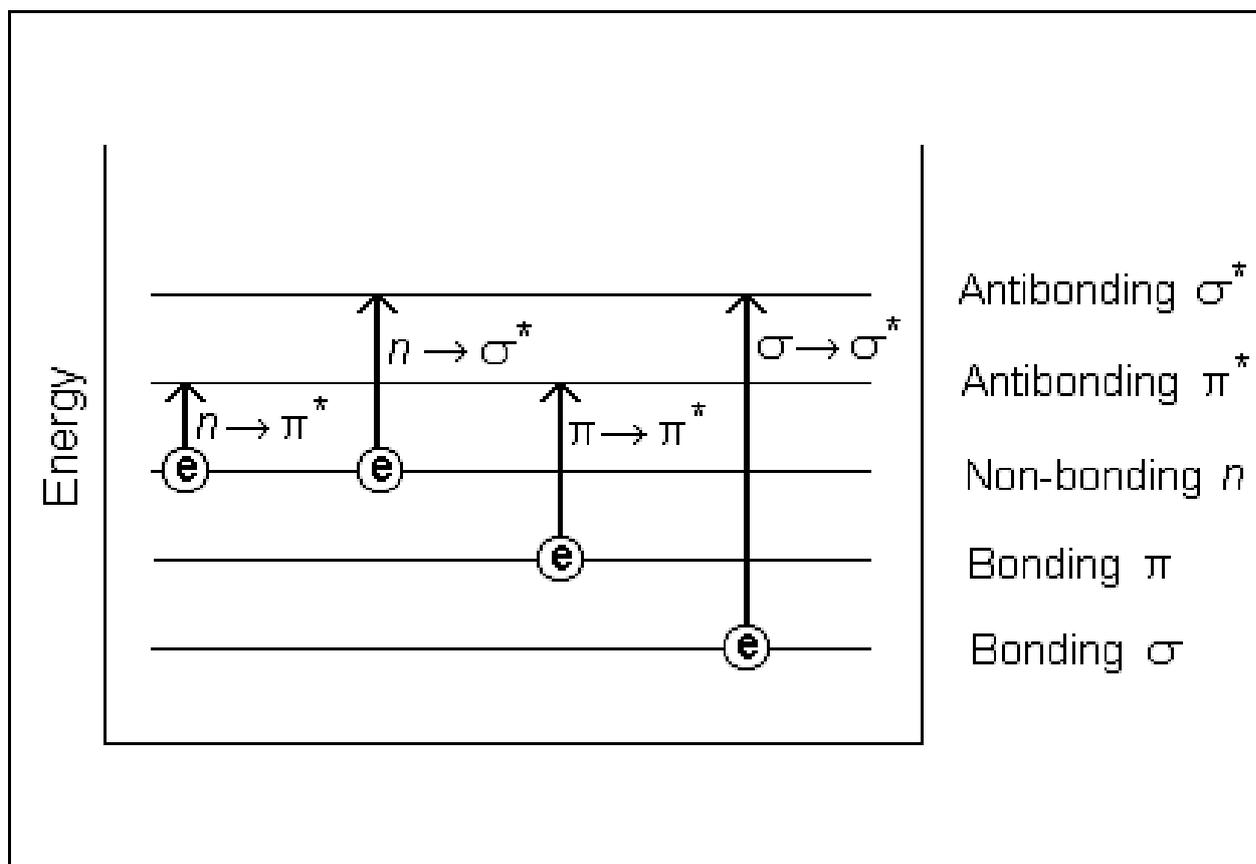


Figure 18 : Transitions électroniques (FRANCIS, 2011)

6.3.1 Transitions $\sigma - \sigma^*$:

Les OM σ sont des orbitales très stables. La différence d'énergie entre les OM σ et σ^* est relativement élevée. La transition $\sigma - \sigma^*$ est située dans le lointain UV vers 130 nm (Éthane 135 nm). Ainsi, les hydrocarbures saturés qui ne renferment que les OM de Ce type tel l'hexane ou le cyclohexane sont pratiquement transparents dès le proche UV.

6.3.2 Transitions $n - \sigma^*$:

Les composés constitués d'un ou plusieurs atomes (O, N S, Cl) porteurs de doublets électroniques libres.

Les énergies mises en jeu sont généralement inférieures à celles des transitions $\sigma - \sigma^*$.

Elles correspondent à des longueurs d'onde comprises entre 150 et 250 nm.

Exemples : méthanol (183 nm).

L'éthylamine (210 nm).

Le chloro-1-butane (179 nm).

Le nombre de groupes fonctionnels présentant de telles transitions dans le domaine visible du spectre est très réduit. Le coefficient d'absorption varie de 100 à 5000 L mol⁻¹ cm⁻¹.

6.3.3 Transitions $n - \pi^*$:

Ce type de transitions peu intense est rencontré dans le cas de molécules comportant un atome porteur de doublets électroniques libres (présence de niveaux n) appartenant à un système insaturé (présence de niveaux π^*).

La plus connue est celle qui correspond à la bande carbonyle ; elle se situe entre 270 et 290 nm.

Le coefficient d'absorption est généralement compris entre 10 et 100 L mol⁻¹ cm⁻¹.

Exemple : 293 nm pour l'éthanal avec $\epsilon = 12$ L mol⁻¹ cm⁻¹ dans l'éthanol.

6.3.4 Transitions $\pi - \pi^*$:

Les composés qui possèdent une double liaison éthylénique isolée conduisent à une forte bande d'absorption vers 170 nm avec un coefficient d'absorption allant de 1000 à plus de 10 000 L mol⁻¹ cm⁻¹.

Exemple : 165 nm pour l'éthylène avec $\epsilon = 16\ 000$ L mol⁻¹ cm⁻¹. (Galez & Rouessac, 2011)

7. Loi d'absorption de la lumière - loi de Beer-Lambert :

Soit une lumière monochromatique traversant une solution absorbante de concentration C contenue dans une cuve d'épaisseur l.

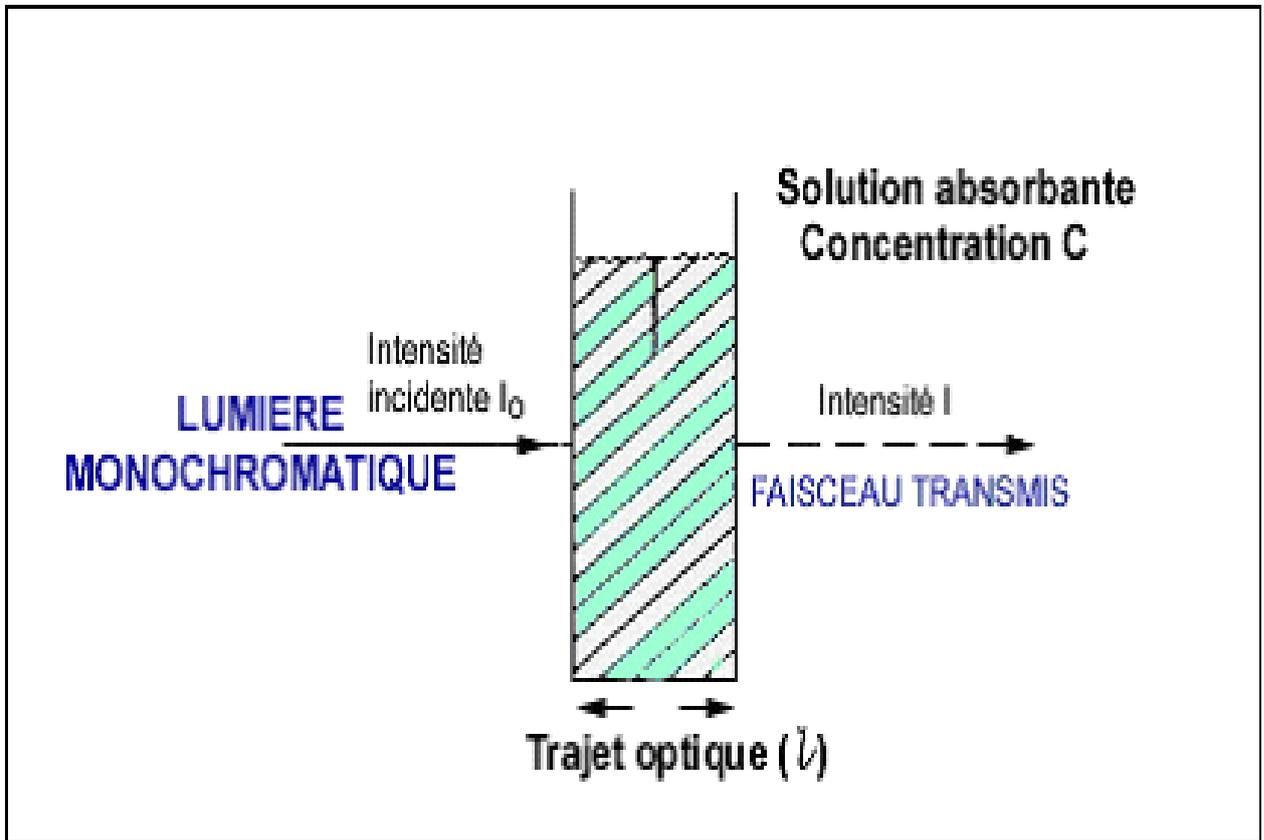


Figure 19: Loi d'absorption de la lumière - loi de Beer-Lambert

(GUEDIRA, 2011)

Une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise.

Bouguer, Lambert et Beer ont étudié les relations qui existent entre I₀ et I :

L'intensité d'une lumière monochromatique traversant un milieu où elle est absorbée décroît de façon exponentielle :

$$I = I_0 e^{-kIC}$$

- * I_0 est l'intensité de la lumière incidente
- * I est l'intensité après passage à travers la cuve contenant la solution (intensité transmise)
- * l est la distance traversée par la lumière (épaisseur de la cuve) (en cm)
- * C est la concentration des espèces absorbantes
- * k est une constante caractéristique de l'échantillon.

Cette équation peut se réécrire $\log(I_0/I) = k l C / 2.3 = A$.

- * $\log(I_0/I)$ est appelé **absorbance (A)**
- * $I/I_0 = T$ est la **transmission**
- * **% T** est la **transmittance**
- * k est le **coefficient d'extinction molaire** ; c'est une caractéristique de la substance étudiée à une longueur d'onde donnée. Si C est la molarité, k est en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$.

On obtient alors la relation connue sous le nom de **loi de Beer-Lambert** :

$$A = - \log T = K l C$$

7.1 Validité de la loi de Beer-Lambert :

La loi de Beer-Lambert s'applique pour des radiations monochromatiques et sa validité est bonne lorsqu'on travaille avec des solutions suffisamment diluées pour ne pas modifier les propriétés des molécules (association, complexations ...).

(GUEDIRA, 2011)

Chapitre III

Matériel et Méthode :

1. Appareillage :



Figure 20 : Le spectrophotomètre spectroscan 40.

Le spectrophotomètre spectroscan 40 UV/VIS réalise avec succès une grande précision de mesure et de fiabilité pour répondre aux divers besoins de l'application de la spectroscopie UV. Il peut être largement utilisé pour l'analyse qualitative et quantitative dans des domaines tels que l'industrie chimique, biochimique et pharmaceutique ainsi que dans le domaine de l'éducation, de la protection de l'environnement, de l'industrie alimentaire, et dans les examens cliniques et antiépidémique.

2. caractéristiques du spectrophotomètre Spectroscan 40 :

2.1 Caractéristiques principales :

- Préprogrammé pour les analyses d'ADN/ARN
- Analyse de pureté sur tout le spectre de longueurs d'onde
- Méthodes préprogrammées pour l'analyse des protéines.
- Fonctions spectrophotométriques classiques.
- Lampe au xénon avec technologie « Press To Read » (PTR).

- Logiciel intuitif basé sur des icônes.
- Faible encombrement.
- Possibilité d'enregistrement des méthodes et des résultats sur clé USB.
- Garantie de 3 ans, couvrant également la lampe au xénon.
- Pic-picking automatique, et simplicité de remplacement des lampes D₂.
- module d'affichage LCD avec 340 × 240 grand écran.
- Système économique de commande de micro-processeur, simple puce intégrée.

- Fonctions riches et puissants:
 - ✓ balayage de longueur d'onde (A, T et E): avec un pic (A, T et E), AT conversion, le zoom du spectre et de déplacement de curseur et de la lecture des fonctions.
 - ✓ scanner Cinétique (A et T): avec calcul de l'activité, AT conversion, le zoom du spectre et de déplacement de curseur et de la lecture des fonctions.
 - ✓ Mesure Photométrique: Maximum de longueur d'onde 9 et 7 échantillons peuvent être mesuré à la fois des cellules avec correction des erreurs des cellules.

- Quantification (Mesure quantitative):
 - ✓ courbe de régression du 1er et 2ème ordre jusqu'à 24 points standard peuvent être mis en place à la fois par mesure standard et par la saisie des facteurs de la courbe.
 - ✓ les Spectres et les données peuvent être imprimées par une imprimante et envoyées à l'ordinateur via le port RS-232.

2.2 Spécifications et fonctions principales:

2.2.1 Les paramètres de base de l'instrument :

- Gamme de longueur d'onde	190 ~ 1100nm
- Élément dispersif.	\$ plan du réseau
- Gamme de transmutante	(% T) 0% T ~ 220% T
- Gamme d'absorbance (Abs).	- 0.342A 3.000A ~
- Largeur de bande spectrale.	2 nm
- Intervalle d'échantillonnage minimal.	0,1 nm
- Gamme de concentration.	0.000 ~ 999
- Energie gamme.	0,000 ~ 8
- Intervalle de temps pour la cinétique.	0 ~ 86400s (24h)
- Intervalle d'échantillonnage minimum pour la cinétique.	1s
- Intervalle d'échantillonnage maximal de cinétique.	60s

2.2.2 Caractéristiques principales :

- Exactitude de longueur d'onde	± 0,3 nm
- Longueur d'onde de reproductibilité	0.15nm
- Lumière égarée	≤ 0,1% T (NaI, à 220 nm)
- Exactitude photométrique	± 0.3% T (0%T □ 100% T)
- Reproductibilité photométrique	0.2% A
- Planéité de base	± 0.002A
- Dérivé	≤ 0.001A/30mn

(at 500nm ; après préchauffé)

2.2.3 fonctions principale :

1) Fonctions d'autodiagnostic

l'instrument peut automatiquement identifier la plupart des erreurs (erreur y compris d'opération) et donne des invites ou des alarmes.

2) Paramètres peut être enregistré.

l'instrument enregistre les paramètres d'utilisateur-ensemble automatiquement. Les paramètres enregistrés ne seront pas perdus après que le courant soit coupé.

3) Mesure de balayage de longueur d'onde (balayage de plan horizontal)

- a) Points maximum de collection témoin : 3000
- b) Intervalle d'échantillonnage minimum : 0,1
- c) Vitesse maximale de scan: 1200nm/min

4) Mesure de longueur d'onde (mesure photométrique)

sept échantillons et longueurs d'onde neuf sont mesurés en même temps.

5) Mesure en mode cinétique

- a) Intervalle maximum d'échantillonnage : 0.1sec
- b) Points maximum de collection témoin : 3000

6) Planéité de la ligne de base

- Spécifications :
 - Paramètres d'Un-arrangement en mode de balayage de longueur d'onde
- Mode fonctionnant : A
- gamme de longueurs d'onde : 200 □ 1100nm
- gamme photométrique : - 0.010 □ 0.010
- position de cellules : 8
- intervalle d'échantillonnage : 1 nm
- plan horizontal de changement de lampe : 340 nm
- déviation maximale du spectre : moins de 0.002A

7) Bruit :

- Spécifications :
Paramètres d'installation en mode de mesure cinétique
- Fonctionnant en mode : T
- Longueur d'onde : 500 nm
- Gamme photométrique : 99,6 □ 100.4% T
- Gamme de temps : 0 □ 180sec
- Intervalle d'échantillonnage : 1sec
- Plan horizontal de changement de lampe : 340nm
- Correction de cellules : off
- Position de cellules : 1

3. Mise en marche de l'appareil Spectroscan 40 :

- Dans une opération de mesure ou d'étalonnage, il faut mettre l'échantillon de référence dans la cellule No.8 les cellules sont surmonté dans un support numéroté de No.1 à 8 dans la direction la plus proche du coté latéral de l'opérateur.
- Mise en tension de l'appareil
- Activer le logiciel de fonctionnement muni avec l'appareil
- Fermer le couvercle après la mise en place des cuves

3.1 Mode de mesure de balayage de longueur d'onde :

- Le balayage de longueur d'onde peut être employé pour l'analyse qualitative des échantillons, l'éventail en temps réel des échantillons sera montré sur l'affichage (LCD) et peut être imprimé.
- L'examen de l'absorbance ou de la transmission d'un échantillon sur une plage de longueurs d'onde permet de caractériser partiellement l'échantillon.
- Les mesures de l'échantillon sur une plage de longueurs d'onde sont utilisées pour tracer une courbe de l'absorbance ou de la transmission à chaque longueur d'onde.
- En plus de l'observation de bonnes pratiques il convient de s'assurer que l'échantillon reste stable pendant la durée du balayage (maximum 70 secondes).

3.2 Mode de mesure photométrique :

- Le mode le plus simple du spectrophotomètre est la photométrie.
- Multi-échantillon à la multi-longueur d'onde peut être mesuré en même temps en ce mode.

- Le nombre maximum de longueur d'onde est de neuf et le nombre maximum d'échantillons est de sept.
- Chaque longueur d'onde correspond à chaque échantillon.
- La référence devrait être placée en cellule No.8

3.3 Mode mesure quantitative :

- La concentration d'une substance présente dans un échantillon peut être déterminée en l'a comparant à des solutions étalons préparées de cette substance.
- Différentes solutions étalons sont soigneusement préparées couvrant toute une gamme de concentrations.
- Ces solutions sont mesurées par le spectrophotomètre à une longueur d'onde réglée et une courbe est créée représentant la concentration en fonction de l'absorbance ou de la transmission.
- Les échantillons peuvent être mesurés en termes d'absorbance ou de transmission, et la concentration est calculée par le spectrophotomètre en comparant avec les étalons de concentration sur la courbe.
- Des fonctions de lissage de courbe de premier, deuxième et troisième degrés sont disponibles, plus une automatisation à l'aide du passeur 8 cuve modulaire optionnel.

3.4 Mode de mesure cinétique :

- Ce mode est employé pour observer la variation d'un échantillon par rapport au temps et pour calculer la valeur d'activité de l'échantillon dans la période de temps sélectionnée.
- Il est également employé pour vérifier la stabilité et le bruit de l'instrument.
- De nombreux tests sur un spectrophotomètre impliquent un composant actif.
- Après addition de cet ingrédient actif, l'absorbance ou la transmission de l'échantillon augmente ou diminue.
- L'absorbance ou la transmission est enregistrée à intervalles réguliers à une longueur d'onde préréglée pendant un temps donné.
- Un graphique est ensuite tracé pour montrer la variation d'absorbance ou de transmission avec le temps.
- La concentration de l'échantillon peut être calculée à partir du graphique.
- Ce mode est idéal pour la surveillance continue ainsi que les études de calcul d'activité enzymatique, avec possibilité d'étalonnage à l'aide d'un étalon ou d'un facteur connu.

3.5 mode de mesure ADN /protéine:

- Les différents modes préprogrammés sur le spectroscan40 permettent de mesurer des concentrations d'ADN, d'ARN et d'oligonucléotides à l'aide de longueurs d'onde enregistrées à 260, 280 et 230 nm, avec une correction facultative à 320 nm.
- Ce mode de mesure possède les rapports préprogrammés 260/280 et 260/230, ainsi qu'une option de rapport variable, qui permet d'entrer jusqu'à trois longueurs d'onde en plus de la longueur d'onde de correction.

4. Méthode :

Afin de tester l'appareil nous avons réalisé un essai pratique concernant le dosage de l'ammonium dans l'eau de robinet ;pour cela ,nous avons d'abord élaborer la courbe d'étalonnage d'une solution mère de concentration (10mg/l) d'ammonium ,en diluant celle-ci de 7 fois, puis en dosant la concentration d'ammonium dans l'échantillon étudié .

4.1 Protocol d'étalonnage :

Méthode par spectrophotomètre d'absorption moléculaire par dosage spectroscopique des ions d'ammonium.

a) Solutions étalons :

Dans une première étape, il faut préparer la solution étalon constituée de :

- **Solution de tartrate double de potassium :**
 - 500g tartrate double Ket Na
 - Eau permutée chaude (ajuster à 1 litre)

- **Réactif de Nessler :**
 - 50g d'iodure de potassium + 35 ml eau
 - déchlorure de mercure saturé
 - 400ml NaOH ajouté à 1litre, laisser reposer puis décanter.

- **Solution mère étalon 1g/l d'ammonium :**
2,97g de chlorure d'ammonium+ eau permutée 1000ml.

- **Solution file étalon à 10mg/l d'ammonium :**
10ml solution mère +1000 ml eau permutée.

b) Courbe d'étalonnage :

La courbe d'étalonnage a été élaborée en faisant des lectures d'absorbance à 420nm après avoir préparé ces solutions selon le tableau 2 ci-dessous et laissées reposer pendant 10 mn.

Numéro des fioles	T	1	2	3	4	5	6	7
Solution d'ammonium à 10g/l	0	1	2	5	10	15	20	25
Eau permutée (ml)	50	49	48	45	40	35	30	25
Correspondance en mg de NH ₄	0	0,01	0,02	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
Solution tartrate (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2
Réactif de Nessler (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2

Tableau 02 : valeurs des concentrations des solutions étalons.

4.2 Mesure de la concentration des ions ammonium dans l'échantillon :

Afin de déterminer la concentration en ions ammonium dans un échantillon prélevé d'eau de robinet, nous avons effectué une prise d'essais de 50 ml d'eau à laquelle on a ajouté 2ml d'une solution de tartrate et 2ml de réactif de Nessler, à l'aide d'une micropipette on a prélevé un volume de la solution pré-préparée qui a été mis dans la cuvette de mesure UV en verre.

Celle-ci a été mise dans le compartiment de lecture de l'appareil UV-Visible pour la lecture de l'absorbance de la solution.

L'opération a été effectuée trois fois et la moyenne de la valeur a été prise en considération.

Chapitre III

Résultat et Discussion :

1. Résultat de mesures:

a) Courbe d'étalonnage :

Concentration en de NH ₄	0	0.01	0.02	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25
Absorbances	0	0.026	0.04	0.162	0.337	0.463	0.650	0.881

Tableau 03 : Valeurs des concentrations et d'absorbances des solutions étalons.

01/06/2014

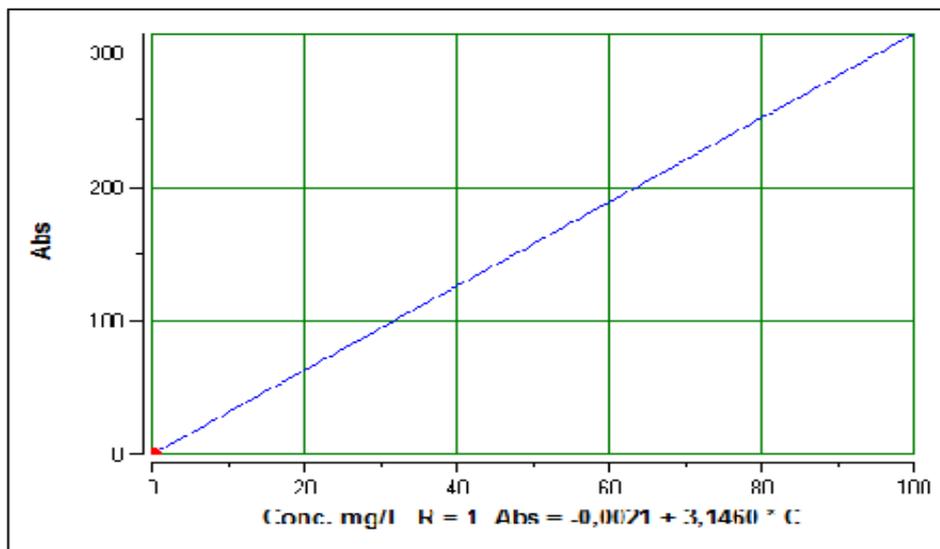
dosage d'ammounium

Data Mode: Abs

Sample Name: 1

Measure Time: 2014-06-01 15:07

Operator: BOUASRIA FATIMA
et GHERASLIA LAMIA
Print Time: 2014-06-01 15:08



$$ABS = K0 + K1 * C$$

$$K0 = -0,0021 \quad K1 = 3,1460$$

Figure 21 : Courbe d'étalonnage des ions ammonium dans l'eau.

b) Résultats de mesures :

Les résultats des concentrations en ions ammonium trouvés sont illustrés dans le tableau 3 suivant, la valeur moyenne de la concentration en ions ammonium est de 0,019 mg/l

NO.	Index	Conc. (mg/l)	Abs	M WL (nm)
				460
1	1	0,023	0,057	0,057
2	2	0,018	0,041	0,041
3	3	0,018	0,055	0,055

Tableau 04 : Résultat de mesure de la concentration d'ammonium de l'eau de robinet.

Par ailleurs, on conclut que l'échantillon d'eau, objet de notre étude est conforme aux normes de la qualité physicochimiques requises, s'agissant des normes algérienne, OMS, CEE, celles-ci exigent une concentration en ammonium inférieure à 0.5 mg/l) Tableau 4.

Caractéristiques	N. Algérien	CEE	OMS
Température °C	-	-	-
PH	6.5-8.5	6.5-9.5	6.5-8.5
Cond ms-cm ²	2.800	2.500	-
Turb	1-2	4	5
Ca ²⁺ mg/l	75-200	100	200
Mg ²⁺ mg/l	150	50	150
Cl ⁻ mg/l	200-500	250	250
K ⁺ mg/l	20	12	-
Na ⁺ mg/l	200	200	200
Sulfates mg/l	200-400	250	400
NO ₂ ⁻ mg/l	0.1	0.5	3
NO ₃ ⁻ mg/l	50	50	44
O.PO ₄ mg/l	0.5	-	-
NH ₄ ⁺ mg/l	0.05-0.5	0.5	0.5
Germes totaux ge/ml	00	00	00
Clostridium sulfito-réducteur	5	00	00
Coliformes totaux ge/ml	00	00	00
Coliformes fécaux ge/ml	00	00	00
Streptocoques fécaux ge/ml	00	00	00

Tableau 05 : les différentes normes de qualité des eaux .

Conclusion

Conclusion :

La spectroscopie UV-Visible permet ainsi d'accéder qualitativement et quantitativement à des renseignements quant à la nature des liaisons présentes au sein de l'échantillon (via l'ordre de grandeur de λ_{\max} et ε_{\max}) mais également de déterminer quantitativement la concentration d'espèces absorbant dans ce domaine spectral (via la loi de Beer-Lambert). Grâce à la spectroscopie UV-vis on a pu contrôler un paramètre de qualité d'un produit largement consommé : l'eau ; cette technique nous a permis de mesurer la concentration en ion ammonium dans l'eau après étalonnage de l'appareil à l'aide des solutions pré-préparées à des doses bien précises d'ions ammonium.

Références

(Clefs CEA, revue scientifique et technique du Commissariat à l'énergie atomique, spectroscopie et spectrométrie, 2004)

Académie martinique. (s.d.). Académie martinique. Récupéré sur <http://site.ac-martinique.fr/spc/wp-content/uploads/file/lycee/TS/spectroscopie-IR--UV--visible--M-Tinas.docx>.

Calathea, & R.Ouahèès, B. (2006). Spectroscopie et spectrométrie ; CHIMIE GENERALE ; Office des publication universitaires ; SPECTROSCOPIE :De Masse ,Ultra-violette (U.V).

Stphane Girourd.chimie organique.edition de la cheneliere incete le visible (2008).

Francis Rouessac. Analyse chimique (2011). Méthode et technique instrumentales ,Avec la collaboration de Daniel Cruche, Claire DUVERGER .Arfuso,Arnaud Martel.

Dugourd, P. (2011). Mobilité ionique principe et applications.

E.L,Shor H.H.R.et Teixeira;B.A,Walte (1994,1989). Spectroscopie vibrationnelle-rotationnelle.

F.GUEDIRA. (2011). Chapitre 3 Spectroscopie d'absorption dans l'UV-Visible.

Galez, Phillips., & Rouessac, Francis. e. (2011). Techniques spectroscopiques d'analyse / Spectrophotométrie UV/visible

Annecy;Mesures Physiques – MPh2 SE3 ME3 ;Analyse chimique .

Interfaces et Capteurs. (2012, 01 23). Spectroscopie Raman .

JACOB. (2007). Spectroscopie dans le Visible et l'Ultra-Violet.

Jessie Striedelmeyer, S. L. (s.d.). LES TECHNIQUES D'ANALYSE: ANALYSES ORGANIQUES .

Laurent. (2011). spectroscopie RAMAN.

les éditions de la chenelière incet le visible . (2008). chimie organique.

marsat, b. (2008). Domaines des radiations électromagnétique :visible .

Oulivier. (2009). Principe de la spectrométrie de masse.

Heulleu Alain . Principe des dosages par spectrophotométrie de flamme. (2010).

Souad. (2008). Méthode spectroscopique. SPECTROSCOPIE DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE.

Thomas. (2007). Spectroscopie d'émission.

RESUME

عربية : يشمل هذا العمل اختبار عملية تشغيل جهاز SPECTROSCOPIE UV VISIBLE حيث قمنا بتعريف الجهاز وأبرزنا خصائصه التقنية و طريقة تشغيله و اختبار عمله من خلال مثال عملي تطبيقي يضم مراقبة جودة مياه الحنفية فيما يتعلق بتحديد نسبة الامنيوم و لقياس مختلف التركيزات في العينة المذكورة كشفت النتائج إن كمية ايونات الامونيوم 0.023 مغ/ل في العينة المحللة و تعتبر مقبولة مقارنة بمعايير الجودة النوعية المطلوبة

Français : Le present travail consiste à l'essais et à la mise en marche d'un appareil de spectroscopie UV-visible. Nous avons définis l'appareil et mis au évidence ces caractéristiques techniques, son mode d'utilisation et nous avons testé son fonctionnement par un exemple pratique consistant à un contrôle de la qualité de l'eau de robinet en ce qui concerne la détermination du taux d'ammonium. Pour cela une courbe d'étalonnage pour différentes concentration d'ammonium a été dressée en vue de mesurer la concentration dans l'échantillon considéré. Les résultats révèlent une quantité en ions ammonium de l'ordre de 0,023 mg/l dans l'échantillon analysé qui est

English : The present work involves the testing and commissioning of a unit of UV-visible spectroscopy. -We have defined the device and demonstrated its technical characteristics and usage. -We tested its operation with a practical example; a quality control test of tap water to determine the level of ammonium. -For this, a calibration curve for different ammonium concentrations was drawn to measure the concentration in the sample under observation. -The results reveal an amount of ammonium ions in the range of 0.023mg / l in the analyzed sample. -This is an acceptable amount according to the required quality standards.