

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique

Université de Ouargla
Institut de Chimie Industrielle



Mémoire de Fin d'études
En vue d'obtention d'un diplôme d'ingénieur d'état
En Chimie Industrielle -
Option : Génie Chimique

ENCADRÉ PAR :

Étude de la Dégradation du
principe Actif
Diclofenac par Différentes
Méthodes d'Analyse

Réalisé par :
♦ Mehani Mourad

Encadré par :
♦ Ladjal .S
♦ Bouarioua .K

Promotion 2001

Remerciements



Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires de chimie analytique à C.R. D (SAIDAL).

Je dois beaucoup à Monsieur : Le Docteur **CHAKOU ABDESSELEM** Directeur de centre de recherche et développement (C.R.D) groupe SAIDAL de m'avoir accueilli au sein de laboratoire de chimie analytique pour me permettre de réaliser ce stage d'Ingénieur d'état en génie chimie.

Je remercie en particulier Mme : **HAMMDI NASSIMA** Directrice de laboratoire de chimie analytique, mon encadreur : Dr **LADJEL. Segni** et tout l'équipe administrative de l'institut de chimie industrielle de l'université de Ouargla M. : **BOUARIOUA KARIM** assistant de recherche au niveau de laboratoire pour leurs remarques pertinentes au sujet de ce manuscrit et leur aide tout au long de période de stage.

Merci enfin toutes les personnes travaillant de C.R.D surtout l'équipe de laboratoire chimie analytique (Mme **RAHALL YAMINA**, **MEHDI**, **TAREK**, **LINDA**, **MOURAD**, **KATIA**, **SIHAM**, **SONIA**, **HAFIDA**, **SAMIRA**)pour leurs entrains, leurs conseils qui m'ont permet d'effectuer ce travail, Dans des excellentes conditions, aux amis (**F.ABERRAHMANE**, **R.ISMAIL**) qui m'ont accompagné au long de six mois et ont répondu à des nombreuses questions au sujet de mon stage.

ETUDE DE LA DÉGRADATION DU PRINCIPE ACTIF «DICLOFENAC » PAR DIFFERENTES METHODES D'ANALYSE

SOMMAIRE

Introduction Générale

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I: Généralités sur les médicaments

I-1- Introduction -----	1
I-2- Qu'est ce que un médicament -----	1
I-3- Origine d'un médicament -----	1
I-4- Les facteurs qui entrent dans la fabrication des médicaments -----	1
I-5- Les différentes formes du médicament -----	2

Chapitre II: L'étude du DICLOFENAC

II-1-Definitions -----	3
II-2-Les formes pharmaceutiques du DICLOFENAC -	3
II-2- Caractères du DICLOFENAC -----	4
II-3- Intérêt pharmacologique de DICLOFENAC-----	4
II-4-Les formes pharmaceutiques de DICLOFENAC -----	5

Chapitre III: L'étude de dégradation

III-1-Introduction -----	6
III-2-Qu'est ce qu'une dégradation-----	7
III-3- Les différents facteurs de dégradation -----	7
III-3-1)- Facteurs biologiques-----	8
III-3-2)- Facteurs physico-chimiques -----	8
III-3-2)-1- Le temps de conservation -----	8

III-3-2)-2- La température -----	8
III-3-2)-3- La lumière -----	9
III-3-2)-4- L'humidité -----	9
III-3-2)-5- La nature de récipient -----	9
III-3-2)-6- Les composants chimiques du médicament -----	9
III-3-2)-7- L'oxygène -----	9
III-4 - Exemples -----	13

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I: Dégradation de le DICLOFENAC

I-1- Introduction-----	18
I-2- Mise au point des différentes méthodes de la dégradation -----	19
I-2-1- Matériels, Appareillages, et Réactifs. -----	20
I-2-2- Contrôle de qualité de « Diclofénac Na », -----	21
I-2-3- Mode opératoire : -1- Action de chaleur.-----	27
-2- Action de humidité. -----	27
-3- Action de lumière. -----	27
-4- Action de acidité. -----	28
-5- Action de alcalinité. -----	28

Chapitre II: Etude de la dégradation par C.C.M.

II-1- Introduction. -----	35
II- 2- Conditions chromatographiques. -----	35
II-3- Mode opératoire.-----	35
II-4- Résultats et discussions.-----	37
II-5- Conclusion.-----	39

Chapitre III: Etude de la dégradation par H.P.L.C.

III-1- Introduction-----	40
III-2-Matériels et method -----	40
III-3-Résultats et interprétatios-----	41
III-4-Attribution de spectoscopie U.V -----	47
III-4-1-Méthode -----	47
III-4-2- Echontillons-----	47
III-4-3- Résultats et Intrprétations-----	47

III-5- Conclusion-----	48
------------------------	----

Chapitre: IV Etude de la dégradation par I.R.

I-1- Introduction-----	52
I-1- Méthode-----	52
I-2- Résultats et interprétations-----	53
I-3- Conclusion-----	60

Conclusion Générale

Introduction Générale

Il est depuis fort longtemps que le problème de conservation des produits médicamenteux est l'un des plus importants de ceux qui se pose aux chercheurs (Pharmaciens, Chimistes, Biologistes)

La nécessité d'une conservation parfaite a pris beaucoup plus d'importance depuis l'évolution industrielle de préparation des médicaments a augmenté leur durée de stockage.

Cette dernière a créé un siège des études qui est désigné sous le nom « l'étude de dégradation ou l'altération »

Cet axe m'a proposé le présent sujet qui porte pour thème : L'étude de dégradation de principe actif « Diclofénac » par différentes méthodes d'analyses.

Comme méthodes d'analyses on a opté pour la CCM, L'HPLC, La spectroscopie UV/VIS, La spectroscopie FTIR, qui nous a permis de connaître l'action de dégradation quantitativement et qualitativement.

On essayant de notre part de suivre ce plan de travail, nous avons procédé à une étude théorique du principe actif « Diclofénac » (Classification médicamenteuse, Description, Contrôle de qualité, ...etc).

Ensuite nous avons effectué une étude chimique contenant une étude expérimentale, provocation des dégradations avec plusieurs facteurs physico-chimiques (chaleur, lumière, acidité, ..etc), analyse et dosage par des différentes méthodes (CCM, HPLC, FTIR, ..etc)

Finalement nous avons essayé d'envisager les résultats obtenus sous forme d'interprétations adéquates, enfin une conclusion générale résume le travail demandé.

Étude théorique

Chapitre I

☞ Généralités sur les médicaments.

Chapitre I :

GENERALITES SUR LES MEDICAMENTS.

Dans l'historique ils ont indique que la pharmacie était une science d'application « la science des médicaments » c-à-d qui étudier leur conception ,leur composition, leur préparation, et leur distribution...etc.

Il faut donc définie ce que, l'on désigne par le mot « médicament ». [1]

I-1- Qu'est ce qu'un médicament ?

L'assemblée de faculté pharmacie de PARIS, L'organisation mondiale de la santé (O, M, S) convoquée le 03 juin 1943 pour fixer une définition stricte du termes « médicament » a proposé celle ci « On entend par médicament toute drogue substance ou composition prescrite en vue de la prévention du diagnostique ou de traitement des maladies humaines ».

I-2- Origine des médicaments :[02]

I-2-a)- Naturelle : On désigne sous le nom de « Drogue » les produits naturels (végétale, minéral, animale) que a partir des les quels il est possible d'extraire des médicaments

I-2- b)- Artificielle : On désigne sous le nom de « Synthèse » que l'on produise ou prépare a partir des extraits naturels.

I-2- c)- Semi-Artificielle : Une substance naturelle inactive peut être modifiée au laboratoire et transformée en médicament.

I-3- Les facteurs qui entrent dans la fabrication des médicaments :

I-3-a) Principe actif : C'est la fraction principale de l'action pharmacologique, et le principe actif peut être d'origine végétale, animale, ou synthèse .

I-3- b) Excipient : Substance inactive qui facilite l'administration et la conservation des principes actifs, elle transporte le médicament jusqu'au lieu d'adsorption par l'acide d'organisme.

I-3- c) Additifs : Toute substance qui n'est pas normalement consommée, n'est pas considérée comme un caractéristique d'un médicament, dont son addition au médicament a un but technologique et organoleptique a une quelconque etape de la fabrication, parmi les additions on peut citer (les aromatisants, les conservateurs , les colorants ...etc).

I-4- Les différentes formes du médicament :

I-4- a) Comprimés : Sont des préparations de consistance solide contenant chacun une unité de prise d'un ou plusieurs principes actifs et obtenus en agglomérant par compression un volume constant de particules.

I-4- b) Suppositoires : Ce sont des préparations de consistance solide chaque unité de prise d'un ou plusieurs principes actifs, ils sont administrés normalement comme doses uniques en vue d'une action locale ou de l'absorption d'un médicament dans la circulation générale.
Leur forme ; volume et consistance sont adaptés a l'administration par voie rectale.

I-4- c)- Sirops : Sont des préparations sucrées et de consistance visqueuse on les trouve sous plusieurs formes .

I-4- b)- Capsules : Sont des préparations de consistance solide constituées par une enveloppe dure ou molle ,de forme et capacité variable, contenant une unité de prise d'un ou plusieurs principes actifs
Elle sont destinées à la voie orale, elle se présente sous plusieurs formes.

Chapitre II

Etude du DICLOFENAC.

Chapitre II:**L'ÉTUDE DE « DICLOFENAC ».****II-1- Définitions: [03]**

DICLOFENAC est un anti-inflammatoire non stéroïdien dérivé de l'acide phenylacétique du groupe arylcarboxylique.

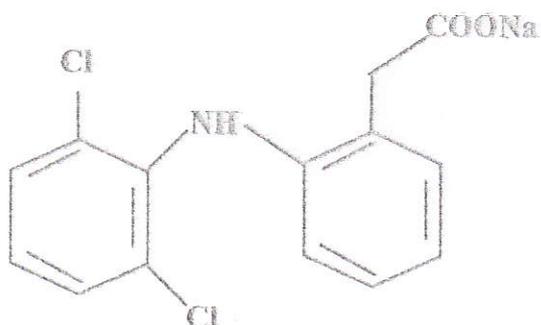
Dénomination commun Internationale (D.C.I.):

a)- DICLOFENAC Sodique : C'est un sel de sodium

□ **Dénomination chimique:**
2-[(2,6- dichlorophényl) amino] phényl] acétate de sodium.

□ **Formule brute:** $C_{14}H_{10}Cl_2O_2NaN$

□ **Structure chimique:**



C : 52.85 %
H : 3.17 %
Cl : 22.29 %
N : 4.40 %
Na : 7.23 %
O : 10.06 %

□ **Poids moléculaire:** 318.10 g/mole

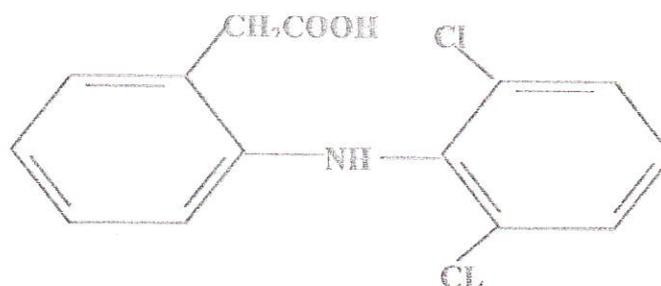
□ **Point d'ébullition:** 283°-285°

b)- DICLOFENAC : Synonym

□ **Dénomination chimique:**
2-[(2,6- dichlorophényl) amino] phényl] acide acétique

□ **Formule brute:** $C_{14}H_{11}Cl_2O_2N$

□ **Structure chimique:**



- > **Poids moléculaire :** 296.2 g / mol
- > **Point d'ébullition :** 156°-158°C

II-2- Caractères : Poudre cristalline, blanche à faiblement jaunâtre, faiblement hygroscopique, assez soluble dans l'eau, facilement soluble dans le méthanol, peu soluble dans l'acétone, pratiquement insoluble dans l'éther; l'odeur : aucune.

II-3- Intérêt pharmacologique de DICLOFENAC : [04]

Dénomination pharmaceutique (volaréne ; voltaol...etc.) :

Diclofénac est remède très efficace contre des plusieurs maladies, dans ce partie on étudie les activités qu'il s'occupe ce médicament sur l'organisme, et ce que devient ce dernier dans l'organisme c'est-à-dire les propriétés pharmacodynamique, et pharmacocinétique de ce médicament, ou le rôle biologique de Diclofénac .

II-3- a)- Propriétés pharmacodynamique : Il sert les activités de Diclofénac

- Activité anti-inflammatoire
- Activité antalgique
- Activité antipyrétique
- Activité inhibitrice sur la synthèse des prostglandines
- Activité inhibitrice sur l'agrégation plaquettaire

II-3- b)- Propriétés pharmacocinétique :

Toute les paramètres pharmacocinétique ne sont modifiés avec l'âge.

▪ Adsorption :

Diclofénac est rapidement et totalement absorbé (les doses répétées ne conduisent à aucune accumulation de Diclofénac dans le plasma.) et la quantité absorbée est proportionnelle a la dose.

▪ Distribution :

Diclofénac est fortement lie aux protéines plasmatiques (>99%), dans le plasma elle correspond a une phase rapide de distribution et a une phase plus lente d'élimination.

Diclofénac passe en faible quantité dans le lait maternel.

▪ Métabolisme et excrétion :

La métabolisation du Diclofénac est essentiellement hépatique, c'est-à-dire il est métabolisé rapidement et pratiquement totalement, surtout au niveau du foie

Le Diclofénac est en majorité hydroxydée.

L'excrétion est a la fois urinaire et fécale.

La demi-vie d'élimination plasmatique du Diclofénac inchangé se situe autour 1 à 2 heures.

▪ Conditions particuliers de conservation :

Sa dépend de la composition, l'état et la forme du médicament.

VOTAMICINE: a conserver a une température inférieure à 30°C loin de lumière.

VOLTARENE : a conserver a l'abri de la température et de l'humidité (comprimés, et suppositoires), ou de la lumière (solution injectable) .

II-4- Les formes pharmaceutiques de DICLOFENAC :

Au fil de temps, les médicaments ont Pu être mis sous différentes formes, et cela suivant la demande du marché, a savoir; comprimés, gel, pommade ...etc.

VOLTARENE, VOLDAL-GE, VOLTAMICINE,(Diclofenac) n'était pas exclu du cette règle, il se présente sous les formes suivants:

Tableau.(01):

Médicament	La forme de présentation
- VOLTAL-Gé	-Comprimé enrobé -Comprimé Gastrorésistan -Solution injectable
- VOLTAMICINE	-Solution (flacon de quelque ml)
- VOLTARENE	-Unidoses de ml -Gel (tube de quelque g)

Chapitre III

📁 Etude de dégradation.

Chapitre III

L'étude de la dégradation

III-1- Introduction :

Il est depuis fort longtemps, que le problème de conservation des produits médicamenteux est l'un des plus importants de ceux qui se posent au chercheur (pharmacien, chimiste, biologiste...etc.), La nécessité d'une conservation parfaite a pris de plus en plus importance depuis l'évolution industrielle de préparation des médicaments à augmenté leur durée de stockage, cette nécessité qui crée un siège designer sous le nom « étude de la dégradation »; ou l'altération (05).

III-1- a) L'Objectif de l'étude de la DÉGRADATION.

L'objectif qu'on recherche à obtenir de ces études est de résoudre trois problèmes essentiels qui sont :

- 1)- La stabilisation de la substance médicamenteuse.
- 2)- La fixation d'un délai de péremption.
- 3)- le conditionnement du médicament.

La stabilisation de la substance médicamenteuse oblige à mettre en jeu des techniques particulières qui concourent à un double but : crée un milieu qui empêche les mécanismes d'altération spontanée ; et éviter les incompatibilités entre les divers constituants du milieu.

La fixation d'un délai de péremption (directement en fonction du degré de stabilité du médicament) consiste à déterminer une limite maximale au-delà de la quelle le délai de validé de la présentation pharmaceutique.

Le conditionnement ou l'emballage du médicament est un complément indispensable à la stabilité, il soustrait le milieu stabilisé, en équilibre précaire aux agents d'altération exogène, d'origine souvent atmosphérique.

Dans ces dernières années plusieurs facultés, et organismes, institutions pharmaceutiques se sont intéressées à ces études et de nombreuses théories ont proposer pour expliquer et interpréter le phénomène de dégradation ; leurs études sont faites correspondant de temps (au cours de la préparation, du stockage, de la consommation ...etc.). C'est à dire la concentration de principe actif en fonction du temps.

$$C (PA) = f (\text{temps}) .$$

Ils ont démontré que ce phénomène se base sur des principes chimiques cinétiques .

Chapitre III:

L'étude de la dégradation

III-1- Introduction:

L'objectif qu'on recherche à obtenir de ces études est de résoudre trois problèmes essentiels qui sont::

- 1)- La stabilisation de la substance médicamenteuse.
- 2)- La fixation d'un délai de péremption.
- 3)- le conditionnement du médicament.

La stabilisation de la substance médicamenteuse oblige à mettre en jeu des techniques particulières qui concourent à un double but: crée un milieu qui empêche les mécanismes d'altération spontanée; et éviter les incompatibilités entre les divers constituants du milieu.

La fixation d'un délai de péremption (directement en fonction du degré de stabilité du médicament) consiste à déterminer une limite maximale au-delà de laquelle le délai de validé de la présentation pharmaceutique.

Le conditionnement ou l'emballage du médicament est un complément indispensable à la stabilité, il soustrait le milieu stabilisé, en équilibre précaire aux agents d'altération exogène, d'origine souvent atmosphérique.

Dans ces dernières années plusieurs facultés, et organismes, institutions pharmaceutiques se sont intéressées à ces études et de nombreuses théories ont proposer pour expliquer et interpréter le phénomène de dégradation; leurs études sont faites correspondant de temps (au cours de la préparation, du stockage, de la consommation ...etc.). C'est à dire la concentration de principe actif en fonction du temps.

$$C \text{ (PA)} = f \text{ (temps)}.$$

Ils ont démontré que ce phénomène se base sur des principes chimiques cinétique.

Tableau 2 : Substances utilisées pour la conservation des médicaments

Antioxygènes		Antiseptiques
	Les produits ci-après énumérés peuvent être utilisés à une concentration donnée pour assurer la conservation des médicaments, compte tenu pour certains d'entre eux de leur voie d'administration.	
	I. Conservateurs utilisés à toutes concentrations	
+	1. Acide ascorbique (toutes voies).	
+	2. Acide isoascorbique (toutes voies).	
+	3. Palmitate et oléate d'ascorbyle (toutes voies).	
	4. Acide propanoïque (toutes voies sauf oculaire).	+
	5. Acide sorbique (toutes voies).	+
	6. Glycérol (toutes voies sauf oculaire).	+
+	7. Tocophérols (toutes voies).	

II. Conservateurs utilisées avec limite de concentrations		
	1. Alcool éthylique .- concentration maximale : 20 p. 100 (en volume) . toutes voies sauf parentérale .	+
+	2. Anhydride sulfureux , sulfites , bisulfites et méta-bisulfites – concentration maximale : 1 p. 1000 en anhydride sulfureux .	+
	3. Acide benzoïque , benzoate de sodium – concentration maximale : 2 p. 1000 en acide benzoïque .	+
	4. Acide p-hydroxybenzoïque , ses estres méthylique , éthylique et propylique et les dérivés sodiques de ces estres. – concentration maximale : 1,5 p. 1000 pour un seul de ces produits ou pour un mélange de plusieurs d'entre eux .	
+	5. Acide nordihydroguaiarétique . – concentration maximale : 1 p. 10000.	
+	6. Butylhydroxyanisol . – concentration maximale : 1 p. 5000 .	
+	7. Butylhydroxytoluène . – concentration maximale : 1 p. 10000 .	
+	8. Gallate de propyle . – concentration maximale : 1 p. 10000 .	
+	9. Gallate de d'octyle. – concentration maximale : 1 p. 10000 .	
+	10. Gallate de dodécyle. – concentration maximale : 1 p. 10000 .	
	11. Phénol . – concentration maximale : 5 p. 1000 dans les solutés injectables où la stérilisation ne peut être effectuée par la chaleur .	+
	12. Crésol. – concentration maximale : 3 p. 1000 dans les solutés injectables où la stérilisation ne peut être effectuée par la chaleur .	+
	13. P-chloro m-crésol. – concentration maximale : 3 p. 1000 dans les solutés injectables où la stérilisation ne peut être effectuée par la chaleur .	+

Antioxygènes	III. Autres conservateurs	Antiseptiques
	Peuvent également être ajoutés aux médicaments, sous réserve de respecter les dispositions législatives et réglementaires régissant l'exploitation des spécialités, d'autres conservateurs et notamment les produits suivants :	
+	- Acide tétracémique et ses dérivés . - Chlorbutol .	+
+	- Hydroxyméthane sulfiate de sodium . - Hydroxyquinoléine et ses sels . - Dérivés organomercurels suivant : acétate , borate et nitrate de phényl mercure , orthochloromercuriphénol et éthylmercurithiosalicylate de sodium .	+ + +

III-5- Exemples:**III-5-1- L'étude de la cinétique et le mécanisme de la dégradation (hydrolyse) de l'ampicilline. J.P.HOU et J.W. POOLE: [06]**

Ils ont enquêté sur la cinétique et la mécanisme de la dégradation hydrologique de l'ampicilline dans une solution à 35c° et force ionique 0.5.

La décomposition à observé sur pH à gamme de 0.8 – 10, suivant une cinétique de premier ordre .et en général elle était influencée par des catalyseurs de double spécificité (acide-base), le profile de pH a exposé une stabilité maximale dans les solutions tampons à pH 4.85, et dans les solutions non tampons à pH 5.85.

Le taux de dégradation est augmenté par l'addition de plusieurs hydrates de carbone tel que saccharose à la solution aqueuse d'ampicilline.

L'énergie d'activation E_a pour être 18 Kcal/mole à pH 5 pour l'hydrolyse d'ampicilline.

La demi-vie de la dégradation de l'ampicilline dans une solution aqueuse acidifier à température 35°c et 8h et dans 50% de solution d'alcool la demi - vie est 13h.

III-5-2- L'hypothèse de HOLWEEK et LACASSAGNE:[09]**Ils ont conduit le mécanisme de la photo dégradation vers un mécanisme de stérilisation par destruction physique**

Ils nous fournit une explication suffisante de la destruction des germes; l'hypothèse est basée sur l'assimilation de la chaleur et le rayonnement, et sur l'existence dans tout rayonnement d'énergie matériel douée d'un pouvoir destructeur en fait tout rayonnement est le support de particules élémentaires d'énergie appelées (quantum); en fonction du principe de la mécanique ondulatoire, la valeur de quantum est exprimée par la formule:

$$Q = hc/\lambda$$

Dans la quelle:

Q= L'énergie des quatums en erg par seconde.

h= la constante universelle de PLANCK ($6.62 \cdot 10^{-27}$ ergs/S).

c= la vitesse de la lumière (constante $3 \cdot 10^8$ m/s).

λ = la longueur d'onde de rayonnement en μm .

cette formule montre que l'énergie matériel d'un rayonnement d'autant plus intense que sa longueur d'onde est plus courte. Lorsque les **micros organismes** sont soumis à des irradiations, ils sont en quelque sorte bombardés par les quatoms d'énergie transporté et, pour chaque type de germe il existe une valeur limité d'énergie c.à.d une quantité maximale de quatoms qu'ils peuvent supporter sans être détruits. Cette valeur de limite est d'autant plus vite atteinte que le rayonnement est plus court, les germes sont donc très sensibles au rayons X et au rayons ultraviolet; ils ne sont détruit par les rayons infrarouges et la chaleur que beaucoup plus lentement.

Malgré ces considérations, la chaleur reste le procédé le plus général, grâce à sa facilité d'emploi. ces affirmations peuvent être matérialisés on traçant en fonction de la longueur d'onde de divers rayonnement, les courbes qui expriment la relation existant entre le pourcentage de micro organisme vivant (lorsque ce ci sont mis à une irradiation) et le temps de l'irradiation (**Fig.3**)

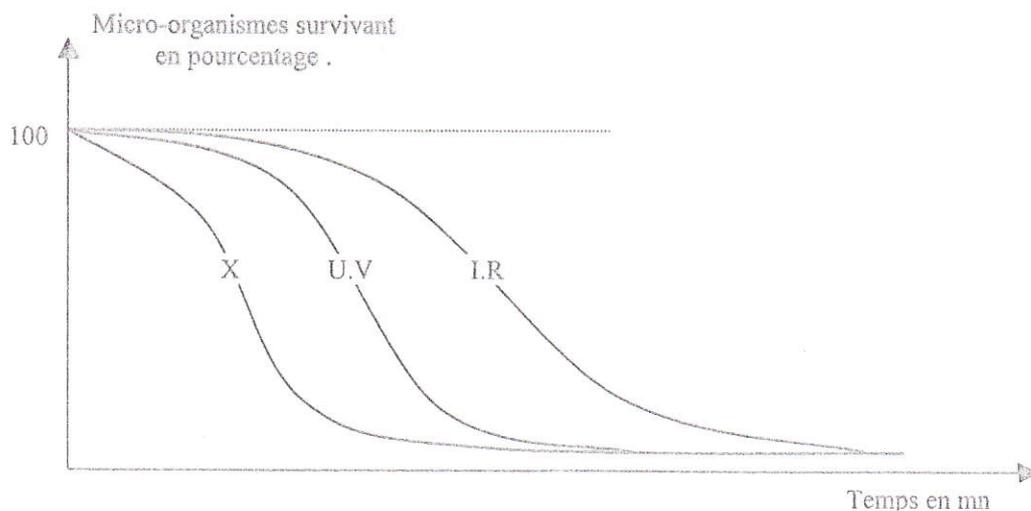


Figure 02 : courbe de survie des micro-organismes sous l'action d'un rayonnement

- Ils ont conclu que la survie des germes est importante jusqu'à une dose de rayonnement qui correspond à la dose minimale indispensable au valeur limité d'énergie; cette dose entraîne par contre une destruction massive
- Ils ont démontré la possibilité de fixer les conditions adélicates de stérilisation d'un milieu déterminé
- Ils ont prouvé une relation très étroite et très précise entre la température qui définit la valeur destructrice de rayonnement calorique et la durée de chauffage.

- La vitesse de destruction de micro organismes est en fonction de temps d'irradiation est de longueur de d'onde de rayonnement.

En fin ils ont arrivé à codifier une stérilisation par la chaleur.

III-4-3-T.HIGOUCI et C.D.BIAS: [07]

Ils ont rapporté que **CHLORAMPHENICOL** a décomposé à travers décollété de l'hydrolitique de la liaison amide d'après la réaction montré ici:

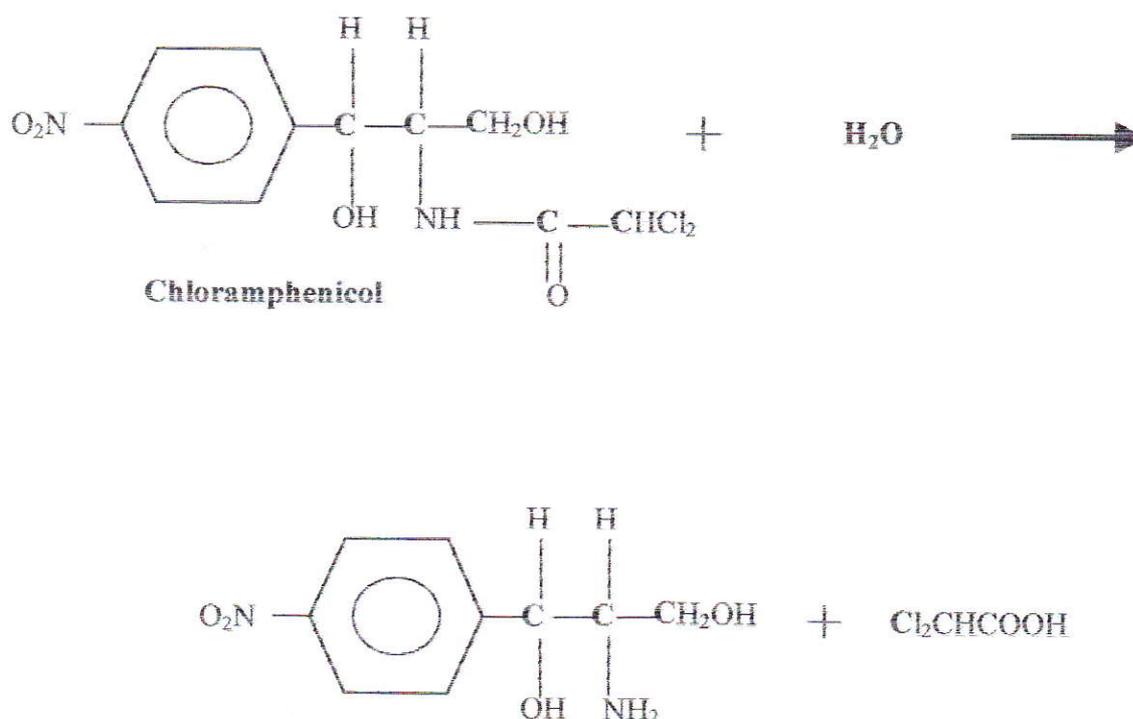


Fig.(03) : Réaction de la décomposition de «Chloramphenicol ». (Hydrolyse).

Le taux de dégradation été bas et indépendant de pH entre 2 et 7 mais a été catalysé en général par des acides et des bases.

La stabilité maximale de Chloramphenicol ce produit à pH 6 à température ambiante, sa demi de vie sans cette existence des conditions approximativement 3 ans au dessous pH 2.

Et cet hydrolyse peut catalysé par les ions de l'hydrogène et dans une solution alcalin l'échec est affecté en général des catalyseurs de double spécificité acid-base.

L'énergie d'activation pour l'hydrolyse à pH 6 est 24 Kcal/mole et demi de vie de le médicament à pH 6 et température 25°C et 2.9 année.

III-5-4- MATSUDA et AL: [10]

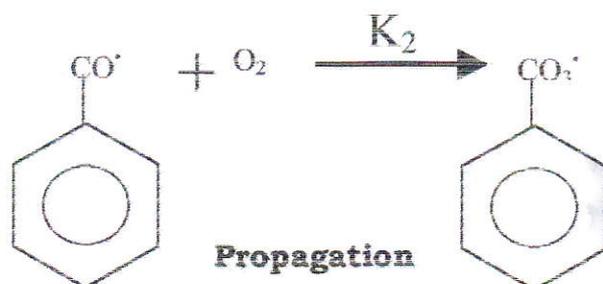
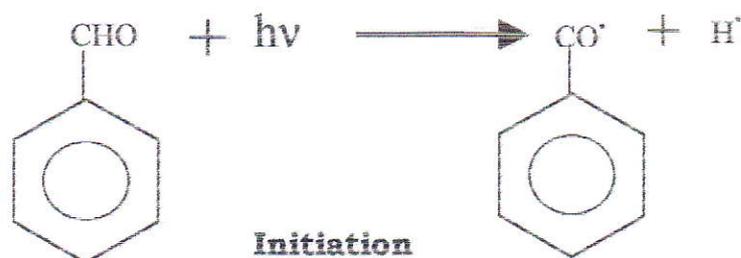
Ils ont étudiés la photo dégradation de **NIFÉDIPINE** dans l'état solide quand est exposé à des radiations de vapeur de mercure et quand il l'expose au radiation d'une source de lumière fleurissant la substance est décomposé au quatre composés, le photoproduit principal.

Il est dégradé aisément dans la présence de l'ultraviolet et la lumière visible avec une maximum de composition tout passe autour de 380 nm.

Le taux de dégradation de Nifédipine est plus élevé lorsque on l'expose à des radiations de vapeur de mercure que lorsque on projette à des rayons fleurissant mais la dégradation de l'absence des deux , source de lumière montrait une cinétique de premier ordre.

III-4-5- MOORE: [11]

Il décrit la cinétique de la photodégradation de **BENZALDEHYDE**, comme il détermine comment en mesurant la consommation d'oxygène avec un électrode de l'oxygène du poularographique.



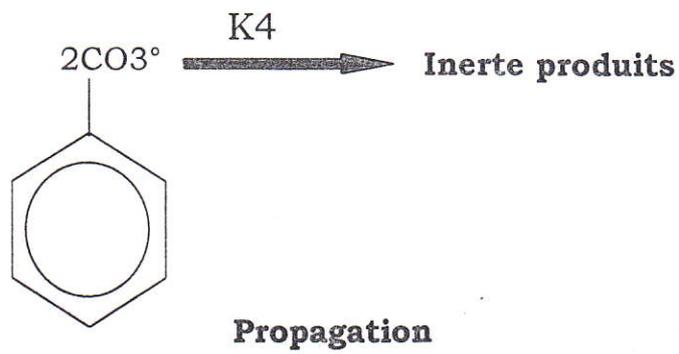
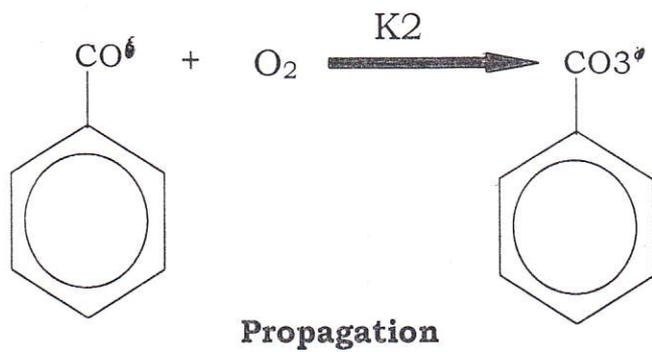


Fig.(04): la photodégradation du benzaldehyde

Etude expérimentale

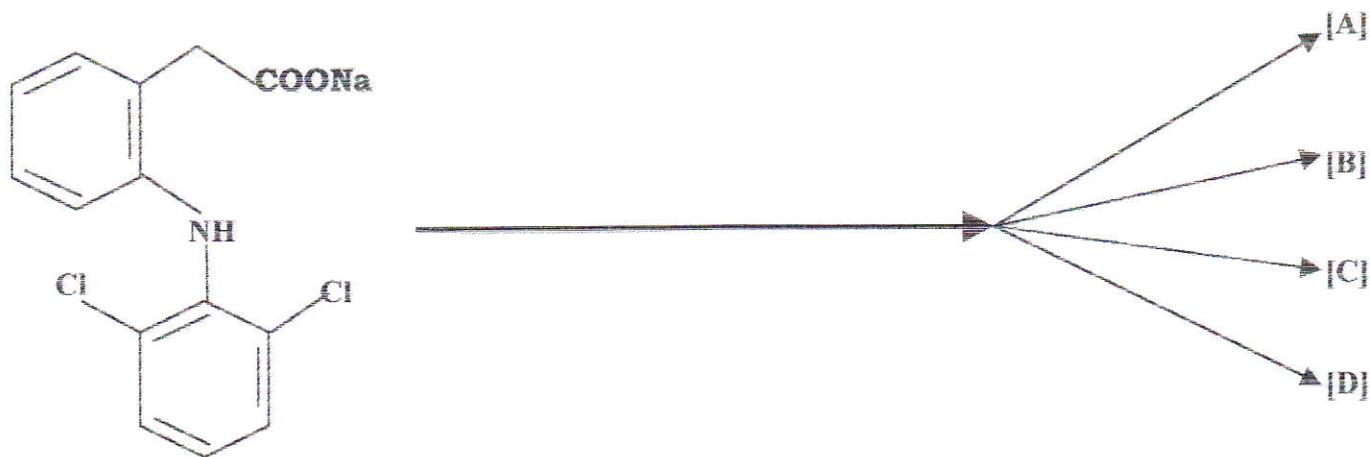
Chapitre I

📁 La dégradation du DICLOFENAC.

Chapitre I :**La dégradation de «diclofénac ».****I-1- Introduction:**

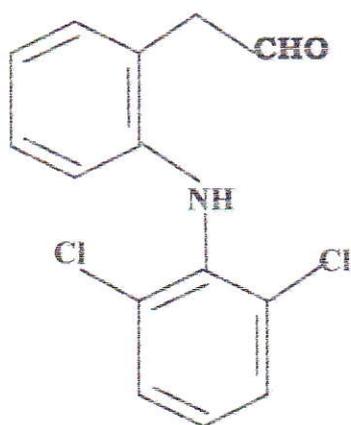
Les études qu'ils ont fait montrent que "Diclofénac" peut détruire, les produits de cette altération peuvent être les substances apparentées de "Diclofénac".

Les substances apparentées:

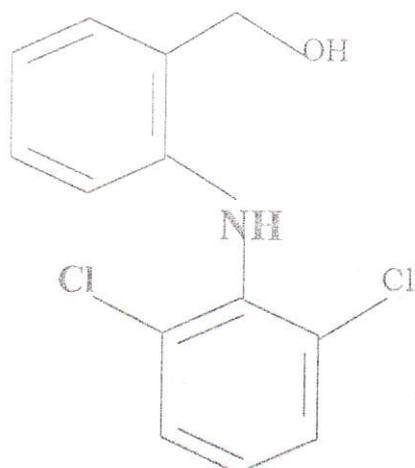


Principe actif (Diclofénac)
[M. P]

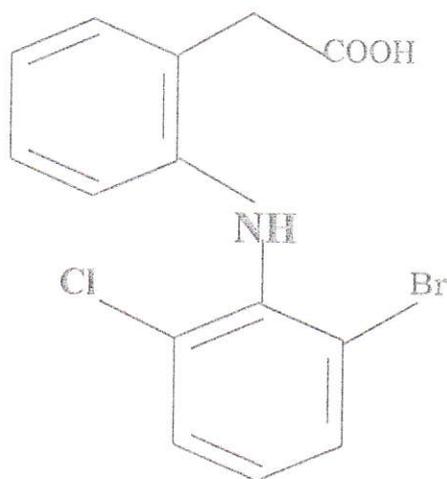
[M.P]: [2-((2,6-dichlorophényl) amino) phényl] acétate de sodium.



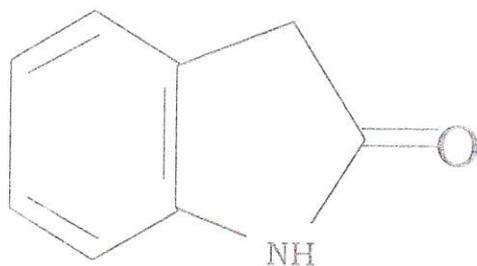
[A]: 1-(2,6-dichlorophényl) indolin-2-one



(B) : (2- (2,6 - dichlorophényl)
amino) phényl) méthanol .



(C) : acide 2 - (2 - bromo - 6 -
chlorophényl) amino) phényl) -
acétique .



(D) : Indolin - 2 - one

I-2- Mise au point des différentes méthodes de dégradation de "Diclofénac".

I-2-1- Matériels, Appariellages, et Réactifs:

a)- Matériels:

- Bêcher.
- Verre à montre.
- Tare.
- Spatule.
- Fioles.
- Tubes à essais.
- Ballon à chauffer.
- Réfrigérant.
- Mortier en agate.
- Papier filtre (millipore pour filtration HV-0.25 μ m).
- CCM: fig. (06) plaque de chromatographie sur couche mince
- Cuve de migration à deux partiments.
- Carvercle en verre.

b)- Appariellages:

- Etuve MEMERT. Ax.(01)
- Balance analytique de précision SARTORIUS.
- Ultra-son ANNE.MASSE.SE.
- Agitateur.
- Haute pression sous vide.
- Chauffe ballon.
- Potentio-chutte de burette.
- PHmètre.
- HPLC: fig.(05) type CHIMADZU , etWATERS.
 - Une pompe : LC-10AD SCHIMADZU.
 - Un detecteur : SPD-10AV.DAD.
 - [SIL-10AD] : auto injecteur.
 - Colonne : Symmetry Shield -RP C 18/C 8.
- Specterscopie[I.R]: fig.(12).
- Specterscopie[UV/ VIS]: fig.(08)

c)- Réactifs :

- Diclofénac sodique (matière première).
- Diclofénac sodique (Etalon).
- Eau distillé (ultra-pure).
- Acide chlorhydrique (HCl; 1N) .Ax(02)
- Solution basique de (NaOH; 1N) .Ax(05)
- Solution de phosphate monosodique (NaH₂PO₄; 1.6g/l).Ax(08)
- Solution d'acide phosphorique (H₃PO₄; 1g/l) .Ax(09)
- Methanol pour HPLC .
- Indométacine.
- Ammoniaque concentrée R .
- Acétate d'éthyle R.

I-2-2- Contrôle de qualité de « DICLOFENAC »:

Ensemble des essais pour contenir la compatibilité de notre substance avec les normes usuelles.

I-2-2-a) Caractéristiques : Forme, Couleur, Etat, Solubilité...ect. Voir Tab.(01)

I-2-2-b) Identifications: Par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge on examine nos substance (DICLOFENAC Na .MP) sous la forme de pastille, et on comparant le spectre obtenu avec le spectre de référence fig. (15), Tab. (02)

I-2-2-c) Teste de sodium : L'existence de sodium dans notre produit.

I-2-2-d) Limpidité et degré d'opalescence des liquides et coloration de la solution : un liquide est considéré comme limpide si sa limpidité correspond a celle de l'eau ou du solvant utilisé dans les conditions opératoires, ou si son opalescence n'est pas plus prononcée que celle de la suspension témoin

I-2-2-e) Perte de dessiccation :

Capsule vide = 8.2857g

$$PE = 1.0001g$$

$$Pf(1) = 9.2838g$$

$$Pf(2) = 9.2838g$$

Donc la perte de dessiccation est :

$$\frac{Pi - Pf}{Pe} \times 100 = 0.02$$

I-2-2-f) Essais :

Dosage par potentiomètre (j'ai procédé par chute de burette potenti.)

- La correspondance :



Remarque: Indicateur coloré utilisé est : vert brillant , et on travaille à l'abri de la lumière.

Test (1): $PE_1 = 250.5mg$

Résultat : $V_1 = 7.9 ml$

$$T = \frac{V_1 \times \text{correspondance} \times f}{Pe \times (1 - \text{Perte de dissiccation})} \times 100 \quad / f=1$$

Donc: \longrightarrow T1=100.34 %

Test (2)

$$PE_2 = 251.2 \text{ mg}$$

$$\text{Résultat : } V_1 = 7.9 \text{ ml}$$

$$\longrightarrow T_2 = 100.06 \%$$

Test (3)

$$PE_3 = 250.7 \text{ mg}$$

$$\text{Résultat : } V_1 = 7.9 \text{ ml}$$

$$\longrightarrow T_3 = 100.25 \%$$

D'où :

$$T_{\text{moyenne}} = \frac{T_1 + T_2 + T_3}{3} = 100.21\%$$

$$99.0\% < T_{\text{moy}} < 101.0\% \quad \text{Tab.}(02)$$

Substances Apparentées

Par chromatographie HPLC.

Conditions opératoires

- colonne : Cs (5 μm , (0.25 mm x 4.6mm)
- $\lambda_{\text{Max}} = 254 \text{ nm}$
- Débit = 1ml / min
- La phase mobile

34V : Tampon
à PH 2.5

Solution d'acide phosphorique
(1 g/l).
Solution phosphate monosodique
(1.6 g/l)

66 V : Méthanol

Résultat :

Un seul pic : Tab (07). Fig. (13)

1-2-2-i) Acidité et alcalinité :

Par une solution de 1% (M /v) de diclofénac Na il faut un pH de
 $6.5 < PH < 8.5$: Tab.(07).

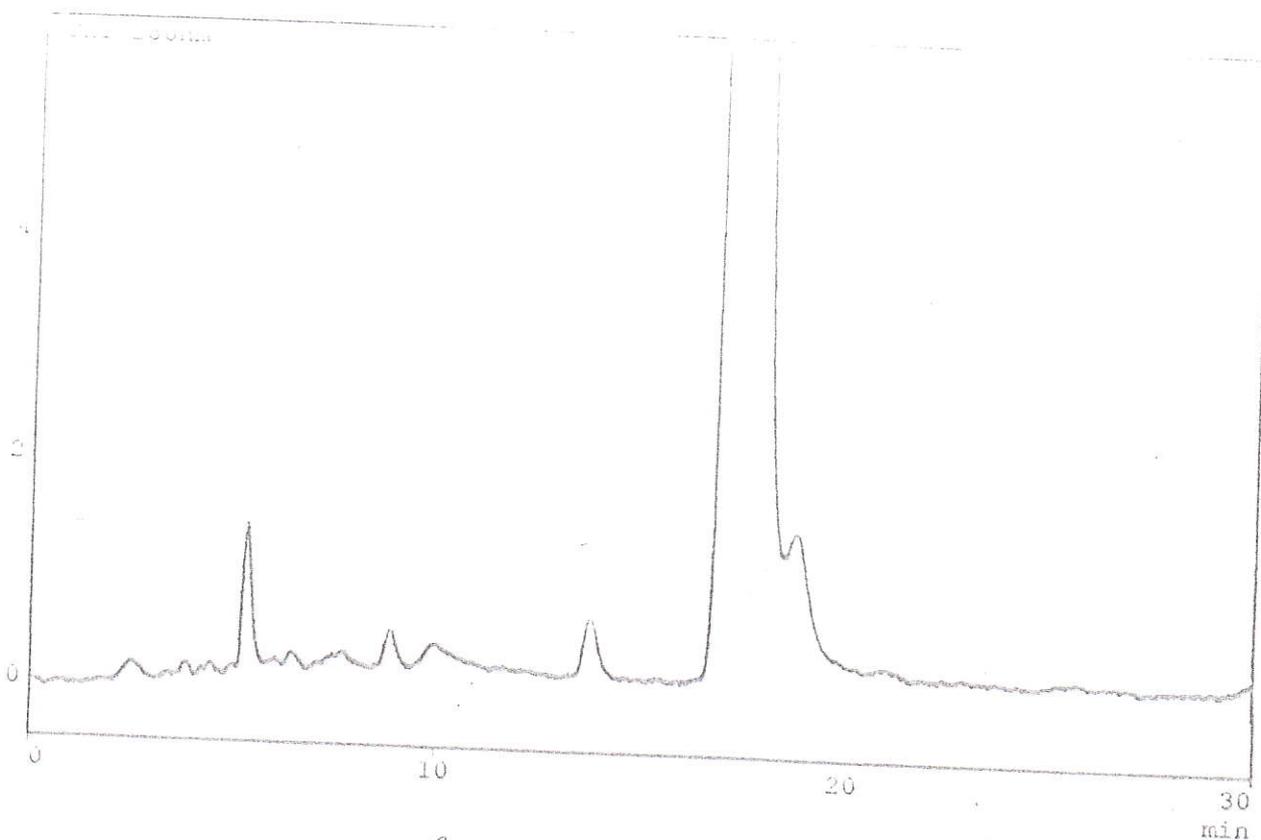


Fig. (13): Chromatogramme HPLC, "Diclofénaç"

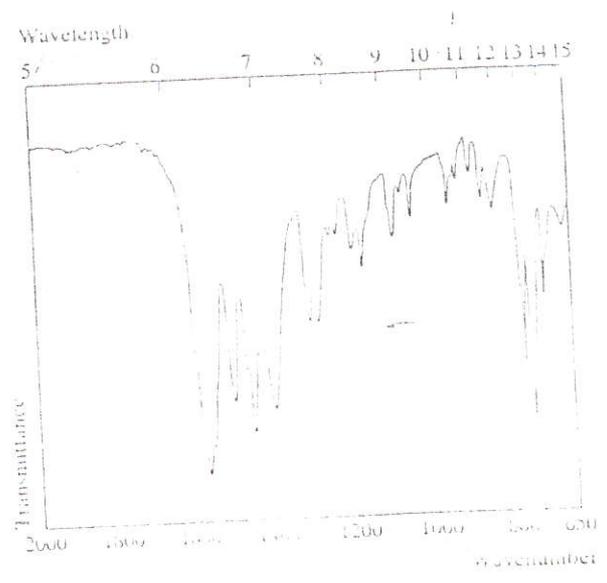


Fig. (14): Spectre de Référence I.R. "Diclofénaç"

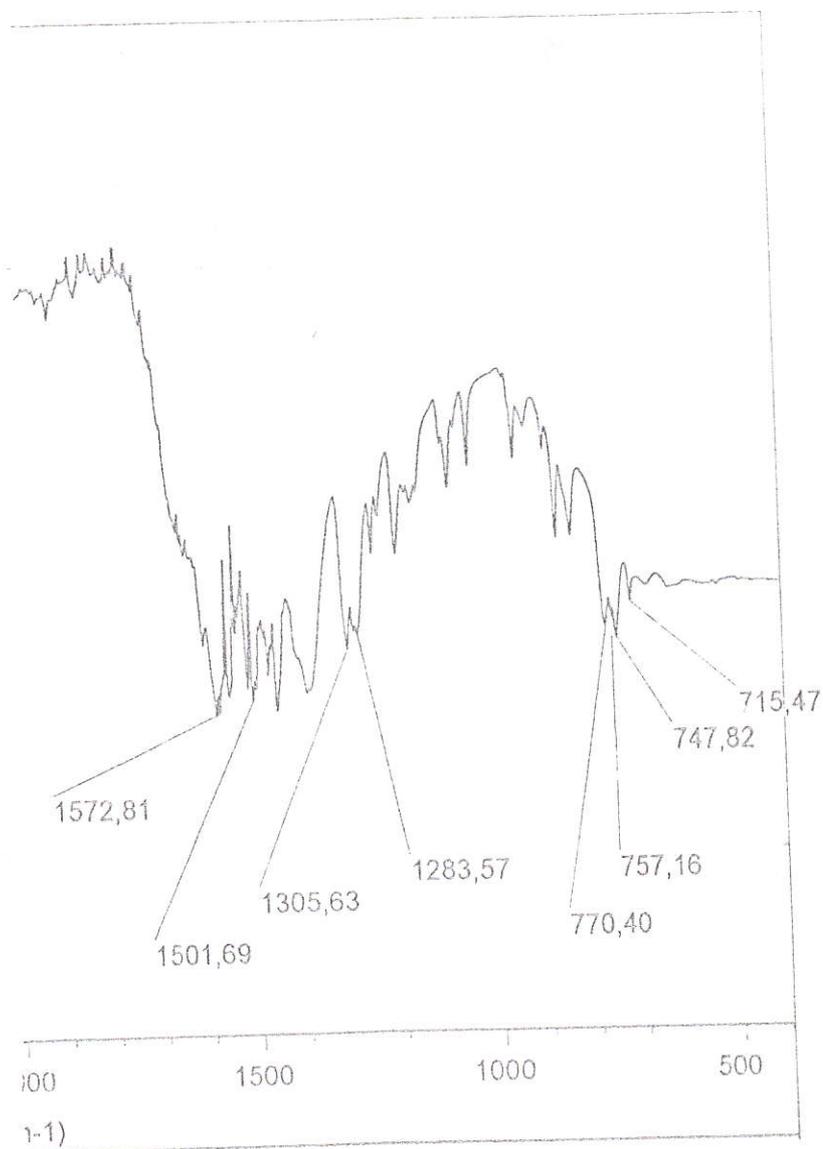
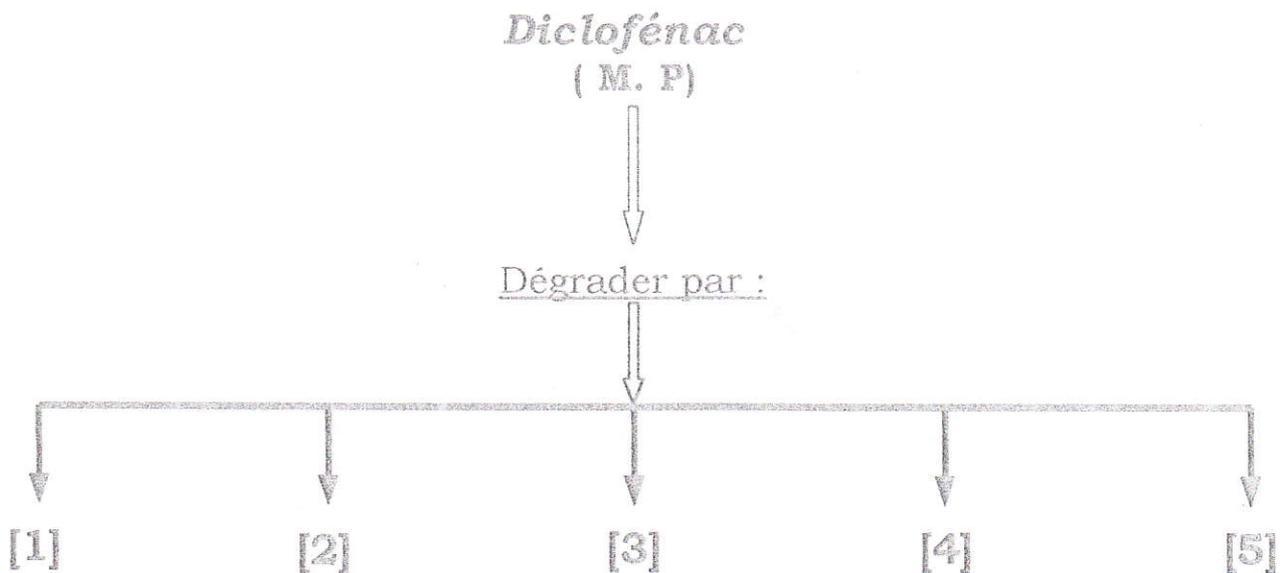


Fig. (15) : Spectre IR de DICLOFENAC (spectre obtenu)

Tab.(07) : Résultats de contrôle de qualité du diclofénac.

<i>Testes</i>	<i>Normes</i>	<i>Résultats</i>
1)- Caractère	- poudre cristalline blanche a faiblement jaunâtre légèrement hygroscopique	- Conforme
Solubilité :	- Assez soluble	- Conforme
Eau (H ₂ O)	- Très soluble	- Conforme
Méthanol (MeOH)	- Soluble (96%)	- Conforme
Ethanol (EtOH)	- Peu soluble	- Conforme
Acétone	- Légèrement soluble	- Conforme
Ether	- Insoluble	- Conforme
Point de fusion	- Il fond en se décomposant a 280 °c	- Conforme
2)- Identification Spectrophotomètre IR	- Identique au spectre de référence (clark's)	- Conforme
Teste de sodium	-Par manque de réactif α -métha-méthyl-benzoite on a procédé par test de flamme	Flamme jaunâtre - Conforme
Teste d'opalescence (limpidité)	claire	- Conforme
Absorbance (440nm)	< 0.05	- 0.0012 Conforme
Métaux lourds	< 10 ppm	- Conforme
Perte à la dissiccation	< 0.5 %	- 0.02 % Conforme
Acidité et Alcalinité	6.5< PH < 8.5	- Conforme

I-2-3- Mode opératoire:

[1]- La Chaleur.

[2]- L'humidité + la température.

[3]- L'acidité.

[4]- L'alcalinité.

[5]- La lumière.

I-2-3-1- Dégradation par chaleur:

On pèse 2g de Diclofénac (MP) dans un tare puis on met le tare dans l'étuve a une température de (100-120°C) pendant 5 jours .

I-2-3-2- Dégradation en reflux (humidité + température):

On pèse 2g de Diclofénac (MP) dans un bêcher on dilue la quantité avec suffisamment de l'eau à l'aide de l'ultrason, on met la solution obtenue dans un ballon à chauffer, le quel est relié à un système de condensation à reflux. voir fig.(16)

On chauffe la solution en reflux pendant 5 jours à une température de 100°C (la période suffisante pour l'apparition de la couleur de la dégradation). fig.(21).

Puis on laisse la solution dégradée se refroidir jusqu'à une température ambiante, puis filtre et on garde le filtrat dans une fiole et le résidu dans un verre à montre fig.(17)

I-2-3-3- Dégradation par acidité:

On met 1g de Diclofénac Na dans une fiole et on complète avec HCl 1N, jusqu'à 50ml, pendant 2 mois.

Après on garde le filtrat et le résidu pour l'analyser fig.(18)

1-2-3-4- Dégradation par Alcalinité:

On met 1g de Diclofénac (MP) dans une fiole et on complète avec NaOH 1N jusqu'à 50 ml pendant 2 mois

On répète le même travail que on a fait pour la dégradation par acidité fig.(19)

1-2-3-5- Dégradation par lumière:

On met 2g de Diclofénac Na diluer dans 500ml d'eau. maintenue à l'abri de chaleur et humidité.

On provoque la solution par une énergie lumineuse de la lumière blanche. Pendant 2 mois. Après une filtration simple on obtient un filtrat et un résidu prêts pour analyser voir fig.(20)

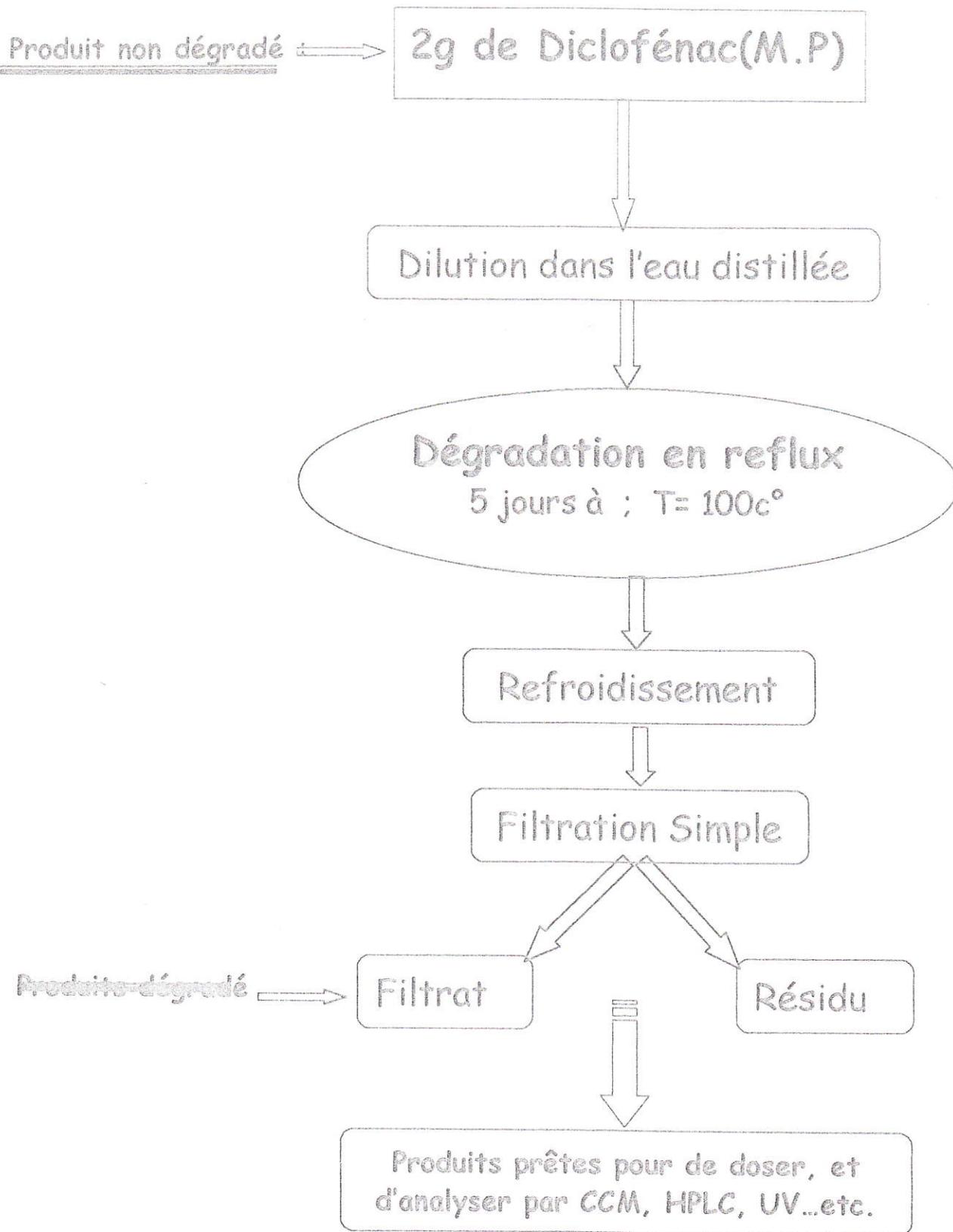


Fig.(17):Schéma de présentation de la dégradation en reflux.

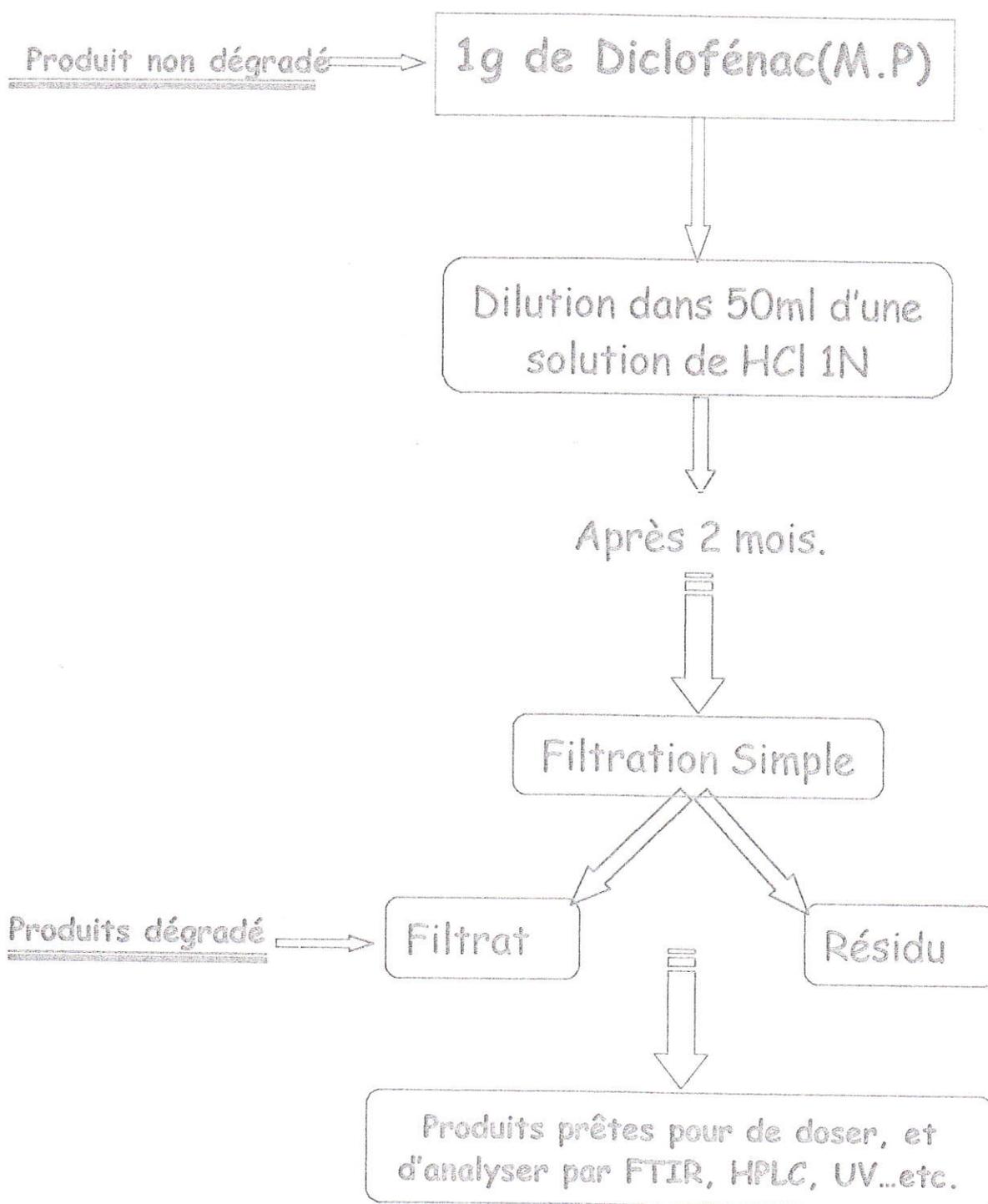


Fig.(18):Schéma de présentation de la dégradation par acidité.

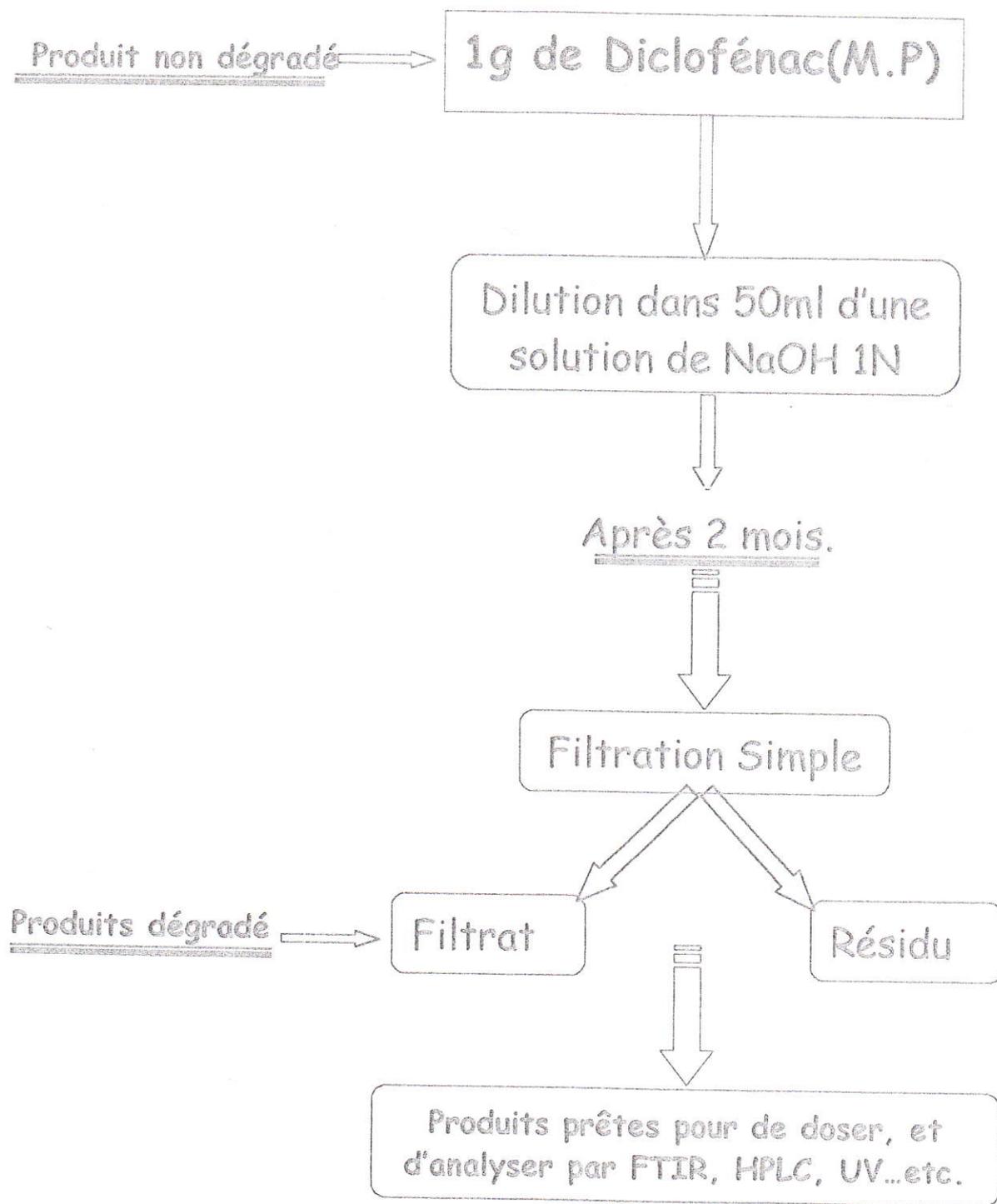


Fig.(19):Schéma de présentation de la dégradation par alcalinité.

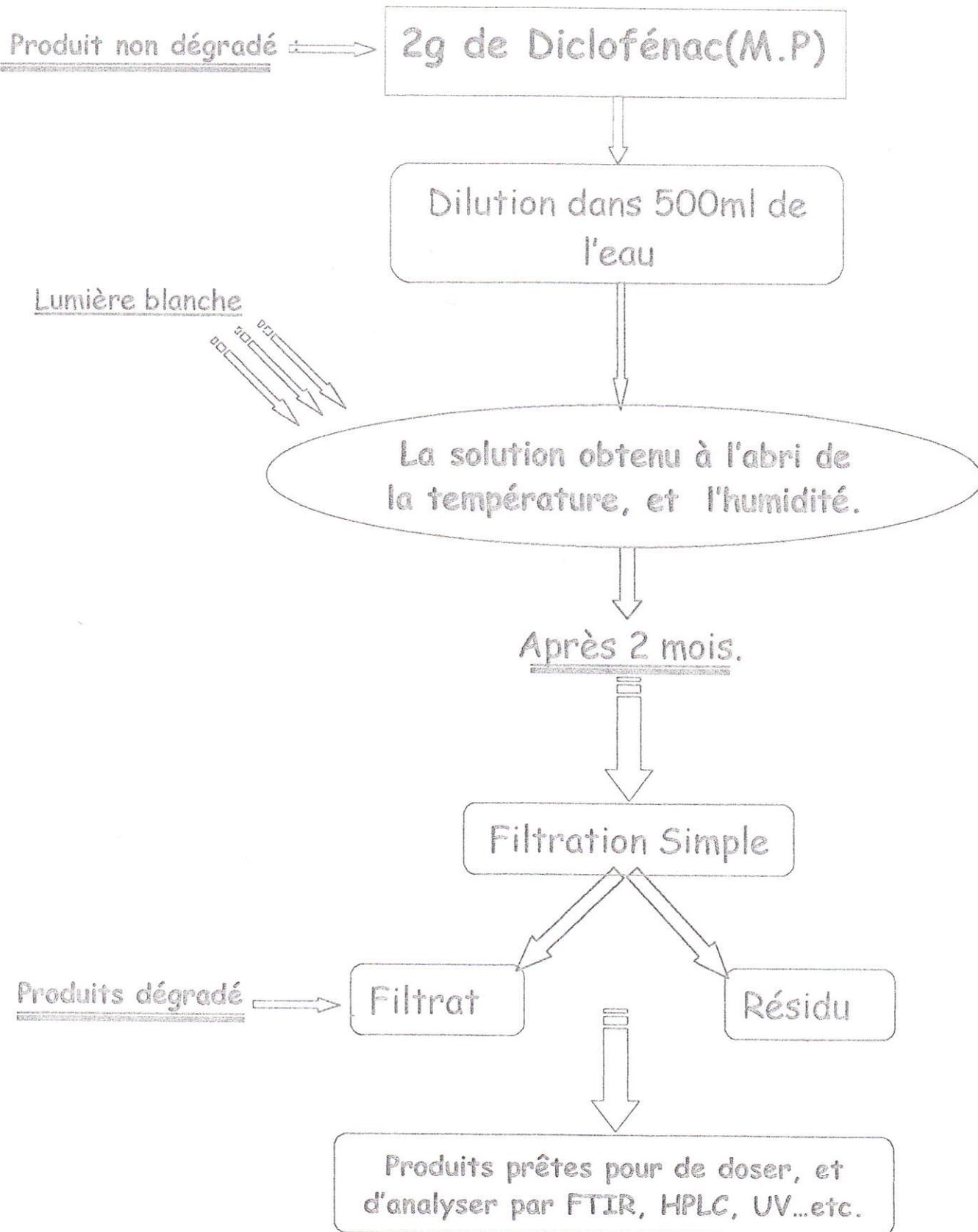
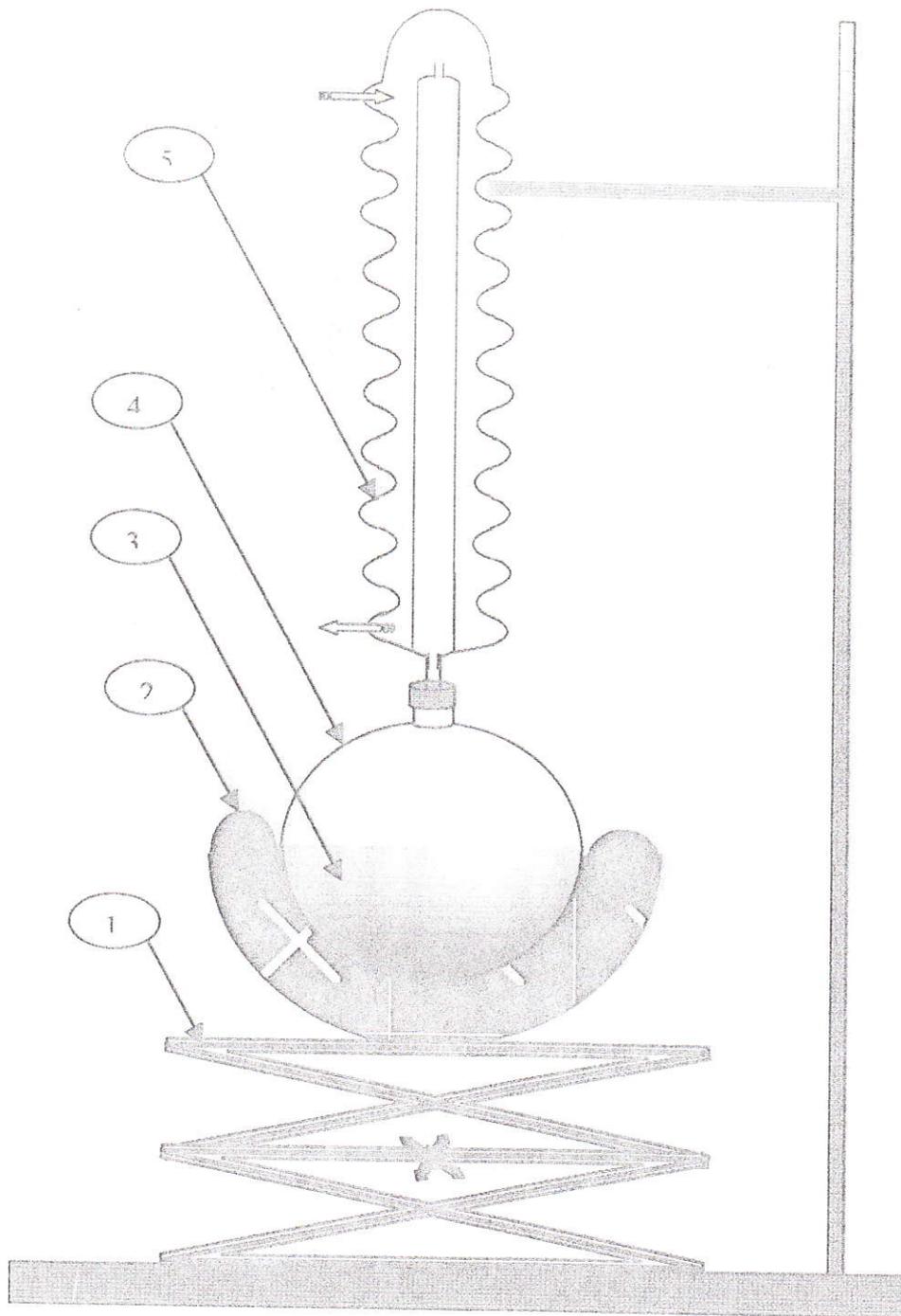


Fig.(20):Schéma de présentation de la dégradation par lumière.



- (1) : élévateur ;
- (2) : chauffe ballon ;
- (3) : solution de diclofénac sodique 2g/500ml ;
- (4) : ballon ;
- (5) : réfrigérant ;

**Figure.(16) : Schéma du système de condensation à reflux
(avant dégradation)**

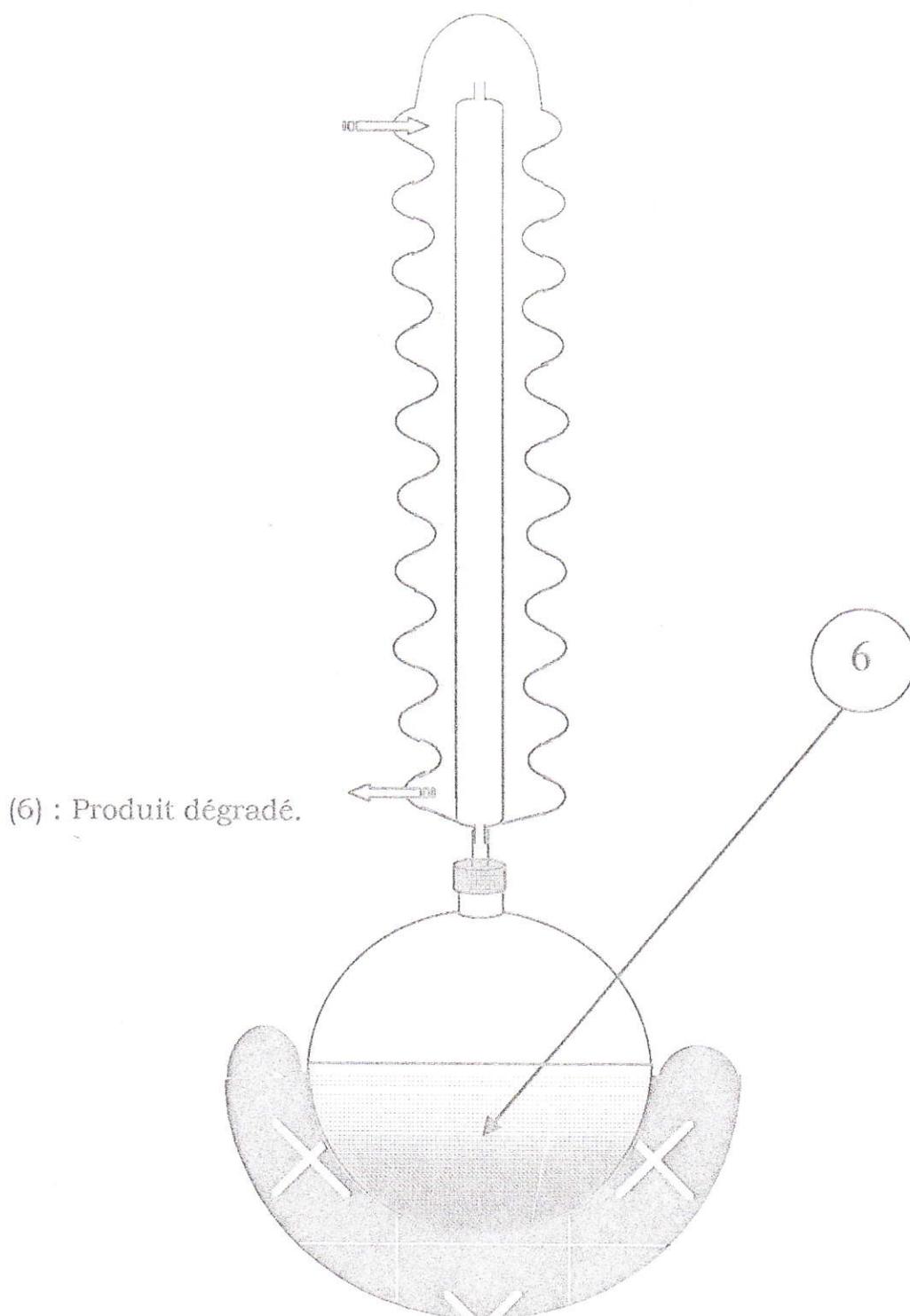


Figure.(21) : Schéma du système de condensation à reflux (après dégradation)

Chapitre II

📁 Etude de dégradation par CCM.

Chapitre II :

L'étude de la dégradation par Chromatographie sur couche mince. C.C.M.

II-1- Introduction:

Pour des spots (des substances dégradées) bien visualisés, et en raison du faible coût des manipulations, la technique de la chromatographie sur couche mince est souvent utilisée pour mettre au point les conditions opératoires avant le passage en chromatographie liquide à haute performance HPLC.

II-2- Conditions chromatographie

- **La phase stationnaire :** Plaque de chromatographie sur couche mince : Une plaque recouverte de gel de silice GF 254 de dimension 20x20 mm d'épaisseur.
- **La phase mobile :** Elle est constituée par :
ammoniaque concentrée; méthanol ; Acétate d'éthyle.
(20 : 10 : 80)
- **Témoins :** l'étalon est préparé par dissolution de 25 mg de diclofénac sodique (M.P) dans le méthanol et on complète à 3 ml avec le même solvant.
- **Les échantillons :**
 - Dégradé par température
 - Dégradé en reflux
 - Dégradé par acidité
 - Dégradé par alcalinité
 - Dégradé par lumière

On fait une dissolution de 25 mg dans 5 ml de méthanol pour chaque type de dégradation et enfin on obtient 5 échantillons pour analyser par CCM.

➤ Révélateurs :

Le type de révélation que l'on utilise c'est une révélation physique ; on examine nos plaques sous lumière ultraviolette à longueur d'onde 254 nm

II-3- Mode opératoire

On prépare la plaque **Fig.(08)** on dépose séparément sur la ligne de dépôt 5 µl de chaque échantillon.

On prépare la plaque (pour un parcours de développement 10 cm) **Fig.(08)**.

Puis on introduit la plaque dans le cuivre dont au fond de laquelle se trouve la phase mobile.

Après 1h35mn on arrête la migration (la durée de développement de la phase mobile à pour causes 10 cm).

On laisse la plaque séchée à l'air (les solvants sont souvent très volatiles).
Après on examine la révélation avec UV 254 nm et on obtenu le chromatogramme **Figure.(22)**.

$d\varphi_m = 10 \text{ cm}$. **fig.(23)** ; **Ax.(14)**

- 1) Ligne de dépôt des échantillons.
- 2) Ligne de front de la phase mobile

- A = Témoins
- B = Dégrade par température
- C = Dégrade par acidité
- D = Dégrade par alcalinité
- E = Dégrade par lumière
- F = Dégrade par reflux

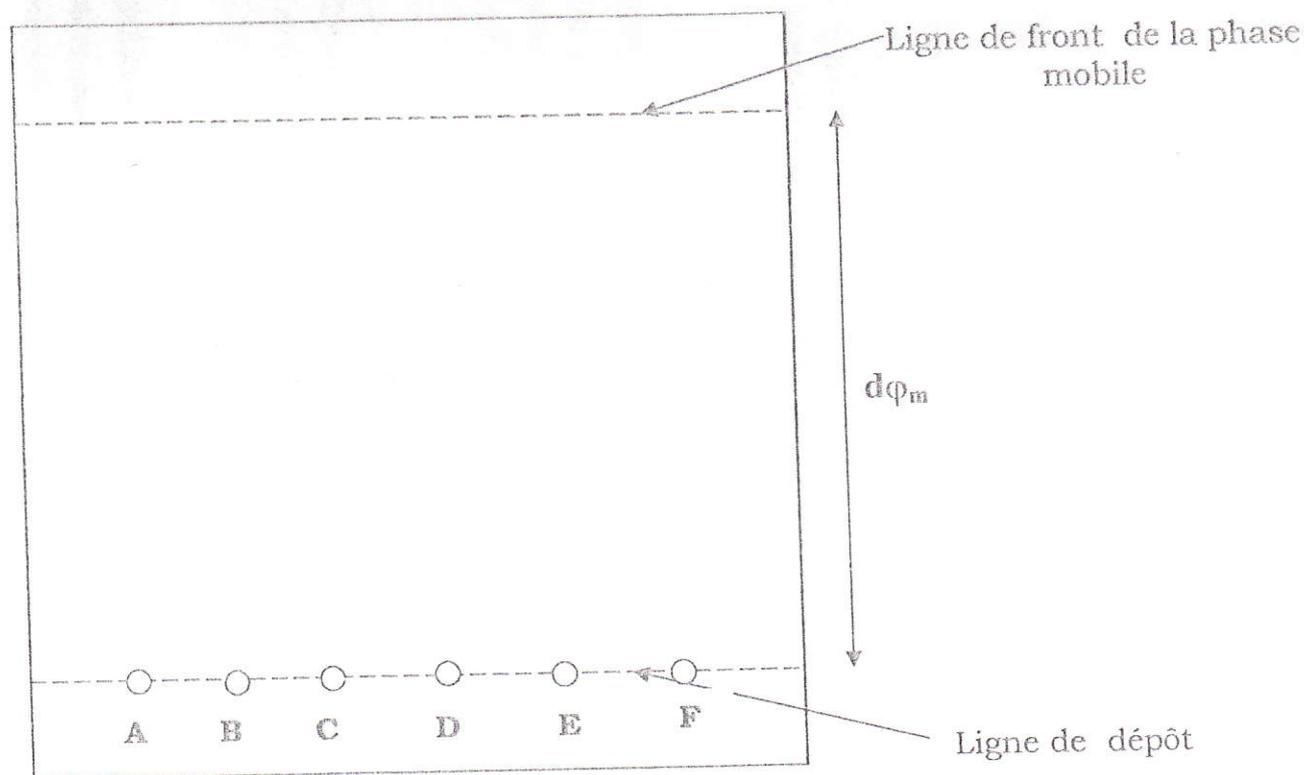


Figure.(23) : la plaque de CCM avant l'introduit dans la cuve.

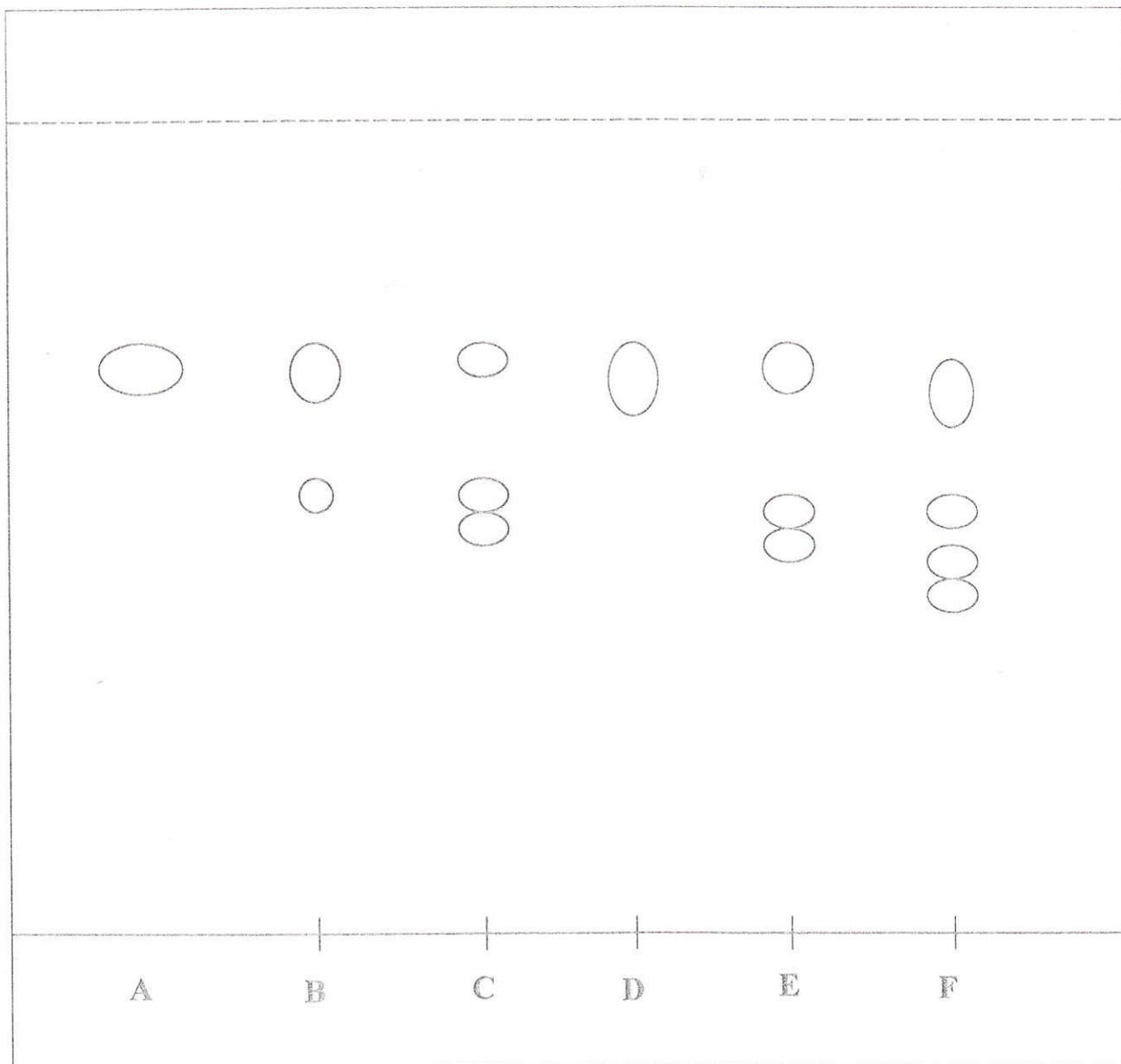


Figure (22) : Chromatogramme de chromatographie sur couche de les produits de dégradation.

	Echantillons	N° de spot	Facteur de rétention R_f
Révélation Physique $\lambda=254\text{nm}$	Injection [A] Diclofénac MP Produit non dégradé	(01)	0.54
	Injection [B] Dégradé par Température	(01)	0.55
		(02)	0.48
	Injection [C] Dégradé par Acidité	(01)	0.56
		(02)	0.47
		(03)	0.43
	Injection [D] Dégradé par Alcalinité	(01)	0.53
Injection [E] Dégradé par Lumière	(01)	0.54	
	(02)	0.46	
	(03)	0.42	
Injection [F] Dégradé en Reflux	(01)	0.53	
	(02)	0.48	
	(03)	0.42	
	(04)	0.36	

Tableau (08) : Résultats de la chromatographie sur couche mince.

II-4-1-Qualitativement

Si on compare entre les facteurs de rétention des produits dégradés et ceux de l'étalon (produit non dégradé) on remarque:

- ♦ **Injection[A]:** Spot n°01 il s'agit de l'étalon [A] (Diclofénac Na) .
- ♦ **Injection[B]:** Spot n°01 il s'agit de l'étalon [A], mais le spot n°02 s'agit d'un produit de dégradation.
- ♦ **Injection[C]:** Spot n°01 il s'agit de l'étalon [A], mais les spots n°02 et n°03 correspondent aux produits de dégradation.
- ♦ **Injection[D]:** Spot n°01 il s'agit de l'étalon [A] (Diclofénac Na) .

- ♦ **Injection[E]:** Spot n°01 il s'agit de l'étalon [A], mais le spots n°02 et n°03 correspondent aux produits de dégradation.
- ♦ **Injection[F]:** Spot n°01 il s'agit de l'étalon [A], mais le spots n°02, n°03 et n°04 corespondent aux produits de dégradation.

II-4-2-Quantitativement:

D'après le chromatogramme on observe l'apparition d'autres substances autre que le diclofénac dans tout les produits obtenus expérimentalement (B, C, E, F) sauf dans le cas du dégradation par alacalinité(D). et on absolve aussi que pour le même numéro de spot les substances apparées ont presque des temps de rétention identique mais avec des quantités differente, ce qui explique la difference de forme (largeur et surface) du spots.

II-5-Conclusion:

Donc on peut conclure que le Diclofénac se dégrade par les facteurs suivants : temperature, acidité, lumière et en reflux. Et qu'il résiste au facteur d'alcalinité.

Chapitre III

📁 Etude de dégradation par HPLC.

Chapitre III :

L'étude de la dégradation par chromatographie liquide à haute performance H.P.L.C.

III-1- Introduction:

L'aspect de travail consiste à développer la technique de CCM soit elle moins précise, mais HPLC à pour l'objectif de permettre d'analyser rapidement un grand nombre des échantillons, afin d'en effectuer une pré-sélection. Dans ce travail, l'HPLC est utilisé pour l'analyse qualitative des produits de dégradation.

III-2- Matériels et Méthode

III-2-1- Echantillons :

> Produits dégradés :

- [B] Dégradé par acidité
- [C] Dégradé par alcalinité
- [D] Dégradé par lumière
- [F] Dégradé en reflux

> Témoin (Etalon, produit non dégradé)

- [A] Diclofénac sodique (MP)

III-2-2- méthodes chromatographiques :

❖ Appareillages :

- **Chromatographe** : modèle CBM-10A SHIMADZU communications Bus Modèle.
- **Détecteur** : modèle SPD-10A UV-VIS detector SHIMADZU.
- **Pompe** : modèle LC-10 AD liquid chromatograph SHIMADZU.

❖ Conditions chromatographiques :

- **Phase stationnaire** : colonne C18(4.6x150mm ; 3.5 µm).
- **Phase mobile** : solution d'acide phosphorique 1.6 g/l ; solution de phosphate monosodique ; méthanol (17 : 17 : 66).

- Débit : 1ml/mn.
- Détection : UV $\lambda=254\text{nm}$.
- Injection : 20 μl

III-3- Résultats et Interprétations :

- ♦ Injection [A] (Diclofénac sodique (MP)) : voir fig.(24).
- ♦ Injection [B] (Dégradé par acidité) : voir fig.(25)
- ♦ Injection [C] (Dégradé par alcalinité) : voir fig.(26)
- ♦ Injection [D] ((Dégradé par lumière) : voir fig.(27)
- ♦ Injection [E] ((Dégradé en reflux) : voir fig.(28)

Injection	N° du pic	Temps de rétention tr (mn)
[A]	(01)	17.320
[B]	/	/
[C]	(01)	18.366
[D]	(01)	4.959
	(02)	9.842
	(03)	17.352
[E]	(01)	4.991
	(02)	17.566

Tab.(09) : Resultats des analyses de la dégradation par HPLC

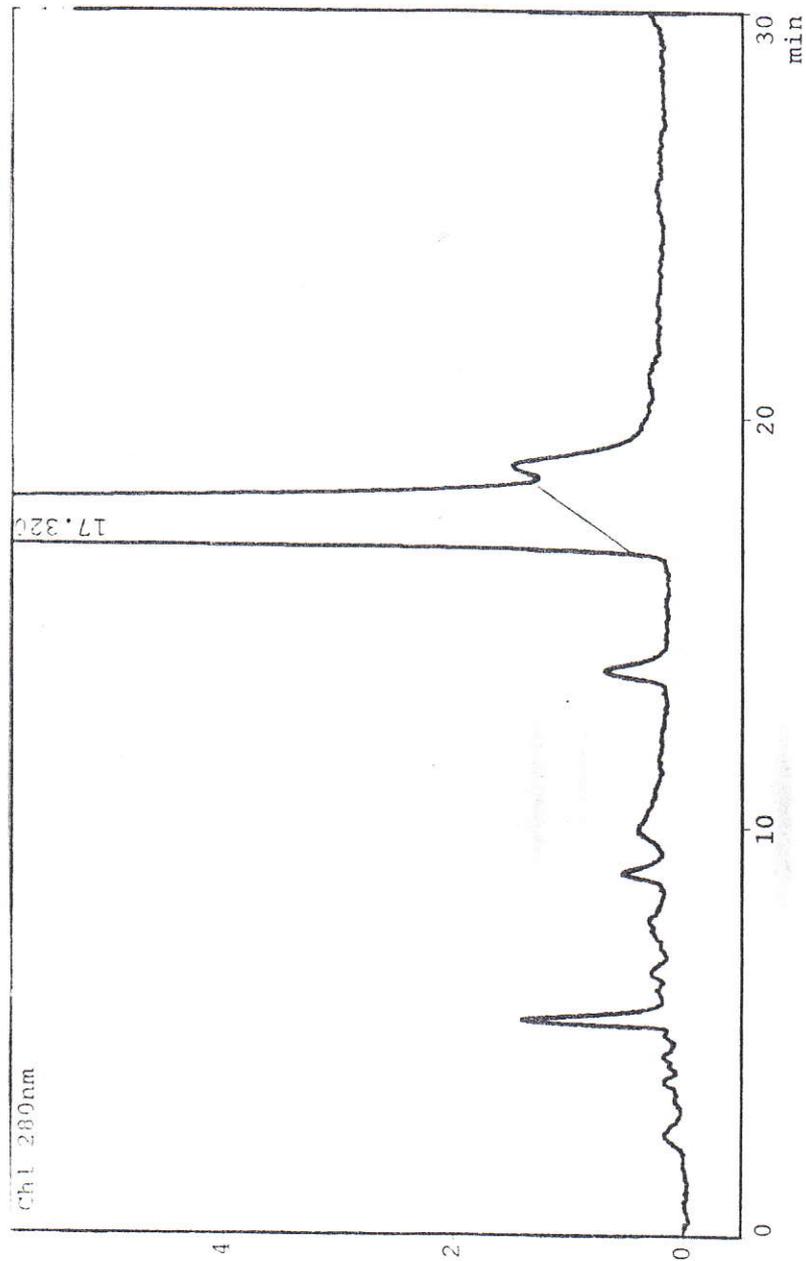


Fig.(24) : Chromatogramme d'étalon (Diclofenac M.P)

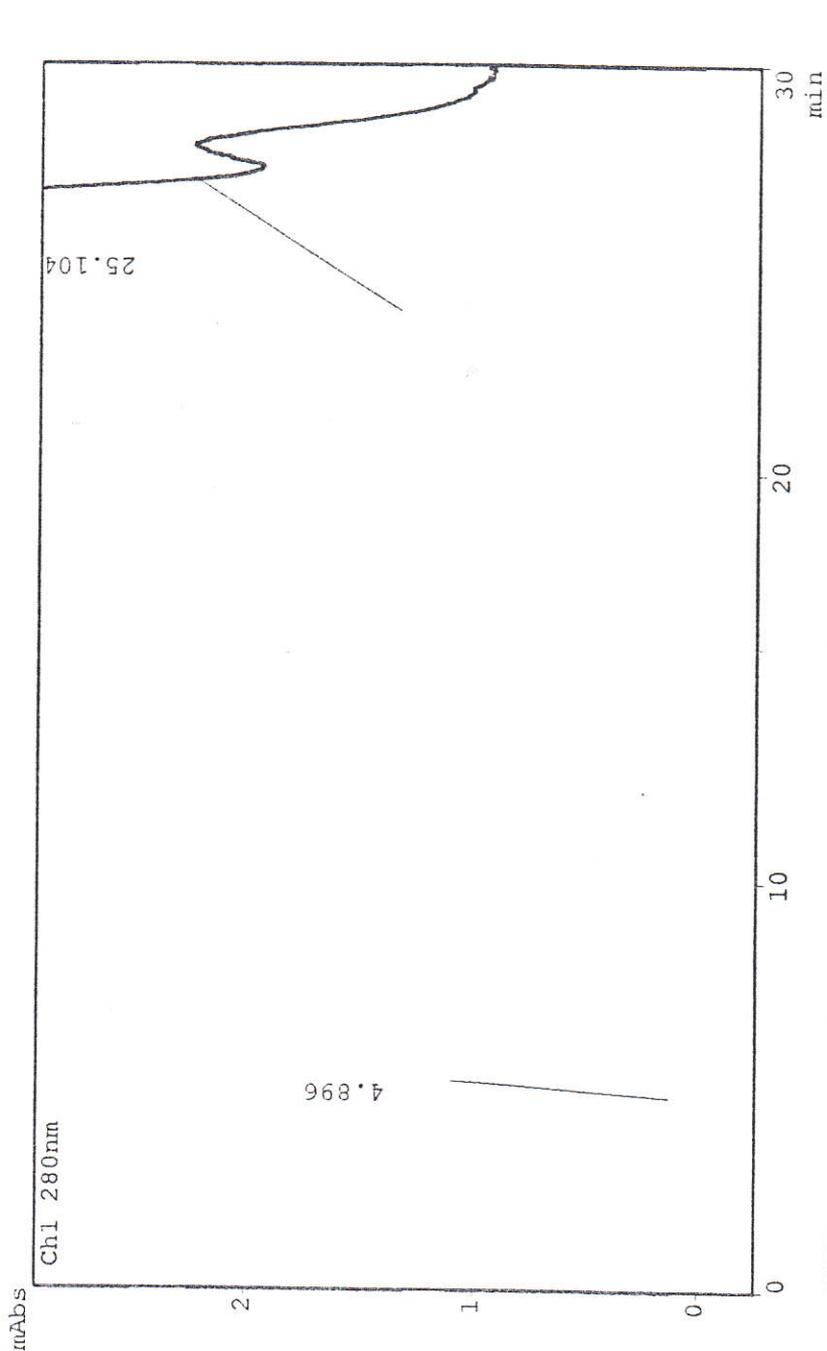


Fig.(25) : Chromatogramme de (Diclofenac M.P) dégradé par l'acidité.

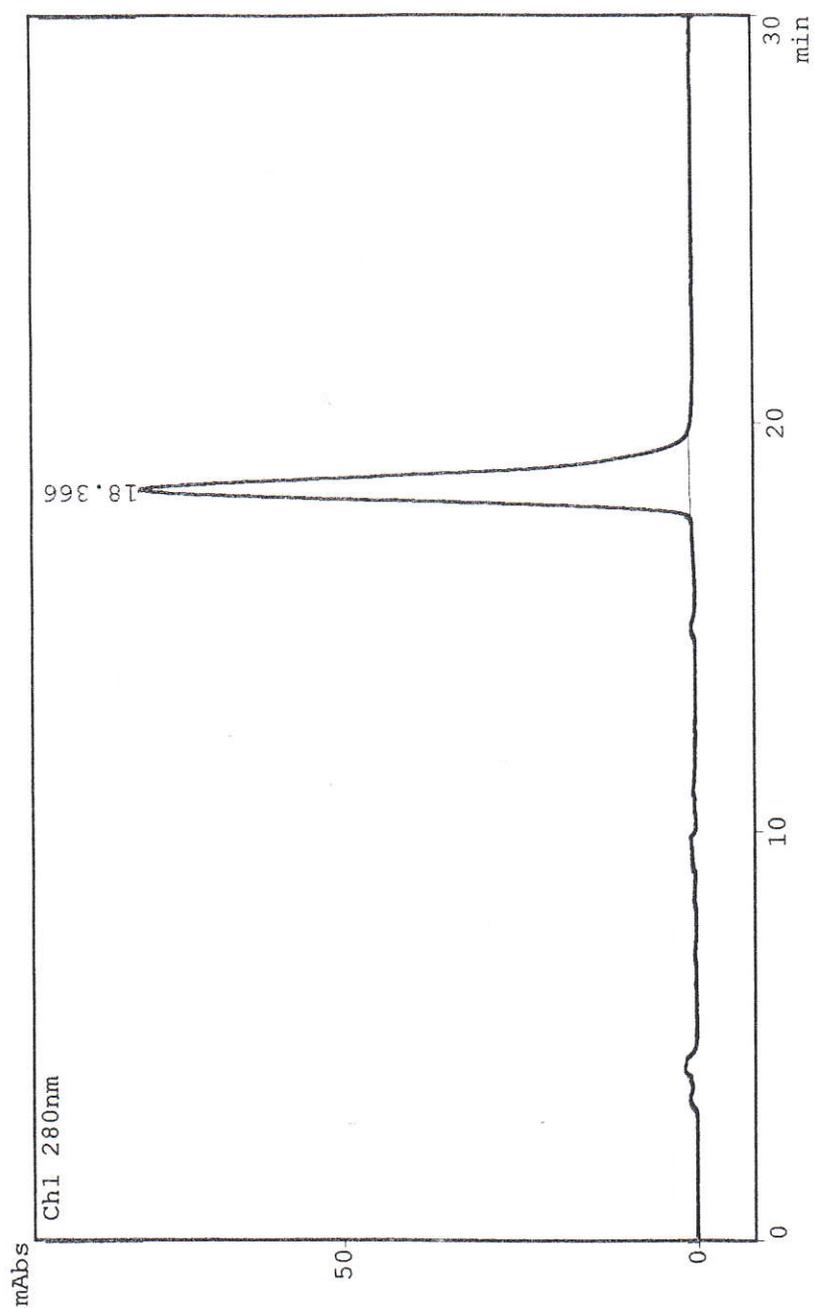


Fig.(26) : Chromatogramme de (Diclofenac M.P) dégradé par l'alcalinité.

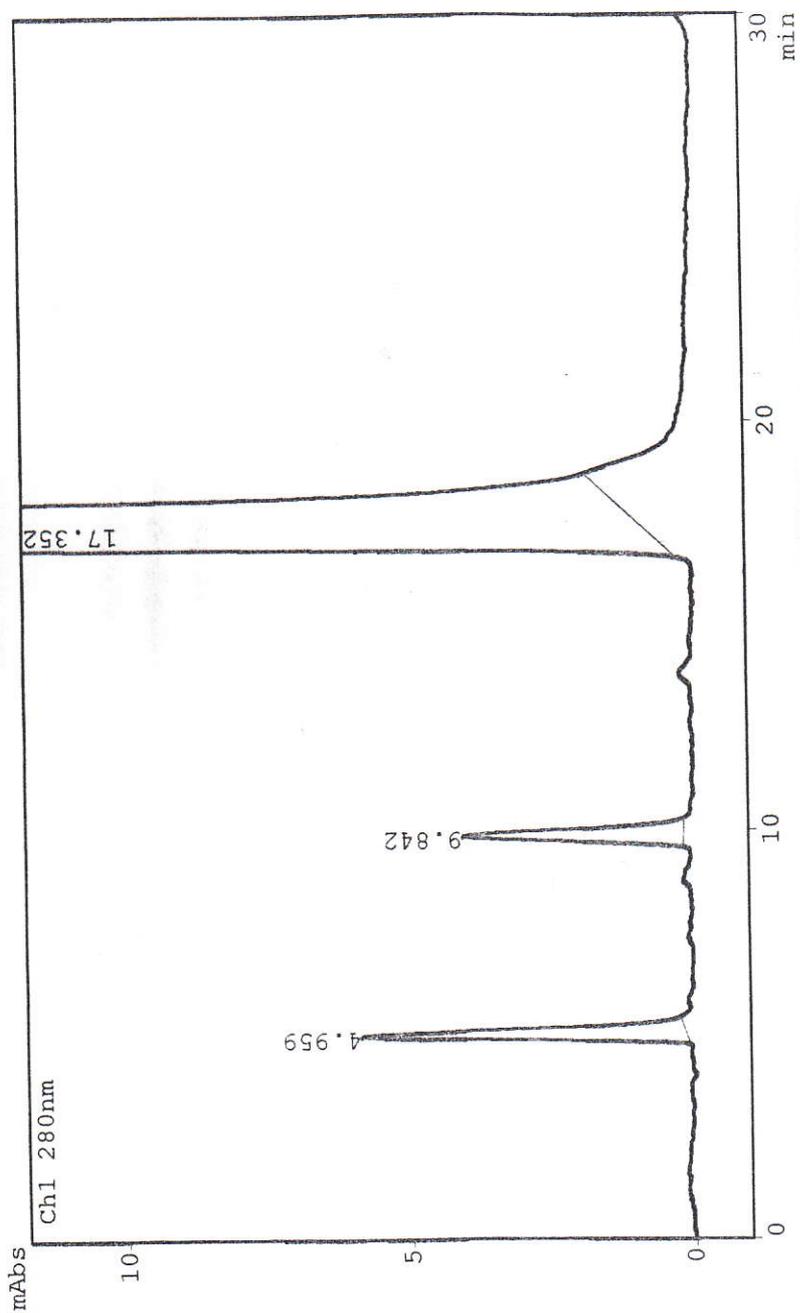


Fig.(27) : Chromatogramme de (Diclofenac M.P) dégradé par la lumière.

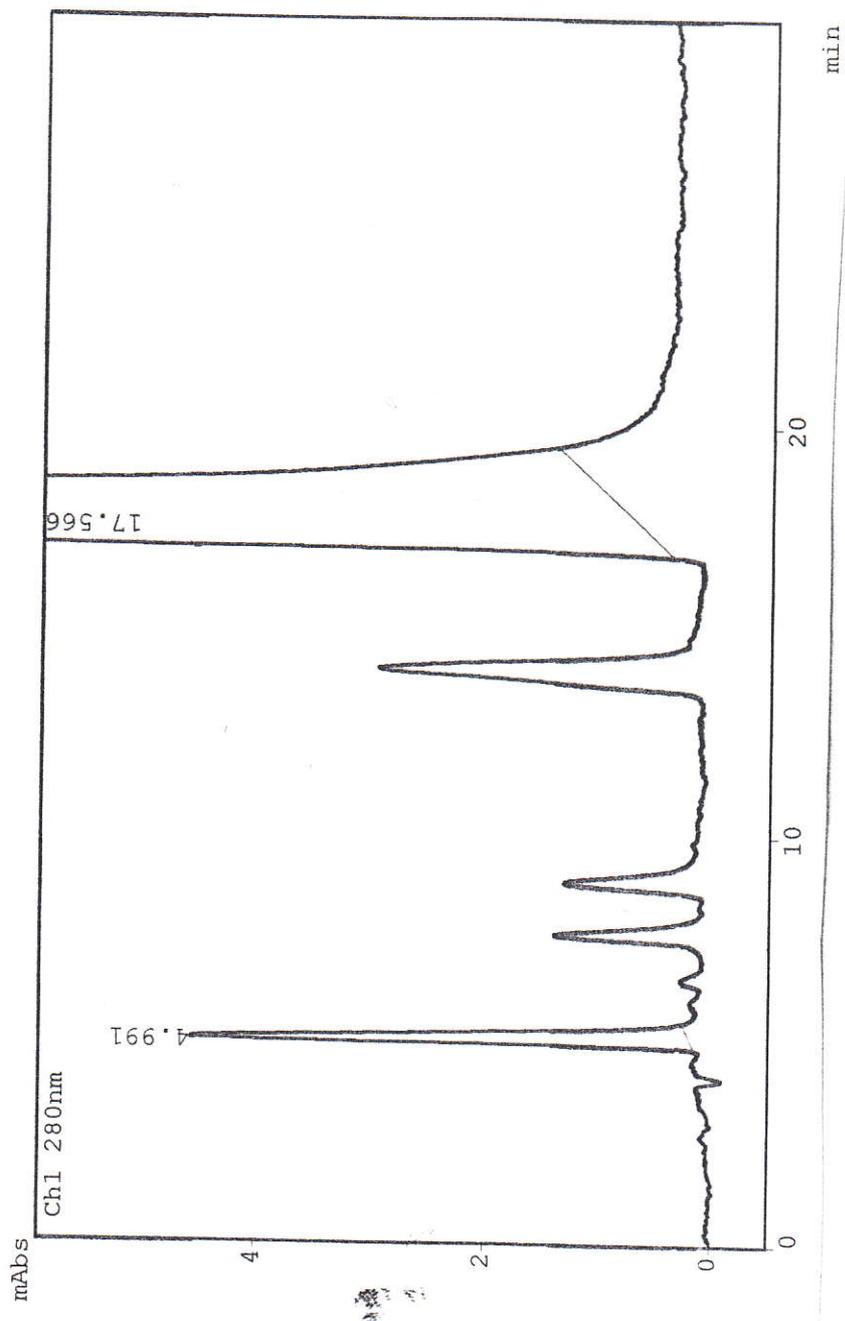


Fig.(27) : Chromatogramme de (Diclofenac M.P) dégradé en Reflux.

Injection [A] : une seule pic ($t_r=17.320mn$) s'agit de le principe actif « DICLOFENAC » quand on l'attribue a le chromatogramme de référence.

Injection [B] : Aucune pic a détecté d'après le chromatogramme fig.(25) , que ce explique par une altération complète de la matière première , jusqu'à la déformation des caractères physico-chimique (l'incompatibilité des conditions chromatographique.)

Injection [C] : une seule pic ($t_r=17.320mn$) s'agit de le principe

Injection [D] : Trois pics a observé, pic ($t_r=17.320mn$) s'agit de le principe actif « DICLOFENAC » , et les pics ($t_r=4.959mn$, $t_r=9.842mn$) correspondent aux substances de dégradation.

Injection [E] : Deux pics a observé, pic ($t_r=17.566mn$) s'agit de le principe actif « DICLOFENAC » , et pic ($t_r=4.991mn$) correspondent au substance de dégradation.

II.4.L'attribution de spectroscopie U.V. : Les propriétés de la lumière dans le domaine UV/VIS et les réponses de nombreux composés à ces longueurs d'ondes ont, depuis longtemps, étaient considérées comme des outils puissants dans les identification et surtout les analyses qualitatives et quantitatives des substances (principes actifs).

Utilisation de l'U.V. dans notre travail est but de confirmer les substances de dégradation à partir une comparaison de le spectre obtenu avec le spectre de référence, et pour nu deuxième but est de déterminer le nombre d'onde maximal λ_{max} des substances produit de dégradation à partir un balayage UV pour chaque substances .

II.4.1. Méthode :

- Le système de Chromatographe qui nous utilisons , nous permet d'effectuer accompagnement de l'H.P.L.C une étude U.V des substances obtenus de séparation.

II.4.2. Echantillons :

1. Subst ($t_r=17.320mn$)
2. Subst ($t_r=18.366mn$)
3. Subst ($t_r=4.959mn$)
4. Subst ($t_r=9.842mn$)

III.4.3. Résultats et Interprétations :

Dans un spectre U.V le nombre d'onde maximal λ_{max} est le seul paramètre que d'après lui on arrive a interprété les spectre suivants :

Subst($t_r=17.320mn$) fig.(40) : On a une absorption $\lambda_{max}=203nm$, $\lambda_{max}=276nm$ s'agit de M.P Diclofénac.

Subst(tr=18.366mn) fig.(41) : On a une absorption $\lambda_{\max}=203\text{nm}$, $\lambda_{\max}=276\text{nm}$ s'agit de M.P Diclofénac.

Subst(tr=4.959mn) fig.(42) : On a une absorption $\lambda_{\max}=218\text{nm}$, $\lambda_{\max}=245\text{nm}$ s'agit d'une substance de dégradation

Subst(tr=9.842mn) fig.(43) : On a une absorption $\lambda_{\max}=230\text{nm}$, $\lambda_{\max}=248\text{nm}$, et $\lambda_{\max}=258\text{nm}$ s'agit d'une autre substance de dégradation

III.5. Conclusion

On peut conclure que le Diclofénac se dégrade par tous les facteurs de dégradation (sauf l'alcalinité, qu'il présente une résistance contre la dégradation.) et l'H.P.L.C. nous permet d'identifier cette dégradation.

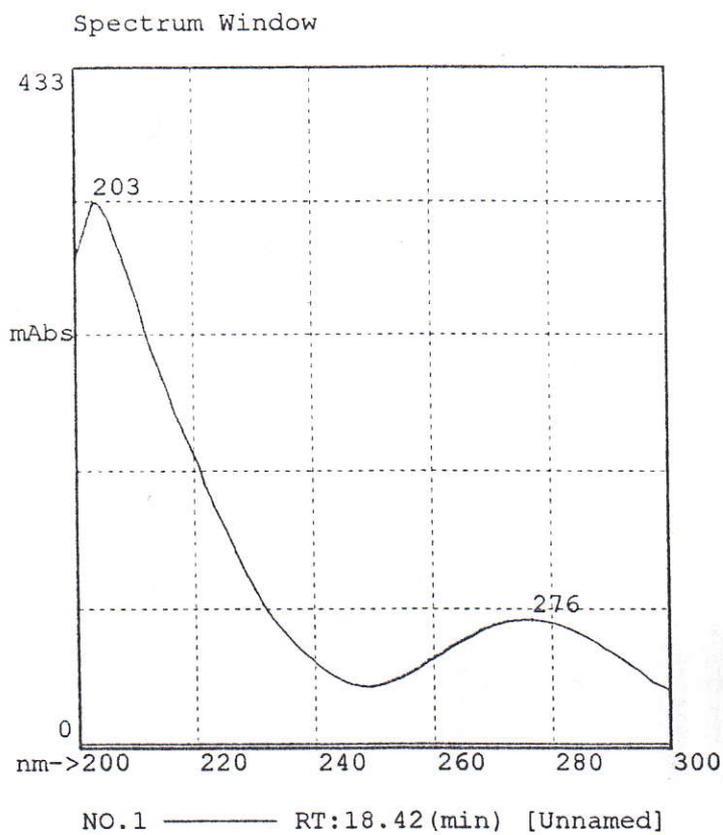


Fig.(40) Spectre UV de substance séparé à Tr=17.320mn.

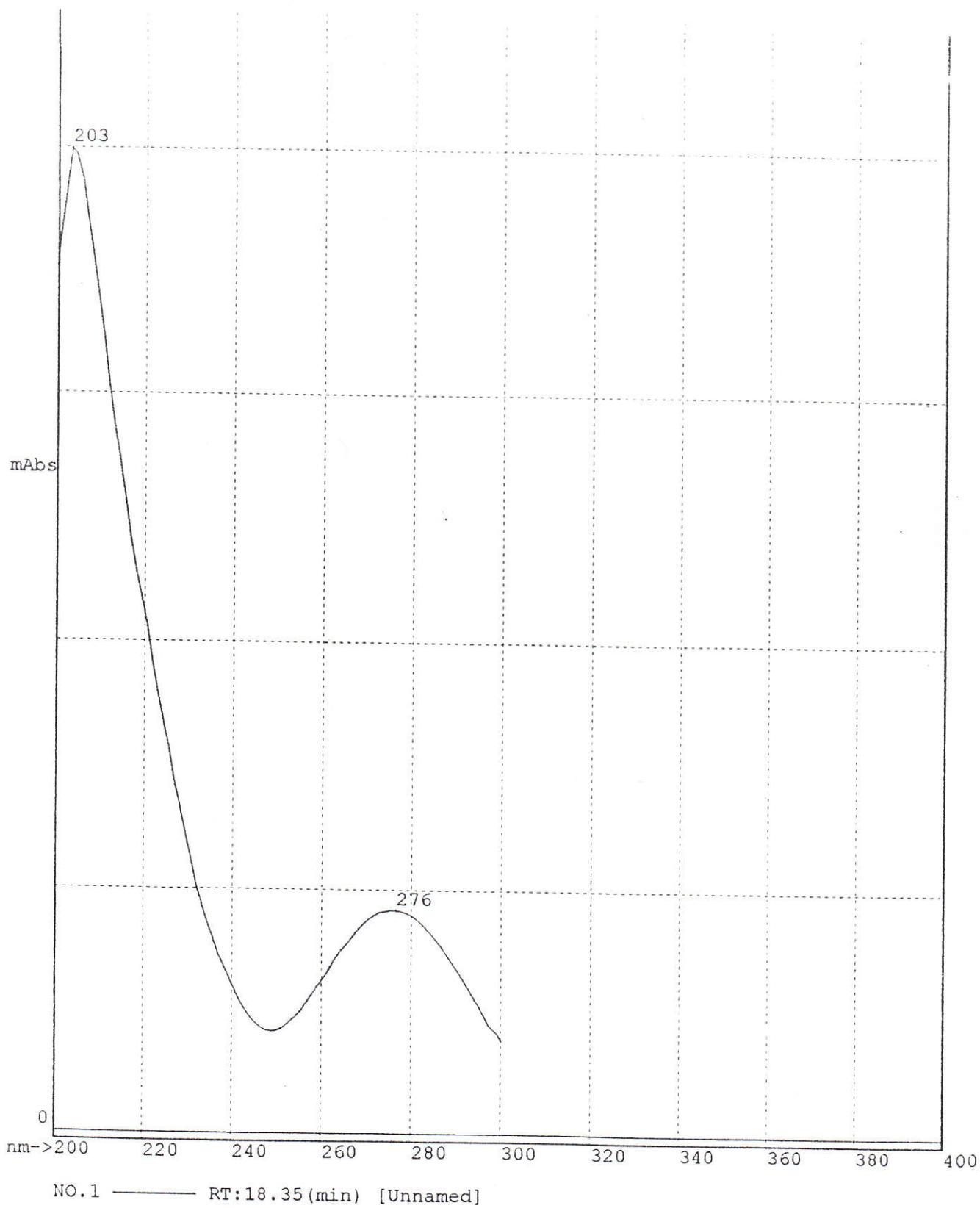


Fig.(41) Spectre UV de substance séparé à Tr=18.366mn.

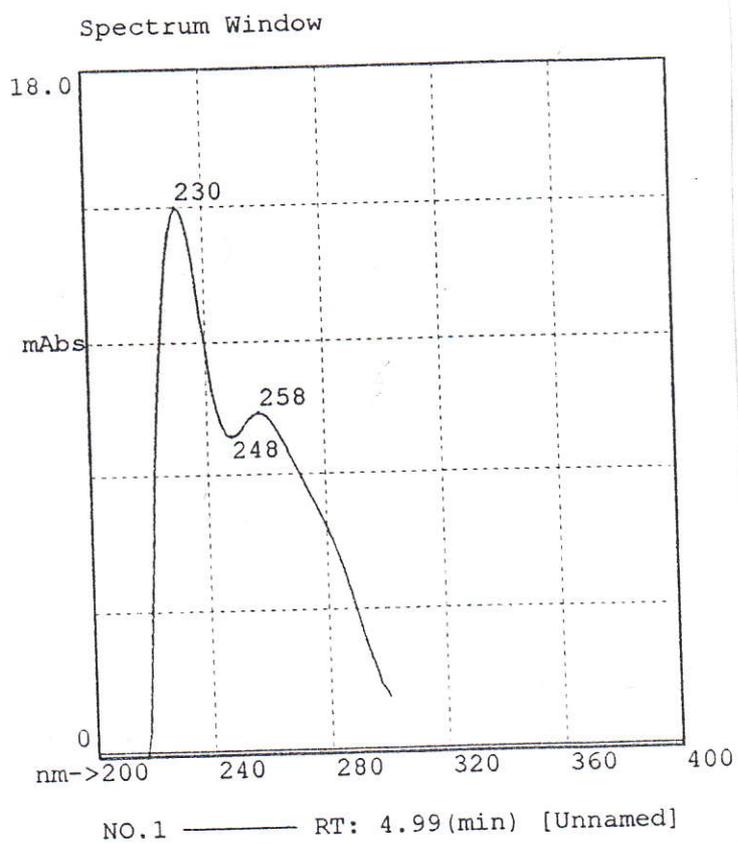


Fig.(42) Spectre UV de substance séparé à Tr=4.99mn.

Chapitre IV

📁 Etude de dégradation par IR.

Chapitre IV :**Etude de la dégradation par infra-rouge I.R****IV.1.Introduction :**

Ce procédé d'identification c'est très développé au cours des dernières années par rapport la spectroscopie U.V. , mais la précision parfaite demandé , complexité qui nous pour interpréter un spectre I.R reste toujours un obstacle devant l'utilisateur de cette technique.

Dans nos travail, on a utiliser I.R pour objectif qualitatif est d'identifier les groupes fonctionnels (ou bande) disparus, et les groupes apparentes sous l'effet de dégradation .

Toute fois, l'absorption aura lieu ici à des longueurs d'ondes utilisé en pratique de 400 à 2000cm⁻¹

IV.2.Méthode :

♦ **Le choix de méthode d'engistrement :**La méthode d'engistrement choisi est pastille de KBr. (nos produits ont a état solide et sensibles.)

♦ **Echantillons :** 100mg de KBr pour 1g d'échantillon .

[B] : Dégradé par Acidité

[C] : Dégradé par Alcalinité

[D] : Dégradé par Lumière.

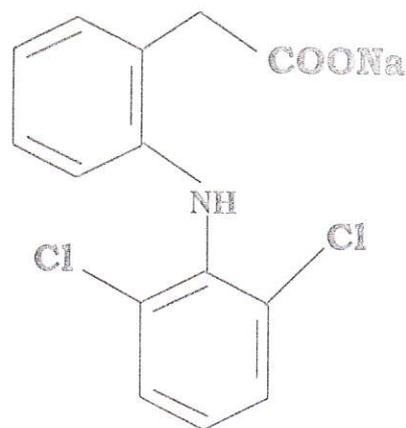
[E] : Dégradé en Reflux.

[F] : Dégradé par Température

♦ **Témoin :**

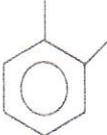
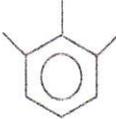
[A] : Etalon Diclofénac non dégradé (M.P).

Spectre de Référence. Fig.()



Principe actif (Diclofénac)
[M. P]

Tab.(10) : les pics principales I.R de « Diclofénac »

Fréquences I.R en cm^{-1}	Types de vibration et de bande.	
756		Cycle Aromatique (Ortho Disubstance). 1570 – 1630 cm^{-1} 680 – 780 cm^{-1}
1572		Cycle Aromatique (Vicinal Tri Disubstance). 800 – 740 cm^{-1} 1580 – 1630 cm^{-1}
	1450 – 1650 cm^{-1}	C=C
1308		Amine 1280 – 1350 cm^{-1}
1286	1000 – 1300 cm^{-1}	C—O
756	600 – 800 cm^{-1}	C—Cl

IV.3. Résultats et Interprétations .

Dans un spectre infra-rouge la transmission T est présentée essentiellement dans le sens des nombre d'onde croissants (image inversée). S'il se produit une absorption élevée, on obtient un signal important négatif par rapport a la ligne de base.

L'analyse des composés Diclofénac non dégradé (étalon) et les autres produits de dégradation permet d'obtenir des résultats que nous transposons sous forme des tableaux et des spectres .

En général, les composés présentent une différence d'allure remarquable.

♦ [A] : Etalon Diclofénac non dégradé (M.P). fig.(29)

Tab.(11) : les fréquences I.R de Diclofénac non dégradé (M.P).

Fréquences I.R de DICLOFENAC de références en cm^{-1}	Fréquences I.R [A] en cm^{-1}	Interprétations
1572	1572.66	✓
756	757.44	✓
1504	1501.65	✓
1286	1284.02	✓
1308	1305.85	✓

✓ : Conforme.

♦ [B] : Dégradé par Acidité fig.(30)

Tab.(12) : les fréquences I.R de dégradé par acidité.

Fréquences I.R [B] en cm^{-1}	Interprétations
1600	N
1576.85	1572.66
1507.80	1501.65
1492.5	N
1304.23	1305.85
1281.83	1284.02
1152.5	N
765.76	N
751.56	757.44
709.30	N

N : L'apparition d'une nouvelle bande (ou fonction)

♦ [C] : Dégradé par Alcalinité : fig.(31)

Tab.(13) : les fréquences I.R de dégradé par Alcalinité.

Fréquences I.R [B] en cm^{-1}	Interprétations
1577.16	1572.66
1507.38	1501.65
1453	N
1306.80	1305.85
1284.44	1284.02
771.26	N
748.93	N
716.76	N

♦ [D] : Dégradé par Lumière. fig.(32)

Tab.(14) : les fréquences I.R de dégradé par lumière.

Fréquences I.R [D] en cm^{-1}	Interprétations
1572.81	1572.66
1501.69	1501.65
1453.12	N
1400.55	N
1305.63	1305.85
1282.57	1284.02
770.40	N
757.16	757.44
747.82	N
715.47	N

♦ [E] : Dégradé en Reflux. fig.(33)

Tab.(15) : les fréquences I.R de dégradé en Reflux.

Fréquences I.R [E] en cm^{-1}	Interprétations
1736.57	N
1613.24	N
1563.15	1572.66
1488.84	N
1455.13	N
1301.53	1305.85
1239.43	N
782.71	N
749.31	757.44
730.21	N
601.45	N
418.25	N

♦ [F] : Dégradé par Température fig.(34)

Tab.(16) : les fréquences I.R de dégradé par Température.

Fréquences I.R [F] en cm^{-1}	Interprétations
1562.5	1572.66
1509	1501.65
1451.55	N

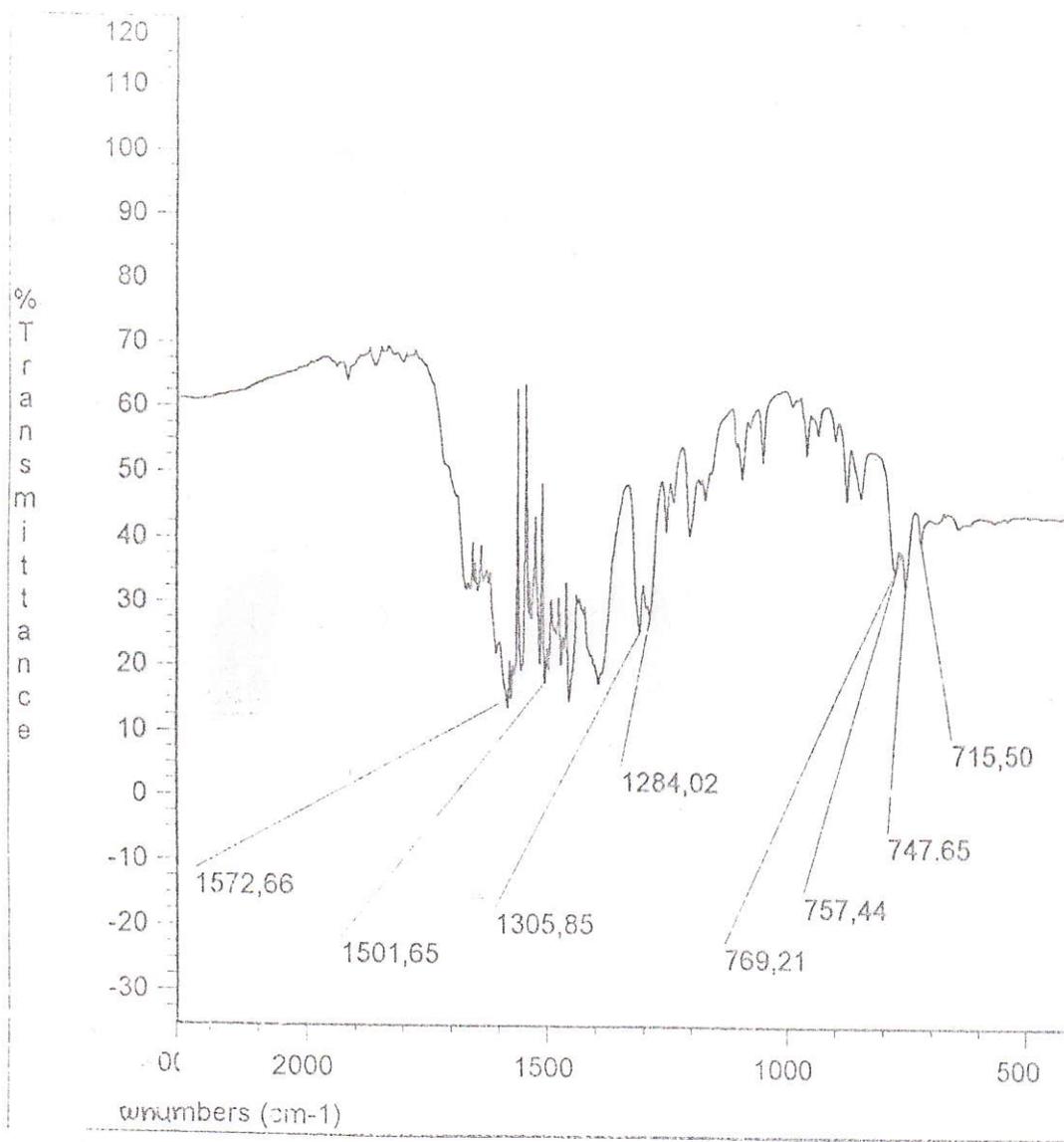
1302	1305.85
1283	1284.02
1244	1305.85
1198	N
1052	N
750.12	757.44
732.5	N
601.45	N

D'après les tableaux (Tab. (29), (30), (31), (33), (34)), on peut tirer observations:

-L'apparition des nouvelles bandes, ce qui explique les nouvelles fréquences (N), et la disparition des autres.

-Sa nous dirige vers:

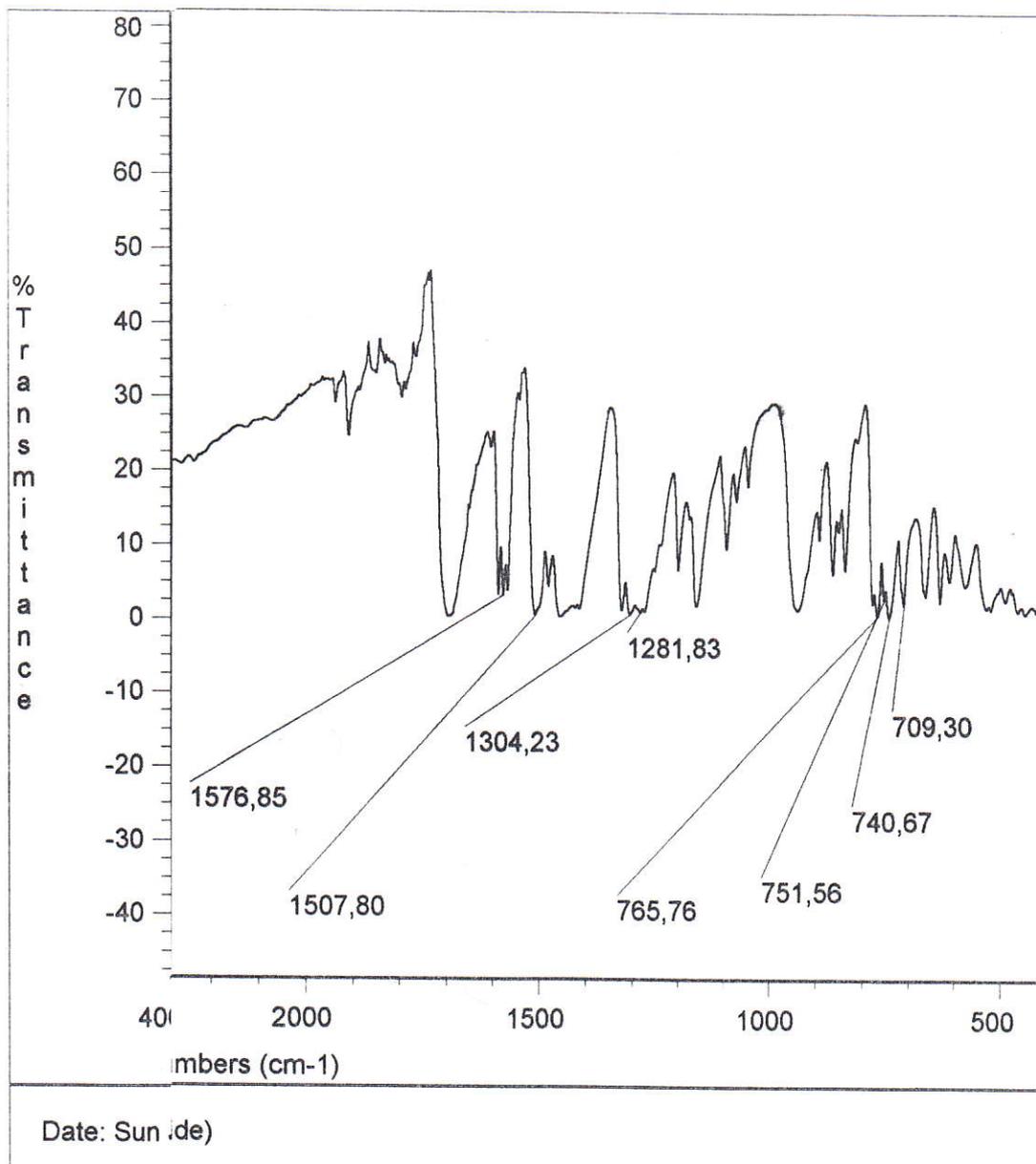
- On peut déduire L'apparition des nouvelles liaisons et des groupes fonctionnels.
- On prévoit des bandes l'absorption d'après les liaisons.
- L'apparition des nouvelles substances, dans la décomposition touche la matière première



Légend

Méthode d'engistrement : Pastille de K.Br.
 L'échantillon : Diclofénac non dégradé M.P.
 L'absorption : De 400 à 2000cm⁻¹.
 L'observation : Conforme à la référence.

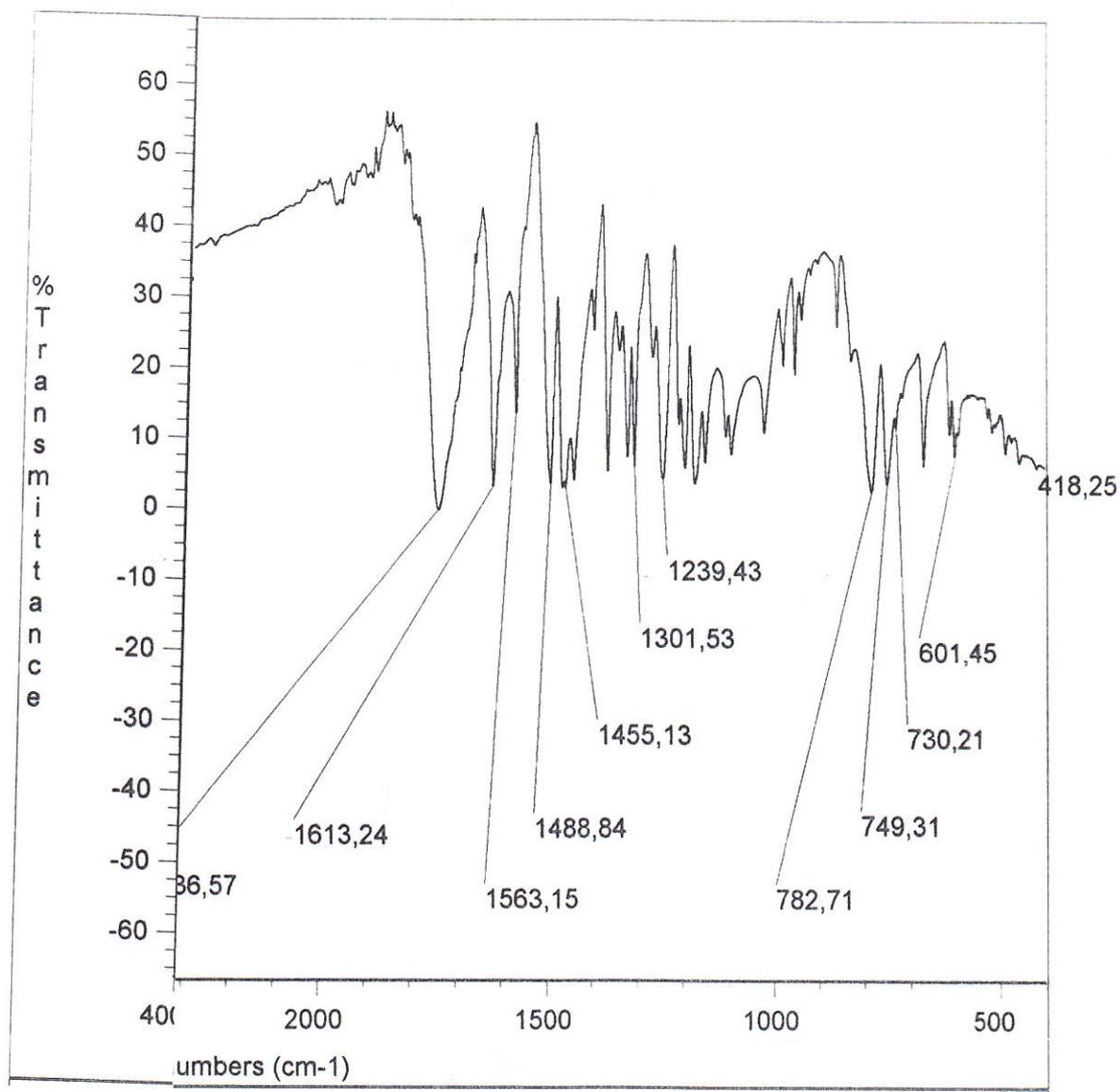
Fig.(29) Spectre IR de Diclofénac non dégradé M.P [A].



Légend

Méthode d'enregistrement : Pastille de KBr.
 L'échantillon : Diclofenac dégradé par l'acidité.
 L'absorption : De 400 à 2000cm⁻¹.
 L'observation : Une grande différence d'allure.

Fig.(30) Spectre IR de Diclofenac dégradé par l'acidité [B].



Légend

Méthode d'enregistrement : Pastille de KBr.
 L'échantillon : Diclofénac dégradé en Reflux.
 L'absorption : De 400 à 2000cm⁻¹.
 L'observation : Une grande différence d'allure.

Fig.(36) Spectre IR de Diclofénac dégradé en Reflux [E].

Remarque : pour voir les autres spectres I.R voir Annexe.

IV.4. Conclusion :

Enfin comme les autres méthodes, on est réussi de démontrer que le Déclofénac se dégrade, et L'infra-rouge nous permet de savoir cette dégradation qualitativement.

Conclusion Générale.

Ce travail qui présente un balayage d'étude qualitative de la dégradation provoquée par différents facteurs physico-chimiques, par des différentes méthodes d'analyse pour but de choisir la quelle est la plus efficace.

L'analyse par CCM nous a permis relativement de séparer qualitativement les substances dégradées et non dégradées et de voir l'influence des facteurs utilisés dans cette étude sur la dégradation de diclofénac.

L'étude que nous avons réalisée par HPLC nous donne une bonne séparation, on peut considérer que le facteur d'alcalinité présente un milieu conservateur pour le "Diclofénac".

Ces différentes méthodes utilisées dans l'étude de la dégradation des principes actifs s'avèrent concluantes, mais il reste la spécificité de chaque principe actif.

Pour notre substance "Diclofénac" la méthode d'étude la plus conseillée est l'HPLC.

Recommandation:

L'objectif visé de notre travail est mis au point d'une méthode de séparation et d'identification des produits dégradés.

- Optimisations des paramètres de peremption
- Teste de stabilité et détermination de la date de peremption de médicament.

Notre objectif atteint donc un taux de 50%, il reste beaucoup de travail à faire afin de déterminer le taux de peremption de médicament, ou de principe actif.

Bibliographie

- Editeur ;Titre du document ;
(Edition ;volume ;Chapitre ;Page ;Place et Date).
- 1)- J.P. GIROUD , G. MATHE , G. MEYNIEL
Pharmacologie clinique , base de la thérapeutique .II
1978 France.
 - 2)- CLAUDE GUICHADE , Eléments de technologie
pharmaceutique (Médicales flammarian ; / ; III ; 189 ;France
1967).
 - 3)- CLAUDE GUICHADE , Eléments de technologie
pharmaceutique (Médicales flammarian ; / ; III ; 352,395 ;France
1967).
 - 4)- Pharmacopée Européenne[(diclofénac) ; 2000]
British Pharmacopy [(diclofénac) ; II ;1321 ; 1993]
Japan Pharmacopy [(diclofénac) ; XII; 258 ; 1999]
CLARK'S Isolation [(diclofénac) ; 533]
 - 5)- Dictionnaire VIDAL [75eme édition ;(diclofénac) ; 456-468 et
2063-2066 ; France 1999]
Dictionnaire VIDAL [PVP-Edition duVIDAL ;(diclofénac) ;
Banque VIDAL R ; France 2000]
 - 6)- CLAUDE GUICHADE , Eléments de technologie
pharmaceutique (Médicales flammarian ; / ; III ; page n ;France
1967).
 - 7)- Physical pharmacy (chap12 ;305,306)
J.P.Hou, et J.W.Poole deux chercheurs en sciences
pharmaceutiques ,ils fait cette expérience 1966.
 - 8)- Physical pharmacy (chap12 ;p 307)
T.Higuchi, pharmacien chercheur (dans son livre
pharmacie, Edition 42, page 707, 1953).
 - 9)- CLAUDE GUICHADE , Eléments de technologie
pharmaceutique
 - 10)- CLAUDE GUICHADE , Eléments de technologie
pharmaceutique(les facteurs de la dégradation par destruction
physique, p 117).
 - 11)- Physical pharmacy (chap12 ;308)
Y.Matsuda, pharmacien chercheur ,1989
 - 12)- Physical pharmacy (chap12 ;311)
D.E.Moore, pharmacien chercheur ;1976

13)- Thèse D.E.A. en génie ENZYMATIQUE, et MACROBIOLOGIE
université de PICARDIE JULES VERNE .FRANCE , présenté par
Alexandre VALLET le 12 septembre 1996

LISTE DES TABLEAUX :

TABLEAU N°01 : les formes pharmaceutiques de « DICLOFENAC ».

TABLEAU N°02 : : Substances utilisées pour la conservation des médicaments .

TABLEAU N°03 : Les méthode de spectroscopie d'absorption les plus importantes sont :

TABLEAU N°04 : Les méthode de spectroscopie d'absorption les plus importantes sont :

TABLEAU N°05 : Des longueurs d'ondes de références des quelques solvants.

TABLEAU N°06 : : Description de la technique de travail par spectroscopie IR

TABLEAU N°07 : Résultats de contrôle de qualité du diclofénac

TABLEAU N°08 : Résultats de la chromatographie sue couche mince.

TABLEAU N°09 : Resultats des analyses de la dégradation par HPLC.

TABLEAU N°10 : les pics principales I.R de « Diclofénac »

TABLEAU N°11 : : les fréquences I.R de Diclofénac non dégradé (M.P).

TABLEAU N°12 : les fréquences I.R de dégradé par acidité.

TABLEAU N°13 : les fréquences I.R de dégradé par Alcalinité.

TABLEAU N°14 : les fréquences I.R de dégradé par lumière.

TABLEAU N°15 : les fréquences I.R de dégradé en Reflux.

TABLEAU N°16 : les fréquences I.R de dégradé par Température.

TABLEAU N°17 :

FIGURE N°20 : Schéma de présentation de la dégradation par lumière.

FIGURE N°21 : Schéma du système de condensation à reflux (après dégradation)

FIGURE N°22 : Chromatogramme de chromatographie sur couche de les produits de dégradation.

FIGURE N°23 : la plaque de CCM avant l'introduit dans la cuve.

FIGURE N°24 : Chromatogramme d'étalon (Diclofénac MP).

FIGURE N°25 : Chromatogramme de dégradé par acidité.

FIGURE N°26 : Chromatogramme de dégradé par alcalinité.

FIGURE N°27 : Chromatogramme de dégradé par lumière.

FIGURE N°28 : Chromatogramme de en reflux.

FIGURE N°29 : Spectre IR de non dégradé [A].

FIGURE N°30 : Spectre IR de dégradé [B].

FIGURE N°31 : Spectre IR de dégradé [B] balayer avec l'étalon [A]

FIGURE N°32 : Spectre IR de dégradé [C].

FIGURE N°33 : Spectre IR de dégradé [C] balayer avec l'étalon [A]

FIGURE N°34 : Spectre IR de dégradé [D].

FIGURE N°35 : Spectre IR de dégradé [D] balayer avec l'étalon [A]

FIGURE N°36 : Spectre IR de dégradé [E].

FIGURE N°37 : Spectre IR de dégradé [E] balayer avec l'étalon [A]

FIGURE N°38 : Spectre IR de dégradé [F].

FIGURE N°39 : Spectre IR de dégradé [F] balayer avec l'étalon [A]

FIGURE N°40 : spectre U.V de subst(tr=17.320mn).

FIGURE N°41 : spectre U.V de subst(tr=18.366mn).

FIGURE N°42 : spectre U.V de subst(tr=4.959mn).

FIGURE N°43 : spectre U.V de subst(tr=9.842mn).

ANNEXE**Ax.(01) :**

**Les méthodes d'analyses
Utilisées.****I. Méthodes chromatographiques :****I.1. Définition.** [12].

C'est une méthode de séparation, non destructrice en son principe, basée sur le fait que le coefficient de partage d'un soluté entre deux phases dépend de la nature du soluté, et donc, si l'une des phases est mobile par rapport à l'autre, les solutés mettront un temps plus ou moins long à parcourir le chemin imparti à cette phase mobile .

I.2. Buts de la chromatographie.

On peut distinguer deux objectifs principaux:

I.1. Objectif analytique.

Il s'agit d'identifier des solutés qualitativement et/ou quantitativement, l'opération se faisant par le seul processus chromatographie, auquel peuvent être associées, en passage direct, d'autres techniques analytiques chimiques ou physico-chimiques destinées à faciliter l'analyse qualitative (on qualifie cela de *couplage*). Les quantités analysées doivent être extrêmement minimales afin de ne pas s'écarter des règles d'idéalité de la thermodynamique (le coefficient de partage n'est autre qu'une constante d'équilibre thermodynamique, où les activités intervenant ne sont égales aux concentrations que si elles sont très faibles. Les systèmes de détection devront donc être très sensibles.

I.2. Objectif préparatifs.

Les concentrations des solutés sont ici importantes et on travaille hors des règles d'idéalité thermodynamiques. Les quantités produites demeurent cependant faibles (de l'ordre du kg/jour) et le procédé ne sera utilisé que pour préparer des substances rares, sensibles à la chaleur (protéines, etc...).

I.3. Variantes chromatographiques .

On peut distinguer les chromatographies en phase liquide et celles en phase gazeuse.

I.3.1. Chromatographies en phase liquide.

On distingue:

I.3.1.1. La chromatographie sur colonne (CPL) : le substrat actif est tassé dans un tube. Il s'agit soit d'un adsorbant (chromatographie liquide - solide : CLS), ou bien d'un substrat agissant par partage (chromatographie liquide - liquide : CLL). Dans les deux cas, le véhicule porteur, un liquide, peut être soit à la pression ordinaire, soit soumis à une pression pouvant atteindre plusieurs centaines de bars. Dans ce dernier cas, on utilise le procédé de **chromatographie en phase liquide haute performance (CLHP) Fig.05.**

I.3.1.2. Si le substrat est un échangeur d'ion, on opère par **chromatographie par échange d'ions.**

I.3.1.3. On peut utiliser la **chromatographie sur gel perméable.** Elle permet d'obtenir des séparations de constituants de degrés de polymérisation différents dans un polymère.

I.3.1.4. La chromatographie sur papier (CP) : le substrat est la charge (eau, sels,...) et les fibres d'un papier convenablement choisi, le véhicule se déplaçant dans le papier grâce aux forces capillaires.

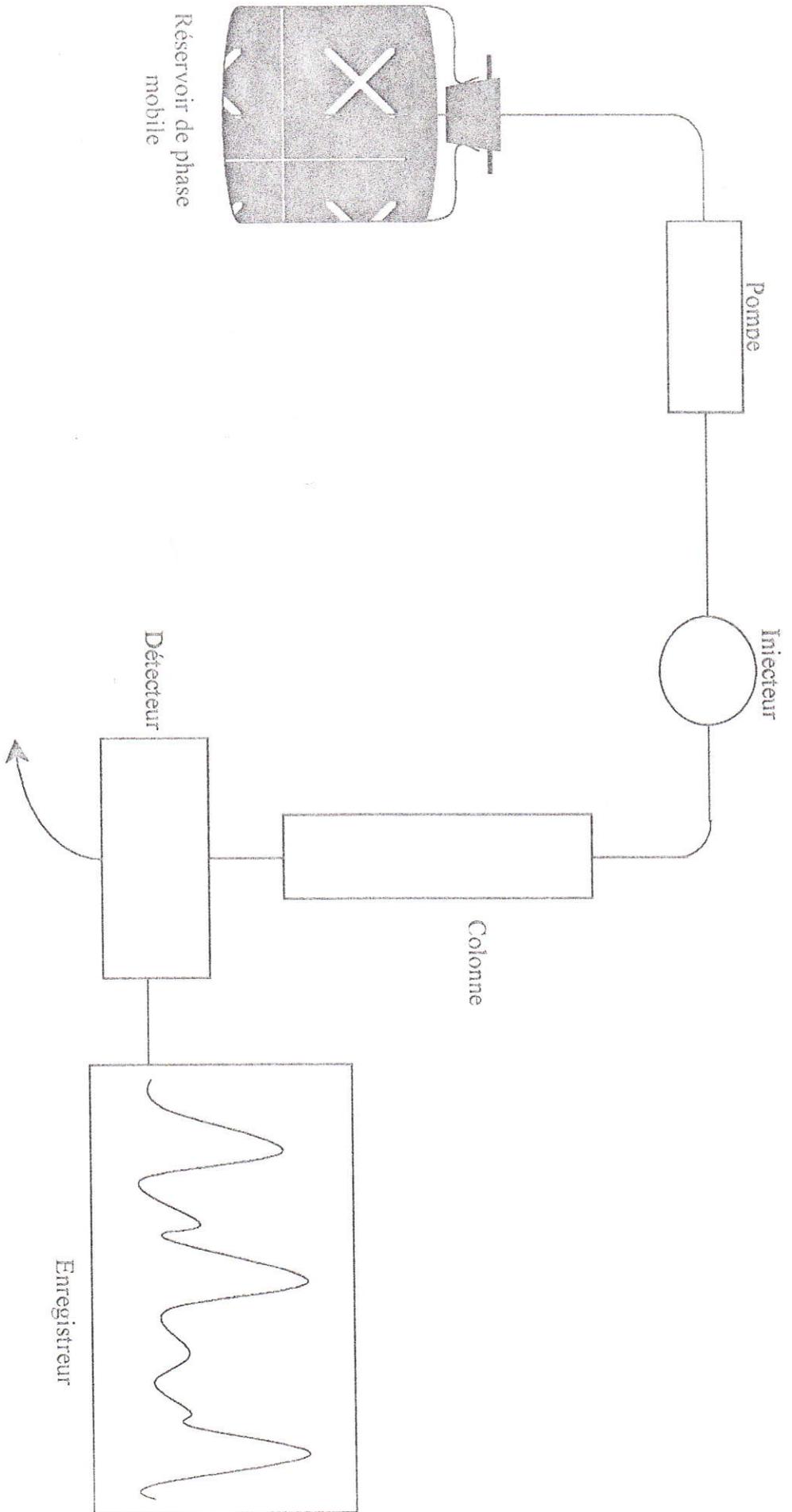


Figure n°05 : schéma d'un chromatographe liquide a haute performance H.P.L.C

I.3.1.5. La chromatographie sur couche mince (CCM) Fig.06 :

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant.

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont :

- la cuve chromatographique : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- la phase stationnaire : une couche d'environ 0,25 μm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.
- l'échantillon : environ un microlitre (μl) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposer en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
- l'éluant : un solvant pur ou un mélange : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon.

❖ Principe de la technique.

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires.

❖ Applications de la CCM.

Lorsque les conditions opératoires sont connues, elle permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé organique. Si l'analyse, réalisée avec divers solvants et différents adsorbants, révèle la présence

d'une seule substance, on peut alors considérer que cet échantillon est probablement pur.

De plus, étant donné que la chromatographie sur couche mince indique le nombre de composants d'un mélange, on peut l'employer pour suivre la progression d'une réaction.

❖ **Adsorbants et plaques chromatographiques.**

Par ordre d'importance décroissante, les adsorbants employés en CCM sont : le gel de silice, l'alumine, le kieselguhr et la cellulose.

Les plaques vous seront fournies prêtes à l'emploi.

❖ **Choix de l'éluant.**

L'éluant est formé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants. Un éluant qui entraîne tous les composants de l'échantillon est trop polaire ; celui qui empêche leur migration ne l'est pas suffisamment.

Choix de l'éluant dans le cas d'analyses :

- d'hydrocarbures : hexane, éther de pétrole ou benzène.
- de groupements fonctionnels courants : hexane ou éther de pétrole mélangés en proportions variables avec du benzène ou de l'éther diéthylique forment un éluant de polarité moyenne.
- de composés polaires : éthanoate d'éthyle, propanone ou méthanol.

❖ **Dépôt de l'échantillon.**

L'échantillon est mis en solution (2 à 5 %) dans un solvant volatil, qui n'est pas forcément le même que l'éluant : on emploie fréquemment le trichlorométhane (chloroforme), la propanone ou le dichlorométhane. La solution est déposée en un point de la plaque situé à environ 1 cm de la partie inférieure.

Il est important que le diamètre de la tache produite au moment du dépôt soit faible ; idéalement, il ne devrait pas dépasser 3 mm. Ce sont généralement les dépôts les moins étalés qui permettent les meilleures séparations. Pour augmenter la quantité déposée, il est toujours préférable d'effectuer plusieurs dépôts au même point, en séchant rapidement entre chaque application plutôt que de déposer en une seule fois un grand volume d'échantillon qui produirait une tache plus large.

L'échantillon est déposé à l'aide d'une micropipette ou d'un tube capillaire en appuyant légèrement et brièvement l'extrémité de la pipette sur la couche d'adsorbant en prenant soin de ne pas le détériorer.

On vérifie l'identité des composants présumés d'un échantillon, en procédant à un dépôt séparé d'une solution de chacun d'eux puis à celui de leur mélange. Ces solutions témoins permettent de comparer la migration de chaque composé avec celle de l'échantillon à analyser.

❖ Développement de la plaque.

Le développement consiste à faire migrer le solvant sur la plaque. Dans les analyses usuelles de laboratoire, le principal type de développement est la chromatographie ascendante : la plaque est placée en position verticale dans une cuve et le solvant qui en recouvre le fond monte par capillarité.

Le niveau de liquide est ajusté à environ 0,5 cm du fond de la cuve puis on introduit la plaque. Pendant le développement du chromatogramme, la cuve doit demeurer fermée et ne pas être déplacée.

Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre ou à l'aide d'un séchoir.

❖ Révélation.

Lorsque les composants de l'échantillon analysé sont colorés, leur séparation est facilement observable sur la plaque ; dans le cas contraire, on doit rendre les taches visibles par un procédé de révélation. Les taches sont ensuite cerclées au crayon. Les méthodes usuelles de révélation sont les suivantes : radiations UV, fluorescence, iode, atomisation.

Sauf indications contraires, nous utiliseront les radiations UV. En exposant la plaque à une source de radiation UV, certains composés apparaissent sous forme de taches brillantes.

Si un indicateur fluorescent est incorporé à l'adsorbant, la plaque entière devient fluorescente lorsqu'elle est soumise à une radiation UV ; les composés y sont révélés sous forme de taches sombres.

❖ Calcul de R_f (retarding factor ou rapport frontal).

$$R_f = \frac{d_i}{d_{\phi m}}$$

d_i : distance parcourue par le composé (mesuré au centre de la tache)

$d_{\phi m}$: distance parcourue par le front du solvant (la phase mobile)

❖ Description d'une analyse par CCM selon l'ordre chronologique.

✓ Préparation de la cuve chromatographique.

- Introduire l'éluant ou le mélange de solvants.
- Ajuster le niveau à environ 0,5 cm du fond de la cuve.
- Garnir l'intérieur de la cuve d'un papier filtre imprégné d'éluant et plaqué contre les parois ; une ouverture est ménagée dans le filtre pour observer le développement du chromatogramme.
- Fermer le récipient (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant)

✓ Dépôt de l'échantillon sur la plaque.

- Procéder au nettoyage de la plaque si nécessaire.
- Dissoudre l'échantillon dans un solvant approprié en solution de 2 à 5 % .
- Déposer environ 0,5 ml de la solution en un point situé à 1 cm de l'extrémité inférieure de la plaque; le diamètre de la tache doit être d'environ 2 mm pour la disposition de plusieurs produits.
- Sécher à l'aide d'un séchoir ; éventuellement faire de nouvelles applications.

Développement du chromatogramme.

- Placer la plaque dans la cuve en position verticale.
- Refermer le récipient qui ne doit plus être déplacé.
- Lorsque le front du solvant se trouve à environ 1 cm de l'extrémité supérieure de la plaque, la retirer et marquer cette position. (le trait peut être tracé à l'avance et servir de repère pour arrêter l'élution).

Révélation et calcul de R_f .

- Sécher la plaque à l'aide d'un séchoir
- Révéler les taches sous une lampe U V
- Cercler les taches et pointer leur centre.

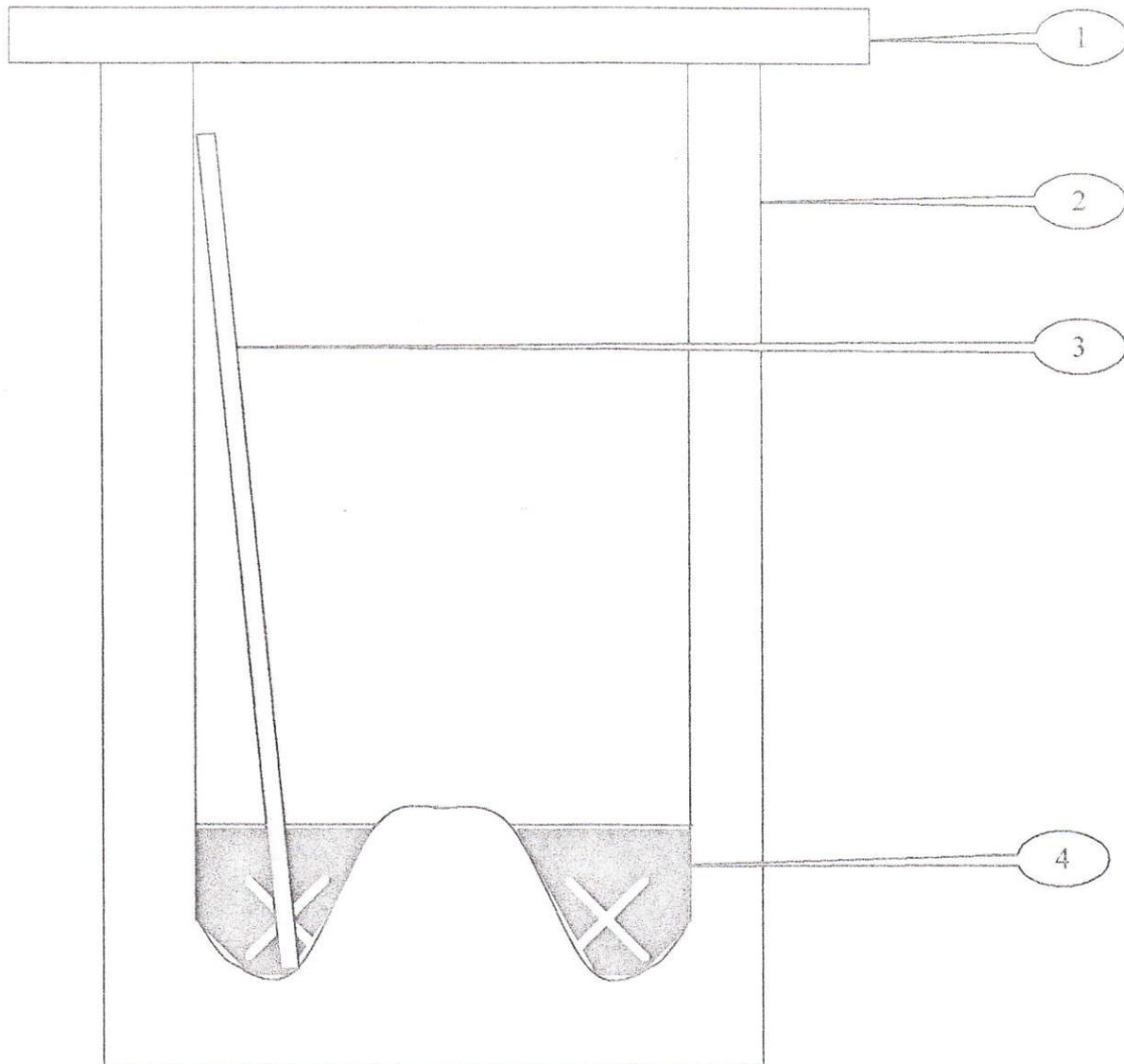


Figure (06) : Cuve de migration de CCM

Légende

1. Cuvette en verre .
2. Cuve de migration à deux compartiments .
3. Plaque de chromatographie sur couche mince .
4. Phase mobile .

1.3.2. Chromatographie en phase gazeuse :

Le substrat est toujours contenu dans un tube ou *colonne* (classiques ou capillaires). Là encore, c'est un adsorbant (**chromatographie gaz - solide : CGS**) ou un support inerte imprégné d'un liquide lourd stationnaire (**chromatographie gaz - liquide : CGL**). Quand le mélange à analyser est liquide, il est généralement introduit sous cette forme dans l'appareil, conçu pour le vaporiser instantanément. Le véhicule est toujours un gaz dont la pression d'entrée peut être choisie et éventuellement programmée, de même que la température à laquelle est portée la colonne peut être maintenant constante ou au contraire programmée .

○ Description sommaire d'un chromatographe en phase gazeuse.

- Four.
- Alimentation en gaz vecteur.
- Systèmes d'injection :
 - ✓ *Vannes d'injection.*
 - ✓ *Chambre d'injection pour liquides ou solutions.*
- Détection :
 - ✓ *Catharomètre*

1.4. Analyse qualitative

Elle sert essentiellement à l'identification des composants d'un mélange.

➤ Utilisation des grandeurs de rétention.

Pour une phase stationnaire donnée, le volume de rétention spécifique est caractéristique du soluté concerné. mais sa mesure précise n'est pas possible avec un chromatographe ordinaire Aussi recourt-on aux **valeurs de rétention relatives**, c'est-à-dire en rapportant la grandeur (essentiellement un temps de passage dans la colonne) relative à un soluté inconnu, à celle d'un produit connu, injecté sur la même colonne, dans les mêmes conditions.

Les temps de rétention sont mesurés au sommet des pics chromatographiques.

1.4.1. Performances des colonnes chromatographiques :

1.4.1.1. Facteur de capacité :

Soit t_0 le temps mis pour la phase mobile à traverser la colonne, et t_r le temps de rétention de chaque soluté. Le facteur de capacité de la colonne k' s'exprime de la manière suivante:

$$k' = \frac{t_r'}{t_0} = \frac{t_r - t_0}{t_0}$$

I.4.1.2. Sélectivité d'une colonne :

Pour caractériser la distance séparant les sommets de deux pics consécutifs 1 et 2, on utilise le *facteur de sélectivité* (ou rétention relative) défini par la relation:

$$\alpha = \frac{K_2'}{K_1'}$$

où K_1 et K_2 sont les coefficients de partage des solutés 1 et 2 entre les phases stationnaire et mobile. Ce facteur de sélectivité mesure la différence de distribution thermodynamique des deux solutés.

I.4.1.3. Efficacité d'une colonne :

Les pics étant supposés Gaussiens, on peut caractériser l'élargissement des pics, d'autant plus important que l'efficacité de la séparation est faible, par un **nombre de plateaux théoriques n** , semblable à celui rencontré pour la distillation fractionnée. Pour une gaussienne vraie, n s'exprime comme suit :

où ω est la largeur du pic à la base

$$N = 16 \left[\frac{t_r}{\omega} \right]^2 = 5.54 \left[\frac{t_r}{\delta} \right]^2$$

exprimée en unité de temps, déterminée par l'intersection des tangentes aux points d'inflexion à la courbe gaussienne et de la ligne de base.

où δ est la largeur du pic à mi-hauteur, exprimée en unité de temps.

En pratique, on mesure directement t_r , ω et δ sur le chromatogramme.

Pour pouvoir comparer entre elles des colonnes de différentes longueurs, on définit la **hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT)**, de la manière suivante: $H = L/N$ où L est la longueur de la colonne.

Une colonne efficace présente souvent une HEPT de quelques microns (colonnes capillaires en CPG).

I.4.1.4. Résolution des colonnes :

La résolution R entre deux pics est définie par la relation:

$$R_s = 2 \frac{\Delta t_r}{\omega_1 + \omega_2}$$

Il découle de cette définition que la séparation est d'autant meilleure que R est plus grand. Ainsi pour deux pics d'aires voisines, lorsque R est supérieur à 1, la séparation est pratiquement complète, puisqu'il n'y a alors que 2% de recouvrement. Pour R inférieur à 0,8 la séparation est généralement insuffisante.

I.4.1.5. Paramètres influençant l'efficacité :

Globalement, interviennent les facteurs suivants:

- le diamètre des particules de remplissage de la colonne qui doit être petit. Cette dernière doit être chargée de façon très homogène.
- le gaz porteur ne doit pas être trop léger (en CPG)
- l'épaisseur du film de phase stationnaire doit être très petite.
- le débit de phase mobile influe de manière complexe.

On montre qu'il existe également un optimum de température, et généralement, en CPG, plus la température de la colonne est basse, meilleure est la séparation, avec cependant un temps d'analyse parfois rédhibitoire.

I.5. Analyse quantitative :

Une fois identifiés le ou les solutés intéressants, celui-ci permet l'analyse quantitative grâce à la relation: $m_i = K_i A_i$, qui relie la masse m du soluté i injecté à l'aire du pic A_i représentant ce soluté. Il est donc nécessaire de mesurer les aires des pics et de déterminer, pour chaque soluté, le coefficient de proportionnalité K_i .

I.5.1. mesure de l'aire des pics :

On utilise essentiellement la triangulation manuelle et l'intégration automatique.

I.5.2. Détermination du coefficient de proportionnalité :

Il est impossible avec les chromatographes courants de calculer le coefficient de proportionnalité par mesure directe de l'aire du pic enregistré quand on introduit une masse exacte, connue, d'un soluté d'un injecteur. Les seringues d'injection ne permettent pas de repérer le volume d'échantillon avec une précision suffisante. On aura donc recours à des méthodes d'étalonnage, qui, comme en analyse qualitative, feront de la chromatographie quantitative un procédé relatif vis-à-vis de substances connues.

II. Méthodes Spectroscopiques :

II.1. INTRODUCTION:

Dans de nombreux cas, la composition qualitative, ainsi que la structure des molécules peuvent être déterminées au moyen de la spectroscopie d'absorption.

Tab.(03):Les méthode de spectroscopie d'absorption les plus importantes sont :

Méthode	Abréviation
Spectre dans le domaine de la lumière visible ou ultraviolette	UV/VIS
Spectre dans le domaine de la lumière infrarouge	IR
Spectre de résonance nucléaire	NMR(RMN)
Spectre de masse	MS

Tab.(04):Le choix ou la combinaison des méthodes dépendent du problème posé :

Méthode	Utilisable pour :
UV/VIS	Molécules possédant des liaisons multiples ou des paires d'électrons libres (substances colorées et non colorées)
IR	Groupes fonctionnels, structure de la molécule
NMR (RMN)	Proton, leur environnement et leur genre de liaisons (stéréochimie)
MS	Masse moléculaire, formule brute ,fragments, structure de la molécule

Les méthode spectroscopiques se signalent par le petite quantité de substance nécessaire (quelques milligrammes) et par leur rapidité .

Dans la suite, on traitera uniquement de la spectroscopie UV/VIS et de la spectroscopie IR.

Onde électromagnétiques et leur effet sur les molécules

Longueur d'onde	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1 mm
Lumière :	Infrarouge		visibl e	Ultravio let	Rayon X
Excitation					

IV.2.2. NOTION FONDAMENTALES:

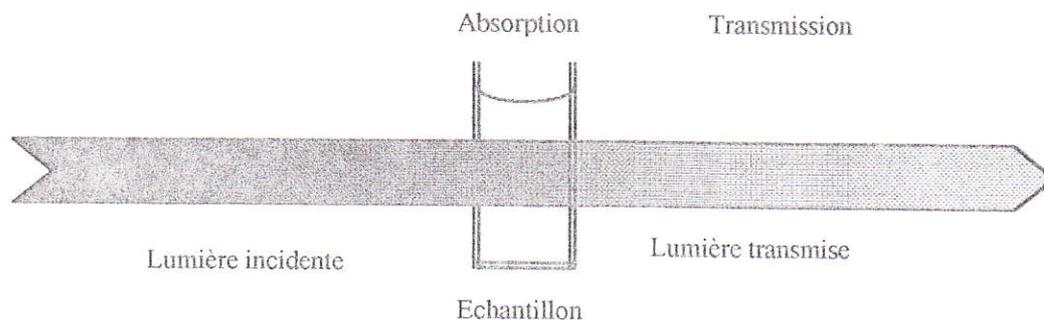
➤ Principe d'une détermination par spectrographie:

Un échantillon de la substance à examiner est exposé à un rayon de lumière d'une longueur d'onde déterminée ou variable . A des longueurs d'ondes bien déterminée , l'énergie électromagnétique de la lumière peut provoquer des changements dans la molécule . A ce moment-là , la lumière de cette longueur d'onde est absorbée .

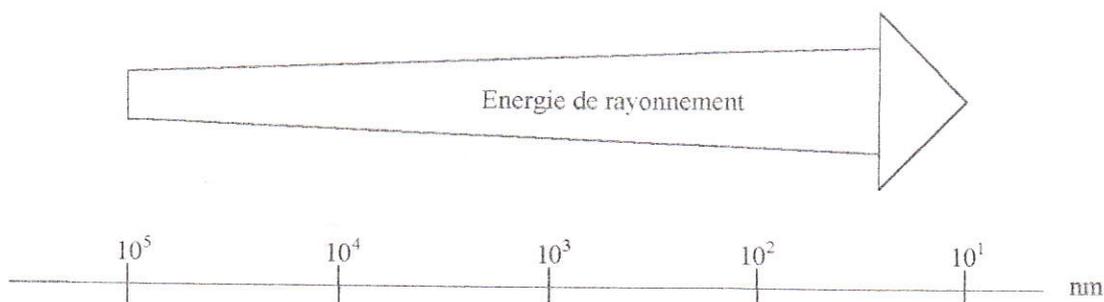
Les longueurs d'énergie provoqués par l'influence du rayonnement sur la matière ne se manifestent pas continuellement mais par paquet de grandeur parfaitement déterminée . Ces portions sont appelées « *Quanta de lumière* »

(au singulier : « *quantum de lumière* ») .

Si on compare la lumière incidente avec celle qui est transmise , des déductions au sujet de la structure moléculaire peuvent être effectuées .Ax(14).



➤ **Relation Longueur d'onde - Energie :**



L'énergie d'un quantum de lumière est proportionnelle à sa longueur d'onde λ . (11).

➤ **Loi de Lambert :**

La quantité de lumière absorbée est indépendante de l'intensité de la source de la lumière

➤ **Loi de Beer :**

L'absorption est proportionnelle au nombre des molécules absorbantes. Ces deux lois sont réunies dans la loi de Lambert et Beer .

Absorbance :
$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon * C * d = -\log T = \log \frac{1}{T}$$

Transmission :
$$T = \frac{I}{I_0} \quad T\% = \frac{I}{I_0} * 100$$

Absorption :
$$Ab = I - \frac{I}{I_0} = I - T \quad Ab\% = \left(I - \frac{I}{I_0} \right) * 100$$

La loi de Lambert et Beer est seulement valable pour des solutions diluées .

II.2. SPECTROSCOPIE UV/VIS :

II.2.1. Principe de base :

Seules les molécules qui contiennent des systèmes (chromophores) non saturés peuvent absorber la lumière visible ou ultraviolette(*). Les substances qui absorbent la lumière visible sont colorées .fig.(08) .

II.2.2. Application de la méthode :

- Détermination des concentrations .
- Détermination de la masse moléculaire .

- Identification d'un chromophore à l'aide de spectre de comparaison .
- Recherche de la structure (utilisable uniquement avec d'autre méthode)
- Détermination des coefficients molaires d'extinction .

II.2.3.Principe de l'absorption :

Des électrons de valence des orbitales occupées saute sur des orbitales non occupées d'énergie plus élevée lors de l'absorption de lumière . Lors de ce processus , la molécule passe de l'état fondamental à un état excité . L'énergie nécessaire est prise à la lumière incidente d'énergie correspondant à la différence d'énergie entre les deux niveaux électronique (résonance)

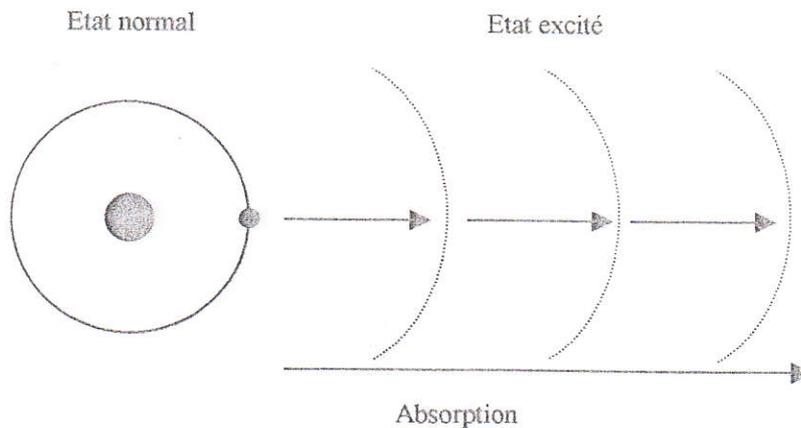


Fig.(07) : schéma descriptive de le principe d'absorption.

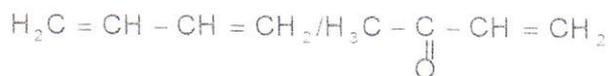
Différents états excités sont possibles .

Chaque état excité correspond à une ligne d'absorption dans le spectre . Dans les spectres moléculaires , l'excitation des électrons est accompagnée d'une modification des processus de vibrations et de rotations moléculaires ; c'est pourquoi les lignes d'absorptions deviennent des bandes d'absorption . Ces bandes sont encore influencées par les interactions entre les molécules dissoutes et les molécules du solvant . C'est l'ensemble de ces relations qui est responsable de l'obtention d'une courbe d'absorption avec un maximum bien défini .

(*) Les molécules qui ne possèdent pas de paire d'électrons libres ou de double liaison absorbent dans l'ultraviolet lointain ($\lambda < 210 \text{ nm}$) .

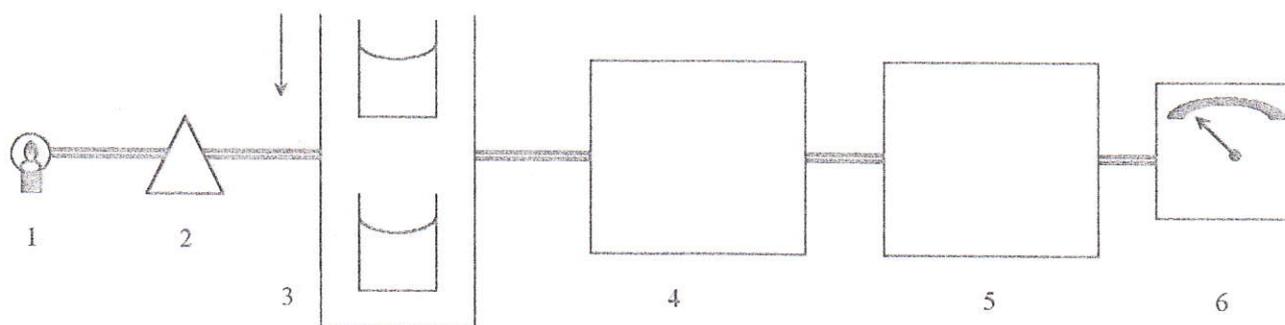
II.2.4.Relation maximum d'absorption - chromophore :

Les chromophores simples non conjugués montrent une absorption vers 190 nm , mais ce n'est pas important en pratique (à l'exception deC=O)



Plus le système est conjugué , plus la longueur d'onde de la lumière absorbée est grande .

Les spectrophotomètres sont construits de la manière suivante :



1. Source de la lumière (UV ou/et VIS) avec un spectre continu .
2. Monochromateur (filtre , prisme ou réseau) permettant d'obtenir de la lumière monochromatique .
3. Fixation pour deux cuvettes de même épaisseur
 - 1 cuvette comme référence pour le solvant pur .
 - 1 cuvette pour l'échantillon .
4. Détecteur assurant la transformation du signal optique en signal électrique .
5. Amplificateur électronique (amplifie le signal) .
6. Affichage .

Fig. (08) : Schéma descriptive de l'appareil spectrophotomètre

Il existe des appareils à monofaisceau et des appareils à double faisceau .

Avec les appareils à monofaisceau , il faut mesurer au préalable une ligne de base avec le solvant pur pour éliminer son influence sur l'absorption de l'échantillon .

Voir figure (09)

Les intensités des faisceaux de l'échantillon et de celui de référence sont comparées en permanence . Avec cette méthode on peut éliminer l'absorption due au solvant .

L'avance de la longueur d'onde du monochromateur est synchronisée avec l'avance du papier .

La plupart du temps . Les enregistreurs indiquent l'absorbance .

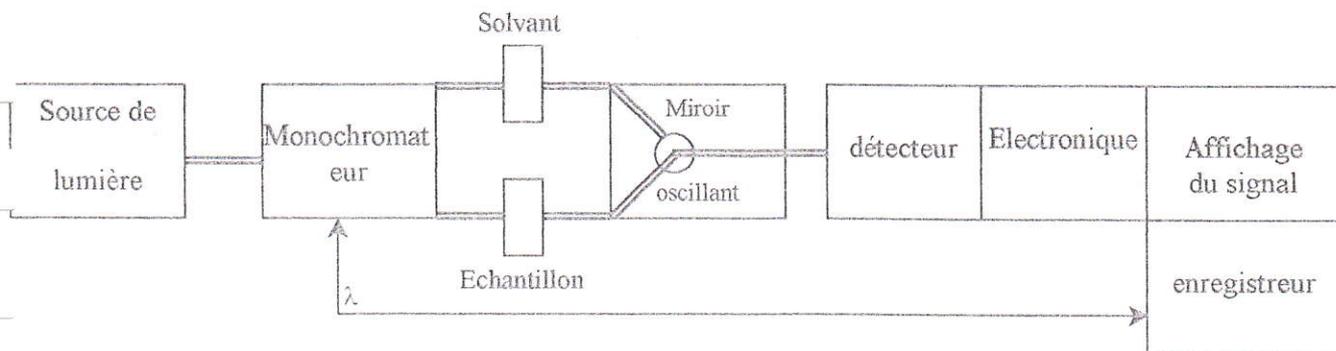


Fig. (09) : Principe et fonctionnement d'un spectrophotomètre à double faisceau

II.2.5. Technique du travail :

❖ Méthode :

Généralement , les spectres UV/visible sont enregistrés en solutions très diluées (env. 1 mg/100 ml) .

Lors de la détermination de concentration , il est indispensable d'utiliser des solutions d'étalonnage (éventuellement dilutions) .

❖ Solvant :

Pour les spectres visibles , tous les solvants purs et incolores sont utilisables . Pour les travaux en lumière ultraviolette , l'absorption des solvants doit être la plus petit possible (spectre test , comparaison avec l'air) .

Tab.(05) : Des longueurs d'ondes de références des quelques solvants.

Solvant	Plus petite longueur d'onde encore utilisable si l'épaisseur de la cuvette est de 1 cm
Eau	191 nm
n-hexane	201 nm
Ethanol	204 nm (peut être utilisé pour la plupart des substances)
Chloroforme	237 nm
Tétrachlorure de carbone	257 nm

- N'utiliser que des solvants très purs (p.ex. UVASOL pour la spectroscopie) ; les solvants p.a. doivent être filtrés sur de l'oxyde d'aluminium de haute activité.
- L'eau déionisée qui a séjourné longtemps dans des bouteilles en plastique ne peut pas être utilisée .
- le maximum d'absorption peut varier de 5 à 10 nm en fonction de la polarité du solvant .

❖ Mesure :

Lors de la mesure , on utilise deux cuvettes de même épaisseur , une pour la référence , l'autre pour l'échantillon .

Pour déterminer le maximum d'absorption avec un appareil à monofaisceau , une mesure doit être effectuée tous les 10 nm dans le domaine prévu .

Avec les appareils à double faisceau , la mesure du spectres de déroule automatiquement .

✓ Remarques :Ax.(16)

II.2.6. EVALUATION DES RESULTATS :

6.1. Evaluation qualitative :

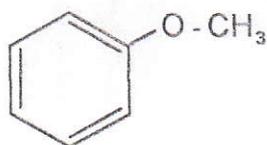
L'identification du chromophore est compliquée, car le spectre est influencé par de nombreux paramètres. De tels problèmes doivent être résolus en combinaison avec d'autres méthodes spectroscopiques, p.ex. IR, NMR, car les spectres UV/VIS sont uniquement utilisables pour confirmer ou infirmer une structure.

➤ **Points de repères pour l'interprétation des spectres UV/VIS.**

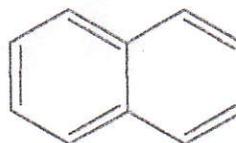
- L'absorption dans le domaine UV indique la présence d'un chromophore.
- Un spectre avec beaucoup de bandes qui se prolonge dans le domaine visible indique la présence de longs chromophores conjugués ou d'aromate polycycliques.
- Un spectre possédant seulement peu de bandes dans le domaine inférieur à 300 nm peut indiquer un chromophore avec 2 – 3 unités conjuguées.
- L'adjonction d'une double liaison conjuguée à un chromophore de base provoque un déplacement de 20 – 40 nm vers les grandes longueurs d'onde (déplacement bathochrome).

➤ **Exemple :**

A 200 nm, on trouve 0 – 1 double liaison



$$\lambda = 278 \text{ nm} = 26 \text{ nm/DL}$$



$$\lambda = 312 \text{ nm} = 22 \text{ nm/DL}$$

- Des tables indiquent l'influence qu'exercent les divers groupes fonctionnels sur le maximum de l'absorption.

Exemple de l'influence d'un groupeC=O :

Une faible absorption à env. 260 nm peut indiquer la présence d'une cétone saturée.

6.2. Evaluation quantitative

La détermination de concentration se fait en trois étapes :

1. Déterminer le maximum d'absorption avec une substance de référence.
2. Déterminer l'absorbance de trois solutions étalons de différentes concentrations, puis tracer une courbe d'étalonnage.
3. Déterminer l'absorbance de la solution (échantillon)

6.3. Evaluation graphique :

A l'aide d'une courbe d'étalonnage et sur la base de l'absorbance de l'échantillon, on peut déterminer la concentration.

6.4. Détermination du facteur d'étalonnage :

$$\text{Facteur d'étalonnage} = \frac{\text{concentration de la solution d'étalonnage}}{\text{absorbance de la solution d'étalonnage}}$$

Les valeurs permettant de calculer le facteur d'étalonnage se trouvent dans la courbe d'étalonnage .

Pour déterminer la concentration , on multiplie le facteur d'étalonnage par l'absorbance de l'échantillon .

6.5. Evaluation par le spectrophotomètre :

Si l'appareil est conçu pour des calculs directs , on peut lui indiquer en mg ou en % la concentration maximale qui a été déterminée par les points de la courbes d'étalonnage . La concentration de l'échantillon sera affichée directement lors de la mesure . Ax (12)

II.3. SPECTROSCOPIE IR

II.3.1. PRINCIPES DE BASE :

Les molécules qui absorbent la lumière infrarouge doivent posséder des liaisons polarisées .

II.3.2. UTILISATION DE LA METHODE :

La spectroscopie IR permet d'effectuer les déterminations qualitatives suivantes :

- Identification des groupes fonctionnels .
- Teste d'identité .
- Contrôle des réactions en synthèse .
- Détermination de la structure (seulement en combinaison avec d'autres méthodes spectroscopiques)

Il est aussi possible de mesurer des substances minérales et de faire des mesures

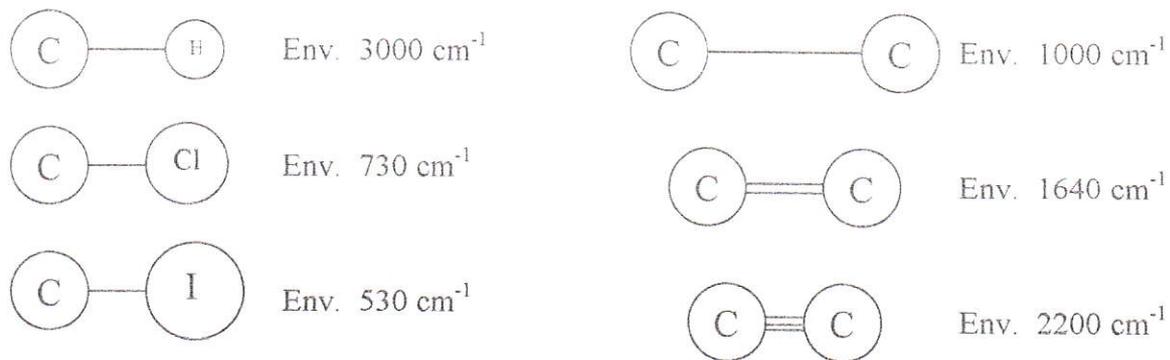
✓ quantitatives :

- Détermination de l'épaisseur de films .

II.3.3. PRINCIPE DE L'ABSORPTION :

Dans une molécule , les atomes , les groupes d'atomes , se trouvent dans certains états de vibration . La répartition des électrons est asymétrique à cause de la différence d'électronégativité . C'est la raison pour laquelle des changements de moments dipolaires de fréquence déterminée ont lieu dans des éléments de structure moléculaire isolés .

La fréquence d'une telle oscillation dépend de la force de la liaison et de la masse des atomes concernés .

EXEMPLE :**Fig.(10) : Des fréquences des quelques liaisons illustrées**

Si la nature incidente a la même fréquence que celle de l'oscillation d'un des éléments de structure, la résonance a lieu et la lumière IR est absorbée.

L'énergie de vibration (amplitude) de la particule concernée augmente et la molécule passe à un état excité.

L'intensité de l'absorption dépend du moment dipolaire de la liaison concernée :

La lumière IR peut être absorbée uniquement si le moment dipolaire change avec la vibration

Les molécules ont normalement plusieurs éléments de structure et chaque élément peut vibrer de façon différente. C'est pour cette raison que les spectres IR ont plusieurs bandes d'absorption.

II.3.4. TYPE DE VIBRATIONS :

Les types principaux de vibration sont les suivants :

- Vibration fondamentales ou de squelette.
- Vibration localisées.

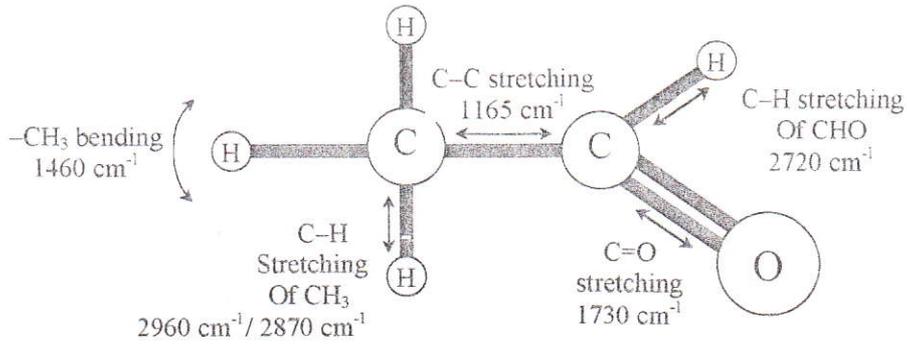
Exemple :

Fig.(11) :vibration et fréquence caractéristiques de l'acétaldéhyde

II.3.5. Technique de travail :

Grandeur de l'échantillon et choix de la technique d'enregistrement :

Le choix de la technique d'enregistrement dépend des points suivants :

- De l'état physique de la substance à déterminer .
- De la solubilité de la substance et des propriétés du solvants

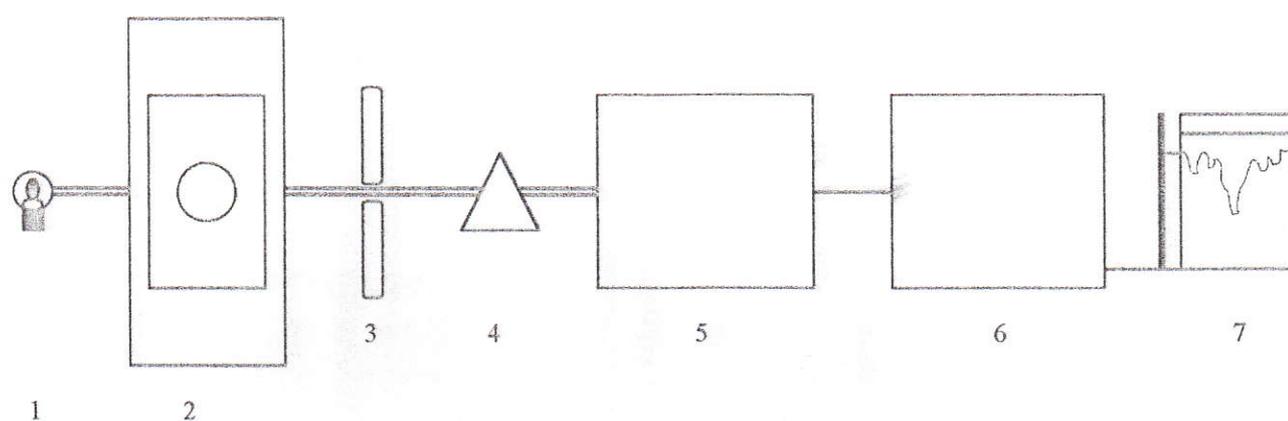
Voir Tab.(06)

Technique d'enregistrement	Grandeur de l'échantillon	Remarques
<u>Solides</u>		
Suspension dans le Nujol	3 -30 mg	Est employée s'il n'y a pas de solvant adéquat .
Matière pressée avec du KBr (pastille de KBr)	1 mg	Pour les substances sensibles , le pressage en présence de KBr peut donner des problèmes dus aux hautes pressions , à la restructuration des cristaux et à d'autres réactions qui peuvent avoir lieu et qui influencent fortement le spectre .
Film transparent	300 µl de solution	Pour l'étude des polymères .
Solution en cuvettes		Les spectres de solutions sont préférés aux autres méthodes , car l'interprétation est plus facile .
<u>Liquide</u>		
Sandwich	Quelques gouttes	
Solution en cuvette	300 µl de solution	
<u>Gaz (vapeurs)</u>		
Dans des cuvette de gaz	Très variable dépend de la substance et de la pression	

Tab.(06) : description de la technique de travail par spectroscopie IR

- Avec les gaz hygroscopiques , de petites traces d'humidité peuvent déjà causer des difficultés .
- Des données de température et de pression sont nécessaires à la bonne reproductibilité des spectres .

Les spectrographes IR sont composés des pièces suivantes :



Légende

1. Source du rayonnement
2. Logement de l'échantillon (solide, liquide, gazeux).
3. Système de fentes.
4. Monochromateur (prisme en NaCl ou réseau).
5. Détecteur (thermoélément).
6. Amplificateur électronique.
7. Enregistreur.

Fig. (12) : Schéma descriptive de l'appareil spectroscopie IR

Thermologie chromatographique:

1. Soluté: toute substance constituant d'un mélange, séparée par chromatographie.

2. Phase mobile: le vecteur, liquide ou gazeux, qui déplace le soluté.

3. Phase stationnaire: le produit qui, par ses affinités avec les solutés, va permettre leur séparation quand la phase mobile les déplace.

4. Support: Un substrat inerte qui porte la phase stationnaire.

5. Remplissage: l'ensemble des produits (adsorbant, support + phase stationnaire, ...etc.) qui garnissent une colonne chromatographique.

6. Colonne chromatographique: tube de diamètre et longueur variable, en verre, métal, ou autre substance, à l'intérieur duquel s'opèrent les séparations chromatographiques.

7. Développant: une phase mobile, liquide ou gazeuse, qui déplace les solutés dans la phase stationnaire, de telle manière qu'ils demeurent dans celle-ci : cas de la CP et de la CCM.

8. Éluant: une phase mobile, liquide ou gazeuse, qui déplace les solutés dans la phase stationnaire, jusqu'à ce qu'ils sortent de celle-ci.

9. Chromatographie d'éluion: celle dans laquelle la phase mobile parcourt en permanence la phase stationnaire afin que les solutés introduits à une extrémité de celle-ci sortent à l'extrémité opposée. Dans cette méthode, la phase mobile est inerte vis-à-vis de la phase stationnaire.

10. Chromatographie de déplacement: procédé dans lequel la phase mobile a plus d'affinité que le soluté pour la phase stationnaire, donc le pousse devant elle.

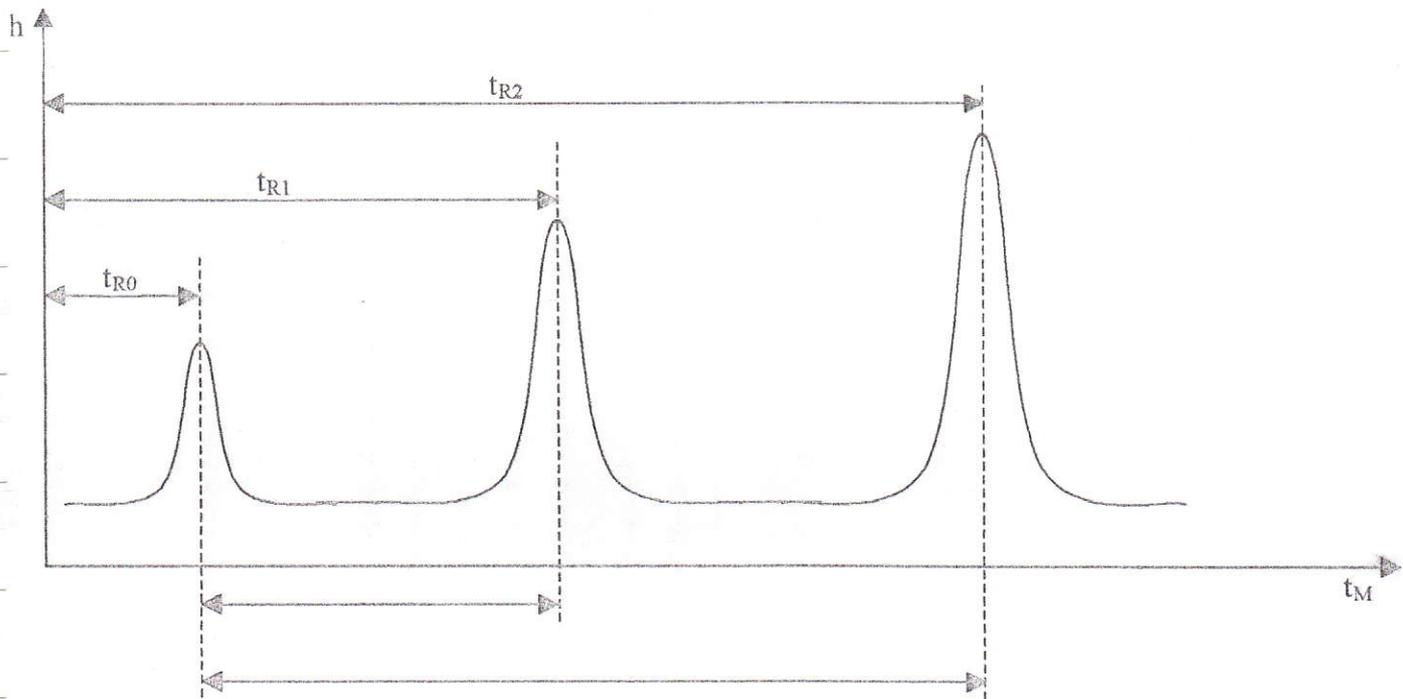
11. Rapport frontal: rapport entre la distance parcourue par un soluté dans une phase stationnaire et la distance parcourue dans le même temps par le développant.

12. Coefficient de partage: rapport des concentrations respectives du soluté dans la phase stationnaire et la phase mobile, au cours de l'analyse.

13. Valeurs de rétention: toutes données qui permettent de chiffrer l'action spécifique d'une phase stationnaire donnée sur un soluté donné, au cours d'une analyse chromatographie.

Chromatogramme d'élution .

$$N = 16 \cdot (t_R / w)^2$$



14. Chromatogramme: trace sur un papier enregistreur des réponses successives du détecteur, au cours de l'élution des solutés hors des colonnes.

Ax.(02) :

Dans un creuset de silice, introduisez la prise d'essai prescrite (2 g au maximum) et 4 ml de solution de sulfate de magnésium R à 25 pour 100 m/v de l'acide sulfurique dilué R. Mélangez à l'aide d'une fine baguette de verre. Chauffez avec précaution, si le mélange est liquide.

Chauffez ensuite progressivement jusqu'à carbonisation, puis obtention des cendres pratiquement blanches ou au plus grisâtres, la température ne dépassant pas 800°C. Laissez refroidir, humectez le résidu avec quelques gouttes d'acide sulfurique dilué R. Evaporer et calcinez de nouveau, puis laissez refroidir. La durée totale de la calcination ne doit pas excéder 2 h. Reprenez le résidu à 2 reprises par 5 ml d'acide chlorhydrique dilué R. Ajoutez 0.1 ml de solution de phénolphthaléine R, puis de l'ammoniaque concentré R jusqu'à coloration rose. Refroidissez, ajouter de l'acide acétique

glacial R jusqu'à décoloration, puis 0.5 ml en excès. Si nécessaire, filtrez et lavez le filtre. Complétez à 20 ml avec de l'eau. A 12 ml de solution obtenue, ajoutez 2 ml de solution tampon puis mélangez immédiatement. Préparez le témoin en utilisant 4 ml de solution de sulfate de magnésium R à 25 pour cent m/v dans l'acide de plomb (Pb) R. Dans les mêmes conditions que celles décrites pour l'essai, procédez à la calcination, à la reprise chlorhydrique, à l'addition d'ammoniaque, puis à celle d'acide acétique, Prélevez 10 ml des 20 ml obtenus, ajoutez 2 ml de la solutions préparée à partir de la solution à examiner et 2 ml de la solution tampon ph 3.5 R. Mélangez et ajoutez 1.2 ml de réactif au thioacétamide R. Mélangez immédiatement.

Après 2 min, la coloration brune éventuelle, de la solution obtenue à partir de la substance à examiner n'est pas plus intense que celle du témoin.

Ax.(03) : _____

Etude MEMERT : double paroi entre lesquelles circule un courant d'air chaud, les calories sont transmises à l'air de l'enceinte en contact avec l'objet (à stériliser, à chauffer, à dégrader par chaleur), déposé sur les plateaux, un système d'aération permet d'établir une ventilation de cet enceinte favorisant le brassage des molécules gazeuses et la transmission des calories .

Ax.(04) : _____

Solution acide de chlorhydrique HCl 1N : par manque de HCl 1N, j'ai procédé de le prépare à partir l'indication de la pharmacopie européenne 2000

- On prélève 103.0 g d'acide chlorhydrique R et on complète à 1000.0 ml avec l'eau

/ R : Acide HCl 37% d=1.19 Kg/L

On 'a :

10.3 g HCl \longrightarrow 100 ml .

37% (massique) 37g de HCl \longrightarrow 100 g R.

Donc pour : 10.3g de HCl \longrightarrow X= ?

X= 27.83g.

Et on'a :

$$V = \frac{m}{d} = \frac{27.83 \times 10^{-3}}{1.19} = 2.34 \text{ml}$$

Donc on prélève 2.34ml de l'acide chlorhydrique R , et on complète a 100ml avec l'eau , obtenu nos solution : solution HCl 1N .

Ax.(05) : _____

Solution de NaOH 1N

A partir de la pharmacopie Européenne 2000

On prélève 45 g de NaOH et on complète à 1000 ml avec l'eau, pour 100 ml

Ax.(06) : _____

Dessiccation à pour but de réduire la teneur au non d'un substance, c'est une opération pharmaceutique très importante, elle résulte en général de l'apport d'un fluide au rayonnement capable d'effectuer un échange thermique on transmettons ces calories à la phase liquide a éliminer.

Ax.(07) : _____

La filtration est une opération qui consiste a séparer une phase liquide d'une phase solide, par rétention des particules solides sur un réseau peureux capable de laisser passer la phase liquide.

Ax.(08) : _____

Solution de phosphate monosodique

NaH₂PO₄ 1.6 g/L

A partir de la substance NaH₂PO₄ 156.1 g/ml

On prélève 0.8 g de NaH₂PO₄ et on complété à 500 ml avec l'eau

pour obtenue une solution de NaH₂PO₄ : 1.6 g/L

Ax.(09) : _____

Solution d'acide phosphorique H₃PO₄ 1g/L

A partir d'acide H₃PO₄ 98.0 g/ml 1.7 Kg /L

$$V = \frac{m}{d} = \frac{1}{1.7} = 0.588 \text{ ml} \Rightarrow$$

$$V = 0.588 \text{ ml}$$

On prélève $\frac{0.588}{2}$ de H_3PO_4 et on complète à 500 ml avec l'eau pour obtenir une solution de H_3PO_4 : 1 g/L.

Ax.(10) :

SYMBOLES , NOTIONS , UNITES :

λ (lambda) : longueur d'onde [nm] .

ν (nu) : fréquence { nombre d'onde / seconde } [Hz , s^{-1}]

$\bar{\nu}$: (nu barre) : nombre d'onde { nombre d'onde / cm } [$1/\text{cm} = \text{cm}^{-1}$]

C : vitesse de la lumière dans le vide [$3 \cdot 10^8 \text{ m/s}$]

A (E) : absorbance (densité optique = $-\log T$)

I_0 : intensité de la lumière incidente = 100 %

I : intensité de la lumière transmise en % de I_0

T : transmission

Ab : absorption

ϵ (epsilon) : coefficient molaire d'extinction (absorbance d'une solution

molaire pour $d = 1 \text{ cm}$) [$\frac{l}{\text{mol.cm}} = l \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]

$E_{1\text{cm}}^{10/100 \text{ PV}}$ absorbance pour une solution 10/100 PV pour $d = 1 \text{ cm}$
[$l \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]

c : concentration molaire [mol / litre]

d : épaisseur de couche [cm]

λ_{max} : longueur d'onde d'un maximum d'absorption [nm]

Ax.(11) :

Relations mathématiques :

Fréquence - longueur d'onde - nombre d'ondes :

$$\text{Fréquence} = \frac{\text{Vitesse de la lumière}}{\text{longueur d'onde}}$$

$$\nu = \frac{C}{\lambda}$$

$$\text{Fréquence} = \text{vitesse de la lumière} * \text{nombre d'onde}$$

$$\nu = C * \bar{\nu}$$

$$\text{Nombre d'ondes} = \frac{l}{\text{longueur d'onde}}$$

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$$

$$\text{Nombre d'ondes} = \frac{\text{Fréquence}}{\text{Vitesse de la lumière}}$$

$$\bar{\nu} = \frac{\nu}{C}$$

Ax.(12) : _____

CONTROLE DES APPAREILS

Pour garantir des résultats parfaits , les tests suivants doivent être effectués régulièrement .

✓ Stabilité de la ligne 0 :

Avec une certaine tolérance , la ligne 0 doit être stable dans tout le domaine spectral .

✓ Avance des longueurs d'onde :

Lors de la mesure du spectre d'un filtre d'oxyde d'holmium , les valeurs mesurées avec l'appareil et indiquées par l'enregistreur doivent être identiques à celle prévues théoriquement .

✓ Linéarité :

Elle est contrôlée par la mesure de solution connues . La courbe d'absorption dans le domaine mesuré doit être linéaire .

✓ Test d'absorbance :

A l'aide de filtre gris , on peut tester l'absorbance à des longueur d'onde bien déterminées .

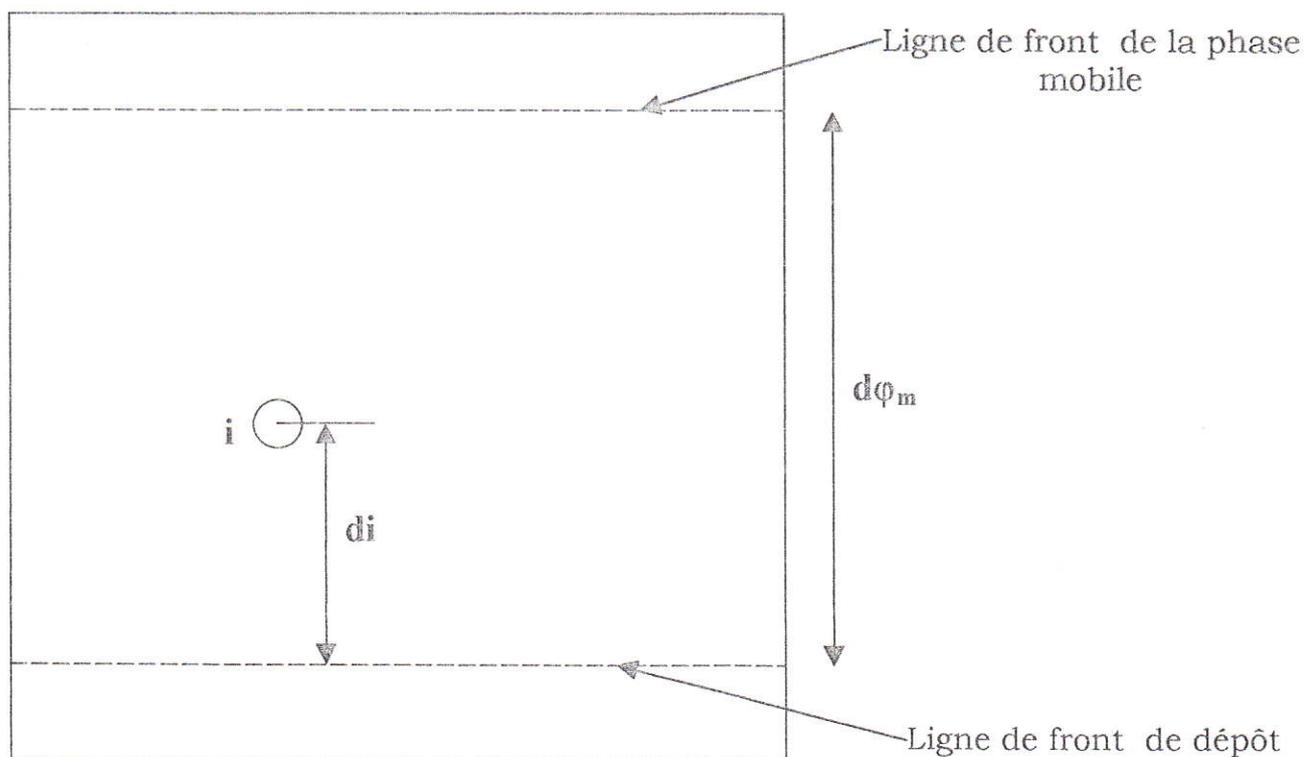
✓ Lumière parasite :

Pour déterminer la lumière parasite , on utilise une solution dont l'absorbance à une longueur d'onde bien définie est si grande (> 2.0) que toute lumière arrivant sur le détecteur ne peut provenir que de la lumière parasite .

Ax.(13) :

termes	Volume approximatif de solvant ml par gramme de soluté
Très soluble.	Moins de 1ml
Facilement soluble.	De 1 a 10ml
Soluble .	De 10 a 30ml
Assez soluble.	De 30 a 100ml
Peu soluble .	De 100 a 1000ml
Très peu soluble.	De 1000 a 10000ml
Pratiquement soluble.	Plus de 10000ml

Ax.(15) :



Ax.(16) :

Remarques :

- Un spectre est caractérisé par son λ_{\max} et son ϵ_{\max} (intensité du maximum d'absorption)
- Utiliser des solutions qui ne dépassent pas la valeur de 2,0 en absorbance

La meilleure linéarité se trouve entre 0,3 et 1,2

- Choisir de grandes vitesses d'enregistrement pour des spectres d'orientation .
 - Avant de remplir une cuvette , bien la rincer .
 - Pour les mesure dans l'UV , il faut utiliser des cuvette en quartz , pour celle dans le visible , des cuvette en verre sont suffisantes .
 - Avec les substances volatiles , fermer les cuvettes
 - Toujours bien nettoyer les cuvettes et ne pas les rayer .
 - Utiliser les mêmes cuvettes pour les l'échantillon et pour la référence .
 - Eviter des bulles d'air dans les cuvettes .
 - Pour établir une courbe d'étalonnage , ajuster le température avec une précision de ± 1 °C .
 - Lors de la mesure d'échantillon troubles , le même trouble doit se trouver dans la cuvette de référence .
 - Tenez la valeur de PH constante . Beaucoup de substances on un effet indicateur (utiliser éventuellement une solution tampon)
-