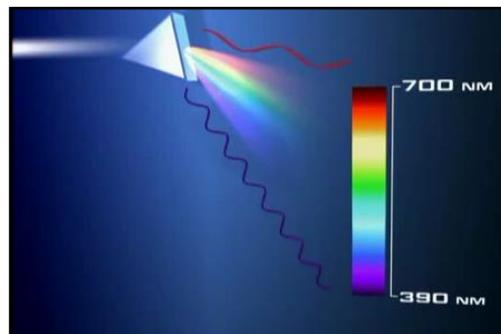


## 1. Historique

Dans l'antiquité grec, des savants cherchaient d'arracher les secrets de la lumière et parmi eux, Ptolémaïs. En étudiant la diffraction de la lumière et il arrive à la conclusion lorsque un rayon lumineux passe d'un milieu transparent dans un autre de densité différente, il subit une déviation en traversant la surface de séparation des deux milieux. Il formule ainsi les bases d'une optique de la diffraction.

1666 : Newton, en faisant passer la lumière solaire à travers un prisme de verre, montre que la lumière blanche est composée de couleurs élémentaires, chaque couleur étant déviée d'une quantité différente (figure 1). C'est le phénomène de la réfraction.



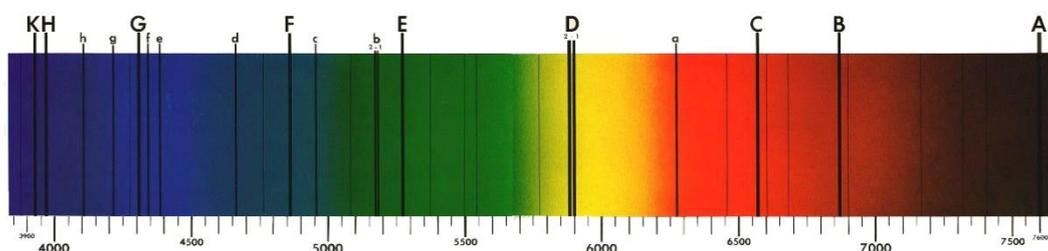
**Figure 1.** Le phénomène de réfraction.

1800 : Herschel montre l'existence d'un rayonnement au-delà du rouge, découvrant ainsi l'existence des infra-rouges.

1801 : Ritter découvre l'existence du rayonnement ultra-violet.

1802 : Wollaston découvre la présence de raies d'absorption dans le spectre solaire.

1814 : Fraunhofer observe, décrit et dessine le spectre du Soleil (figure 2). Il fut le premier à étudier en 1823 le spectre des planètes et des étoiles les plus brillantes.



**Figure 2.** Les raies du spectre du soleil.

Herschel et Talbot suggèrent pour la première fois d'utiliser la spectroscopie pour l'analyse chimique des substances.

1868 : un élément chimique inconnu jusqu'alors fut identifié dans le spectre du Soleil par nombreux astronomes lors d'une éclipse de Soleil. Mais Lockyer pu déterminer en 1868 la longueur d'onde exacte de cette raie. Cet élément fut alors nommé "hélium." Ce gaz ne fut identifié sur Terre qu'en 1895.

## 2. Notions de base

### 2.1. Spectre électromagnétique

Le rayonnement électromagnétique se présente sous la forme d'onde électromagnétique qui se propage dans le vide à la même **vitesse** que celle de la lumière  $c$  ( $2.9979 \cdot 10^8 \text{ m.s}^{-1}$  dans le vide). Seule une partie de ces ondes est visible sous forme de lumière. L'ensemble de ces ondes, visibles ou non, forme ce qu'on appelle le spectre électromagnétique. Le rayonnement électromagnétique peut être caractérisé par sa **longueur d'onde**  $\lambda$ , par le **nombre d'onde**  $\tilde{\nu}$  ou encore par la **fréquence**  $\nu$  :

$$\lambda = \frac{c}{\nu} = 1/\tilde{\nu}$$

Il est bon de rappeler également que l'**énergie** d'un rayonnement électromagnétique **E** est reliée à sa fréquence par la relation :

$$E = h \nu ; h: \text{constante de Planck.}$$

Le spectre électromagnétique (figure 3) s'étend des radiofréquences de plus basse énergie (ou de plus grande longueur d'onde) au rayonnement Gamma de haute énergie (ou de petite longueur d'onde). Le rayonnement électromagnétique dans le domaine UV-VIS s'exprime par sa longueur d'onde  $\lambda$ , en nm.

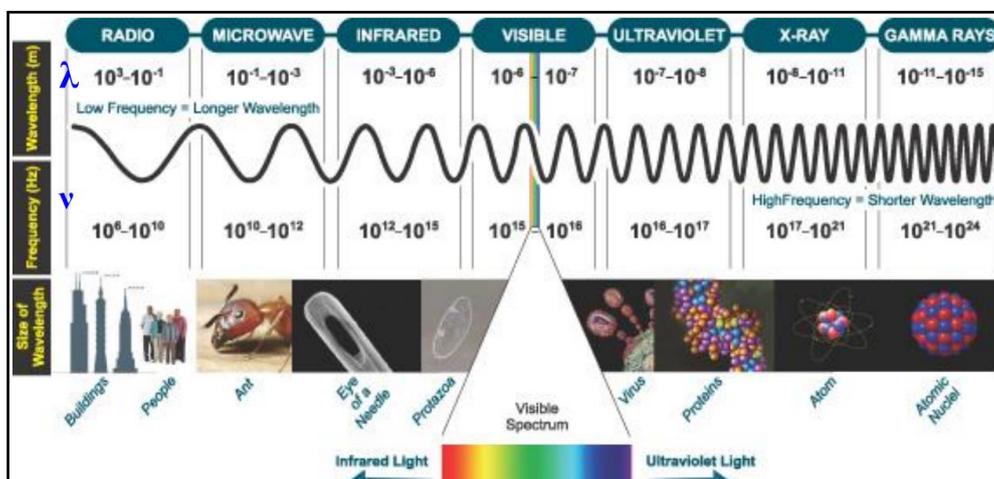


Figure 3. Le spectre électromagnétique.

Le domaine UV s'étend de 10 à 390 nm, celui du visible de 390 à 770 nm (du bleu au rouge) et celui de l'infrarouge (IR) du 780 nm à 1mm. Cependant, l'unité spectrale utilisée pour la spectroscopie IR est le nombre d'onde  $\tilde{\nu}$ , exprimé en  $\text{cm}^{-1}$ .

A chacun des domaines particuliers du rayonnement électromagnétique, ou presque, correspond un type de spectroscopie qui repose sur une interaction particulière de la matière avec ce rayonnement (figure 4). Ainsi pour le domaine :

- Des  $\gamma$  et des RX, le rayonnement est extrêmement énergétique et il va pouvoir affecter les électrons des orbitales atomiques de noyau. Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie  $\gamma$  et dans la fluorescence X.
- Des UV et du visible, le rayonnement est énergétique et il va pouvoir affecter les électrons des orbitales atomiques périphériques et/ou des orbitales moléculaires. Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie d'émission atomique (SEA), la spectroscopie d'absorption atomique (SAA) et la spectroscopie moléculaire (UV-VIS).
- De l'IR, le rayonnement est faiblement énergétique et ne peut affecter principalement que les modes de vibration des molécules. Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie IR et la spectroscopie Raman.
- Des radio, finalement, le rayonnement est très faiblement énergétique et ne peut affecter que les modes de rotation des molécules, modification d'états de spin électronique (résonance paramagnétique électronique, RPE) et modification d'états de spin nucléaire (résonance magnétique nucléaire, RMN).

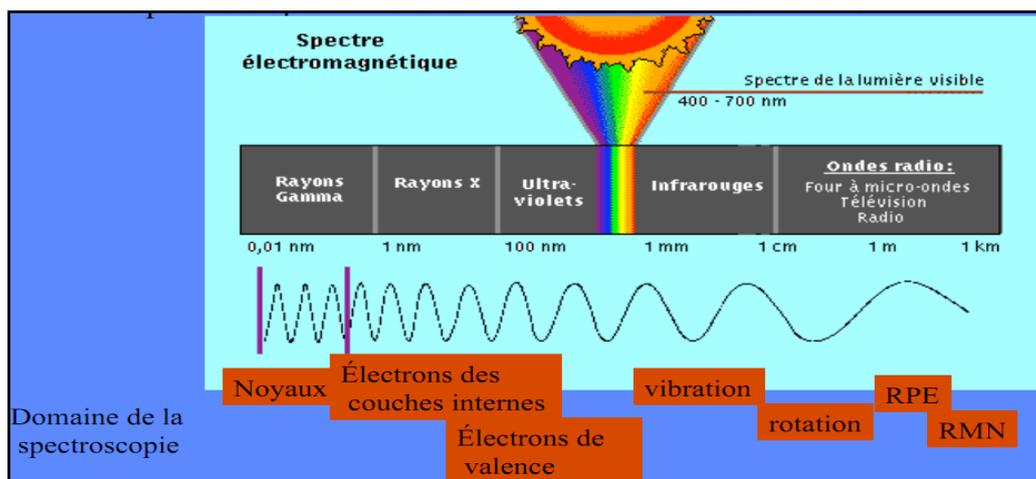


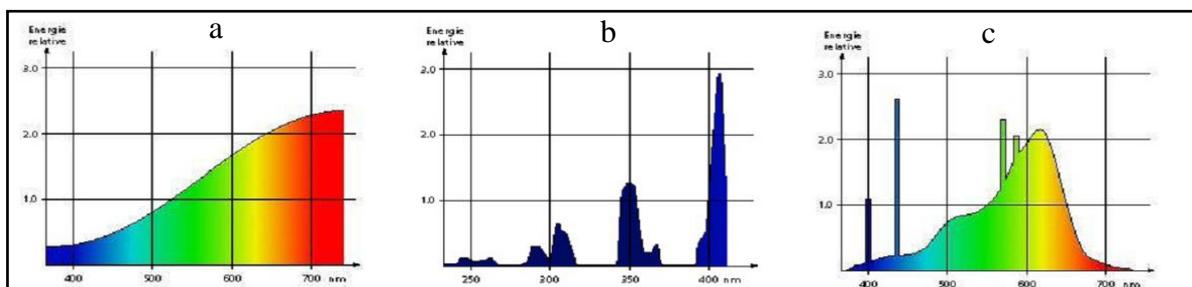
Figure 4. Domaine de la spectroscopie.

## 2.2. Spectre, spectroscopie et spectrométrie

La spectroscopie est l'étude du spectre électromagnétique d'un phénomène, visuellement (d'où le suffixe -scopie). Depuis un certain temps, l'œil a été remplacé par différents types de détecteurs photoélectriques, et il convient alors de parler de spectrométrie (le suffixe -métrie indiquant que l'on effectue une mesure et non une simple appréciation du phénomène). Il conviendrait de remplacer le terme "spectroscopie", par le terme plus exact de "spectrométrie".

Le spectre est la distribution en énergie, puissance, intensité, absorbance, transmission, etc. en fonction de la longueur d'onde ou de la fréquence. On distingue trois types de spectres :

- Les spectres continus, pour lesquels il existe un "signal" pour chaque longueur d'onde ou fréquence (figure 5a).
- Les spectres discontinus, ou spectres de raies, ou encore spectres discrets, qui ne disposent d'un signal que pour certaines fréquences ou longueurs d'onde spécifiques, caractéristique de la matière irradiante ou irradiée (figure 5b).
- Les spectres combinés qui sont constitués d'une superposition d'un spectre continu et d'un spectre discret (figure 5c).



**Figure 5.** Différents types de spectres. **a** : spectre continu, **b** : spectre discontinus, **c** : spectre combiné.

## 2.3. Absorption et émission

Les échanges d'énergie entre les atomes et la lumière sont quantifiés: ils se font par paquets d'énergie appelés photons.

### 2.3.1. Absorption

Un atome initialement au repos au niveau fondamental d'énergie  $E_f$  peut passer au niveau excité supérieur d'énergie  $E_e$ , en absorbant un et un seul photon d'énergie  $\Delta E = h \cdot \nu = E_e - E_f$  (figure 6).

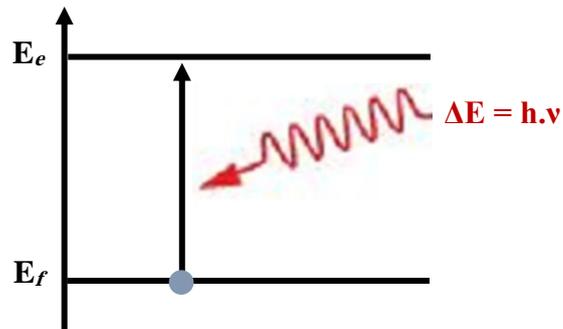


Figure 6. Phénomène d'absorption.

### 2.3.2. Emission spontanée

Les états électroniques excités ne sont pas stables. Plus ou moins vite, l'atome retombe dans l'état fondamental en émettant un photon. Le photon peut être émis dans n'importe quelle direction. L'énergie  $h\nu$  du photon émis est égale à la différence d'énergie  $E_e - E_f$  entre les deux niveaux atomiques ( $e$ ) et ( $f$ ) (en toute rigueur, il faut tenir compte de l'énergie de recul de l'atome, mais celle-ci est ridiculement petite devant l'écart d'énergie  $E_e - E_f$  (figure 7).

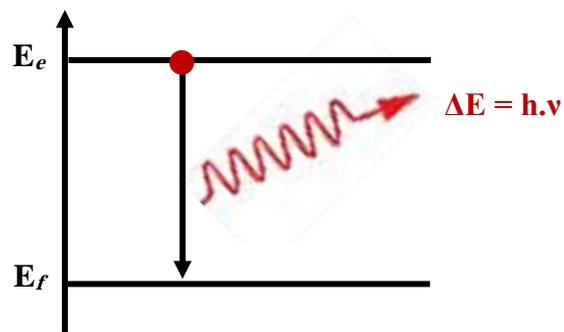


Figure 7. Phénomène d'émission spontanée.

## 1. Spectrométrie UV-VIS

La spectrophotométrie UV-VIS repose sur l'interaction du rayonnement électromagnétique et de la matière dans le domaine s'étendant du proche UV au très proche IR (proche UV : 185-400, VIS : 400-800 et très proche IR 800-1100 nm). Cette partie du spectre est relativement pauvre en informations sur la structure des composés moléculaires. En revanche, l'absorbance des composés dans le proche UV et le visible est exploitée en analyse quantitative par application de la loi de Beer-Lambert. La méthode s'applique non seulement aux composés qui présentent une absorption dans le visible mais également aux composés dont un dérivé obtenu par une réaction chimique présente une telle absorption.

### 1.1. Principe

Ce type de spectrométrie repose principalement sur des interactions entre les rayonnements électromagnétiques et les électrons des orbitales moléculaires. L'absorption des rayonnements par les molécules est due au passage d'un électron d'un niveau électronique à un autre niveau électronique d'énergie supérieure. Le document de base fourni par les spectrophotomètres, appelé spectre, correspond au tracé des variations de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde des photons incidents.

Si on place une solution contenant une substance dissoute dans un solvant, dans un spectrophotomètre. Et on mesure l'absorbance à différentes longueurs d'onde, on va obtenir un graphique des pics à des longueurs d'onde définies: c'est le spectre d'absorption. Le maximum d'absorbance correspond à  $\lambda_{\max}$ .

L'absorption d'un rayonnement ultraviolet ou visible correspond à une interaction des photons avec les électrons des couches externes des atomes ou des molécules. La position du maximum d'absorption correspond à la longueur d'onde de la radiation qui provoque la transition électronique.

### 1.2. Spectres dans l'UV-VIS et loi de Beer-Lambert

Les spectres dans l'UV- VIS donnent la transmittance ou l'absorbance de l'échantillon analysé en fonction de la longueur d'onde du rayonnement. La **transmittance**, notée **T**, est donnée par :

$$T = I/I_0$$

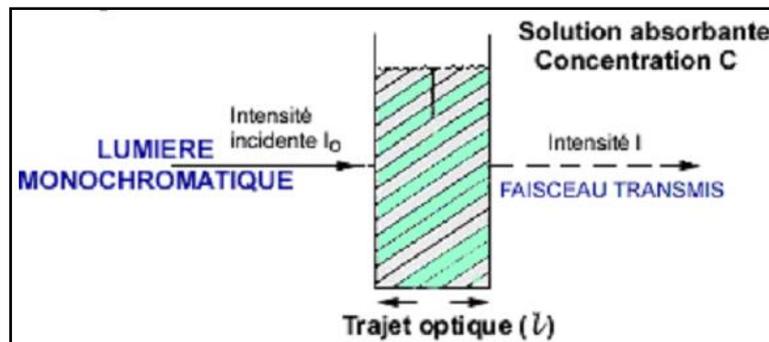
où  $I_0$  est l'intensité incidente et  $I$ , l'intensité transmise.

- Si  $I_0 = I$ , milieu transparent
- Si  $I_0 > I$ , milieu partiellement absorbant
- Si  $I = 0$ , milieu opaque (absorption totale)

L'absorbance **A** est définie par :  $A = -\log T$

Cette dernière grandeur est très utile en analyse quantitative par application de la loi de Beer-Lambert que nous verrons plus loin. Plus un composé est absorbant, plus la transmittance est faible et plus l'absorbance est élevée.

Soit une lumière monochromatique traversant une solution absorbante de concentration  $C$  contenue dans une cuve d'épaisseur  $l$  (figure 8).



**Figure 8.** Absorbance d'une lumière monochromatique par une solution.

Une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise. Bouguer, Lambert et Beer ont étudié les relations qui existent entre  $I_0$  et  $I$  : l'intensité d'une lumière monochromatique traversant un milieu où elle est absorbée décroît de façon exponentielle :

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

Où :

$l$  : la distance traversée par la lumière (épaisseur de la cuve) (en cm)

$C$  : la concentration des espèces absorbantes

$k$  : une constante caractéristique de l'échantillon.

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

$\epsilon$  est le coefficient d'extinction molaire ;  $k$  est une caractéristique de la substance étudiée à une longueur d'onde donnée. Si  $C$  est la molarité,  $\epsilon$  est en  $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ .

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

$$A = -\log T = \epsilon lc$$

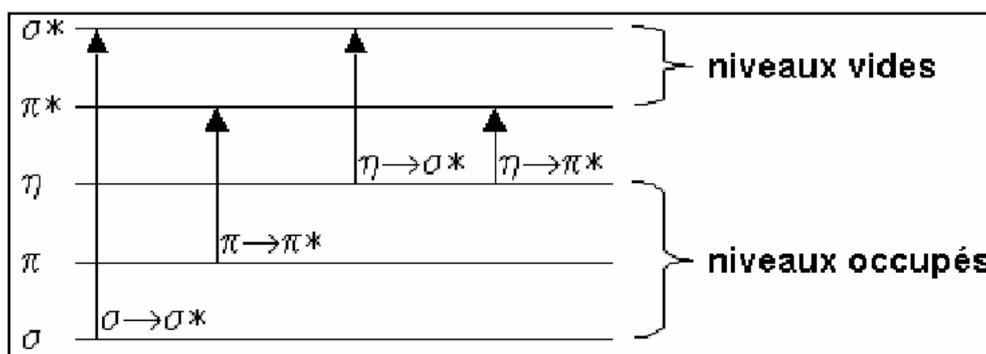
Les conditions de validité de la loi de Beer-Lambert:

- Le monochromatisme (une seule longueur d'onde  $\lambda$  max)
- Les faibles concentrations (diluées)
- Température stable (e dépend de la température)
- Ph stable
- Clarté du milieu

### 1.3. Origine d'absorption

Les rayonnements provoquent des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules. Les transitions électroniques correspondent au passage des électrons des orbitales moléculaires liantes et non liantes remplies, vers des orbitales moléculaires antiliantes non remplies. La longueur d'onde d'absorption dépend de la nature des orbitales mises en jeu. Transitions électroniques généralement observées en spectrophotométrie :  $\pi \rightarrow \pi^*$  et  $n \rightarrow \pi^*$ .

Le diagramme suivant illustre ceci pour des orbitales de type  $\sigma$ ,  $\pi$  et  $n$  (figure 9):



**Figure 9.** Diagramme illustre des transitions électromagnétiques.

L'absorption d'un photon dans le domaine UV-VIS peut souvent être attribuée à des électrons appartenant à de petits groupes d'atomes appelés **chromophores** ( $C=C$ ,  $C=O$ ,  $C=N$ ,  $C\equiv C$ ,  $C\equiv N$ ,...).

**N.B. :** Groupement chromophore : groupement insaturé covalent responsable de l'absorption ( $C=C$ ,  $C=O$ ,  $C=N$ ,  $C\equiv C$ ,  $C\equiv N$ ,  $C=S$ ,  $N=N$  ...).

## 1.4. Matériels

### 1.4.1. Source lumineuse

Les sources les plus utilisées sont :

- **La lampe à filament de tungstène** dans une atmosphère halogène (lampe à iode). Elle (figure 10) fournit un spectre de lampe continu utilisable entre 350 et 700 nm (visible).



**Figure 10.** Lampe à filament de tungstène dans une atmosphère halogène.

- **La lampe à arc dans une atmosphère d'hydrogène ou de deutérium** (figure 11), dite lampe à hydrogène ou deutérium. Elle fournit un spectre de lampe continu utilisable entre 200 et 360 nm (le spectre dans le visible est chaotique). Ainsi de nombreux spectrophotomètres combinent lampe à deutérium et lampe à iode pour couvrir le VIS et l'UV.



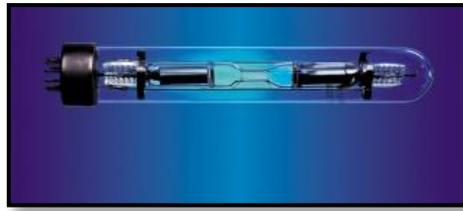
**Figure 11.** Lampe à arc dans une atmosphère de deutérium.

- **La lampe à arc en atmosphère de xénon** (figure 12). Elle fournit un spectre de lampe continu utilisable entre 260 et 800 nm. C'est une lampe actuellement très populaire. En raison de leur large spectre (couvrant le domaine UV et visible) et leur longue durée de vie. Cependant, leur utilisation a été centrée sur des instruments de précision inférieure.



**Figure 12.** Lampe à arc en atmosphère de xénon.

- **La lampe à vapeur de mercure** (figure 13). Elle donne le spectre d'émission de raies du mercure, c'est à dire un spectre de raies discontinues mais de bandes passantes très étroites. Par exemple : 546 nm, puis 435 nm, puis 404 nm, puis 366 nm, puis 313 nm, ...



**Figure 13.** Lampe à vapeur de mercure.

#### 1.4.2. Les monochromateurs

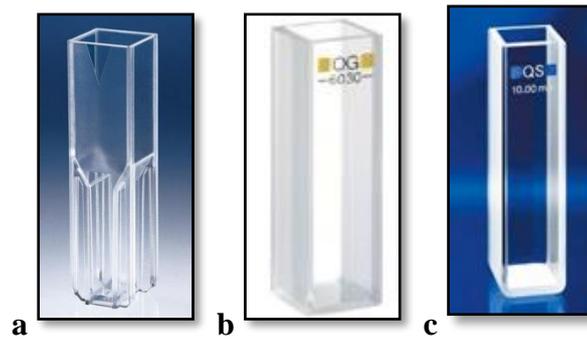
La sélection de la longueur d'onde est réalisée grâce au monochromateur (voir vidéo). Il comprend classiquement :

- Une fente d'entrée permettant l'atteinte par un fin faisceau polychromatique.
- Un système dispersif de type réseau.
- Une fente de sortie, qui, par la motorisation précise, permettra de sélectionner une longueur d'onde précise (en fait une bande passante étroite) dispersée et de la diriger vers le porte échantillon. Les spectrophotomètres à éclairage polychromatique et système dispersif placé après l'échantillon puis capteur à barrette de diodes ne nécessitent pas de motorisation.

#### 1.4.3. Système porte échantillon

Classiquement on utilise des "cuvettes" à face optique parallèles, transparentes et déterminant un trajet optique de 1 cm. Le matériau de la cuve renfermant l'échantillon est fondamental :

- Les cuves à usage unique en polystyrène ne sont utilisables que dans le visible (figure 14a).
- Certains plastiques permettent la réalisation de cuves à usage unique utilisables dans l'UV plus ou moins lointain.
- Les cuves en verre, à nettoyer après usage, ne sont utilisables que dans le visible et sont généralement abandonnées au profit des cuves plastiques à usage unique. Mais il faut noter que le plastique est parfois incompatible avec certains solvants (figure 14b).
- Les cuves en quartz (coût élevé) permettent les mesures dans l'UV jusqu'à 200 nm et aussi le visible (figure 14c).



**Figure 14.** Différentes cuvettes. **a** : cuve en polystyrène, **b** : cuve en verre, **c** : cuve en quartz.

#### 1.4.4. Détecteurs

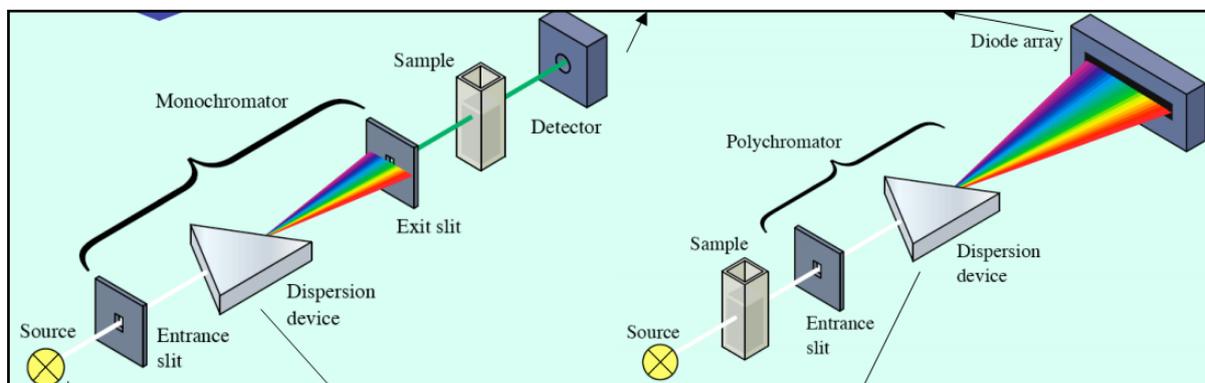
Le principe de base du détecteur est de transformer en courant électrique ou en tension le signal optique reçu. Il s'agit donc de compter les photons reçus par longueur d'onde en utilisant l'effet photoélectrique.

#### 1.4.5. Les spectrophotomètres à mono-faisceau

Il y a deux possibilités selon que l'on travaille en faisceau monochromatique ou non (figure 15).

Source lumineuse ==> Echantillon ==> Polychromateur ==> détecteur polychromatique

Source lumineuse ==> Monochromateur ==> Echantillon ==> détecteur



**Figure 15.** Spectrophotomètre à mono-faisceau. A droite : avec faisceau polychromatique, à gauche : avec faisceau monochromatique.

#### Notion de blanc

Lorsqu'une espèce chimique est solubilisée dans un solvant et placée dans une cellule de mesure, l'absorption mesurée correspond à trois absorptions différentes :

- l'absorption due à la cellule qui peut être en verre, en quartz ou en polymère ;
- l'absorption due au solvant ;

- l'absorption due à l'espèce chimique dissoute.

Les deux premières absorptions ne sont pas dues à l'espèce analysée. Il faut donc les retrancher. Pour ce faire, on mesure l'absorbance de la cellule avec du solvant et on soustrait l'absorbance ainsi obtenue (le blanc) à l'absorbance mesurée avec l'espèce que l'on veut étudier. Ceci est rendu possible par l'additivité des absorbance.

Il est nécessaire de faire un blanc lorsqu'on utilise un appareil monofaisceau.

#### 1.4.6. Les spectrophotomètres à double faisceau

Avec lesquels il n'est pas nécessaire de faire des blancs ou des lignes de bases. Un faisceau traverse le compartiment échantillon et le second le compartiment référence. La soustraction du blanc est faite automatiquement par le logiciel de traitement (figure 16).

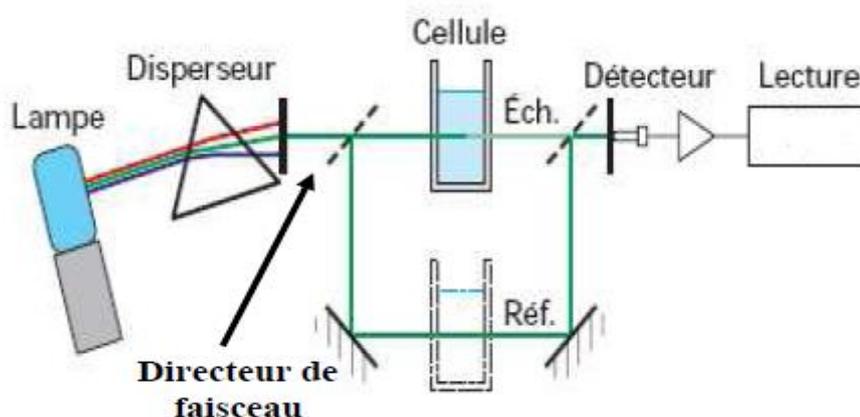


Figure 16. Spectrophotomètres à double faisceau.

### 1.5. Applications de la spectrométrie UV-VIS

#### 1.5.1. Application chimique

##### 1.5.1.1. Analyse quantitative (Identification de la concentration d'une substance inconnue)

La spectrophotométrie UV-VIS est utilisée pour mesurer la concentration d'un échantillon inconnu. Pour cela, il faut d'abord choisir sa propre bande d'absorption. L'exemple de spectre d'absorption de l'échantillon peut être disponible dans la littérature s'il a déjà été étudié.

Si non, une spectrophotométrie à double faisceau doit être effectuée pour savoir où sa bande d'absorption se situera. Une bande d'absorption appropriée est sélectionnée. En général, tous les composés organiques absorbent dans la plage du spectre UV-VIS et donc un certain nombre de composés biologiques peuvent être mesurés en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS.

Concentration inconnue d'acide nucléique et des protéines sont un bon exemple. Les acides nucléiques absorbent à 254 nm (ou 260 nm) et les protéines à 280 nm. L'absorption des acides nucléiques dépend des noyaux aromatiques des purines et des pyrimidines tandis que celle des protéines dépend du nombre d'acides aminés - contenu en tyrosine et le tryptophane et une partie de cette absorption est due au contenu en phénylalanine.

Comme l'absorbance est proportionnelle à la concentration, plusieurs spectres à longueur d'onde fixée ( $\lambda_{\max}$ ) peuvent être utilisés pour un dosage.

Deux techniques de dosages sont utilisées en spectrophotométrie :

- la méthode de la gamme d'étalonnage ;
- la méthode des ajouts dosés.

La méthode de la gamme d'étalonnage consiste à préparer des solutions dont la concentration encadre la solution de concentration inconnue. L'absorbance mesurée pour chacune de ces solutions permet d'établir un graphe où l'on trace  $A = f(C)$ . Il ne reste plus qu'à placer l'absorbance de la solution inconnue et l'on obtient la concentration inconnue.

La méthode des ajouts dosés consiste à ajouter plusieurs fois un même volume d'une solution de concentration connue à un volume donné de concentration inconnue. Un travail graphique ou mathématique se basant aussi sur la proportionnalité entre A et C permet de trouver la concentration inconnue.

#### *1.5.1.2. Analyse quantitative (identification d'une substance inconnue)*

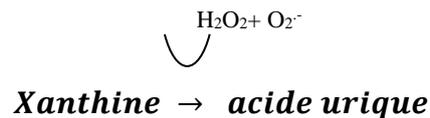
La spectrophotométrie UV-VIS peut être utilisée pour identifier les diverses classes de composés à la fois dans l'état pur et ainsi que dans des préparations biologiques. Ceci est fait en traçant les courbes du spectre d'absorption. Ces courbes représentent une classe spécifique de composés et la connaissance de ces courbes aideront dans l'identification de toute substance. Par exemple, les substances qui n'absorbent pas dans la gamme 220-280nm sont généralement des hydrocarbures aliphatiques ou de leurs dérivés. En outre, les systèmes complexes vont donner lieu à des courbes d'absorption avec plusieurs maxima et chacune d'entre elles auront une forme caractéristique et la gamme indiquant la présence d'un groupe fonctionnel particulier.

#### *1.5.1.3. Essais enzymatiques*

L'activité enzymatique peut être, facilement et rapidement, calculé lorsque le substrat ou le produit est coloré ou absorbe la lumière dans la gamme des UV. Dans ces cas, le taux

d'apparition ou de la disparition d'un produit ou d'un substrat absorbant la lumière peut être mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre.

**Exemple 1.** Nous prendrons l'exemple de l'enzyme xanthine oxydoréductase (XOR) pour comprendre comment est effectué un essai enzymatique ou comment l'activité enzymatique est mesurée. La XOR est une enzyme impliquée dans la dégradation de l'hypoxanthine et la xanthine en acide urique. La réaction est illustrée comme suit :



Les produits sont l'acide urique, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). L'un des produits, l'acide urique absorbe dans le domaine de l'UV à 295 nm. De même, ni le substrat, ni les autres produits n'absorbent à 295 nm. Par conséquent, la progression de la réaction peut être suivie en mesurant l'augmentation de l'absorption à 295 nm dans un spectrophotomètre.

**Exemple 2.** Lactate déshydrogénase est une enzyme impliquée dans le transfert d'électrons à de lactate vers NAD<sup>+</sup>. La réaction est illustrée comme suit :



Les produits sont pyruvate, NADH et un H<sup>+</sup>. L'un des produits, le NADH absorbe dans le domaine de l'ultraviolet à 340 nm tandis que le reste n'absorbe pas. Ainsi, la progression de la réaction peut être suivie en mesurant l'augmentation de l'absorption à 340 nm dans un spectrophotomètre.

## 1.5.2. Application structurale

### 1.5.2.1. Contrôle de purification

Il s'agit l'une des applications les plus importantes de spectrophotométrie UV-VIS. Les impuretés peuvent être détectées très facilement en testant si le composé ne montre pas son spectre d'absorption caractéristique. Exemple: Benzène impureté dans l'alcool absolu peut être détectée par cette méthode. Ceci peut être détecté en mesurant l'absorbance à 280 nm. Comme à 280 nm, le benzène va absorber, alors que l'alcool (210 nm) ne sera pas absorber.

### 1.5.2.2. Turbidimétrie

Toute particule ou même les bactéries rend la solution trouble. Cela est dû à l'effet Tyndall, qui est dû à la diffusion de la lumière par des particules colloïdales. Les particules de cette solution absorbent à une longueur d'onde particulière et ces particules dispersent la lumière incidente.

Si cela se produit, alors le rayonnement d'une longueur d'onde qui n'est pas absorbée par la solution est amené à passer à travers la suspension et l'absorption apparente sera uniquement en raison de la dispersion par les particules. Ainsi, la lumière transmise aura une intensité plus faible par rapport à celle de la lumière incidente. En conséquence, si l'intensité de la lumière transmise est mesurée, elle donnera une idée du nombre de particules dans la suspension. Cette technique est turbidimétrie. En utilisant cette technique, nous pouvons trouver un nombre approximatif de particules en suspension donnée.

## 2. Spectrométrie IR

Le domaine de l'infrarouge (figure 17) correspond à des longueurs d'onde comprises entre 770nm et 1mm, que l'on peut diviser en trois régions.

Région		Longueur d'onde $\lambda$ (m)/ nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )
IR proche	Near IR (NIR)	$0.78 \cdot 10^{-7}$ - $2.5 \cdot 10^{-6}$ / 12800-4000
IR moyen	Mid IR (MIR)	$2.5 \cdot 10^{-6}$ - $5 \cdot 10^{-5}$ / 4000-200
IR lointain	Far IR (FIR)	$5 \cdot 10^{-5}$ - $10^{-3}$ / 200-10

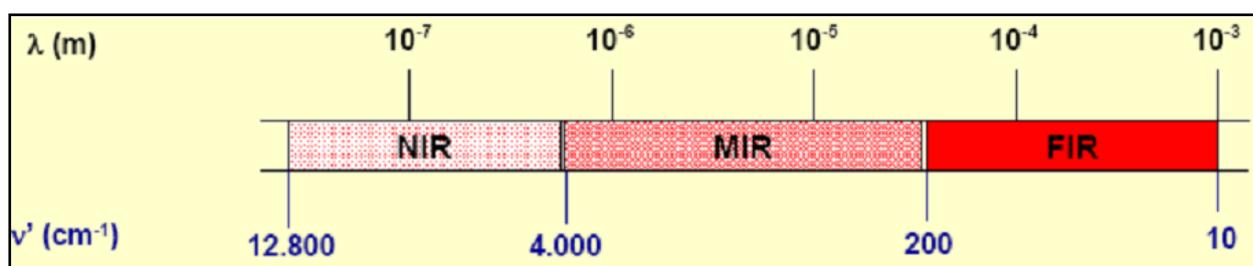


Figure 17. Le domaine d'infrarouge.

Comment s'assurer que le produit obtenu lors d'une réaction est bien celui attendu ? La spectrométrie IR est idéale pour confirmer la présence de groupements fonctionnels. Il s'agit d'une méthode de caractérisation rapide et sensible de la plupart des molécules existantes.

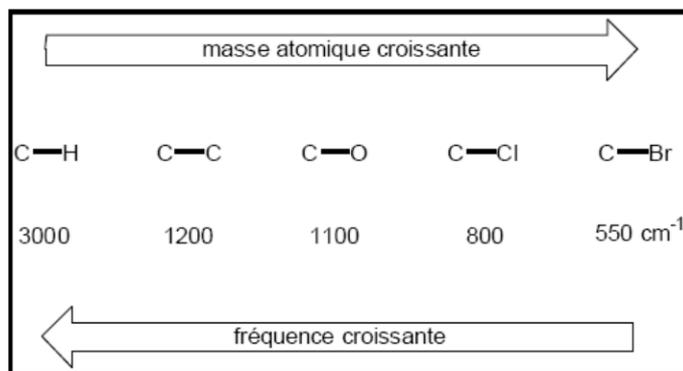
### 2.1. Principe

#### 2.1.1. Vibration moléculaire

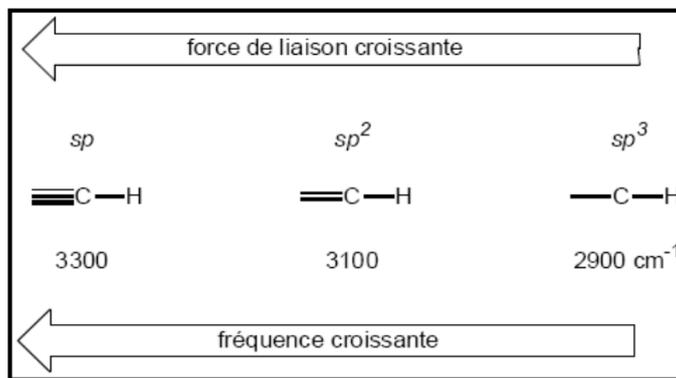
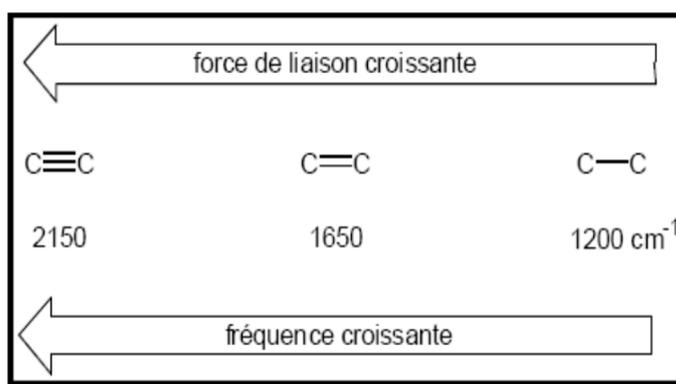
La molécule, assemblage non rigide d'atomes, ressemble à un système de balles (les atomes), liées les unes aux autres par des ressorts de constante de raideur plus ou moins grande (les liaisons) dont les vibrations apparaissent à des fréquences déterminées.

L'énergie du rayonnement IR est suffisante pour produire des changements dans l'énergie de vibration des molécules, mais elle ne peut provoquer des transitions électroniques. En effet, les atomes situés aux deux extrémités d'une liaison sont animés d'un mouvement de vibration l'un par rapport à l'autre, ils forment un dipôle électrique oscillant à cette même fréquence.

## 2.1.2. Effet de la masse des atomes



## 2.1.3. Effet de la force du lien



## 2.1.4. Modes de vibrations

Lorsqu'une molécule absorbe de l'énergie sous la forme d'un rayonnement IR, l'amplitude des vibrations des liaisons moléculaires augmente, le retour à l'état normal libère de la chaleur.

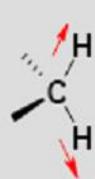
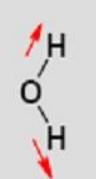
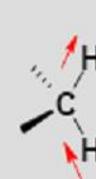
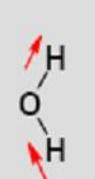
Plusieurs modes de vibrations sont possibles pour un groupe d'atomes donné. A chacun correspond une fréquence caractéristique.

Ces modes fondamentaux sont responsables des principales bandes d'absorption.

L'absorption du rayonnement IR par les composés organiques correspond à deux types principaux de vibrations :

#### 2.1.4.1. Vibration de valence ou d'élongation

Vibrations entre deux atomes donnés au cours desquelles la distance interatomique varie selon l'axe de la liaison (figure 18).

Vibrations de valence (stretching)			
Symétrique ( $\nu_s$ )		Asymétrique ( $\nu_{as}$ )	
			
$\nu_s = 2850 \text{ cm}^{-1}$	$\nu_s = 3652 \text{ cm}^{-1}$	$\nu_{as} = 2930 \text{ cm}^{-1}$	$\nu_{as} = 3756 \text{ cm}^{-1}$

**Figure 18.** Vibration de valence ou d'élongation. Dans la vibration symétrique, les deux atomes d'hydrogène se rapprochent et s'éloignent de l'atome central en concordance de phase. Dans la vibration asymétrique, les deux atomes d'hydrogène se rapprochent et s'éloignent de l'atome central en discordance de phase.

#### 2.1.4.2. Les vibrations de déformation angulaire

Vibrations au cours desquelles l'angle formé par deux liaisons contiguës varie. Lors de ce mouvement, la distance interatomique reste constante (figure 19).

Vibrations de déformation (bending)			
Dans le plan		Perpendiculaire au plan	
Cisaillement ( $\delta$ ) (scissoring)	Rotation plane ( $\rho$ ) (rocking)	Balancement ( $\varpi$ ) (wagging)	Torsion ( $\tau$ ) (twisting)
			
$\delta = 1596 \text{ cm}^{-1}$	$\rho = \text{variable}$	$\varpi = \text{variable}$	$\tau = 3756 \text{ cm}^{-1}$

**Figure 19.** Vibration de déformation. **Cisaillement** : modification de l'angle de liaison, **rotation plan** : pas de modification de l'angle de liaison, **balancement** : déplacement simultané des deux atomes hors du plan, **torsion** : déplacement simultané des deux atomes de chaque côté du plan.

## 2.2. Allure d'un spectre IR

En abscisse, on porte le nombre d'onde exprimé en  $\text{cm}^{-1}$ . La fenêtre spectrale utilisée par les appareils du commerce s'étend de 400 à  $4000\text{cm}^{-1}$ .

En ordonnée, on porte généralement la transmittance  $T$ , parfois l'absorbance  $A$ . L'infrarouge est rarement utilisé de façon quantitative (figure 20).

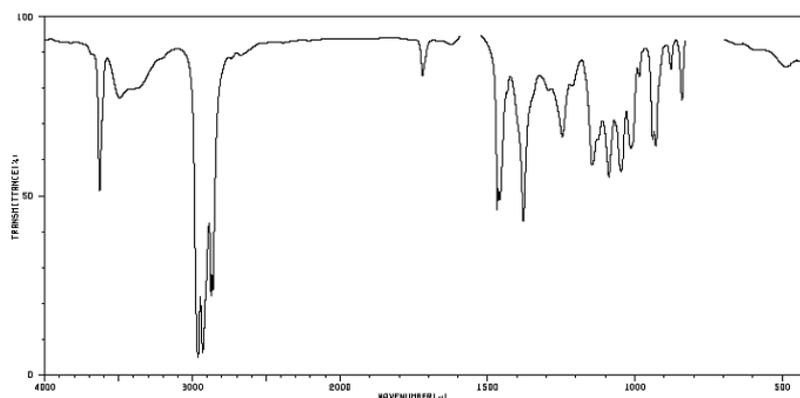


Figure 20. Spectre IR de l'hexan-2-ol (en solution dans  $\text{CCl}_4$ ).

## 2.3. Instrumentation

### 2.3.1. Source

Dans le **moyen IR**, les sources les plus utilisées sont :

- ✓ Filament de Globar : c'est une baguette de carbure de silicium  $\text{SiC}$ , diamètre de 5 à 7 mm, longueur de 4 à 7 cm. Il fonctionne à des températures de l'ordre de  $1300\text{ }^\circ\text{C}$  et rayonne un spectre continu entre  $10000$  et  $250\text{ cm}^{-1}$  avec une émission maximale à  $5300\text{ cm}^{-1}$ .
- ✓ Filament de Nichrome : c'est un fil résistant bobiné sur une plaque réfractaire et isolante dont l'émission infrarouge entre  $2$  et  $15\text{ }\mu\text{m}$  est suffisante pour les spectromètres de routine. Enroulé en spirale et chauffé électriquement, il fournit une source de vie plus longue qu'un Globar ou un filament de Nernst, mais aussi d'énergie radiante plus faible.

Dans le **domaine du proche IR**, les lampes les plus utilisées sont en quartz-tungstène-halogène (QTH) (gamme spectrale :  $250$ - $2500\text{ nm}$ , soit  $40000$ - $4000\text{ cm}^{-1}$ ).

Dans le **domaine du lointain IR**, classiquement, la source est une lampe à vapeur de mercure (limite :  $10\text{ cm}^{-1}$ ). La limite de  $10\text{ cm}^{-1}$  pour un spectromètre à source classique n'est réalisable qu'avec des échantillons de l'ordre de  $1\text{ cm}^2$  de surface.

### 2.3.2. Analyseurs

Destinés à extraire l'information  $A = f(\nu)$

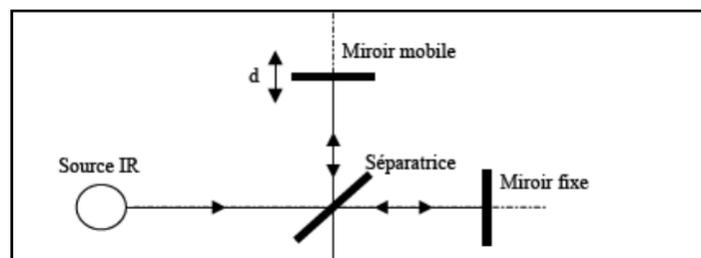
#### 2.3.2.1. Système dispersif (monochromateur)

Un monochromateur est constitué d'une fente d'entrée, suivi d'un miroir afin d'assurer que la lumière est parallèle, un réseau de diffraction, un miroir de focalisation, qui dirige le rayonnement dispersé à la fente de sortie, et sur un détecteur.

#### 2.3.2.2. Interféromètres de Michelson

Elles (figure 21) constituent de :

- ✓ Séparatrice : formée d'un film Ge déposé sur une lame de KBr, réfléchit et transmet 50% du flux incident.
- ✓ Deux miroirs plans perpendiculaires, un mobile et un fixe.



**Figure 21.** Interféromètres de Michelson.

### 2.3.3. Détecteur

Les spectromètres IR utilisent des détecteurs à élément unique, que ce soit thermique ou quantique.

#### 2.3.3.1. Détecteur thermique

Tel que DTGS (Deuterated TriGlycide Sulfate) ou DLaTGS, parfois appelés DLTGS, (deuterated L-alanine-doped triglycine sulfate) ou le moins sensible tantalate de lithium ( $\text{LiTiO}_3$ ), détecteur relativement peu coûteux.

- ✓ Sensibles à la chaleur dégagée par l'absorption de photons sur une cible noircie.
- ✓ Pyroélectrique.
- ✓ Température ambiante.
- ✓ Modérément sensible et rapide.

#### 2.3.3.2. Détecteur quantique

Tel que MCT (Mercury Cadmium Telluride) ou In-Sb (indium antimonide)

- ✓ Sensibles directement aux photons.
- ✓ Effet photovoltaïque.
- ✓ Température de l'azote liquide.
- ✓ Très rapide.

#### **2.3.4. Préparation des échantillons**

On peut enregistrer le spectre d'un corps à l'état gazeux, liquide, solide ou en solution.

- ✓ Si le corps est à l'état gazeux, on utilise des cellules spéciales, jamais en verre car le verre est opaque aux radiations IR.
- ✓ Si le corps est à l'état liquide, un film est déposé entre deux pastilles de KBr ou de NaCl.
- ✓ Si le corps est solide, il est broyé avec du bromure de potassium KBr et comprimé en pastille par une presse hydraulique. Il peut aussi être étudié en suspension dans le nujol (mélange d'hydrocarbures paraffiniques de grandes masses molaires).
- ✓ Les solvants utilisés pour les solutions doivent très peu absorber dans l'IR. On utilise en général :  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CHCl}_3$ .

Les deux catégories majeures de spectromètre IR utilisés aujourd'hui sont ceux basés sur des spectromètres dispersifs ou la transformée de Fourier(FT). Leurs différences résident essentiellement dans le système de sélecteurs de longueurs d'onde.

#### **2.4. Applications**

L'utilisation de cette technique s'est largement répandue dans un grand nombre d'industries donnant lieu à des applications analytiques très diverses :

- ✓ industrie agro –alimentaire ;
- ✓ industrie pharmaceutique ;
- ✓ domaines des matériaux (polymères,...) ;
- ✓ industrie pétrolière, industrie textile,...