

La spectroscopie.

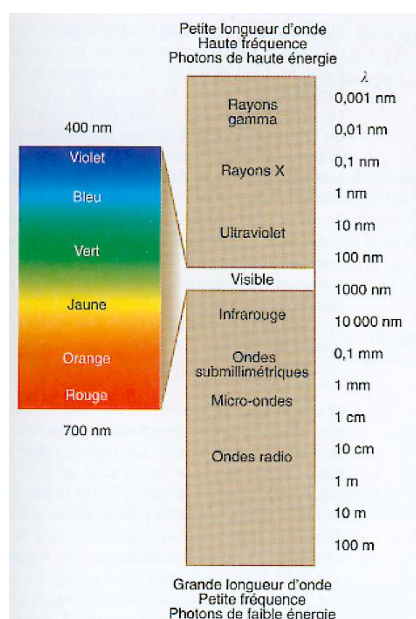
## 4.1. Généralités sur la spectroscopie

### Introduction

Dans ce cours, nous allons étudier les différentes interactions qui peuvent exister entre la matière et un rayonnement électromagnétique. Plus spécifiquement, nous allons voir comme il est possible d'interpréter les résultats de cette interaction pour en déduire des informations quant à la structure atomique et moléculaire de la matière irradiée et/ou pour doser cette matière. Nous allons également aborder une technique qui repose sur un principe physique différent, mais qui permet également d'identifier la structure de la matière et de la quantifier : la spectrométrie de masse.

### Rayonnement électromagnétique

Le **rayonnement électromagnétique**, dont la **lumière** est un exemple, est une forme d'énergie constituée d'ondes, c'est-à-dire de **phénomènes vibratoires caractérisés par** : une **vitesse de propagation** (en l'occurrence  $c = 3.10^8 \text{ m.s}^{-1}$ , constante pour toutes les ondes électromagnétiques dans le vide), **une fréquence  $\nu$**  (nombre de vibrations par seconde) et une **longueur d'onde  $\lambda$**  (distance parcourue pendant une vibration). Ces 3 longueurs sont **liées par la relation  $\lambda = c / \nu$** . Bien qu'il y ait une continuité totale dans les valeurs possibles de longueur d'onde (ou de fréquence), on distingue (arbitrairement) sur cette base des **domaines particuliers du rayonnement électromagnétique**, comme indiqué sur la figure 4.1. Il est bon de rappeler également que **l'énergie d'un rayonnement électromagnétique est relié à sa fréquence** par la relation  **$E = h\nu$** .



**Figure 4.1. : Domaines particuliers du rayonnement électromagnétique** : A noter que l'échelle des longueur d'onde utilisée sur ce schéma est logarithmique, chaque intervalle correspondant à un facteur de 10, et non à une variation de 10 unités. Il est également intéressant de voir que le domaine du visible, le seul auquel notre œil est sensible, est extrêmement étroit et est limité entre 400 et 700 nm. A l'intérieur de cet intervalle, la longueur d'onde détermine la couleur perçue.

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

- Des  $\gamma$  et des RX, le rayonnement est extrêmement énergétique et il va pouvoir affecter les électrons des orbitales atomiques de cœur. Ces Interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie  $\gamma$  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'infra rouge (IR) le rayonnement est faiblement énergétique et ne peut affecter principalement que les modes de vibration des molécules. Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie IR et la spectroscopie Raman.
- Des micro-ondes, finalement, le rayonnement est très faiblement énergétique et ne peut affecter que les modes de rotation des molécules. Ces interactions sont utilisées notamment dans la spectroscopie micro-onde.

Dans le cadre de ce cours, nous écarterons les deux domaines extrêmes pour ne nous attarder que sur l'UV-vis. et l'IR.

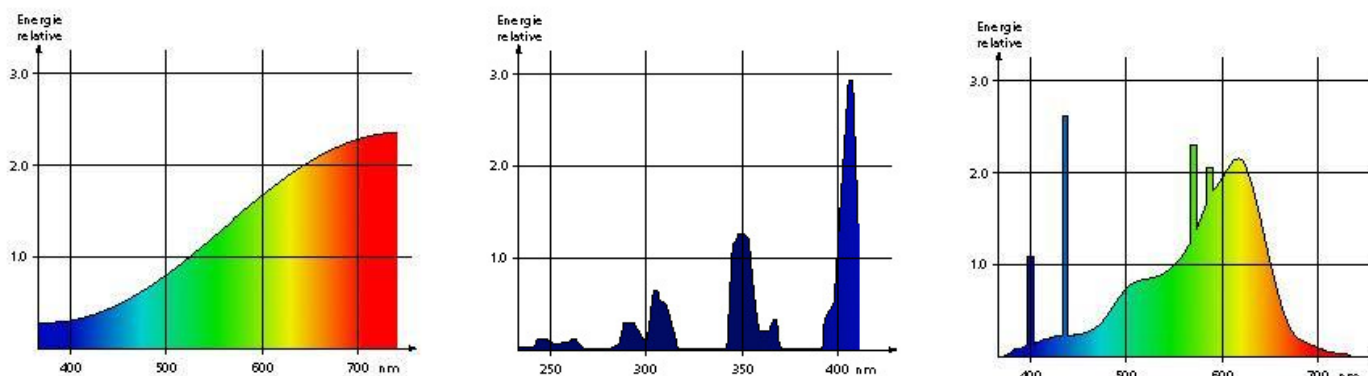
### **Spectre, spectroscopie et spectrométrie**

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

Quoiqu'il en soit, il nous reste à définir le spectre. Il s'agit de la distribution en énergie, puissance, intensité, absorbance, transmission, etc (signal en général) en fonction de la longueur d'onde ou de la fréquence. On distingue 3 types de spectres :

- Les spectres continus, pour lesquels il existe un « signal » pour chaque longueur d'onde (ou fréquence). Ex. Gauche de la figure XXXXXX

- Les spectres discontinus, ou spectres de raies, ou encore spectres discrets, qui ne disposent d'un signal que pour certaines fréquences (longueurs d'onde) spécifiques, caractéristique de la matière irradiante ou irradiée. Ex. Milieu de la figure XXXXX
- Les spectres combinés qui sont constitués d'une superposition d'un spectre continu et d'un spectre discret. Ex. Droite de la figure xxxxxxx.



## Émission et absorption

Il peut se produire des **échanges énergétiques entre la matière et un rayonnement dans deux sens** :

- **Émission** : dans certaines conditions, la matière peut émettre du rayonnement. C'est le cas, par exemple, de toutes les sources lumineuses : soleil, ampoule à incandescence, flammes, tubes « fluos », vers luisants, etc.
- **Absorption** : l'énergie d'un rayonnement peut être absorbée par la matière. L'échauffement d'un objet au soleil, l'absorption des rayons X par les parties denses de notre corps, le phénomène de la couleur,... en sont autant d'exemples. Cette absorption peut avoir des effets chimiques en déclenchant des réactions chimiques.

(Illustration en classe)

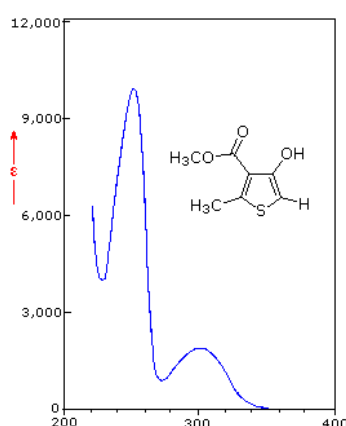
## 4.2. Spectroscopie UV – Vis

### Aspect théorique

Ce type de spectroscopie repose principalement, pour les molécules organiques, sur des interactions entre les rayonnements électromagnétiques et les électrons des orbitales moléculaires, et plus spécifiquement des électrons  $\pi$  et des paires libres. On appelle alors « chromophore » les groupes fonctionnels insaturés porteurs de tels électrons.

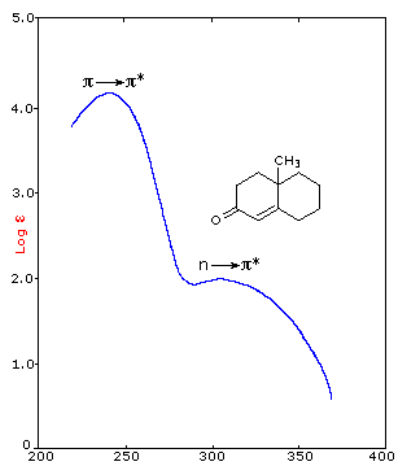
C'est une spectroscopie basée sur l'absorption du rayonnement électromagnétique et les spectres UV-vis seront en général représentés en Absorbance en fonction de la longueur d'onde ( $A$  vs  $\lambda$ ).

Dans la majeure partie des cas, les spectres UV-visibles sont continus et constitués de bandes larges (exception faite des spectres de lanthanides et actinides) qui correspondent à la superposition de transitions électroniques (fortement énergétiques), vibrationnelles (faiblement énergétiques) et de transitions rotationnelles (très faiblement énergétiques). Ces spectres présentent un ou plusieurs maximum(s) d'absorbance, auquel correspond une longueur d'onde notée  $\lambda_{\max}$ , qui sera, dans le cas des molécules organiques, plus ou moins caractéristique d'un certain motif de délocalisation des électrons.



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

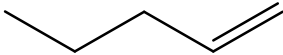

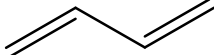
En effet, l'absorbance UV-vis, dans certaines conditions, est fonction de la concentration suivant la loi de Beer-Lambert :  $A = \epsilon l C$  (où  $\epsilon$  est le coefficient d'extinction à une longueur d'onde donnée, pour une famille de composés donnée ;  $l$  est le trajet optique et  $C$  est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



Qu'est-ce qui, dans la structure d'une molécule organique, va influencer la valeur de  $\lambda_{\max}$  ?

### Influence de la délocalisation

Supposons les molécules suivantes à concentrations égales dans une solution :

Molécule			
Types de liaisons	1 C=C	2 C=C non conjuguées	2 C=C conjuguées
$\varepsilon$ ( $l\text{ cm}^{-1}\text{ mol}^{-1}$ )	10 000	20 000	21 000
$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	184	185	217

On peut constater que la délocalisation a deux effets :

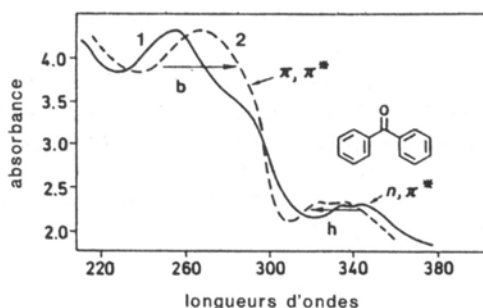
- Effet hyperchromique : Alors que pour des liaisons non conjuguées, la valeur du coefficient d'extinction est simplement proportionnel au nombre de liaisons doubles, pour des liaisons conjuguées, on observe une augmentation importante d' $\varepsilon$ .
- Effet bathochromique (red shift) : La délocalisation déplace le maximum d'absorbance vers des longueurs d'onde plus élevées.

En résumé, plus la délocalisation sera importante, plus  $\varepsilon$  et  $\lambda_{\text{max}}$  seront importants.

**(Illustration en classe)**

### Influence du solvant

L'augmentation de la polarité du solvant s'accompagne, en général, d'un effet bathochromique pour les transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  et d'un effet hypsochromique (blue shift = déplacement vers des longueurs d'ondes plus faibles) pour les transitions  $n \rightarrow \pi^*$ .



### Influence des auxochromes

Un auxochrome est un substituant présent sur le chromophore, qui n'absorbe pas, lui-même, à une longueur d'onde supérieure à 200 nm, mais qui modifie tout de même le spectre d'absorption. Ce type de groupement possède en général une paire libre d'électrons qui va pouvoir se délocaliser sur l'ensemble des doubles liaisons conjuguées et avoir un effet bathochromique et parfois, hyperchromique. Si on prend l'exemple du thiophénol, par rapport au benzène, on observe des effets bathochromique et hyperchromiques importants, alors que le groupement  $-\text{SH}$ , en lui-même, n'absorbe pas à une longueur d'onde supérieure à 200 nm. Notons également que c'est la présence d'un ou plusieurs auxochromes qui

explique la variation de couleur des indicateurs pH en fonction de ce dernier (comme on peut le voir dans une moindre mesure avec les exemples du phénol et de l'aniline).

<b>Molécule</b>	<b><math>\lambda_{\max}</math> (nm)</b>	<b><math>\varepsilon_{\max}</math> (<math>l\ mol^{-1}\ cm^{-1}</math>)</b>
Benzène	204	7 900
Thiophénol	236	10 000
Phénol	211	-
Phénolate	235	-
Aniline	230	-
Ion anilinium	203	-

### **Règles de Woodward-Fieser**

L'analyse structurale à partir des spectres électroniques est assez aléatoire, dans la mesure où leur relative simplicité a pour corollaire un faible apport d'informations. Dans les années 40, cependant, avant l'arrivée des techniques plus puissantes d'identification dont nous disposons à présent, la spectrométrie UV-Vis a été utilisée à cette fin. L'étude des spectres d'un grand nombre de molécules a permis d'établir des corrélations entre structures et maxima d'absorption. Les plus connues sont les règles empiriques dues à Woodward, Fieser et Scott, qui concernent les diènes et composés carbonylés insaturés. A partir de tableaux rassemblant, sous forme d'incrément, les divers facteurs et particularités de structure à prendre en compte, on peut prévoir la position de bandes d'absorption  $\pi \rightarrow \pi^*$  de ces systèmes conjugués particuliers.

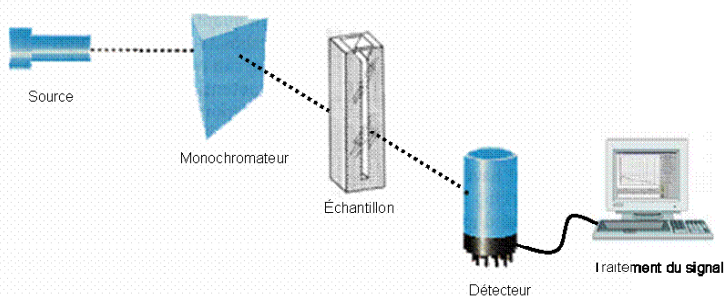
**(Tables + exercices en classe)**

### **Aspect pratique**

#### Composition d'un spectromètre d'absorption moléculaire

##### **Schéma général**

Le schéma général d'un spectromètre d'absorption moléculaire (figure 4.41) reprend globalement les mêmes éléments qu'un spectromètre d'absorption atomique, si ce n'est que la **sélection de la longueur d'onde se fait ici en amont de l'échantillon**.



**Figure 4.41. : Schéma général d'un spectromètre d'absorption moléculaire** : Une source de rayonnement (ici, une lampe), un monochromateur (ici, un prisme), un échantillon (ici, une solution dans une cuvette), un détecteur (ici, une photodiode) et un système de traitement du signal (ici, un ordinateur).

### Sources

Pour la spectroscopie d'absorption UV-Vis, on utilise des sources fournissant un **spectre continu aussi intense que possible**.

Lampes à hydrogène ou à deutérium : On obtient un spectre continu dans l'UV par **décharge électrique dans le gaz à basse pression**. La décharge produit une molécule excitée d'énergie quantifiée  $E_{H_2}$  qui se dissocie en deux atomes animés d'énergie cinétique  $E_{CH1}$  et  $E_{CH2}$ . Le phénomène est accompagné de l'émission d'un photon  $h\nu$  dans l'UV. On a donc  $E_{H_2} = E_{CH1} + E_{CH2} + h\nu$ . Comme la somme des énergies cinétiques peut varier de 0 à  $E_{H_2}$  et ce, de manière continue, l'énergie des photons varie aussi de façon continue. On obtient ainsi, en pratique, une **source continue utilisable entre 160 et 375 nm**. En conséquence, les fenêtres du tube à décharge doivent être constituées de **quartz, transparent dans cette zone**. On peut provoquer l'excitation de différentes façons :

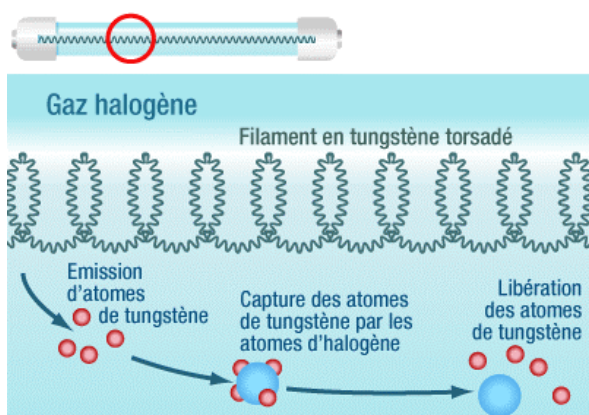
- Soit par **décharge entre deux électrodes** d'aluminium entre lesquelles une différence de potentiel de 2000 à 6000 V est appliquée ; un refroidissement par eau est requis aux puissances élevées.
- Soit par **formation d'un arc** entre un filament recouvert d'oxyde et chauffé par effet Joule, et une électrode métallique placée à un potentiel de +40 V, par exemple, par rapport au filament.

Un choix judicieux de la forme des électrodes permet d'obtenir une source de rayonnement UV de forme sphérique et de diamètre de 1 à 1,5 mm. L'emploi de  $D_2$  permet d'obtenir des sources lumineuses de volume quelque peu plus élevé.

Lampes à filament de tungstène : C'est certainement la source la plus utilisée dans le visible et l'IR. La **distribution énergétique est grosso modo, celle d'un corps noir** (que vous avez peut-être étudié dans votre cours de physique). Rappelons-en les caractéristiques : le **maximum d'émission se fait à une longueur d'onde qui varie par l'inverse de la température / l'énergie totale émise par unité de temps et de surface de l'émetteur est proportionnelle à la quatrième puissance du voltage appliqué / à une température donnée, l'énergie émise  $\Delta E$  dans la tranche donnée de longueur d'onde  $\Delta\lambda$  au-delà du maximum varie proportionnellement à  $1/\lambda^5$** . La température normale d'un filament de tungstène est de 2870 K. A cette température, la plus grande partie de l'énergie est émise dans l'IR. Cette source est utile pour la **zone comprise entre 320 et 2500 nm**. Comme, dans le visible, l'énergie émise par la lampe à filament de tungstène varie comme la quatrième puissance du voltage appliqué, une régulation rigoureuse du générateur s'impose (régulation



électronique ou, plus simplement, batterie). Notons finalement qu'à présent, il n'est pratiquement plus fait usage que de lampes dites « halogènes ». Ces dernières nécessitent une température élevée pour bien fonctionner, l'enveloppe de ces lampes est donc constituée de quartz, ou de verre spécial, plus résistants. **La présence de l'halogène permet d'augmenter la durée de vie de la lampe** en s'additionnant au tungstène sublimé, dans la partie « froide » de l'ampoule, pour le redéposer dans la partie chaude, c'est-à-dire sur le filament lui-même (figure 4.42). Cela dit, le filament n'a pas pour autant une durée de vie infinie, les atomes se redéposant rarement là d'où ils sont partis, des zones fragilisées se créent donc au cours du temps.



**Figure 4.41. : Schéma de fonctionnement d'une lampe « halogène »** : Lorsqu'il est porté à incandescence, des atomes de tungstène se libèrent du filament. Arrivés à la paroi de l'ampoule, plus froide, ces atomes sont « capturés » par les atomes d'halogène, qui circulent dans l'ampoule. Quand cet assemblage arrive à nouveau à proximité du filament, il se casse et libère les atomes de tungstène qui se redéposent sur le filament.

Lampe à arc au xénon : L'émission est produite par **décharge dans le gaz**. Le spectre est **continu entre 250 et 600 nm** avec un maximum à 500 nm. On peut obtenir des intensités très élevées. Dans certains cas, la décharge est intermittente grâce à l'interposition d'une capacité.

### Monochromateurs

Cfr. spectromètre d'émission atomique.

### Échantillons

Le plus fréquemment, il s'agit de **substances en solution**. En général, on utilise des récipients (cellules) d'**épaisseur fixe et calibrée**. En effet, pour les travaux quantitatifs, la longueur de trajet à travers la cellule ( $l$ ) doit être connue avec précision ( $10,00 \pm 0,01$  mm) pour **pouvoir déterminer des concentrations via la loi de Beer-Lambert**. Des cellules de 0,5 à 50 mm de trajet optique sont d'utilisation courante. On utilise aussi des cellules d'épaisseur variable à vis micrométrique.

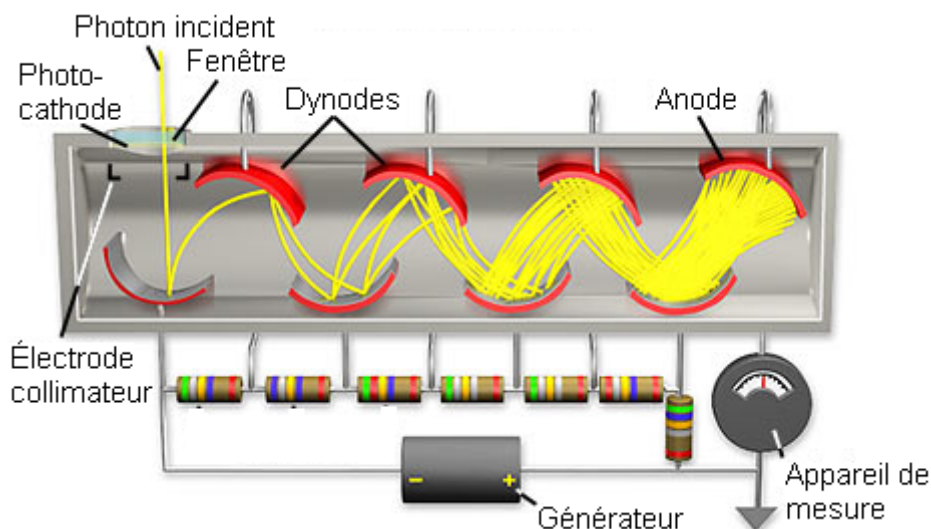
En tout état de cause, comme les faces du monochromateur, les cellules doivent être faites d'un **matériau transparent à la longueur d'onde à utiliser** (UV = quartz, visible = verre ou plastic). Leurs faces doivent être optiquement planes.

Dans le même ordre d'idée, deux critères importants sont à considérer lorsqu'on choisi le **solvant de l'échantillon** :

- **Transparence** : dans le domaine spectral intéressant pour l'absorption du soluté.
- **Interactions éventuelles solvant-soluté** : un solvant polaire, comme l'eau, les alcools, etc. peut modifier fortement le spectre d'absorption d'un soluté par **effets bathochromique et hypsochromique**, comme nous l'avons vu. En général, une substance dissoute dans l'hexane donne un spectre se rapprochant plus de celui de la vapeur (structure fine) que le spectre obtenu dans un solvant polaire. D'autre part la **variation du pH** des solutions aqueuses ou hydroalcooliques peut conduire à l'apparition d'**espèces ioniques ou moléculaires distinctes dont le spectre d'absorption est différent**. C'est le cas notamment des indicateurs colorés dont la forme acide HIn et basique In<sup>-</sup> ont des couleurs différentes. En fait, la proportion de chacune des formes en fonction du pH, peut être déterminée par mesure de l'absorbance au maximum de chaque bande caractéristique et débouche sur la valeur de pK de l'indicateur.

### **Détecteurs**

Photomultiplicateur : Outre les détecteurs de type photodiode ou CCD, que nous avons déjà décrits précédemment, les spectromètres d'absorption moléculaire utilisent souvent des photomultiplicateurs. Ce dernier joint à **l'émission électronique de la photocathode**, sous l'impact d'un photon, un **processus d'amplification par une émission d'électrons secondaires par des dynodes successives** placées à des potentiels positifs de l'ordre de 100 V l'une par rapport à l'autre. Ces dynodes, ou anodes secondaires, sont recouvertes d'un dépôt de nature voisine à celle de la photocathode, mais mieux adapté à l'émission secondaire d'électrons sous l'impact d'électrons incidents. Chaque photoélectron expulsé de la photocathode est accéléré et focalisé sur la dynode d<sub>1</sub> et de celle-ci, s'en expulsent en moyenne 2 à 6 électrons qui viennent frapper d<sub>2</sub> et ainsi de suite. Après la dernière dynode, les électrons sont collectés sur l'anode. Un photomultiplicateur de 9 dynodes fournit une amplification supérieure à 10<sup>6</sup> par rapport au courant photocathodique.



**Figure 4.42. : Schéma de la coupe d'un photomultiplicateur** : Un photon incident éjecte un électron de la photocathode. L'électron est ensuite dirigé vers la première dynode par une électrode collimatrice. La dynode étant à un potentiel positif de 100 V, l'électron est accéléré et son impact produit l'éjection de 2 (ou plus) électrons. Ce processus se répétant à chaque dynode, le signal s'en trouve amplifié.

Les photomultiplicateurs présentent **plusieurs avantages**, principalement lorsque les signaux étudiés sont faibles :

- **Excellente linéarité.**
- Remarquable **stabilité de réponse**, si la tension appliquée entre les dynodes est bien reproductible.
- **Temps de réponse rapide** :  $10^{-8}$  s.

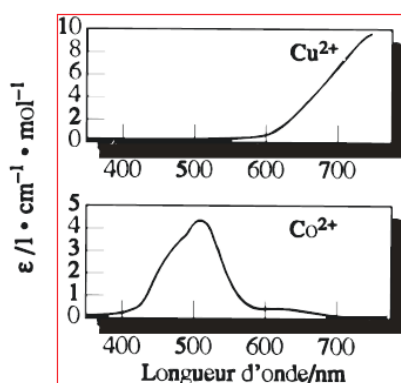
Les trois **caractéristiques fondamentales** de chaque photomultiplicateur sont :

- **Courbe de sensibilité spectrale**, dépendant du matériau recouvrant la photocathode et la nature de l'enveloppe.
- **Sensibilité lumineuse de la photocathode** ( $\mu\text{A.lumen}^{-1}$ ), dépendant du rendement quantique (nombre d'électrons émis / nombre de photons absorbés).
- **Le courant d'obscurité**, qui est le courant anodique du détecteur maintenu dans l'obscurité. Il s'agit d'un courant parasite fonction de la nature de la photocathode, de la tension appliquée aux dynodes et de la température. C'est un courant continu dû à l'émission, par la photocathode et les dynodes, d'électrons induits thermiquement. C'est ce courant qui limite la sensibilité des tubes. Outre l'abaissement de la température, la discrimination en énergie du courant noir et du signal utile constitue un des moyens possibles pour améliorer la sensibilité.

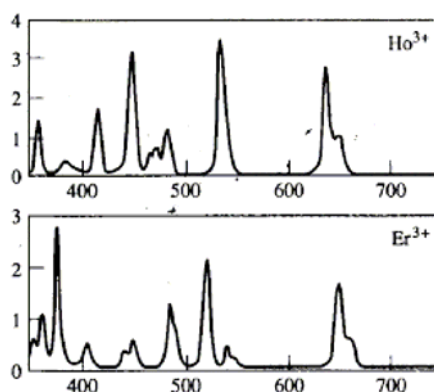
## Champs d'application de la spectroscopie UV-vis.

- Analyse quantitative de substances simples absorbantes (dosage directe) :

- Composés organiques insaturés ( $e^- \pi$  et  $n$ )
  - Composés aromatiques dans l'eau (tyrosine, acide benzoïque, etc.)
  - Composés polyéniques naturels (vitamine A, carotène, etc.)
  - Composés contenant des chromophores conjugués tels que  $C=O$  et  $C=N$  (chlorophylle, hémoglobine, stérols, etc.)
  - Dérivés aromatiques substitués (polluants tels que la dioxine, pesticides tel que DDT, etc.)
- Les métaux de transition ( $e^-$  O.A. d)



- Les lanthanides et les actinides



- Certains composé inorganiques, dont des complexes.
- Analyse quantitative de substances simples non absorbantes (dosage indirecte) :
  - Formation d'un complexe coloré (ex. : dosage du  $\text{Fe}^{2+}$  avec l'orthophénantroline).
  - Réaction transformant la substance à doser en une substance « colorée » (ex. oxydation de  $\text{Mn}^{2+}$  en  $\text{MnO}_4^-$  pour le dosage du manganèse dans le ciment).
- Analyse quantitative de mélanges (ex. Dosage simultané du chrome et du manganèse dans un alliage, cfr. chimie analytique 2BBM)

- Détermination de constantes de formation de complexes, de constantes de dissociations d'acides, etc.
- Titration photométrique.

### Analyse quantitative

La spectrophotométrie présente de nombreux avantages dans le cadre des dosages :

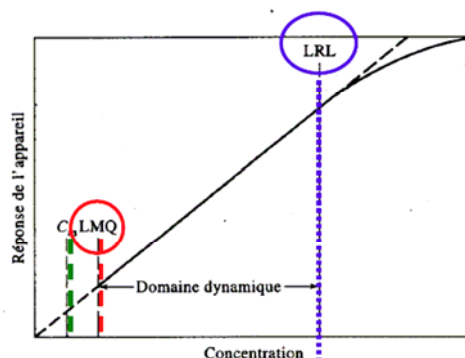
- Bonne précision (de l'ordre de 0,2 à 0,5 % relatif).
- Bonne sensibilité (typiquement de  $10^{-4}$  à  $10^{-5}$  M et jusqu'à  $10^{-7}$  M dans les cas les plus favorables).
- Moyenne à grande sélectivité (en choisissant judicieusement la longueur d'onde à laquelle on effectue l'analyse).
- Facilité de mise en œuvre et coût réduit.
- Large domaine d'application

Rien d'étonnant dès lors que l'utilisation de l'UV-vis comme moyen de dosage représente 95 % des analyses quantitatives dans le domaine de la santé.

### Bases de l'analyse quantitative

L'analyse quantitative par spectrophotométrie UV-vis repose sur le respect de la loi de Beer-Lambert. Il est dès lors important de se rendre compte que cette loi n'est valable que sous certaines conditions :

- Le faisceau lumineux source doit être bien monochromatique (puisque le coefficient d'extinction est fonction de la longueur d'onde).
- La concentration doit se situer dans le domaine dynamique (c'est-à-dire qu'elle doit se situer au-delà de la limite de mesure quantitative et rester dans le domaine de réponse linéaire. **LRL: limite du domaine de réponse linéaire**



LMQ: Limite de mesure quantitative

$LMQ = 10 \times S_{\text{blanc}}$

$C_m$ : Limite de détection  $C_m = 3 \times S_{\text{blanc}}$

- La solution doit être suffisamment diluée ( $C^\circ < 10^{-2}M$ ), sinon l'influence des molécules les unes sur les autres provoque une modification du spectre.

Il convient également de se rappeler à tout moment que l'absorbance est influencée par plusieurs paramètres, tels que :

- La nature du solvant (ex. : effet bathochromique et hypsochromique en fonction de la polarité).
- De la température.
- Du pH (ex. : phénol-phénolate)
- De substances interférentes.

La plupart de ces observations résultent du fait que le coefficient d'extinction est fonction de :

- La structure de la substance absorbante (cfr. exercices sur Woodward-Fieser)
- Le solvant
- La longueur d'onde du rayonnement incident
- L'intensité de la transition électronique

### Méthodes d'analyse spectrophotométrique

Il existe plusieurs procédés pour déterminer une concentration par dosage UV-vis.

Méthode de l'étalon externe : On compare l'absorbance ( $A_s$ ) d'une solution de concentration connue ( $C_s$ ) à l'absorbance ( $A_x$ ) d'une solution de concentration inconnue ( $C_x$ ). La loi de

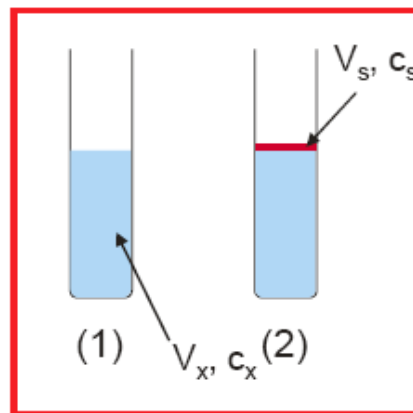
Beer-Lambert indique que :  $A_s = \epsilon l C_s$  et  $A_x = \epsilon l C_x$  d'où  $\frac{A_x}{A_s} = \frac{\epsilon l C_x}{\epsilon l C_s} \Leftrightarrow C_x = \frac{A_x C_s}{A_s}$

Méthode de l'étalon interne (ou méthode de l'ajout dosé) :

Le principe consiste à mesurer l'absorbance  $A_x$  de la solution de concentration  $C_x$  inconnue et de volume  $V_x$ . Dans un second temps, on ajoute un volume  $\Delta v$  (faible par rapport à  $V_x$ ) d'une solution standard de concentration  $C_s$ . L'absorbance  $A_{xs}$  est alors mesurée. On a alors que

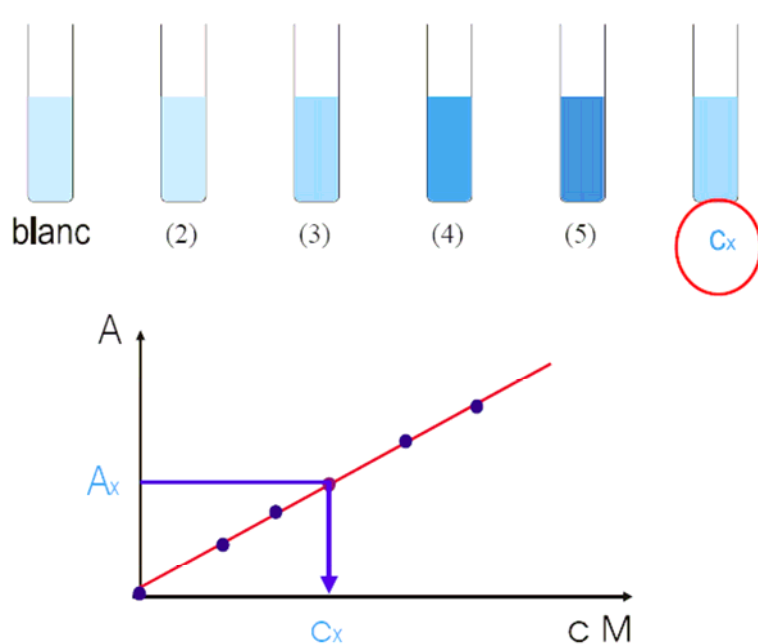
$$C_x = \frac{A_x C_s \Delta v}{A_{xs}(V_x + \Delta v) - A_x V_x}$$

Cette méthode présente l'avantage de tenir compte des effets de matrice. Par



contre, elle est relativement lente, puisqu'elle nécessite un ajout par échantillon. A noter que cette méthode, comme celle de l'étalon externe, supposent que la loi de Beer-Lambert est bien respectée, ce qui n'est pas toujours le cas (notamment pour les solutions concentrées).

Méthode de la droite d'étalonnage : Consiste à mesurer l'absorbance de différentes solutions contenant des quantités connues et croissantes de l'élément à doser. On trace ensuite la droite  $A=f(C^\circ)$ . On détermine, finalement, l'absorbance de la solution inconnue, puis on reporte cette valeur sur la droite d'étalonnage pour en déduire la concentration.

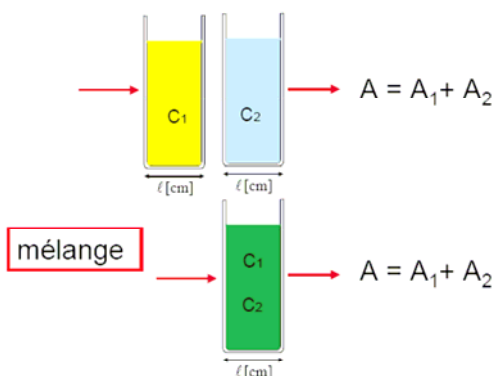


#### Cas des mélanges et additivité des absorbances

Pour une longueur d'onde donnée, l'absorbance d'un mélange est égale à la somme des absorbances de chaque composant.

Composé:  $C_1$   $C_2$   $C_3$   $C_n$   
 Absorbance:  $A_1$   $A_2$   $A_3$   $A_n$   
 Loi de Beer Lambert pour mélanges:

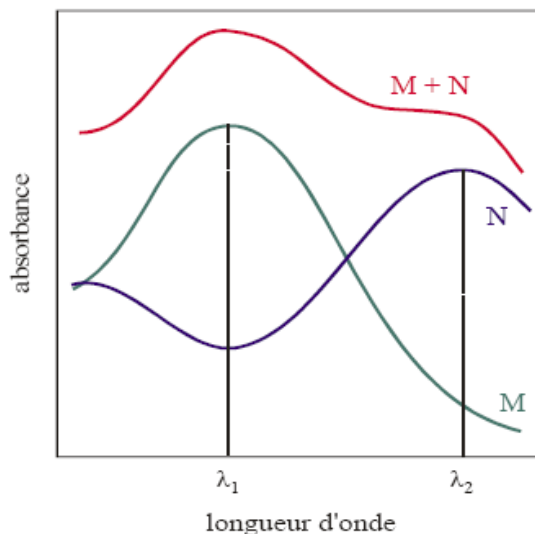
$$A_{tot} = A_1 + A_2 + \dots + A_n = \epsilon_1 \ell C_1 + \epsilon_2 \ell C_2 + \dots + \epsilon_n \ell C_n$$



Ainsi, supposons un mélange de M et de N, l'absorbance totale est la somme des absorbances des deux composés individuels.

La détermination de la concentration en M et N nécessite 2 étapes :

- 1<sup>ère</sup> étape : Détermination de  $\epsilon_M$  et  $\epsilon_N$  à  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$ . Pour ce faire, construire quatre courbes étalons (une pour chaque coefficient d'extinction à déterminer). Soit deux courbes avec des étalons de M mesurés aux deux longueurs d'onde et deux courbes avec des étalons de N mesurés aux deux longueurs d'onde.
- 2<sup>ème</sup> étape : Mesure de  $A_{M+N}^{\lambda}$  aux deux longueurs d'onde de sorte que l'on obtient un système de deux équations à deux inconnues ( $C_M$  et  $C_N$  dans la solution inconnue).



$$A_{M+N}^{\lambda_1} = \epsilon_M^{\lambda_1} C_M + \epsilon_N^{\lambda_1} C_N$$

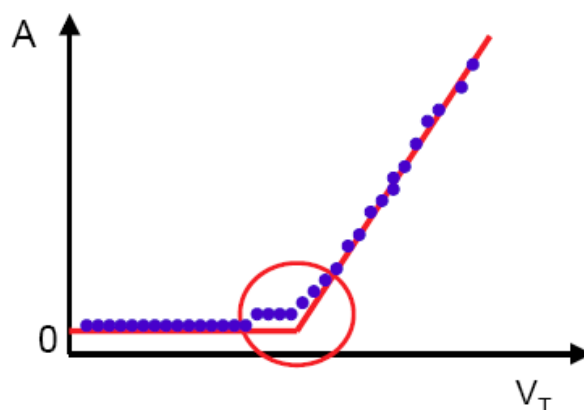
$$A_{M+N}^{\lambda_2} = \epsilon_M^{\lambda_2} C_M + \epsilon_N^{\lambda_2} C_N$$

### Titration photométrique

Le principe du titrage photométrique est identique à celui d'un titrage avec indicateur pH (qui l'eut cru ?), si ce n'est que la détection des modifications de couleur n'est plus visuelle, mais instrumentale. On obtient alors des courbes de type absorbance en fonction du volume de titrant ( $A=f(V_T)$ ). Le point de fin de titrage correspond alors à l'intersection des droites obtenues par extrapolation des deux parties linéaires. Prenons l'exemple suivant :

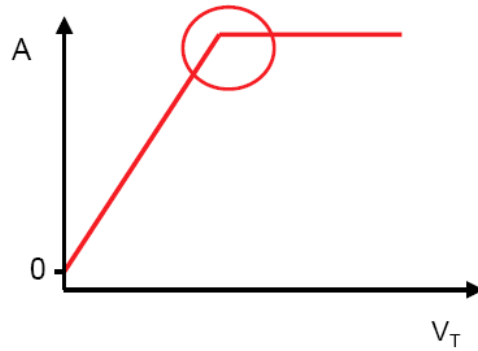


**Cas 1.** S et P n'absorbent pas ( $\epsilon_S = \epsilon_P = 0$ ) et T absorbe ( $\epsilon_T > 0$ )

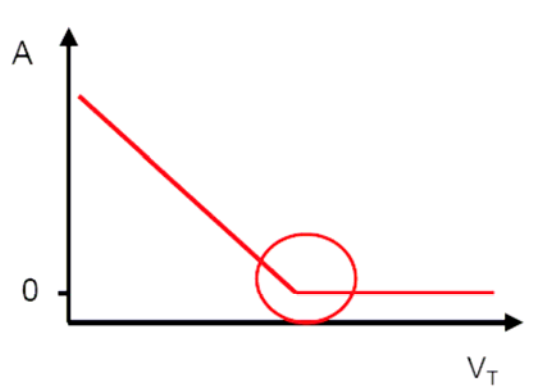




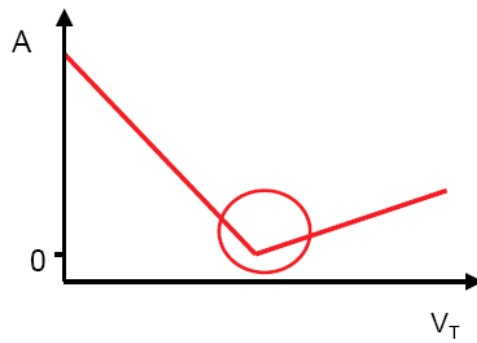
**Cas 2.** S et T n'absorbent pas ( $\varepsilon_S = \varepsilon_T = 0$ ) et P absorbe ( $\varepsilon_P > 0$ )



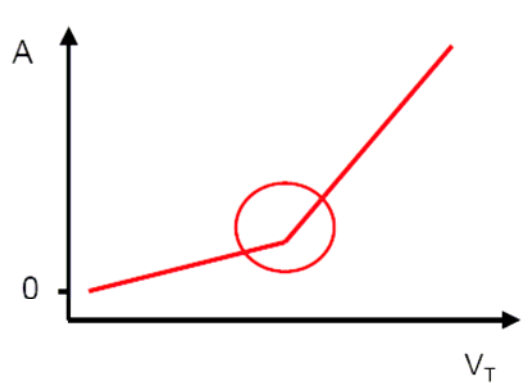
**Cas 3.** P et T n'absorbent pas ( $\varepsilon_P = \varepsilon_T = 0$ ) et S absorbe ( $\varepsilon_S > 0$ )



**Cas 4.** S et T absorbent ( $\varepsilon_S > \varepsilon_T > 0$ ) et P n'absorbe pas ( $\varepsilon_P = 0$ )



**Cas 5.** P et T absorbent ( $\varepsilon_T > \varepsilon_P > 0$ ) et S n'absorbe pas ( $\varepsilon_P = 0$ )



### 4.3. Spectroscopie IR

Tout d'abord, notons qu'en spectroscopie IR on fera plus souvent référence au **nombre d'onde** d'un rayonnement qu'à sa fréquence ou sa longueur d'onde. Il faut dès lors savoir que le nombre d'onde ( $\bar{\nu}$ ) représente le **nombre d'oscillations de l'onde par unité de longueur** et est ainsi défini comme :  $\bar{\nu} = 1 / \lambda$  avec la longueur d'onde dans le vide exprimée en cm. **L'unité du nombre d'onde est donc le  $\text{cm}^{-1}$ .**

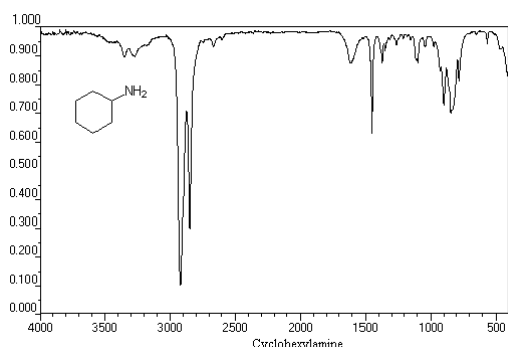
Rappelons à présent que la région IR du spectre comprend la région de longueur d'onde comprise entre environ 0,78 et 1000  $\mu\text{m}$  (ou de nombre d'onde de 12 800 à 10  $\text{cm}^{-1}$ ). Il est utile, tant sur le plan des applications que sur le plan de l'instrumentation, de diviser cette zone du spectre en trois régions :

- L'infrarouge proche : 12 800 à 4000  $\text{cm}^{-1}$
- L'infrarouge moyen : 4000 à 200  $\text{cm}^{-1}$
- L'infrarouge lointain : 200 à 10  $\text{cm}^{-1}$

Notons également dès à présent que la zone la plus intéressante sur le plan analytique se situe entre 4000 et 670  $\text{cm}^{-1}$ .

La spectroscopie IR trouve des applications très étendues sur le plan des **analyses tant qualitatives que quantitatives**. Son utilisation la plus courante est l'identification de composés organiques parce que le spectre d'un composé organique, généralement complexe, représente une de ses propriétés physiques caractéristiques : si l'on excepte le cas des isomères optiques, **deux substances ne possèdent jamais de spectres identiques**.

Outre ses possibilités remarquables comme outil d'analyse qualitative, la spectroscopie IR offre des utilisations intéressantes sur le plan quantitatif : son atout majeur est la **sélectivité** qui rend possible une détermination d'une substance inconnue dans un mélange complexe sans séparation préalable. Ces applications sont cependant limitées, pour divers motifs que nous expliciterons ultérieurement. Les plus importantes d'entre elles se rapportent à la mesure de polluants atmosphériques provenant de processus industriels (autant dire que vous risquez peu d'y être confrontés).



**Figure 4.43. : Spectre d'absorption IR de la cyclohexylamine** : L'ordonnée est donnée en transmission et l'abscisse est linéaire en nombres d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ ). C'est sous cette forme que son habituellement présentés les spectres d'absorption IR, mais il peut arriver que l'ordonnée soit donnée en absorbance et / ou l'abscisse en longueur d'onde.

La figure 4.43 nous servira de base pour faire quelques remarques sur le mode de présentation des spectres IR. **L'ordonnée est généralement donnée en transmission**, bien que certains enregistrements soient représentés en absorbance. D'autre part, **l'abscisse est linéaire en nombre d'onde** et, bien que cette terminologie ne soit pas correcte, les spectroscopistes utilisent fréquemment le terme fréquence en lieu et place de nombre d'onde.

### **Aspect théorique**

Nous avons vu que pour obtenir des transitions électroniques, il est nécessaire de recourir à des énergies dans le visible et l'UV. L'absorption IR est pour sa part confinée principalement à des transitions moléculaire de type vibrationnel et rotationnel. **Pour qu'une molécule puisse absorber une radiation IR, elle doit subir une modification de son moment dipolaire, lors de son mouvement vibrationnel ou rotationnel.** Ce n'est que sous cette condition que le champ alternatif du rayonnement interagira avec la molécule et provoquera un changement d'amplitude du mouvement considéré. Par exemple, la distribution de charge d'une molécule telle que HCl n'est pas symétrique, le moment dipolaire étant déterminé par l'importance de la différence de charge et la distance entre les deux centres de charge. Si la molécule HCl vibre longitudinalement, on observe une fluctuation régulière de son moment dipolaire. Si la fréquence du rayonnement correspond à celle de la fréquence naturelle de vibration de la molécule, un transfert d'énergie se produit : le résultat en est une augmentation de l'amplitude de vibration. De la même manière, la rotation asymétrique autour de leur centre de masse a pour résultat une variation dipolaire asymétrique : de nouveau, une interaction avec le rayonnement incident de fréquence ad hoc est possible.

Notons que **les molécules homopolaires telles que O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, Cl<sub>2</sub>, etc. ne subissent pas de variation de moment dipolaire lors de leur vibration ou de leur rotation : elles ne peuvent pas absorber dans l'IR.**

### Transition de rotation

L'**énergie** requise pour induire un mouvement **de rotation est très faible** : elle correspond au rayonnement de 100  $\mu\text{m}$  ou plus ( $\leq 100\text{ cm}^{-1}$ ). Comme **les niveaux de rotation sont quantifiés** (ce que je vous demande de croire sur parole, à moins que vous ne désiriez vraiment la démonstration), **l'absorption par les gaz dans cette zone de l'IR lointain est caractérisée par des raies discrètes** bien définies pour autant que l'appareillage puisse détecter l'IR lointain et que sa résolution soit suffisante ( $< 1\text{ cm}^{-1}$ ). **Dans**

**les liquides et les solides, les collisions entre les molécules font disparaître cette structure fine et on observe des bandes vibro-rotationnelles plus larges.**

### Transition de vibration-rotation

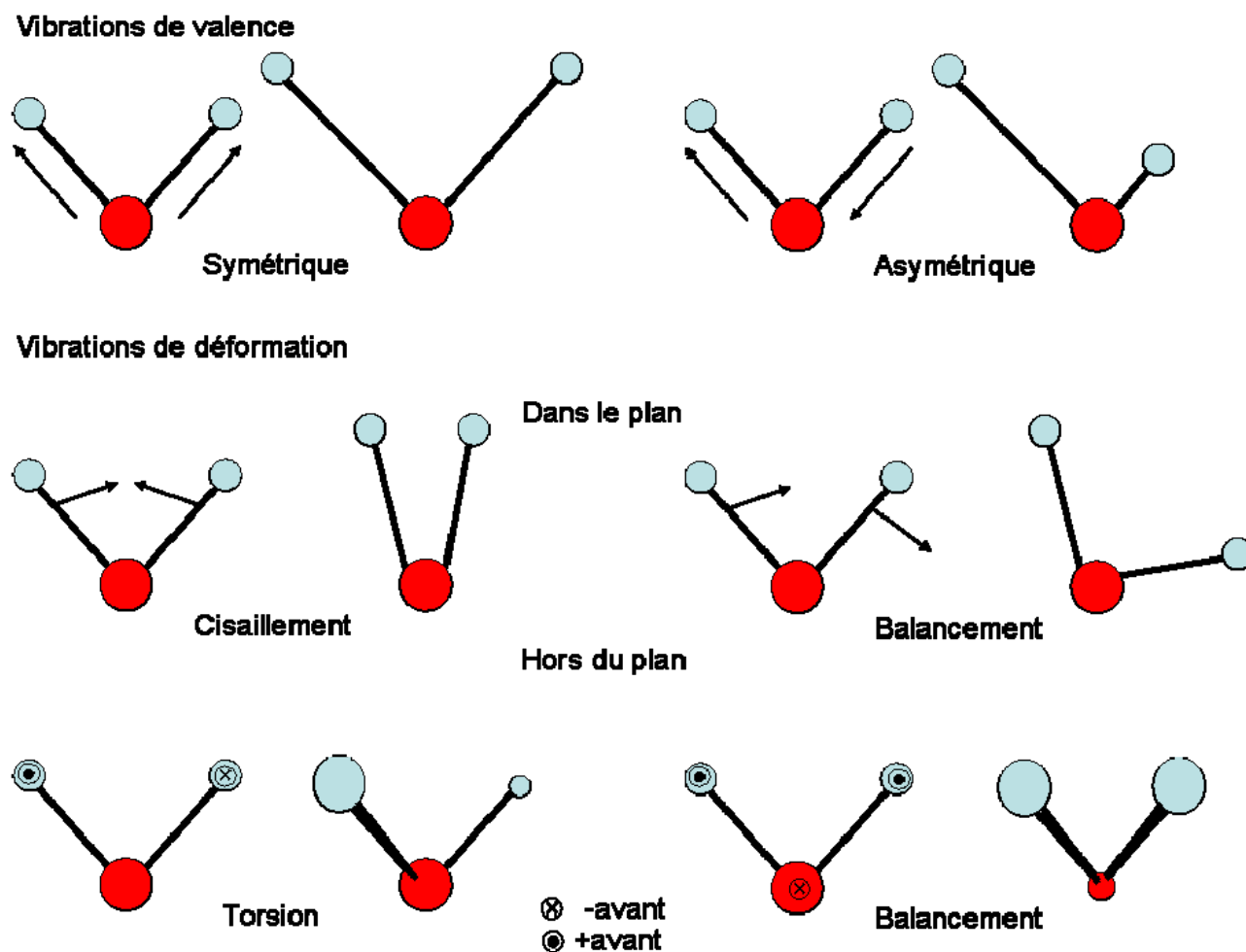
Les **niveaux vibrationnels d'énergie sont aussi quantifiés** (comme nous allons le voir ultérieurement) et les **différences énergétiques entre niveaux correspondent aux régions aisément accessibles du spectre IR** : environ 0,75 à 15  $\mu\text{m}$  (1300 – 675  $\text{cm}^{-1}$ ). Le spectre IR d'un gaz consiste, en général, en des séries de raies rapprochées, parce qu'il y a plusieurs niveaux rotationnels d'énergie par état vibrationnel. **Par contre, la rotation est inhibée dans les liquides et les solides : dans de tels échantillons, les raies discrètes vibro-rotationnelles disparaissent, le résultat étant des pics vibrationnels quelque peu élargis.** Nos préoccupations se limitent principalement aux spectres de solides, liquides et solutions dans lesquelles les effets rotationnels sont minimaux.

### Types de vibrations moléculaires

Les positions relatives des atomes dans une molécule ne sont pas exactement fixées mais fluctuent de manière continue en raison de divers types de vibrations. Pour des molécules diatomiques ou triatomiques, il est aisé de définir le nombre et la nature de telles vibrations et de faire la relation entre celles-ci et les énergies d'absorption. Une telle analyse devient difficile, sinon impossible pour des molécules polyatomiques, non seulement en raison du grand nombre de centres de vibration, mais aussi à cause des interactions entre ces centres de vibration.

Il y a **deux types généraux de vibration : élongation (vibration de valence) et déformation**. Une **élongation** consiste en une **variation de longueur** d'une liaison entre deux atomes, tandis qu'une **déformation** consiste en la **variation d'un angle** entre deux liaisons.

La figure 4.44 représente les divers types de vibration d'un groupe de formule générale  $\text{XY}_2$ . Tous ces types de vibration sont possibles dans une molécule contenant plus de deux atomes.



**Figure 4.44. : Modes de vibration d'un groupement plan  $XY_2$**  : Les schémas du dessus représentent les vibrations de valence (élongation) symétrique (gauche) et asymétrique (droite). Les schémas du milieu représentent les vibrations de déformation, dans le plan, de cisaillement (gauche) et de balancement (droite). Finalement, les schémas du bas représentent les vibrations de déformation, hors du plan, de torsion (gauche) et de balancement (droite).

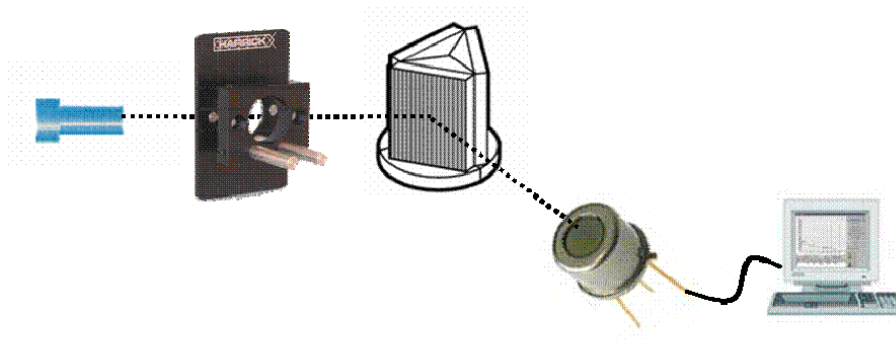
## Aspect pratique

### Composition d'un spectromètre d'absorption IR (non FTIR)

#### **Schéma général**

Sur le plan des principes, l'instrumentation utilisée en absorption IR est identique à celle utilisée en UV-Vis (figure 4.50). Seuls diffèrent la nature de la source, des matériaux optiques (sur le plan de la transparence, dispersion, résolution, etc.) et des détecteurs. En outre, cette fois, la sélection de la longueur d'onde, se fait plutôt en aval de l'échantillon. Il

est à noter que les appareils à transformée de Fourier, dont nous parlerons un peu plus ultérieurement, remplacent également de plus en plus les monochromateurs optiques.



**Figure 4.50. : Schéma général d'un spectromètre d'absorption IR** : Une source de rayonnement (ici, une lampe), un échantillon (ici, une pastille KBr), un monochromateur (ici, un réseau), un détecteur (ici, un détecteur pyroélectrique) et un système de traitement du signal (ici, un ordinateur).

### Sources

Filament de Nernst (Nernst Glower) : Il s'agit d'un cylindre ( $l = 20 \text{ mm}$ ,  $\varnothing = 1 \text{ à } 2 \text{ mm}$ ) d'oxydes de terres rares auquel sont reliés des fils de platine servant de conducteurs électriques. La résistance du système présente un **coefficient de température négatif** (c'est-à-dire que la résistance diminue si la température augmente) : il doit en pratique être chauffé au rouge sombre par une source externe pour que le courant puisse passer avec une intensité suffisante. En raison de ce coefficient de température négatif, le circuit doit nécessairement **limiter le courant de manière à éviter une auto-destruction du système**.

Globar : Il s'agit toujours d'un cylindre ( $l = 50 \text{ mm}$ ,  $\varnothing = 5 \text{ mm}$ ), mais cette fois de SiC chauffé électriquement qui présente sur le système précédent l'avantage d'un **coefficient de résistance positif**. Les connexions requièrent cependant un refroidissement par eau. Les domaines spectraux du filament de Nernst et du Globar sont comparables, sauf dans la région  $< 5000 \text{ nm}$  ( $> 2000 \text{ cm}^{-1}$ ) où le Globar fournit un rayonnement d'intensité plus forte.

Fils incandescents : Un fil de nichrome ou de rhodium enroulé en spirale et échauffé électriquement fournit une **source de vie plus longue** qu'un Globar ou un filament de Nernst, mais aussi d'**énergie radiante plus faible**.

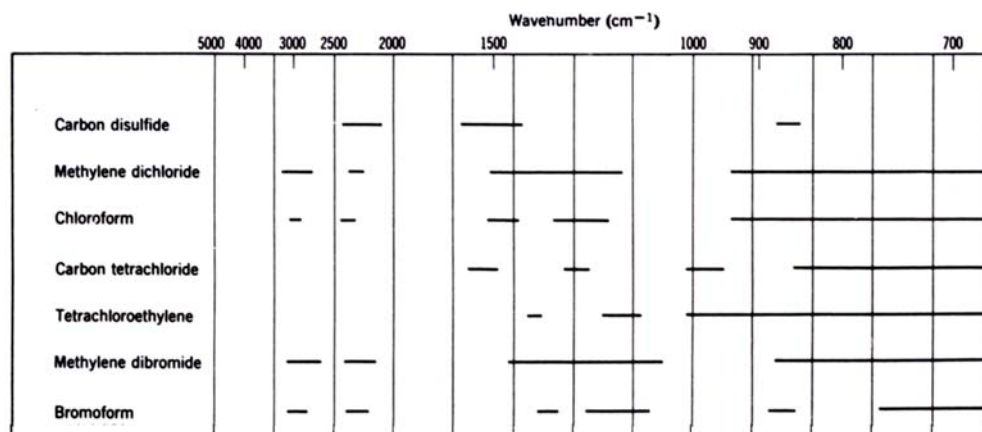
### Échantillons

Nature et techniques de préparation : Comme nous l'avons vu, les spectres IR sont obtenus le plus souvent à partir de **solutions diluées**, la valeur optimale de l'absorbance étant obtenue par ajustement de la concentration ou de la longueur de la cellule. Malheureusement, en raison de l'origine même des spectres IR, **il n'existe aucun solvant qui soit transparent dans tout le domaine IR**. En conséquence, dans l'IR, on doit souvent utiliser des techniques qui rendent la mesure précise et exacte du coefficient d'absorption molaire difficile voire impossible. Nous discuterons ci-dessous quelques techniques propres à l'absorption IR.

Échantillons gazeux : Le spectre d'un liquide à bas point d'ébullition, ou d'un gaz, peut être obtenu en introduisant l'échantillon dans une cellule préalablement mise sous vide. On dispose ainsi de cellules dont les trajets lumineux peuvent atteindre plusieurs mètres (cellules compactes avec réflexions internes).

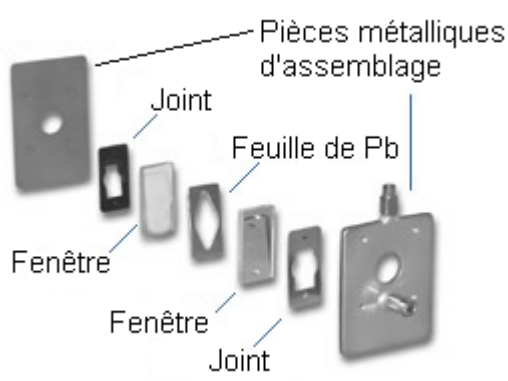
Solutions : La figure 4.51 donne la liste des solvants les plus courants utilisés pour l'étude du spectre IR de substances organiques. Cette figure montre clairement qu'aucun solvant ne peut couvrir ne fût-ce que la zone IR moyen. CS<sub>2</sub> et CCl<sub>4</sub> sont assez complémentaires : toutefois CS<sub>2</sub> ne dissout que peu de substances.

**L'eau et les alcools** sont rarement utilisés, non seulement parce qu'ils absorbent fortement, mais parce qu'ils **attaquent les halogénures alcalins qui constituent les matériaux les plus courants des fenêtres des cellules**. Pour ces raisons aussi, les divers **solvants utilisés doivent être desséchés avant usage**. Notons que pour des solutions contenant un peu d'eau, on peut utiliser des matériaux de fenêtre plus résistants : AgCl ; Irtran-1 (MgF<sub>2</sub>), Irtran-2 (ZnS) ; Irtran-4 (ZnSe). En particulier, l'Irtran-2 se travaille bien pour obtenir un poli optique.



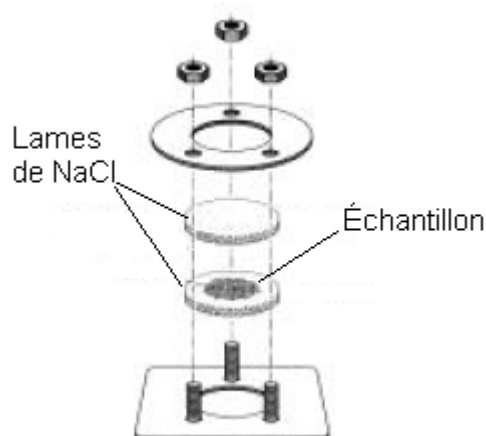
**Figure 4.51. : Tableau des solvants les plus courants utilisés en spectroscopie d'absorption IR** : Les régions « ouvertes » sont celles pour lesquelles le solvant transmet plus de 25 % de la lumière incidente pour 1 mm d'épaisseur.

En raison de l'absorption lumineuse par les solvants, les cellules IR ont, en général, **un trajet lumineux court** (quelques centièmes de mm à 1 mm). Ces cellules sont le plus souvent démontables (figure 4.52) et sont constituées de deux lames parallèles de matériau transparent, séparées par une mince feuille de plomb, cuivre, téflon... munie d'un orifice permettant le remplissage. L'épaisseur de cette feuille, ou « spacer », fixe la longueur du trajet optique. Pour des travaux quantitatifs, l'épaisseur des cellules doit être contrôlée : elles s'utilisent par paires lorsqu'on emploie la technique classique de mesure de  $\frac{I'_\lambda}{I_\lambda}$ . Notons qu'existent également des cellules d'épaisseur réglable avec précision.



**Figure 4.52. : Vue éclatée d'une cuve d'absorption IR pour solutions.**

Liquides purs : Quand la quantité d'échantillon est faible ou qu'un solvant adéquat n'existe pas, il est courant d'enregistrer le spectre sur le liquide pur. La technique la plus utilisée (figure 4.53) consiste à presser une goutte de liquide entre deux lames de matériau transparent (NaCl ou KBr sont souvent utilisés). On obtient ainsi une épaisseur assez mal définie de 0,01 mm ou moins. Une telle technique donne de bons résultats en **analyse qualitative**.



**Figure 4.53. : Vue éclatée d'un système à lamelles de NaCl :** Une goutte d'échantillon liquide est déposée entre deux lamelles de NaCl qui sont ensuite pressées pour former un film de faible épaisseur.



Solides : Pour les échantillons solides qui ne peuvent être dissous dans un solvant adéquat, plusieurs techniques peuvent être envisagées :

- Si la substance est fusible, sans décomposition, on peut en réaliser une ***couche mince par fusion sur une lame de NaCl***, par exemple (cette technique est rarement utilisée en pratique).
- Sinon, on réalise une ***suspension de l'échantillon dans un milieu non absorbant*** dans la zone à étudier. Une condition essentielle pour l'obtention de spectres satisfaisants est que les dimensions des particules en suspension soient plus petites que la longueur d'onde du rayonnement. Si cette condition n'est pas réalisée, les pertes lumineuses par diffusion deviennent importantes. Deux milieux liquides sont couramment utilisés : la paraffine (nujol) ou le perfluorokérosène (fluorolube). Ce dernier milieu est utilisé quand les bandes CH sont susceptibles de gêner. Dans les deux cas, la suspension (2 – 5 mg d'échantillon ; particules < 2  $\mu\text{m}$ ) est pressée entre deux lames transparentes. On peut aussi utiliser la ***technique des pastilles*** qui consiste à broyer 1 à quelques mg d'échantillon avec 200 mg de KBr sec et à presser le mélange à 1 à plusieurs tonnes par  $\text{cm}^2$  pendant quelques minutes de manière à obtenir une pastille homogène. De meilleurs résultats sont obtenus si l'air occlus est éliminé par pressage sous vide. Le disque est utilisé tel quel dans le faisceau lumineux. En dépit des précautions, l'humidité absorbée conduit à l'apparition de bandes à 3400 et 1600  $\text{cm}^{-1}$ .

### ***Monochromateurs***

Cfr. Spectromètre d'émission atomique. En général, c'est un monochromateur à réseau qui est utilisé dans les spectromètres d'absorption IR.

### ***Détecteurs***

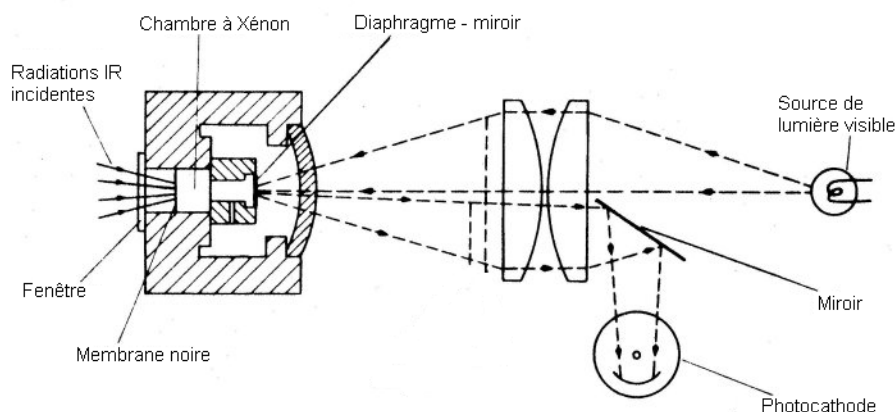
Cellules photoconductrices : Les détecteurs les plus sensibles de ce type sont utilisés pour la mesure du rayonnement dans l'IR entre 0,75 et 3  $\mu\text{m}$ . Ils sont constitués d'une couche mince de semi-conducteur (sulfure, séléniure, antimoniures de Pb, Cd, Ga, In, etc.) déposé sur un support isolant. L'ensemble est protégé par rapport à l'atmosphère. ***L'absorption du rayonnement résulte de la promotion d'électrons du semi-conducteur dans la bande de conduction.*** La résistance de telles couches diminue donc avec l'éclairement. De tels détecteurs sont 100 à 1000 fois plus sensibles que les thermocouples (dont nous parlerons

au point suivant). Contrairement à ceux-ci qui sont non sélectifs, les cellules photoconductrices répondent à un domaine restreint de longueurs d'onde.

Thermocouple : Ce type de détecteur est largement utilisé dans l'IR. Sous sa forme la plus simple, le thermocouple est réalisé par jonction de deux pièces d'un métal donné avec les extrémités d'une pièce d'un autre métal ou alliage. ***Une différence de potentiel se développe entre les deux jonctions lorsqu'elles se trouvent à des températures différentes.*** Contrairement aux détecteurs précédents, les thermocouples ont une réponse non sélective en  $\lambda$ . En pratique, les jonctions utilisées pour la détection dans l'IR sont formées de très fins fils de métal tels que Bi-Ag, Pt-Sb, etc. Pour augmenter la sensibilité, on réalise de telles soudures en série (piles thermoélectriques) avec alternance de soudures chaudes (celles recevant le rayonnement) et froides (référence). Les soudures chaudes sont noircies pour mieux absorber les radiations à mesurer. Elles sont scellées sous vide dans une enceinte munie d'une fenêtre transparente aux radiations à mesurer.

Bolomètre : Il s'agit d'un thermocouple à résistance. Le détecteur est un fil métallique très ténu (ou un dépôt métallique) dont la résistance possède un coefficient de température très élevé (Ni, Au, Pt, etc.) ou encore une thermistance (semi-conducteur) de faible masse. L'élément thermo-sensible est noirci et est inséré dans un pont de Wheatstone. Sous l'effet du rayonnement, il y a échauffement de l'élément et déséquilibre du pont initialement équilibré. Ce déséquilibre est à la base de la mesure de l'énergie radiante. Il s'agit ici aussi d'un ***récepteur non sélectif.***

Détecteur de Golay : Il s'agit essentiellement d'un thermomètre à gaz sensible : une enceinte étanche de forme cylindrique contient du xénon et une membrane noircie destinée à absorber le rayonnement incident qui pénètre par une fenêtre transparente à l'IR. L'autre face du cylindre est faite d'un diaphragme flexible dont le côté extérieur est argenté. Un faisceau lumineux est réfléchi sur cette face vers la cathode d'un photo-tube. Lorsque le rayonnement incident pénètre le tube, la membrane noircie s'échauffe et échauffe à son tour le xénon qui, en se dilatant, déforme le diaphragme : la fraction de lumière réfléchi qui frappe la photocathode est modifiée, ce qui produit une variation du courant qui dépend de l'énergie dissipée dans le gaz par le rayonnement IR (figure 4.54). Le détecteur de Golay est ***plus coûteux que les autres détecteurs*** de type thermique, mais n'est *pas plus sensible dans l'IR proche ou moyen*. Il est par contre ***supérieur dans le domaine de l'IR lointain.*** Le détecteur de Golay a une réponse plus rapide que le thermocouple.



**Figure 4.54. : Schéma de la coupe transversale d'une cellule de Golay** : Des radiations incidentes IR traversent la fenêtre de la cellule et sont absorbées par la membrane noire. Cette dernière s'échauffe et chauffe le xénon emprisonné dans la cellule. La dilatation de ce dernier modifie la géométrie du diaphragme argenté qui se situe à l'extrémité de la cellule et sur lequel se réfléchit une lumière incidente visible. Ce phénomène entraîne une modification du signal reçu par la photocathode et donc de l'intensité électrique mesurée. Cette différence d'intensité électrique sera donc fonction de la quantité de radiations IR incidentes.

Détecteurs pyroélectriques : Certains cristaux tels que le tantalate de lithium, le titanate de baryum, le sulfate de triglycine, etc. sont **constitués de dipôles dont l'orientation dépend fortement de la température**. Lorsque ces substances sont placées entre deux conducteurs, l'ensemble constitue une capacité dont la valeur dépend de la température et peut donc être utilisée pour la mesure de la puissance incidente (IR). La mesure est donc une variation de capacité en fonction de T. La réponse est très rapide.

## Spectromètre d'absorption IR à transformée de Fourier (IRTF ou, en anglais FTIR = Fourier Transform Spectroscopy)

Le principe de fonctionnement d'un spectromètre IRTF **repose sur l'utilisation d'un interféromètre** (la plupart du temps de type Michelson). Autrefois très chers et réservés aux laboratoires spécialisés, on les retrouve à présent un peu partout.

Comparons à présent la STF (spectroscopie par transformée de Fourier) à la dispersion conventionnelle :

- 1) **L'avantage essentiel de la spectroscopie par transformée de Fourier s'appelle l'avantage de Fellgett**. Dans un instrument dispersif conventionnel, chaque élément de résolution est observé seulement pendant la fraction du temps total d'enregistrement. Le rapport signal sur bruit (S/N) est alors proportionnel à  $(T/M)^{1/2}$  où T est le temps total d'enregistrement et M, le nombre d'éléments de résolution observés pendant ce temps T (c'est-à-dire la largeur totale du spectre à enregistrer divisé par la résolution utilisée). Dans un spectromètre à transformée de Fourier,

**chacun des éléments résolution est observé pendant tout le temps d'enregistrement**, puisque toutes les fréquences atteignent le détecteur en continu. Ici,  $M = 1$  et  $S/N \propto (T)^{1/2}$ . L'avantage théorique entre les deux types de disperseurs est donc de  $(M)^{1/2}$ .

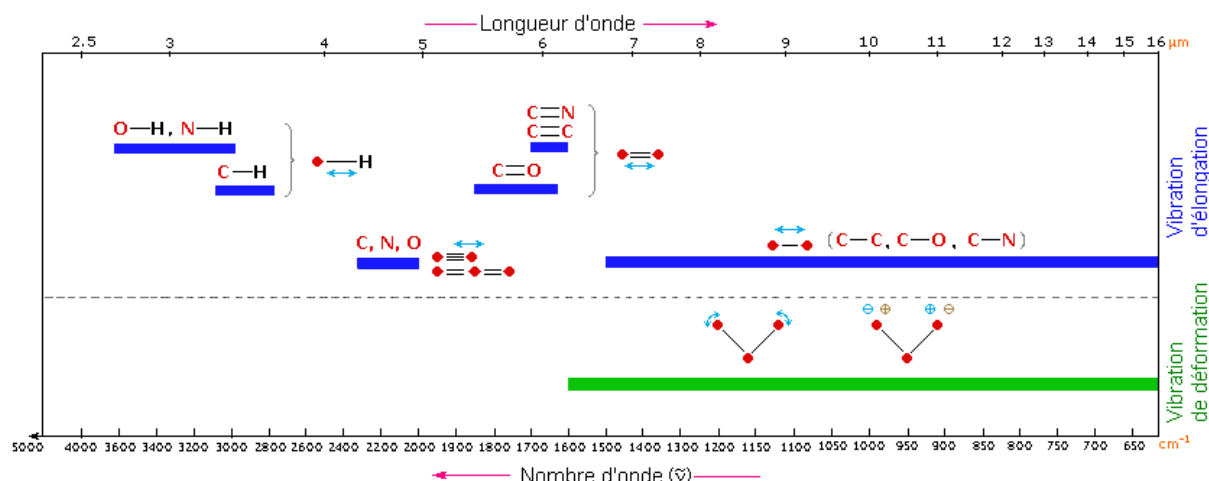
- 2) Un autre avantage est dénommé l'**avantage de Jacquinot**. Puisqu'il n'y a pas de fente dans spectromètre TF, Jacquinot a montré qu'il est théoriquement possible de **laisser entrer plus de lumière** dans un spectromètre TF que dans un monochromateur classique. En pratique, toutefois, cet avantage est **compensé par d'autres inconvénients** :
  - Il est **nécessaire d'utiliser des collimateurs** (qui réduisent donc la luminosité) pour rendre la lumière aussi parallèle que possible.
  - Le **séparateur présente une forte perte de lumière par réflexion et par absorption**.
- 3) En pratique, ce type d'appareil sera utilisé avec profit surtout pour les **applications demandant une grande sensibilité** (spectroscopie IR par émission, analyse dans l'IR lointain, analyse de gaz, de microéchantillons ou analyses ultra-rapides). Le gain en sensibilité est au moins d'un facteur 10 et un spectre IR peut être enregistré en moins d'une seconde avec une résolution moyenne.

## Applications de la spectroscopie d'absorption IR

### Analyse qualitative

Nous avons vu que **la fréquence approximative à laquelle un groupe fonctionnel organique tel que C=O, C=C, CH<sub>3</sub>, C≡C, etc. absorbe une radiation IR peut être calculée à partir de la masse des atomes et de la constante de force de la liaison**. Ces fréquences appelées fréquences de groupements fonctionnels varient quelque peu d'une molécule à l'autre en raison d'interactions avec d'autres vibrations affectant l'un ou l'autre des atomes du groupement. Cependant, en général, l'effet de telles interactions est fréquemment faible, et dès lors, on peut avec une probabilité élevée, prévoir la zone de spectre dans laquelle on trouvera le pic correspondant à un groupement fonctionnel donné. A ce stade, **on peut donc établir** avec un certain degré de confiance **la présence ou l'absence d'un groupement fonctionnel donné**. Au cours des décennies, on a accumulé une somme importante de données expérimentales concernant la zone de fréquence à laquelle on peut s'attendre, en pratique, à trouver l'absorption de divers groupements fonctionnels. Les tables rassemblent des telles données sous une forme directement

utilisable pour l'identification. La figure 4.58 reprend une version simplifiée de ces nombreuses tables de corrélation qui peut servir de point de départ dans le processus d'identification d'une molécule.



**Figure 4.55. : Table de corrélation simplifiée** : Les plages d'absorption correspondant à des vibrations d'élongation sont indiquées en haut et les plages d'absorption correspondant à des vibrations de déformation sont indiquées dans le bas.

Le chimiste intéressé à l'identification d'un composé organique examinera d'une manière systématique, certaines **régions bien choisies du spectre**.

Région de vibration de valence de l'atome d'H :  $3700 - 2700 \text{ cm}^{-1}$  : Des pics d'absorption intenses dans cette région proviennent souvent de la vibration de valence entre H et un autre atome (C, O, N). L'atome **H lui-même est l'espèce qui se déplace** en ordre principal, puisqu'il est beaucoup plus léger que les autres atomes avec lesquels il est susceptible d'être lié : en conséquence, **l'absorption n'est guère affectée par le reste de la molécule**. En outre, la fréquence de cette vibration est beaucoup plus élevée que celle des autres liaisons chimiques et dès lors, l'interaction de cette vibration avec les autres est souvent faible.

- Des pics dans la zone  **$3700 - 3100 \text{ cm}^{-1}$**  sont souvent dus aux vibrations de valence **O-H et N-H**, les premières apparaissent souvent pour des  $\bar{\nu}$  plus élevés. Les bandes **OH sont souvent plus larges que les bandes NH** et apparaissent seulement dans les solvants non polaires en milieu dilué. En effet, les liaisons par ponts hydrogène élargissent les pics et les déplacent vers des  $\bar{\nu}$  plus faibles.
- Les vibrations **C-H aliphatiques se trouvent dans la région  $3000 - 2850 \text{ cm}^{-1}$** . La plupart des composés aliphatiques ont suffisamment de liaison C-H pour qu'on observe un pic important dans cette zone. **Toute variation structurale affectant la**

**force de liaison C-H sera la cause d'un déplacement du maximum du pic** : par exemple, la bande C-H dans un groupe Cl-C-H se trouve juste au-dessus de  $3000\text{ cm}^{-1}$  comme les C-H des oléfines et des aromatiques. Par contre, la C-H acétylénique se trouve à  $3300\text{ cm}^{-1}$ . L'hydrogène d'un aldéhyde  $\text{-CHO}$  produit un pic distinct dans la zone  $2745 - 2710\text{ cm}^{-1}$ . Le remplacement de H par le deutérium provoque un déplacement vers des  $\bar{\nu}$  plus faibles par un facteur  $\approx \frac{1}{2}$ , ainsi que permet de le prévoir la théorie. Cet effet est utilisé pour l'identification des pics de valence C-H.

Région des liaisons triples :  $2700 - 1850\text{ cm}^{-1}$  : Un nombre limité de groupes absorbe dans cette région, leur présence est donc aisément visible. On peut citer les zones suivantes :

- $\text{C}\equiv\text{N}$  :  $2250 - 2225\text{ cm}^{-1}$
- $\text{N}^+\equiv\text{C}^-$  :  $2180 - 2120\text{ cm}^{-1}$
- $\text{C}\equiv\text{C}$  :  $2260 - 2190\text{ cm}^{-1}$

Dans cette région sont également situés les pics de vibration X-H, avec X = S, P, Si

- S-H :  $2600 - 2550\text{ cm}^{-1}$
- P-H :  $2440 - 2350\text{ cm}^{-1}$
- Si-H :  $2260 - 2090\text{ cm}^{-1}$

Région des liaisons doubles :  $1950 - 1550\text{ cm}^{-1}$  : La vibration de valence  $\text{C=O}$  absorbe dans cette zone. Cétones, aldéhydes, acides, amides et carbonates ont tous des pics d'absorption aux environs de  $1700\text{ cm}^{-1}$ . Les esters, les chlorures d'acide et les anhydrides organiques absorbent vers  $1770 - 1725\text{ cm}^{-1}$ . Le processus de conjugaison tend à abaisser le pic d'absorption d'environ  $20\text{ cm}^{-1}$ . Au vu de ce grand nombre de possibilités, on réalise qu'il est fréquemment **impossible de déterminer la nature d'un groupe  $\text{C=O}$  uniquement sur la base de l'absorption dans cette zone** ; cependant, l'examen d'autres régions spectrales permet parfois de lever le doute : c'est ainsi que les **esters ont une forte bande de valence  $\text{C-O-R}$  à  $1200\text{ cm}^{-1}$**  tandis que les **aldéhydes**, comme nous l'avons déjà vu, présentent une **bande C-H juste au dessus de  $2700\text{ cm}^{-1}$** . Les pics d'absorption des vibrations de valence  $\text{C=C}$  et  $\text{C=N}$  sont situés dans la zone  $1690 - 1600\text{ cm}^{-1}$ . Des informations précieuses relatives à la structure des oléfines peuvent être déduites de la position exacte de tels pics. La zone  **$1650 - 1450\text{ cm}^{-1}$  est importante en ce qui concerne les dérivés aromatiques**.

Les composés aromatiques présentant peu de substituants possèdent 4 pics aux environs de  $1600, 1580, 1500$  et  $1460\text{ cm}^{-1}$ . Le nombre et la dispersion de ces substituants produisent des modifications spectrales prévisibles, mais indépendantes de la nature des substituants.

Région de  $400$  à  $1650\text{ cm}^{-1}$  : Dans cette région sont situées les bandes de vibration de valence des liaisons simples C-C et C-X (X = O, N, S, halogènes) ainsi que les bandes des modes de déformation de nombreuses liaisons simples. La position de ces bandes est très sensible aux changements de structure, si bien que leur ensemble peut être considéré

comme caractéristique d'une substance bien définie. En particulier, **le domaine spectral compris entre 650 et 1350  $\text{cm}^{-1}$ , appelée région des empreintes**, présente un spectre complexe qui résulte d'interactions entre liaisons voisines : il dépend donc de la structure même du squelette de la molécule. L'interprétation complète du spectre dans cette zone est rarement possible en raison de sa complexité. Cependant, cette complexité même conduit à un spectre caractéristique de chaque substance, ce qui est extrêmement utile pour l'identification de la substance par comparaison. Quelques groupements fonctionnels importants ont, en outre, des vibrations caractéristiques dans cette zone, notamment :

- Vibration de valence de C-Cl entre 700 et 800  $\text{cm}^{-1}$ .
- Vibration de valence de C-O-C des esters et des éthers vers 1200  $\text{cm}^{-1}$ .
- Des groupements organiques tels que  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  absorbent également en dessous de 1200  $\text{cm}^{-1}$ .

En analyse fonctionnelle, c'est-à-dire pour identifier des groupements, les tables et les règles de corrélation donnent d'excellents résultats, à condition de procéder par recoupements en utilisant toutes les régions du spectre, ce qui permet de faire les contrôles nécessaires ; par exemple, nous avons vu qu'une raie vers 1700  $\text{cm}^{-1}$  est caractéristique d'un groupe carbonyle. La présence additionnelle d'une bande forte vers 1200  $\text{cm}^{-1}$  permet d'affirmer qu'on a affaire à un ester. La situation est toute différente si on veut identifier sans ambiguïté une substance pure ou une substance dans un mélange, ou contrôler la pureté d'une substance.

Il est clair que dans le domaine de **l'identification d'une substance pure**, les tables de corrélation ne constituent que le premier pas vers la solution. Une identification sans ambiguïté doit reposer sur la connaissance d'autres propriétés telles que la température de fusion, d'ébullition, l'indice de réfraction, la densité, l'analyse élémentaire, etc. A ce stade, le problème est grandement simplifié et sa résolution est aisée si on dispose d'une bibliothèque de spectres. Dans ces conditions, la spectroscopie d'absorption IR constitue une des méthodes les plus rapide, sûre et bon marché pour identifier une substance inconnue.

**La spectroscopie IR permet également d'identifier une substance dans un mélange.** Il arrive, en effet, fréquemment en synthèse organique, qu'une réaction ne donne pas un produit pur, mais un mélange parfois complexe d'isomères, par exemple. Dès lors, connaissant le spectre des différents isomères purs, il est possible de déceler sans ambiguïté les isomères présents dans un mélange, en utilisant les bandes caractéristiques de chacun d'eux.

Finalement et dans la même optique, la spectroscopie IR permet de facilement **tester la pureté des substances** solides et des liquides, comme les solvants, par exemple. Le

contrôle est réalisé partiellement sur un appareil à double faisceau : en comparant l'échantillon dans la cellule de mesure avec la substance pure dans la cellule de référence, seules les bandes des impuretés apparaissent. En général, on peut dire que la limite de détection atteinte est loin d'être aussi basse qu'en absorption UV. En moyenne, on ne dépasse guère le dixième de pourcent en poids pour une épaisseur de cuve de 1 cm. Il existe cependant des cas favorables, comme la recherche d'une impureté fortement absorbante présente dans un solvant qui l'est peu.

### **Analyse quantitative**

En principe, l'analyse quantitative par absorption IR **repose**, comme dans le cas de l'absorption atomique et de l'absorption UV-Vis., **sur la loi de Beer-Lambert**. En pratique, toutefois, la loi de Beer-Lambert est, le plus **souvent** dans le cas présent, **sujette à des écarts pour les raisons suivantes** :

La condition de monochromaticité : difficile à respecter parce que

- les **bandes d'absorption IR** sont nettement **plus fines** que les bandes d'absorption UV-Vis.
- les **sources IR émettent peu d'énergie** et l'ensemble des composants optiques transmet moins bien la lumière, si bien que l'on est obligé, pour obtenir un signal suffisant au niveau du détecteur, d'utiliser des bandes passantes qui ne sont pas de largeur faible vis-à-vis de la bande d'absorption. Les courbes analytiques résultantes ne sont pas droites.

La lumière diffuse (parasite) dans le monochromateur : peut atteindre un niveau gênant. En effet, surtout aux grandes longueurs d'onde, l'énergie de la source devient de plus en plus faible, alors que la lumière totale entrant dans le monochromateur est élevée : la lumière parasite est proportionnelle à cette lumière totale. Il existe toutefois des moyens techniques pour améliorer la situation.

La planéité et le parallélisme des fenêtres : difficile à obtenir.

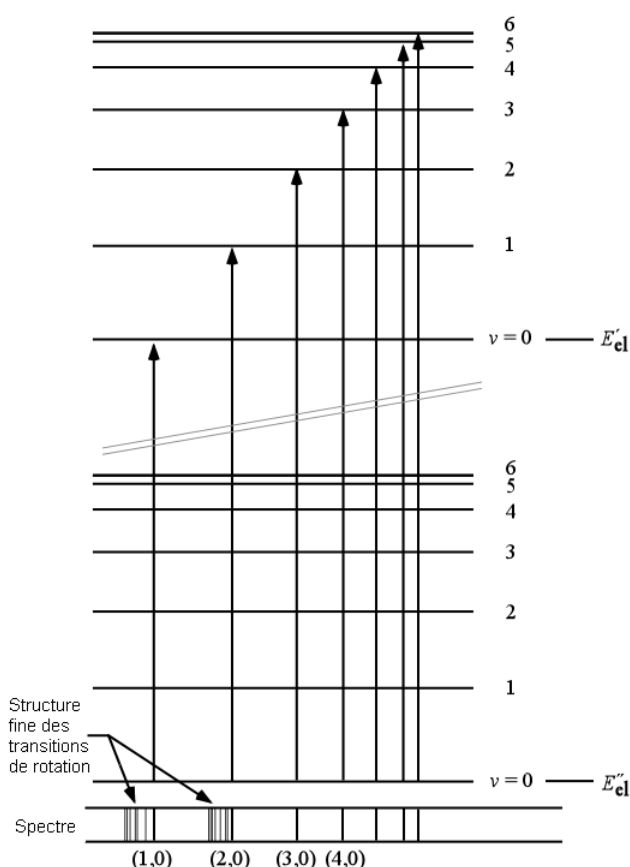
Sensibilité à l'environnement : Fonction de la concentration du soluté, de la nature du solvant, etc.

Dès lors, en absorption IR quantitative, on emploie le plus souvent des courbes d'étalonnage empiriques, mais on préfère en général avoir recours à une autre technique qui se prête mieux aux analyses quantitatives (comme l'absorption UV-Vis, par exemple).

## **4.4. Spectroscopie de fluorescence (UV)**



Il est important de noter que ***pour chaque niveau d'excitation électronique, il existe plusieurs niveaux d'excitation vibrationnelle et que pour chacun de ces derniers, il existe plusieurs niveaux d'excitation rotationnelle***, ce qui est illustré dans la figure 4.56. La maîtrise de ce concept est nécessaire à la bonne compréhension de la fluorescence, et principalement à bien voir la différence qui existe entre ce phénomène et une simple ré-émission. C'est d'ailleurs par cela que nous commencerons l'aspect théorique de la spectroscopie par fluorescence.



**Figure 4.56. : Niveaux d'énergie électronique et vibrationnelle (et structure fine rotationnelle) :** Deux niveaux électroniques sont représentés, le niveau  $E'_{el}$ , fondamental et le niveau  $E''_{el}$  excité. Les deux barres diagonales grises qui séparent ces niveaux, indiquent que l'échelle n'est pas respectée et qu'ils sont en fait beaucoup plus éloignés en énergie que ce qui est illustré. Pour chaque niveau électronique (UV-Vis) on voit qu'il existe plusieurs niveaux d'énergie vibrationnelle (IR). Quelques transitions possibles sont représentées par des flèches et le spectre correspondant est illustré dans le dessous de la figure. En outre, il existe des niveaux d'énergie rotationnelle pour chaque niveau d'énergie vibrationnelle, mais ils ne sont pas représentés pour des raisons de clarté. Par contre, deux exemples de structures fines sont illustrés dans le spectre.

## Aspect théorique

### Désexcitation

Une fois la molécule portée dans un état excité par l'absorption d'un photon, plusieurs voies de désexcitation sont possibles :

- ***Dissociation.*** La molécule excitée se brise en deux fragments. Dans ce cas, ***aucun phénomène spectroscopique autre que celui d'absorption initial n'est observé,***

à moins que les fragments n'irradient de l'énergie par un des processus mentionnés ci-dessous.

- **Ré-émission.** Si l'absorption a lieu comme illustré dans la figure 4.57, alors la ré-émission est exactement l'inverse de celle-ci. ***La radiation émise, qui peut être mesurée et représentée comme un spectre d'émission, est identique en fréquence avec celui d'absorption.***
- **Fluorescence.** Si, comme cela est représenté dans la figure 4.57, la molécule se retrouve dans un état de vibration élevé après une excitation électronique et ***l'excès d'énergie vibrationnelle peut être perdu par des collisions intermoléculaires.*** L'énergie vibrationnelle est convertie en énergie cinétique et apparaît sous forme de chaleur dans l'échantillon ; un tel ***transfert entre les niveaux d'énergie*** est dit « ***non radiatif*** » et on parle dans ce cas de ***conversion interne (CI)***. Ce phénomène est représenté par des flèches ondulées sur la figure 4.57. Lorsque la molécule excitée a atteint un niveau vibrationnel plus bas (ex :  $\nu = 0$ ), elle peut alors émettre une radiation et retourner à l'état fondamental ; ***la radiation émise, appelée « spectre de fluorescence », est normalement de fréquence plus basse que celle de l'absorption initiale,*** mais dans certaines conditions, elle pourrait être de fréquence plus élevée. Le temps entre l'absorption initiale et le retour à l'état fondamental est très court, de l'ordre de  $10^{-8}$  s.
- **Phosphorescence.** Ce phénomène peut avoir lieu quand deux états excités, différents par leur spin total ( $S = 0 \rightarrow$  multiplicité de spin =  $2S+1 = 1$ , état singulet : les deux électrons sont de spins opposés ou  $S = 1 \rightarrow$  multiplicité de spin =  $2S+1 = 3$ , état triplet : les deux électrons sont de spins identiques), ont des énergies comparables. Dans la figure 4.57, on voit que l'état fondamental ( $S_0$ ) et l'un des états excités ( $S_1$ ) sont des singulets, alors qu'un état excité voisin ( $T_1$ ) est un triplet. Même si une règle de sélection ( $\Delta S = 0$ ) interdit qu'il y ait une transition spectroscopique entre un état singulet et un état triplet, il n'est pas interdit que le transfert entre les états excités ( $S_1 \rightarrow T_1$ ) se déroule cinétiquement, c'est-à-dire suivant des transitions non radiatives induite par des collision. On parle alors de conversion inter-systèmes (CIS). Lorsque la molécule est arrivée à l'état triplet et a perdu un peu d'énergie vibrationnelle dans cet état, elle ne peut retourner à l'état excité singulet. Elle va donc finalement atteindre le niveau vibrationnel fondamental de l'état triplet. Maintenant, et bien qu'une transition vers l'état fondamental (singulet) est interdit, il se peut qu'elle

ait lieu, mais de façon bien plus lente qu'une transition électronique permise. Dans le cas contraire, elle peut également rejoindre l'état fondamental via une nouvelle conversion inter-système ( $T_1 \rightarrow S_0$ ) et une cascade de conversions internes. La lenteur de la transition « non autorisée » de l'état triplet à l'état fondamental explique pourquoi les substances phosphorescentes continuent d'émettre des radiations lumineuses des secondes, des minutes ou même des heures après l'absorption initiale. Contrairement à la fluorescence, un spectre de phosphorescence est exclusivement constitué de fréquences plus faibles que celles absorbées.

- **L'émission stimulée.** Ce phénomène, dont ne nous parlerons pas plus en détail dans le cadre de ce cours, est à l'origine de la **production de radiations laser**.

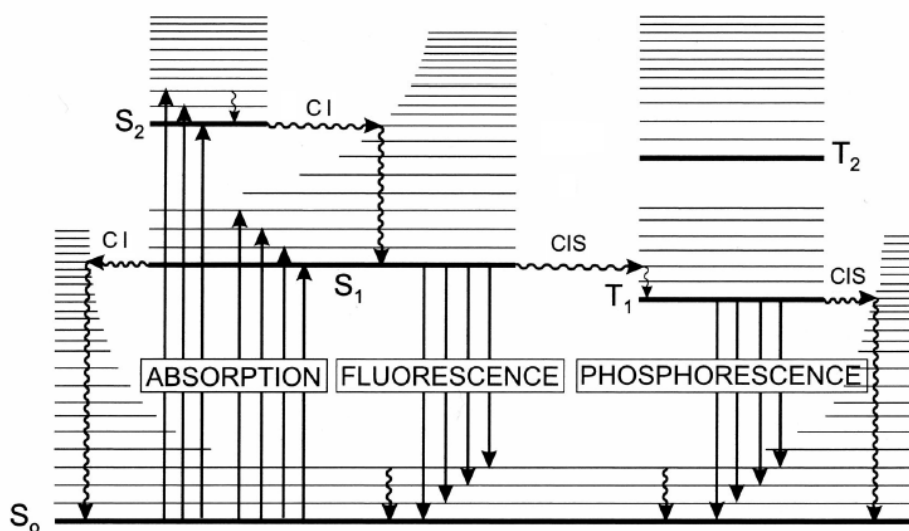


Figure 4.57. : Diagramme de Perrin-Jablonski :

- CI : Conversion interne.
- CIS : Conversion inter-systèmes.
- $S_x$  : État singulet.
- $T_x$  : État triplet.

Les niveaux d'énergie électronique sont représentés par des traits horizontaux gras, les niveaux d'énergie vibrationnelle par des traits horizontaux fins, les transitions radiatives (avec absorption ou émission de lumière) par des flèches verticales droites et les transitions non radiatives (sans émission de lumière) par des flèches ondulées.

## Fluorescence

Les principales caractéristiques de l'émission de fluorescence d'une molécule organique sont :

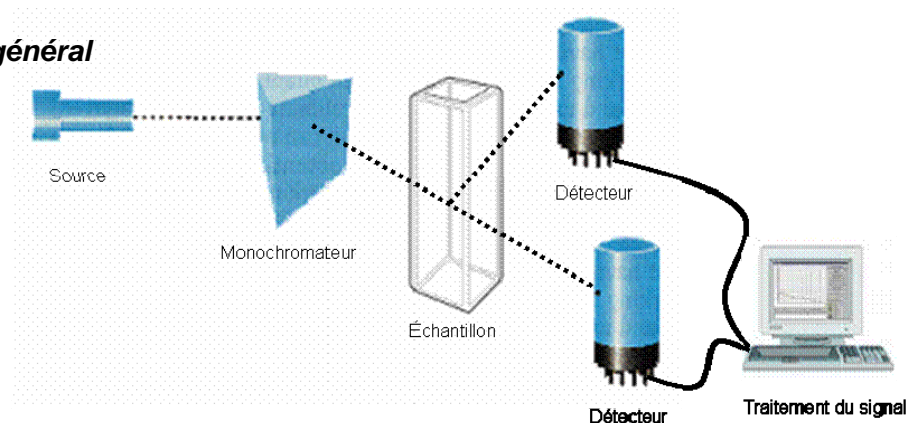
- La **longueur d'onde d'excitation** ( $\lambda_{\text{ex}}$ ), qui correspond à la longueur d'onde d'absorption pour laquelle il y a une fluorescence maximale (et qui correspond en général au maximum du spectre d'absorption).
- La **longueur d'onde d'émission** ( $\lambda_{\text{em}}$ ), qui correspond au maximum du spectre de fluorescence.
- La **durée de vie de fluorescence** ( $\tau_F$ ), qui correspond au temps que passe la molécule à l'état excité avant d'émettre le photon.
- Le **rendement quantique de fluorescence** ( $\Phi_F$ ), qui correspond au nombre de photon émis par photon absorbé. Cette grandeur, comprise entre 0 et 1, caractérise en quelque sorte l'efficacité du phénomène de fluorescence pour une molécule. **L'efficacité d'un fluorophore dépend donc non seulement de ce paramètre, mais également de du coefficient d'absorbance**, puisque plus une molécule fluorescente sera capable de capter de photons, plus elle sera susceptible d'en réémettre.

La fluorescence a connu un très fort développement dans de nombreux domaines (physique, biologie, médecine, environnement, industries pharmaceutiques, etc.) en particulier du fait de la très grande dépendance de la lumière émise par une molécule à son environnement (polarité, pH, température, pression, viscosité, liaisons hydrogènes, etc.)

### Aspect pratique

#### Composition d'un spectromètre de fluorescence UV

##### **Schéma général**



**Figure 4.60. : Schéma général d'un fluorimètre UV** : Une source de rayonnement (ici, une lampe), un monochromateur (ici, un prisme), un échantillon (ici, une solution dans une cuvette), un détecteur (ici, une photodiode) dans l'axe optique et à 90° et un système de traitement du signal (ici, un ordinateur).

Comme on peut le voir à la figure 4.60, le schéma général d'un fluorimètre est en tout point comparable au schéma général d'un spectromètre UV, si ce n'est que cette fois, on

détecte le signal, non seulement dans l'axe optique (mesure du spectre d'absorbance), mais également à 90° de cet axe, pour détecter les émissions de fluorescence.

## Applications de la fluorescence UV

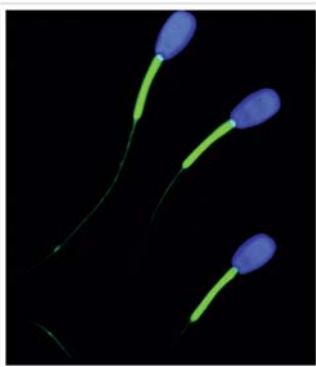
Afin de bien montrer l'étendue des applications de la fluorescence, nous ne nous limiterons pas à la spectroscopie par fluorescence UV exclusivement.

- **Études cinétiques** : Si, un composé fluorescent est le produit ou le réactif d'une réaction, il est possible de suivre l'évolution de cette dernière par mesure de la fluorescence de l'échantillon. Cela permet également, par exemple, d'évaluer l'efficacité d'un catalyseur, comme le montre la figure 4.61.



**Figure 4.61. : Photo de 4 puits d'une plaque de test** : Les Puits 1 et 2 ne contiennent pas un des réactifs de la réaction. Le puits 3 contient les deux réactifs, sans catalyseur ; on y observe une faible fluorescence après plusieurs minutes, trahissant l'apparition d'un produit fluorescent. Dans le puits 4, en présence d'un catalyseur, la fluorescence est plus importante.

- **Marquage** : Certains composés fluorescents ont été créés pour avoir en plus une certaine affinité pour l'une ou l'autre organelle cellulaire, ce qui permet de les colorer spécifiquement, comme l'illustre la figure 4.62.



**Figure 4.62. : Photo de spermatozoïdes de taureau** : Ces spermatozoïdes vivants ont été colorés avec un fluorophore bleu qui marque spécifiquement les noyaux des cellules (tête) et un fluorophore vert qui marque spécifiquement les mitochondries (queue).

- **Détection de métaux** : Il est possible de créer des composés dont la fluorescence va dépendre de la complexation d'un métal.
- **Fixation à l'ADN** : Le bromure d'ithidium, reconnu pour être un bon intercalant de l'ADN, permet la coloration des gels d'ADN pour vérifier l'efficacité d'une PCR ou d'une digestion de plasmide, comme vous l'avez peut-être vu ou allez peut-être le voir dans votre cours de biotechnologie ou de microbiologie.

## 4.5.Spectrométrie de masse

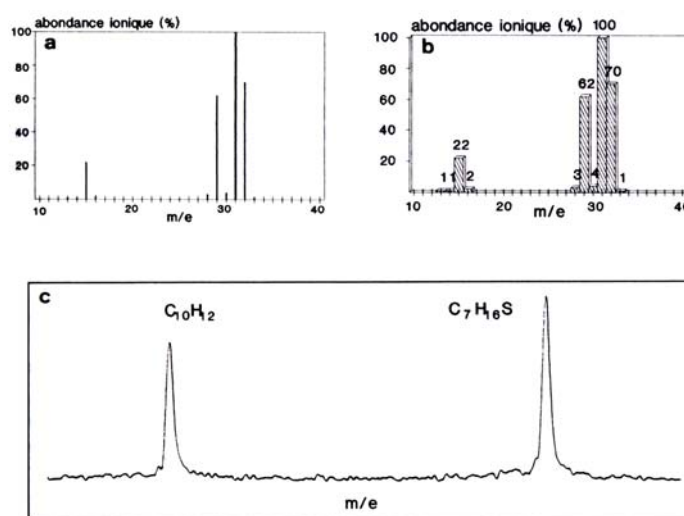
La spectrométrie de masse (SM) permet de recueillir des informations sur la nature, la composition et la structure des espèces présentes dans l'échantillon. Les instruments correspondants sont les spectromètres de masse, appareils de conceptions diverses, dont certains dérivent de montages imaginés au début du 20<sup>ème</sup> siècle par les physiciens pour l'étude des particules ou des atomes ionisés tandis que d'autres utilisent le principe des pièges à ions.

La spectrométrie de masse trouve ses applications dans des secteurs très divers, tels ceux de la chimie organique, de la biochimie, de la parachimie, de l'environnement, de l'agro-alimentaire, de la géochimie, ainsi que dans beaucoup de contrôles de procédés industriels.

### Aspect théorique

#### Principe de la spectrométrie de masse

L'analyse par spectrométrie de masse repose sur l'ionisation, généralement dans une enceinte où règne un vide poussé ( $10^{-4}$  Pa), d'une très petite quantité d'échantillon, afin de créer des ions ; ces espèces chargées sont alors soumises à l'action de champs électriques et/ou magnétiques, suivant les appareils. L'étude des trajectoires suivies permet de déterminer le rapport masse/charge des ions, donc éventuellement leur nature. La représentation sous forme graphique de l'abondance des ions sur la base de leur rapport masse/charge constitue le spectre de masse (figure XXXXXXXX). Celui-ci traduit la fragmentation, à l'échelle statistique, du très grand nombre d'espèces individuelles qui composent tout produit soumis à cette analyse. La méthode, d'une extrême sensibilité, détruit l'échantillon.



En résumé, lorsque l'on soumet un composé moléculaire à cette analyse, on initie un processus en plusieurs étapes enchaînées :

- Ionisation : les molécules présentes dans l'échantillon passent à l'état gazeux, par effet du vide, et sont ionisés par un des procédés existants. Il en résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation des molécules de départ.
- Accélération : sitôt formés, les ions sont dirigés vers le dispositif de séparation, par effet d'un champ électrique qui accroît leur énergie cinétique.
- Séparation : les ions sont alors triés suivant leur rapport masse/charge ( $m/e$ ). Plusieurs procédés peuvent être employés à cette fin.
- Détection : après séparation, les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées.
- Traitement du signal : le signal en sortie de l'appareil conduit au spectre de masse, représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leur rapport masse/charge, mesurable jusqu'à  $10^4$ .

Selon le spectromètre, on accède aux masses individuelles des ions présents avec plus ou moins de précision. Les meilleurs appareils peuvent déterminer les masses avec une extrême précision : la marge d'erreur ne dépasse pas  $10^{-5}$  uma. Tous les appareils, quelles que soient leurs performances, conduisent à une présentation standardisée des résultats sous forme de spectre de fragmentation qui correspond à une répartition des ions, regroupés aux valeurs nominales entières (qui n'existe que de nom et non de fait) les plus proches de leur masse réelles, et dont les intensités sont exprimées en % du pic le plus intense, appelé pic de base.

Ce "spectre-bâtons", qui correspond à la distribution des masses réparties en classes dont les hauteurs sont proportionnelles à leurs abondances, n'est autre qu'une sorte d'histogramme. Néanmoins cette représentation a pour inconvénient qu'à une même masse nominale il peut correspondre plusieurs ions, par ailleurs totalement différents, qui se confondent dans ce type de représentation. C'est pourquoi les spectromètres de masse permettent également une autre présentation des résultats, sous forme d'un tracé continu des masses balayées. Les signaux prennent alors l'aspect de pics gaussiens, plus ou moins larges selon l'appareil. La position de chaque maximum correspond à un rapport masse/charge précis.

Pour identifier un composé moléculaire par spectrométrie de masse, on dispose de deux approches : soit en faisant appel à une spectrothèque où est répertorié un grand nombre de spectres, parmi lesquels on retrouvera celui du composé étudié s'il existe dans la collection, soit en essayant de reconstituer la structure du composé de départ à la manière d'un puzzle. La seconde méthode est un exercice d'une grande difficulté, les fragmentations

étant souvent assez difficilement prévisibles. Il faut alors disposer de plusieurs spectres, enregistrés dans des conditions différentes.

La spectrométrie de masse est devenue progressivement un moyen d'investigation irremplaçable des composés structurés. Elle s'applique également à l'analyse de la composition élémentaire des milieux inorganiques (technique ICP/MS) et peut être étendue à l'étude des mélanges moléculaires, à condition de placer en amont du spectromètre de masse un chromatographe (liquide ou gazeux) ou une électrophorèse capillaire pour séparer les composés.

### Action d'un champ électrique – force de Coulomb

Le fonctionnement des diverses catégories de spectromètres de masse est basé sur l'action des champs électrique et magnétique sur les ions dans le vide.

Lorsque l'on crée une différence de potentiel  $\vec{V}$  (volts) entre deux plaques parallèles distantes de  $d$  (m), il apparaît un champ électrique  $\vec{E}$  (V/m) uniforme si le milieu est homogène et orienté vers les faibles potentiels. On pose :

$$\vec{E} = \frac{\vec{V}}{d}$$

$\vec{E}$  grandeur vectorielle détermine la force de Coulomb qui s'exerce sur l'ion de masse  $m$  porteur de la charge  $q$  et placé dans ce champ.

$$\vec{F} = q\vec{E}$$

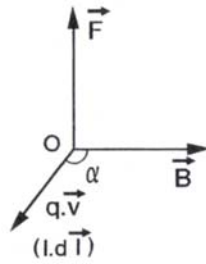
Si  $q > 0$ ,  $\vec{F}$  a le même sens que  $\vec{E}$ , et inversement. Cette force est indépendante de la vitesse de l'ion. En spectrométrie de masse, on remplace souvent  $q$  par  $e$  ou  $z$  pour désigner la charge, bien que les ions portent quelquefois plus d'une seule charge élémentaire.

### Action d'un champ magnétique – formule de Lorentz

La force qui s'exerce sur une particule ou un ion, porteur d'une charge  $q$ , animé d'une vitesse  $\vec{v}$  et soumis à l'action d'un champ d'induction magnétique  $\vec{B}$ , est donnée par une expression connue sous le nom de formule de Lorentz que l'on écrit :



$$\vec{F} = q\vec{v} \wedge \vec{B}$$



Si  $\alpha = \pi/2$  et si on remplace  $q$  par  $e$ , on a  $F = evB$  ( $e$  en coulomb,  $v$  en  $\text{m s}^{-1}$ ,  $B$  en tesla et  $F$  en newton). La formule de Lorentz est déduite de la loi plus générale de Laplace qui exprime la force à laquelle est soumise un conducteur de longueur  $d\vec{l}$ , parcouru par un courant  $I$ , dans un champ d'induction magnétique  $\vec{B}$ .

$$\vec{F} = I d\vec{l} \wedge \vec{B}$$

Le champ magnétique ne modifie pas la vitesse des ions, donc leur énergie cinétique. Par application de la relation fondamentale de dynamique, qui s'écrit, dans le repère du laboratoire,  $\vec{F} = m\vec{a}$ , on en déduit, si  $\alpha = \pi/2$  :

$$\vec{a} = \frac{e}{m} \vec{v} \wedge \vec{B}$$

Seule la composante centripète du vecteur accélération intervient ( $\alpha = \pi/2$ ). L'ion amorce une trajectoire circulaire de rayon  $R$ , dans un plan perpendiculaire à  $\vec{B}$  et contenant  $\vec{v}$ . De ce fait,  $a = v^2/R$ , soit en remplaçant  $a$  par sa valeur tirée de l'expression ci-dessus,

$$\frac{m}{e} = \frac{RB}{v} \text{ ou } R = \frac{mv}{eB}$$

La spectrométrie de masse ne permet d'accéder qu'au rapport masse/charge des ions, porté en abscisse du spectre (c'est pourquoi on écrit par convention  $m/q$  ou  $m/e$ ). Si tous les ions portent la même charge, l'échelle de masse est la même, à un facteur près. C'est pourquoi l'échelle des spectres est indiquée en  $\text{uma}$  (ou  $\text{Da}$ ). Par contre, si un même

fragment  $m$  est porteur de charges différentes, il apparaîtra à plusieurs positions, l'appareil ne pouvant différencier, par exemple,  $m/2e$  et  $(m/2)/e$ .

### **Aspect pratique**

#### Introduction et ionisation de l'échantillon

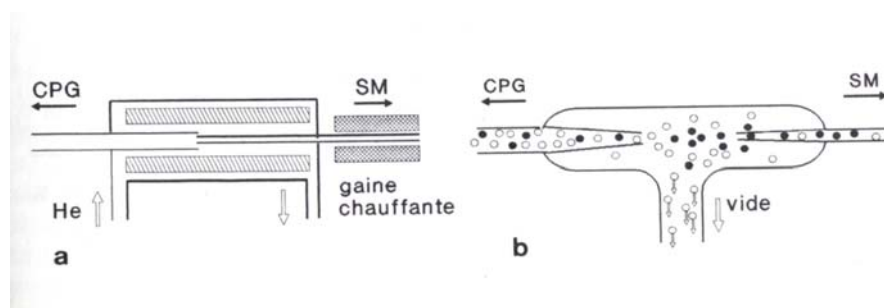
##### **Modes d'introduction directe des échantillons**

Le mode d'introduction dans le spectromètre de masse varie suivant l'état physique de l'échantillon et la technique choisie. Dans le cas d'un gaz ou d'un composé à l'état de vapeur, on introduit un peu de l'échantillon dans un réservoir qui communique avec la chambre d'ionisation par une fuite réglable. Pour un liquide, on utilise une microseringue. Le liquide se trouve vaporisé par effet du vide régnant dans la chambre d'ionisation.

Les solides peuvent être introduits en les déposant à l'extrémité d'une canne métallique chauffante, pour assurer la sublimation du composé, ou par évaporation à partir d'une solution dans un solvant volatil.

##### **Introduction dans le cas d'un couplage CG/SM**

L'interfaçage le plus simple pour la technique couplée CG/SM (GC/MS), consiste à réunir la colonne capillaire et le spectromètre de masse, soit en introduisant directement l'extrémité de la colonne dans la chambre d'ionisation, soit par le relais d'un capillaire de transfert chauffé, placé entre le chromatographe et le spectromètre de masse. A condition que le débit dans la colonne ne dépasse pas quelques ml/min, et que les colonnes soient très longues, les pompes peuvent maintenir le vide nécessaire à l'analyse. Pour les colonnes à garnissage dont le débit est plus élevé, ou pour permettre un emploi moins restrictif de la colonne capillaire, on adapte une microvanne et un restricteur, appelé séparateur. Parmi les autres dispositifs, le séparateur à jet moléculaire permet de concentrer les composés au cours du transfert, l'enrichissement étant basé sur l'énergie cinétique des molécules.



### Introduction dans le cas d'un couplage CLHP/SM

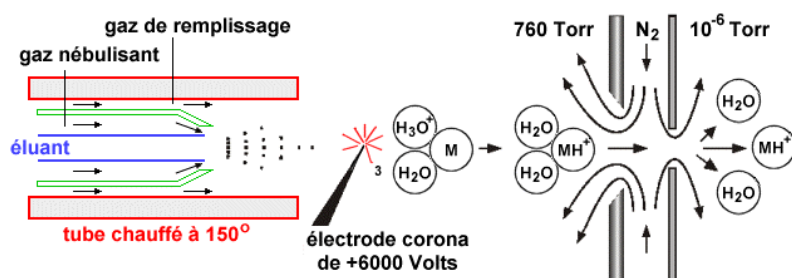
L'interfaçage CLHP/SM pose plus de difficultés par suite de la nature de la phase mobile, particulièrement lorsqu'il s'agit d'éliminer un solvant aqueux (1 ml/min) au niveau de l'interface entre les deux appareils. Il existe toutefois différentes possibilités pour remédier à ce problème.

#### Introduction directe de l'éluant dans la région de la source d'ions :

- Ne peut supporter un débit de 1 ml / min. Un tel débit donne un volume de gaz égal à 1,2 l / min, ce qui dépasse de loin les capacités d'une pompe à vide. Il est donc nécessaire d'utiliser un système split/splitless pour des débits aussi grands.
- S'adapte au débit d'une colonne capillaire qui est de l'ordre de 5 à 50 µl / min. Les composés ne sont jamais complètement désolvatés.

Thermospray : Volatilisation rapide par passage de l'éluant, dont le débit se situe entre 1 et 2 ml/min, dans un capillaire chauffé en présence d'un électrolyte comme l'acétate d'ammonium. Un système de pompage situé en face du capillaire produit un jet supersonique de vapeur contenant de très fines gouttelettes. La taille de ces dernières diminue à mesure qu'elles se déplacent (vaporisation) et, à un certain moment, les ions s'en détachent et entrent dans le spectromètre de masse.

ICPA (Ionisation Chimique à Pression Atmosphérique) : C'est un procédé assez comparable au thermospray, mais avec une ionisation à pression atmosphérique.



**Figure 5.16. : Ionisation à pression atmosphérique.**

Électrospray : L'éluant entre dans une chambre, maintenue à la pression atmosphérique, à travers un fin capillaire en acier inoxydable. Un potentiel élevé est appliqué entre un manchon composé d'une solution dont le rôle est de maximiser l'ionisation des molécules de l'éluant. Ce potentiel a pour effet de créer un champ électrique puissant qui provoque l'apparition de charges à la surface des gouttelettes qui sortent du capillaire en jet très fin. Ces gouttelettes se déplacent dans un courant d'azote à travers un orifice de la contre

électrode, processus qui contribue à l'évaporation du solvant présent dans les gouttelettes. Ce même courant d'azote transporte les ions dans le spectromètre de masse. Les ions formés par ce type d'ionisation possèdent un rapport  $m/z$  (masse sur charge) élevé, ce qui permet de faire l'analyse de molécules de masse molaire élevée comme les protéines.

Inconvénients :

- Limité à un débit assez faible (quelques  $\mu\text{l}$  par minute).
- Problème de nébulisation si changement de solvant (utilisation de gradient).

Développements récents dans ce mode d'ionisation :

- Addition de gaz qui aide à la nébulisation du liquide et à la désolvatation des ions.
- Chauffage du capillaire (permet d'augmenter le débit).

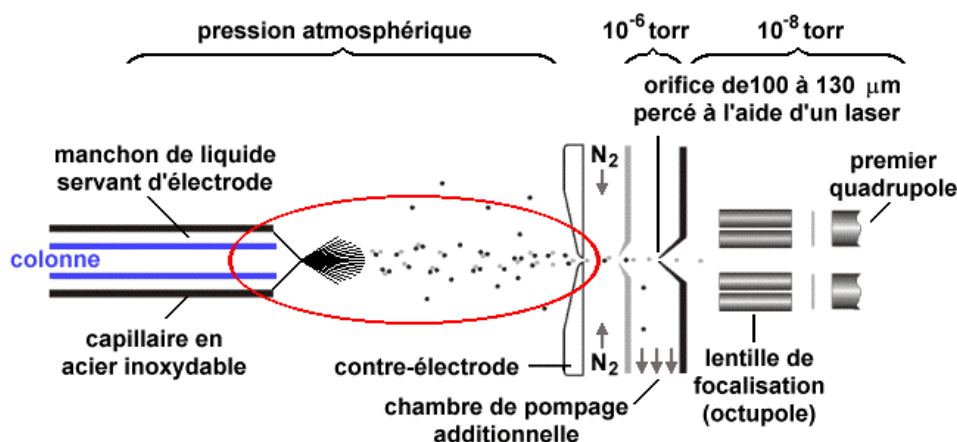
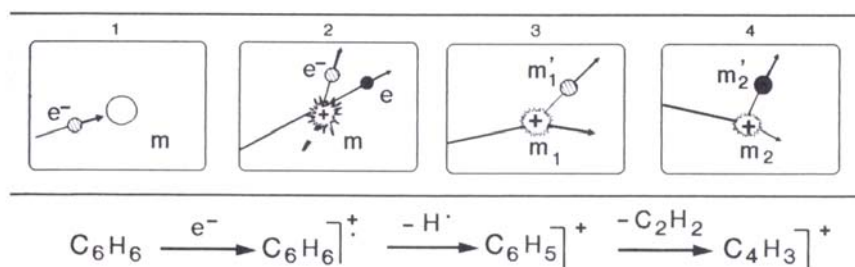


Figure 5.17. : Électrospray

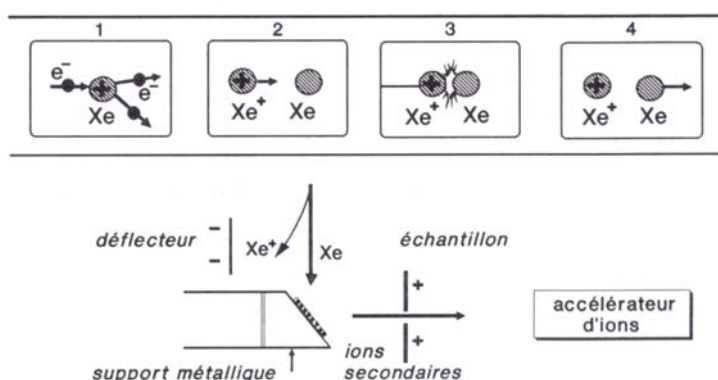
### Ionisation par impact électronique

L'ionisation par impact électronique, dérive des premières expériences sur les tubes à décharge, les "rayons canaux" et les rayons cathodiques. Elle est provoquée par impact d'électrons sur l'échantillon. Le standard d'ionisation – 70 eV – est obtenu avec des électrons produits par effet thermoionique, accélérés par une différence de potentiel de 70 V. Afin d'accroître, sur le spectre, l'intensité relative du pic moléculaire  $M^+$ , il est possible de choisir une énergie d'ionisation plus faible, 15 eV par exemple.

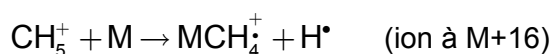
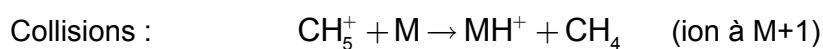
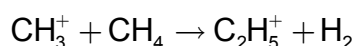
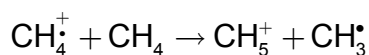
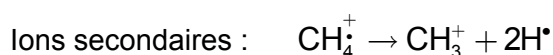
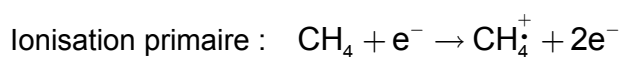


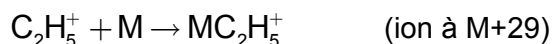
**Désorption / ionisation**

L'échantillon est ionisé par impact d'atomes lourds (Xe ou Ar), ou avec des ions ( $\text{Cs}^+$  ou  $\text{Na}^+$ ), animés d'une grande vitesse. Ainsi dans la méthode de bombardement par des atomes rapides (FAB), on ionise un gaz atomique avec des électrons, puis on accélère les ions formés afin de les faire entrer en collision avec des atomes du gaz restés à l'état neutre. Ceux-ci sont projetés à grande vitesse sur l'échantillon déposé, à l'état de film, sur un support métallique. Cette technique évite de chauffer les composés et permet de faire des études de plus longue durée.

**Ionisation chimique (IC)**

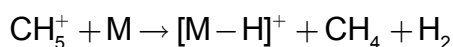
L'échantillon est bombardé par des ions issus de petites molécules. Pour cela, on introduit dans la chambre d'ionisation, conjointement au composé à analyser, un gaz en large excès, tel que le méthane, l'ammoniac ou l'isobutane, à la pression de 0,1 Pa. On bombarde ce mélange par des électrons. La pression du gaz étant telle que le libre parcours moyen des molécules est faible, il se produit des collisions entre les espèces réactives. En prenant l'exemple du méthane, on a :





En général, la présence d'ions relativement lourds dans ces milieux rend inopportune l'étude du spectre en dessous de 45 uma.

L'ion quasi moléculaire  $\text{MH}^+$  (qui n'est pas un ion radical) a une moindre tendance à se fragmenter que l'ion moléculaire  $\text{M}^+$  en ionisation électronique. Il permet généralement de repérer la masse moléculaire. La formation de  $\text{MH}^+$  dépend cependant de l'affinité de M pour  $\text{H}^+$ , si bien que dans d'assez nombreux cas, on observe un ion  $(\text{M}-1)^+$ , ce qui fait que l'ionisation chimique laisse toujours planer un doute sur la valeur de la masse moléculaire du composé étudié.

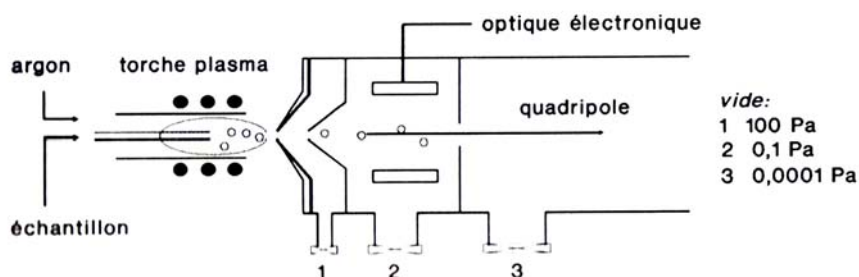


$\text{NH}_4^+$  se comporte comme  $\text{CH}_5^+$ . Quant à l'isobutane, il donne avec facilité l'ion  $(\text{CH}_3)_3\text{C}^+$  stable, qui conduit à l'ion  $(\text{M}+1)$ , en se transformant en isobutène :



### Ionisation par plasma (ICP/MS)

Cette méthode est réservée à l'analyse élémentaire des échantillons en solution aqueuse. Elle convient bien aux sels inorganiques. L'échantillon nébulisé est introduit au centre d'un plasma d'argon placé à l'entrée du spectromètre et dont la température est de l'ordre de 7000 K.



Après désolvatation, vaporisation et dissociation, les éléments dont l'énergie de première ionisation est inférieure à 10 eV sont totalement ionisés (ceci concerne une cinquantaine d'éléments). Les ions sont aspirés par le spectromètre de masse en passant

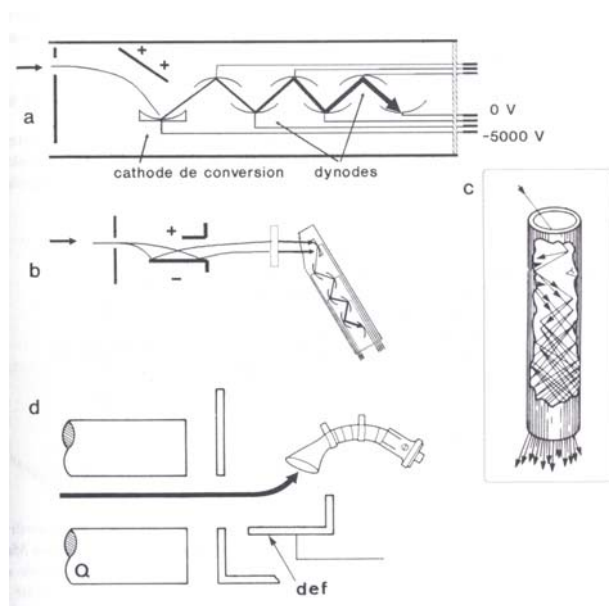
par une interface conçue autour d'un dispositif séparateur refroidi, assez semblable au système utilisé dans le couplage CLHP/SM.

## Détecteurs à ions

La détection repose sur les mesures électriques des charges transportées pour lesquelles on retrouve des principes qui sont communs avec la détection des photons.

Ces détecteurs fixes impose que l'on explore le domaine  $m/e$  par un balayage en fonction du temps. Certains modèles ont une telle sensibilité qu'ils peuvent repérer l'impact d'un seul ion. Ordinairement le nombre d'ions d'une même espèce est grand, de sorte que le signal est de type analogique. On distingue :

- Les multiplicateurs d'électrons à dynodes séparées. Dont le fonctionnement est comparable aux photomultiplicateurs, si ce n'est que cette fois, l'arrachement initial d'électrons n'est pas provoqué par l'impact d'un photon, mais par l'impact d'un ion. Malheureusement, ces détecteurs vieillissent assez mal, mais il est possible de les remplacer par des photomultiplicateurs, en ajoutant un système de conversion ion  $\rightarrow$  photon, ce qui conduit à un montage appelé dynolite.
- Les multiplicateurs d'électrons à dynode continue (channeltron). Les ions sont déviés vers un collecteur dont l'entrée en forme de cornet est constitué d'un verre dopé au plomb qui fait office de cathode de conversion. Les électrons libérés sont attirés par un gradient de potentiel vers une électrode positive. Les chocs successifs des électrons sur les parois provoquent leur multiplication, comme sur des dynodes séparées. Le montage est désaxé, par rapport à la trajectoire incidente des ions, pour préserver la partie sensible du détecteur de l'impact des espèces neutres ainsi que des photons émis par le filament, susceptibles également d'arracher des électrons.



## Performance des spectres de masse

### Limite en masse

Chaque appareil permet la mesure du rapport  $m/e$  des ions jusqu'à une valeur limite. Cette valeur supérieure est exprimée en uma pour un ion porteur d'une seule charge élémentaire. Certains constructeurs prennent pour valeur, la masse à partir de laquelle on ne peut distinguer  $M$  de  $M+1$ . Il va de soi que si l'ion est porteur de  $n$  charges, la limite en masse se trouve multipliée par  $n$ .

### Sensibilité

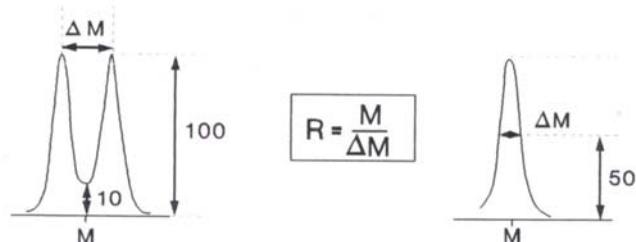
La sensibilité d'un appareil se mesure en masse d'échantillon consommé par seconde (de l'ordre du pg), pour obtenir un signal d'intensité normalisée.

### Pouvoir de résolution

Les pics des spectres de masses des appareils présentent l'aspect de courbes gaussiennes plus ou moins larges par la suite d'imperfections diverses. Le pouvoir de résolution est un paramètre qui permet de juger de l'efficacité des appareils à séparer des ions de masses voisines. Il est défini par  $R = M/\Delta M$ , calculé sur un enregistrement réel, après que l'appareil ait été réglé au mieux de ses performances. La masse  $M$  est mesurée au milieu du pic choisi. Quant à  $\Delta M$ , il correspond :

- soit à la largeur du pic à mi-hauteur, en unités de masse.
- soit à l'écart minimum entre deux masses voisines, de même intensité, tel que la vallée, entre les pics ne dépasse pas 10 % de leur hauteur.

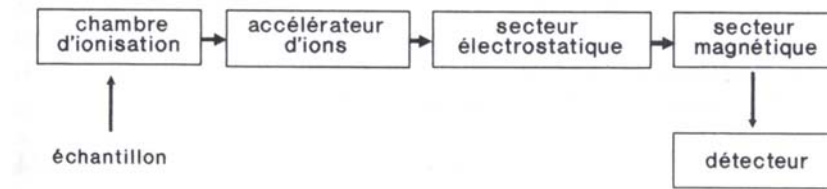
Le pouvoir de résolution est sans dimension. Avec des appareils à secteur magnétique,  $\Delta M$  varie avec  $M$  et il faut donc préciser la masse ayant servi au calcul. Avec des appareils à filtres quadripolaires,  $\Delta M$  est constant.





## Spectrométrie à secteur magnétique et double focalisation

Cette catégorie d'appareils sépare les ions par effet d'un champ magnétique orienté perpendiculairement à la trajectoire des ions.



Dans certains montages, l'ordre des deux secteurs est inversé (le secteur électrostatique est placé avant le secteur magnétique). Etant donné la quantité d'informations produites au cours d'une seule analyse, le traitement des données par l'ordinateur s'avère indispensable pour la correction, la manipulation, la conservation et la visualisation des données, sans oublier l'impression des résultats et le diagnostic des pannes de l'appareil.

### Accélérateur d'ions

Environ 5 % des ions formés amorcent le parcours qui va les mener jusqu'au détecteur. Les ions (supposés ici positifs) sont accélérés au moyen de plusieurs plaques portées à des potentiels négatifs croissants, la différence de potentiel totale pouvant atteindre 10 000 V. Le vide doit être excellent pour éviter la formation d'arcs électriques.

Les ions acquièrent tous une même énergie cinétique  $E_c = eU$ . La vitesse acquise après accélération est donc inversement proportionnelle à la racine carrée de leur masse :

$$v_i = \sqrt{\frac{2eU}{m_i}}$$

Cependant leur énergie cinétique  $E_0$  avant accélération, bien que très petite devant celle qu'ils ont acquise, est la cause d'une faible dispersion de leur énergie cinétique totale.

$$E_{\text{totale}} = E_0 + E_c$$

### Secteur électrostatique

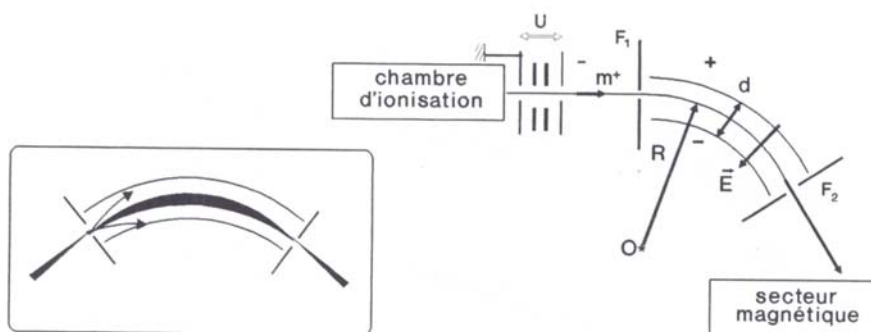
L'inhomogénéité énergétique précitée est neutralisée en faisant passer les ions à travers un secteur constitué de deux électrodes cylindriques concentriques qui sélectionnent les ions ayant la même énergie, quelle que soit leur masse. Ce système à champ radial, également focalisateur en direction, redresse les trajectoires quelque peu divergentes, à l'entrée du secteur.

La force  $\vec{F} = e\vec{E}$  qui s'exerce sur les ions est perpendiculaire à la trajectoire centrale de rayon  $R$  et ne modifie donc pas leur énergie. En grandeur, elle est égale à  $F = mv^2/R$ . En remplaçant le produit  $mv^2$  par son équivalent en fonction de tension accélératrice ( $mv^2 = 2eU$ ), on aboutit à la relation fixant les conditions de passage des ions dans le secteur radial :

$$E = \frac{2U}{R}$$

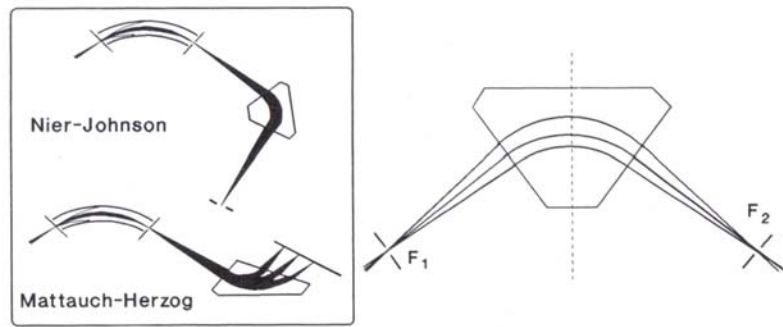
Lorsque  $E$  et  $U$  sont reliés par cette expression, seuls les ions ayant exactement l'énergie acquise au cours de l'accélération passeront par la fente de sortie. En reliant  $U$  à la différence de potentiel  $V$  entre les plaques du secteurs distantes de  $d$  ( $V = Ed$ ), l'expression devient :

$$V = \frac{2d}{R}U$$



### Secteur magnétique

A la suite du secteur électrostatique, se trouve le secteur magnétique. Les appareils se partagent entre le montage Nier-Johnson pour lequel la courbure imposée par le champ magnétique est de même sens que la courbure due au secteur électrostatique et le montage de type Mattauch-Herzog où ces deux courbures sont opposées.



En éliminant la vitesse  $v$  par combinaison des relations vues précédemment, on retrouve la formule de déflexion des appareils classiques à secteur magnétique :

$$\frac{m}{e} = \frac{R^2 B^2}{2U}$$

Seuls les ions ayant suivi la trajectoire de rayon  $R$ , imposé par la construction, pourront être détectés. Par conséquent, pour repérer les masses présentes on fait varier  $B$  (mode normal d'utilisation) ou  $U$ , de manière progressive, pour que les ions suivent successivement l'unique parcours qui permet leur détection.

Comme le secteur électrostatique, le secteur magnétique – encore appelé prisme magnétique – est focalisateur en direction : un faisceau d'ions identiques abordant le secteur magnétique sous un petit angle de divergence  $\alpha$ , est focalisé en  $F_2$ , fente image de  $F_1$ . A chaque instant une seule masse peut suivre la trajectoire de rayon  $R$ .

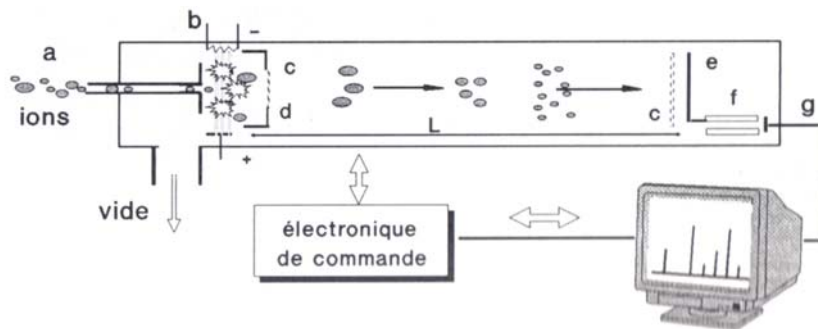
Le qualificatif de double focalisation donné à ces appareils, vient de ce que les montages en tandem des deux secteurs permettent de corriger à la fois les aberrations angulaires et en énergie des ions (focalisation en direction par le secteur magnétique et en vitesse par le secteur électrostatique).

## Spectromètre à temps de vol

L'interdépendance entre la masse et la vitesse des ions est à la base du principe des appareils à temps de vol. Les ions sont soumis, durant un temps très bref, à un potentiel accélérateur (ex. 2000 V durant 10  $\mu$ s, de manière répétitive).

L'instrument mesure ensuite le temps nécessaire aux divers ions pulsés pour parcourir, d'un mouvement rectiligne uniforme dans le vide du tube analyseur, une distance  $L$ , libre de tout champ. En éliminant  $v$  entre les deux expressions  $\frac{1}{2} mv^2 = eU$  et  $L = vt$ , on obtient la relation classique de ces appareils qui relie temps de parcours et masse :

$$m = \frac{2eU}{L^2} t^2$$



La résolution de ces appareils a longtemps été faible par suite de manque de précision dans la mesure des temps très brefs et de la dispersion énergétique des ions. Pour améliorer ce paramètre, la solution actuelle consiste à employer un laser pour obtenir des durées d'ionisation de quelques nanosecondes.

## Spectromètre à résonance cyclotronique

Cette catégorie de spectromètre utilise la technique des pièges magnétiques à ions. Elle conduit à une très grande précision dans la mesure des masses, mais leur prix élevé reste un handicap à leur diffusion.

### L'équation du cyclotron

Lorsque des ions sont soumis à l'action d'un champ d'induction magnétique sous une incidence normale à leur direction, ils amorcent un mouvement circulaire dans leur plan de propagation. Le rayon du cercle décrit se calcule facilement, comme nous l'avons vu, à partir de la formule de Lorentz.

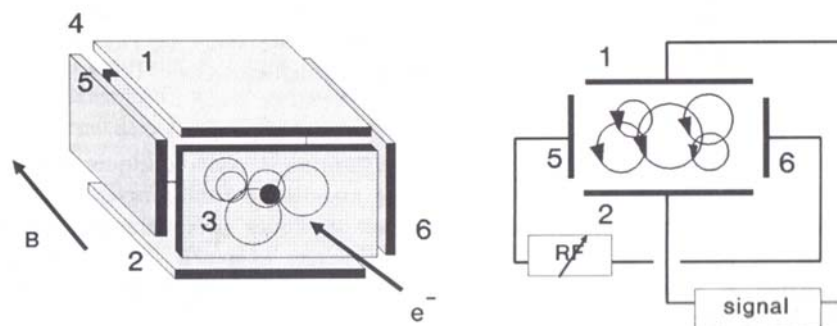
Si  $v$  est faible, le rayon du cercle sera suffisamment petit (quelques mm) pour que l'ion décrive toute la circonférence et se maintienne aussi longtemps qu'on le veut dans la chambre d'ionisation moyennant quelques précautions (haut vide, répulsion des parois). A partir des relations générales  $\omega = v/R$  et  $v = \omega/2\pi$ , on peut calculer la fréquence de rotation des ions et arriver à l'équation du cyclotron :

$$\nu = \frac{eB}{2\pi m}$$

La fréquence  $\nu$  de l'ion et le rayon de sa trajectoire dépendent de sa masse, mais non de sa vitesse. Par conséquent il y aura, à un instant donné, autant de fréquences différentes que d'ions de masses différentes dans le piège.

### **Conception de l'appareil**

Les ions sont formés par l'impact d'un faisceau d'électrons qui pénètre dans une cellule de section rectangulaire placée dans le champ magnétique, comme indiqué sur la figure ci-dessous.



Ces ions, prisonniers dans un puits de potentiel par l'effet d'une polarité de + 1V appliquée aux parois 1 et 2, décrivent des orbites circulaires avec des fréquences caractéristiques. Toutes ces trajectoires forment un ensemble incohérent qui n'exerce pas d'effet macroscopique à l'extérieur de la cellule, il n'y a donc pas de signal détectable. L'analyse des masses consiste précisément à déterminer les différentes fréquences des ions.

### **Omégatron**

Par un lent balayage de radiofréquence appliqué à deux des parois opposées de la cellule, on déstabilise les ions les uns après les autres : lorsque la radiofréquence rejoint celle d'un ion, l'énergie mécanique de l'ion augmente, ce qui se traduit par un accroissement de sa vitesse, donc du rayon de sa trajectoire. L'ion amorce un mouvement de spirale qui cesse dès qu'il vient au contact d'une des plaques directrices. Ce système, assez peu sensible, reste utilisé pour l'analyse des gaz.

### **Spectromètre de masse à transformée de Fourier**

La seconde méthode consiste à envoyer une brève impulsion d'une bande de radiofréquences contenant celles que l'on veut détecter. Dans ces conditions tous les ions captent de l'énergie : les rayons de leurs orbites s'accroissent. Les ions d'une même masse perdent leur incohérence : ils se mettent à tourner en phase. Par exemple, tous les ions d'une même masse  $m$  passent auprès de la plaque supérieure au même instant, ce qui fait apparaître un signal détectable appelé interférogramme [ $I = f(t)$ ], dont l'intensité décroît lorsque l'excitation cesse.

Chaque point de l'interférogramme est une indication d'ensemble de toutes les fréquences dont il est issu. Les conditions sont réunies pour que le calculateur de l'appareil puisse faire l'analyse de Fourier, c'est à dire passer de  $I = f(t)$  à  $I = f(v)$ , donc finalement au spectre de masse  $I = f(m/e)$ .

Malgré l'intérêt de cette méthode qui donne des masses très précises, peu de constructeurs se sont lancés dans la commercialisation de ces appareils.

## Spectromètre à filtre quadrupolaire

La plupart des applications relevant de la spectrométrie de masse n'exigent pas des spectres de haute résolution. Aussi trouve-t-on, à côté des instruments précédents, d'autres montages aux performances plus modestes, mais moins coûteux et peu encombrants. C'est dans cette catégorie que se situent les appareils à champ électrique seul basés sur les filtres quadrupolaires, très utilisés comme détecteurs de masses dans la technique couplée CG/SM ainsi que dans nombre d'applications industrielles concernant le vide ou l'analyse des gaz.

### **Potentiel et champ électrique dans un filtre quadrupolaire**

Un filtre quadrupolaire est composé de quatre barres conductrices de quelques décimètres de longueur, raccordées électriquement deux à deux, entre lesquelles on crée une différence de potentiel. En posant que la distance minimale entre deux barres opposées est égale à  $2r_0$ , on admettra que le potentiel  $\mathcal{U}$ , en tout point  $M$  situé dans un plan  $xOy$  à l'intérieur du quadrupôle a pour valeur dans le référentiel choisi, quel que soit  $z$  :

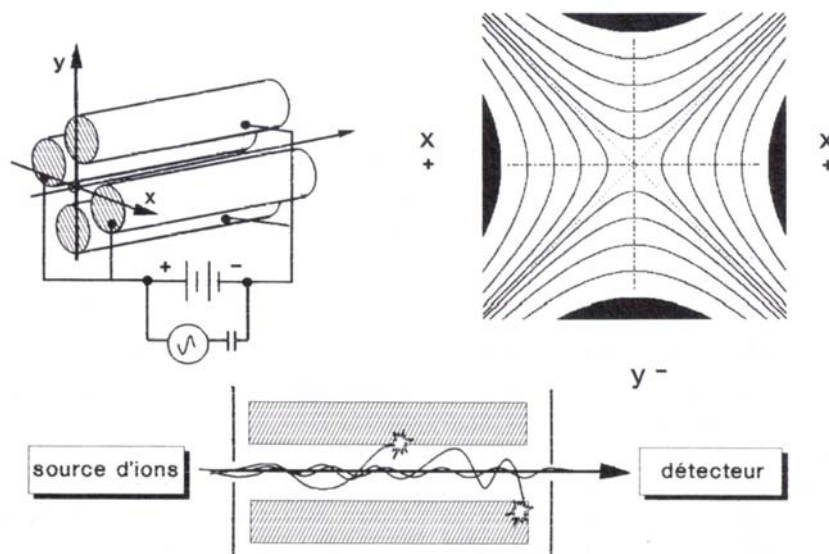
$$\mathcal{U} = \frac{V_0}{2} \frac{x^2 - y^2}{r_0^2}$$

$\mathcal{U}$  peut varier de  $-V_0/2$  à  $V_0/2$ , la différence de potentiel totale étant  $V_0$ . Le potentiel  $\mathcal{U}$  est nul en O, le milieu étant supposé homogène. Tous les plans perpendiculaires à Oz étant semblables, la composante du champ électrique est également nulle dans la direction Oz. L'expression, ci-dessus, implique que dans tout plan xOy les points ayant même potentiel sont situés sur les branches d'une hyperbole équilatère dont les asymptotes sont les droites  $y = \pm x$ .

A chaque valeur du potentiel correspond le tracé d'une branche d'hyperbole. Les lignes de champ sont des trajectoires orthogonales aux courbes équipotentielles ; en chaque point  $M_{xyz}$ , le champ électrique a pour valeur :  $\vec{E} = -\overrightarrow{\text{grad}} \mathcal{U}$ .

$$\text{si } \mathcal{U} = +V_0/2 \quad y^2 = x^2 - r_0^2$$

$$\text{si } \mathcal{U} = -V_0/2 \quad y^2 = x^2 + r_0^2$$



### Étude du trajet des ions dans un filtre quadrupolaire

Lorsqu'un ion positif entre dans le filtre, les composantes de son vecteur vitesse dans les trois directions xyz vont déterminer sa trajectoire qui sera, en général, complexe sauf dans deux cas bien particuliers :

- composante de vitesse nulle suivant Oy : dans ce cas, la trajectoire reste dans le plan xOy. L'ion se déplace entre deux parois chargées positivement qui le repoussent vers le centre, correspondant à une vallée de potentiel. Une transposition imagée est celle d'une bille que l'on lance dans l'axe d'une gouttière horizontale. Le trajet central

est favorisé, même s'il existe une composante de vitesse selon Ox, auquel cas la bille effectuera des oscillations.

- composante de vitesse nulle suivant Ox : la trajectoire se situe dans le plan yOz ; la situation est différente de la précédente. L'ion, attiré vers les barres chargées négativement, est sur une bosse de potentiel, correspondant à une trajectoire instable (l'amplitude va dépasser  $r_0$ ). Pour reprendre l'image précédente, il faudrait envisager cette fois une bille que l'on enverrait sur le dos d'une gouttière : on imagine aisément la trajectoire qu'elle suivrait !



### **Utilisation d'un filtre quadrupolaire pour trier les ions**

On superpose à la tension continue  $V_0$  une tension alternative  $V_{RF}$  de fréquence  $\nu$  et d'amplitude maximale  $V_M$  ( $\nu$  est de l'ordre de 1,2 MHz et  $V_M/V_0$  de 6).

$$V_{RF} = V_M \cos(2\pi\nu t)$$

Les tensions alternatives sont déphasées de  $\pi$  entre les deux jeux de barres. En chaque point, à l'intérieur du filtre, mis à part l'axe Oz, le potentiel varie, de même que le champ :

$$\mathcal{U} = \left[ \frac{V_0}{2} + V_M \cos(2\pi\nu t) \right] \frac{x^2 - y^2}{r_0^2}$$

On obtient les équations du mouvement d'un ion à partir des forces  $F_x$ ,  $F_y$  et  $F_z$  qui s'exercent sur lui. Ces équations de Mathieu permettent de définir des trajectoires ayant la forme d'une hélice de tir-bouchon.

Empiriquement, étudions à nouveau ce qui se passe dans les deux cas particuliers déjà abordés :

- composante de vitesse nulle suivant Oy : la trajectoire reste dans le plan xOz. Les parois devenant alternativement positives et négatives, les ions lourds auront une



inertie trop grande pour suivre ces variations d'orientation du champ électrique : ils resteront peu perturbés. Par contre, les ions légers se mettront à osciller et ne pourront pas, en général, trouver le trou de sortie du filtre. On a réalisé ce qu'on appelle un filtre passe-haut.

- composante de vitesse nulle suivant Ox : la trajectoire restera dans le plan yOz. Les ions lourds vont continuer comme si de rien n'était, tandis que les ions légers vont pouvoir être éventuellement récupérés. On est en présence d'un filtre passe-bas.

Par choix judicieux des potentiels  $V_0$  et  $V_{RF}$ , on démontre que le filtre ne laisse passer qu'un petit intervalle en masses, en particulier si  $V_0/V_{RF} < 0,2$ . En faisant varier cette bande passante, on sélectionne les ions de masses croissantes et on comprend qu'il soit ainsi possible d'obtenir un spectre de masse.

Le facteur de résolution  $R$  des filtres quadrupolaires est relié au nombre d'oscillations  $N$  que les ions effectuent pendant leur parcours dans le champ. La formule approchée est la suivante :

$$R = \frac{N^2}{20}$$

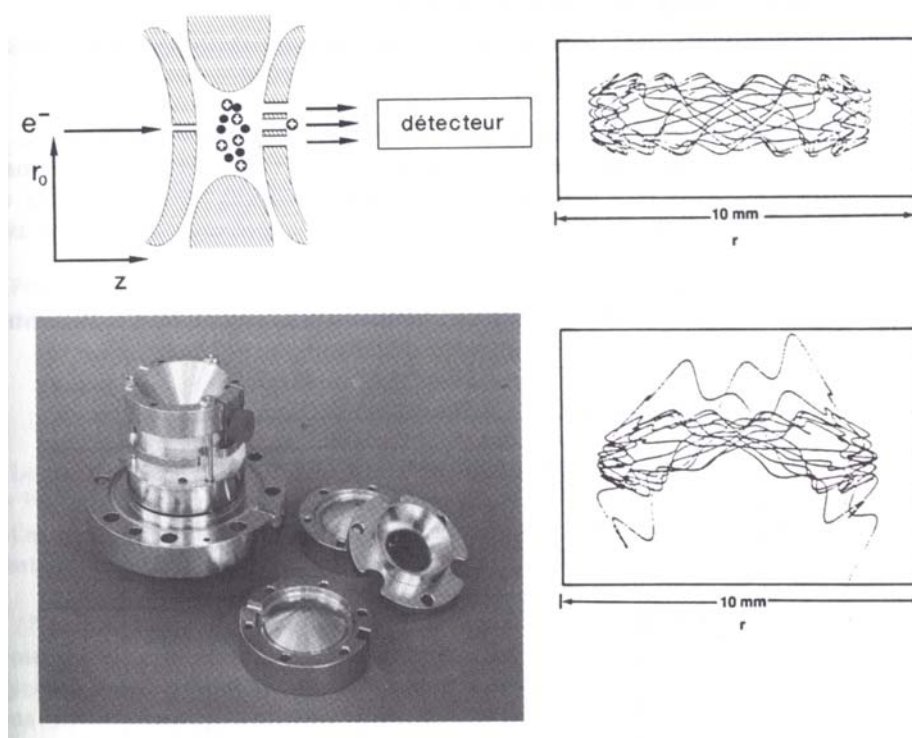
En reliant  $N$  aux paramètres les plus classiques (vitesse et énergie des ions), on aboutit à une relation montrant que la résolution demeure constante. Avec  $L$ , longueur du filtre,  $M$  la masse de l'ion,  $U_z$  la différence de potentiel dans la direction Oz :

$$R = \frac{v^2 L^2 M}{40eU_z}$$

$$\Delta M = \frac{40eU_z}{v^2 L^2} = \text{cte}$$

## Spectromètre à piégeage d'ions

Un dernier type d'appareil est représenté par les pièges électriques à ions, par opposition aux pièges magnétiques des montages à résonance cyclotronique. Les ions sont confinés entre des électrodes de formes particulières, soumises à des potentiels de radiofréquence. Simples en apparence, mais complexes d'un point de vue fondamental, ces détecteurs à piégeage d'ions sont plus sensibles que des filtres quadrupolaires. Le volume délimité par les électrodes, dites supérieure, inférieure et annulaire, constitue à la fois la chambre d'ionisation et le filtre de masse.



Une approche qualitative du fonctionnement peut se résumer comme suit. Le composé introduit dans cette cavité est ionisé par un bombardement d'électrons, de très courte durée définie par une électrode de contrôle. Une radiofréquence fixe, appliquée à l'électrode annulaire, confine les ions formés dans l'espace central où ils décrivent des trajectoires complexes, amorties par effet d'une faible pression d'hélium, de l'ordre de 0,01 Pa. L'analyse des ions se fait en les extrayant dans l'ordre des masses croissantes par augmentation de l'amplitude du champ de radiofréquence : l'amplitude d'oscillation des ions croît dans la direction axiale et va jusqu'à conduire à leur éjection vers les électrodes d'entrée ou de sortie. Ceux qui traversent l'électrode de sortie, percée en son centre, atteignent le détecteur (channeltron). Par introduction conjointe de l'échantillon et d'un gaz réactant dans le piège on obtient, sans autres modification, une ionisation chimique.

## Établissement des formules développées des composés moléculaires

La spectrométrie de masse permet d'obtenir des renseignements sur la composition atomique et surtout sur la structure des composés moléculaires, ce qui revêt une grande importance en chimie organique où l'analyse d'un composé peut se faire à plusieurs niveaux.

### Détermination des formules brutes

Suivant le matériel dont on dispose, il existe plusieurs méthodes pour résoudre ce problème.

### Méthode utilisant un appareil à haute résolution

La détermination de la masse d'un ion avec une grande précision, par la technique de "peak-matching", peut mener directement à la formule brute recherchée. Toute ambiguïté est levée, dès lors que l'on connaît la nature des éléments présents et la masse avec quatre ou cinq décimales exactes.

Aux débuts de la spectrométrie de masse, la seule solution consistait à rechercher dans des tables classées par masse et composition, la formule brute s'approchant le plus de celle déterminée expérimentalement. Maintenant les appareils proposent la formule brute la plus probable en fonction de la masse trouvée. L'algorithme de recherche tient compte des éléments que l'on suppose être présents afin de limiter les calculs.

### Méthode utilisant un appareil basse résolution

Si l'appareil ne permet d'accéder qu'aux masses nominales, on compare les intensités des pics de l'amas isotopique de l'ion parent (pics M, M+1, M+2, etc.) car elles reflètent les abondances isotopiques naturelles des éléments présents. Les amas isotopiques forment des combinaisons uniques pour chaque formule brute. L'utilisation de cette méthode pour déterminer la formule brute suppose que l'on dispose d'une table de valeurs calculées ou bien d'un ordinateur pour rechercher la formule brute dont l'amas isotopique s'approche le plus des valeurs expérimentales.

Pour les composés ne comportant que les éléments C, H, N, O, F, P, les intensités des pics M+1 et M+2 sont données par les formules simplifiées suivantes :

$$(M+1)\% = 1,1 n_C + 0,36 n_N$$
$$(M+2)\% = n_C(n_C - 1) \cdot 1,1^2/200 + 0,2 n_O$$

Le pic M+1 sera d'autant plus important que le nombre d'atomes de  $^{13}\text{C}$ , de  $^{15}\text{N}$  ou de  $^{35}\text{S}$  sera plus grand. Par contre, le pic M+2 dépend de  $^{18}\text{O}$ ,  $^{34}\text{S}$ ,  $^{37}\text{Cl}$ , etc.

Ces formules permettent aussi de déduire le nombre maximum de C dans un composé dont on connaît l'amas isotopique.

### Méthode utilisant les ions moléculaires polychargés

Les masses moléculaires très élevées, rencontrées notamment en biochimie (protéines, glycoprotéines, polysaccharides, etc.), peuvent être déterminées par SM, en

étudiant les ions polychargés (2... 10... 30... fois la charge de l'électron). En effet, plus la charge de l'ion est grande, plus on recule la limite en masse de l'appareil, qui donne le rapport  $m/e$  (et directement la masse, dans tous les cas où la charge de l'ion est unitaire). Ainsi avec un appareil dont la limite est  $m/e = 4000$ , il est possible d'observer un ion de masse 120 000 si ce dernier est porteur de 30 charges élémentaires. Ces analyses sont couramment réalisées avec les procédés d'ionisation douce électrospray ou thermospray.

### **Identification d'un composé à l'aide d'une spectrothèque**

Plusieurs algorithmes de comparaison sont utilisés pour retrouver dans une spectrothèque quels sont les spectres les plus semblables à celui que l'on veut identifier. Généralement, la recherche est divisée en trois stades :

- Réduction des données. Le spectre du composé est ramené à 16 pics au maximum, en donnant la préférence aux pics lourds, plus significatifs que les pics légers. De même, chaque spectre en bibliothèque est réduit à 8 pics.
- Prérecherche. On sélectionne les spectres réduits de la spectrothèque, ayant les pics aux mêmes positions que dans le spectre réduit du composé, même si l'intensité est différente.
- Recherche principale. Enfin, la sélection précédente est reprise par un algorithme plus fin, qui, à partir de critères de choix faisant intervenir intensité, masse et rareté du pic, affecte un indice de 0 à 1000 (identité) à chaque spectre, ce qui permet de les classer par similarité croissante. Cet algorithme de pureté n'est pas unique. En modifiant les critères de choix, on peut évidemment affiner la recherche en procédant par recoupement entre divers classements.

Ce procédé est devenu d'usage courant pour l'analyse des composés répertoriés.

### **Règles de fragmentation**

L'identification des composés avec l'aide d'une spectrothèque constitue une aide efficace, mais cette approche peut conduire à des erreurs. C'est pourquoi l'interprétation de la nature et l'origine des pics de fragmentation en masse reste toujours d'un grand intérêt. Des ouvrages spécialisés y sont consacrés. Elle nécessite une grande expérience. Le chimiste organicien y est généralement bien préparé, car il retrouve les mêmes types d'ions dans les mécanismes réactionnels en phases condensées, à la différence cependant que les ions se déplacent ici dans le vide et sans entrer en collision. Les temps de parcours étant très brefs, on peut envisager des espèces très instables. Toutes les liaisons n'ont pas la

même prédisposition à se couper. En ionisation électronique, l'action commence par l'arrachement d'un électron de la molécule, appartenant à une liaison ou à un doublet libre. A ce stade, la molécule est ionisée, mais non fragmentée. Dans un second temps, l'ion moléculaire va pouvoir évoluer. Ainsi l'ionisation de l'isobutane peut conduire à la perte d'un radical méthyle, le cation isopropyle sera favorisé car il est thermodynamiquement plus stable que le cation méthyle.

Pour les composés qui comportent des hétéroatomes, l'ionisation se porte de préférence sur l'un d'eux. Les modes de décomposition sont plus nombreux. La fragmentation de la butanone fait ainsi apparaître l'ion acétyle 43, l'ion 57 étant 10 fois moins intense.

A côté de ces exemples élémentaires de fragmentation, il existe bien d'autres transformations possibles dans lesquelles les ions se réarrangent, quelquefois suivant des voies très complexes. Toutes ces transformations font l'objet de règles semi-empiriques qui sont utilisées dans l'étude des composés inconnus et qui servent aussi, plus simplement, à contrôler les résultats auxquels conduisent les recherches automatisées avec les spectrothèques.