

## **CHAPITRE III:**

# **Utilisation des méthodes spectroscopiques dans l'analyse**

## 1. Spectroscopie UV-visible

### 1.1. Principe

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

### 1.2. Spectrophotométrie

Technique qui nous permet de doser (déterminer la concentration) une substance qui absorbe de l'UV-visible.

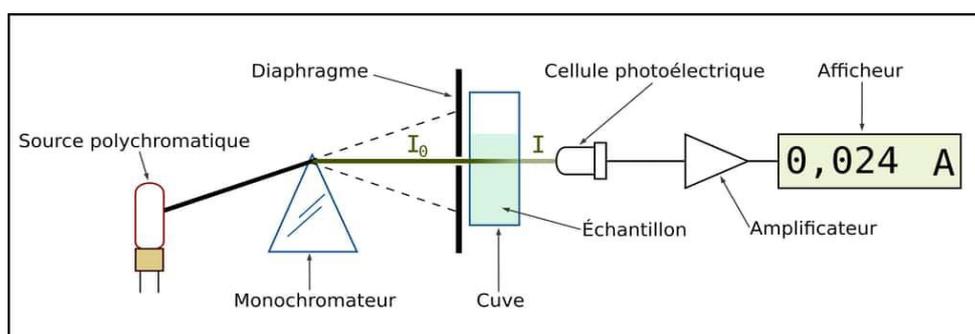


Fig.1: Principe du fonctionnement du spectrophotomètre

#### 1.2.1. La loi de Beer-Lambert

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

$$I = I_0 e^{-k l C}$$

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

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

- \* $\log(I_0/I)$  est appelé **absorbance (A)**

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

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

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

### 1.2.2. Dosage d'une solution par étalonnage

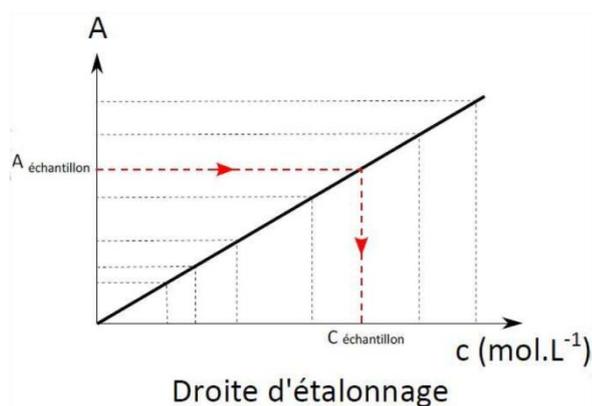
La loi de Beer-Lambert nous montre que l'absorbance d'une solution d'une espèce chimique est proportionnelle à sa concentration molaire à condition que la solution soit suffisamment diluée

$$A = \epsilon l c \text{ ou } A = k c \text{ ou } k = \epsilon l$$

Le coefficient de proportionnalité  $k = \epsilon.l$  peut être déterminé en mesurant l'absorbance d'une série de solutions de cette espèce et de concentrations connues

L'absorbance étant une fonction linéaire, sa représentation graphique est une droite qui passe par l'origine du repère. Cette droite s'appelle droite d'étalonnage.

En mesurant l'absorbance d'une solution de concentration  $c$  inconnue, on peut déterminer cette dernière (figure 2).



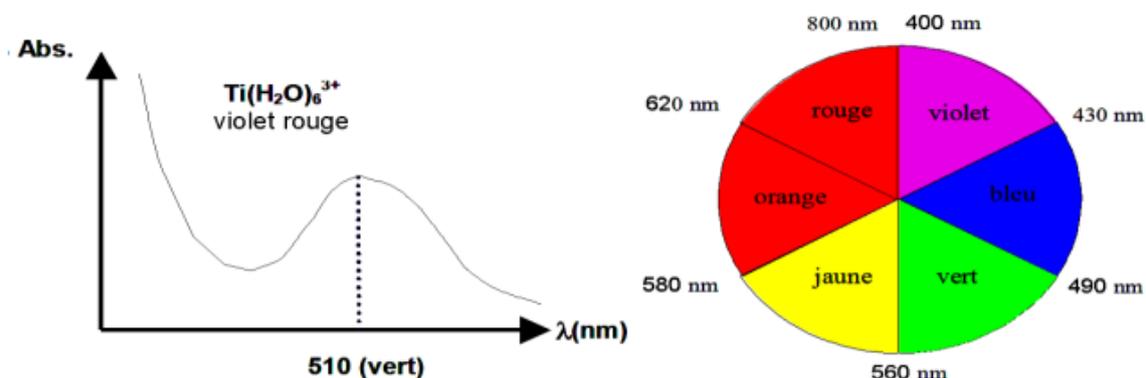
**Fig.2:** Droite d'étalonnage et détermination de la concentration  $C$  d'une solution par mesure de son absorbance.

### 1.2.3. La couleur des solutions

Une substance chimique est caractérisée en spectroscopie UV-Visible par la longueur d'onde du maximum d'absorption et par son intensité. Si le maximum d'absorbance de la substance analysée correspond à une longueur d'onde appartenant au domaine des ultraviolets (200-400 nm), alors

celle-ci est incolore. Si le maximum d'absorbance de la substance analysée correspond à une longueur d'onde appartenant au domaine du visible (400-800 nm) alors la substance possède la couleur complémentaire de celle correspondant à  $\lambda_{\text{max}}$  dans le cercle chromatique (Figure 3).

**Exemple:** Le complexe  $\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  est rouge-violet et absorbe dans le vert.



**Fig.3** Cercle chromatique

#### 1.2.4. Condition d'utilisation de la loi de Beer et Lambert:

Pour que la relation de la loi de Beer-Lambert soit valable, un certain nombre de conditions expérimentales doivent être respectées :

1. La lumière utilisée doit être monochromatique (constituée d'une seule longueur d'onde).
2. Il faut utiliser des solutions peu concentrées.
3. Les solutions utilisées doivent être homogènes et non colloïdales.

Cela permet d'éviter les pertes de rayonnement dues à la réflexion ou à la diffusion.

#### 1.2.5. Effet du solvant en spectroscopie UV-Visible:

Le choix du solvant influence fortement les spectres UV-Visible. Les interactions soluté-solvant modifient l'énergie des états électroniques, affectant la position, l'intensité et la forme des bandes d'absorption. L'augmentation de la polarité du solvant provoque généralement un **décalage bathochrome** pour les transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  et un **décalage hypsochrome** pour les transitions  $n \rightarrow \pi^*$ . Dans l'eau, le **pH** peut aussi modifier les spectres en affectant l'ionisation des fonctions chimiques du soluté.

### 1.3. Applications de la spectroscopie UV-Visible

#### 1.3.2. Analyse quantitative

La spectrophotométrie UV est employée en analyse structurale pour détecter la présence de certains groupes chromophores et pour étudier l'étendue de la conjugaison électronique. Bien que les spectres UV apportent généralement moins d'informations sur la structure moléculaire que les spectres IR ou RMN, ils restent utiles pour confirmer ou identifier des composés à l'aide de règles empiriques.

### 1.3.3. Analyse quantitative

1. Détermination de la concentration par mesure de l'absorption de l'espèce chimique
2. Le dosage d'un principe actif d'un médicament.
3. Le dosage des métaux de transition par complexométrie
4. Détermination de la concentration en protéines par mesure directe ou par essais colorimétriques
5. Tests de dissolution des médicaments
6. Dosage du fer dans un médicament

## 2. Spectroscopie infrarouge (IR)

### 2.1. Principe

En spectroscopie infrarouge, le rayonnement est absorbé par les liaisons chimiques de la molécule. Les longueurs d'onde absorbables se situent entre 1000 nm et 1 mm. Les liaisons subissent deux types de vibrations : les vibrations d'élongation (Fig. 4), qui modifient la longueur de la liaison autour d'une position d'équilibre, et les vibrations de déformation (Fig. 5), qui modifient l'angle de la liaison autour d'une valeur moyenne. Le principe de la spectrométrie IR repose donc sur l'absorption du rayonnement infrarouge, transformée en vibrations moléculaires. Cette technique produit un spectre unique, utilisé pour l'identification et la caractérisation des composés, tout en fournissant des informations sur les interactions moléculaires, la conformation et l'organisation de la matière.

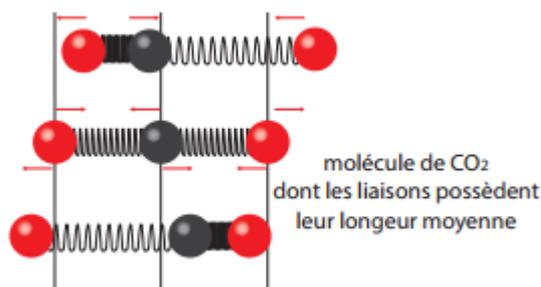


Fig. 4. Vibrations d'élongation de deux

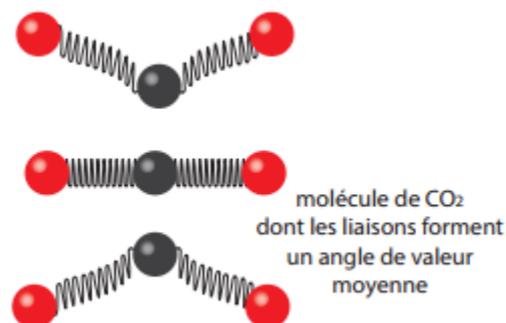


Fig. 5. Vibration de déformation de la

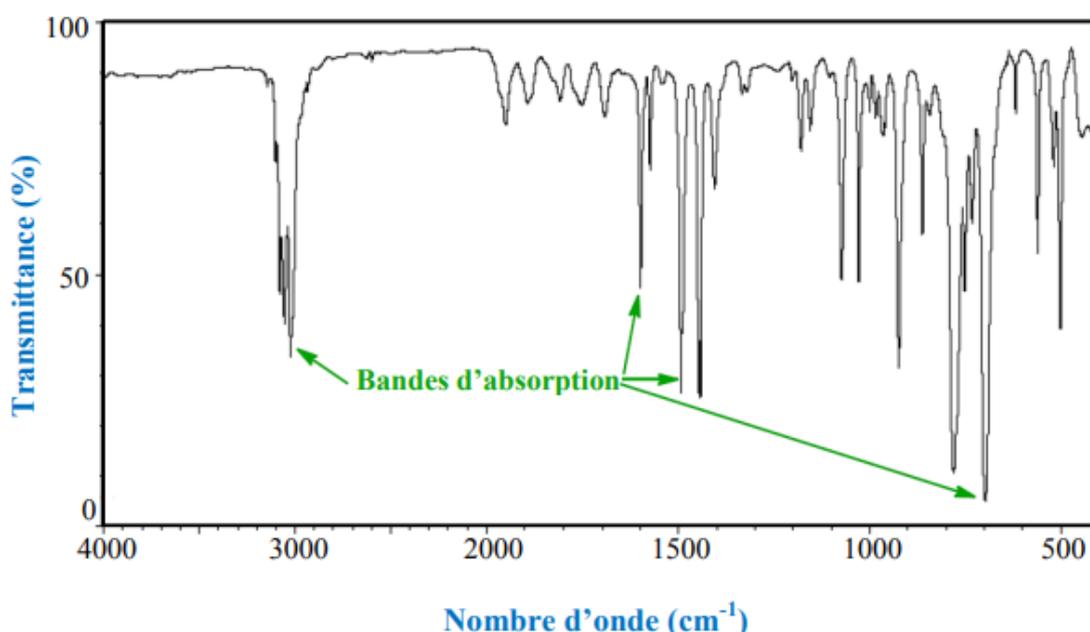
liaisons de la molécule de CO<sub>2</sub>molécule de CO<sub>2</sub>

➤ Domaine spectral ;

1. Proche infrarouge : 14000-4000 cm<sup>-1</sup> (0,7-2,5 μm)
2. Infrarouge moyen : 4000-400 cm<sup>-1</sup> (2,5-25 μm)
3. Infrarouge lointain : 400-10 cm<sup>-1</sup> (25-1000 μm)

## 2.2. Le spectre infrarouge

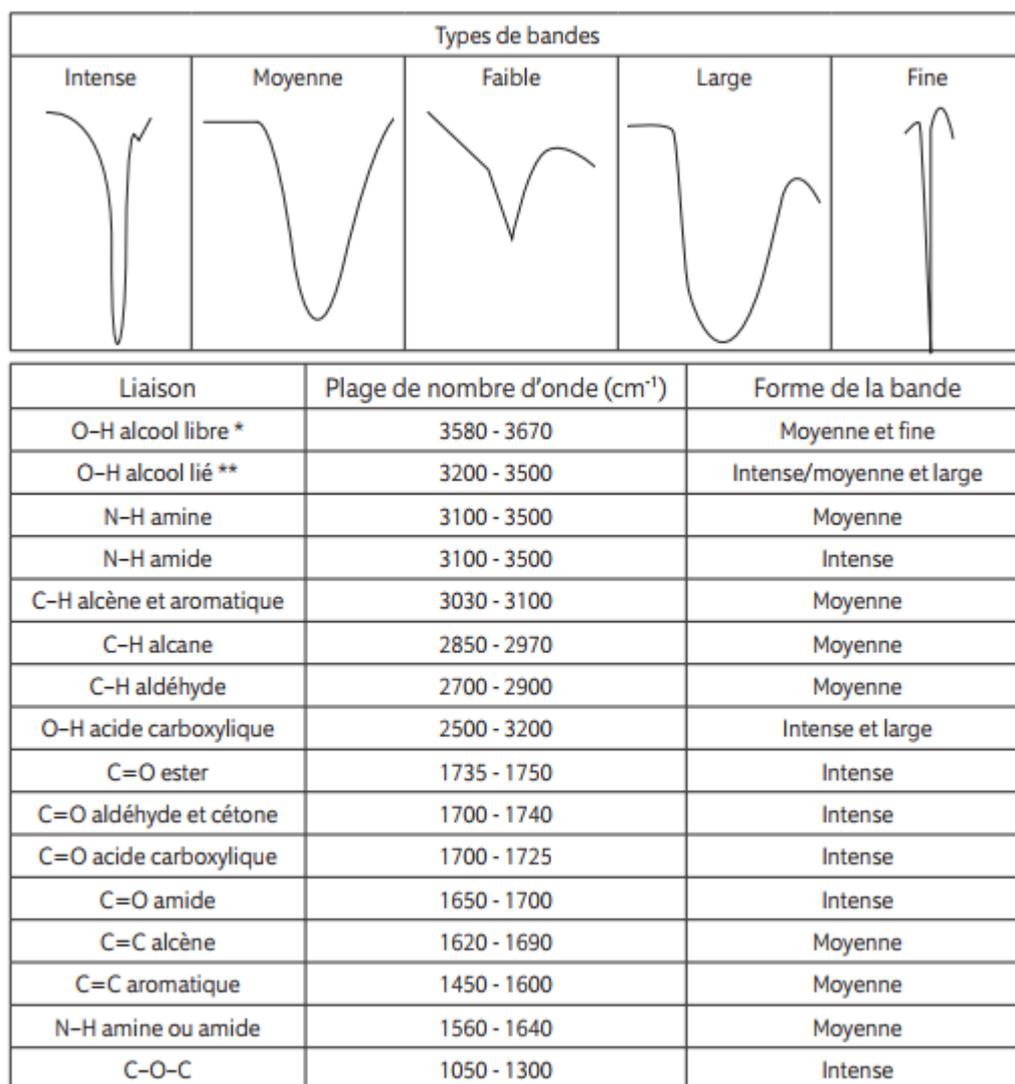
Un spectre IR représente l'évolution de la transmittance de l'échantillon, ou son pourcentage (T%) en fonction de l'inverse de la longueur d'onde (nombre d'onde,  $\bar{\nu}$ ) exprimée en cm<sup>-1</sup>.



**Fig.6** : Principe du fonctionnement du spectrophotomètre

## 2.3. Bandes caractéristiques en spectroscopie IR

Lorsque le nombre d'onde se situe entre 1400 et 4000 cm<sup>-1</sup>, les bandes d'absorption sont caractéristiques des liaisons au sein des groupes fonctionnels tels que O—H, N—H, C—H, C=O, C=C (Tableau).



**Fig.7** : Bandes caractéristiques

#### 2.4.Échantillonnage et techniques d'analyse

La préparation de l'échantillon pour un spectre IR dépend de son état physique et de la quantité disponible. Elle peut être réalisée pour des échantillons gazeux, liquides ou solides.

- Si l'échantillon est à l'état gazeux, des cellules spéciales sont utilisées pour l'analyse avec des longueurs de parcours importante (typiquement entre 5 et 10 cm), jamais en verre car le verre est opaque aux radiations infrarouges. Les gaz n'absorbant que peu dans l'infrarouge.
- Si l'échantillon est à l'état liquide, il est déposé entre deux pastilles de chlorure de sodium (NaCl) ou de bromure de potassium (KBr) monocristallin comprimées, de manière à obtenir un film fin

- Si l'échantillon est solide, il est broyé en présence de bromure de potassium KBr puis comprimé en fine pastille sous pression réduite. Une autre technique consiste à disperser le solide dans le nujol (mélange d'hydrocarbures paraffiniques) et à déposer la suspension sur une pastille de chlorure de sodium monocristallin. Il est impératif que l'échantillon étudié soit bien sec car l'eau absorbe beaucoup en IR.
- Si l'échantillon est en solution, il est nécessaire que la solution préparée à partir d'un solide ou même un liquide soit diluée dans un solvant qui absorbe très peu en IR ou qui ne présente pas de bandes d'absorption dans les zones particulièrement intéressante du spectre. Les solvants les plus couramment employés sont le tétrachlorure de carbone ( $\text{CCl}_4$ ), le chloroforme ( $\text{CHCl}_3$ ), le dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) et le sulfure de carbone ( $\text{CS}_2$ ).

## 2.5. Application de la spectrométrie infrarouge

### 2.5.1. Analyse qualitative

L'analyse qualitative de la spectroscopie IR est l'application la plus courante et elle est principalement utilisée pour :

- Identifier une molécule inconnue ou, ses groupements fonctionnels
- Vérifier la pureté d'un produit connu, par l'absence de bande signalant la présence de composé étrange
- Dosage chimique de polluants dans l'eau, l'air ou les sols
- Suivre un processus réactionnel en étudiant l'apparition ou la disparition des bandes caractéristiques de certains groupes fonctionnels.
- Contrôle qualité : la qualité d'une fibre polymère ou d'un produit agro-alimentaire

### 2.5.2 Analyse quantitative

La précision des mesures d'absorbance et les possibilités de retraitement des spectres ont favorisé l'analyse quantitative par infrarouge, moins performante que l'UV-Visible. Cette analyse est basée sur la loi de Beer Lambert ( $A = -\log T = \epsilon.l.C$ ) et elle est largement utilisée pour évaluer les paramètres de production dans les procédés industriels tels que l'industrie pétrolière, pharmaceutique, textile.

## 3. La spectroscopie RMN (Résonance Magnétique Nucléaire)

### 3.1 Principe

La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire ou RMN est une technique qui permet de caractériser les atomes d'hydrogène en précisant leur environnement avec le nombre et la nature des différents atomes qui les entourent. Elle est basée sur le fait que lorsque les noyaux des atomes d'hydrogène d'une molécule placée dans un champ magnétique d'intensité  $B_0$  sont excités par une

onde électromagnétique (onde radio) d'une certaine fréquence, appelée fréquence de résonance, ils absorbent de l'énergie qu'ils restituent par la suite en émettant une onde électromagnétique d'une certaine fréquence, traduite en un signal indépendant du champ magnétique, que l'on appelle le déplacement chimique  $\delta$ .

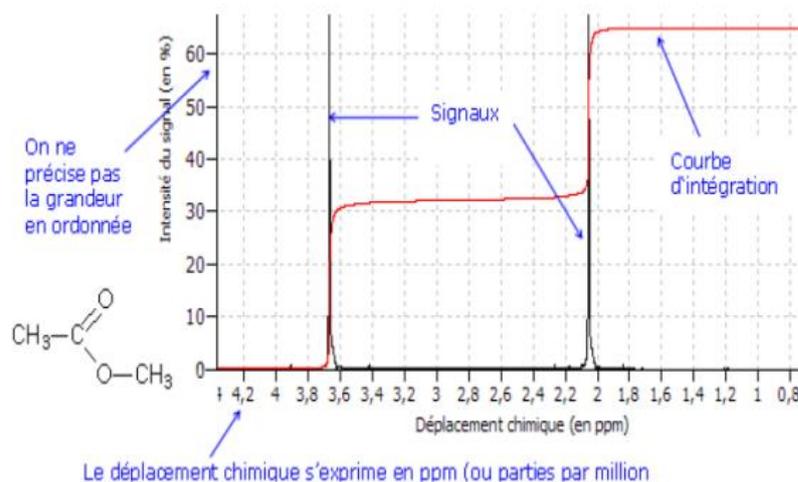
### 3.2 Les signaux du spectre RMN

Le champ magnétique auquel est soumis un noyau d'hydrogène dans le spectromètre est modifié par les électrons des atomes voisins, ce qui influence la fréquence émise et donc le déplacement chimique  $\delta$ . Plus un noyau d'hydrogène est proche d'un atome électronégatif ou d'une double liaison, plus son déplacement chimique est élevé. Les noyaux d'hydrogène ayant le même environnement chimique apparaissent sur le spectre RMN sous forme d'un seul signal, correspondant au même déplacement chimique.

Les signaux du spectre RMN se présentent sous forme d'amas de pics qui se distinguent par :

- Leur déplacement chimique,
- Leur aire (mesurée par la courbe d'intégration),
- Leur multiplicité (nombre de pics dans l'amas).

Un exemple de spectre RMN est présenté ci-dessous :



**Fig.8** : Spectre de RMN

### 3.3 Le déplacement chimique

Le déplacement chimique  $\delta$  d'un atome d'hydrogène dépend des atomes présents dans son environnement. Son unité est la ppm (1 partie par million =  $10^{-6}$ ). Il dépend de la fréquence de résonance de l'atome d'hydrogène.

### 3.4 Les protons équivalents

Il s'agit de protons qui résonnent à la même valeur de déplacement chimique  $\delta$  car ils ont le même environnement. Le spectre RMN présente un seul signal. C'est le cas des protons qui sont portés par le même carbone tétraédrique ou des protons ou de groupes de protons portés par des atomes symétriques au sein d'une molécule. Les protons de l'éthane sont caractérisés par un seul déplacement chimique car ils sont équivalents. Il en va de même des protons du méthoxyméthane

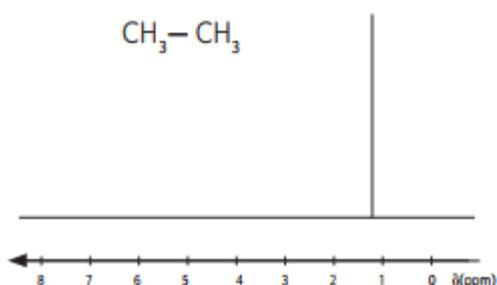


Fig.9 spectre RMN de l'éthane

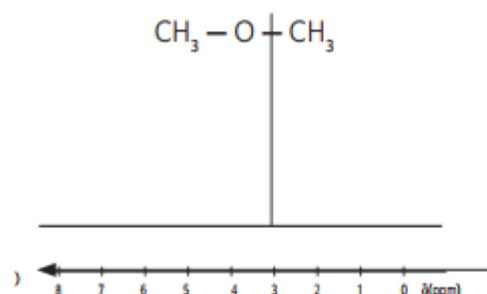


Fig.10 spectre RMN du méthoxyméthane

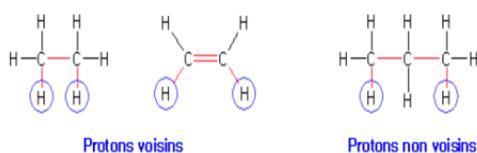
### 3.5 Aire des signaux et courbe d'intégration

L'aire sous un signal RMN est proportionnelle au nombre de protons équivalents. Elle est représentée par une courbe d'intégration, dont les paliers indiquent la contribution de chaque signal. Connaissant la formule brute, on peut calculer le nombre de protons correspondant à chaque signal, parfois indiqué directement sur le spectre.

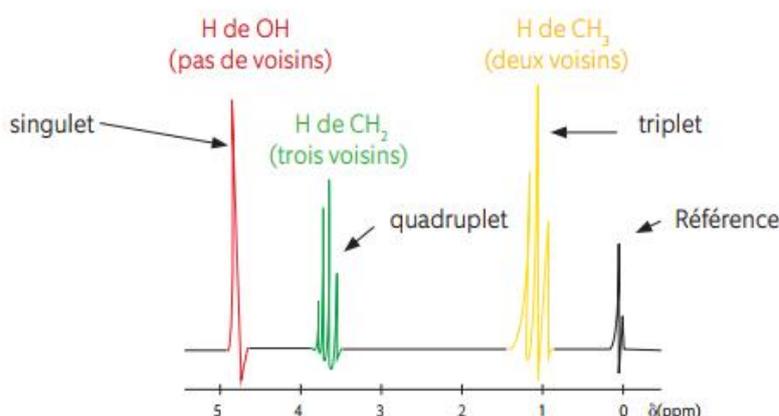
### 3.6 Multiplicité des signaux

Les signaux de spectre de RMN ne sont pas constitués d'un seul pic mais souvent de plusieurs pics. On les appelle pour cette raison des multiplets (doublets, triplets,...). Le nombre de pics de chaque signal dépend du nombre de protons voisins que chaque proton équivalent possède.

Deux protons sont voisins s'ils sont séparés par trois liaisons, simples ou multiples (doubles ou triples). Sinon ils ne sont pas voisins



Un groupe de protons équivalents apparaît sous forme de signal multiple (multiplet) si ses protons ont des voisins non équivalents. Le nombre de pics du multiplet est égal à  $n + 1$ , où  $n$  est le nombre de protons voisins. Par exemple, dans l'éthanol ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ ), le groupe  $\text{CH}_3$  forme un triplet car il a deux protons voisins, tandis que dans l'éthanoate de méthyle ( $\text{CH}_3\text{-CO-O-CH}_3$ ), chaque  $\text{CH}_3$  apparaît comme un singlet car il n'a pas de protons voisins.



**Fig.11** : Spectre RMN de l'éthanol

Dans une molécule, les protons d'un carbone interagissent avec ceux des carbones voisins, phénomène appelé couplage entre protons. Par exemple, dans l'éthanol ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ ), les protons du groupe  $\text{CH}_3$  ont deux protons voisins sur le  $\text{CH}_2$  et apparaissent donc sous forme d'un triplet ( $2+1$ ) sur le spectre RMN. En revanche, dans l'éthanoate de méthyle ( $\text{CH}_3\text{-CO-O-CH}_3$ ), les protons des groupes  $\text{CH}_3$  n'ont aucun proton voisin, donnant un singlet ( $0+1$ ).

### 3.3. Échantillonnage et techniques d'analyse

### 3.4. Application de la spectrométrie RMN

Les domaines d'applications les plus courants sont :

- Analyse de polymères.
- Analyse de substances organiques, biologiques, biochimiques et pharmaceutiques.
- Dosages de produits connus ou inconnus.
- Stéréochimie et disposition spatiale des atomes dans une molécule.
- Contrôle de réactions chimiques et suivi cinétique.

## 4. Spectrophotométrie d'absorption atomique

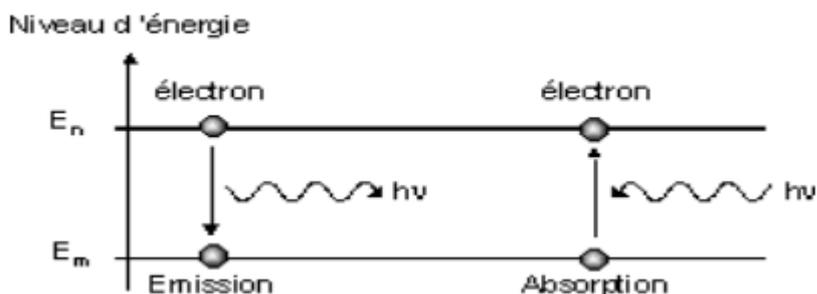
### 4.1. Principe

La spectrométrie d'absorption atomique de flamme (SAA) est une méthode d'analyse élémentaire principalement utilisée pour le dosage des métaux en solution. Elle repose sur la transformation de l'élément à analyser en atomes libres, ce qui nécessite de porter l'échantillon à des températures élevées (2000 à 3000 °C) afin de détruire les combinaisons chimiques dans lesquelles l'élément est engagé.

Le principe de la SAA s'appuie sur la quantification de l'énergie atomique : lorsqu'un électron passe d'une orbite électronique à une autre, l'atome absorbe ou émet un photon d'énergie bien déterminée, selon la relation :

$$E = h \cdot \nu$$

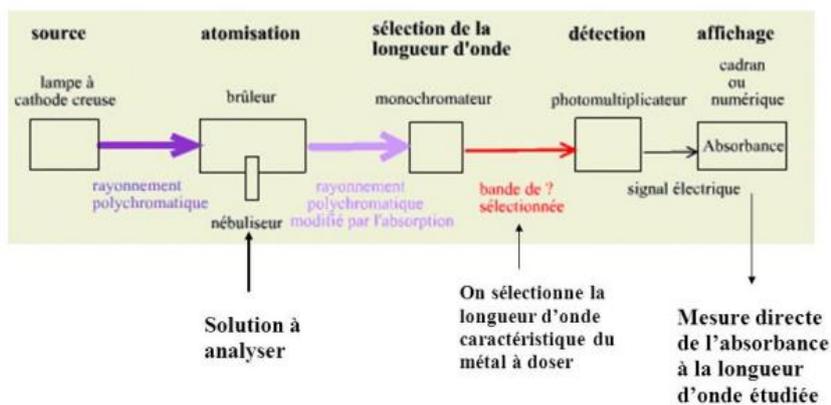
Où  $h$  est la constante de Planck et  $\nu$  est la fréquence du photon absorbé ou émet



**Fig.12** : illustration des processus d'émission et d'absorption.

#### 4.1. Instruments de base

L'absorption atomique est le phénomène par lequel un atome à l'état fondamental absorbe un rayonnement électromagnétique à une longueur d'onde précise et passe ainsi à un état excité. Ce processus se traduit par l'apparition d'un spectre d'absorption caractérisé par des raies noires sur un fond clair. Pour l'observer, on utilise un dispositif expérimental constitué d'une lampe à cathode creuse servant de source, d'un nébuliseur et d'un brûleur pour introduire et atomiser l'échantillon, ainsi qu'un monochromateur qui sélectionne la longueur d'onde étudiée. Le rayonnement est ensuite capté par un détecteur, puis amplifié et transmis à un système d'acquisition pour analyse.



**Fig.13** : Schéma éclaté du dispositif d'un spectromètre d'absorption atomique

#### 4.2. Dosage par absorption atomique.

L'absorption atomique de flamme est une méthode qui permet de doser essentiellement les métaux en solution. Cette méthode d'analyse élémentaire impose que la mesure soit faite à partir d'un analyte (élément à doser) transformé à l'état d'atomes libres. L'échantillon est porté à une température de 2000 à 3000 degrés pour que les combinaisons chimiques dans lesquelles les éléments sont engagés soient détruites.

La spectrométrie d'absorption atomique est basée sur la théorie de la quantification de l'énergie de l'atome. Celui-ci voit son énergie varier au cours d'un passage d'un de ses électrons d'une orbite électronique à une autre. Généralement seuls les électrons externes de l'atome sont concernés. Les photons absorbés étant caractéristiques des éléments absorbants, et leur quantité étant proportionnelle au nombre d'atomes d'élément absorbant, l'absorption permet de mesurer les concentrations des éléments à doser. L'analyse par absorption atomique utilise la loi de Beer Lambert.

S'il y a plusieurs éléments à doser, on réalise cette manipulation pour chaque élément de l'échantillon en se plaçant à une longueur d'onde fixée. Il faut donc à chaque manipulation choisir une source adaptée pour éclairer l'élément que l'on cherche à exciter.

- L'échantillon est réduit en vapeur atomique.
- Les atomes à l'état fondamental absorbent le rayonnement spécifique.
- L'absorbance est proportionnelle à la quantité d'atomes de l'élément à doser

#### 4.3. Application de la spectrométrie d'absorption atomique

La spectrophotométrie d'absorption atomique constitue avant tout une méthode d'analyse quantitative particulièrement adaptée à la détermination des éléments en traces plutôt qu'à celle des constituants majeurs. Elle se distingue par sa sensibilité élevée, sa grande spécificité, sa rapidité d'exécution, la faible quantité d'échantillon nécessaire ainsi que la simplicité de préparation des solutions étalons. Polyvalente, la spectrométrie d'absorption atomique (SAA) permet le dosage d'un large éventail de métaux et de métalloïdes tels que le cuivre, le zinc, le plomb, le chrome, le fer ou encore le cadmium, dans divers types d'échantillons, en particulier biologiques.

- Détermination du cobalt dans la vitamine B12.
- Dosage du magnésium dans les compléments nutritionnels.
- Évaluation du calcium dans les préparations pharmaceutiques à base de Ca.
- Analyse des tissus végétaux et animaux ainsi que des fluides biologiques.
- Dosage du calcium, du strontium et du zinc dans les tissus osseux.

## **5. Spectrophotométrie d'émission atomique**

### **5.1. Principe**

La photométrie d'émission atomique est une méthode de dosage basée sur la capacité des atomes excités à émettre un rayonnement UV ou visible lors de leur désexcitation. L'échantillon est introduit dans une source à haute température, soit une flamme (2000–3000 °C) permettant l'analyse des éléments comme Na, K, Li ou Ba, soit un plasma ( $\approx 7000$  °C) offrant une sensibilité plus élevée et l'analyse d'une gamme plus large de métaux. L'intensité du rayonnement mesuré est proportionnelle à la concentration, ce qui permet le dosage de nombreux éléments métalliques dans les domaines biologique, environnemental et industriel.

### **5.2. Instruments de base**

#### **5.2.1. Schéma fonctionnel du photomètre de flamme**

Le **photomètre de flamme** permet le dosage sélectif des métaux alcalins et alcalino-terreux. Il comprend : un système d'arrivée de gaz contrôlé, un nébuliseur introduisant l'échantillon dans la flamme, un brûleur, une fente de sortie pour mesurer l'émission, un sélecteur de longueur d'onde caractéristique et un dispositif de détection avec traitement du signal.

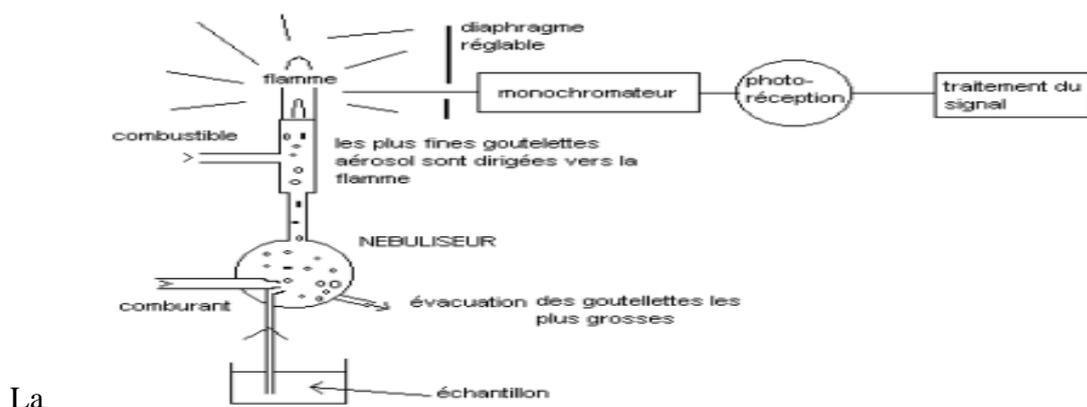


Fig.14 :

La

### structure d'un photomètre de flamme

Le schéma de la (Fig. 14) présente la structure d'un photomètre de flamme. La partie nébuliseur a été détaillée. La nébulisation utilise généralement l'effet Venturi : le comburant en provenance d'un réservoir de gaz sous pression traverse un conduit qui se termine par un orifice étroit qui entraîne une vitesse de sortie élevée et une dépression alentour. C'est là qu'est placée l'extrémité d'un tube plongeant dans l'échantillon à analyser. L'échantillon est aspiré à débit continu constant et est nébulisé. Les grosses gouttelettes qui perturberaient la flamme sont éliminées lors de la traversée d'un bol où elles se déposent sur les parois. Le nébuliseur doit absolument fournir un débit constant d'échantillon dans la flamme.

Il existe d'autres systèmes de nébulisation que ceux fondés sur l'effet Venturi, par exemple à ultrason

#### 5.2.1. ICP-AES : caractéristiques et fonctionnement

L'échantillon à analyser est introduit sous forme d'aérosol (nébulisation sous gaz argon) dans une torche à plasma d'argon (Fig. 14). Le plasma est obtenu par couplage inductif d'où le sigle ICP : Inductively Couple d Plasma. Il suffit de retenir que la température du plasma atteint plus de 7000. Les édifices moléculaires sont détruits, une vapeur mixte atomique et ionique est créée.

De l'argon est introduit dans l'axe d'une bobine d'induction alimentée par un courant électrique de haute fréquence. Après « allumage » par introduction d'une pièce métallique à l'intérieur des spires (de la bobine), il va se créer un plasma d'argon vers 6000 à 10000°C (l'argon est en partie ionisé dans le plasma).

On retiendra que le :

- nébuliseur nébulisant l'échantillon à débit constant dans la torche à plasma sous débit d'argon
- L'appareil mesure un spectre d'émission et pas seulement l'émission à une longueur d'onde donnée (monochromateur à balayage, polychromateur, spectre sur capteur CDD ...) = analyse spectrale.
- Le traitement du spectre obtenu débouche en théorie sur l'analyse simultanée de plusieurs éléments. On cherche dans le spectre la présence de raies isolées spécifiques d'éléments donnés (330 nm pour Na, 232,0 pour Ni, 283,3 pour Pb, 396,2 pour Al...). Ce qui n'est pas toujours évident même en traitement informatique du signal.

### 5.3. Application de la spectrométrie d'émission atomique

Cette méthode d'analyse incontournable a reçu également diverses applications dans plusieurs domaines (industriel, environnement, métallurgique, médico-légal, pharmaceutique...etc.). Les métaux alcalins donnant des flammes colorées, sont facilement dosés en émission. On peut donc utiliser l'émission de flamme en analyse minérale et en biologie pour doser le lithium, le sodium et le potassium (ionogramme) et également certains alcalino-terreux (Ba). On peut faire ces analyses dans le visible ou en ultraviolet. En bromatologie, on peut l'utiliser en contrôle (ex. doser le sodium et le calcium dans le lait).

## 6. spectroscopie de masse

### 6.1. Principe

La spectrométrie de masse (SM) désigne une méthode de caractérisation de la matière qui repose sur la détermination des masses atomiques ou moléculaires des espèces individuelles présentes dans l'échantillon. Le principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse /charge ( $m/z$ ). Son concept est simple, consiste à bombarder le composé par un faisceau d'électrons, Le nombre d'ions de chaque unité  $m/z$  est enregistré sous forme de pic. Un spectre de masse représente l'intensité des pics en fonction de  $m/z$

### 6.2. Instruments de base

Un spectromètre de masse est constitué de cinq éléments principaux :

- **Le système d'introduction** qui fait pénétrer l'échantillon dans le spectromètre.
- **La source d'ions** dans laquelle les molécules sont ionisées. Il existe plusieurs méthodes d'ionisation. La plus répandue est l'impact électronique.

- **Le détecteur** qui collecte les ions sortants de l'analyseur et les exprime en fonction de leur abondance relative.
- **Un ensemble informatique** de traitement des données qui permet de transformer les informations reçues par le détecteur en spectre de masse.

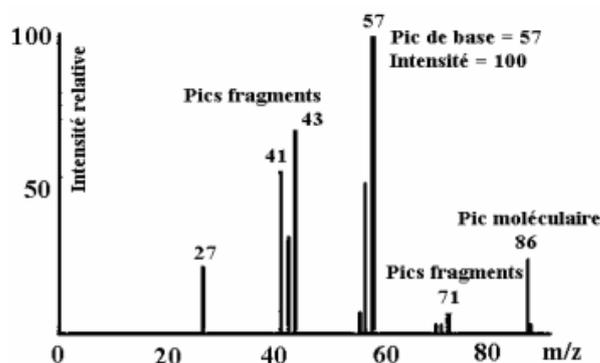
### 6.3. Le spectre de masse

Le spectre de masse est un diagramme qui représente :

1. Sur l'axe des abscisses (x) : le rapport masse/charge ( $m/z$ ) des ions détectés. En spectrométrie de masse à impact électronique, la charge des ions est généralement  $z = 1$ , donc la valeur  $m/z$  correspond directement à la masse exprimée en Dalton (Da).
2. Sur l'axe des ordonnées (y) : l'abondance relative de chaque ion. Par convention, l'intensité du pic le plus intense est fixée à 100 %, et les autres pics sont rapportés à cette valeur.

Les différents types de pics observés dans un spectre de masse sont :

1. Le pic de base : c'est le pic le plus intense du spectre. Il correspond à l'ion le plus abondant donc le plus stable.
2. Le pic moléculaire ou pic parent : il correspond à l'ion de nombre de masse égal à la masse moléculaire de la substance.
3. Les fragments: il correspond aux différents ions fragments



**Fig.15** : Spectre de masse de l'hexane C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> (M=86)

### 6.4. Analyse spectrale

L'interprétation d'un spectre de masse peut se décomposer en deux étapes:

1. Exploitation de l'ion moléculaire (la masse moléculaire, la parité, les isotopes, la formule brute...)

2. Exploitation des ions fragments qui dépendent de la nature et de la structure de la molécule.

#### 6.4.1. Masse de l'ion moléculaire

La spectrométrie de masse permet de connaître la masse moléculaire d'une substance inconnue à partir pic moléculaire

#### 6.4.2. Parité de l'ion moléculaire

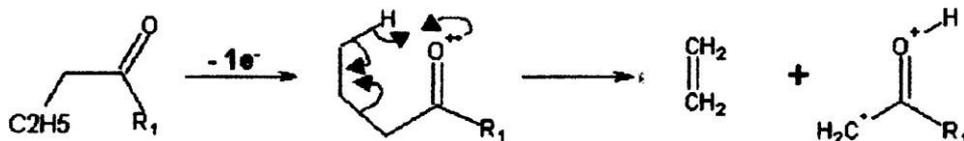
Un ion moléculaire donne un pic à une masse impaire s'il comporte un nombre impair d'éléments trivalents (N, P...).

#### 6.4.2. Exploitation des ions fragments

Les facteurs influençant le processus de fragmentation sont les suivants:

- Les liaisons faibles se coupent plus facilement.
- Les fragments stables ont tendance à se former plus facilement.
- Les fragmentations avec réarrangement sont favorisées si la molécule possède un état transitoire à 6 centres.

**Réarrangement de McLafferty:** Hény d'une insaturation.



#### 6.5. Préparation et introduction de l'échantillon

Le composé doit être à l'état de vapeur, idéal donc pour le gaz et les liquides dont la tension de vapeur est assez grande. Le gaz introduit dans la chambre d'ionisation par un tube muni d'une fuite. La pression dans le réservoir est  $\approx 10^{-2}$  torr et à la source de  $10^{-6}$  à  $10^{-8}$  torrs.

Si le composé est un liquide ou un solide volatil, l'injection est directe mais le composé est chauffé pour être vaporisé; ce qui peut entraîner de la pyrolyse. Le composé peut provenir directement d'un appareil de chromatographie liquide ou gazeuse ou d'un appareil d'électrophorèse capillaire.

#### 6.3. Application de la spectroscopie de masse

La spectrométrie de masse est utilisée pratiquement dans tous les domaines scientifiques: chimie organique, dosages, astrophysique, biologie, médecine...

La grande sensibilité de détection de la spectrométrie de masse en fait une technique de choix pour l'étude des oeuvres d'art puisqu'elle ne requiert que des micro-prélèvements.

Elle joue aujourd'hui un rôle important dans les études de pollution de l'environnement et de dopage grâce à sa sensibilité, sa sélectivité et sa possibilité de faire des analyses quantitatives rapides.

- **Pharmacie:**

- Caractérisation de nouveaux principes actifs
- Analyse de produits de dégradation
- Etudes de biodisponibilité

- **Biomolécule:**

Analyse de la structure de biomolécules, identification de protéines (séquençage d'acides aminés) et de microorganismes ; marquage isotopique de molécules par des isotopes stables, analyse de gaz, pharmacologie, toxicologie

- **Toxicologie :**

Détection et identification des stéroïdes anabolisants.

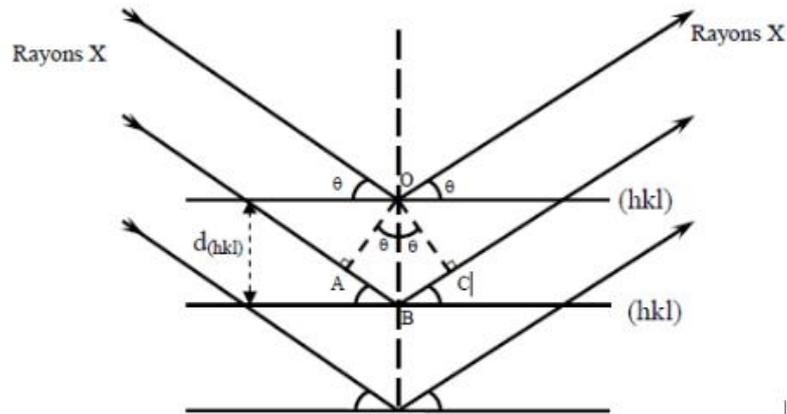
## 7. Spectrophotométrie à rayons X

### 7.1. Principe

La technique de diffraction des rayons X s'appuie sur le fait qu'un réseau cristallin est constitué d'un empilement de familles de plans réticulaires parallèles et équidistants. Le faisceau de rayons X incident est réfléchi partiellement par le premier plan. Le faisceau non réfléchi "tombe" sur le deuxième plan pour être à nouveau partiellement réfléchi. Et ainsi de suite. Pour que les ondes diffusées par les différents plans soient en phase et que l'intensité totale de l'onde diffusée soit importante, il faut :

$$2d \sin \theta = n\lambda \text{ relation de Bragg}$$

Où  $d$  est la distance des plans réticulaires,  $\lambda$  la longueur d'onde et  $n$  l'ordre de la réflexion. Cette relation, montre qu'il suffit de mesurer les angles de Bragg ( $\theta$ ) pour déterminer les dimensions et la forme de la maille élémentaire du cristal. Les amplitudes des ondes réfléchies permettent de déterminer la structure atomique du motif



**Fig.16 :** Principe de la loi de Wulff-Bragg

## 7.2. Instruments de base

### 7.2. 1. Diffractomètre D500-SIEMENS (BRUKER)

Le diffractomètre SIEMENS D500 est équipé d'un goniomètre à géométrie Bragg Brentano. Dans ce type de diffractomètre, on dirige un faisceau de rayons X sur l'échantillon analysé et on observe ce qui est renvoyé par celui-ci (diffraction).

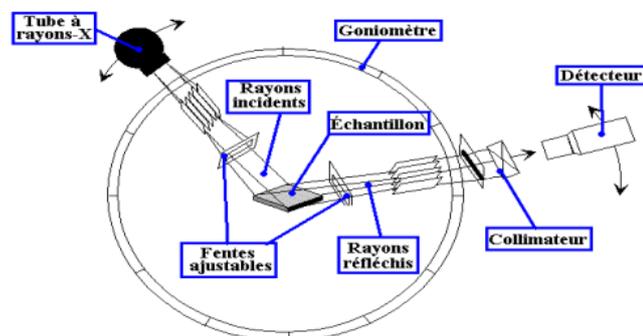
$$\lambda = 2 d \sin\theta$$

Où

$\lambda$  : longueur d'onde de la source RX

$d$  : distance interréticulaire.

$\theta$  : angle de diffraction (angle de Bragg).



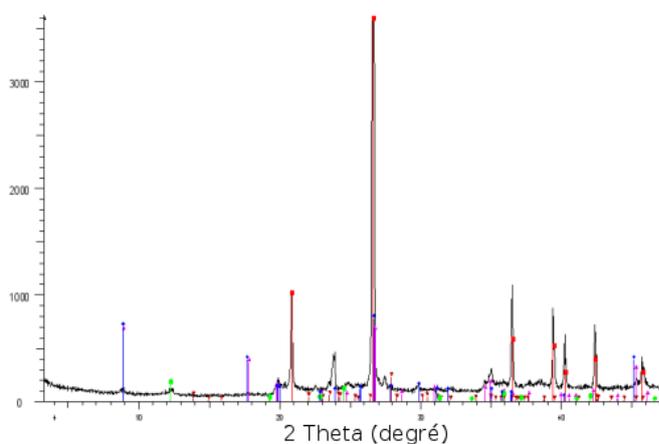
**Fig.18 :** Schéma d'un spectromètre (SIEMENS D500) de diffraction des rayons X

## 7.3. Diagramme de diffraction des rayons X

Lors d'une mesure en diffraction des rayons X, la longueur d'onde  $\lambda$  reste constante. En faisant varier l'angle  $\theta$ , on détecte les différents angles de diffraction. Le compteur à scintillations enregistre l'intensité en fonction de  $\theta$ , ce qui se traduit par des pics. Le balayage de  $\theta$  permet

ainsi d'obtenir un diagramme de diffraction des rayons X.

L'intérêt de ce type de mesure est que l'ensemble des pics - positions et intensités relatives, reste toujours le même pour un même composé, ou une même structure cristalline analysé.



**Fig.18:** diagramme de diffraction des rayons x

#### 7.4. Préparation de l'échantillon

Pour obtenir de beaux diagrammes de diffraction RX, il faut d'abord un bon échantillon, il est préférable de réduire l'échantillon à analyser sous forme de poudre, la quantité nécessaire de la poudre conforme à cette technique varie entre 0.2 et 700mg, on préférera travailler avec le maximum de poudre pour avoir moins un millimètre d'épaisseur analysable. Idéalement, les grains doivent avoir un diamètre compris entre 10 et 50 $\mu$ m. La mesure sera alors moins sensible aux orientations du matériau

#### 7.3. Traitement et interprétation des données

L'acquisition est effectuée par une unité de contrôle et le traitement des diffractogrammes ou spectres s'effectue à l'aide d'un logiciel basé sur les données des fiches ASTM. A partir d'un produit inconnu, on devrait pouvoir retrouver, par comparaison, les composés issus de base de données (contenant tous les diagrammes de diffraction X des composés connus ou référencés à ce jour) qui pourraient identifier l'ensemble de ses pics. Cette base a donc été créée, aujourd'hui nommée «Powder Diffraction File"(PDF). Elle est mise à jour annuellement et distribuée par l'International Centre For Diffraction Data (ICDD). Chacune des plus de 120000 fiches actuellement enregistrées contient au moins l'ensemble des couples (d, I) pour chaque pic connu. Elles nous renseignent aussi souvent sur la structure du matériau, les conditions opératoires, les publications, les plans HKL, etc.