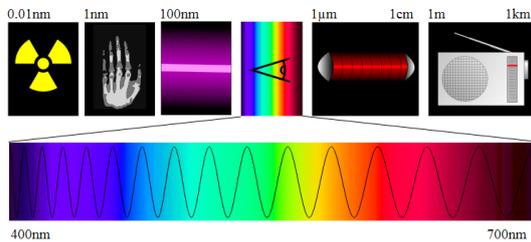


# Méthodes et Techniques Instrumentales



Dr. Lynda IDJOUADIENE

Université A. Mira de Bejaia

Faculté des Sciences Exactes

Département de Chimie

Email : lynda.  
idjouadiene@univ-bejaia.dz

1.0

Avril 2022

# Table des matières

<b>Objectifs</b>	<b>3</b>
<b>I - Chapitre II : Méthodes d'analyses spectrométriques</b>	<b>4</b>
1. Introduction aux méthodes spectrométriques .....	5
1.1. Définition .....	5
1.2. Domaines d`application .....	5
1.3. Dualité et onde-corpulaire : Dualité de la lumière .....	6
1.4. Interaction rayonnement – matière: .....	7
1.5. Processus a la base des phénomènes spectroscopiques .....	7
1.6. Le spectre électromagnétique .....	9
1.7. Absorption du rayonnement .....	11
1.8. Émission des rayonnements électromagnétiques .....	20

# Objectifs

Ce cours a pour objectif de familiariser l'étudiant avec les notions théoriques nécessaires à la maîtrise d'un certain nombre de techniques courantes instrumentales.

Par ailleurs:

- Familiariser les étudiants avec les différentes techniques instrumentales.
- Savoir régler les instruments pour optimiser la qualité des spectres.
- Réussir à identifier des signaux réels du bruit.
- Appliquer les lois arithmétique sur les spectres et réduction de données (identification des pics, des bandes et des éléments et structures moléculaires correspondantes).

Ce cours est adressé aux étudiants de Master I en Chimie Analytique. Il leur permet de connaître les différentes techniques instrumentales spectroscopiques utilisés dans les laboratoires de Chimie afin d'approfondir leur connaissance sur le matériel à utiliser et savoir interpréter les résultats obtenus.

# I Chapitre II : Méthodes d'analyses spectrométriques

# 1. Introduction aux méthodes spectrométriques

## 1.1. Définition

### 🔍 Définition

Les **méthodes spectroscopiques** sont des techniques d'**analyses** (qualitative, quantitative et structurale), qui consistent à **mesurer l'absorption** d'une solution. Ces méthodes se basent sur l'interaction entre la **matière** et la **lumière**. La spectroscopie présente des avantages suivants: nécessite de petites quantités, non destructives et très précise.

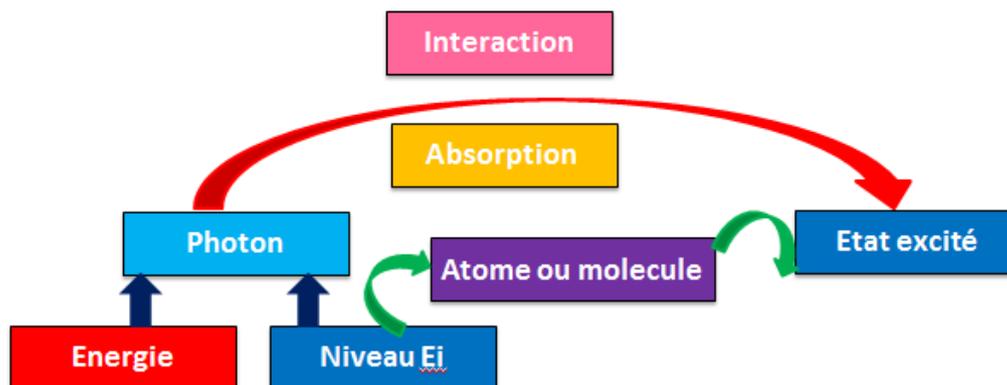


Figure 04 : Schéma résumant sur l'interaction entre la matière et la lumière dans les méthodes spectroscopiques

### ⊕ Complément

La **lumière** est une **onde électromagnétique** constituée de **corpuscules**, les **photons**. Chaque photon porte un **quantum d'énergie**. L'énergie transportée par le photon est inversement proportionnelle à la **longueur d'onde** à laquelle il est associé.

## 1.2. Domaines d'application

- Explication d'un grand nombre de phénomènes qui nous entourent : la couleur de nos habits, couleur du ciel, astres, éclair....
- Dans les laboratoires :
  - Identification des molécules
  - Détermination des structures
  - Mesure des cinétiques de réaction
  - Détermination des mécanismes réactionnels
- Dosages
  - Recherche de traces de molécules (police scientifique / œuvres d'art)
  - Analyses médicales (IRM, scintigraphie, mammographie...)
  - Analyse conformationnelle en biologie.

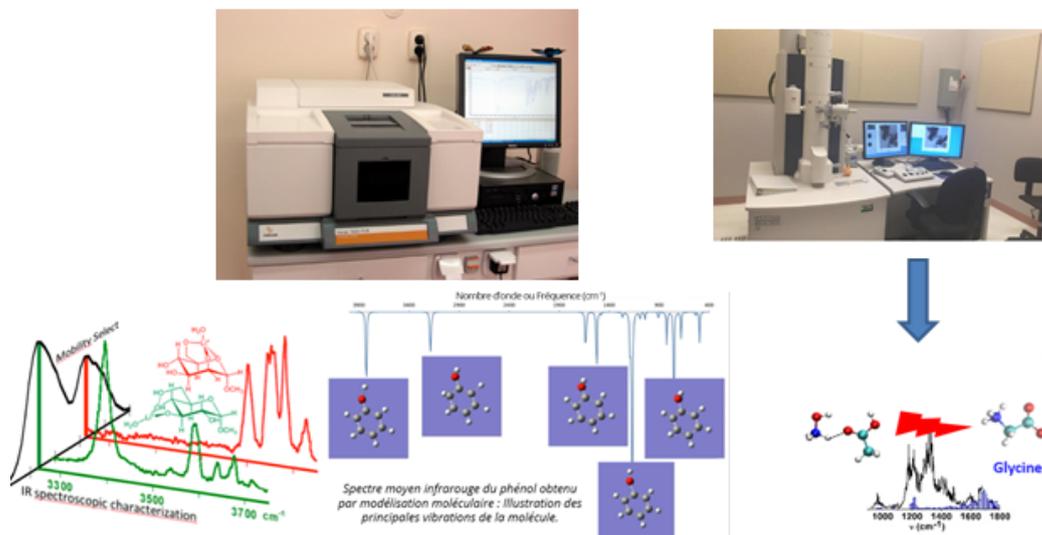


Figure 05 : Exemples d'utilisation dans les laboratoires

### 1.3. Dualité et onde-corpculaire : Dualité de la lumière

**Q** Définition : a. La théorie ondulatoire du rayonnement électromagnétique onde formée d'un champ électrique et d'un champ magnétique périodiques en phase, entre eux et la direction de propagation de l'onde

Une onde électromagnétique comporte à la fois un champ électrique et d'un champ magnétique oscillant à la même fréquence. Ces deux champs, perpendiculaire l'un par rapport à l'autre se propagent dans un milieu selon une direction orthogonale.

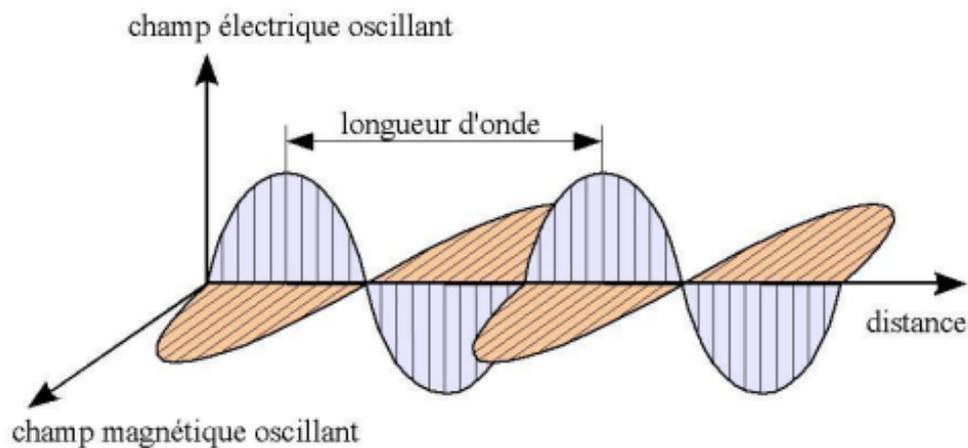
La propagation de ces ondes s'effectue à une vitesse qui dépend du milieu considérée.

Dans le vide, la vitesse de propagation est d'environ :

$$C = 3 \times 10^8 \text{ m/s}$$

La nature de la radiation caractérisée par :

- Fréquence  $\nu$  de l'oscillation périodique des champs
- Longueur d'onde  $\lambda$ , distance séparant deux maxima successifs :  $\lambda = c/\nu$
- Rayonnement porteur d'une énergie  $E$  dont la valeur dépend de la fréquence



**Schéma d'une onde électromagnétique**

Figure 06 : Schéma détaillée d'une onde électromagnétique.

### Q. Définition : b. La théorie corpusculaire du rayonnement électromagnétique

La propagation de l'onde est bien décrite par la théorie ondulatoire, en d'autres termes ; c'est l'interaction du rayonnement avec la matière (émission ou absorption de lumière...) selon la nature corpusculaire.

Rayonnement électromagnétique = flux de particules, les photons ou **quanta**, se déplaçant à la vitesse de la lumière.

L'énergie d'un photon donnée par l'équation de Bohr :

$$E = h\nu$$

où :

$h = 6,624 \cdot 10^{-34}$  .J.s ; constante de Planck

$\nu$  : fréquence classique de l'onde

#### 1.4. Interaction rayonnement – matière:

Soit un système matériel donné (atome, ion, molécule...) qui peut occuper:

- États discrets (1), (2) ...
- Ayant une énergie bien déterminée  $E_1$   $E_2$  ...

Dans certaines conditions, le système passe de (i) à (j) :

- en absorbant ( $E_j > E_i$ )
- en libérant ( $E_j < E_i$ )

sachant que l'énergie est considérée en valeurs absolue  $|E_j - E_i|$

#### 1.5. Processus à la base des phénomènes spectroscopiques

En spectroscopie, il existe quatre phénomènes de base importants souvent rencontrés dans les différents principes, la figure 7 suivant les décrivent :

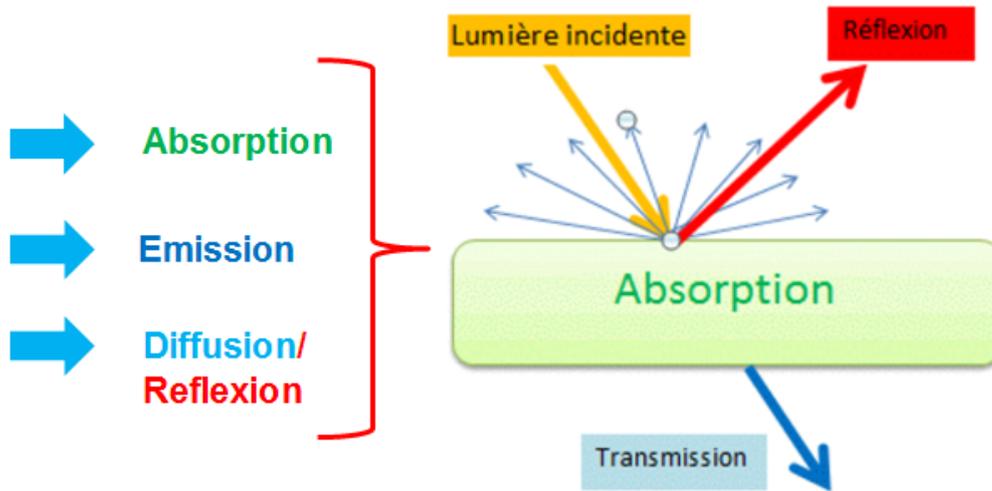


Figure 7 : Schéma décrivant les différents processus la base des phénomènes spectroscopiques

Attention, il ne faut pas confondre la réflexion et la diffusion, la figure 8, explique bien la différence entre ces deux phénoménismes :

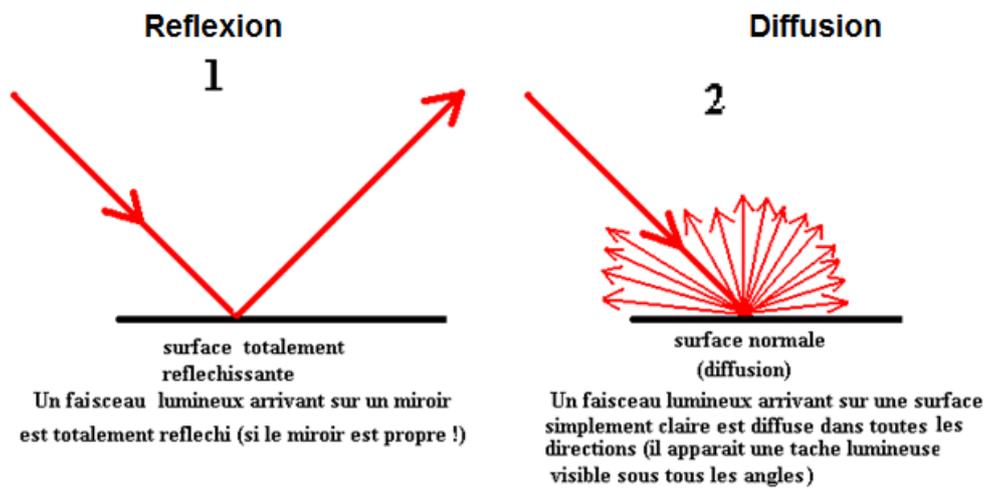


Figure 8 : La différence entre la diffusion et la réflexion

**🔔 Rappel : Absorption**

Système matériel soumis à l'action d'un faisceau de lumière, un photon peut être absorbé.

On a un passage du niveau d'énergie  $E_i$  au niveau d'énergie  $E_j$  voir Figure 9:

$$h\nu = E_j - E_i$$

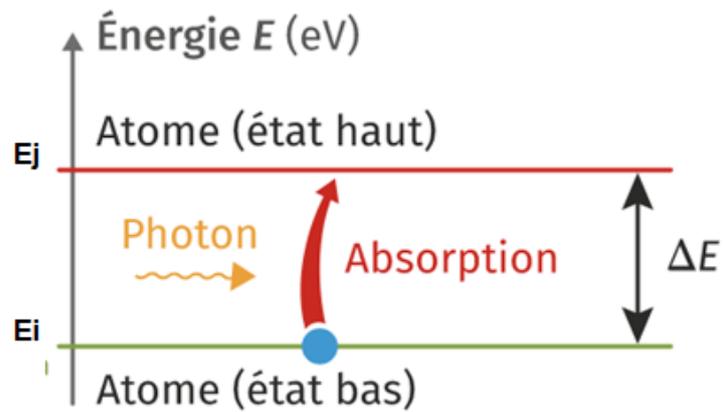


Figure 9 : le phénomène d'absorption

### 🔔 Rappel : Émission:

Système d'énergie  $E_j$  peut émettre spontanément un photon pour descendre sur un niveau inférieur  $E_i$  voir figure 10:

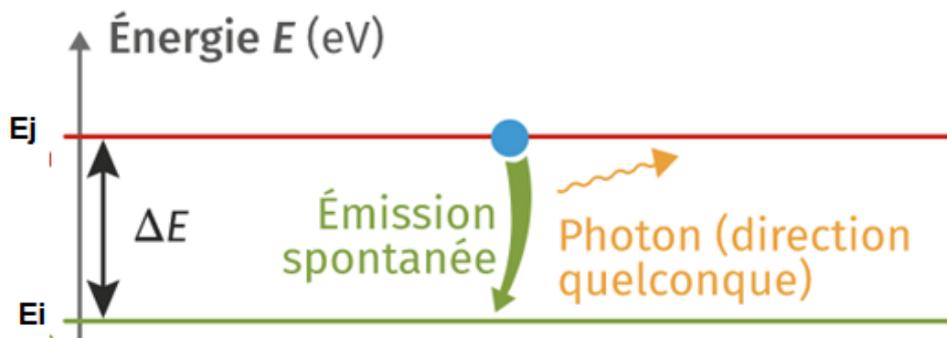


Figure 10 : Le phénomène d'émission

### 🔔 Rappel : Diffusion:

C'est un choc entre matière et radiation de fréquence  $\nu_0$

Le **photon** passe dans une **autre direction** : diffusion avec ou sans modification de l'énergie du photon diffusé.

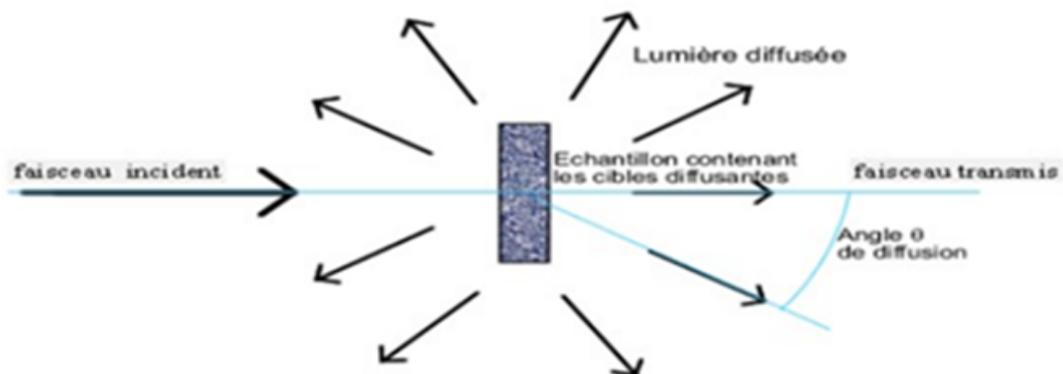


Figure 11 : Le phénomène de diffusion

## 1.6. Le spectre électromagnétique

### 🔍 Définition

C'est un ensemble continu des ondes électromagnétiques connues, **classées** dans l'ordre de leurs **longueurs d'onde**, de leurs **fréquences** et de leurs **énergies**.

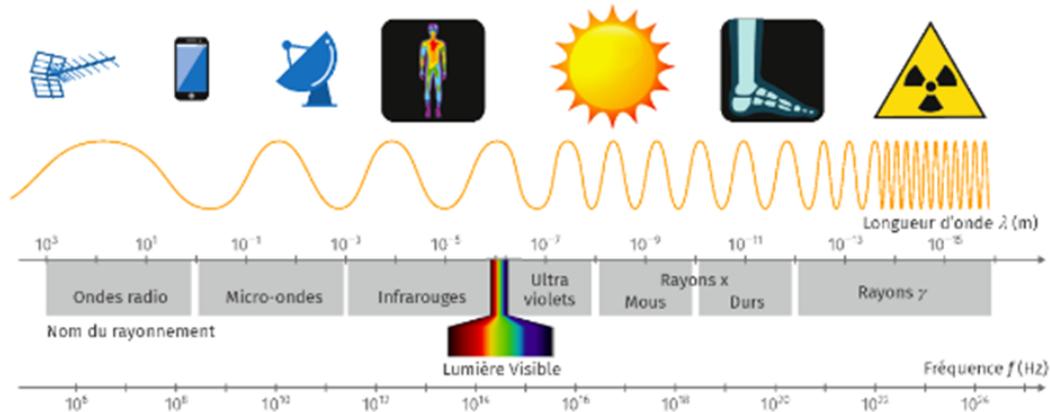


Figure 12 : Le spectre électromagnétique

Explication des différentes zones du spectre électromagnétique :

La première zone : **Spectroscopie des rayons  $\gamma$  (Radioactif)**

- Les rayons  $\gamma$  sont très énergétiques, donc ils sont dangereux pour les cellules humaines. → mutations
- Interaction avec la matière → **Transformation à l'intérieur même des noyaux.**
- Les spectres des rayons  $\gamma$  : **caractéristiques de l'espèce nucléaire.**

La deuxième zone : **Spectroscopie des rayons X**

- Les rayons X sont produits lors des transitions électroniques de haute énergie. Ils correspondent à des modifications dans l'état des électrons internes. De ce fait, ils ne dépendent pas des combinaisons chimiques dans lesquelles les atomes sont engagés.
- **Analyse qualitative et quantitative des éléments.**

La troisième zone : **Spectroscopies dans l'UV et le Visible**

- Elles dépendent essentiellement de la **structure électronique des couches externes.**
- Leurs catégories : Spectroscopie atomiques et moléculaires.

Dans cette zone, on y trouve deux parties importantes ; la spectroscopie atomique et la spectroscopie moléculaire. Chacune d'elle regroupent des spectres spécifiques :

1- Spectroscopies atomiques :

- Spectres d'émission atomique (spectre de flamme).
- Spectres d'émission ionique (spectres d'étincelles).
- Spectres d'absorption atomique.
- Spectres de fluorescence atomique de flamme.

Ils sont utilisés pour **analyse qualitative et quantitative des éléments.**

## 2- Spectroscopies moléculaires :

- Spectres d'absorption UV-Visible.
- Spectres de fluorescence UV-Visible

Ils sont utilisés pour l'étude qualitative et quantitative de composés moléculaires.

### La quatrième zone : **Spectroscopies dans l'IR** :

Dans cette partie, on s'intéresse aux modifications dans l'état de **rotation** et de **vibration** des molécules.

Elle nous donne des informations importantes sur la **structure des molécules**.

### La cinquième zone : **Spectroscopies en micro-ondes**

La spectroscopie de rotation en micro-onde, s'intéresse aux mouvements de **rotation** des molécules.

Elle nous donne des informations importantes sur la **géométrie des petites molécules**.

### La sixième zone : **Spectroscopies en ondes radio**

C'est le cas des spectroscopies de résonance magnétique nucléaire (RMN).

- Les transitions entre les niveaux énergétiques sont occupées par les **spins de certains noyaux** sous l'action d'un champ magnétique intense.

On y trouve de importantes applications dans le **domaines de la détermination des structures** en particulier.

### Remarque

- **Spectroscopies optiques** : toutes les spectroscopies mettant en œuvre des radiations RX, UV, visibles et IR ;

Dans le **domaine optique**, les transitions s'effectuent par le **mécanisme dipolaire électrique**.

- **Spectroscopies hertziennes** : différentes techniques utilisant les micro-ondes et les ondes radio ;

Dans le **domaine hertzien**, les transitions relèvent souvent d'une **interaction dipolaire magnétique**.

## 1.7. Absorption du rayonnement

### Fondamental

Chaque espèce moléculaire est capable d'absorber ses propres fréquences caractéristiques de rayonnement électromagnétique. Voir figure 13.

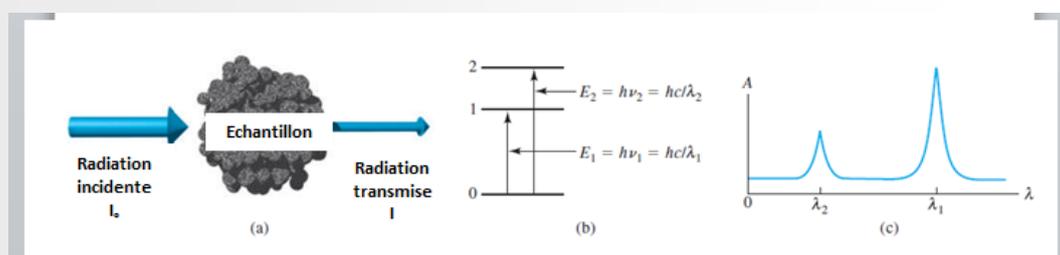


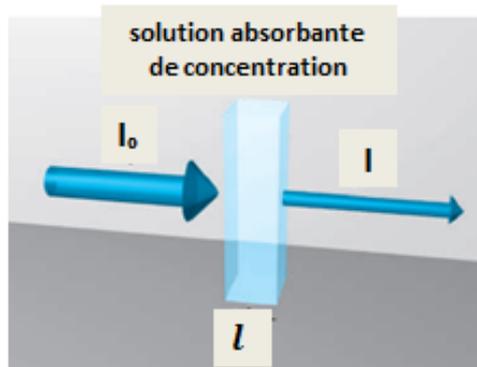
Figure 13 : Méthodes d'adsorption

Ce processus transfère de l'**énergie** à la molécule et se traduit par une **diminution de l'intensité** du rayonnement électromagnétique **incident**.

**L'absorption** du rayonnement atténue ainsi le faisceau conformément à la loi d'absorption telle que sera décrite comme suit:

### ⊕ Complément : Loi de Beer-Lambert

La loi de **Beer-Lambert** est exprimée en logarithme de base 10, alors **l'absorbance A** ou **Abs** à la **longueur d'onde  $\lambda$** , appelée aussi densité optique (DO), s'écrit :



$$A(\lambda) = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon_{\lambda} \times c \times l$$

Avec :

$I_0$  : est l'intensité du rayonnement lumineux avant passage dans l'échantillon

$I$  : est l'intensité du rayonnement lumineux après passage dans l'échantillon

$l$  : est le parcours optique exprimé en (cm)

$c$  : est la concentration exprimée en (mol/L)

### 🔗 Remarque

Le coefficient  $\epsilon$  est appelé coefficient d'extinction molaire ou absorptivité molaire de la substance absorbante, exprimée en ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ).

Elle dépend:

- de la substance chimique
- de la température
- de la longueur d'onde du rayonnement incident
- du solvant dans lequel est dissoute.

Dans le cas où l'échantillon est composé par plusieurs substances chimiques de concentration ( $c_i$ ) et qui absorbent à même longueur d'onde  $\lambda$ , la loi de Beer-Lambert est additive, alors :

$$A(\lambda) = \sum_i \varepsilon_{\lambda_i} \times l \times c_i$$

La Transmittance T est exprimée aussi par la relation :

$$T = \frac{I}{I_0}$$

En fonction de l'absorbance A, T s'écrit :

$$A(\lambda) = -\log(T)$$

Alors :

$$T = 10^{-(A(\lambda))}$$

Ou :

$$T = 10^{-\varepsilon_{\lambda} l c}$$

**L'absorption (a)** est exprimée par la relation suivante :

$$a = \frac{I_0 - I}{I_0} = 1 - T$$

Avec :  $(I_0 - I)$ , l'intensité absorbée par l'échantillon

Ou :

$$a = 1 - 10^{-(A(\lambda))}$$

### Remarque

La Transmittance T et l'absorption (a) s'expriment aussi en pourcentage.

### Complément : Cas de plusieurs solutions:

Dans le cas d'analyse de plusieurs solutions ou de plusieurs éléments chimiques dans la même solution de concentrations  $C_i$  et de coefficients d'extinction  $\varepsilon_i$ , l'absorbance totale A est la somme des absorbance  $A_i$ , selon la relation suivante :

$$A(\lambda) = \varepsilon_1 l_1 C_1 + \varepsilon_2 l_2 C_2 + \varepsilon_3 l_3 C_3 + \dots + \varepsilon_n l_n C_n$$

Si l'analyse est faite avec le **même type de cellules** (cuvette), le **parcours optique** et donc le même, il vient donc d'écrire l'absorbance A() :

$$A(\lambda) = l(\varepsilon_1 C_1 + \varepsilon_2 C_2 + \varepsilon_3 C_3 + \dots + \varepsilon_n C_n)$$

### 💡 Fondamental : Spectres d'absorption

Un **spectre d'absorption** est un tracé de l'**absorbance** en fonction de la **longueur d'onde**. L'absorbance peut également être tracée en fonction du **nombre d'onde ou de la fréquence**.

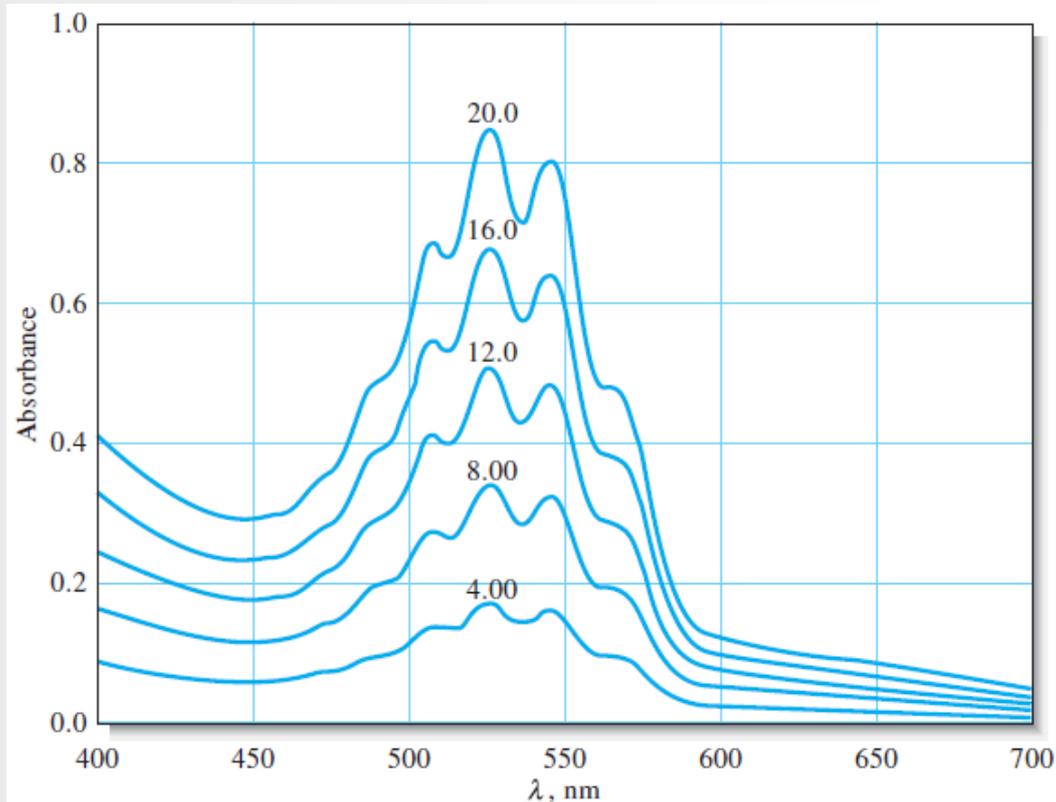


Figure 14 : Spectres d'absorption typiques du permanganate de potassium à cinq différentes concentrations

### ⚙️ Méthode : Absorption atomique

Lorsqu'un faisceau de rayonnement polychromatique **ultraviolet ou visible** traverse un milieu contenant des **atomes gazeux**, seules **quelques fréquences sont atténuées par absorption**, et lorsqu'il est enregistré sur un spectromètre à très haute résolution, le spectre se compose d'un **certain nombre de raies d'absorption très étroites**.

L'image suivante, illustre un exemple de diagramme de niveau d'énergie partiel pour le sodium :

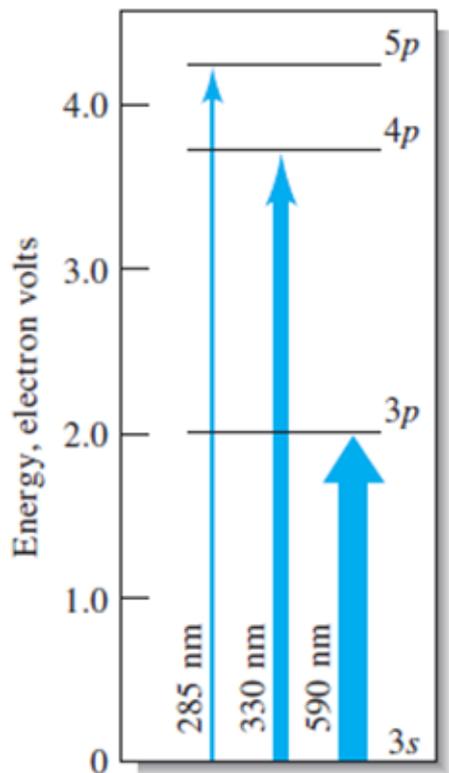


Figure 15 : Diagramme de niveau d'énergie partiel pour le sodium, montrant les transitions résultant de l'absorption à 590, 330 et 285 nm.

D'après le diagramme, on constate que :

- Les transitions, se produisent lorsque l'unique électron externe du sodium est excité de sa température ambiante ou de son état fondamental 3s vers les orbitales 3p, 4p et 5p.
- Ces excitations sont provoquées par l'absorption de photons de rayonnement dont les énergies correspondent exactement aux différences d'énergies entre les états excités et l'état fondamental 3s.
- Les transitions entre deux orbitales différentes sont appelées **transitions électroniques**.

#### 🔗 Remarque

Les **spectres d'absorption atomique** ne sont généralement pas enregistrés en raison de difficultés instrumentales. Au lieu de cela, l'absorption atomique est mesurée à une seule **longueur d'onde** à l'aide d'une source très étroite, presque **monochromatique**.

#### ⚙️ Méthode : Absorption moléculaire

Les molécules subissent trois types de **transitions quantifiées** lorsqu'elles sont excitées par un rayonnement **ultraviolet, visible et infrarouge**.

Pour le rayonnement **ultraviolet et visible**, l'excitation se produit lorsqu'un électron résidant dans une orbitale moléculaire ou atomique à **basse énergie** est promu vers une orbitale à plus **haute énergie**.

#### ⚙️ Méthode : Molécule à l'état gazeux (isolée)

Dans ce cas, on a un système de bandes :

Chaque bande (pic) est caractérisé par 3 paramètres :

- Position longueur d'onde max en nm. Cette position varie selon l'environnement chimique de la molécule.
- Hauteur (intensité de surface), elle peut diminuer ou augmenter
- Largeur à mi-hauteur

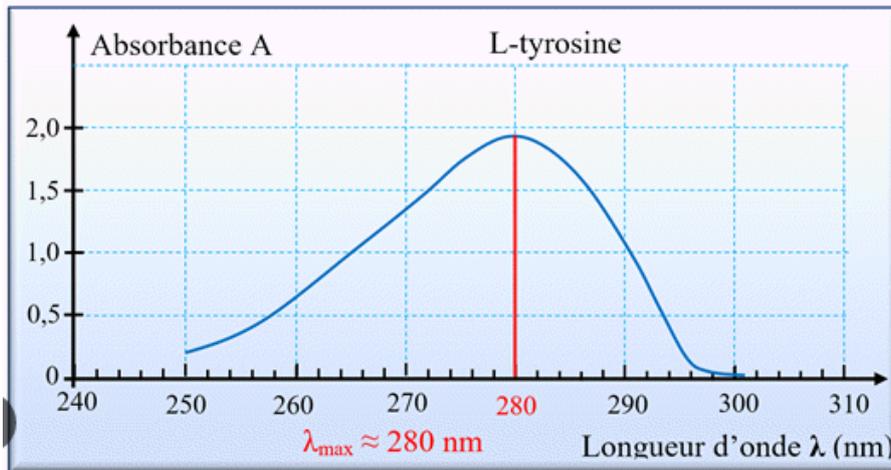


Figure 16 : Spectre d'absorption de L-tyrosine ou on peut voir les différents paramètres qui caractérisent une bande

On a une multitude de raies spectrales (car nombre total de niveau d'énergie d'une molécule est très grand, supérieur à celui des atomes : 5).

En plus des transitions électroniques, les molécules présentent deux autres types de transitions radio-induites : les **transitions vibrationnelles** et les **transitions rotationnelles**. Les transitions vibrationnelles se produisent lorsqu'une molécule a une multitude de niveaux d'énergie **quantifiés**, ou états vibrationnels, associés aux **liaisons** qui maintiennent la molécule ensemble.

### ¶ Syntaxe : L'énergie moléculaire :

Elle contient 5 niveaux d'énergie différents:

$$E_{\text{totale}} = E_T + E_O + E_r + E_v + E_e$$

(Mais ici on oublie  $E_T$  et  $E_O$ )

Avec:

$E_r$  provient de la rotation de la molécule autour de son centre de gravité.

$E_v$  correspond à la vibration de la molécule

$E_e$  électronique est liée à la distribution des électrons sur les différentes orbitales moléculaires.

$E_t$  translation

$E_o$  orientation

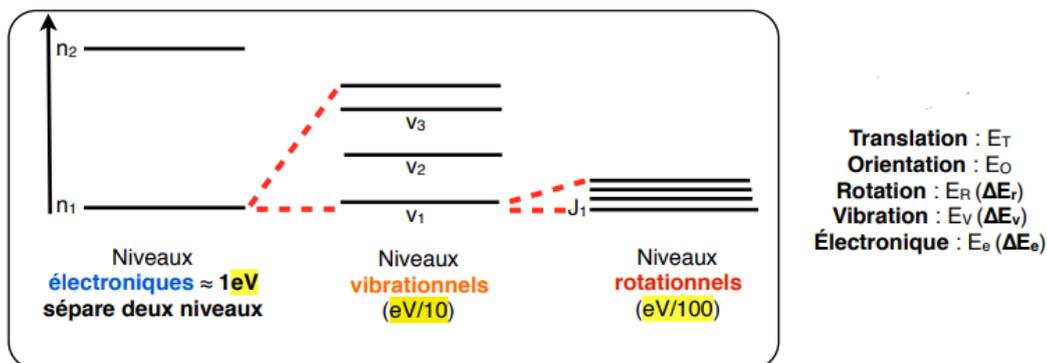


Figure 17 : L'énergie moléculaire : explication des 3 niveaux d'énergie importants

Ces énergies ne peuvent varier que par des sauts bien définis. Chaque niveau **électronique** contient un ensemble de niveaux **vibrationnels** et chaque niveau de vibration contient un ensemble de plusieurs niveaux **rotationnels**.

Ce qui nous conduit à :

**Énergie moléculaire**  $\approx$  Énergie des rayonnements UV, VIS, IR .

Ces 3 types de rayonnements vont donc pouvoir être absorbés par des **molécules isolées** en engendrant des transitions **rotationnelles, vibrationnelles et/ou électroniques**.

Toute transition vibrationnelle est associée à des transitions rotationnelles

### ¶ Syntaxe : Absorption des rayonnements IR

Le rayonnement infrarouge n'est généralement pas assez énergétique pour provoquer des **transitions électroniques** (parce qu'elles sont **très faibles**), mais il peut induire des transitions dans les états **vibrationnels et rotationnels** associés à l'état électronique fondamental de la molécule.

- Pour les photons infrarouges **proches** :

On obtient un spectre de VIBRATION-ROTATION (discontinu) constitué de :

→ **Bandes** associées chacune à une variation de l'énergie de **vibration**  $\Delta E_v$

→ **Raies** correspondant aux différentes variations de l'énergie de **rotation**  $\Delta E_r$

Puisque les états de vibration sont touchés, les états de rotation le sont aussi puisque de plus basse énergie. Les photons proches vont céder leur énergie à la molécule au niveau vibrationnel et vont être absorbés par la molécule isolée.

- Pour les photons infrarouges **lointains** :

Etats rotationnels d'une molécule. On obtient un spectre de **rotation pure** constitué uniquement de **raies**. Chaque raie est associée à une transition **rotationnelle**.

### ¶ Syntaxe : Absorption des rayonnements UV et VIS :

Pour simplifier l'énergie de ces photons est proche de l'eV. Et comme on vient de le voir cette énergie correspond à l'énergie séparant deux niveaux électroniques de ces molécules.

On a alors des transitions électroniques, des transitions vibrationnelles et rotationnelles (voir figure 25:

$$\Delta E_e + \Delta E_v + \Delta E_r \rightarrow \text{Spectre électronique}$$

→ Les **raies** ( $\Delta E_r$ ) : à chaque fois qu'il y aura une transition d'énergie de rotation on observera une raie.

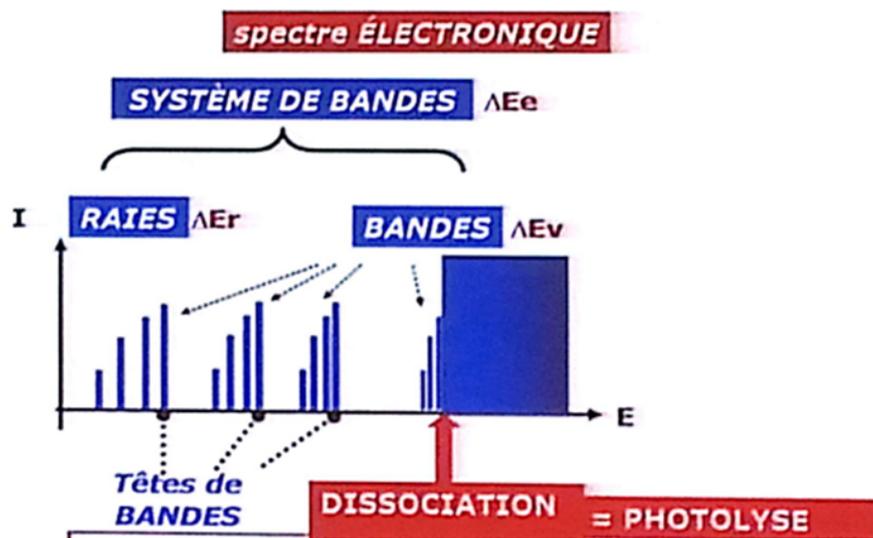
→ Les **bandes** ( $\Delta E_v$ ) constituées de **raies** qui sont :

- De plus en plus **rapprochées** (vers les grandes énergies)
- De plus en plus **intenses** jusqu'à une limite très nette dite «**tête de bande**»

→ **Système** (ou séquence) de **bandes** ( $\Delta E_e$ ) : Discontinues jusqu'à une certaine valeur d'énergie correspondant à l'**énergie de dissociation** de la molécule.

- **Dissociation** : Rupture de la liaison inter-atomique de la molécule : Scission homolytique (n'est pas une ionisation : aucun électrons arrachés)

→ Apparition de **radicaux libres** (comportant chacun 1 électron non apparié), **Photolyse** (photon non ionisant) à distinguer de la **radiolyse** (ionisant)



Au delà de l'énergie de dissociation, le spectre devient continu et tout est absorbé.

Figure 18 : Spectre électronique décrivant les différents points importants

### ⚙️ Méthode : Absorption mutuelles à l'état condensé

À l'état condensé, les molécules sont soumises à des interactions de la part de leurs voisines, elles **interagissent** les unes avec les autres.

Si les interactions augmentent, les raies d'absorption s'**élargissent** et deviennent **jointives** jusqu'à former une suite de raies très **proches**, elles même formant une **bande continue**.

On peut distinguer trois cas (voir exemple sur la figure 19)

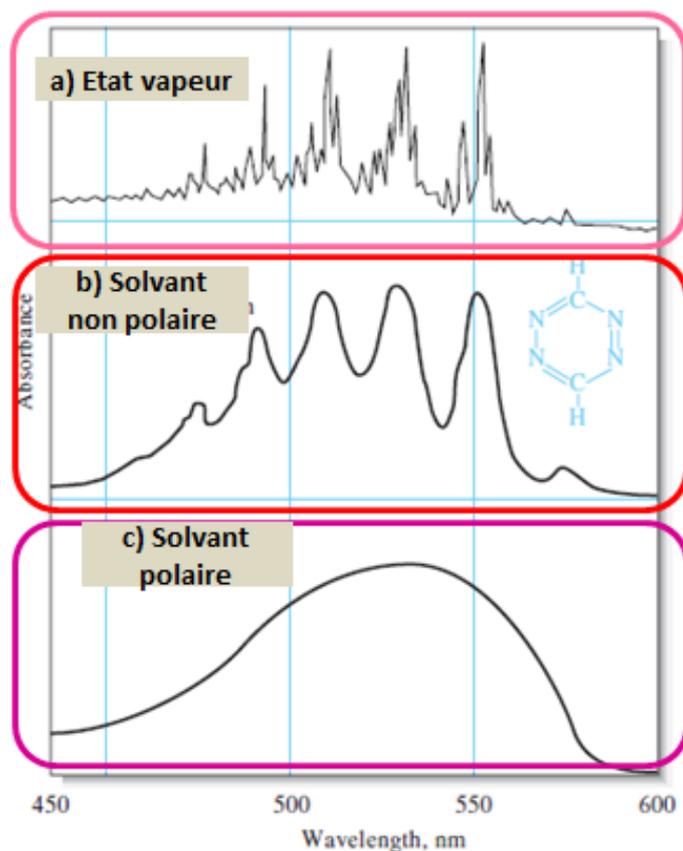


Figure 19 : Spectres d'absorption visibles typiques. Le composé est la 1,2,4,5-tétrazine.

D'après la figure on remarque que :

- Etat vapeur :

Le spectre est représenté en phase gazeuse où de nombreuses raies dues aux transitions électroniques, vibrationnelles et rotationnelles sont visibles.

- Solvant non polaire :

Les transitions électroniques peuvent être observées, mais la structure vibrationnelle et rotationnelle a été perdue.

- Solvant polaire :

Les fortes forces intermoléculaires ont amené les pics électroniques à se mélanger pour ne donner qu'un seul pic d'absorption lisse.

### ⊕ Complément

L'étude des spectres d'absorption moléculaire présente un grand intérêt pour comprendre la structure et l'environnement des molécules (nature du solvant par exemple).

- Selon la **position de la bande** on peut y associer une énergie et le type de transition impliquée. On peut étudier les modifications, l'influence du milieu environnant.
- L'**intensité** de la bande (hauteur) permet d'étudier la **nature** du milieu.
- La **largeur à mi-hauteur** dépend elle de la **température**, la **pression**, la **nature** du milieu.

## 1.8. Émission des rayonnements électromagnétiques

### a. Émission par incandescence = Rayonnement thermique :

L'énergie excitatrice est la **chaleur**.

Tout corps chauffé émet des rayonnements électromagnétiques.

On a essentiellement des variations :

- De l'énergie de vibration  $\Delta E_v$ .
- De l'énergie de rotation  $\Delta E_r$ .

(Les transitions électroniques ne sont généralement pas observées).

### b. Émission par luminescence

C'est l'émission de tout rayonnement électromagnétique (VIS, UV ou IR) qui n'est pas d'**origine purement thermique**.

Il s'agit d'un retour à l'état **fondamental** d'atomes ou de molécules excités par une **énergie autre que la chaleur**.

Ce sont des rayonnements plus **énergétiques** que par incandescence :

Photons **IR**,

Photons **visibles** (dont les couleurs froides **vert-bleu-violet**),

Photons **UV**.