
Spectroscopies et Analyses

Lise Boutenègre - lise.boutenegre@ens.psl.eu

Année 2023-2024

Bibliographie

- ✍ *Chimie générale expérimentale*, **J. Piard**
- ✍ *Photophysique et photochimie*, **J. Piard**
- ✍ *Analyse Chimique*, **F. & A. Rouessac**
- ✍ *Chimie Physique*, **P. Atkins**
- ✍ *La spectroscopie à résonance magnétique nucléaire*, **P. Hore**
- ✍ *Spectroscopie*, **J. M. Hollas**

Prérequis

- ✓ Loi de Beer-Lambert
- ✓ RMN ^1H (attribution)
- ✓ IR (attribution)

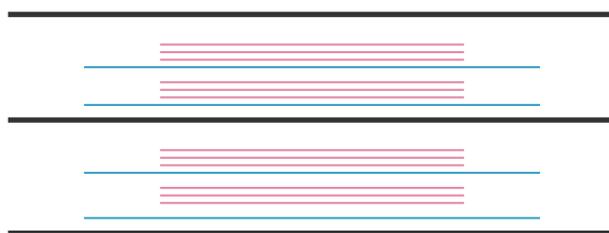
Table des matières

1	RMN (et RPE)	5
1.1	Principe de la RMN	5
1.1.1	Interaction spin/champ magnétique pour un noyau	5
1.1.2	Noyaux étudiés par RMN	6
1.1.3	Déplacement chimique	7
1.1.4	Modification du déplacement chimique	8
1.1.5	Les couplages spin-spin	8
1.2	Dispositif expérimental	10
1.3	Interprétation de spectres	11
1.4	Pour aller plus loin - RPE	13
1.4.1	Principe	13
1.4.2	Spectromètres RPE	14
2	Spectroscopies de vibration	15
2.1	Modes normaux de vibration	15
2.2	Spectroscopie IR	17
2.2.1	Dispositif expérimental	17
2.2.2	Mesure en réflectance totale atténuée - Spectromètre IR en mode ATR	18
2.2.3	Spectres infrarouges	19
2.3	Pour aller plus loin - Spectroscopie Raman	21
2.3.1	Effet Raman	22
2.3.2	Dispositif expérimental	22
2.3.3	Comparaison IR et Raman	23
3	Spectroscopies UV-Visible	25
3.1	Principe	25
3.1.1	Les différentes transitions électroniques	26
3.2	Influence des différents paramètres sur les spectres	27
3.2.1	Groupements chromophores	27
3.2.2	Effets dus aux solvants	28
3.3	Loi de Beer-Lambert	29
3.3.1	Définition	29
3.3.2	Conditions d'application de la loi	29
3.4	Dispositif expérimental	30
3.4.1	Sources polychromatiques	31
3.4.2	Monochromateur	31
3.4.3	Simple VS Double faisceau	31
3.4.4	Détecteur	32
3.5	Évolution de l'état excité : Fluorescence et Phosphorescence	34
3.5.1	Caractéristiques de l'émission de fluorescence	35
3.5.2	Mise en place pratique	36
3.5.3	Détermination expérimentale d'un rendement quantique de fluorescence	38
3.5.4	Phénomènes d'inhibition de fluorescence	38
4	Spectroscopie de photoémission d'électrons - XPS et UPS	40

5 Spectrométrie de masse	41
5.1 Principe	41
5.1.1 Pouvoir de résolution	42
5.2 Procédés d'ionisation	42
5.2.1 Ionisation par impact électronique (IE)	42
5.2.2 Ionisation Chimique Positive (IC)	43
5.2.3 Exemple d'ionisation à pression atmosphérique - Electronébullisation (ESI)	43
5.3 Différents types d'analyseur	43
5.3.1 Analyseurs magnétiques	43
5.3.2 Analyseurs à temps de vol - Time of flight (TOF)	44
5.4 Interprétation de résultats	44

Introduction

La spectroscopie étudie les interactions entre lumière et matière. L'étude de spectres permet de déterminer la molécule étudiée grâce à des bases de données mais aussi d'obtenir précisément les paramètres structuraux de cette molécule. Chaque type de rayonnement donne des informations différentes, une étude spectroscopique va donc nécessiter de s'intéresser à toutes les gammes de longueurs d'onde possible et donc à tous les types de spectroscopies. Nous allons ici étudier les différents types de spectroscopie en allant des plus grandes longueurs d'onde (RMN) vers les plus petites (XPS) et en complétant par la spectrométrie de masse qui fournit des informations complémentaires sur la structure des molécules.



- Niveaux électroniques.
- Niveaux vibrationnels.
- Niveaux rotationnels.

Type de rayonnement	Longueur d'onde	Energie	Spectroscopie	Objet d'étude
Gamma	<10 pm	>124 keV	Mössbauer	Noyau
X	10 pm - 10 nm	124 keV - 124 eV	XPS	Électrons de cœur
UV	10 nm - 390 nm	124 eV - 3,2 eV	UV-Vis, Fluo	Électrons de valence
Visible	390 nm - 750 nm	3,2 eV - 1,7 eV		
Infrarouge	750 nm - 0,1 mm	1,7 eV - 12,4 meV	Vibrationnelle	Vibration des molécules
Micro-onde	1 mm - 1 m	1,24 meV - 1,24 µeV	Rotationnelle	Rotation des molécules
Radio	1 m - 100 000 km	1,24 µeV - 12,4 feV	RMN/RPE	Spins

Remarque

Il existe plusieurs relations permettant de relier l'énergie, la fréquence, la longueur d'onde et le nombre d'onde d'un photon :

$$E = h\nu = \hbar\omega = h\frac{c}{\lambda} = hc\sigma$$

Avec E l'énergie en J, ν la fréquence en s^{-1} , ω la pulsation en rad s^{-1} , λ la longueur d'onde en nm et σ le nombre d'onde en cm^{-1} .

On peut en extraire la relation numérique suivante :

$$E(\text{eV}) \simeq \frac{1240}{\lambda(\text{nm})}$$

1 RMN (et RPE)

La RMN est une méthode spectroscopique basée sur l'étude des noyaux de certains éléments. Elle permet d'obtenir des informations structurales sur les composés organiques et inorganiques. Elle est utilisée dans des domaines variés tels que la chimie, la biologie, l'agroalimentaire ou l'imagerie médicale.

1.1 Principe de la RMN

1.1.1 Interaction spin/champ magnétique pour un noyau

Tout noyau atomique est caractérisé par plusieurs grandeurs intrinsèques parmi lesquelles le **moment cinétique de spin** \vec{I} (Js). Ce paramètre vectoriel permet d'expliquer le comportement des atomes dans les milieux où règne une orientation privilégiée, par exemple celle créée par un champ magnétique. Son amplitude varie d'un type de noyau à un autre, elle est définie par le **nombre quantique de spin I** dont la valeur peut être nulle ou un multiple de $1/2$ ¹. Un noyau isolé dont le nombre de spin I n'est pas nul peut se comparer à un petit aimant de moment magnétique $\vec{\mu}$ (J T^{-1}).

Définition

Moment magnétique nucléaire

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{I}$$

Le moment magnétique nucléaire est représenté par un vecteur colinéaire à \vec{I} , de même sens si γ est positif et de sens opposé si γ est négatif avec γ le **rapport gyromagnétique** (en Hz T^{-1}). Ce rapport correspond au rapport entre le moment magnétique et le moment cinétique de spin^a.

a. Il se calcule en supposant que la masse et la charge suivent une distribution uniforme à partir du facteur de Landé.

Plongé dans un champ magnétique \vec{B}_0 , un noyau de spin non nul subit l'effet Zeeman : son moment magnétique nucléaire et le champ magnétique \vec{B}_0 interagissent créant des levées de dégénérescence des niveaux de spin. En considérant le noyau comme un aimant, plongé dans un champ magnétique \vec{B}_0 , faisant un angle θ avec le moment magnétique $\vec{\mu}$. L'énergie des niveaux se trouve par :

$$E = -\vec{\mu} \cdot \vec{B}_0 = -\mu \cdot \cos \theta \cdot B_0 = -\mu_z \cdot B_0$$

En notant μ_z la projection de $\vec{\mu}$ selon l'axe z dirigée dans le sens de \vec{B}_0 .
En combinant les relations précédentes, on aboutit à

$$E = -\gamma \cdot m \cdot B_0$$

Avec m les $2I+1$ valeurs que peut prendre le nombre quantique de spin parmi

$$m = -I, -I + 1, \dots, 0, \dots, I - 1, I$$

Ainsi, pour le proton, $I = 1/2$, on a donc deux valeurs possibles pour $m = 1/2$ et $m = -1/2$. On peut alors calculer les deux valeurs possibles pour l'énergie :

$$E_1 = -\gamma \frac{1}{2} \frac{h}{2\pi} B_0 \text{ et } E_2 = +\gamma \frac{1}{2} \frac{h}{2\pi} B_0$$

Remarque

Ici on a de nouveau le coefficient $\frac{h}{2\pi}$ car les énergies sont exprimées en J et plus en unités naturelles.

1. En unités dites *naturelles* $\frac{h}{2\pi}$.

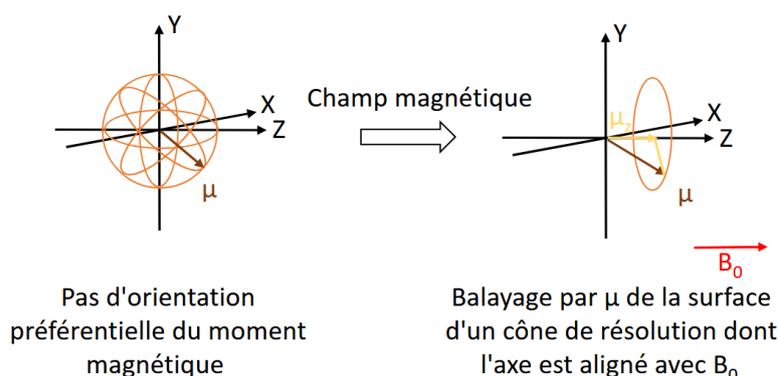
Dans ce cas, la différence entre les deux niveaux d'énergie correspond à :

$$\Delta E = E_2 - E_1 = \gamma \frac{h}{2\pi} B_0$$

Lorsque le noyau est irradié, le spin balaye alors un cône dont l'axe est aligné avec \vec{B}_0 avec une pulsation vérifiant la relation de Larmor :

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$$

Ainsi, la fréquence de résonance augmente avec B_0 et les appareillages de routine sont fabriqués pour étudier *les protons*.



1.1.2 Noyaux étudiés par RMN

Pour pouvoir être étudié par RMN un noyau doit avoir un nombre quantique de spin non nul. Or, un nucléide quelconque représenté par ${}^A_Z X$ a un I non nul si ses nombres de protons Z et de nucléons A ne sont pas tous les deux pairs. Le tableau ci-dessous listent les nombres quantiques de spin de certains isotopes :

I	Noyaux
0	${}^{12}\text{C}$, ${}^{16}\text{O}$
1/2	${}^1\text{H}$, ${}^{13}\text{C}$, ${}^{15}\text{N}$, ${}^{19}\text{F}$, ${}^{29}\text{Si}$, ${}^{31}\text{P}$
1	${}^2\text{H}$, ${}^{14}\text{N}$
3/2	${}^{11}\text{B}$, ${}^{23}\text{Na}$, ${}^{35}\text{Cl}$, ${}^{37}\text{Cl}$
5/2	${}^{17}\text{O}$, ${}^{27}\text{Al}$
3	${}^{10}\text{B}$

Remarque

Le deutérium possède un spin non nul, il est donc actif en RMN. Cependant puisque $I = 1$ les énergies mises en jeu sont très différentes et donc les signaux ne sont pas visible sur la même gamme de déplacements chimiques que pour le proton.

La sensibilité des noyaux en RMN dépend également du rapport gyromagnétique de ceux-ci ainsi que de leur abondance isotopique. Par exemple le ${}^{13}\text{C}$ ne représente qu'1% du carbone, il est donc présent en très petite quantité et la RMN du carbone donne alors des signaux très peu intenses.

Noyau	γ (rad s ⁻¹ T ⁻¹)	Abondance isotopique
¹ H	$2,7 \times 10^8$	99,9%
² H	$4,1 \times 10^8$	0,02%
¹³ C	$6,3 \times 10^7$	1%
¹⁵ N	$-2,7 \times 10^7$	0,4%
¹⁹ F	$2,5 \times 10^8$	100%
²⁹ Si	$-5,3 \times 10^7$	4,7%
³¹ P	$1,1 \times 10^8$	100%

1.1.3 Déplacement chimique

Au sein d'une molécule, chaque atome se trouve dans un environnement rapproché qui lui est propre. Les électrons des liaisons créent, par leur circulation, un très faible champ induit qui s'oppose au champ extérieur. Ce champ induit crée des variations locales de champ et chaque atome a donc une valeur de champ environnant qui lui est spécifique. La fréquence de résonance qui serait observée pour l'atome dans le vide est donc modifiée, on appelle cet effet d'écran magnétique le **blindage**. On peut quantifier cet effet d'écran par la **constante d'écran** (σ) qui relie le champ effectif ressenti par le noyau étudié au champ extérieur.

$$B_{\text{eff}} = B_0(1 - \sigma)$$

La fréquence de Larmor du noyau est également impactée par cet effet d'écran et on a alors :

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_{\text{eff}} = \frac{\gamma}{2\pi} B_0(1 - \sigma)$$

On appelle alors **déplacement chimique** le décalage de fréquence observé à cause de l'effet d'écran. Les déplacements chimiques sont mesurés par rapport à un standard (pris à 0) puis normalisé par rapport à la fréquence de l'appareil. Cela permet que tous les spectres soient comparables quelque soit l'appareil utilisé.

Définition

Déplacement chimique (en ppm)

$$\delta_i = \frac{\nu_i - \nu_{\text{ref}}}{\nu_{\text{app}}} \cdot 10^6 = \frac{\Delta\nu}{\nu_{\text{app}}} \cdot 10^6$$

Remarque

Le produit de référence utilisé pour la RMN ¹H et ¹³C est le tétraméthylsilane TMS.

Définition

Plus l'effet d'écran est marqué, plus les noyaux sont dit **déblindés**. Leurs déplacements chimiques sont plus importants que ceux des noyaux que l'on dit **blindés**.

Remarque

La constante d'écran observée correspond en réalité à la somme de trois termes comprenant la constante d'écran locale, celle associée aux voisins et au solvant. Si on s'intéresse surtout à la partie locale alors elle est elle-même la somme d'une contribution diamagnétique et d'une contribution paramagnétique :

- La contribution paramagnétique renforce le champs
- La contribution diamagnétique s'oppose au champ

C'est donc la prépondérance du terme diamagnétique ou paramagnétique qui définit le signe de la constante d'écran (le plus souvent positif).

Si on considère que la contribution diamagnétique est majoritaire alors on peut raisonner sur son évolution. Elle est approximativement proportionnelle à la densité électronique de l'atome qui renferme le noyau étudié. Ainsi, quand l'atome a pour voisin un atome plus électronégatif sa densité électronique diminue donc sa constante d'écran diminue. Le déblindage est plus important et son déplacement chimique augmente.

1.1.4 Modification du déplacement chimique

Le déplacement chimique peut être modifié par un certain nombre d'effets qui sont cumulables.

L'effet inductif : Les effets électroniques qui modifient la polarité des liaisons se répercutent sur le déplacement chimique. Ainsi, les déplacements chimiques des composés organiques sont sensibles à la délocalisation plus ou moins grande des électrons des liaisons ou encore à l'électronégativité des atomes qui les entourent. Le déplacement chimique augmente avec l'électronégativité de l'atome voisin, on parle de déblindage.

Exemple

Influence de l'électronégativité des halogènes sur un déplacement chimique par rapport au TMS

	CH ₃ F ($\chi=4$)	CH ₃ Cl ($\chi = 3, 2$)	CH ₃ Br ($\chi = 3$)	CH ₃ I ($\chi = 1, 3$)
δ_H (ppm)	4,5	3	2,7	1,3

Les effets de résonance : La délocalisation du nuage électronique est également produite par les effets de mésomérie qui peuvent conduire à des polarisations de liaisons. Dans le cas du benzène, la circulation des électrons conjugués crée un cône de blindage. A l'intérieur du cône, le blindage est très important et à l'extérieur les protons seront déblindés ce qui explique le déblindage des protons aromatiques.

Les autres effets divers : Les solvants utilisés pour diluer les composés étudiés en RMN liquide ont également une influence sur les déplacements chimiques. Ils sont généralement deutérés (les H sont remplacés par des D). Lorsque le composé d'intérêt possède des protons mobiles, il est possible que des échanges $D \leftrightarrow H$ aient lieu. Ces échanges entraînent des modifications d'intensité et de position des signaux correspondants. Les liaisons hydrogènes modifient également l'entourage de certains protons, ce qui rend difficile la prévision des déplacements chimiques.

1.1.5 Les couplages spin-spin

L'orientation prise par les spins d'un noyau se répercute également sur ses plus proches voisins car chaque moment magnétique de spin crée autour de lui un champ magnétique dipolaire. On a ainsi

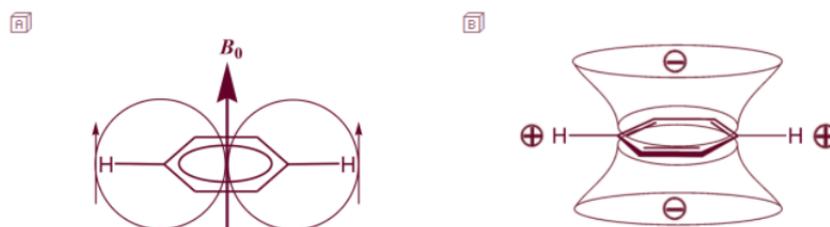


Figure 3 - (a) Le champ à l'extérieur de la boucle s'ajoute au champ B_0 ,
 (b) Les déplacements chimiques augmentent dans le plan du cycle et diminuent au-dessus.

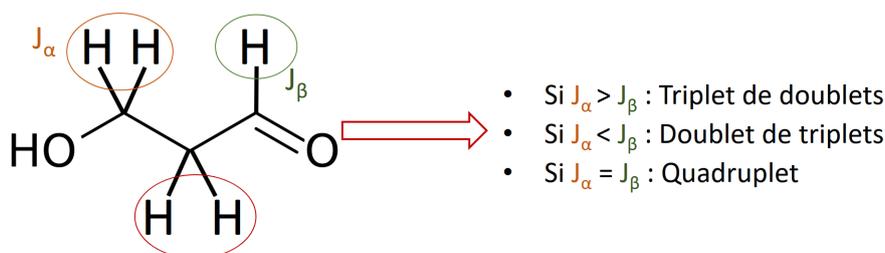
Effet de blindage des électrons conjugués du benzène. (Source : BUP Aromaticité, RMN et cyclotri-phosphazènes)

un **couplage** entre noyaux voisins qui s'atténue très rapidement avec la distance. Il peut avoir lieu entre noyaux de même type (**couplage homonucléaire**) ou des noyaux de types différents (**couplage hétéronucléaire**). On s'intéressera ici au couplage homonucléaire qui donne lieu à la multiplicité des signaux.

Pour les couplages faibles², si n noyaux (de nombre de spin I), plongés dans un même environnement magnétique, influencent de manière identique un ou plusieurs noyaux proches, le signal de ces derniers sera formés de $(2nI + 1)$ raies régulièrement espacées, soient $(n + 1)$ raies dans le cas où $I = 1/2$. Les intensités relatives des raies dans le multiplet suivent la règles du triangle de Pascal.

Nombre de voisins	Multiplicité	Intensité
0	Singulet	1
1	Doublet	1 1
2	Triplet	1 2 1
3	Quadruplet	1 3 3 1
4	Quintuplet	1 4 6 4 1
5	Sextuplet	1 5 10 10 5 1
6	Septuplet	1 6 15 20 15 6 1

Le couplage spin-spin diminue fortement avec la distance entre les protons, en effet, une constante de couplage J_3 (séparé par 3 liaisons) sera de l'ordre de quelques Hz tandis qu'une constante de type J_4 est très faible ce qui explique qu'on n'observe presque jamais de signaux dus à ce type de couplage. Les constantes de couplages permettent également de différencier les différentes conformations possibles pour des alcènes. Si les voisins d'un même groupe ont des constantes de couplage différentes alors on n'obtiendra pas un multiplet parfait, par exemple dans le cas si dessous on obtiendra pas un sextuplet mais un triplet de doublet ou un doublet de triplet.



2. Constantes de couplage beaucoup plus faibles (facteur 10) que les différences de déplacements chimiques des noyaux concernés (en Hz).

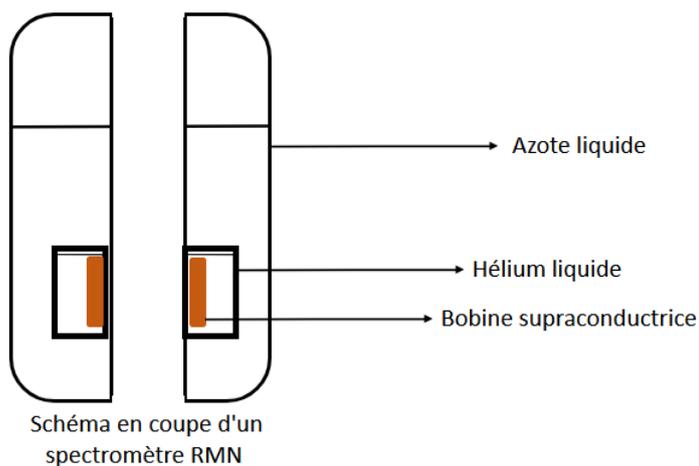
Protons	Constante de couplage (Hz)
cis	5-12
géminaux	0,5-3
trans	12-18

Constantes de couplages pour les H des alcènes.

Remarque

Un effet possible d'un couplage plus fort est une modification de l'intensité des différents pics qui ne respectent alors plus le triangle de Pascal. Cette modification peut donner lieu à un *effet de toit* dans des cas plutôt simples. Lorsque cet effet de toit se présente de manière idéale on peut tracer deux droites qui suivent les intensités des pics du multiplet et elles se croisent à la moyenne des déplacements chimiques.

1.2 Dispositif expérimental



Le champ \vec{B}_0 qui permet d'observer l'effet Zeeman est généré grâce à une bobine supraconductrice dans le cas des spectromètres à hauts champs. Pour générer les hauts champs, cette bobine est plongée dans un bain d'hélium liquide à 4 K. Ce bain est isolé par une couche de vide puis par un bain d'azote liquide.

L'échantillon est placé dans une sonde, cette sonde est placée au centre du champ uniforme \vec{B}_0 . La sonde est elle-même équipée d'une bobine qui permet de détecter le signal émis par l'échantillon.

Les signaux récupérés en RMN sont très faibles, un amplificateur est donc ajouté à la sortie de la sonde. Des filtres passe-bandes sont également utilisés pour filtrer le signal aux alentours de la fréquence de Larmor.

1.3 Interprétation de spectres

Pour interpréter les spectres RMN l'idéal est de se munir de tables de **déplacement chimique** pour attribuer les signaux à des groupes caractéristiques particuliers. Il faut ensuite regarder l'**intégration** qui donne une information sur le nombre de protons ayant donné lieu au signal et la **multiplicité** du signal qui indique le nombre de voisins.

Déplacement chimique (ppm)	Groupes caractéristiques
1-3	Alcane
1-6	Alcool
4-5	Alcène
6-8	Aromatique
9-10	Proton aldéhyde

Déplacements chimiques classiques à connaître.

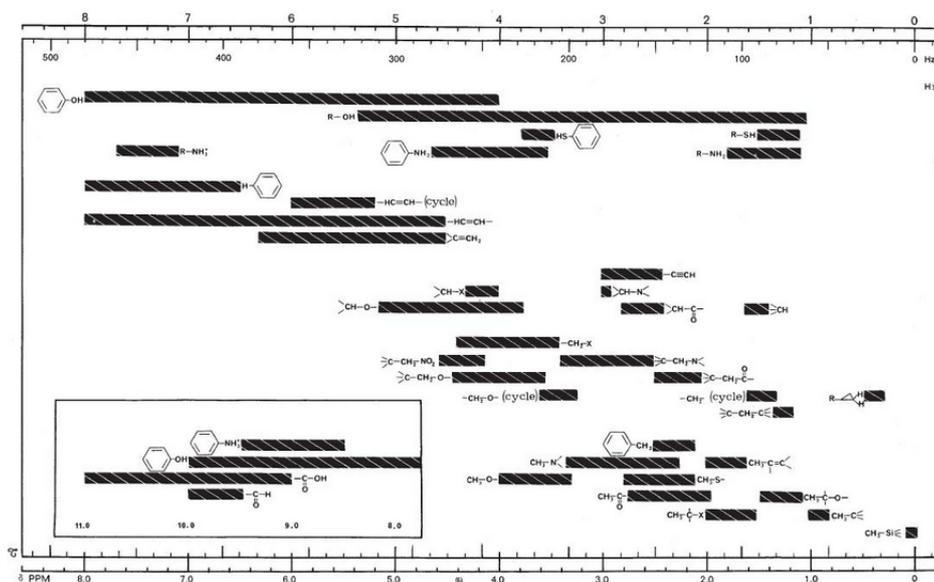


Table des déplacements chimiques en RMN du proton. (Source : Analyse Chimique, *F. & A. Rouessac*, p.417)

Remarque

En RMN du carbone, plus le carbone est substitué plus son déplacement chimique est grand.

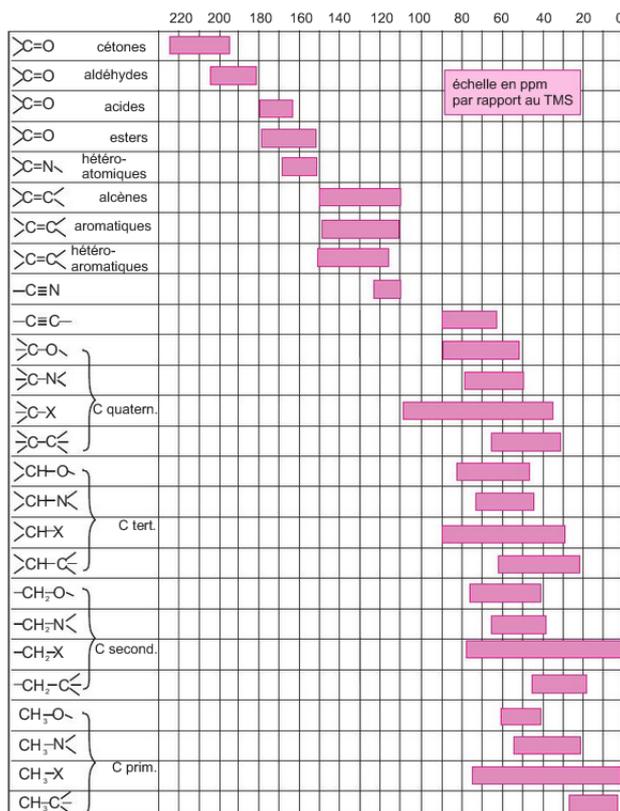
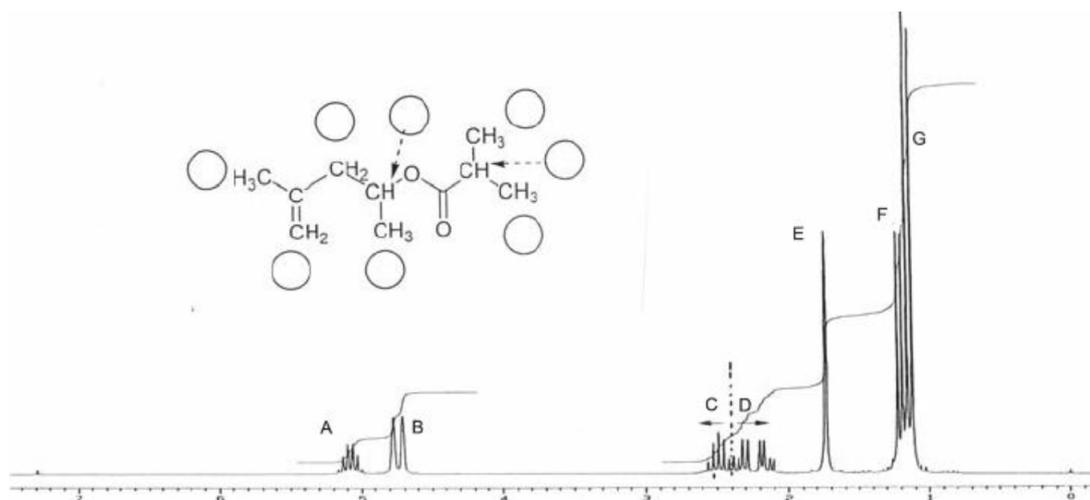


Table des déplacements chimiques en RMN du carbone. (Source : Analyse Chimique, F. & A. Rouessac, p.418)

Exercices

- Sur un spectre RMN ^1H , 1 ppm est représenté par un intervalle de 4 cm en abscisse avec un appareil à 200 MHz. Quelle distance existe-t-il entre 2 signaux qui diffèrent de 7 Hz ? Sachant que $\gamma_{\text{H}}/\gamma_{\text{C}} = 3,98$, que devient cette distance pour un spectre du ^{13}C enregistré avec cet appareil ?
- On dispose de deux isomères A et B de même formule brute $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{F}_2$. Le spectre RMN ^1H (appareil à 60 MHz) de A présente un doublet de doublet à 6,2 ppm ($J = 70$ Hz et $J = 7$ Hz) et celui de B, 1 triplet à 5,9 ppm ($J = 70$ Hz). Quelle est la nature de chacun des isomères ? Un troisième isomère est possible. Décrire quel devrait être son spectre dans ces conditions.
- Placer sur le spectre ci-dessous, en justifiant, les lettres correspondant aux protons de la molécule.



Spectre RMN à compléter

1.4 Pour aller plus loin - RPE

La résonance paramagnétique électronique (RPE) a un domaine d'application moins large que celui de la RMN. En effet, une analyse RPE nécessite que l'espèce étudiée possède des spins non appariés. Cette technique est donc utilisée plutôt pour étudier des radicaux formés au cours de réactions ou encore des complexes de métaux de transition.

1.4.1 Principe

La RPE repose comme la RMN sur l'**effet Zeeman** qui permet d'aboutir à une levée de dégénérescence des niveaux énergétiques d'un spin. La condition de résonance pour des électrons s'exprime comme suit :

$$h\nu = g\mu_B B_0$$

Avec μ_B le magnéton de Bohr, B_0 la valeur du champ magnétique et g le **facteur g** du radical. La condition de résonance en RPE est fondée sur le facteur g du radical. L'écart de g par rapport au **facteur de Landé** $g_e = 2,0023$ dépend de l'aptitude du champ appliqué à induire des courants locaux d'électrons dans le radical.

Remarque

Le facteur g joue en RPE un rôle équivalent aux constantes d'écran en RMN.

L'écart entre le facteur g et le facteur de Landé est proportionnel à la valeur de la constante de couplage spin orbite divisé par la différence ΔE entre niveaux d'énergie au sein de la molécule. Le facteur g est souvent plus éloigné de g_e pour les complexes de métaux de transition car l'écart énergétique entre leurs orbitales d est faible.

Le facteur g est, comme le déplacement chimique en RMN, anisotrope. Sa valeur dépend en effet de l'orientation du radical par rapport au champ appliqué et on observe en réalité une valeur moyenne de g .

Les spectres RPE possèdent également une structure hyperfine qui est déterminée par les interactions entre l'électron et les noyaux possédant un spin.

1.4.2 Spectromètres RPE

Les spectromètres RPE sont constitués d'une source micro-onde, d'une cavité dans laquelle le tube en verre ou en quartz contenant l'échantillon est introduit, un détecteur de micro-ondes et un électroaimant dont on peut faire varier le champ. Le spectre RPE s'obtient en enregistrant les variations de l'absorption micro-ondes lorsque le champ est modifié.

2 Spectroscopies de vibration

Les vibrations des molécules sont étudiées grâce à deux techniques de spectroscopie : la spectroscopie infrarouge et la spectroscopie Raman. La spectroscopie IR sera largement développée et une ouverture sera réalisée sur la spectroscopie Raman.

2.1 Modes normaux de vibration

Une molécule possédant N atomes peut être vue comme un ensemble de N éléments ponctuels possédant chacun des degrés de libertés selon les trois axes (x, y, z) , soient $3N$ degrés de liberté. Les déplacements possibles pour l'ensemble des molécules polyatomiques sont les translations (selon (x, y, z)) et les rotations selon ces 3 axes. Pour les molécules linéaires, une rotation sur l'axe de la molécule n'a aucun impact sur celle-ci. Ainsi, les molécules polyatomiques non linéaires possèdent 6 déplacements (translation + rotation) selon les 3 axes et les molécules linéaires seulement 5 puisqu'une des rotations est inopérante.

Définition

Modes Normaux de Vibration

On appelle Modes Normaux de Vibration (MNV) les **$3N-6$** (molécules non linéaires) ou **$3N-5$** (molécules linéaires) déformations possibles autres que translations et rotations pour la molécule. Ceux-ci correspondent aux **déformations des liaisons et des angles** entre ces liaisons. Ces modes normaux de vibration correspondent à des oscillations harmoniques de la molécule.

Il existe deux types de MNV :

- Les **modes d'élongation** qui correspondent à des changements de longueurs de liaison. Il y en a autant que de liaisons covalentes.
- Les **modes de déformation** qui représentent les changements de géométrie à longueurs fixées (modifications angulaires).

Les élongations apparaissent à des fréquences plus élevées que les déformations.

Exemple

La molécule d'ammoniac - NH_3

La molécule d'ammoniac possède 4 atomes et est non linéaire, elle a donc : $3 \times 4 - 6 = 6$ MNV.

Il est possible de visualiser ces 6 MNV sur le site [ChemTube 3D](#).

Chaque molécule appartient à un groupe de symétrie et un MNV possède, par rapport aux opérations de symétrie du groupe, un caractère symétrique ou antisymétrique. L'étude de l'impact de chacune des opérations de symétrie sur une molécule va permettre d'attribuer une **étiquette de symétrie** à un MNV.

Tous les MNV ne sont pas actifs en IR et en Raman. Par exemple, un MNV n'est actif en IR que s'il s'accompagne d'une **variation de moment dipolaire**. Les opérations et étiquettes de symétrie des différents groupes sont rassemblés dans des tables de symétrie. Ces tables permettent d'identifier les étiquettes de symétrie des MNV actifs en IR et en Raman.

Méthode

- Les MNV actifs en IR sont ceux qui correspondent aux coordonnées x, y ou z .
- Les MNV actifs en Raman sont ceux qui correspondent aux coordonnées x^2, y^2, z^2, xy, xz ou yz .

Exemple

- La molécule d'Ammoniac appartient au groupe C_{3v} et les tables de symétrie met en évidence le fait que ce sont les même MNV qui sont actif en IR et en Raman.
- La molécule de 1,3,5-trichlorobenzene appartient au groupe D_{3h} dans lequel certains MNV sont actifs en IR, d'autre en Raman et d'autres pour les deux types de spectroscopie.

C_{3v} ($3m$)	E	$2C_3$	$3\sigma_v$			
A_1	1	1	1	z	$x^2 + y^2, z^2$	Actif IR & Raman
A_2	1	1	-1	R_z		
E	2	-1	0	$(x, y)(R_x, R_y)$	$(x^2 - y^2, 2xy)(xz, yz)$	Actif IR & Raman

D_{3h} ($\bar{6}$) $m2$	E	$2C_3$	$3C_2$	σ_h	$2S_3$	$3\sigma_v$		
A_1'	1	1	1	1	1	1	$x^2 + y^2, z^2$	Actif Raman
A_2'	1	1	-1	1	1	-1	R_z	Actif en IR
E'	2	-1	0	2	-1	0	(x, y) $(x^2 - y^2, 2xy)$	Actif IR & Raman
A_1''	1	1	1	-1	-1	-1		
A_2''	1	1	-1	-1	-1	1	z	Actif en IR
E''	2	-1	0	-2	1	0	(R_x, R_y) (xy, yz)	Actif IR & Raman

Remarque

Ces notions seront vues plus précisément dans le cours de Chimie Théorique.

2.2 Spectroscopie IR

La spectroscopie IR est donc une technique de spectroscopie qui étudie les vibrations et les rotations des molécules. Pour les échantillons solide et liquide, on observe principalement les bandes de vibration tandis que pour des échantillons gazeux, les spectres peuvent présenter des bandes dues aux rotations. Comme pour la spectroscopie UV-Visible, un faisceau lumineux (ϕ_0) traverse un échantillon absorbant et un détecteur mesure le flux sortant (ϕ_t).

Définition

Un spectre **infra-rouge** représente le pourcentage en transmission en fonction du nombre d'onde (σ) :

$$\sigma = \frac{1}{\lambda} \text{ et } T_f = \frac{\phi_t}{\phi_0} = f(\sigma)$$

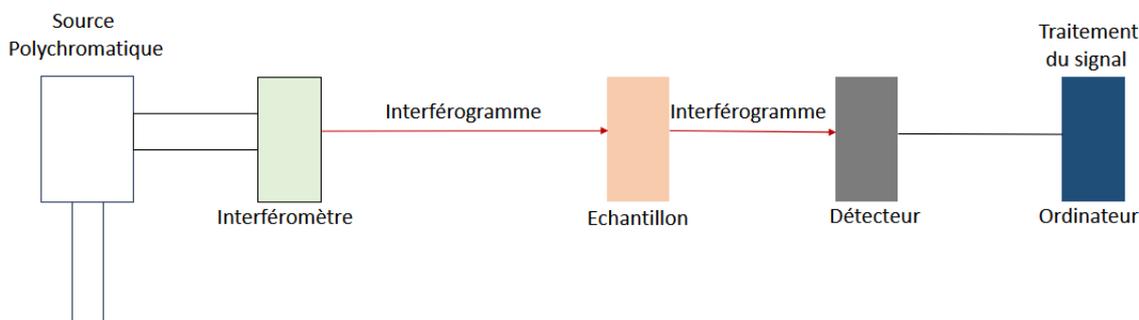
Définition

Un MNV n'est actif en IR que s'il s'accompagne d'une **variation de moment dipolaire**.

2.2.1 Dispositif expérimental

Les premiers spectromètres IR fonctionnaient de manière analogue aux spectromètres UV-Visible avec pour différence le type de source et de détecteur applicable aux rayonnements IR. Cependant, ces appareils ont des inconvénients : les mesures sont relativement lentes car elles prennent les mesures pour chaque fréquence individuellement et elles sont peu sensibles.

Ces spectromètres ne sont donc plus utilisés mais ont été remplacés par des **spectromètres IR à transformée de Fourier (IRTF)** pour lequel toutes les fréquences sont mesurées en simultanée grâce à un **interféromètre**.



Le spectromètre est constitué d'une source polychromatique dont le rayonnement IR est envoyé sur un interféromètre. C'est un interférogramme qui est envoyé sur l'échantillon, celui-ci est modifié ou non suivant les fréquences donnant un nouvel interférogramme qui est capté par le détecteur. Le signal est alors traité par informatique grâce à l'application d'une transformée de Fourier.

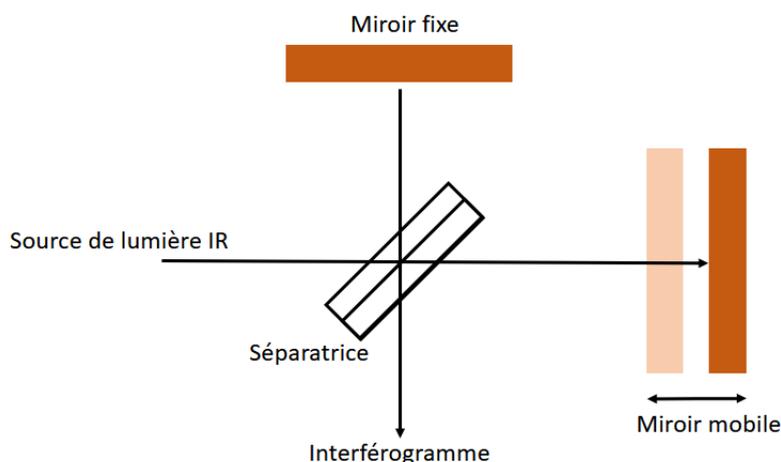
L'interféromètre présent dans les spectromètres IR est généralement un **interféromètre de Michelson**. L'interférogramme en sortie correspond à une somme de cosinus :

$$I'(\delta_m) = \int_0^{+\infty} I(\nu) \cos(2\pi\nu\delta_m) d\nu$$

Après passage à travers l'échantillon $I'(\delta_m)$ devient $I''(\delta_m)$. Le spectre correspond à la transformée de Fourier de $I''(\delta_m)$:

$$I(\nu) = \text{TF}[I''(\delta_m)] = \int_{-\infty}^{+\infty} I''(\delta_m) \cos(2\pi\nu\delta_m) d\delta_m$$

L'interférogramme permet donc d'obtenir des informations sur l'ensemble des nombres d'onde ν .



Interféromètre de Michelson

Remarque

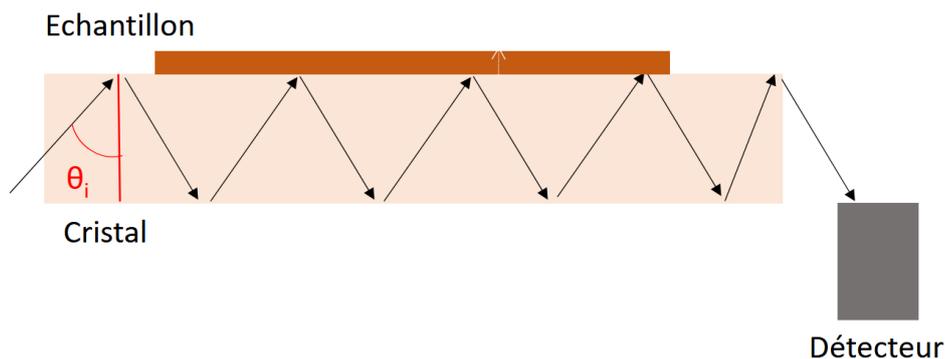
Les notions d'interféromètre et d'interférogramme seront revues plus amplement en cours de physique et plus particulièrement d'optique ondulatoire. L'étude du Michelson est détaillé à la p.777 du livre **Physique PC tout-en-un de Sanz**. Cependant cette notion n'est pas essentielle pour le cours de spectroscopie, savoir qu'un interféromètre est utilisé tient plus de la culture générale.

2.2.2 Mesure en réflectance totale atténuée - Spectromètre IR en mode ATR

Pour des raisons de facilités de mise en place, les mesures sont souvent réalisés par réflectance plutôt que par transmittance. La réflectance correspond à la proportion de lumière réfléchi par la surface pour une longueur d'onde et un angle d'incidence donnés. Dans ce cas, le dispositif est constitué d'un cristal (d'indice de réfraction n_c) en contact avec l'échantillon (d'indice de réfraction n_e). On fait en sorte que la condition $n_c > n_e$ et que l'angle incident soit supérieur à l'angle limite de réflexion totale. Le faisceau au niveau de l'échantillon n'est pas totalement réfléchi à cause de la pénétration partielle de l'échantillon par une onde évanescente. On parle alors de **réflectance totale atténuée** (ATR). Le faisceau subit plusieurs réflexion interne avant d'atteindre le détecteur.

Remarque

- Une onde évanescente est une onde plane particulière dont l'amplitude varie exponentiellement dans une direction orthogonale à la direction de propagation.
- Quelque soit le type d'appareil utilisé on trace la transmittance en fonction du nombre d'onde ainsi tous les spectres sont comparables.



2.2.3 Spectres infrarouges

Les spectre IR sont donc la représentation de la transmittance en fonction du nombre d'onde. Au sein d'un spectre IR, on distingue deux zones :

- La zone pour $\sigma < 1500 \text{ cm}^{-1}$ qu'on appelle « empreinte digitale ». Dans cette zone les signaux sont très complexes et propres à chaque molécule, on ne cherche généralement pas à les interpréter.
- La zone pour $\sigma > 1500 \text{ cm}^{-1}$ dans laquelle on interprète les signaux.

Remarque

On observe les élongations à des fréquences élevées et les déformations à des fréquences plus basses.

Les bandes étudiés correspondent, la plupart du temps, à des bandes de vibrations d'élongation. Pour obtenir une première approximation de la position des bandes de vibration, on peut modéliser une liaison entre deux atomes (A et B) comme un ressort reliant deux masses espacé d'une distance d_{AB} et supposer que la vibration est harmonique. Cette vibration possède une fréquence propre de vibration donnée par la loi de Hooke.

Définition

Loi de Hooke

$$\sigma \text{ (en cm}^{-1}\text{)} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

Avec μ la masse réduite telle que $\mu = \frac{m_A m_B}{m_A + m_B}$ et k la force de la liaison interatomique.

Cette formule permet de déduire l'influence de certaines modifications au sein d'une molécule.

Exemple

Influence de la multiplicité d'une liaison

$$k_{C-C} < k_{C=C} < k_{C\equiv C} \text{ donc } \nu_{C-C} < \nu_{C=C} < \nu_{C\equiv C}$$

Influence de la conjugaison

La conjugaison conduit à la formation de liaison hybride entre simple et double liaison ou entre double et triple liaison. Ainsi, la force de liaison d'une liaison double conjuguée est inférieure à celle d'une liaison double isolée et conduit donc à une abaissement du nombre d'onde (le raisonnement est le même pour triple conjuguée).

Influence d'une liaison hydrogène

Si l'atome d'hydrogène impliqué dans une liaison AH est aussi impliqué dans une liaison hydrogène alors la longueur de la liaison AH est augmentée, la force de liaison est donc diminuée. Le nombre d'onde est donc également abaissé. De plus, on observe un élargissement de la bande, les bandes de vibration d'élongation des liaisons O-H_{libre} sont fines tandis que celles associées aux liaisons O-H_{liés} sont larges.

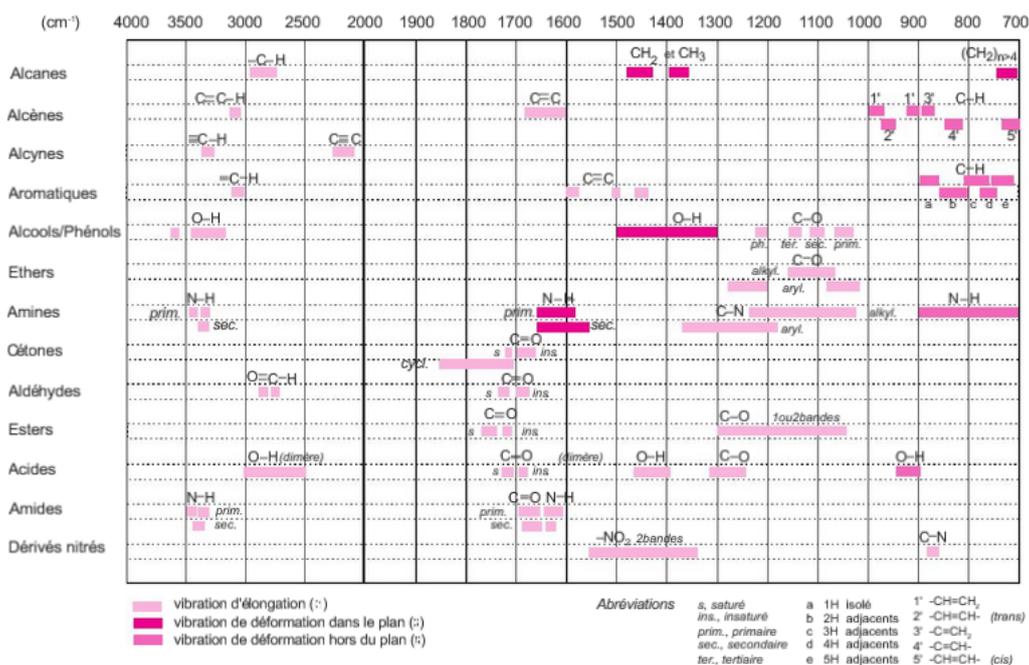


Table des nombres d'ondes en IR des bandes associées aux vibrations des différentes liaisons. (Source : Analyse Chimique, F. & A. Rouessac, p.277)

Important

Certains ordre de grandeur de nombres d'ondes peuvent être intéressants à retenir :

Liaison	Nombre d'onde (cm^{-1})
C–C	≈ 1000
C=C	≈ 1600
C \equiv C	≈ 2200
C–O	≈ 1100
C=O	≈ 1700
C=C	≈ 1600
O–H	≈ 3500

Remarque

Il est possible d'observer des liaisons métal-ligand en spectroscopie IR cependant les liaisons étant faibles les signaux apparaîtront dans l'empreinte digitale. La spectroscopie IR est utilisée plus couramment pour voir l'influence de la complexation sur des ligands (comme le ligand CO par exemple).

Exercices

- Conversions :** Quelle est l'énergie transportée par une radiation définie par un nombre d'onde de 1000 cm^{-1} ? Transformer $\lambda = 15 \mu\text{m}$ en cm^{-1} puis en m^{-1} . A quelle longueur d'onde correspond 1700 cm^{-1} ?
- Sachant que la bande d'absorption de la liaison C–H du chloroforme (trichlorométhane) est à $3018,5 \text{ cm}^{-1}$, prévoir la position de la bande d'absorption de la liaison C–D du deutérochloroforme ($\nu_{\text{exp}} = 2253 \text{ cm}^{-1}$).
- On dispose de la formule brute partielle d'un composé $\text{C}_3\text{H}_9\text{OX}$. A partir de la bande d'absorption observée à 3320 cm^{-1} sur son spectre IR, il est possible de déterminer la nature de l'atome X inconnu de cette formule brute, sachant que la constante de force de la liaison impliquée dans cette vibration vaut 607 N m^{-1} . Dans ce but :
 - Calculer la masse réduite μ de la liaison associée à cette bande d'absorption.
 - L'un des atomes composant cette liaison est un atome d'hydrogène, en déduire la nature de l'atome inconnu X. Vérifier cette hypothèse, sachant que la masse molaire de ce composé est $M = 75,1 \text{ g mol}^{-1}$.
 - Quel est alors le type de vibration moléculaire associée à cette bande d'absorption ?

2.3 Pour aller plus loin - Spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman repose sur le principe de la diffusion Raman. Cette méthode est complémentaire des analyses infrarouges car elle permet d'étudier certains composés ne donnant pas lieu à des signaux IR.

Remarque

On a vu en IR que les modes normaux de vibration sont actifs si le moment dipolaire de la molécule varie. **Les MNV sont actifs en Raman si la polarisabilité de la molécule varie.**

Définition

Polarisabilité : La polarisabilité correspond à la capacité du nuage électronique à se déformer sous l'action d'un champ électrique.

La définition est la même dans le cas d'un atome ou d'une molécule.

2.3.1 Effet Raman

Lorsqu'on irradie un échantillon avec un rayonnement monochromatique dont la longueur d'onde ne correspond à aucune transition on dit que cet échantillon est **transparent**. Cependant, une faible quantité de molécule interagissent avec les photons sous formes de collisions de plusieurs types :

Définition

- **Collisions élastiques** : Ne conduisent pas à des échanges d'énergie. Elles se traduisent par une diffusion du rayonnement incident, sans changement de fréquence. Cette diffusion donne lieu à la raie de **diffusion Rayleigh** qui est intense et de même longueur d'onde que la source.
- **Collisions inélastiques** : Donnent lieu à un échange d'énergie entre les molécules et les photons. Les molécules passent alors dans un état d'excitation **virtuel**, transitoire puis émettent de nouveaux photons correspondant à la **diffusion Raman** qui est faible. Celle-ci est formée de **raie Stokes** et **anti-Stokes** qui encadrent la diffusion Rayleigh.

Raie Stokes : Une molécule initialement au repos est dans son état fondamental $S_0(V_0)$. Elle peut conserver une partie de l'énergie du photon incident pour passer dans le premier état vibrationnel excité $S_0(V_1)$ après émission d'un photon. Ce photon sera de plus basse énergie que l'excitation conduisant alors à une **raie Stokes**.

Raie anti-Stokes : Selon l'équilibre de Boltzmann, une petite proportion des molécules se trouvent dans le premier état vibrationnel $S_0(V_1)$ plutôt que dans l'état fondamental $S_0(V_0)$. Après excitation elles vont donc rejoindre l'état fondamental en émettant, cette fois, un photon de plus grande énergie que l'excitation conduisant alors à une **raie anti-Stokes**.

Remarque

La position des pics Raman dépend de la longueur d'onde d'excitation.

Remarque

Pour aller plus loin à propos de la diffusion Raman, le paragraphe *Principe de l'effet Raman* à la p.271 du livre **Analyse Chimique de Rouessac** est une référence qui va un peu plus loin sans pour autant des considérations complexes.

2.3.2 Dispositif expérimental

Les spectromètres Raman comporte une source, un analyseur et un détecteur. La source d'excitation est un laser, la plupart du temps il y a le choix entre trois longueurs d'ondes correspondant à trois types de lasers : 632 nm pour les lasers He/Ne, 514 nm pour les lasers argon et 647 nm pour les laser krypton. Ces sources sont accompagnées de filtres optiques pour éviter les émissions secondaires et limiter la diffusion Rayleigh. L'analyseur est un interféromètre de Michelson si le spectromètre est à transformée de Fourier. Et le détecteur est un photomultiplicateur ou un capteur CCD.

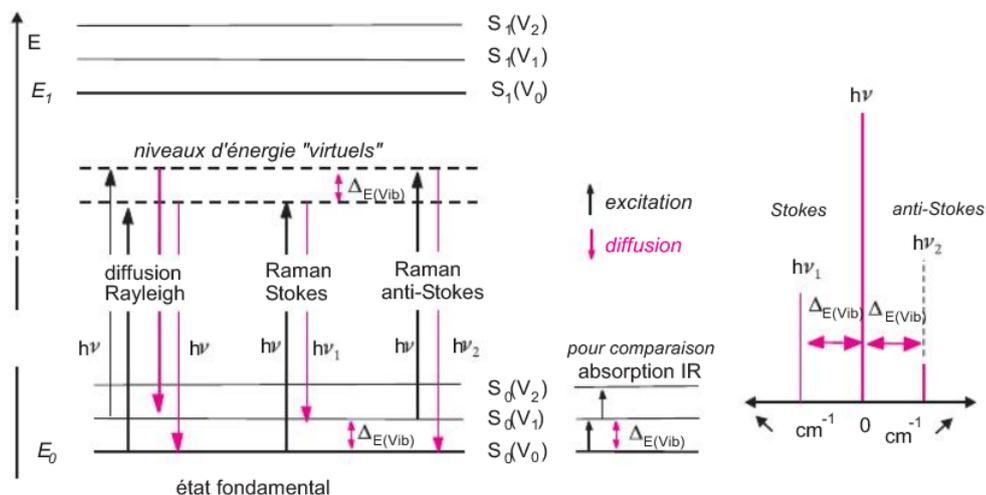


FIGURE 1 – Diagramme énergétique et diffusion Raman (Source : Analyse Chimique, F.É.A. Rouessac, p.272)

2.3.3 Comparaison IR et Raman

Tableau 10.1 – Comparaison des intensités d’absorption (IR) et de diffusion (Raman) pour quelques liaisons chimiques.

Liaison	Fréquences de vibration (\$\nu_{vib}\$) en \$cm^{-1}\$	
	en infrarouge	en Raman
O-H	3500-3000	3000-3500
N-H	3500-3000	3000-3500
\$\equiv\$CH	3300	3300
C-H	3000-2800	2800-3000
C=O	1700	1700
C=C	1600	1600
C-(NO2)	1500	1500
(CH2) \$\delta\$	1450	1450
(CC)arom.	1600	1600
C=S	1150	1150
C-O-C	1100	1100
C-Cl	700	700
C-Br	600	600
Si-O-Si	500	500

Échelle en \$cm^{-1}\$

en infrarouge : fort (noir), moyen (gris), faible (blanc)
 en Raman : fort (noir), moyen (gris), faible (blanc)

FIGURE 2 – Table de fréquences de vibration de certaines liaisons en spectroscopie IR et Raman (Source : Analyse Chimique, F.É.A. Rouessac)

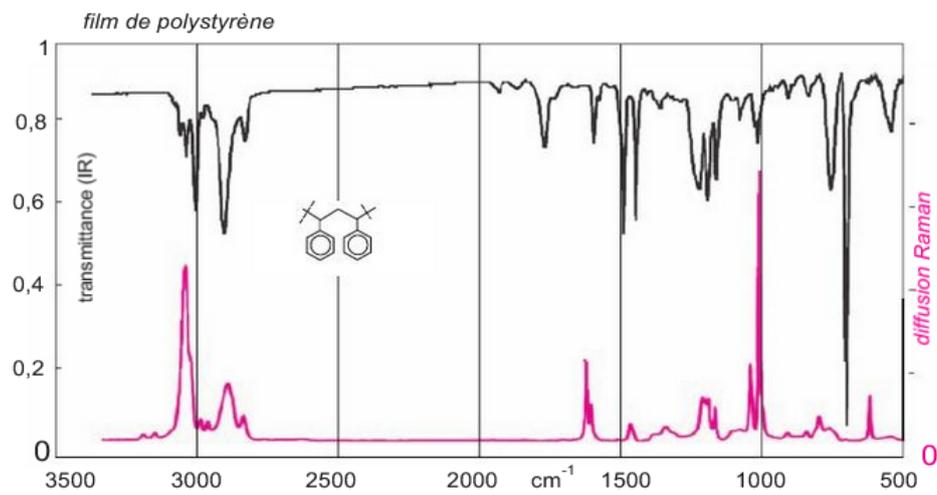


Figure 10.28 – Spectre Raman d'un film de polystyrène réticulé.

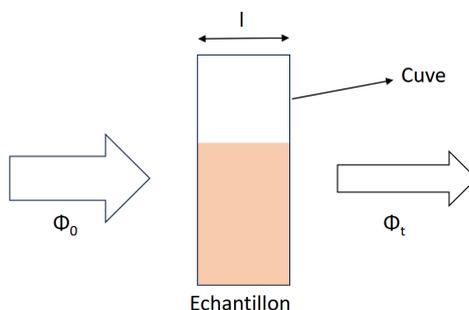
Comparaison avec le spectre infrarouge, en noir sur la figure, enregistré en transmittance dans le même domaine spectral.

FIGURE 3 – Spectre par spectroscopie Raman et IR du polystyrène (Source : Analyse Chimique, *F. & A. Rouessac*)

3 Spectroscopies UV-Visible

3.1 Principe

Lorsque d'une substance absorbe une radiation, elle atténue l'intensité du rayonnement électromagnétique incident suivant la longueur d'onde. Cette atténuation est évaluée grâce à la **transmittance** (T_r) ou l'**absorbance** (A).



Définition

Transmittance

La transmittance correspond à la fraction du rayonnement incident qui est transmise par l'échantillon :

$$T_r = \frac{\phi_t}{\phi_0}$$

Avec ϕ_0 le flux lumineux incident et ϕ_t le flux incident transmis.

Absorbance

L'absorbance s'écrit comme :

$$A = -\log(T_r) = \log\left(\frac{\phi_0}{\phi_t}\right)$$

Les transitions mises en jeu dans le domaine UV-Visible sont des transitions électroniques. Ainsi, l'excitation induite par le rayonnement conduit à l'excitation d'un électron de valence qui subit un transition d'une orbitale de basse énergie vers une orbitale de plus haute énergie. Les bandes du spectre UV-Visible ($A = f(\lambda)$ ou $T = f(\lambda)$) correspondent à ces absorptions. Elles sont caractérisées par la longueur d'onde du maximum d'absorption et par le **coefficient d'absorption molaire** ($\epsilon(\lambda)$ en $L\text{ cm}^{-1}\text{ mol}^{-1}$).

Important

Le coefficient d'absorption molaire dépend de la molécule qui absorbe, du solvant, de la longueur d'onde et de la température.

Remarque

Les transitions électroniques sont associées à des quantités d'énergie bien précises cependant les bandes d'absorption ne donnent pas des pics mais des bandes. Cet élargissement est dû à plusieurs phénomènes :

- **Les transitions électroniques sont accompagnées de transitions vibrationnelles et rotationnelles. Les bandes sont donc des juxtaposition de raies multiples.**
- L'effet Doppler induit par le déplacement des espèces absorbantes par rapport au détecteur. *Cet effet dépend de la température.*
- L'effet Lorentz dû au chocs entre les espèces absorbantes et leur environnement. *Cet effet dépend de la température et de la pression.*
- **Négligeable** - Le principe d'Heisenberg nous indique qu'on ne connaît précisément l'énergie (incertitude nulle) que si la durée de vie de l'état excité est infini (physiquement impossible)

En phase gaz on arrive à observer la structure vibrationnelle des bandes qui sont alors constituées de multiples pics.

3.1.1 Les différentes transitions électroniques

Différentes transitions électroniques peuvent avoir lieu dans des molécules polyatomiques. En voici la liste par énergies croissantes :

- **La transition $n \rightarrow \pi^*$** : Cette transition est interdite par les règles de sélection, elle est donc peu intense et se situe vers 280 nm.
- **La transition $\pi \rightarrow \pi^*$** : Elle caractérise des composés qui possèdent une double liaison et conduit à une forte bande d'absorption vers 170 nm dans le cas d'une double liaison isolée.
- **La transition $n \rightarrow \sigma^*$** : Elle conduit à une absorption de faible intensité vers 180 nm pour les alcools, 190 nm pour les éthers/dérivés halogénés et 220 nm pour les amines.
- **La transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$** : Se situe dans le lointain UV car elle demande beaucoup d'énergie.

Des transitions spécifiques aux complexes et aux sels inorganiques peuvent également exister :

- **La transition $d \rightarrow d$** : Cette transition caractérise surtout des sels inorganiques qui comportent des électrons dans les orbitales moléculaires d. Cette transition peu intense donne lieu à des bandes d'absorbance dans le visible.
- **Les transitions par transfert de charge** : Lorsqu'une orbitale de ligand vacante est assez proche en énergie d'une orbitale d on peut avoir la transition d'un électron entre les deux. Les transitions ligand vers métal sont aussi possibles. Ces transitions sont de très grande intensité.

Type de transition	Ordre de grandeur ϵ
$n \rightarrow \pi^*$	1 – 10
$n \rightarrow \sigma^*$	$10 - 10^2$
$\pi \rightarrow \pi^*$	10^3
$d \rightarrow d$	$10^{-3} - 10^3$
Transfert de charge	$10^2 - 10^6$

3.2 Influence des différents paramètres sur les spectres

Les spectres UV-Visible peuvent être influencés par certains groupements spécifiques sur les molécules ou encore des effets de solvant. Ceux-ci peuvent conduire à des décalages de longueur d'onde des bandes ou encore à des changements d'intensité. Ceux-ci sont qualifiés par différents termes.

Définition

- **Effet bathochrome** : Déplacement des bandes d'absorption vers les longueurs d'ondes élevées.
- **Effet hypsochrome** : Déplacement des bandes d'absorption vers les longueurs d'ondes plus faibles.
- **Hyperchromie** : Augmentation de l'intensité de la bande spectrale.
- **Hypochromie** : Diminution de l'intensité de la bande spectrale.

3.2.1 Groupements chromophores

Définition

Les groupes fonctionnels des composés organiques qui sont responsables de l'absorption UV-Visible sont appelés **groupements chromophores**.

On peut différencier deux cas de figure, le cas où une molécule ne comporte qu'un seul chromophore isolé et le cas où les différents groupements chromophores de la molécule interagissent les uns avec les autres :

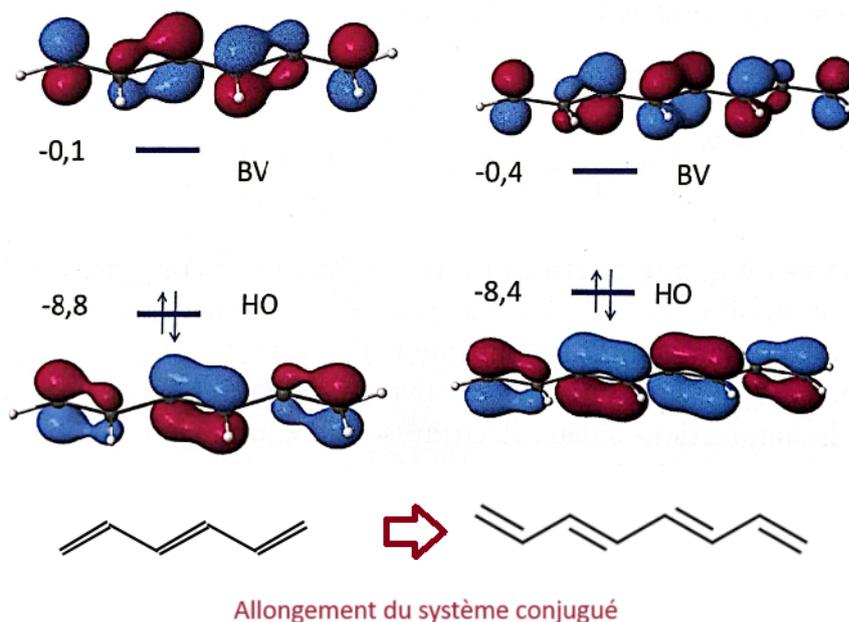
- **Chromophore isolé** : Si plusieurs molécules possèdent un seul chromophore identique, la position et l'intensité de la bande d'absorption resteront similaires. Si une molécule possède plusieurs chromophores mais que ceux-ci sont séparés de plus de deux liaisons, alors ils sont considérés comme isolés et leurs effets se superposent.
- **Chromophores des systèmes conjugués** : Quand les chromophores interagissent les uns sur les autres un effet bathochrome apparaît ainsi qu'une hyperchromie. Le cas des systèmes conjugués est particulier, en effet, plus le nombre de carbones sur lequel s'étend le système conjugué est élevé, plus l'effet bathochrome sera important car l'écart entre les orbitales frontières est très diminué.

Remarque

Les polyènes absorbent dans le visible à partir de 7 liaisons conjuguées.

Exemple

Lorsque la taille du système conjugué augmente l'écart HO-BV diminue car cela conduit à une augmentation de l'énergie de la HO et à une diminution de l'énergie de la BV. Si on compare l'hexatriène et l'octatétrène on passe d'un écart entre la HO et la BV de 8,7 eV à un écart de 8,0 eV. Ce qui va correspondre à une augmentation de la longueur d'onde d'absorption. (voir illustration ci-dessous).



Effet de l'augmentation de la taille du système conjugué sur l'écart HO-BV. (Source : Chimie organique une approche orbitale, *Chaquin*, p.126)

3.2.2 Effets dus aux solvants

Les transitions électroniques modifient la répartition des charges dans le composé. Ainsi, suivant la polarité du solvant utilisé la position et l'intensité des bandes d'absorption vont varier. On appelle cet effet le **solvatochromisme** qui peut être de différents types :

- **Effet hypsochrome** : Si le chromophore de la transition est plus polaire dans son état fondamental que son état excité alors un solvant polaire aura tendance à stabiliser l'état fondamental. Ainsi, il faudra plus d'énergie pour réaliser la transition ce qui induira un déplacement vers les basses longueurs d'ondes.
- **Effet bathochrome** : Pour les composés peu polaire il y a peu d'effet de solvant. Cependant si la transition conduit à une augmentation du moment dipolaire alors un solvant polaire va stabiliser la forme excitée et donc favoriser la transition. La bande d'absorption sera donc déplacée vers les hautes longueurs d'ondes.
- **Effet du pH** : Le pH du milieu dans lequel le composé est dissous peut avoir un effet important sur le spectre c'est ce qui arrive pour les espèces colorées.

3.3 Loi de Beer-Lambert

3.3.1 Définition

La spectroscopie UV-Visible permet de faire des mesures quantitatives grâce à l'application de la Loi de Beer-Lambert. Cette loi, établie en 1932, est une loi empirique qui relie l'absorption du rayonnement aux propriétés des milieux qu'il traverse.

Définition

Loi de Beer-Lambert

$$A(\lambda) = \epsilon(\lambda) \times \ell \times C$$

Avec A l'absorbance, ℓ la longueur de substance traversée, C sa concentration et $\epsilon(\lambda)$ le coefficient d'absorption molaire.

Important

La loi de Beer-Lambert est additive et s'applique aux mélanges si aucune interaction n'existe entre les différentes substances. Pour un mélange contenant i espèces absorbantes on a alors :

$$A(\lambda) = \sum_i \epsilon_i(\lambda) \times \ell \times C_i$$

3.3.2 Conditions d'application de la loi

Attention

La loi de Beer-Lambert n'est valable que si des conditions bien strictes sont respectées :

- La concentration de la solution n'est pas trop importante ($A < 1$)
- Le faisceau lumineux est **monochromatique**
- Le milieu traversé est **homogène**
- Le milieu traversé est **isotrope** (invariance des propriétés physiques d'un milieu en fonction de la direction)
- Le milieu traversé est **limpide** (pas de diffusion)
- Les espèces étudiées n'émettent pas dans l'UV-Visible
- Les espèces traversées sont **non photosensibles**

La perte de linéarité entre l'absorbance et la concentration peut être due à la formation d'agrégat, au fait que les molécules n'absorbent pas la lumière de manière indépendante ou à des problèmes de sensibilité de détection ou encore à un taux élevé de lumière parasite.

Remarque

Le spectre enregistré avec un spectromètre tient compte de l'absorbance mais aussi de la diffusion. Le spectre issu de la somme de l'absorbance et de la diffusion s'appelle alors **spectre d'extinction**. Dans ce cas, le système étudié est non homogène, il n'est donc pas possible d'appliquer la loi de Beer-Lambert.

Des abus de langage conduisent à utiliser de manières non différenciées coefficient d'absorption et d'extinction molaire mais on privilégiera le terme **coefficient d'absorption molaire** qui est plus juste.

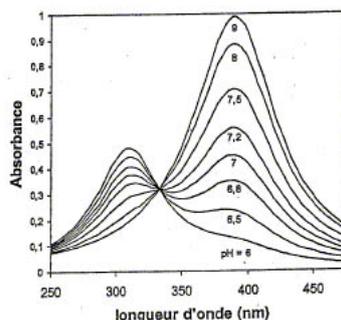


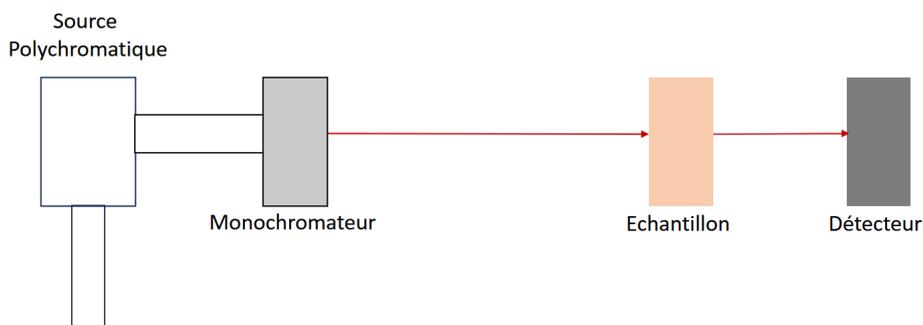
Illustration de l'existence d'un point isobestique pour la coexistence des formes acide et basique d'une espèce. (Source : *lachimie.fr*)

Remarque

Lorsqu'on étudie le spectre d'absorbance de mélange de plusieurs espèces on va constater l'existence d'un point isobestique. Le point isobestique correspond à une longueur d'onde pour laquelle un ensemble d'espèce a exactement la même absorbance et le même coefficient d'absorption molaire.

3.4 Dispositif expérimental

Un spectrophotomètre UV-Visible est généralement constitué d'une source polychromatique dont le rayonnement est envoyé sur un monochromateur. Celui-ci permet de générer un rayonnement quasi-monochromatique qui va ensuite passer à travers l'échantillon. Un détecteur va alors observer le rayonnement transmis et l'ensemble sera finalement traité par informatique.



3.4.1 Sources polychromatiques

Pour les spectrophotomètres, les trois lampes les plus utilisées comme sources polychromatiques sont :

- Les lampes à décharge à vapeur de Xénon, elles sont utilisées comme sources visibles. Elles ont en effet une bonne intensité spectrale entre 370 nm et 800 nm.
- Les lampes à décharge à vapeur de Deutérium, elles sont utilisées comme source UV. Elles ont un spectre très homogène en intensité entre 200 nm et 370 nm.
- Les lampes à incandescence de type Tungstène-Halogène. Le tungstène est porté à incandescence, le spectre a une bonne homogénéité dans le visible.

Deux lampes sont généralement utilisées de manière complémentaire, une au deutérium pour la partie UV et une deuxième pour le visible (souvent tungstène-halogène) avec un changement de lampe aux alentours de 370 nm.

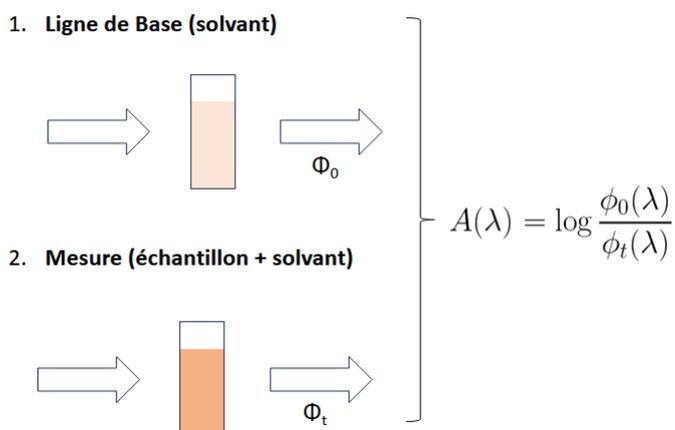
3.4.2 Monochromateur

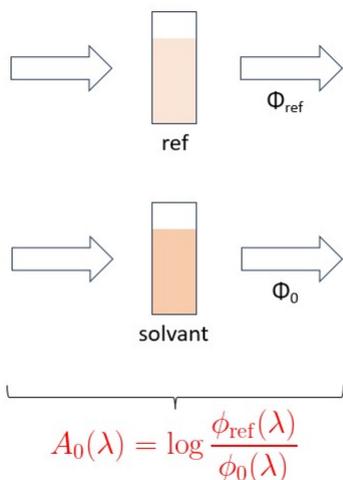
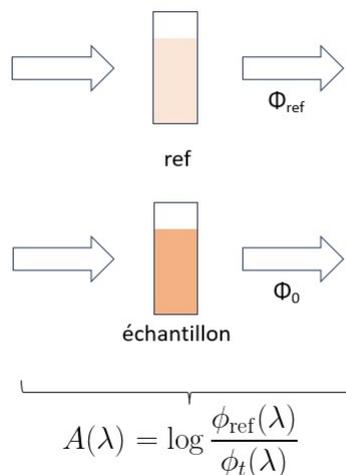
Pour convertir le faisceau polychromatique en faisceau monochromatique le spectrophotomètre est muni d'un monochromateur. Ce dispositif est composé d'un miroir et d'un système dispersif comme un filtre, un prisme ou encore un réseau. Dans les spectrophotomètres ce sont généralement des réseaux qui sont utilisés.

3.4.3 Simple VS Double faisceau

Le faisceau monochromatique sortant du monochromateur est envoyé sur l'échantillon. Pour prendre en compte l'absorption du solvant il est nécessaire d'enregistrer une ligne de base. La ligne de base ne peut cependant pas prendre en compte des fluctuations d'intensité de la lampe source qui auraient lieu pendant la mesure. Pour éviter que ces fluctuations ne faussent le spectre il existe des spectrophotomètres à double-faisceau qui envoient en simultané le faisceau sur l'échantillon et sur une autre cuve de référence (contenant la plupart du temps le solvant). Même avec un spectrophotomètre à double-faisceau il est nécessaire de faire une ligne de base pour réaliser une mesure optimale.

Mono-faisceau



Double-faisceau**1. Ligne de Base (solvant)****2. Mesure (solvant + échantillon)**

$$\longrightarrow A(\lambda) = \log \frac{\phi_{\text{ref}}(\lambda)}{\phi_t(\lambda)} - \log \frac{\phi_{\text{ref}}(\lambda)}{\phi_0(\lambda)} = \log \frac{\phi_0(\lambda)}{\phi_t(\lambda)}$$

Remarque

Les spectromètres à double-faisceau ont l'avantage de prendre en compte les fluctuations des lampes et de les supprimer du spectre final ce qui n'est pas le cas du spectromètre mono-faisceau. Idéalement on choisit d'utiliser le solvant dans la cuve de référence car cela permet d'optimiser la compensation. Si vous oubliez de faire le blanc avec un spectromètre mono-faisceau, le spectre est faux. Avec un double-faisceau il y a deux options, si la référence n'est pas le solvant le spectre est faux, si la référence correspond au solvant alors le spectre ne sera pas optimal. **Il faut toujours faire le blanc avant de faire des mesures en UV-Visible.**

3.4.4 Détecteur

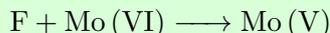
Après le passage par l'échantillon, le signal atteint le détecteur. Le signal lumineux est alors converti en signal électrique. Pour se faire il existe trois types de détecteurs :

- Les détecteurs thermiques : le signal lumineux est d'abord converti en élévation de température.
- Les détecteur photoniques : le rayonnement est converti en signal électrique. Ces détecteurs sont basés sur l'effet photoélectrique. Ceux-ci sont souvent utilisés sous forme de photodiode ou de photomultiplicateurs.
- Les capteurs CCD

Les capteurs les plus utilisés dans les spectrophotomètres sont les détecteurs photoniques et les capteurs CCD.

Exercices

- Le spectre UV d'un composé en solution est caractérisé par son coefficient d'absorption mesuré à deux longueurs d'onde : $\epsilon = 8500 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ à λ_1 et $\epsilon = 4900 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ à λ_2 . Une solution contenant ce composé a pour absorbance 1,05 à λ_1 et 0,65 à λ_2 . S'agit-il d'une solution ne contenant que ce composé à l'état pur ?
- On veut déterminer la concentration (mol L^{-1}) de deux sels A ($\text{Co}(\text{NO}_3)_2$) et B ($\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$) dans un échantillon inconnu en solution aqueuse. On enregistre un spectre dans le visible de chacun de ces deux composés pris séparément en solution aqueuse ainsi que la solution échantillon à analyser. Le trajet optique des cuves utilisées est 1 cm. Les valeurs des absorbances mesurées à 510 nm et 575 nm sur les trois spectres sont les suivantes :
 - Composé A à $1,5 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$: $A_{510} = 0,714$ et $A_{575} = 0,0097$
 - Composé B à $6 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$: $A_{510} = 0,298$ et $A_{575} = 0,757$
 - Solution à doser : $A_{510} = 0,40$ et $A_{575} = 0,577$
 - Calculer les 4 coefficients d'absorption molaire des composés A et B à 510 nm et 575 nm.
 - Calculer les concentrations (mol L^{-1}) des deux sels A et B dans la solution échantillon.
- Le fructose F réduit le molybdène VI en molybdène V (bleu de molybdène) suivant le schéma :



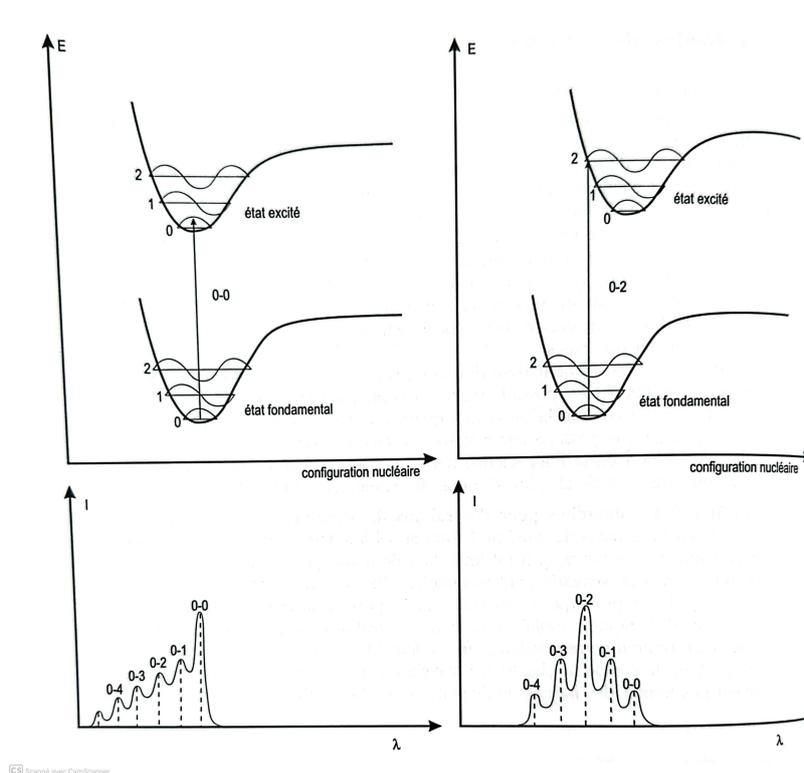
Afin de déterminer l'ordre partiel α de la réaction par rapport au fructose, on ajoute à une solution de fructose un grand excès de molybdate d'ammonium. On suit la cinétique de cette réaction en mesurant l'absorbance au cours du temps à 720 nm (où seul le Mo (V)) absorbe). On obtient les résultats suivant :

t (min)	0	10	20	30	50	∞
A	0	0,175	0,302	0,384	0,494	0,600

Vérifier que la réaction est d'ordre 1 par rapport au fructose et déterminer la constante de réaction apparente k' .

Remarque

D'après l'approximation de Born-Oppenheimer, les mouvements des électrons sont beaucoup plus rapide que ceux des noyaux et donc que les vibrations moléculaires. Le passage d'un électron dans une orbitale antiliante lors de l'excitation prend environ 10^{-15} s ce qui est très court comparé au temps de vibration des molécules (10^{-10} s). Cette observation est à la base du principe de **Franck-Condon** qui dit qu'**une transition électronique se produit sans changement de position des noyaux dans l'entité moléculaire et son environnement**. La transition est alors qualifiée de **verticale**.



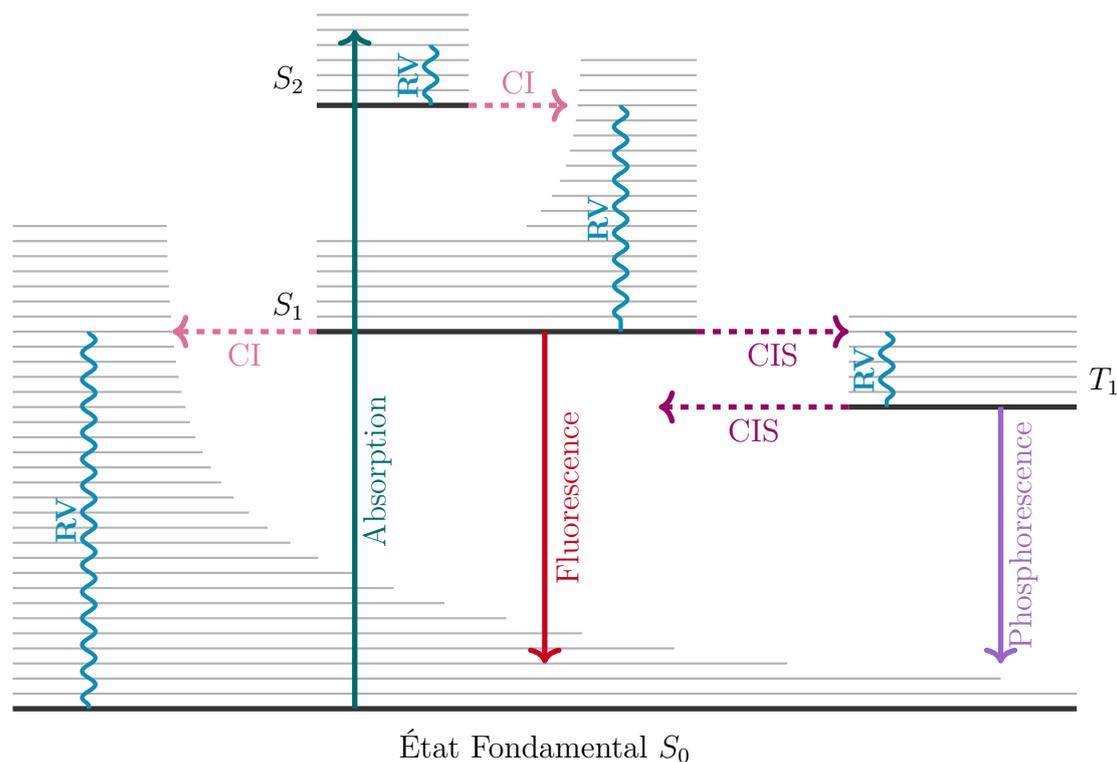
Diagrammes d'énergie potentielle montrant les transitions verticales. Les formes des bandes d'absorptions sont représentées en bas de la figure : raies en phase gaz et bandes en solution. (Source : Invitation à la fluorescence moléculaire, B. Valeur)

3.5 Évolution de l'état excité : Fluorescence et Phosphorescence

Une fois que la molécule a absorbé des photons par interaction avec la lumière, elle se trouve dans un état électronique excité S_n . Il se produit alors une **relaxation vibrationnelle** qui lui fait perdre une partie de son énergie photonique. Les molécules excitées se trouvent alors sur le niveau vibrationnel le plus bas de l'état S_1 . On a alors compétition entre plusieurs types de processus :

- La **fluorescence** (processus radiatif)
- La **conversion interne** (processus non-radiatif) qui a lieu entre deux états électroniques de **même spin**. Cette transition fait passer la molécule de S_2 à S_1 puis de S_1 à S_0 .
- Le **croisement inter-système** (processus non-radiatif) qui a lieu entre deux états de **spins différents**. Cette transition permet de passer de S_1 à T_1 et de T_1 à S_0 .

Une fois peuplé par ce processus de croisement intersystème l'état triplet peut se désactiver lui aussi par des processus radiatifs (**phosphorescence**) ou non-radiatif. Tous ces processus sont représentés grâce à un **Diagramme de Perrin-Jablonski** :



— Niveaux électroniques.

— Niveaux vibrationnels.

IC Conversion interne, $S_i \rightarrow S_j$ Transition non-radiative.

CIS Croisement Inter-Système, $S_i \rightarrow T_j$ Transition non-radiative.

RV Relaxation vibrationnelle.

Remarque

- La fluorescence est une transition permise entre état de même spin tandis que la phosphorescence est une transition interdite car entre spins différents. Ainsi, la fluorescence est intense et rapide ($10^{-10} - 10^{-7}$ s) tandis que la phosphorescence est un phénomène lent ($10^{-6} - 1$ s) qui perdure après l'extinction de la source d'excitation.
- Le croisement inter-système a lieu entre deux états de spins différents, il est donc en principe interdit. Cependant le couplage spin-orbite (couplage entre le moment magnétique orbitaire et le moment magnétique de spin) peut être suffisamment important pour le rendre possible. La probabilité de transition dépend de états impliqués, certaines transitions étant plus favorisées que d'autres. La présence d'atomes lourds augmente, de plus, le couplage spin-orbite et favorise donc la croisement inter-système.

3.5.1 Caractéristiques de l'émission de fluorescence

La longueur d'onde d'émission après excitation est plus grande que la longueur d'onde d'absorption. Cette différence entre les maxima des spectres d'émission et d'absorption s'appelle **déplacement de**

Stokes et s'explique par le fait que la désexcitation d'une molécule vers l'état S_0 se fait forcément depuis l'état excité de plus basse énergie (**Règle de Kasha**). L'absorption d'un photon est généralement suivi d'un processus de **relaxation vibrationnelle** très rapide entraînant une perte d'énergie avant l'émission du photon.

Définition

Règle de Kasha

L'état qui émet en fluorescence est celui qui correspond au premier état excité électronique dans le plus bas état vibrationnel ($S_{1,0}$).

Déplacement de Stokes

Écart entre les maxima d'absorption des spectres d'absorption et d'émission.

Remarque

- La règle de Kasha justifie le fait qu'il n'est pas nécessaire d'exciter la molécule directement dans l'état responsable de la fluorescence car la conversion interne ramène à cet état. Il est plus utile de viser le maximum d'absorption pour maximiser le rendement.
- Le déplacement de Stokes traduit la déformation de la molécule entre l'état fondamental et l'état excité. Un grand déplacement de Stokes permet d'exciter la molécule de manière orthogonale à l'émission et ainsi éviter qu'il y ait une réabsorption.

Le **rendement quantique de fluorescence** est défini comme le rapport du nombre de photons émis par fluorescence sur le nombre de photons absorbés. Il correspond à la fraction de molécules excités à l'état S_1 relaxant à l'état fondamental S_0 de façon radiative. Il permet donc de comparer l'importance relative de la fluorescence par rapport aux autres processus de désexcitation non radiatifs.

Définition

Rendement quantique de fluorescence

$$\phi_f = \frac{\text{nombre de photons émis}}{\text{nombre de photons absorbés}}$$

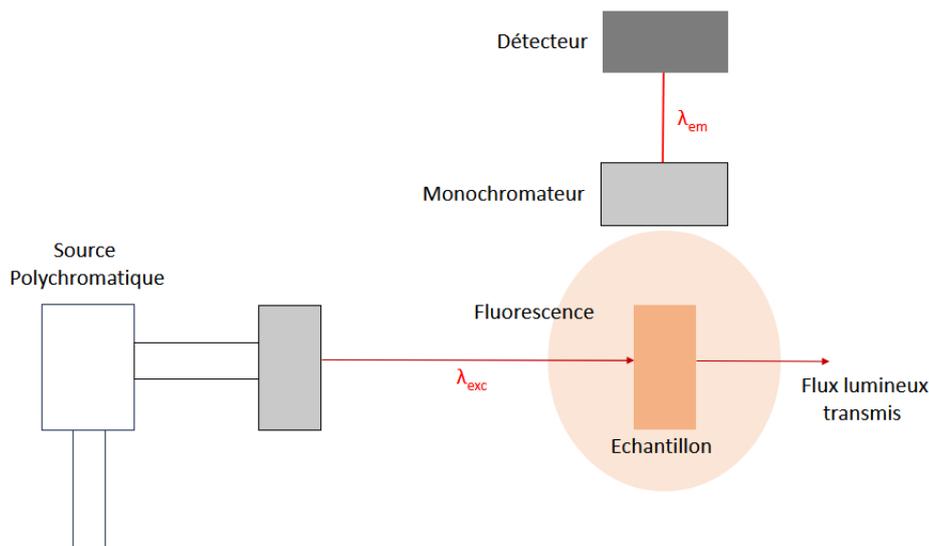
3.5.2 Mise en place pratique

Pour déterminer de manière quantitative les propriétés de luminescence d'une molécule, l'appareil utilisé est un **spectrofluorimètre**. Comme pour un spectrophotomètre, un rayonnement lumineux incident est envoyé sur l'échantillon, on parle ici de **faisceau d'excitation** et on note sa longueur d'onde λ_{exc} . Le processus de fluorescence est isotrope, le détecteur est donc placé à 90° du faisceau d'excitation pour ne pas récolter le flux lumineux transmis.

Attention

Étant donné que la mesure se fait à 90° de la source il est nécessaire d'utiliser des **cuves à quatre faces transparentes**.

Il est possible d'adapter le type d'utilisation du spectrofluorimètre au phénomène que l'on souhaite étudier.



Méthode

Utilisations du spectrofluorimètre suivant les phénomènes

- Dans le cas de la **fluorescence** on peut réaliser deux type de spectres :
 - Pour réaliser un **spectre d'émission**, on fixe λ_{exc} en faisant varier λ_{em} .
 - Pour réaliser un **spectre d'excitation**, on fixe λ_{em} au maximum d'émission de fluorescence et on fait varier λ_{exc} .
- Dans le cas de la **phosphorescence**, on fixe λ_{exc} pour enregistrer un **spectre d'émission**. La lumière incidente peut être envoyée de manière continue ou discontinue. Dans le deuxième cas, si la cadence d'émission permet de laisser le temps au phénomène de fluorescence de s'achever, on n'observe que la phosphorescence.

Un spectre d'émission consiste à tracer l'intensité de fluorescence (I_f) en fonction de la longueur d'onde d'émission (λ_{em}). Cette intensité suit l'équation suivante :

$$I_f = k_{\text{appareil}} \times I_{\text{abs}} \times \phi_f$$

Grâce à la loi de Beer-Lambert, il est possible de relier l'intensité de fluorescence à la concentration de la molécule :

$$I_f = \ln(10) \times k_{\text{appareil}} \times I_0 \times \phi_f \times \epsilon \times C$$

Avec I_0 et ϵ pris pour la longueur d'onde λ_{exc} .

L'intensité de fluorescence est dépendante de l'appareil et du solvant choisi car le rendement de fluorescence et le coefficient d'absorption dépendent eux-aussi du solvant. Pour que la relation entre l'intensité de fluorescence et la concentration soit linéaire, il est nécessaire de contrôler certains effets :

- Un effet appelé **filtre interne en excitation** se produit lorsque les solutions sont trop absorbantes (on privilégie $A < 0,1$) en effet l'intensité de la lumière d'excitation ne sera pas constante au travers de la solution et seul un faible pourcentage de lumière d'excitation atteint les fluorophores dont l'émission est détectable.
- Un deuxième effet interne est le **filtre interne en émission** qui a lieu si une autre molécule en solution ou le fluorophore lui même (pour les faibles déplacements de Stokes) réabsorbe le rayonnement émis.

- Aucune espèce étrangère en concentration non négligeable ne doit entraîner un transfert d'énergie sous forme non radiative ce qui conduirait aussi à une diminution de la fluorescence par un effet d'**extinction de la fluorescence**.

3.5.3 Détermination expérimentale d'un rendement quantique de fluorescence

Il n'est pas possible de déterminer la constante de l'appareil et l'intensité incidente car celles-ci sont très variables, il vaut mieux procéder par comparaison. Ainsi, pour déterminer expérimentalement le rendement quantique d'un composé B_i , il est nécessaire de le mesurer par rapport à celui d'une référence B_0 de rendement quantique connu. Les rendements quantiques des deux composés sont reliés par la relation :

$$\phi_{f,i} = \phi_{f,0} \frac{S_i^f (1 - 10^{-A_0})}{S_0^f (1 - 10^{-A_i})} \left(\frac{n_i^r}{n_0^r} \right)^2$$

Avec $\phi_{f,i}$ et $\phi_{f,0}$ les rendements quantiques de fluorescence de B_i et B_0 , A_i et A_0 leurs absorbances à λ_{exc} , S_i^f et S_0^f leurs intégrales de bandes d'émission et n_0^r et n_i^r les indices de réfraction des solvants dans lesquels les composés sont dissous.

Attention

Les mesures pour les composés d'intérêts B_i et pour la référence B_0 doivent être réalisées dans strictement les mêmes conditions expérimentales : longueur d'onde d'excitation, cuve, ... Ainsi, la référence doit être judicieusement choisie de façon à avoir des spectres d'émission et d'absorption dans des gammes de longueurs d'onde proches de celles du composé d'intérêt.

Un exemple de détermination de rendement quantique de fluorescence est détaillé à la suite de la synthèse de l'anthracène dans la référence suivante :

📖 *40 expériences illustrées de chimie générale et organique*, **E. Martinand-Lurin** p.288

3.5.4 Phénomènes d'inhibition de fluorescence

Un inhibiteur est une substance qui accélère le déclin d'un état excité vers l'état fondamental. Différents mécanismes peuvent conduire à une inhibition des états excités par interaction avec d'autres molécules. Le dioxygène est, par exemple, un inhibiteur très efficace. Les mécanismes possibles d'inhibition sont :

- Inhibition par atome lourd
- Association (formation d'excimère/exciplexe)
- Transfert d'énergie
- Transfert d'électrons
- Transfert de protons

Pour plus de détails sur les différents mécanismes d'inhibition et leur cinétique par exemple vous pouvez consulter les livres suivants :

📖 *Photophysique et photochimie*, **J. Piard** p.301

📖 *Invitation à la fluorescence moléculaire*, **B. Valeur**

Remarque

Il est possible d'observer des émissions parasites sur les spectres de fluorescence. Ces émissions parasites sont dues au solvant si les longueurs d'onde d'excitation et d'émission sont proches. Elles sont dues à des phénomènes de diffusion étudiés préalablement dans le cours :

- Diffusion Rayleigh (élastique) : Le solvant réémet une partie de l'intensité incidente à la même longueur d'onde.
- Diffusion Raman (inélastique) : Les molécules du solvant sont excitées et le retour à l'état fondamental se fait par émission de photons. Elle est beaucoup plus faible que la diffusion Rayleigh.

Exercices

1. Une solution de 9-aminoacridine dans l'eau conduit à une intensité de fluorescence qui, mesurée à 456 nm, est de 60% par rapport à un témoin de fluorescence externe. Un échantillon de ce composé dont la concentration est de 0,1 ppm dans le même solvant, conduit, dans les mêmes conditions, à une fluorescence de 40% (la fluorescence de l'eau est considéré comme négligeable).

Calculer la valeur de la concentration en ppb.

2. On propose de doser la concentration en quinine d'une boisson commerciale par fluorimétrie. La longueur d'onde d'excitation est de 350 nm et la longueur d'onde de mesure est 450 nm.

A partir d'une solution A de quinine de concentration $0,1 \text{ mg L}^{-1}$, 5 solutions filles sont réalisées pour établir une courbe d'étalonnage.

On prélève ensuite 0,1 mL de la boisson à doser que l'on dilue à 100 mL avec H_2SO_4 à $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. L'intensité de fluorescence mesurée est de 113 pour cette solution.

Solution	Volume de A	H_2SO_4 (0,05 M)	Fluorescence
1	20	0	182,0
2	16	4	138,8
3	12	8	109,2
4	8	12	75,8
5	4	16	38,5
Blanc	0	20	0

- (a) Trouver, par régression linéaire, l'équation de la droite d'étalonnage.
- (b) Quelle est la concentration en quinine en g L^{-1} ? La convertir en ppm.

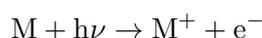
Remarque

Le ppm correspond à partie par million, cette unité permet de connaître le nombre de molécules d'une espèce dans un million de molécule d'air. Pour le ppb la définition est similaire mais dans un milliard de molécules d'air. On a donc $1 \text{ ppm} = 10^3 \text{ ppb}$.

4 Spectroscopie de photoémission d'électrons - XPS et UPS

On s'intéresse, dans ce type de spectroscopie à l'arrachement d'électrons appelés photoélectrons. On différencie XPS et UPS suivant si l'éjection de l'électron est provoqué par des rayonnements X ou UV. Les méthodes sont conceptuellement les mêmes, on s'intéressera donc à elles deux de manière conjointe. Elles permettent d'accéder à l'énergie d'orbitales moléculaires.

La spectroscopie de photoémission d'électrons utilise l'arrachement d'un électron à la molécule M étudié conduisant à la formation d'une espèce chargée selon la réaction :



La différence principale entre UPS et XPS sont les types d'électrons arrachés au cours de la réaction :

- **Électrons de cœur** : l'énergie nécessaire pour arracher un électron de cœur est de l'ordre de quelques centaines d'eV ce qui correspond à un **rayonnement X**.
- **Électrons de valence** : l'énergie nécessaire pour arracher un électron de valence est plus faible, de l'ordre de quelques dizaines d'eV, et correspond donc à un **rayonnement UV**.

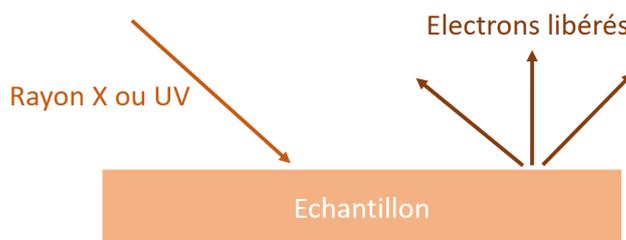
Cette technique est basée sur le théorème de Koopmans.

Définition

Théorème de Koopmans

L'énergie d'ionisation est égale à l'opposé de l'énergie de l'orbitale qu'occupait l'électron arraché.

Ce théorème néglige la réorganisation orbitalaire que l'ion peut connaître après la transition. **La mesure de l'énergie de l'électron libéré permet donc d'accéder à l'énergie d'orbitales de la molécule étudiée.**

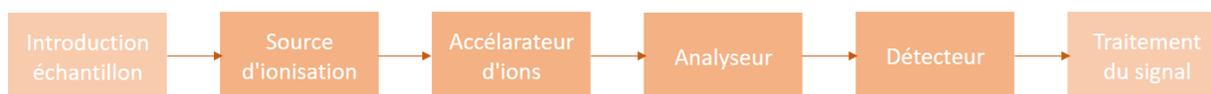


5 Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse repose sur la mesure des masses atomiques des espèces présentes dans un échantillon. Elle permet de caractériser les formules de composition, de déterminer leurs structures mais aussi de faire de la quantification. Pour cela, on couple technique séparative et spectromètre. Les analytes sont ionisés puis soumis à un champ électrique/magnétique sous vide pour les séparer selon leurs rapports masse/charge.

5.1 Principe

La spectrométrie de masse est basée sur la détermination des masses des molécules ou atomes présents dans l'échantillon étudié. Pour pouvoir connaître les masses, on commence par transformer une très petite quantité du composé à analyser en ions par une technique d'ionisation adaptée. Ces ions sont alors soumis, sous très bon vide, à l'action d'un champ électrique et/ou magnétique suivant les cas. Les forces qui s'exercent sur ces ions permettent de déterminer leur **rapport masse/charge** et éventuellement leur nature. Les résultats sont présentés comme un graphe appelé **spectre de masse** sur lequel on représente les abondances en ions formés en fonction de leurs rapports masse/charge. La technique met en jeu plusieurs étapes successives réalisées par plusieurs composants successives.



1. Ionisation : L'échantillon préalablement transformé sous forme de vapeur ou gazeuse est introduit dans la **source** de l'appareil pour y être ionisé.
2. Accélération : Aussitôt formés les ions sont focalisés et accélérés par des lentilles électronique afin d'augmenter leur énergie cinétique.
3. Séparation : Les ions sont filtrés grâce à l'**analyseur** suivant leur rapport masse/charge.
4. Détection : Après la séparation, les ions viennent frapper le capteur d'un **détecteur** dont le signal est proportionnel aux charges d'ions reçus.
5. Affichage du spectre de masse

Attention

La spectrométrie de masse ne fait pas partie des méthodes de spectroscopie. L'emploi de l'expression « Spectre de masse » ne fait pas référence à un spectre au sens classique du terme c'est à dire d'une interaction entre un analyte et un rayonnement lumineux.

Le spectre de masse peut se présenter avec deux types de formes différentes :

- Spectre continu (profil) : Le tracé correspond à un ensemble de signaux en forme de pics plus ou moins larges selon la qualité de l'instrument. Ces pics sont répartis en fonction de leurs masses et permettent de déterminer la masse des ions avec une grande précision.
- Spectre de fragmentation (diagramme en bâtonnets) : Il correspond à la répartition de tous les ions formés, regroupés aux **masses nominales** les plus proches de leurs masse réelles et présentés sous forme de traits verticaux. Le type d'ions le plus abondant conduit au pic le plus intense appelé **pic de base** auquel on donne l'indice 100. Les intensités des autres pics sont exprimés en % de celle du pic de base.

5.1.1 Pouvoir de résolution

Sur un spectre tracé en mode gaussien, on pourra distinguer des masses d'autant plus voisines que les pics seront étroits.

Définition

Pouvoir de résolution

La pouvoir de résolution d'un spectromètre de masse permet de savoir quels pics pourront être séparé par le spectromètre. Pour calculer le pouvoir de résolution R , il existe plusieurs définitions suivant si la largeur du pic ($\Delta(\frac{m}{z})$) est mesurée à mi-hauteur (pic isolé) ou à 5% (pic avec voisins).

$$R = \frac{\frac{m}{z}}{\Delta(\frac{m}{z})}$$

Remarque

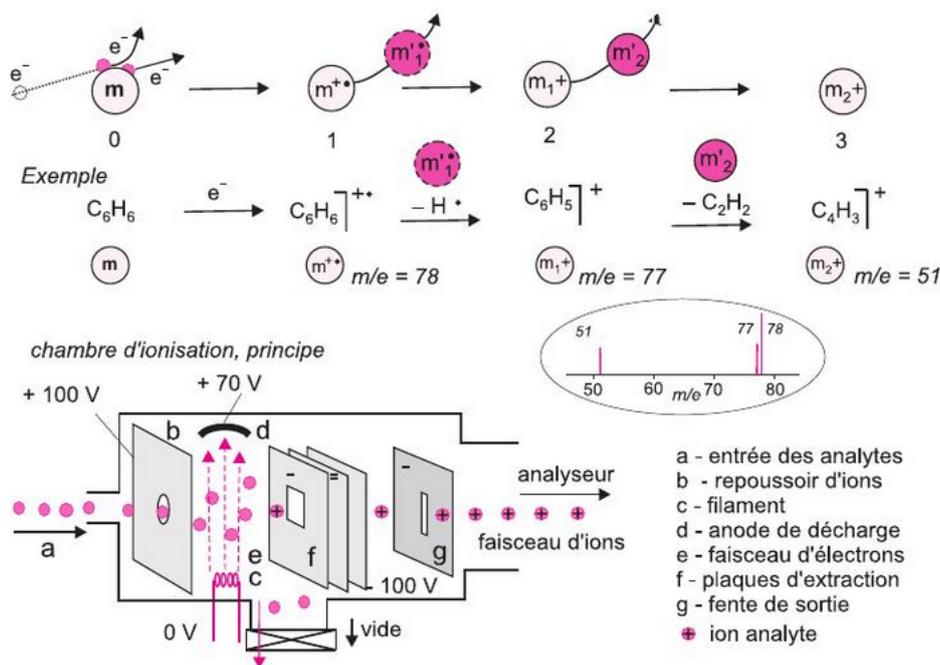
On parle d'appareils de **basse résolution** lorsque $R < 5000$ et de **haute résolution** pour $R > 5000$.

5.2 Procédés d'ionisation

La première étape de l'analyse d'un composé est son ionisation, il existe différentes méthodes d'ionisation et la méthode est choisie en fonction de l'exploitation finale des résultats, de la nature du composé mais aussi de son état. Les sources d'ionisation sont complexes et installées dès la construction du matériel, un spectromètre donné utilisera donc toujours la même source d'ionisation. Certains types d'ionisation sont développés ci-dessous à titre d'exemples.

5.2.1 Ionisation par impact électronique (IE)

L'**ionisation par impact électronique** est la méthode la plus courante pour les composés qui peuvent passer à l'état gazeux. C'est le cas des molécules organiques. Elle consiste à provoquer des collisions entre les molécules non chargées et des électrons obtenus par effet thermo-ionique. Lors d'un choc électronique il y a arrachement des électrons les moins retenus de la molécules ce qui conduit à un ion porteur d'une charge élémentaire positive (formation d'un cation radical $M^{\bullet+}$). Ce processus est reproductible, il est donc possible de comparer les spectres de masse obtenus à ceux de base de données. L'énergie standard d'ionisation est 70 eV, elle est obtenue en accélérant les électrons par une ddp de 70 V.



Principe de l'ionisation électronique. (Source : Analyse Chimique, F.É.A. Rouessac, p.434)

5.2.2 Ionisation Chimique Positive (IC)

Ce mode d'ionisation résulte de la réaction entre les molécules du composés M et des ions obtenus par bombardement des électrons sur un gaz (méthane, ammoniac,...). Ce procédé d'ionisation est qualifié de « doux ». Cette ionisation produit des espèces positives ou négative notamment l'ion MH^+ . Pour des composés de type RH on peut aussi observer des ions R^+ . L'IC donne donc des ions à $(M+1)$ et $(M-1)$ (avec M la masse molaire). La technique d'ionisation chimique ne permet pas d'obtenir la masse moléculaire exacte du composé étudié.

5.2.3 Exemple d'ionisation à pression atmosphérique - Electronébullition (ESI)

Pour utiliser la technique d'**electronébullition** (électrospray) des gouttelettes sont formées à l'extrémité d'un fin capillaire et porté à un potentiel élevé positif. Ce champ électrique intense leur confère une densité de charge ($\frac{z}{m}$) importante. Ces gouttelettes s'évaporent progressivement en perdant des molécules de solvant, la densité de charge devient alors trop grande et les gouttelettes explosent en libérant des ions non fragmentés qui correspondent donc à des molécules d'analytes porteuses d'un nombre de charges variable.

5.3 Différents types d'analyseur

5.3.1 Analyseurs magnétiques

Les premiers analyseurs mettaient en jeu les équations régissant le comportement des ions dans un champ magnétique et/ou électrique. Dans ces analyseurs, les ions positifs sont accélérés par une différence de potentiel U et prennent donc une vitesse v qui dépend de leur masse. Ils sont ensuite placés dans un champ magnétique transversal \vec{B} qui les dévie sur des trajectoires circulaires. En appliquant la relation fondamentale de la dynamique ainsi que la formule de la Force de Lorentz on a alors :

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

L'orientation de \vec{B} est choisi de manière à ce que seule la composante centripète de \vec{a} interviennent. On a donc $a = \frac{\vec{v}^2}{R}$ soit avec l'expression précédente :

$$R = \frac{mv}{zeB} \text{ ce qui donne : } \frac{m}{z} = \frac{RBe}{v}$$

Ainsi, la connaissance de la vitesse v permet de remonter à la valeur de $\frac{m}{z}$.

5.3.2 Analyseurs à temps de vol - Time of flight (TOF)

Le principe des spectromètres à temps de vol repose sur la relation qui existe entre le rapport m/z et la vitesse des ions. L'instrument mesure le temps nécessaire aux ions pour parcourir une distance L sans champ. On sait que :

$$E = \frac{1}{2}mv^2 = qU$$

En remplaçant v par $\frac{L}{t}$, on arrive alors à la relation exploitée par les analyseurs TOF :

$$\frac{m}{z} = \left(\frac{2eU}{L^2} \right) t^2$$

5.4 Interprétation de résultats

Un spectre de masse représente une abondance relative (en ordonnée) en fonction du rapport $\frac{m}{z}$. L'ion moléculaire correspond au pic le plus intense, il permet de déterminer la masse moléculaire du composé étudié. La spectrométrie de masse permet de trouver la masse moléculaire d'une molécule mais également d'obtenir des informations sur sa structure. En effet, les fragmentations sont souvent *classiques* et les autres pics permettent donc d'obtenir des informations sur les groupes fonctionnels présents dans le composé.

Cation	Groupe « perdu »	Structure partielle possible
M-1	H	Aldéhyde
M-15	CH ₃	Groupement méthyle
M-18	H ₂ O	Alcool
M-31	CH ₂ OH/CH ₃ O	Alcool primaire/Ester méthylique
M-77	C ₆ H ₅	Groupement phényle

La présence d'isotope peut également avoir un impact sur le spectre de masse. En effet, en présence de chlore ou de brome les pics sont dédoublés à cause de la présence d'isotopes.

Remarque

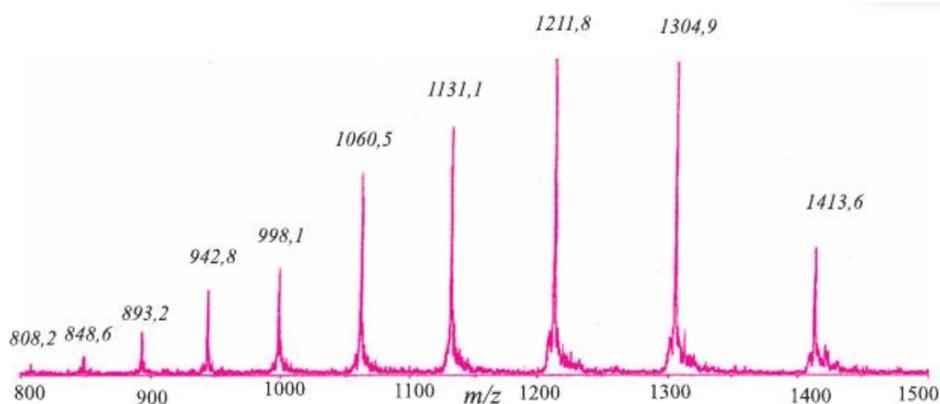
- **Règle de l'azote** : Toute molécule organique de masse moléculaire impaire contient un nombre impair d'atomes d'azote.
- **Masse monoisotopique** : La masse monoisotopique est la masse calculée à partir des isotopes les plus abondants de chaque élément la constituant.

Exercices

1. L'insuline a pour formule $C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$, en s'aidant du tableau ci-dessous répondre aux questions.

Élément	Masse nominale	Masse atomique (g)	Nucléide (%)	Masse (u)
Hydrogène	1	1,00794	^1H (99,985)	1,007825
			^2H (0,015)	2,014102
Carbone	12	12,01112	^{12}C (98,90)	12,0000
			^{13}C (1,10)	13,003355
Azote	14	14,00674	^{14}N (99,63)	14,003074
			^{15}N (0,37)	15,000108
Oxygène	16	15,99940	^{16}O (99,76)	15,994915
			^{17}O (0,04)	16,999131
			^{18}O (0,20)	17,999160
Soufre	32	32,066	^{32}S (95,02)	31,972071
			^{33}S (0,75)	32,971458
			^{34}S (4,21)	33,965903

- (a) Calculer sa masse monoisotopique nominale (en Da).
 (b) Calculer une valeur précise de cette masse.
 (c) Calculer la masse molaire de l'insuline.
2. A partir du spectre de masse de la myoglobine du cheval réalisé par *electrospray*.
- (a) Etablir l'expression littérale permettant de calculer la masse moléculaire d'un composé quand on dispose de ce type d'enregistrement.
 (b) Appliquer cette expression pour déterminer la masse moléculaire de cette molécule.
 (c) Combien de charges porte le pic à $m/z=1060,5$ Da.



Spectre de masse de la myoglobine du cheval obtenu par *electrospray*.

Conclusion

Ce cours permet d'étudier les différentes techniques d'analyse de spectroscopie et de spectrométrie qui permettent d'identifier les structures et les propriétés de différents composés. Chacune de ces techniques permet d'obtenir des informations précises sur un composé et c'est la combinaison des différentes techniques qui permet de caractériser complètement un composé.