Chapitre III

LA SPECTROSCOPIE INFRAROUGE

I - Le rayonnement infrarouge

Le rayonnement infrarouge (IR) fut découvert en 1800 par Frédéric Wilhelm Hershel. Ces radiations localisées au-delà des longueurs d'onde dans le rouge, sont situées entre la région du spectre visible et des ondes hertziennes. Le domaine infrarouge s'étend de 0,8 μm à 1000 μm. Il est arbitrairement divisé en 3 catégories, le proche infrarouge (0,8 à 2,5 μm soit 12500-4000 cm^{-1}), le moyen infrarouge (2,5 à 25 μm soit 4000-400 cm^{-1}) et le lointain infrarouge (25 à 1000 μm soit 400-10 cm^{-1}) (Figure 1).

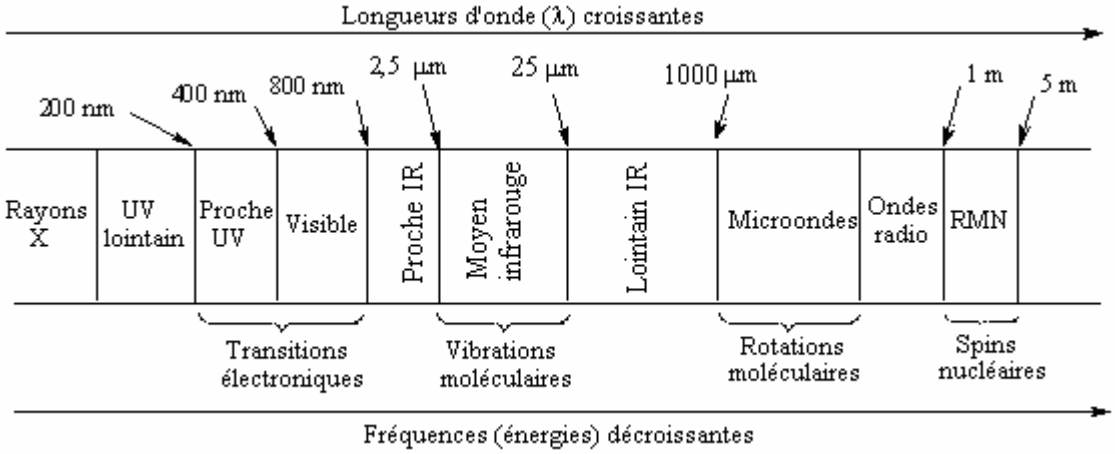

Figure 1 : Domaines de l'IR dans le spectre électromagnétique

Les radiations infrarouges traversent facilement l'atmosphère, même brumeuse. On utilise cette propriété en photographie aérienne, pour prendre des vues panoramiques par temps couvert. L'infrarouge sert aussi au chauffage domestique ou industriel et au séchage des vernis et peintures, du bois, des cuirs, des papiers et pellicules photographiques, à la déshydratation des fruits et légumes. L'une des applications militaires les plus importantes concerne l'autoguidage par infrarouge des missiles. L'infrarouge peut aussi servir pour les appareils de visée nocturne. En thérapie, les rayons infrarouges activent les processus cellulaires, en particulier la cicatrisation.

Dès 1924, on s'est aperçu que l'énergie du rayonnement infrarouge moyen coïncidait avec celle des mouvements internes de la molécule. Ainsi, la relation entre

l'absorption d'un rayonnement IR par une molécule et sa structure moléculaire est mise en évidence. Même si les régions du proche IR et du lointain IR ont suscité un certain intérêt, l'utilisation de la spectroscopie moyen IR reste la plus adaptée pour l'élucidation de la composition moléculaire d'un composé.

Les spectromètres IR sont construits à partir d'éléments principaux, avec quelques différences au niveau des matériaux utilisés ou de leur montage selon le domaine de l'IR exploité et selon le type d'interaction entre la matière et le rayonnement.

II - Sources lumineuses de radiations IR

II.1 - Sources thermiques

Dans les sources thermiques, la radiation lumineuse est le résultat de l'échauffement d'un filament métallique parcouru par un champ électrique. Les sources thermiques présentent de nombreux avantages. Elles émettent des radiations lumineuses couvrant une grande plage de longueurs d'onde. L'intensité de la source est forte, ce qui réduit les problèmes d'amplification du signal. Enfin, les sources thermiques restent stables pendant de longues périodes.

Les filaments des sources thermiques émettent de l'énergie d'une manière comparable à celle d'un *corps noir*. La surface sous la courbe densité d'énergie = f(λ) représente l'énergie émise W pour toutes les longueurs d'onde. W augmente rapidement en fonction de la température $W = \sigma T^4$ avec $\sigma = 5{,}67.10^{-8}$ $W.m^{-2}.K^{-4}$. La forme de la courbe est donnée par la relation de Planck :

$$W(\lambda, T) = \left(\frac{8\pi h c}{\lambda^5} \right) \frac{1}{e^{\frac{h c}{\lambda k T}} - 1}.$$

Dans le cas de la spectroscopie moyen infrarouge, en se basant sur la courbe d'émission du corps noir, les sources lumineuses retenues fonctionnent à une température d'environ 1000 K, puisque cette température correspond à un pic d'émission maximum dans ce domaine. Cependant, étant donné que l'énergie totale émise augmente comme la puissance quatrième de la température, il est nécessaire,

pour disposer d'une énergie suffisante, d'appliquer une température plus élevée, typiquement entre 1600 et 2400 K.

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

- filament de globar : c'est une baguette de carbure de silicium SiC, diamètre de 5 à 7 mm, longueur de 4 à 7 cm. Il fonctionne à des températures de l'ordre de 1300 °C et rayonne un spectre continu entre 10000 et 250 cm^{-1} avec une émission maximale à 5300 cm^{-1}.

- filament de Nichrome : c'est un fil résistant bobiné sur une plaque réfractaire et isolante dont l'émission infrarouge entre 2 et 15 µm est suffisante pour les spectromètres de routine. Enroulé en spirale et échauffé électriquement, il fournit une source de vie plus longue qu'un Globar ou un filament de Nernst, mais aussi d'énergie radiante plus faible.

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

* Dans le domaine du lointain IR, classiquement, la source est une lampe à vapeur de mercure (limite : 10 cm^{-1}). La limite de 10 cm^{-1} pour un spectromètre à source classique n'est réalisable qu'avec des échantillons de l'ordre de 1 cm^2 de surface. Des brillances bien plus importantes que pour la lampe à vapeur de mercure peuvent être obtenues avec une source synchrotron : on n'améliore que légèrement la limite basse fréquence de l'instrument, mais la brillance permet de travailler sur de très petits échantillons.

L'avantage du rayonnement synchrotron réside dans sa luminance. Même si le flux de photons total émis par un corps noir (type Globar) est plus élevé que celui produit par une source synchrotron, la luminance ou brillance obtenue avec un synchrotron est bien supérieure (d'un facteur 10^3) à celui d'une source classique, du fait de la très faible divergence angulaire du faisceau (Figure 2).

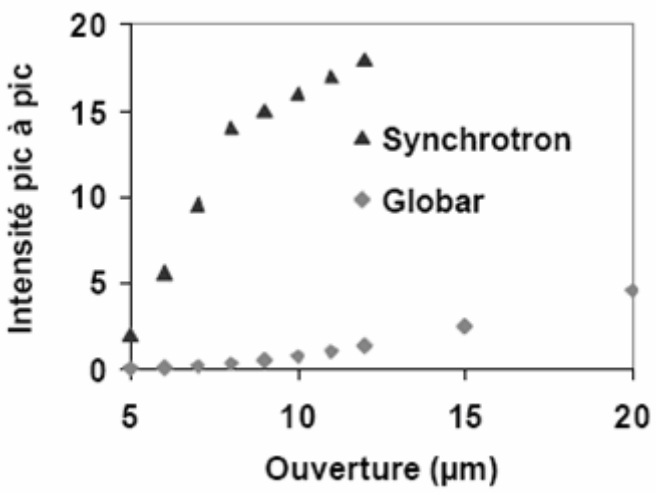

Figure 2 : Intensité d'un interférogramme avec une source synchrotron et une source Globar pour différentes ouvertures

II.2 - Diodes émettrices de lumière

Les diodes émettrices de lumière (DEL) utilisent un semi-conducteur à base de gallium à jonction de type *p-n*. Un potentiel adéquat amène les électrons et les trous à se recombiner, de sorte que l'énergie est libérée sous forme de lumière, dans une bande étroite de longueur d'onde. Les DEL les plus communes à base de GaAs, émettent dans la région 900-970 nm (Figure 3), avec des bandes passantes comprises entre 20 et 100 nm.

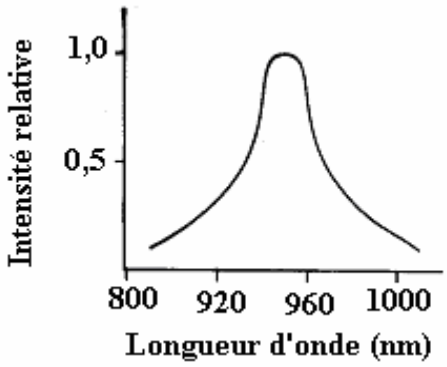

Figure 3 : Répartition spectrale d'une DEL émettant dans le proche infrarouge

Les DEL sont très stables en longueur d'onde et très robustes. Contrairement aux sources thermiques, elles peuvent être allumées et éteintes très rapidement et un grand nombre de fois.

III - Types de spectromètres

Il existe deux grands types d'appareils. Leurs différences résident essentiellement dans le système de sélecteurs de longueurs d'onde.

III.1 - Spectromètres dispersifs

Les premiers spectromètres infrarouges sont de type dispersif. Ces appareils sont conçus selon le schéma de principe représenté sur la figure 4 :

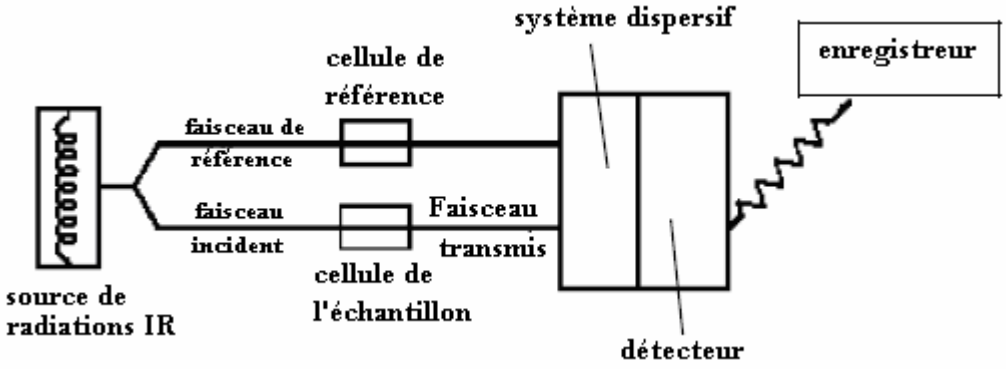

Figure 4 : Schéma de principe d'un spectromètre IR dispersif

Ces instruments séparent les fréquences de l'énergie émise à partir de la source infrarouge à l'aide d'un prisme (en chlorure de sodium utilisable jusqu'à 650 cm^{-1} ou en bromure de potassium utilisable jusqu'à 400 cm^{-1}) ou de réseaux, éléments dispersifs plus efficaces (bloc de silice sur lequel on a gravé des traits, métallique en surface).

Le détecteur mesure la quantité d'énergie pour chaque fréquence qui passe à travers l'échantillon. Il en résulte un spectre qui est le tracé de l'intensité en fonction du nombre d'onde $I = f(\bar{\nu})$. Les détecteurs utilisés antérieurement étaient de type thermique (thermocouples).

Les inconvénients de ces appareils sont :

- la relative lenteur des mesures (étant donné que l'instrument mesure chaque fréquence individuellement, l'enregistrement d'un échantillon prend de 10 à 15 minutes),

- la relative insensibilité (la détection nécessite une quantité raisonnable de produit pour une analyse exploitable). Actuellement, il est nécessaire de détecter 0,01% d'un composé dans une matrice ou 10 ppb d'une substance dans l'air.

- la complexité mécanique (existence de certaines parties mobiles toutes sujettes à des problèmes de casse mécanique).

III.2 - Spectromètres à transformée de Fourier (FT-IR) (non dispersifs)

Les spectromètres FT-IR ont été développés pour apporter une réponse aux limitations des spectromètres dispersifs. La difficulté principale à résoudre était celle de la lenteur de l'acquisition. Il était indispensable d'imaginer un dispositif mesurant toutes les fréquences ***simultanément***. Ce dispositif est l'***interféromètre***.

III.2.1 – Fonctionnement du spectromètre FT-IR

Un spectromètre FT-IR comporte essentiellement cinq parties (Figure 5) :

• Une source lumineuse

• Un dispositif permettant de générer les interférences : l'interféromètre (voir description ci-après).

• Un compartiment échantillon qui permet d'accueillir plusieurs types d'accessoires (porte-échantillon) dépendant du mode de mesures utilisé (réflexion ou transmission).

• Un détecteur ou capteur photosensible : le spectromètre FT-IR peut comporter un ou plusieurs détecteurs, pouvant être de type

- pyroélectrique (générant un courant proportionnel au différentiel de température entre les 2 faces du détecteur) comme les détecteurs DTGS (Deuterated Tri-glycine Sulfate),
- photoélectrique (générant une différence de potentiel par l'absorption de photons) comme les détecteurs MCT (Mercure Cadmium Tellure) qui sont constitués d'un monocristal en alliage de mercure-cadmium-tellure déposé sur un support inerte.

• Enfin, le convertisseur analogique numérique qui interroge le détecteur à des intervalles réguliers et transforme le signal analogique en un signal numérique manipulable par le système informatique.

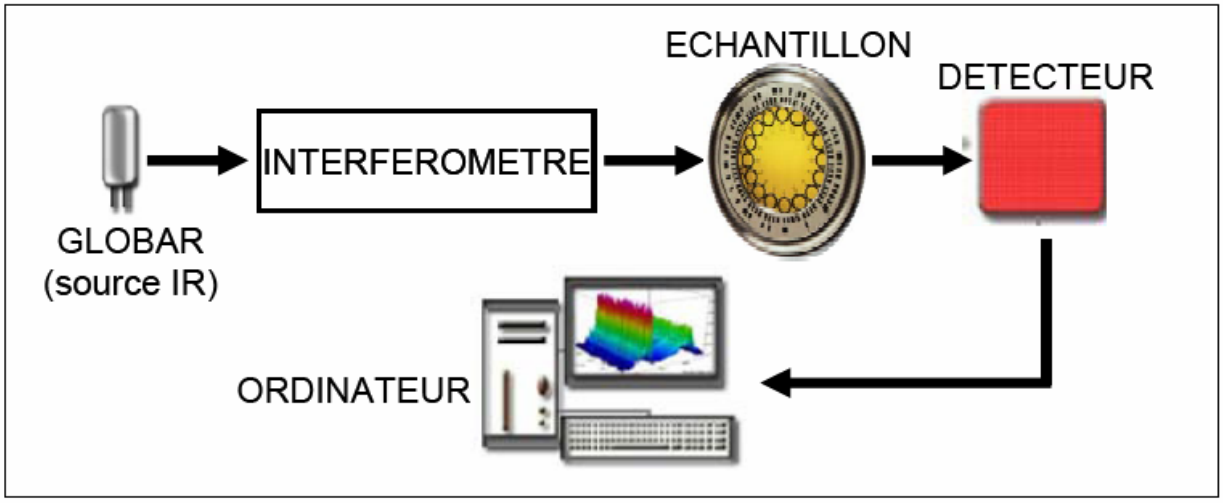

Figure 5 : Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR

L'interferomètre

Cet instrument permet de mesurer les longueurs d'onde par production d'interférences. L'interféromètre de Michelson (1891) utilisé pour la mesure est formé d'une lame séparatrice semi-transparente qui divise le faisceau issu de la source en deux faisceaux, l'un réfléchi vers un miroir fixe, l'autre transmis vers un miroir mobile (Figure 6). Le miroir mobile, perpendiculaire au miroir fixe, bouge à une vitesse constante le long de son axe (x=qq mm). Donc, un des faisceaux parcourt un chemin optique fixe, l'autre un chemin optique de longueur variable à cause du miroir mobile. La phase des ondes sur ces deux trajets optiques est donc modifiée en déplaçant le miroir mobile.

Ces deux faisceaux se recombinent alors sur la séparatrice. Le signal sortant de l'interféromètre résulte en ces 2 faisceaux interférant entre eux (interférogramme) : quand la différence de chemin optique entre les faisceaux correspond à un multiple entier de la longueur d'onde d'une bande, on obtient une interférence constructive. Une interférence négative est obtenue lorsque la différence correspond à un multiple entier impair du quart de la longueur d'onde. L'ensemble des interférences positives et négatives produit un interférogramme. De manière générale, lorsqu'on fait varier

x, on observe alternativement des maxima et des minima au niveau de l'intensité du faisceau résultant.

Pour une source monochromatique, l'interférogramme du faisceau résultant correspond à une courbe sinusoïdale : $I(\delta) = I_0 \cos(2 \pi \nu \delta)$ où δ représente la différence de marche = 2x. Pour une source continue, il faut faire la somme sur chaque fréquence : $I(\delta) = \int_0^{+\infty} I(\nu) \cos(2 \pi \nu \delta) \, d\nu$.

Cet interférogramme possède la propriété que chaque point (fonction de la position du miroir mobile) qui constitue le signal possède une information sur chaque fréquence infrarouge provenant de la source. L'interféromètre produit un ***signal unique*** contenant toutes les informations requises pour produire un spectre. Il peut être mesuré très rapidement (de l'ordre de grandeur de la seconde).

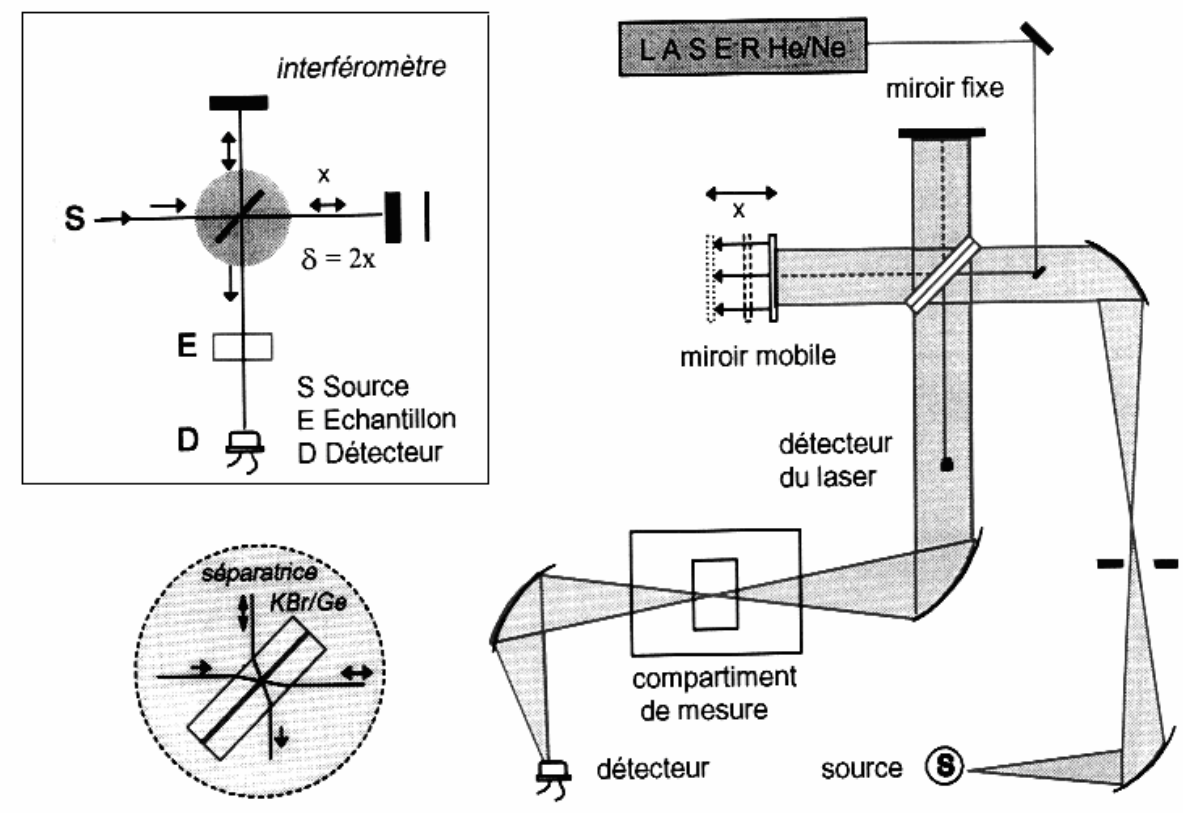

Figure 6 : L'interféromètre de Michelson et chemin optique dans le spectromètre FT-IR

Le faisceau sortant de l'interféromètre est réfléchi vers l'échantillon, où des absorptions interviennent. Il arrive ensuite sur le détecteur pour être transformé en signal électrique.

Le signal du détecteur apparaît comme un interférogramme, c'est une signature de l'intensité en fonction du déplacement du miroir I=f(δ). Cet interférogramme ne peut être interprété directement.

Le tracé $I = f(\bar{\nu})$ est obtenu à l'aide d'un traitement mathématique appelé ***transformée de Fourier***. Cette dernière est calculée (Fourier Transform (FT) inverse de l'interférogramme) à l'aide d'un ordinateur qui permet de visualiser finalement le spectre $I = f(\bar{\nu})$.

Rq : L'intégration de l'interférométrie à la spectroscopie IR a été rendue possible par le développement de la transformée de Fourier rapide qui a permis la résolution en temps réel de l'interférogramme, par le perfectionnement des lasers améliorant la précision en fréquence de la mesure et par le couplage spectromètre-microordinateur.

III.2.2 - Génération du spectre FT-IR

Le processus de génération du spectre de l'échantillon comporte 4 étapes (Figure 7):

1 - enregistrement d'un interférogramme simple-faisceau de référence sur le support porte-échantillon

2 - enregistrement d'un interférogramme simple-faisceau de l'échantillon

3 - transformation de Fourier inverse des interférogrammes et opérations post-Fourier

4 - calcul du spectre d'absorbance (ou de transmittance) à partir des spectres simple faisceau

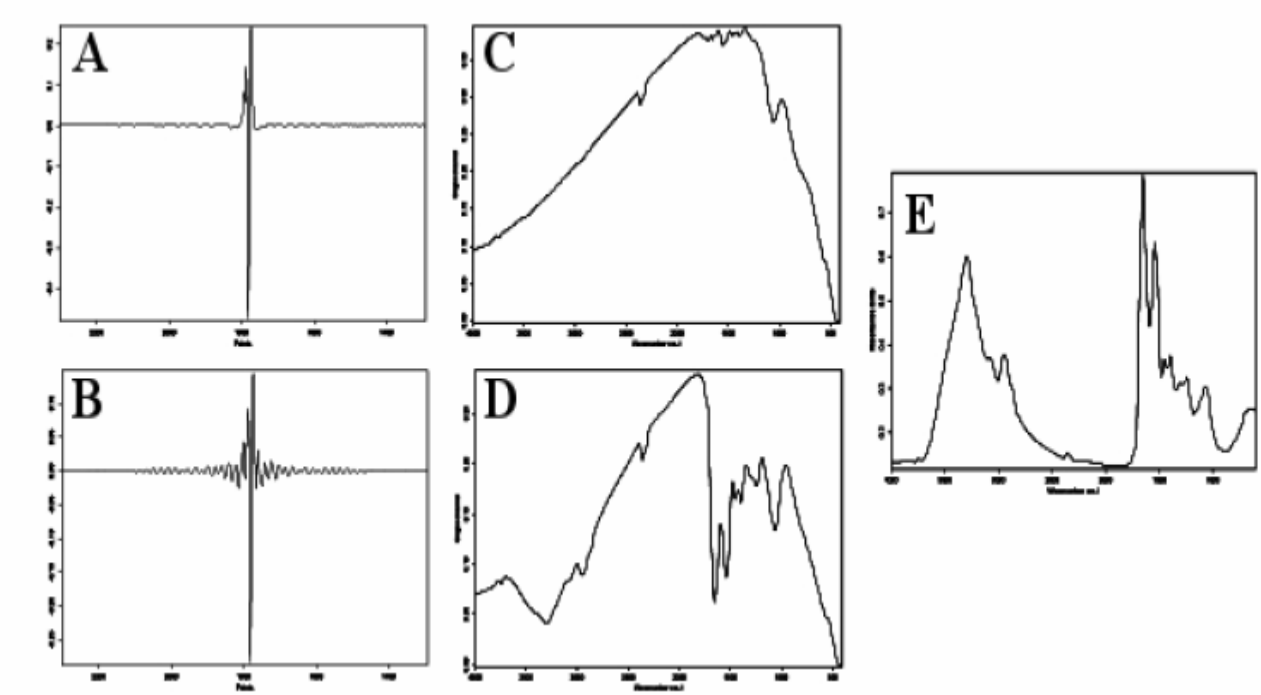

Figure 7 : Génération du spectre FT-IR
(A) Interférogramme de référence
(B) Interférogramme échantillon
(C) Spectre simple faisceau de référence
(D) Spectre simple faisceau échantillon
(E) Spectre en absorbance

III.2.3 - Résolution spectrale

La notion est illustrée sur la figure 8. Un écart **d** entre deux bandes sur l'échelle des nombres d'onde est observable lorsqu'une modulation périodique de **1/d** est constatée sur l'interférogramme : pour obtenir une séparation correcte de **d** entre deux bandes dans le domaine des nombres d'onde, il faut au minimum mesurer l'interférogramme sur une distance **x=1/d.**

Par exemple, une résolution spectrale de 4 cm^{-1} demandera au minimum un déplacement **x** du miroir mobile de 0,25 cm. En conclusion, plus on augmente le parcours du miroir mobile, plus on augmente la résolution spectrale.

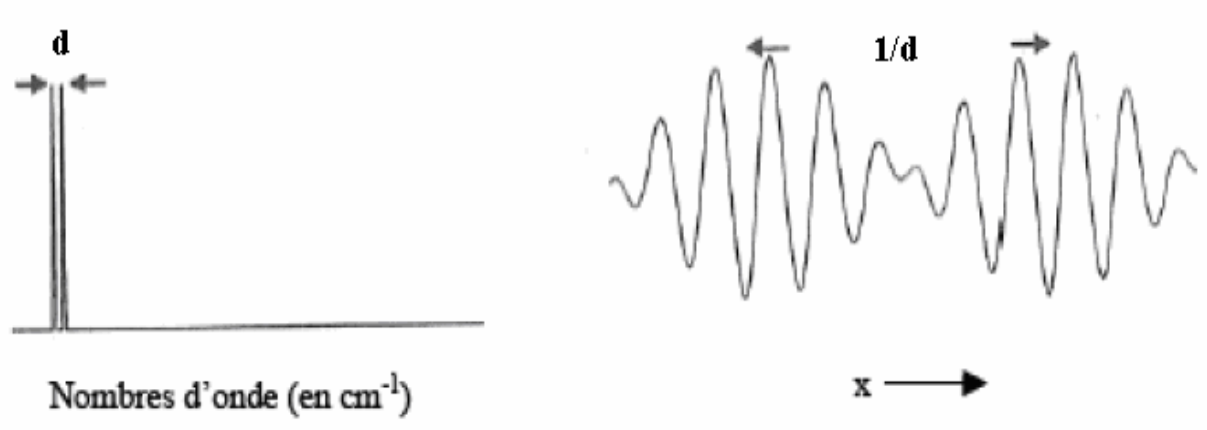

Figure 8 : 2 signaux spectraux espacés de d et leur interférogramme

III.2.4 - Avantages de la spectroscopie FT-IR

- Rapidité: du fait d'une mesure simultanée de toutes les fréquences, la mesure dure quelques secondes. Un spectre de 800-8000 cm $^{-1}$ de résolution de 2 cm^{-1}, mesuré en 30 minutes sur un spectromètre dispersif, sera collecté en 1 seconde au même rapport signal/bruit.
- Reproductibilité et fiabilité
- Haute résolution spectrale
- Simplicité mécanique : la seule partie mobile de l'instrument est le miroir mobile.
- Calibration interne : ces spectromètres sont auto-calibrés et ne nécessitent jamais de calibration par l'utilisateur. Un laser He-Ne permet de repérer avec précision la position du miroir mobile.
- Sensibilité : la sensibilité est très largement améliorée par rapport aux systèmes dispersifs. La possibilité de réaliser plusieurs acquisitions permet d'améliorer considérablement le rapport signal/bruit. La très bonne sensibilité permet d'envisager des applications en ***contrôle qualité*** (identification de contaminants par exemple). Il est en outre possible d'effectuer des ***analyses quantitatives*** de grande précision avec ce type de spectromètre.

Suite 1 du chapitre III

IV - Techniques d'examen des échantillons en spectroscopie FT-IR

Le choix de la technique d'échantillonnage dépend de la nature de l'échantillon. Plusieurs méthodes ont été mises au point pour la caractérisation d'échantillons d'état physique différents par spectroscopie infrarouge avec l'emploi d'accessoires spécifiques.

IV.1 - Procédés par transmission (absorption)

- Rappels sur la transmission **:** Le faisceau infrarouge passe à travers l'échantillon et l'énergie provenant de ce dernier est mesurée. La transmission T est définie comme la fraction d'énergie lumineuse traversant l'échantillon. A l'entrée de l'échantillon, l'intensité de la lumière est I_0. Elle est égale à I de l'autre côté de ce même échantillon. On a donc $T = I/I_0$. On définit le pourcentage de transmission (Transmittance) $\%T = 100\ (I/I_0)$. L'absorbance est alors $A = \log\ (I_0/I)$.

Pour un appareil FT-IR, on définit $I_0=I_{source}(x)$, l'intensité globale émise par la source en fonction du retard et I=I(x) est l'intensité transmise après passage à travers l'échantillon (Figure 9).

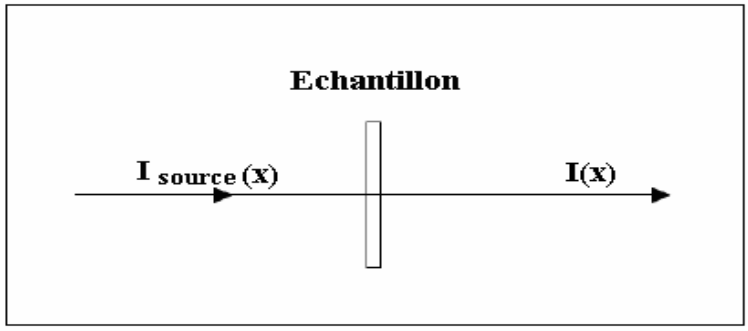

Figure 9 : Principe de la transmission

Suite à la mesure enregistrée par le détecteur et après conversion de l'intensité par transformée de Fourier inverse, on définit le spectre soit en transmittance % T, soit en absorbance A.

Ce mode de mesure nécessite l'utilisation de supports transparents en infrarouge :

- nombreux sels de métaux alcalins tels que le bromure de potassium (KBr)
- séléniure de zinc (ZnSe)
- fluorure de calcium (CaF2)

- fluorure de baryum (BaF2)
- germanium (Ge)

Contrairement au KBr, les supports ZnSe, CaF_2 et BaF_2, possèdent des qualités de résistance à l'hygrométrie qui les qualifient pour l'étude des matériaux biologiques et en général de tous les échantillons en solution.

Pour les techniques d'échantillonnage, Cf Annexe 2 et Polycope de TP de Spectroscopie Infrarouge (M1).

IV.2 - Procédés par réflexion

Lorsqu'un faisceau lumineux arrive à l'interface d'un second milieu dont l'indice de réfraction est plus grand, il subit suivant l'angle d'incidence, soit une réflexion totale comme un miroir, soit une réflexion atténuée après avoir, en partie, pénétré dans ce milieu d'environ une demi longueur d'onde (soit entre 2 et 10 micromètres pour le moyen infrarouge). L'échantillon absorbe une partie de ces radiations. Plusieurs techniques exploitent ce principe et permettent d'observer toutes sortes d'échantillons. On distingue la réflexion spéculaire, la réflexion totale atténuée et la réflexion diffuse. Chaque dispositif est conçu pour privilégier une seule composante de réflexion. Le spectre obtenu doit faire l'objet de corrections au moyen de logiciels.

IV.2.1 - Réflexion spéculaire

L'accessoire de réflexion spéculaire permet la mesure de la lumière réfléchie dans une direction d'observation symétrique à celle d'incidence (Figure 10).

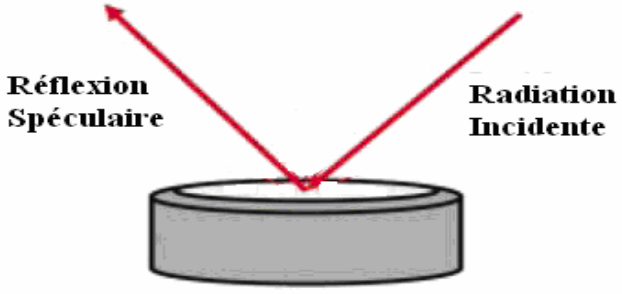

Figure 10 : Réflexion spéculaire

En comparant, après enregistrement, pour chaque longueur d'onde, la réflexion spéculaire **I** de l'échantillon à la réflexion totale $\mathbf{I_0}$ obtenue en remplaçant l'échantillon par un miroir d'aluminium, l'appareil calcule le spectre de la réflectance

$R=I/I_0=f(\lambda)$. Enfin, par application d'une transformation mathématique faisant appel à la théorie de Kramers-Kronig, on aboutit à un spectre en pseudo-absorbance, équivalent à celui qu'on obtiendrait par transmission (Figure 11).

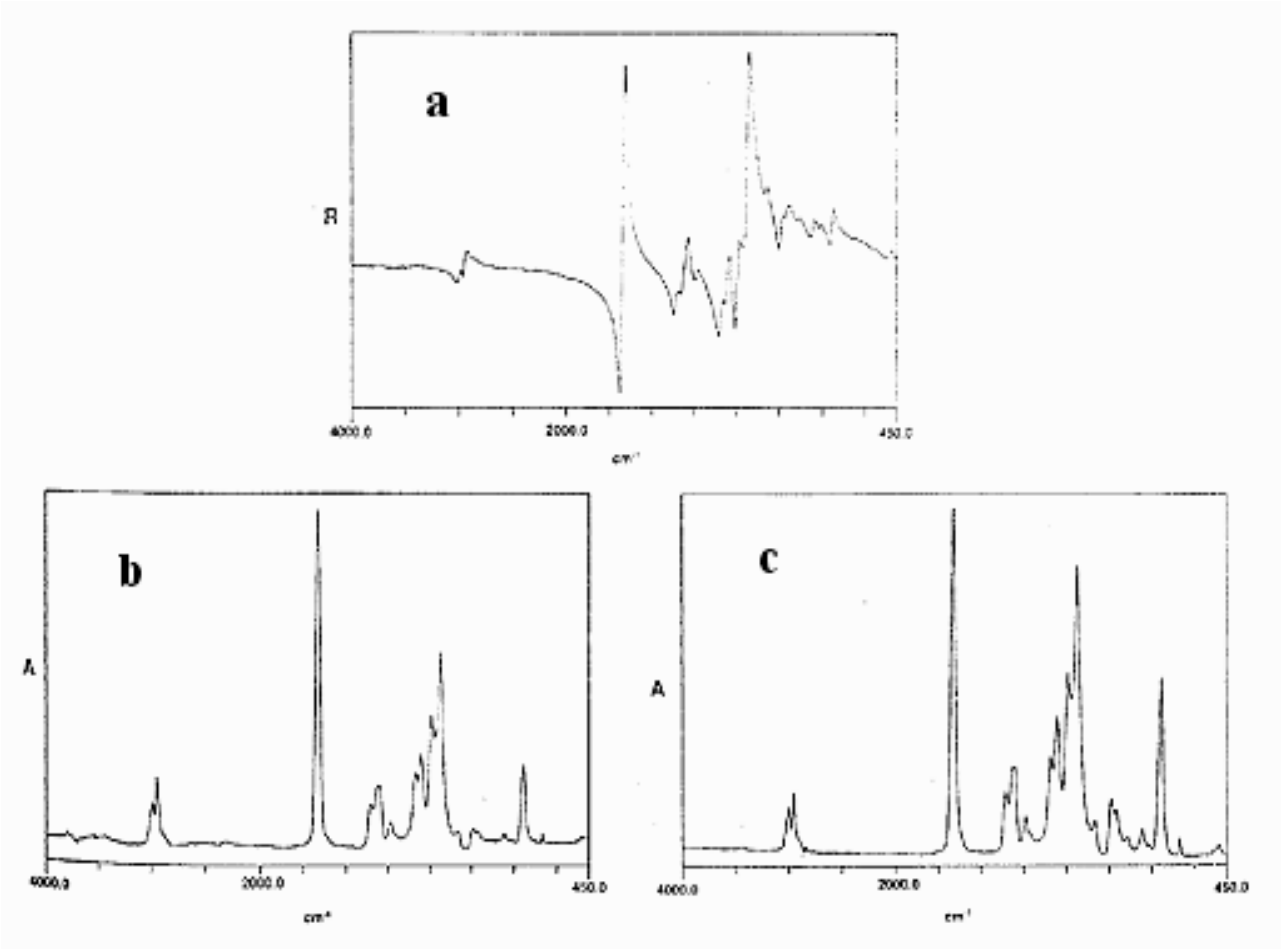

Figure 11 : (a) Signal brut de réflexion spéculaire
(b) Application du calcul de Kramers-Kronig
(c) Spectre par transmission obtenu par le procédé conventionnel, présenté ici en absorbance, pour comparaison

La technique de réflexion spéculaire est utilisée uniquement pour les échantillons transparents et réfléchissants à leur surface (vernis, films de polymères…).

IV.2.2 - Réflexion totale atténuée (ATR)

La réflexion totale atténuée est communément appelée ATR (Attenuated Total Reflection). Le principe de l'ATR est détaillé sur la figure 12.

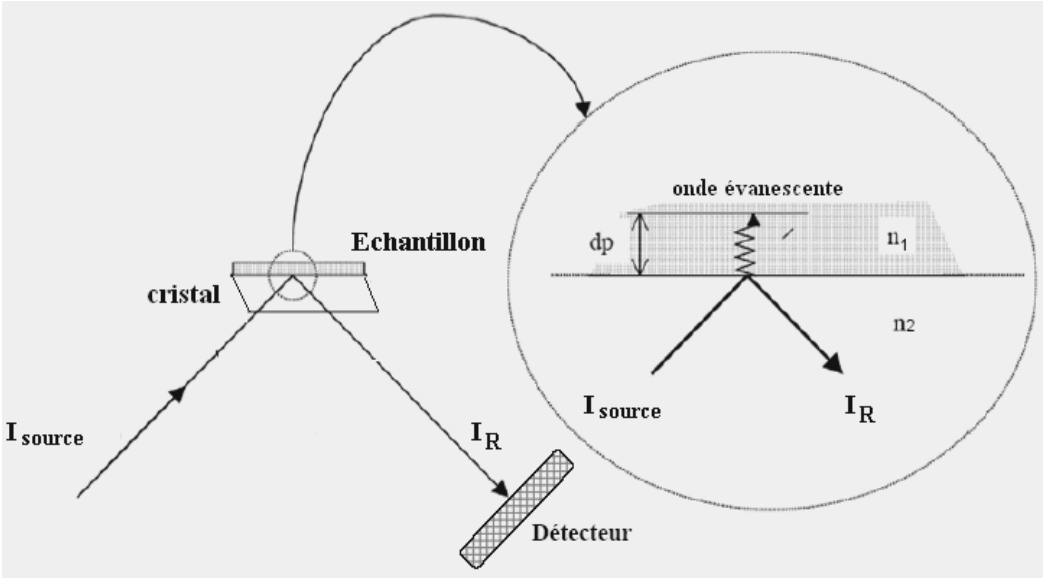

Figure 12 : Principe de la réflexion totale atténuée (ATR)

Le principe des dispositifs ATR est de faire subir au faisceau optique plusieurs réflexions à l'interface entre l'échantillon et un cristal parallélépipédique (25x10x2 mm), transparent en IR mais d'indice de réfraction n_2 élevé (ZnSe, TlBr, AgCl, diamant…) et dans la plupart des cas, supérieur à celui de l'échantillon (n_1).

En première approximation, d'après la loi de Descartes, le faisceau IR initial d'intensité I(source) traverse le cristal et subit une réflexion totale à l'interface cristal-échantillon puis est dirigé vers le détecteur. En réalité, le phénomène est perturbé par l'existence d'une onde progressive appelée **évanescente.** Celle-ci pénètre de quelques micromètres dans l'échantillon se trouvant en contact direct avec le cristal et peut être absorbée : une partie de l'énergie est retenue et la réflexion totale est atténuée.

L'intensité de la lumière réfléchie $\mathbf{I_R}$ est mesurée par un détecteur de réflexion. On appelle $\mathbf{I_0}$ l'intensité réfléchie par un matériau non absorbant pris comme référence. La réflectance R est $\mathbf{R=I_R/I_0}$. % **R** : Pourcentage de réflexion.

En pratique, de multiples réflexions internes sont utilisées pour amplifier l'intensité d'absorption (Figure 13).

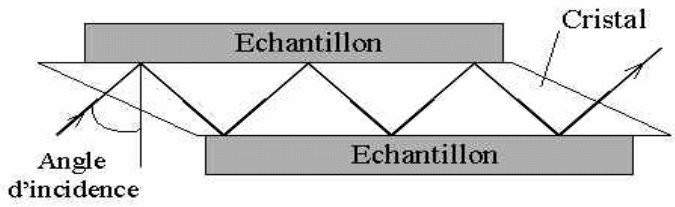

Figure 13 : Cristal multi-réflexions

La technique ATR est idéale pour les échantillons épais ou très absorbants (liquides contenant de l'eau par exemple) et pour les films minces pour les études de surface (profondeur de pénétration est de l'ordre de 1 à 2 µm). Les solides analysés par cette technique doivent être plats ou flexibles afin d'épouser au mieux la forme du cristal.

Les solides pouvant être aisément étudiés sont :

- les matières plastiques,
- les peintures,
- les adhésifs,
- les solides pâteux.

Les liquides les plus fréquemment étudiés sont :

- les solutions aqueuses,
- les liquides visqueux,
- les liquides très absorbants,
- les solutions biologiques.

Avantages :

- préparation de l'échantillon minimale,
- nettoyage de l'accessoire simple et rapide,
- possibilité d'étudier les échantillons directement dans leur état naturel (sans préparation préalable),
- technique très reproductible : analyse quantitative, à condition de ne pas réclamer des sensibilités très importantes,
- cellules ATR capables de travailler en température ou sur des produits corrosifs (acides, peroxydes…).

IV.3 - Réflexion diffuse (DR)

Lorsqu'un faisceau infrarouge est focalisé sur un matériau constitué de fines particules, la radiation incidente peut pénétrer dans une ou plusieurs particules. Il en résulte une diffusion de la lumière. C'est la réflexion diffuse (Figure 14). Elle peut être considérée comme la résultante de multiples réflexions, réfractions et diffractions sur des particules orientées de façon aléatoire.

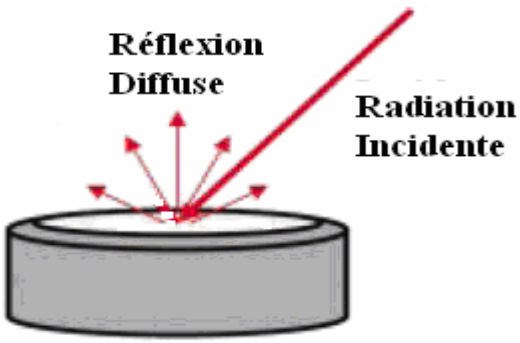

Figure 14 : Réflexion diffuse

En réflexion diffuse, le faisceau infrarouge est dirigé vers une coupelle contenant le mélange échantillon-matrice transparente à l'infrarouge (KBr par exemple). La radiation infrarouge interagit avec les particules entraînant un phénomène de diffusion au cours du trajet du faisceau à travers l'échantillon. Un miroir collecte alors cette énergie diffusée vers le détecteur du spectromètre (Figure 15).

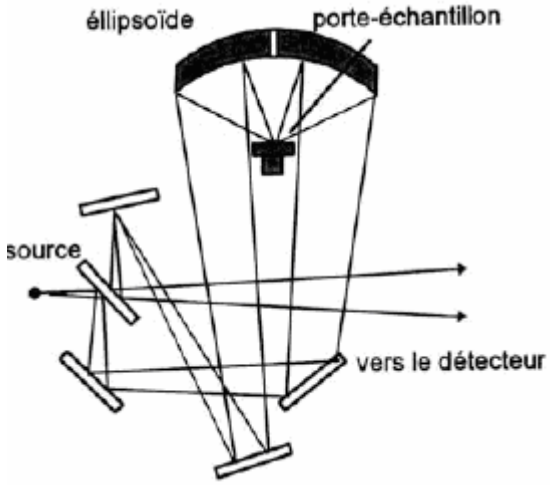

Figure 15 : Schéma de principe de réflexion diffuse

Le détecteur enregistre ce faisceau infrarouge altéré par la diffusion et le transforme en interférogramme pouvant alors être traité sous la forme d'un spectre infrarouge. Un blanc est enregistré tenant compte de la réflexion diffuse de la coupelle contenant la matrice transparente seule.

La méthode de réflexion diffuse est couramment employée pour l'étude qualitative des échantillons organiques et minéraux pouvant être broyés très finement (taille des grains ≤ 10 μm). Dans certains cas, la réflexion diffuse peut avantageusement remplacer le pastillage. L'échantillonnage est plus simple, on n'a pas besoin de presser. Il existe des kits permettant d'échantillonner en réflexion diffuse des échantillons solides comme des polymères, des peintures… par simple grattage sur une surface abrasive.

Suite 2 du chapitre III

V – Microspectroscopie FT-IR

La microspectroscopie infrarouge est le couplage entre un spectromètre IR et un microscope. Cette technique permet d'utiliser les potentialités de la spectroscopie FT-IR à l'échelle microscopique pour l'étude de micro-échantillons (taille ≈ 10 μm). Le rôle du microscope est de conduire le rayon IR de l'interféromètre à l'échantillon de manière colinéaire au chemin optique visible, sur une zone quasiment ponctuelle (quelques micromètres).

Le microscope est relié à un spectromètre FT-IR et est muni d'une platine (porte-échantillon) motorisée, d'un détecteur et d'objectifs (Figure 16). Les lentilles en verre étant opaques aux radiations IR, le microscope utilise des optiques réfléchissantes (miroirs dorés ou argentés). Le mouvement de la platine est contrôlé à l'aide d'un logiciel et peut être réglé avec une précision sub-micrométrique. La plupart des objectifs de microscopes IR ont des ouvertures donnant des résolutions spatiales de l'ordre de quelques microns à plusieurs dizaines de microns suivant l'ouverture utilisée. *La résolution spatiale peut être définie comme la capacité à mesurer le spectre d'un objet sans contamination par les informations provenant d'objets placés hors du champ délimité par l'ouverture.*

Dans certains cas, le microscope IR peut être placé dans une enceinte de purge (azote gazeux ou air sec) (Figure 17) pour assurer une protection efficace contre les influences atmosphériques (vapeur d'eau et gaz carbonique). L'échantillon à analyser est placé sur la platine motorisée et amené au centre du champ de vision du microscope. Un passeur d'échantillon peut être utilisé. C'est un accessoire couplé au spectromètre, qui comporte un porte-échantillon (platine), un système de reconnaissance par code-barre et un système d'entraînement et permet d'analyser jusqu'à 15 échantillons dans les mêmes conditions.

En micro-spectroscopie FT-IR, les modes d'enregistrement sont la transmission si l'épaisseur de l'échantillon est compatible avec une absorbance raisonnable (de l'ordre d'une unité). Sinon, le mode de réflexion s'applique à des échantillons plus épais ou à des dépôts sur des supports réfléchissants.

Actuellement, la micro-spectroscopie FT-IR est largement utilisée dans de nombreux domaines.

Ex : application à des échantillons biologiques à l'échelle moléculaire (lipides, protéines, polysaccharides et ADN…), cellulaire (bactéries, levures et cellules…) et tissulaire (peau, aorte, cerveau, sein, colon et divers organes…) :

- identification et typage de levures
- compréhension de l'effet de divers agents sur les bactéries

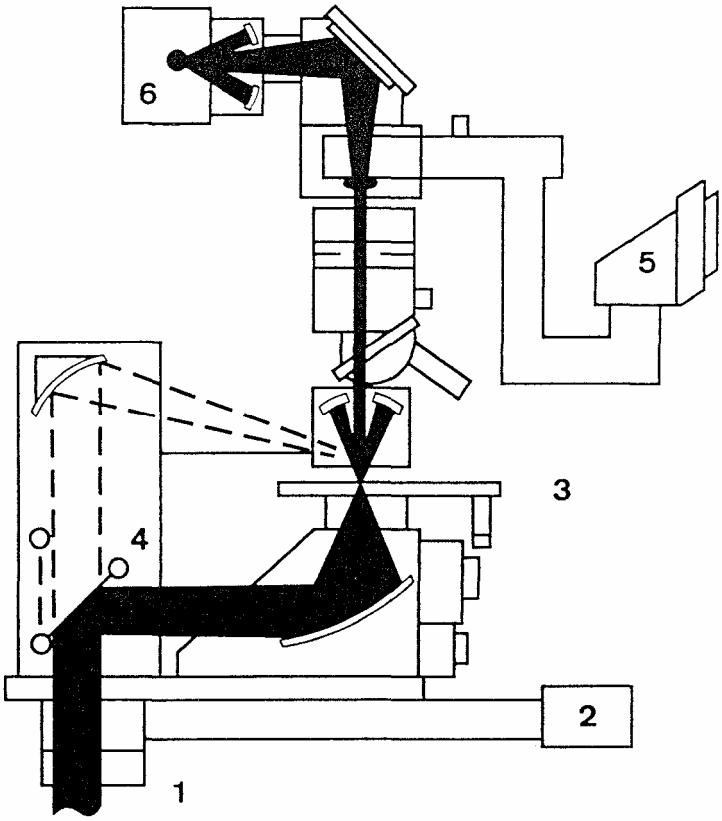

Figure 16 : Trajet optique du faisceau IR dans la partie microscope

1 - Faisceau infrarouge en provenance de l'échantillon
2 - Eclairage de échantillon
3 - Platine du microscope
4 - Miroir de sélection transmission/réflexion
5 - Viseur optique
6 - Détecteur dédié au dispositif

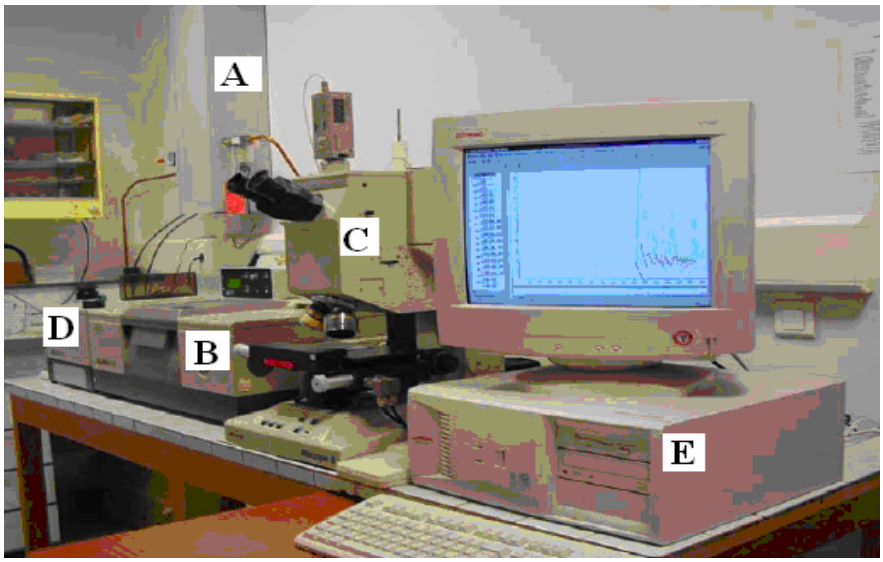

Figure 17 : Micro-spectromètre FT-IR avec système de purge et passeur d'échantillon

A : Système de purge
B : Spectromètre FT-IR
C : Microscope
D : Module passeur d'échantillons
E : Micro-informatique

VI - Spectroscopie photoacoustique (PAS)

En 1880, Bell découvre que, lorsque la lumière est focalisée sur un diaphragme mince, il y a émission d'un son. Cependant, les applications de ce phénomène n'ont pu se développer que beaucoup plus tard, dans les années 1970.

En spectroscopie photoacoustique (PAS), un ***événement optique*** est transformé en ***événement acoustique***. Dans un premier temps, la lumière est absorbée par l'échantillon disposé dans une cellule scellée (Figures 18, 19). L'affaiblissement non radiatif de cette lumière absorbée produit un transfert de chaleur à la surface de l'échantillon. Ce gradient thermique produit alors des ondes de pression (signal acoustique) pouvant être détectées par un microphone. Ce signal, lorsqu'il est tracé en fonction de la fréquence, donne un spectre proportionnel au spectre d'absorption de l'échantillon (Figure 20).

La PAS est une technique non destructive, facile à mettre en œuvre et applicable à tous types d'échantillons même les plus opaques et permet de réaliser des études qualitatives et quantitatives.

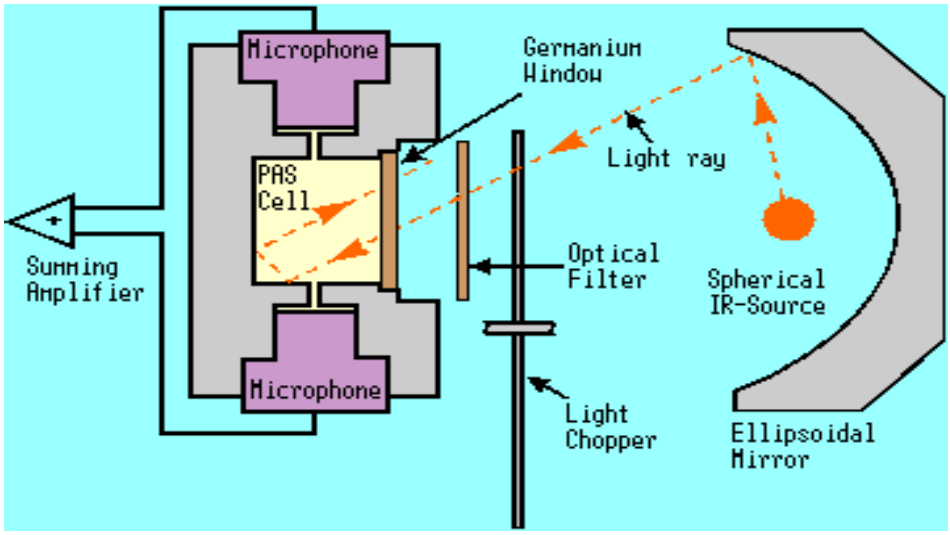

Figure 18 : Schéma de principe du spectromètre photoacoustique

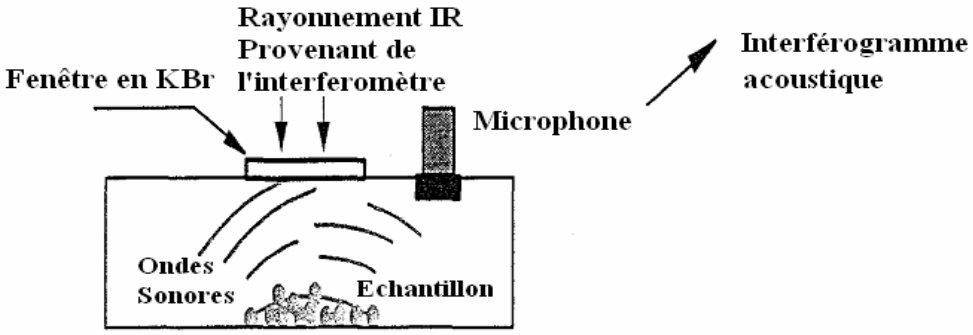

Figure 19 : Cellule photoacoustique

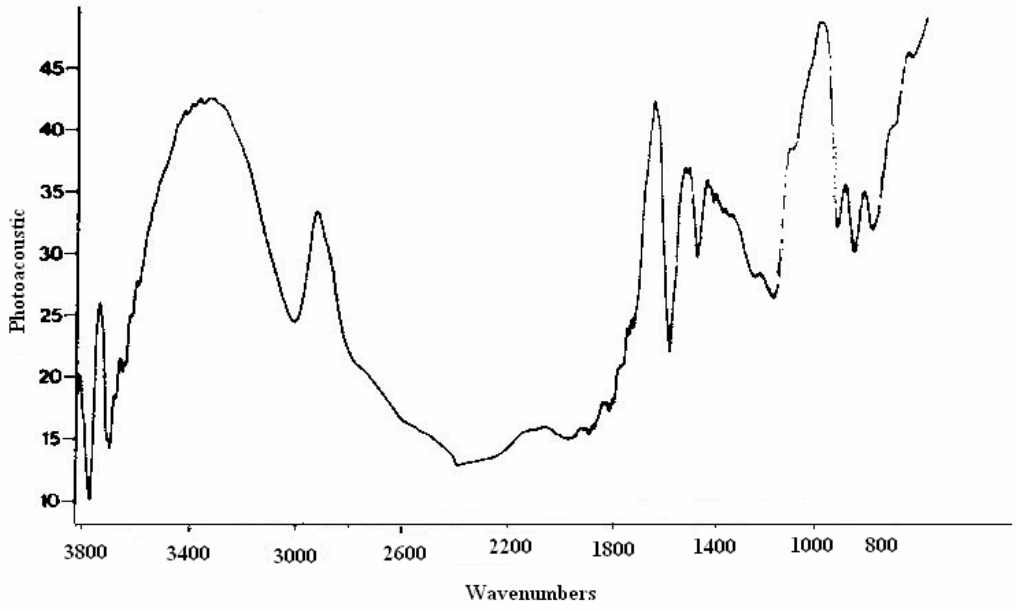

Figure 20 : Spectre photoacoustique de la farine
Le spectre est obtenu en unité photoacoustique PAS = $100I_E/I_{ref}$
E : échantillon ; réf : référence constituée de charbon actif.

VII - Bilan des techniques dans l'infrarouge moyen

Le tableau présente le bilan des techniques étudiées pour le moyen infrarouge.

Spectroscopie par transmission	ATR	DR	Spectroscopie photoacoustique	Microscopie infrarouge
Les échantillons doivent être finement broyés puis dispersés et pressés dans une poudre ou une huile transparente dans l'IR. Le broyage et le pressage peuvent modifier la nature physico-chimique de l'échantillon, tandis que certaines régions du spectre peuvent être masquées par les bandes d'absorption de l'huile	Beaucoup de produits sont difficiles à broyer. Ils pourront être étudiés en ATR à condition d'avoir une surface plane et d'être assez souples pour un bon contact avec le cristal.	La méthode de réflexion diffuse est couramment employée pour l'étude des échantillons organiques et minéraux pouvant être broyés très finement (taille des grains ≤ 10 μm).	Les détecteurs photoacoustiques permettent d'étudier des échantillons absorbants ou ayant des surfaces complexes. Cependant, les traces d'humidité peuvent perturber les spectres d'où la nécessité de balayer la cellule avec un gaz sec	Offre la possibilité d'étudier des échantillons de très petite taille $(10 \times 10)\,\mu m$. Possible de travailler en transmission ou en réflexion avec divers types d'accessoires.
- utilisable pour gaz, liquides et solides **- difficile pour les produits très absorbants ou ne pouvant pas être broyés**	**- nettoyage aisé** **- cristal onéreux et fragile**	**- peu d'entretien de l'accessoire** **- méthode rapide** **- risque de distorsion des bandes d'absorption** **- même les poudres dures ou abrasives peuvent être étudiées**	**- prix élevé du détecteur** **- pas de préparation de l'échantillon mais nécessaire de balayer la cellule par He ou N_2** **- utilisable pour les produits très absorbants**	**- prix assez élevé** **- préparation de l'échantillon longue et délicate pour la transmission** **- étude possible des échantillons hétérogènes**

VIII - Spectroscopie dans le proche infrarouge

VIII.1 - Bandes harmoniques et bandes de combinaison

Rappelons que les vibrations des liaisons inter-atomiques ne suivent pas exactement les lois décrites par le modèle harmonique (anharmonicité). Une conséquence très importante de l'hanarmonicité est qu'une liaison chimique donnée vibre généralement à plusieurs fréquences (fondamentales, harmoniques). La position des bandes harmoniques est en général légèrement inférieure à un multiple entier de la fréquence fondamentale (Figure 21, Tableau).

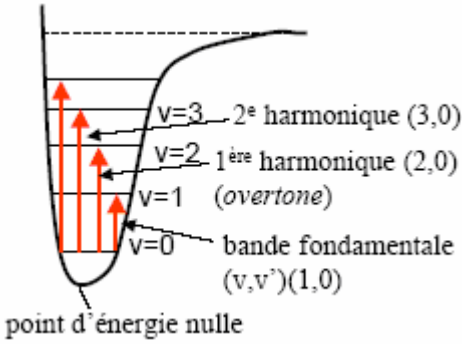

Figure 21 : Courbe Ep = f(r) d'un groupement diatomique. Transitions fondamentale et harmoniques

Tableau des vibrations du C-H dans $CHCl_3$ liquide

Transition v = 0 à v =	**Fréquence observée (cm^{-1})**	**Fréquence calculée (cm^{-1})** (oscillateur harm.)	**Différence**
1 (fond.)	3019	3019 (ν_{fond})	0
2	5912	6038 ($2\nu_{fond}$)	126
3	8677	9057 ($3\nu_{fond}$)	380

En plus des harmoniques, les bandes de combinaison, résultant de l'interaction de deux ou plusieurs modes de vibration pour un même groupe fonctionnel, donnent lieu à une absorption. Dans ces transitions, un photon excite deux ou plusieurs vibrations simultanément et induira donc une transition à une fréquence approximativement égale à la somme des fréquences de ces transitions. Le chloroforme qui a une vibration de valence à 3019 cm^{-1} et une vibration de déformation à 1216 cm^{-1} aura aussi une faible bande de combinaison à 4217 cm^{-1}, valeur un peu plus faible que la somme des nombres d'onde (4235 cm^{-1}) ; ceci est dû à la constante d'anharmonicité.

VIII.2 - Absorptions caractéristiques dans le proche infrarouge

Les groupements chimiques présentant une absorption dans la région du PIR sont principalement de la forme X-H, où X correspond aux atomes de carbone, d'oxygène, de soufre ou d'azote et H désigne l'atome d'hydrogène (Voir Schéma récapitulatif sur la figure 22). Les bandes d'absorption PIR forment des pics larges et sont souvent données en nm. Par conséquent, une petite variation dans l'échelle des longueurs d'onde ne changerait pas considérablement l'intensité de la lumière absorbée. C'est un avantage pour les applications analytiques qui sont basées sur la mesure de la lumière absorbée à des longueurs d'onde données.

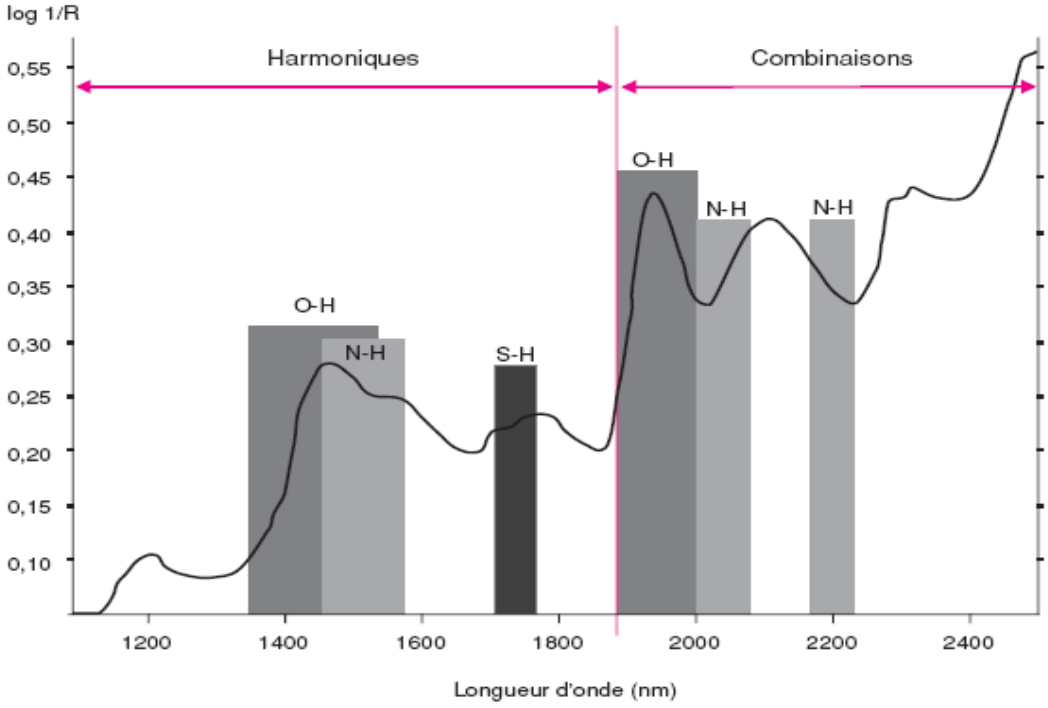

Figure 22 : Quelques bandes d'absorption dans le PIR.

Les bandes C-H englobent tout ce domaine.

VII.3 - Instrumentation en spectroscopie proche infrarouge

On utilise en générale une diode laser comme source infrarouge, même si des émetteurs à plus large spectre comme des ampoules à incandescence classiques ou les ampoules halogènes à quartz sont aussi utilisables.

Le produit est placé, sans préparation ou après un simple broyage, dans une coupelle munie d'un couvercle transparent.

Un appareil classique est le spectromètre à filtres tournants (Figure 23). Ce sont des filtres optiques interférentiels qui permettent de sélectionner les longueurs d'onde dans le domaine du PIR. Les filtres sont placés perpendiculairement au rayon lumineux. La lumière provenant de la source est focalisée sur l'échantillon après avoir traversé un filtre. L'énergie lumineuse provenant de l'échantillon est mesurée par un ou plusieurs détecteurs photosensibles. On peut ainsi mesurer l'absorption lumineuse associée à chacun des filtres. La lumière est segmentée dans le temps à l'aide d'un hacheur lumineux ce qui rend plus efficace la détection et l'amplification du signal lumineux.

En réflexion diffuse, ce système est également muni d'une sphère d'intégration, qui augmente la proportion de lumière recueillie par les détecteurs. Cette sphère est recouverte à l'intérieur d'un matériau inerte, tel que l'or, de manière à former une surface diffusante. Un miroir oscillant permet de focaliser les rayons lumineux alternativement sur la surface interne de la sphère et sur l'échantillon. On peut ainsi obtenir alternativement une mesure de l'intensité I_0 de la source lumineuse, et de l'intensité I_R réfléchie par l'échantillon. Il est alors possible de convertir les mesures en unités usuelles d'absorbance sous la forme $A = \log(I_R/I_0)$. Les spectromètres commerciaux sont munis d'un petit nombre de filtres (6 à 20 typiquement).

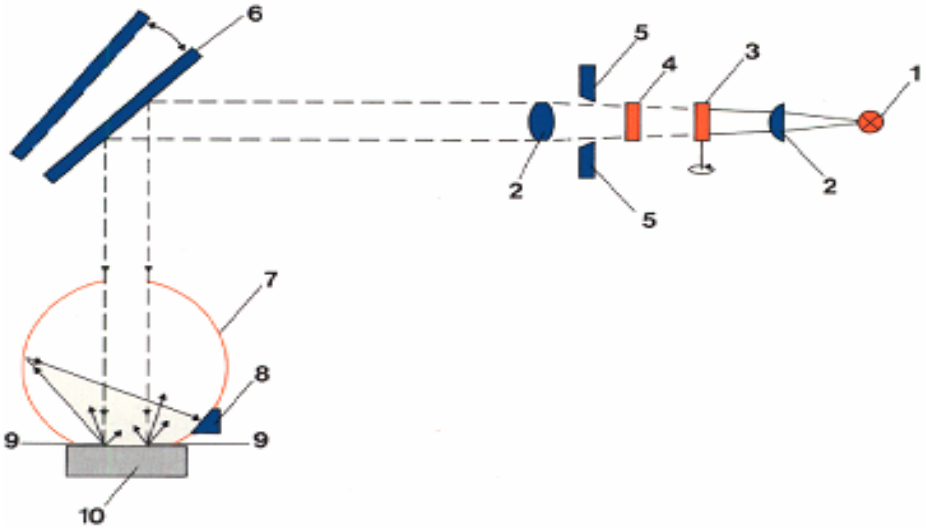

Figure 23 : Schéma de principe d'un spectromètre PIR à filtres

1 - Source lumineuse	2 - Lentilles	3 - Chopper
4 - Filtres proche infrarouge	5 - Diaphragme	6 - Miroir basculant
7 - Sphère d'intégration	8 - Détecteur	9 - Réflexion diffuse
10 - Echantillon		

Pour les appareils PIR à transformée de Fourier (PIR-TF), le sélecteur utilisé est un interféromètre de Michelson. La séparatrice est généralement en CaF_2 (15000 à 1200 cm^{-1}) et le détecteur peut être une barrette de photodiodes.

Système de traitement des données

Les spectromètres sont connectés à des micro-ordinateurs qui ont pour rôle de piloter l'appareil et de permettre le stockage, la gestion et l'analyse statistique des données spectrales.

Remarque

Beaucoup d'instruments commerciaux sont spécifiquement consacrés aux applications analytiques industrielles dans la région du PIR. La plupart de ces spectromètres peuvent être équipés de fibres optiques. Les fibres optiques sont, en général, regroupées en faisceau. Un premier faisceau sert à conduire la lumière depuis le spectromètre jusqu'à l'échantillon à analyser, tandis qu'un second collecte la lumière réfléchie par l'échantillon. Ces faisceaux sont regroupés de manière à former un câble souple, terminé par une sonde de mesure. On peut alors effectuer une mesure spectrale en posant simplement la sonde sur l'échantillon.

VII.4 - Matériaux des cellules de mesure et échantillonnage

Les fenêtres et cellules de mesure sont classiquement en verre, quartz ou saphir, mais il existe également des éléments en CaF_2 pour la spectroscopie PIR-TF. Les analyses PIR ne nécessitent pas de préparation d'échantillon. L'ATR monoréflexion est destinée aux échantillons très absorbants, aux petits échantillons, aux liquides, semi-solides, films et poudres fines, tandis que l'ATR multiréflexion est destinée aux liquides, gels, pâtes et films de polymères.

VII.5 - Applications

L'utilisation de cette technique s'est largement répandue dans un grand nombre d'industries donnant lieu à des applications analytiques très diverses : industrie agro-alimentaire, industrie pharmaceutique, domaines des matériaux (polymères...), industrie pétrolière, industrie textile…

VII.6 - Avantages et inconvénients de l'analyse PIR

VII.6.1 - Avantages

- Pour le contrôle qualité en routine
- Pas de préparation de l'échantillon
- Pas de résidus
- Des mesures rapides
- Pas de problème avec le flaconnage en verre
- Pas de problème de présence d'eau
- Des mesures à l'aide de fibres optiques
- Des analyses faciles et précises
- Coût de l'analyse modeste

VII.6.2 - Inconvénients

- Difficultés pour la corrélation des spectres à la structure

- Analyse directe très difficile en général : besoin de calibrage pour les mélanges

- Phase de l'étalonnage longue et délicate

- En réflexion, la surface de l'échantillon doit être identique au cœur (faible pénétration du faisceau dans l'échantillon)

- La taille des particules ainsi que l'orientation modifient les spectres (même problème qu'en IR moyen)

- Manque de bibliothèques de spectres diversifiés

- Ce n'est généralement pas une technique d'analyse de traces

QUELQUES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES UTILISEES

1 - F. Rouessac, A. Rouessac « Analyse Chimique. Méthodes et Techniques Instrumentales Modernes. Cours et Exercices Résolus » 4ème Ed.; Dunod, Paris (1998).

2 - http://scdurca.univ-reims.fr/exl-doc/GED00000629.pdf

3 - http://www.emse.fr/fr/transfert/spin/formation/ressources/sam96/fichierspdf/general.pdf

4 - http://nte-serveur.univ-lyon1.fr/spectroscopie/gbdocspedagogiques.html