

République Algérienne Démocratique et populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Projet de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme de

LICENCE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie

Thème

**MISE EN MARCHÉ D'UN APPARIAL DE
MESURE PAR INFRAROUGE(IR) FTIR**

Par :

BELLAOUAR Karima

HOUTIA Chaima

KHENNAG Rekia

Jury :

M. A. Hadj Seyd

Maître de conférence B

Univ. Ghardaïa

Encadreur

M^{elle}. N .Hellali

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Examinatrice

Année universitaire 2013/2014

Dédicace :

Je dédie ce travail à :

*mes très chers parents qui m'ont fourni au quotidien un soutien
et une confiance sans faille et de ce fait, je ne saurais
exprimer ma gratitude seulement par des mots.
Que dieu vous protège et vous garde pour nous.*

A mes sœurs :

Oumelkhair et son mari Omar, Khadidja

A mon beau-frère :

Ahmed.

Aux fils de ma sœur :

Abdelbasset, Nawal, Chaima, Abdellah, Mohammed, Rawan.

A mes tantes et à mes oncles.

A chaque cousins et cousines.

A tous les familles :Khennage, Oulad hadj youcef.

À mes amis qui ont travaillé avec moi sans relâche pour terminer ce travail:

Chaima et Karima

Mes amis, qui se sont associé avec des moments de joie et de bonheur :

Zineb, Nadjet, Somaia, Khadidja, Ikram, Malika.

À tous mes collègues.

Rekia



Dédicace :

*Je remercie tous d'abord le bon dieu ALLAH tout puissant qui m'a donné
la force et le courage pour terminer ce travail.*

*À celui qui m'a appris le sens de la générosité sans attendre la récompense ;
À celui que je porte son nom ; je souhaite que dieu lui donne la longue vie pour
Qu'il puisse voir le fruit de ce qu'il a semé en nous, à mon cher père
« Mohamed ».*

*À mon ange de vie ; à celle qui porte le sens de l'amour et la tendresse ; à celle qui m'a
toujours accompagné par ses prières, à la plus tendre femme de la vie, à ma mère
« Aicha ».*

*Au symbole de la tendresse, à la mère de tous les humains, à ma grand-mère
« Mebarqa ».*

*A ceux dont l'amour coule dans mes veines ; à mes frères et sœurs « Omar, Fatma
Zohra, Yamina , Oum Keltoum, Zeinab, Rokjaia, Hassane Et Houcine Ainsi que les
petits Rabab, Mohamed Abdelleh et Fatma ».*

A tous les membres de la famille, à mes ancêtres et mes tantes.

A tous les familles :houtia, salag

*A celles que je n'ai pas citées les noms mais je les garde dans mon cœur, à mes
amies « Zineb, Nadjat, Karima, Khadidja, Somaia, Ikram et Malika ».*

Sans oublier ma chère amie « Rejia ».

A tous mes amis de proche ou de loin.

Chaima

Dédicace :

*Je remercie tous d'abord le bon dieu ALLAH tout puissant qui m'a donné
la force et le courage pour terminer ce travail. Je dédie ce travail :
aux êtres les plus chers, ma mère et son mari Ahmed et aussi ma grand-mère pour leur
aide, soutient et encouragement que dieu les gardes et les protèges
et leur accordes une longue vie :*

*A ma mère, source de puissance compassion et de tendresse l'exemple de patience
et sacrifice, la raison de mon existence et le support de ma vie.*

A ma chères frères : Maria, Otman, Ali

A tous les familles : Bellaouar, Laouar

A tous mes chères amies : Rejia, Chaima, Malika, Zineb, Somaia, Nadjet

A tous les amies Amon vie : Meriem M, Fatima CH

Surtout mes cousins : Massoud, Moustapha

Sans oublier la première promotion du Biologie option Biochimie

KARIMA



Remerciement

Merci à dieu qui nous a éclairés par le savoir et la connaissance

Et nous a aidés à accomplir ce travail.

*Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidés de proche
ou de loin à faire face à toutes les contraintes et surtout*

Notre encadreur

« Hadj Seyd Abdelkader »

Toute notre gratitude va s'adresser à M^{lle} Hellali N

Qui accepté d'examinée notre mémoire

Qui était toujours prêt à nous donner des conseils de valeur.

Nous tenons à remercier aussi

Les enseignants « Agoun Salah » et « Hadj Omar Zineb »

Enfinement nous remercions tous les enseignants,

Les encadreurs et tous les étudiants de la

Spécialité biochimie.

RESUME :

Le travail que nous avons entrepris a pour objectif, la mise en marche d'un nouvel appareil d'analyse spectroscopique par infrarouge (FTIR) .nous avons testé cet appareil par une étude spectroscopique d'un échantillon d'éthanol.

L'analyse des absorbances des différents groupements constituant la molécule, fait bien paraître qu'il s'agit de l'éthanol .notamment les bandes caractérisant les groupements OH d'un alcool, C-H dans CH₂ et CH₃ ainsi que la liaison CO.

Mots clés : spectroscopie, FTIR, éthanol.

المخلص :

يهدف العمل الذي قمنا به الى اظهار عمل الجهاز الجديد التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء (FTIR) حيث اختبرنا الجهاز بدراسة طيفية للإيثانول.

تحليل الامتصاص لمختلف المجموعات المكونة للجزيء, اظهر جيدا انه الإيثانول . خاصة الوظيفة OH المميزة للكحول, والرابطة C-H في CH₂ و CH₃ و الرابطة CO.

الكلمات الدالة: التحليل الطيفي, FTIR, الإيثانول.

Summary :

The work we have undertaken aims, starting a new infrared spectroscopic analysis apparatus (FTIR). We tested the appliance by a spectroscopic study of a sample of ethanol.

The analysis of the absorbances of the various components molecule illustrated that it matters about ethanol. Including bands characterizing the OH groups of an alcohol, CH in CH₂ and CH₃ as the bond CO.

Key words : Spectroscopy, FTIR, ethanol.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Fréquences caractéristiques des groupes	20
Tableau 02	Quelques pics d'absorption attribués aux vibrations des protéines	51
Tableau 03	Quelques pics d'absorption attribués à l'ADN	51
Tableau 04	Quelques pics d'absorption attribués aux polysaccharides	51
Tableau 05	Quelques pics d'absorption attribués aux phospholipides	52
Tableau 06	Principales bandes d'absorption caractéristiques des biomolécules dans un échantillon biologique (ν : élongation, δ : déformation)	52
Tableau 07	Table des noms usuels pour les différentes régions du spectre d'un échantillon biologique	53
Tableau 08	Attribution des principales bandes IRTF des échantillons cellulaires et tissulaires	53

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	les types de spectres	02
Figure 02	Le spectre électromagnétique	03
Figure 03	L'amplitude du vecteur électrique du rayonnement électromagnétique en fonction du temps. La longueur d'onde est la distance entre deux crêtes.	05
Figure 04	Absorption des rayonnements électromagnétiques	05
Figure 05	Domaines de l'IR dans le spectre électromagnétique	10
Figure 06	Exemples de vibrations fondamentales des groupements fonctionnels et leurs gammes de fréquence	12
Figure 07	Le diagramme de Jablonski	13
Figure 08	Modèle simple d'une molécule diatomique hétéronucléaire : les deux masses m_1 et m_2 sont liées par un ressort caractérisé par la constante de force k	16
Figure 09	Niveaux énergétiques d'une molécule diatomique	18
Figure 10	Exemple de vibrations atomiques : la chaîne hydrocarbonée	20
Figure 11	Fréquence des groupes caractéristiques	21
Figure 12	Schéma de principe d'un spectromètre infra rouge à transformée de Fourier	26
Figure 13	L'interféromètre de Michelson	28
Figure 14	Deux signaux spectraux espacés de d (gauche) et leur interférogramme (droite)	29
Figure 15	Génération du spectre IRTF. Interférogramme de référence (A); interférogramme échantillon (B) ; spectre simple faisceau de référence (C); spectre simple faisceau échantillon (D); spectre en absorbance (E)).	31
Figure 16	Principe de la transmission.	33
Figure 17	Spectre IRTF représentatif d'une protéine (Albumine) (64 accumulations à la résolution de 4 cm^{-1} , facteur de zerofilling de 2).	35
Figure 18	Exemple de spectre IRTF d'un microorganisme avec la position des pics d'absorption	38
Figure 19	Présentation générale de FTIR-600 FTIR spectromètre	41
Figure 20	Appareil de FTIR-600	43
Figure 21	Spectre d'absorbance de l'éthanol	44
Figure 22	Spectre de la transmittance de l'éthanol	44

Liste des équations

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Eq 01	Expression de la longueur d'onde	4-22
Eq 02	Energie du photon	4
Eq 03	Equation de la Variation d'énergie	5
Eq 04	Equation de l'Energie totale	5-17
Eq 05	Moment dipolaire	11
Eq 06	Loi de béer-Lambert	14
Eq 07	Intensité résultante	15
Eq 08	Expression de la Transmittance	15
Eq 09	Expression de L'absorbance	15
Eq 10	Energie absorbée	17
Eq 11	Fréquence de la bande de combinaison	19
Eq 12	Energie du photon	22
Eq 13	Transmittance et absorbance	33

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARN	Acide Ribo-Nucléique.
ATR	attenuated total réflexion.
BaF ₂	le fluorure de baryum.
CaF ₂	le fluorure de calcium.
DTGS	Deuterated Tri-glycine Sulfate.
EMR	rayonnement électromagnétique.
FTIR	Fourier Transforme infrarouge.
Ge	le germanium.
IR	infrarouge.
KBr	bromure de potassium.
MCT	Mercure Cadmium Tellure.
MI	Interféromètre de Michelson.
MIR	Moyen infrarouge
SiC	carbure de silicium.
TF	transformée de Fourier.
UV-Vis	Ultra-violet-visible
ZnSe	le séléniure de zinc.
ZZF	Zero filling factor.

TABLE DE MATIERES

<i>Dédicace</i>	
<i>Remerciement</i>	
<i>Resume</i>	
<i>Liste des tableaux</i>	
<i>Liste des figures</i>	
<i>Liste des équations</i>	
<i>Liste des abréviations</i>	
<i>Introduction</i>	1
<i>PARTIE THEORIQUE</i>	
<i>Chapitre I : Spectroscopie</i>	
<i>I- Spectroscopie</i> :.....	2
<i>I-1 Spectre électromagnétique</i> :.....	3
<i>I-2 Rayonnement électromagnétique</i> :.....	4
<i>I-3- Domaines d'application de la spectroscopie</i> :.....	6
<i>Chapitre II: Infrarouge</i>	
<i>II- Infrarouge</i> :.....	7
<i>II -1 Spectroscopie infrarouge</i> :.....	7
<i>II-1-1 Origine de l'absorption lumineuse dans l'infrarouge</i> :.....	9
<i>II -2 Rayonnement infrarouge</i> :.....	10
<i>II -3 Interaction rayonnement-matière</i> :.....	11
<i>II -4 Principe de la spectroscopie infrarouge</i> :.....	12
<i>II -5 Loi de Béer-Lambert</i> :.....	14
<i>II -6 Théorie vibrationnelle</i> :.....	15
<i>II -6-1 Molécule diatomique</i> :.....	16
<i>II -6-2- Molécule polyatomiques</i> :.....	18
<i>II-7 Spectre infrarouge</i> :.....	21
<i>II -8 Applications de Spectroscopie infrarouge</i> :.....	22

Chapitre III: Spectroscopie Infrarouge

à Transformée de Fourier (IR-TF)

III- Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF) :.....	24
III -1 Spectromètre IRTF :.....	25
III -1-1 Description d'un spectromètre IRTF :.....	25
III -1-2 Fonctionnement du spectromètre IRTF :.....	26
III -2 Interférométrie (l'interféromètre de Michelson) :.....	27
III -3 Résolution spectrale :.....	29
III -4 Facteurs correctifs appliqués à l'interférogramme (opérations Pré-Fourier) :.....	30
III -4-1 Fonctions d'apodisation :.....	30
III -5 Génération du spectre IRTF :.....	30
III -5-1 Les avantages du spectromètre IRTF :.....	32
III -6 Méthodes de mesure en spectroscopie IRTF :.....	32
III -6-1 Transmission /absorption :.....	32
III -7- Analyse des données IR :.....	33
III -8 Applications de la spectroscopie IRTF :.....	34
III -8-1 Les biomolécules et l'attribution spectrale en spectroscopie infrarouge :....	34
III -8-1-1 Les protéines.....	35
III -8-1-2 Les acides nucléiques.....	36
III -8-1-3 Les polysaccharides.....	36
III -8-1-4 Les lipides.....	36
III -8-2 Les spectres d'origine biologique :.....	37
III -8-3 spectroscopie IRTF et ses applications dans les domaines de la biologie et du biomédical :.....	38
III -8-3-1 Biochimie clinique :.....	39

PARTIE PRATIQUE

Chapitre IV: Matériels et Méthodes

IV- 1 Matériels:.....	41
IV- 1 -1 Appareillage:.....	41

<i>IV- 1-2 Fiche technique:</i>	42
<i>IV- 2 Méthodes:</i>	43
<i>IV- 3 Analyses des résultants:</i>	43
<i>IV- 4 Conclusion:</i>	44
CONCLUSION	45
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	46
ANNEXE	51

I - Spectroscopie :

La spectroscopie est l'étude du spectre électromagnétique d'un phénomène, visuellement (d'où le suffixe -scopie). L'œil a été remplacé par différents types de détecteurs photoélectriques, moins subjectifs et il convient alors de parler de spectrométrie (le suffixe -métrie indiquant que l'on effectue une mesure et non une simple appréciation du phénomène). Il conviendrait donc de remplacer le terme « spectroscopie », par le terme plus exact de « spectrométrie » toutefois, et par habitude on se retrouve de faire l'amalgame entre les deux termes.

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

Les spectres continus, pour lesquels il existe un « signal » pour chaque longueur d'onde (ou fréquence) Figure 1-a.

Les spectres discontinus, ou spectres de raies, ou encore spectres discrets, qui ne disposent d'un signal que pour certaines fréquences (longueurs d'onde) spécifiques, caractéristiques de la matière irradiante ou irradiée figure 1-b.

Les spectres combinés qui sont constitués d'une superposition d'un spectre continu et d'un spectre discret. Figure 1-c (Gillet, 2007).

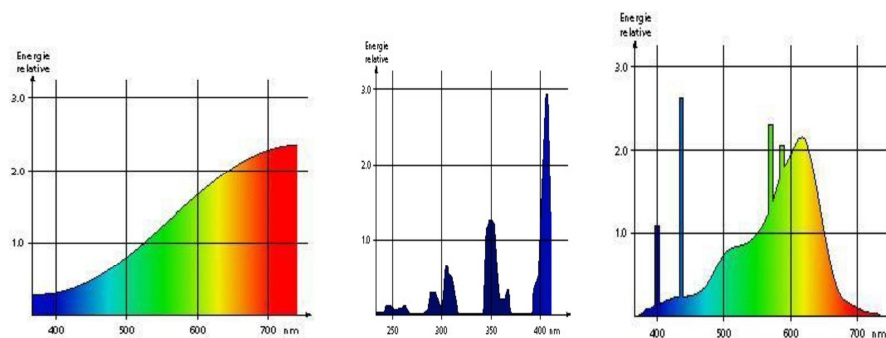


Figure1 : les types de spectres.

Le spectre du rayonnement émis par une substance qui a absorbé l'énergie s'appelle un spectre d'émission et de la science est justement nommée spectroscopie d'émission (Thompson, Staley ,2009).

La spectroscopie est l'étude du rayonnement électromagnétique émis, absorbé ou diffusé par les atomes ou les molécules. Elle fournit des informations sur l'identité, la structure et les niveaux énergétiques des atomes et des molécules grâce à l'analyse de l'interaction des rayonnements électromagnétiques avec la matière (Zaydoun, 2012).

La spectroscopie a joué un rôle essentiel dans le développement de la théorie atomique moderne. Les méthodes spectroscopiques ont fourni les outils qui sont les plus utilisés pour l'élucidation de la structure d'espèces moléculaires ainsi que pour l'analyse qualitative et quantitative de composé inorganiques et organiques. La spectroscopie est basée sur l'interaction rayonnement-matière (Essendoubi, 2007).

I-1 Spectre électromagnétique :

Le spectre électromagnétique est généralement divisé en plusieurs régions : les rayons gamma, les rayons X ; l'ultraviolet, le visible, l'infrarouge, les micro-ondes et les ondes radios fréquences. (Fatela, 2012); La figure2 représente le spectre électromagnétique qui s'étend des ondes radio aux rayons cosmiques (Essendoubi, 2007).

Les rayons gamma et les rayons x sont des radiations électromagnétiques types avec la longueur d'onde plus courte, des fréquences plus élevées et, par conséquent, de plus haute énergie. À l'autre extrémité du spectre sont les ondes de basse énergie. Dans l'ordre croissant d'énergie, citons les ondes radio, ondes de télévision, micro-ondes et les ondes radar, nous savons que la lumière est au milieu du spectre. La lampe de luminothérapie le plus bas est infrarouge, suivie de visible et ultraviolette. L'œil humain est capable de distinguer les ondes électromagnétiques d'énergie différente dans le domaine du visible entre environ 400 et 700 nm de longueur d'onde (Malainey, 2011).

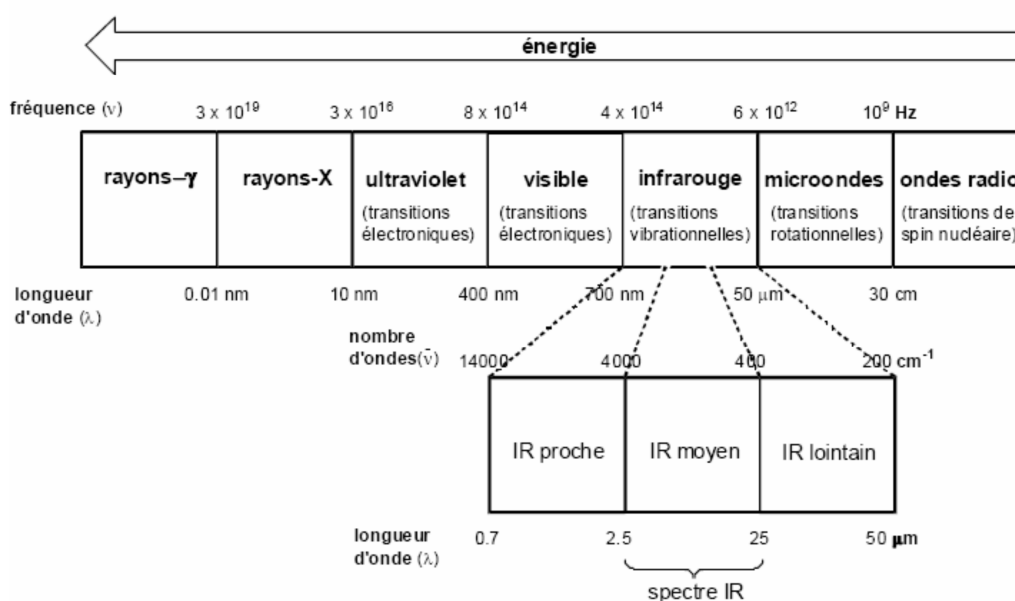


Figure 2 : Le spectre électromagnétique.

I-2 Rayonnement électromagnétique :

Les types de rayonnement sont généralement regroupés par types des effets physiques et chimiques, qu'ils peuvent produire sur la question. Par exemple, dans un champ magnétique, exposition à des rayonnements de faible énergie radio fréquence réoriente seulement les noyaux, tandis qu'exposition au légèrement plus élevé d'énergie région micro-ondes modifie les états de spin des électrons des molécules avec les électrons non appariés. Rayonnement micro-ondes peut aussi changer l'énergie de rotation des molécules ; cet effet est utilisé pour chauffer les aliments rapidement dans un four à micro-ondes. Dans les régions centrales du spectre électromagnétique, absorption des rayonnements IR provoque des changements dans l'énergie de vibration des molécules. Visible(Vis) et ultraviolets (UV) modifient les énergies de l'électron de vaguement tenue des électrons extérieurs des atomes et des molécules. Le rayons X d'énergies plus élevées peuvent provoquer des transitions d'électrons entre les niveaux de l'électronique interne et rayons gamma produit des changements au sein des noyaux atomiques. Comme tous les composés absorber rayonnement dans plusieurs régions du spectre, les informations sur moléculaire l'activité de chaque région fournit des données complémentaires pour la matérielle caractérisation (Derrick et Stulik et Landry1999).

Toute la lumière (y compris les infrarouges) est classée comme un rayonnement électromagnétique et se compose d'une alternance de champs électriques et magnétiques et est décrit classiquement par un continu sinusoïdale vague comme mouvement de champs électriques et magnétiques. En général, pour la spectroscopie infrarouge Nous ne considérons le champ électrique et négliger la composante du champ magnétique. La Figure3 représente l'amplitude du champ électrique de la lumière en fonction du temps.

Les paramètres importants sont la longueur d'onde (λ , longueur d'onde de λ), c est la vitesse de la lumière fréquence (ν numéro cycles par unité de temps) et les nombres d'ondes (n , le nombre de vagues par unité de longueur) et sont associés uns aux autres par l'expression suivante :

$$\bar{\nu} = \frac{\nu}{c/n} = \frac{1}{\lambda} \quad (\text{Eq 01})$$

Dans la théorie quantique, le rayonnement est émis par une source en unités discrètes appelées photons l'énergie du photon, E_p est donnée par l'expression suivante :

$$E_p = h\nu \quad (\text{Eq 02})$$

Où h est la constante de Planck (6.6256×10^{-27} erg sec). Photons d'énergie spécifique peuvent être absorbé (ou émis) par une molécule résultant en un transfert d'énergie. En spectroscopie d'absorption cela se traduira en soulevant l'énergie de la molécule du sol vers un état excité spécifique comme montré dans Figure 4.

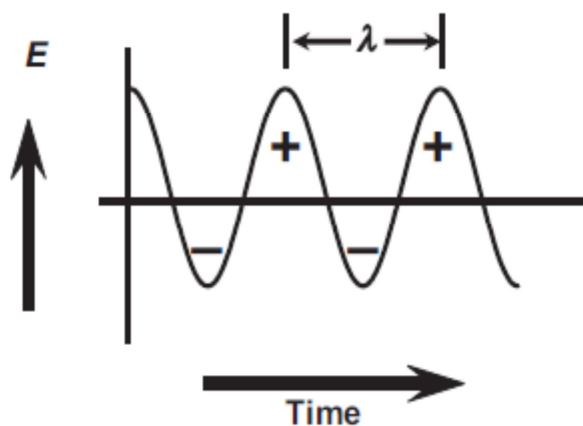


Figure 3 :L'amplitude du vecteur électrique du rayonnement électromagnétique en fonction du temps. La longueur d'onde est la distance entre deux crêtes.

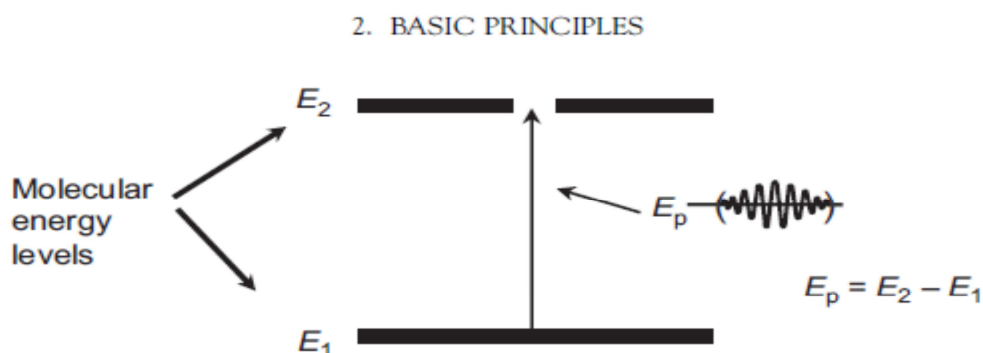


Figure 4 : Absorption des rayonnements électromagnétiques.

En général la rotation (E_{rot}), vibration (E_{vib}), ou électroniques (E_{el}) énergie de la molécule est changé par ΔE :

$$\Delta E = E_p = h\nu = hc\bar{\nu} \quad (\text{Eq 03})$$

Dans l'absorption d'un photon, l'énergie de la molécule augmente et ΔE est positif. Les énergies de l'électroniques, vibrationnelles et rotationnelles sont additives: (Larkin, 2011)

$$E_T = E_{El} + E_{VIB} + E_{rot} \quad (\text{Eq 04})$$

Le rayonnement électromagnétique est représenté par un champ électrique et un champ magnétique qui oscillent perpendiculairement l'un à l'autre et à la direction de la propagation.

I-3- Domaines d'application de la spectroscopie :

La spectroscopie permet d'expliquer un grand nombre de phénomènes qui nous entourent en permanence : la couleur de nos habits, la couleur du ciel....

Dans les laboratoires, elle permet :

- l'identification des molécules.
- la détermination des structures.
- l'étude des cinétiques de réaction.
- la détermination des mécanismes réactionnels.
- les dosages.
- les analyses médicales (IRM, scintigraphie, mammographie...).

Elle connaît aussi des applications importantes en astrochimie (Zaydoun, 2012).

INTROUDCTION

Introduction :

L'analyse spectrale par spectroscopie infrarouge (IR) est parmi l'une des méthodes la plus utilisée par les chimistes pour l'analyse structurale, elle permet de connaître les groupes fonctionnels présents dans les molécules (Gennet, 2004) au biais d'appareil de spectroscopie infrarouge en particulier ceux à transformée de Fourier (IRTF) basée sur l'absorption du rayonnement infrarouge par le matériau analysé.

Le présent travail a pour objectif la mise en marche par l'essai d'une analyse spectrale par IFTR d'un échantillon d'éthanol liquide en mettant en évidence les groupements fonctionnels dans la molécule étudiée par le rayonnement infrarouge.

Pour cela, notre manuscrit est présenté en deux parties, la première est une partie théorique comprenant une analyse bibliographique sur les méthodes spectrales et divisée en trois chapitres, la seconde est une partie pratique dans laquelle on s'est intéressé à la vérification et l'essai de l'appareil par l'analyse d'un échantillon d'éthanol et l'identification des différents groupements par analyse du spectre obtenu. Nous avons terminé enfin par une conclusion et des recommandations jugées utiles à valoriser notre travail.

II- Infrarouge :

II -1 Spectroscopie infrarouge :

La lumière infrarouge se réfère au rayonnement électromagnétique avec nombre d'onde allant de $13000 - 10 \text{ cm}^{-1}$ (longueur d'onde correspondante de $0,78 - 1000 \text{ }\mu\text{m}$). La Région de l'infrarouge est divisée en trois sous-régions : proche infrarouge ($13000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ou $0,78 - 2,5 \text{ }\mu\text{m}$), l'infrarouge moyen ($4000-400 \text{ cm}^{-1}$ ou $2,5 \text{ à } 25 \text{ }\mu\text{m}$) et lointain ($400 - 10 \text{ cm}^{-1}$ ou $25 - 1000 \text{ }\mu\text{m}$) (Davis, 2014).

Les Spectroscopies fournissent des vibrations fondamentales caractéristiques qui sont employées pour l'élucidation de structure moléculaire. Spectroscopie proche infrarouge les larges bandes harmoniques et la combinaison de certains des vibrations fondamentales de hauteur (seulement les modes de fréquence plus élevées) et est une excellente technique pour le dosage rapide et précis.

Les trois techniques ont divers avantages et inconvénients pour ce qui est Instrumentation, manipulation des échantillons et des applications.

La Spectroscopie vibrationnelle est utilisée pour étudier un très large éventail de types d'échantillons et peut être effectuée entre un test d'identification simple et un spectre approfondi, complet, qualitatif et analyse quantitative. Les échantillons peuvent être examinées soit en vrac ou en quantités microscopiques sur une large plage de températures et les États physiques (p. ex., gaz, liquides, latex, poudres, films, fibres, ou comme une surface ou couche incorporé). La Spectroscopie vibrationnelle a une très large gamme d'applications et fournit des solutions à une foule d'important et stimulant analytique (Larkin, 2011).

La Spectroscopie infrarouge est utilisée par les chimistes pour déterminer les groupes fonctionnels dans les molécules Généralement, des liaisons plus fortes et les atomes légers vibreront à un étirement de haute fréquence (nombre d'onde). Cette technique analytique tire parti des transitions vibrationnelles d'une molécule, est de grande importance pour les chercheurs scientifiques dans de nombreux domaines comme la caractérisation des protéines, analyse de semi-conducteurs nanométriques et l'exploration spatiale.

Le plus couramment utilisé est la région de l'infrarouge moyenne, depuis molécules peuvent absorber des radiations dans cette région pour induire l'excitation vibrationnelle des groupes

fonctionnels. Récemment, les applications de spectroscopie infrarouge proche ont également été développées.

En passant d'une lumière infrarouge à travers un échantillon et en mesurant l'absorption ou la transmittance de la lumière à chaque fréquence, un spectre infrarouge est obtenu, avec des pics correspondant à la fréquence du rayonnement absorbé. Étant donné que tous les groupes ont leur caractéristique les fréquences de vibration, informations au sujet de la structure moléculaire peuvent être obtenues du spectre. La spectroscopie infrarouge est capable d'analyser les échantillons dans presque n'importe quelle phase (liquide, solide, ou gaz) et peut être utilisé seul le ou en combinaison avec d'autres instruments suite à des procédures d'échantillonnage différent. En plus des modes de vibration fondamentales, d'autres facteurs comme harmonique combinaison et bandes, la résonance de Fermi, bandes de couplage et de vibration-rotation apparaissent également dans le spectre. En raison de haut contenu de l'information de son spectre, spectroscopie infrarouge a été un outil très utile et commun pour l'élucidation de la structure et identification de la substance (Davis, 2014).

La Spectroscopie infrarouge est certainement une des plus importantes techniques analytiques disponibles aux scientifiques d'aujourd'hui. Un des grands avantages de la spectroscopie infrarouge est que pratiquement n'importe quel échantillon dans pratiquement n'importe quel État peut être étudié. Liquides, solutions, pâtes, poudres, films, fibres, gaz et les surfaces peuvent être examinés avec un choix judicieux de la technique de l'échantillonnage. (Stuart ,2004)

La spectroscopie infrarouge est la plus courante méthode spectroscopique. Il y a un certain nombre de raisons pour son grand succès et de la diffusion. La méthode est rapide, sensible et facile à manipuler et offre plusieurs différentes techniques d'échantillonnage pour gaz, liquides et solides. Aspects importants sont la pratique évaluation qualitative et quantitative des spectres (Gauglitzet et Vo-Dinh ,2003).

Spectroscopie infrarouge est basée sur les vibrations des atomes d'une molécule. Un spectre infrarouge est généralement obtenu en faisant passer une radiation infrarouge à travers un échantillon et en déterminant quelle fraction du rayonnement incident est absorbée à une énergie particulière. L'énergie au cours de laquelle s'affiche un pic dans un spectre d'absorption correspond à la fréquence d'une vibration d'une partie d'une molécule de l'échantillon (Stuart ,2004).

Les mouvements des atomes d'une molécule peuvent être classes en trois catégories:

- les translations.
- les rotations.
- les vibrations.

La gamme de nombres d'onde généralement utilisée est 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} (soit des longueurs d'onde de $2,5\text{ }\mu\text{m}$ à $25\text{ }\mu\text{m}$).

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 (El Hajji et Zaydoun, 2009).

Quand une molécule absorbe le rayonnement infrarouge, une obligation ou un groupe de liaisons commence à vibrer avec une plus grande énergie. Un seul type de vibration est le suppléant qui s'étend et les contrats d'une liaison entre deux atomes. Un autre est le remplaçant et restrictives d'un angle de liaison entre les trois atomes, analogues aux ciseaux d'ouverture et de fermeture. La quantité d'énergie impliquée dans ces changements est liée aux masses des atomes impliqués et de la force des liaisons entre eux. Par conséquent, les absorptions infrarouges d'une substance révèlent beaucoup de choses sur la liaison entre les atomes dans les molécules (Shakhashiri Fall ,2009).

II-1-1 Origine de l'absorption lumineuse dans l'infrarouge :

Dans le proche et le moyen infrarouge, l'absorption de la lumière par la matière a pour origine l'interaction entre les radiations de la source lumineuse et les liaisons chimiques. Plus précisément, on sait que les atomes situés aux deux extrémités d'une liaison sont animés d'un mouvement de vibration l'un par rapport à l'autre et que s'ils sont différents, ils forment un dipôle électrique oscillant à cette même fréquence. Si on irradie une telle liaison non symétrique par une source lumineuse monochromatique dont la fréquence est la même que la fréquence de vibration, il va naître une interaction avec le dipôle électrique de la liaison. Autrement dit la composante électrique de l'onde pourra transmettre son énergie à la liaison à condition qu'il y ait accord entre sa fréquence mécanique de vibration et la fréquence électromagnétique de la radiation. Cette approche simplifiée explique qu'en l'absence de dipôle permanent, ce qui est le cas des molécules telles O_2 , N_2 , Cl_2 , aux liaisons non polaires, il n'y ait pas couplage avec l'onde électromagnétique et qu'aucune absorption d'énergie ne se produise. Ces liaisons sont dites « transparentes » dans le moyen infrarouge (Rouessac. F et Rouessac. A ,2004).

Dans les termes les plus élémentaires, le spectre infrarouge est formé par suite de l'absorption des rayonnements électromagnétiques à des fréquences qui sont corrélés à la vibration des ensembles spécifiques de liaisons chimiques de dans une molécule.

L'énergie totale de la molécule correspondant ainsi au total des énergies électronique, vibrationnelle, rotation est translation.

L'énergie de translation se rapporte au déplacement de molécules dans l'espace en fonction de la puissance thermique normale mouvements de la matière. Énergie de rotation, qui donne lieu à sa propre forme de spectroscopie, on observe que le mouvement de culbutage d'une molécule, qui est le résultat de l'absorption d'énergie au sein de la région des micro-ondes. Le composant de l'énergie de vibration est un terme d'énergie plus élevé et correspond à l'absorption d'énergie par une molécule, comme les atomes composant vibrent sur le centre de moyenne de leurs liaisons chimiques. Le composant électronique est lié à l'énergie des transitions d'électrons comme ils sont distribués tout au long de la molécule, localisée à l'intérieur des obligations spécifiques, soit délocalisées sur les structures, comme un noyau aromatique (Coates, 2000).

II -2 rayonnement infrarouge :

Les rayonnements infrarouges se situent dans la partie du spectre électromagnétique comprennent entre la région visible et celle des micro-ondes. Bien que les régions du proche infrarouge (14290-4000 cm^{-1}) et de quelques lointains (700 – 200 cm^{-1}) suscitent des Nations Unies certain intérêt, une région limitée entre 4000 et 400 cm^{-1} est plus utile d'un point de vue pratique pour le chimiste organicien. Cela fait de la spectroscopie IR le moyen le plus simple, le plus rapide et souvent le plus fiable, pour ordonner une substance dans une classe de composés.

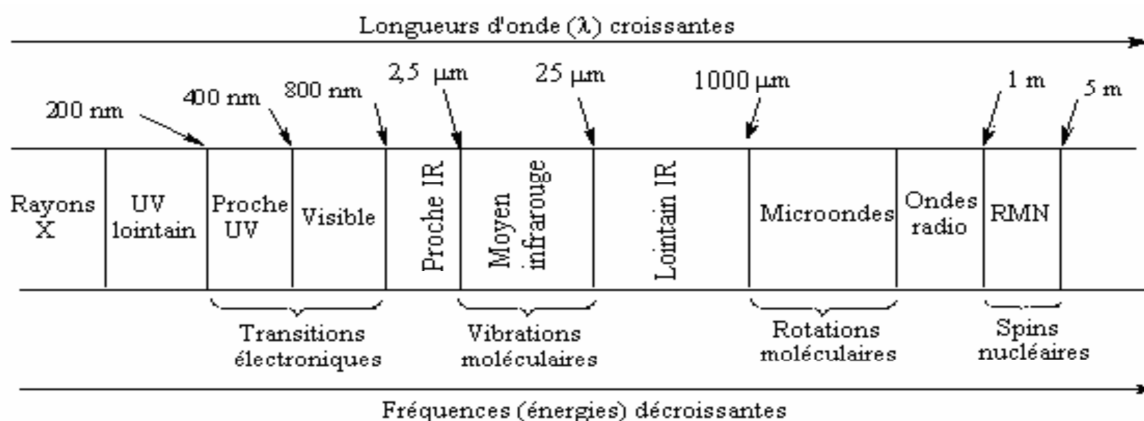


Figure 5 : Domaines de l'IR dans le spectre électromagnétique.

Infrarouge fait référence à cette partie du spectre électromagnétique entre le visible et régions de micro-onde. Spectre électromagnétique fait référence à la collection apparemment diverse d'énergie rayonnante, des rayons cosmiques aux rayons x en lumière visible aux micro-ondes, dont chacun peut être considéré comme une onde ou une particule se déplaçant à la vitesse de la lumière. Ces ondes se distinguent dans la durée et la fréquence (Students of organic chemistry, 2002).

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 (Essendoubi, 2007).

II -3 Interaction rayonnement-matière :

L'interaction entre une molécule et un rayonnement infrarouge (IR) peut avoir lieu seulement dans le cas où la molécule forme un dipôle, c'est-à-dire la présence au niveau de la molécule des liaisons chimiques entre différents atomes de charges opposées. Dans ce cas on parle d'un dipôle permanent et d'une liaison chimique polaire. Le moment dipolaire μ est donné par la formule

$$\mu = q \cdot d \quad (\text{Eq 05})$$

Où q est la charge absolue portée par chacun des deux atomes et d la distance entre les atomes. Pour comprendre une grande partie des interactions entre le rayonnement infrarouge et la matière en général, prenons le cas du chlorure d'hydrogène (HCl), une molécule polaire, diatomique et hétéronucléaire. L'électronégativité de l'atome de chlore se traduit par un excès de charges négatives tandis que l'atome d'hydrogène présente un excès de charges positives.

Si cette molécule vibre, l'espacement des charges et leur répartition changent et elle peut réagir avec le champ électrique du rayonnement infrarouge. Pour certaines fréquences, un photon peut être absorbé et augmente ainsi l'énergie de vibration de la molécule. De ce fait, l'énergie du rayonnement IR diminue après l'interaction, ce qui conduit à l'apparition des bandes d'absorptions. On dit que la molécule est active lorsqu'il y a une variation de son moment dipolaire. Pour des molécules homonucléaires, comme l'azote ou l'hydrogène, les charges électriques sont parfaitement symétriques puisque les deux atomes sont identiques.

Les centres de gravité des charges positives et négatives sont confondus. Le moment dipolaire est égal à zéro et reste nul quand la molécule vibre. En conséquence, une telle molécule est inactive en infrarouge.

La majorité des vibrations fondamentales des molécules organiques se trouve dans le moyen IR et les deux principaux types de vibrations sont l'élongation (stretching) et la déformation (bending). Généralement, les élongations sont situées dans une gamme de nombres d'onde supérieure à celle des déformations. La figure 6 présente des exemples de vibrations fondamentales des groupements fonctionnels (Essendoubi, 2007).

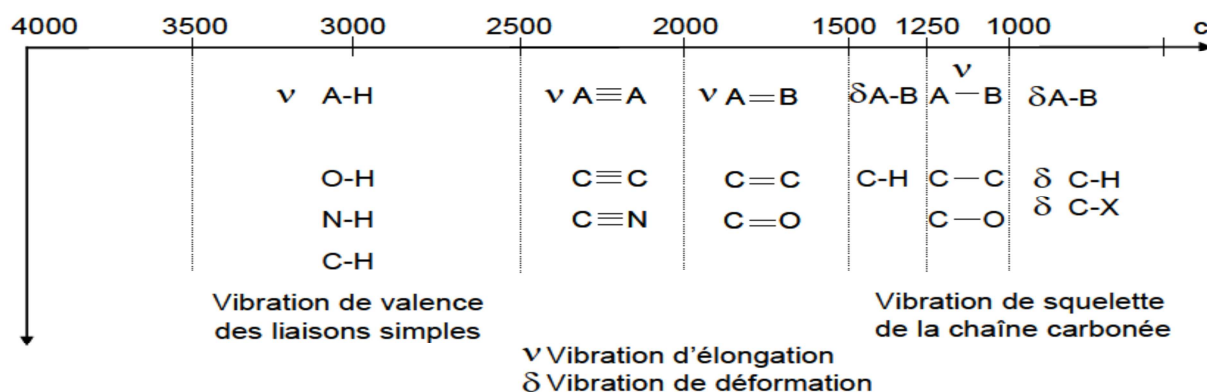


Figure 6 : Exemples de vibrations fondamentales des groupements fonctionnels et leurs gammes de fréquence.

Les interactions du rayonnement infrarouge avec la matière peuvent être comprises en termes de changements moléculaires dipôles associés aux vibrations et rotations. Dans l'ordre pour commencer avec un modèle de base, une molécule peut être considérée comme un système de masses accompagnées d'obligations ayant des propriétés printemps (Stuart, 2004).

II -4 Principe de la spectroscopie infrarouge :

La spectroscopie IR est basée sur l'interaction de la lumière IR avec le nuage électronique des liaisons chimiques. Généralement dans la majorité des spectroscopies optiques comme la spectroscopie de fluorescence, l'absorption d'énergie permet à un électron d'une liaison chimique de passer d'un état fondamental à un état excité. Dans le cas de la spectroscopie d'absorption IR, le rayonnement émis par la source polychromatique n'est généralement pas assez énergétique pour provoquer des transitions électroniques, mais il induit des transitions entre les niveaux d'énergie vibrationnelle. La transition vibrationnelle est également observée lors de la diffusion Raman qui est une spectroscopie de diffusion inélastique utilisant une radiation monochromatique (laser) pour exciter les électrons d'une liaison chimique. Lors de cette interaction il y a émission de radiations à des longueurs d'onde différentes de celle de la radiation incidente. Le concept des niveaux vibrationnels et des niveaux d'énergie concernant les différentes spectroscopies optiques est schématisé par le diagramme de Jablonski (Figure 7) (Essendoubi, 2007).

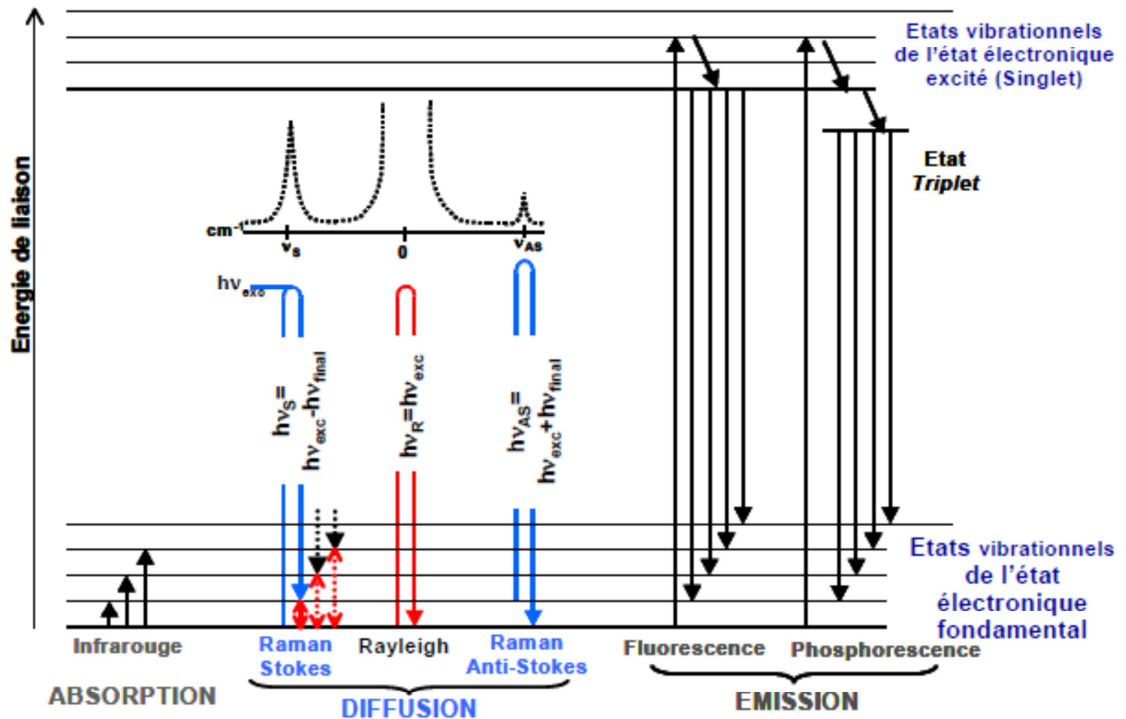


Figure 7 : Le diagramme de Jablonski.

Les principes à la base de la spectroscopie IR sont très proches de ceux qui régissent la spectroscopie UV-visible. La différence provient des niveaux d'énergies sollicités par cette technique : il s'agit des énergies de vibration moléculaire.

Lors du changement de niveau vibrationnel, une onde électromagnétique ne peut être absorbée (ou émise) que si on a simultanément une variation du moment dipolaire (Zaydoun, 2007).

L'infrarouge analytique regroupe plusieurs méthodes d'identification et de dosages non destructifs basés sur l'absorption, ou la réflexion, par l'échantillon, des radiations électromagnétiques comprises entre 1 et 50 μm . Cette bande spectrale est divisée en proche infrarouge (de 1 à 2,5 μm) et en moyen infrarouge (2,5-50 μm). Bien que le domaine du proche infrarouge soit pauvre en absorptions spécifiques, il a pris une grande importance dans les laboratoires de contrôle comme moyen d'analyse quantitative. Le moyen infrarouge est, par contre, plus riche en informations sur les structures des composés examinés. De ce fait, il est utilisé pour l'identification des molécules organiques dont il permet de garder une sorte d'empreinte digitale.

Dans le proche et le moyen infrarouge, l'absorption de la lumière par la matière a pour origine l'interaction entre les radiations de la source lumineuse et les liaisons chimiques. Plus précisément, on sait que les atomes situés aux deux extrémités d'une liaison sont animés d'un mouvement de vibration l'un par rapport à l'autre et que s'ils sont différents, ils forment un dipôle

électrique oscillant à cette même fréquence. Si on irradie une telle liaison non symétrique par une source lumineuse monochromatique dont la fréquence est la même que la fréquence de vibration, il va naître une interaction avec le dipôle électrique de la liaison. Autrement dit la composante électrique de l'onde pourra transmettre son énergie à la liaison à condition qu'il y ait accord entre sa fréquence mécanique de vibration et la fréquence électromagnétique de la radiation. Cette approche simplifiée explique qu'en l'absence de dipôle permanent, ce qui est le cas des molécules telles O_2 , N_2 , Cl_2 , aux liaisons non polaires, il n'y ait pas couplage avec l'onde électromagnétique et qu'aucune absorption d'énergie ne se produise. Ces liaisons sont dites « transparentes » dans le moyen infrarouge (Véronique, 2010).

Les principes à la base de la spectroscopie IR sont très proches de ceux qui régissent la spectroscopie UV-visible. La différence provient des niveaux d'énergies sollicités par cette technique : il s'agit des énergies de vibration moléculaire.

Lors du changement de niveau vibrationnel, une onde électromagnétique ne peut être absorbée (ou émise) que si on a simultanément une variation du moment dipolaire (Zaydoun, 2012).

II -5 Loi de B er-Lambert :

La relation théorique entre la quantité de lumière d'un faisceau monochromatique qui passe à travers un milieu absorbant et la quantité d'absorbant présent est donnée par la Loi de –Bouguer de Lambert-b er souvent appelée simplement la Loi de b er (Maas ,1972).

L'analyse quantitative par spectrométrie d'absorption dans le domaine de l'infrarouge comme dans ceux de l'ultraviolet et du visible repose sur la loi de B er-Lambert. Cette loi exprime la relation de proportionnalité existant entre l'absorbance **A** et les trois paramètres qui sont l'absorptivité (ϵ) de l'analyse absorbant la lumière, l'épaisseur de la cellule de mesure(**I**) et la concentration (**c**) de l'analyse.

$$A = \epsilon l c \quad (\text{Eq 06})$$

Lorsqu'une radiation monochromatique traverse un milieu, une partie de son énergie peut être absorbée. La loi de B er-Lambert donne l'intensité résultante **I** en fonction de l'intensité initiale **I**₀, de la concentration **c** du milieu en substance absorbante, de la longueur **l** du trajet optique dans le milieu absorbant et du coefficient d'extinction moléculaire ϵ dépendant de la substance absorbante et de la longueur d'onde.

$$I = I_0 \cdot e^{-\epsilon c l} \quad (\text{Eq 07})$$

De cette relation on déduit la transmittance :

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (\text{Eq 08})$$

Et l'absorbance :

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} = \epsilon c l \quad (\text{Eq 09})$$

La proportionnalité entre l'absorbance et la concentration permet d'utiliser la spectroscopie d'absorption IR comme méthode de dosage et d'analyse quantitative, du moins dans la limite de linéarité de la loi de B er-Lambert (pour des absorbances comprises entre 0,3 et 2) (Essendoubi, 2007).

II -6 Théorie vibrationnelle :

La nature des groupes chimiques impliqués conditionne la fréquence de vibration de chaque ressort. Une molécule peut absorber l'énergie d'un rayon lumineux incident uniquement si la fréquence de la lumière est identique à la fréquence de la liaison. La spectroscopie IR et Raman sont les mieux adaptées pour enregistrer les spectres de vibration moléculaire. Et selon la symétrie de la molécule, une mode vibration interne peut être active ou inactive. Pour une molécule donnée, les spectres IR et Raman sont différents et peuvent contenir certaines bandes (vibration caractéristiques) typiques à certains groupes d'atomes caractérisés par une fréquence de vibration bien précis (Herschel, 2010 ; Berzekh, 2008).

L'absorption de l'infrarouge (IR) provoque l'excitation des vibrations des atomes d'une molécule ou le réseau cristallin et provoque des bandes dans les spectres.

Le spectre IR d'un échantillon est constitué d'une série de pics vibrationnels. Le nombre de modes de vibration d'une molécule dépend du nombre d'atomes qui la constituent.

La manière la plus simple de présenter la théorie vibrationnelle est de commencer par le modèle le plus élémentaire qui consiste en une molécule diatomique en vibration et ensuite de considérer le modèle polyatomique (Essendoubi, 2007).

II -6-1 Molécule diatomique :

Ces molécules ont trois degrés de liberté de translation et de deux degrés de liberté de rotation. Les atomes dans les molécules peuvent également se déplacer par rapport à une autre, autrement dit, les longueurs des liaisons peuvent varier ou un atome peut se déplacer hors de son plan actuel. Il s'agit d'une description d'étirements et de mouvements qui sont collectivement dénommés vibrations de flexion. Pour une molécule diatomique, seule la vibration qui correspond à l'étirement et à la compression de la liaison est possible. Ce qui représente un degré de liberté de vibration (Stuart, 2004).

La spectroscopie est l'étude de l'interaction de la lumière avec la matière. La région proche infrarouge correspond à une partie de la spectroscopie vibrationnelle. Une molécule peut être modélisée de façon simplifiée par un ensemble d'atomes reliés entre eux par des ressorts. Les liaisons sont le résultat d'un équilibre de forces de répulsions et d'attractions :

- répulsion entre les noyaux chargés positivement.
- répulsion entre les nuages d'électrons chargés négativement.
- attraction entre le noyau d'un atome et les électrons d'un autre atome et vice-versa Intermoléculaire. Ce phénomène peut être expliqué par deux modèles : l'oscillateur harmonique et l'oscillateur anharmonique.

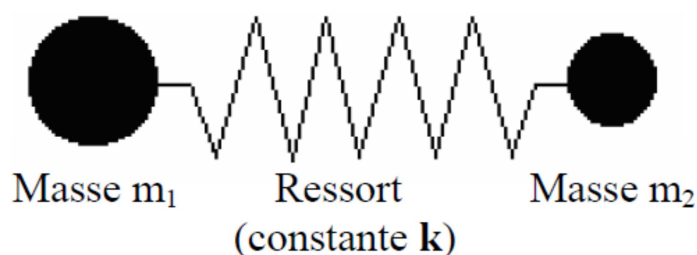


Figure8: Modèle simple d'une molécule diatomique hétéronucléaire : les deux masses m_1 et m_2 sont liées par un ressort caractérisé par la constante de force k .

Le modèle harmonique est très simple et son application est limitée aux très faibles déplacements des atomes. De plus, dans ce modèle il est admis que les liaisons sont parfaitement élastiques. Or ces liaisons peuvent se briser quand l'amplitude des vibrations devient importante. La forme d'énergie E est donc plus compliquée que la relation donnée par l'équation (Essendoubi, 2007).

Les liaisons internes des molécules permettent aux atomes de vibrer autour d'une position moyenne. La spectroscopie infrarouge est basée sur l'association d'une fréquence de vibration à un groupe moléculaire particulier (mode de vibration, voire de rotation). La technique consiste à envoyer un faisceau de radiations infrarouges sur le matériau à analyser et enregistrer l'énergie infrarouge transmise en fonction de la fréquence de radiation incidente.

L'étude infrarouge donne des informations sur la géométrie moléculaire, sur les forces de liaisons et sur les distances intermoléculaires. L'énergie totale (E_{totale}) d'une molécule est la somme de son énergie de translation (T), de rotation (E_r), de vibration (E_v) et des mouvements des électrons dans la molécule (E_e) :

$$E_{\text{totale}} = T + E_r + E_v + E_e \quad (\text{Eq 04})$$

L'énergie du mouvement de translation ne peut être quantifiée en raison de son caractère continu à la différence des autres formes d'énergie. Ainsi, la molécule ne peut présenter que certains états vibrationnels, rotationnels ou électroniques. La molécule peut transiter d'un état énergétique E_1 à un état énergétique E_2 supérieur, par l'absorption d'un quantum de lumière (photon) dont l'énergie est égale à la différence d'énergie entre ces deux états (Figure 9). L'énergie absorbée s'écrit selon la relation :

$$\Delta E = E_1 - E_2 \quad (\text{Eq 10})$$

Deux cas de figure peuvent se produire :

- soit la molécule vibre avec une fréquence différente des photons du faisceau incident et dans ce cas, les radiations passent sans interaction,
- soit le faisceau contient des photons dont la fréquence coïncide avec l'une des, fréquences fondamentales de vibration de la molécule. Dans ce cas, l'énergie du photon permet de passer de l'état fondamental à l'état excité. Cette condition est nécessaire mais non suffisante pour qu'une transition soit détectée par spectroscopie infrarouge. Il faut de plus que la transition s'accompagne d'une variation du moment dipolaire.

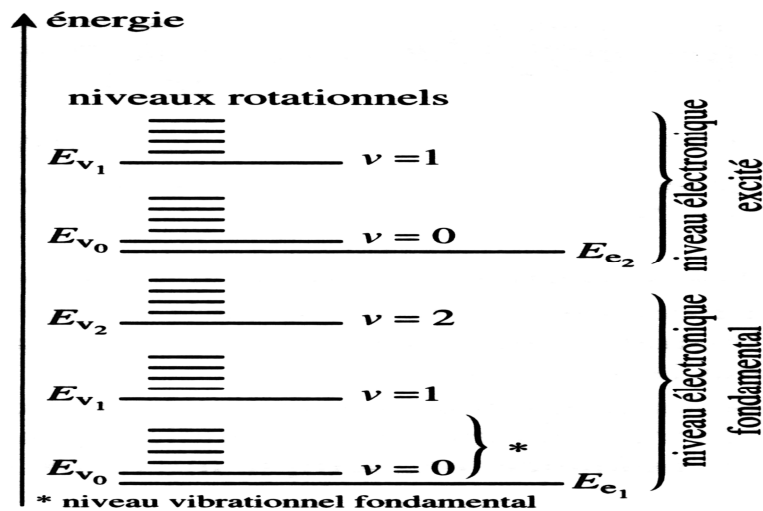


Figure 9: Niveaux énergétiques d'une molécule diatomique.

Les longueurs d'onde caractéristiques des transitions de vibration appartiennent aux domaines de l'infrarouge proche et moyen alors que celles caractéristiques des transitions de rotation sont localisées dans l'infrarouge lointain. En revanche, les transitions électroniques mettent en jeu des énergies très élevées qui induisent des rayonnements dans les domaines du visible et de l'ultraviolet (Ballandras, 2011).

Les molécules diatomiques, ces molécules ont trois degrés de liberté de translation et deux degrés de liberté de rotation. Les atomes dans les molécules peuvent se déplacer aussi par rapport à une autre, autrement dit, les longueurs des liaisons peuvent varier ou un atome peut sortir de son plan actuel. Il s'agit d'une description d'étirements et de mouvements de flexion qui sont collectivement appelés vibrations. Pour une molécule diatomique, seulement une vibration qui correspond à l'étirement et à la compression de la liaison est possible. Ce qui représente un degré de liberté de vibration (Stuart, 2004).

II -6-2- Molécule polyatomiques :

Une molécule polyatomique contenant de nombreux (N) atomes aura $3N$ degrés de liberté. Recherchant d'abord le cas des molécules contenant trois atomes, deux groupes de molécules triatomiques peuvent être distingués, c'est-à-dire linéaire et non linéaire. (Stuart, 2004)

Dans le cas de molécules polyatomiques, le nombre de liaisons augmente et la géométrie des liaisons se complexifie. D'après la théorie vibrationnelle, une molécule contenant N atomes a $3N-6$ degrés de liberté de vibration et $3N-5$ pour les molécules linéaires.

Cependant, toutes les liaisons interatomiques ne sont pas capables d'absorber de l'énergie lumineuse infrarouge, même dans le cas où la fréquence de la lumière est la même que la fréquence propre de la liaison. Seules les liaisons qui présentent un moment électrique dipolaire oscillant sont actives dans l'infrarouge. La figure 11 montre des exemples de quelques modes vibratoires typiques. A chaque mode correspond une fréquence propre fondamentale et plusieurs autres fréquences associées aux harmoniques. De plus, on observe souvent des interactions entre les modes d'une liaison particulière et ceux d'autres liaisons. Ces interactions se traduisent par l'apparition de bandes de combinaison. De telles bandes apparaissent à des fréquences qui sont elles-mêmes des combinaisons linéaires des fréquences des bandes fondamentales. Par exemple, si les fréquences de deux modes formant une combinaison sont représentées par ν_1 et ν_2 , la fréquence de la bande de combinaison ν_{comb} est donnée par :

$$\nu_{\text{comb}} = \alpha\nu_1 + \beta\nu_2 \quad (\text{Eq 11})$$

Où α et β sont des nombres entiers (généralement 1, 2 ou 3).

Ainsi, comme pour les harmoniques, les bandes de combinaison apparaissent à des fréquences plus élevées (c'est-à-dire à des longueurs d'onde inférieures) que les bandes fondamentales. Par exemple pour une molécule non-linéaire à 3 atomes, on a 3 degrés de liberté de vibration :

- Vibration de valence : élongation symétrique ν_s
 - Vibration de valence : élongation antisymétrique ν_{as}
 - Vibration de valence : déformation dans le plan δ
- Pour une molécule à 4 atomes, il y a 6 degrés de liberté de vibration:
- Vibration de valence : élongation
 - Vibration de valence : déformation dans le plan δ
 - Balancement (rocking)
 - Cisaillement (scissoring)
 - Hachement (wagging)
 - Torsion (twisting)

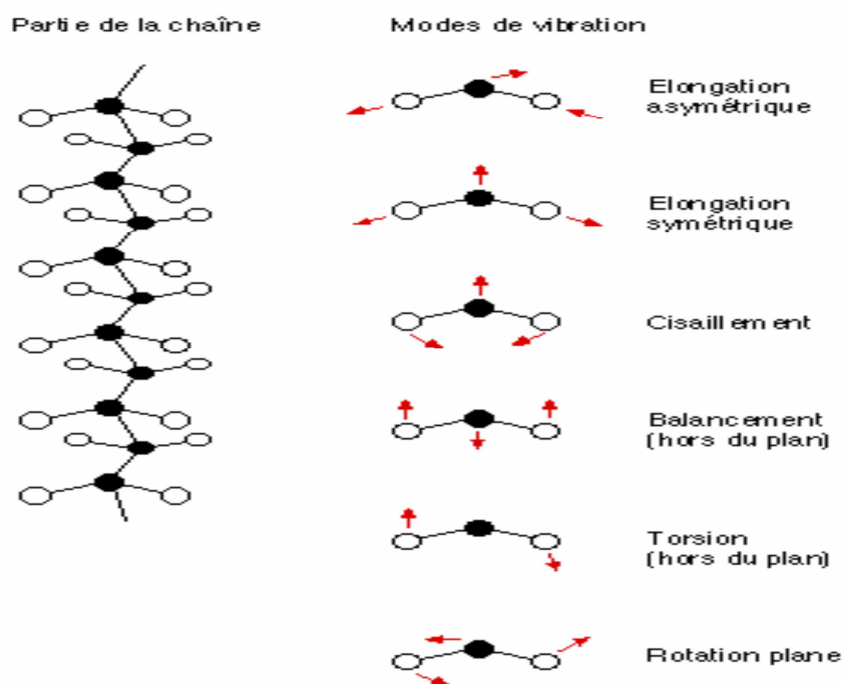


Figure 10: Exemple de vibrations atomiques : la chaîne hydrocarbonée

Le spectre moyen infrarouge peut être grossièrement divisé en 3 régions : de 4000 cm^{-1} à 1500 cm^{-1} se trouvent les bandes d'absorption des vibrations d'élongation ν de liaisons principales (O-H, N-H, C-H, C=O, C=C), de 1500 à 1000 cm^{-1} les bandes de déformations δ (C-H) ainsi que quelques vibrations d'élongation (C-O, P=O) et pour les nombres d'onde inférieurs à 1000 cm^{-1} les vibrations complexes (« respiration » des structures cycliques) et des systèmes éthyléniques ou aromatiques (tableau 1) (Essendoubi,2007).

Tableau 1 : Fréquences caractéristiques des groupes.

Nombre d'ondes (cm^{-1})	Intensité	Liaison	Type de composé
3600	Fine	O-H en phase vapeur	Alcools, phénols
3400-3200	Forte, large	O-H lié	Alcools, phénols
3550-3000	Moyenne	N-H	Amines I et II
3200-2900	Forte, large	O-H lié	Acides carboxyliques
3300	Forte, fine	C-H de $\text{C}\equiv\text{H}$	Alcynes
3100-3000	Moyenne, fine	C-H de $\text{C}=\text{C}-\text{H}$	Alcènes, arènes
2800-2700	Moyenne, fine	C-H de COH	Aldéhydes
3000-2850	2 bandes	C-H	Alcyles CH_3 , CH_2 , CH
1720-1700	Très forte	C=O	Acides carboxyliques
1745-1725	Très forte	C=O	Esters
1735-1715	Très forte	C=O	Aldéhydes
1720-1710	Très forte	C=O	Cétones
1670-1615	Variable	C=C	Alcènes
1600-1450	Variable	C=C	Arènes

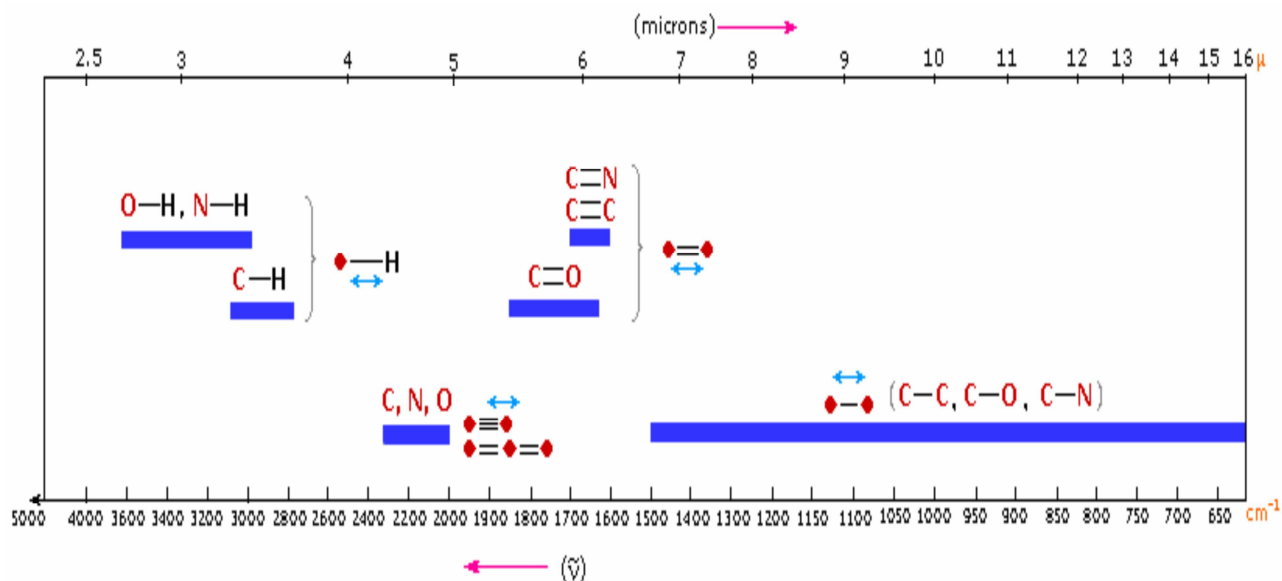


Figure 11 : Fréquences caractéristiques des groupes.

La liaison d'une molécule subit divers types de vibrations et rotations. Cela provoque l'atome ne pas à être stationnaire et à fluctuer continuellement. Mouvements vibrationnels sont définis par l'élongation et de déformation des modes. Ces mouvements sont facilement définis pour les molécules diatomiques ou triatomiques. Ce n'est pas le cas pour les grosses molécules en raison de plusieurs mouvements vibratoires et interactions qui seront expérimenté. Lorsqu'il y a un changement continu dans la distance interatomique le long de l'axe de la liaison entre deux atomes, ce processus est connu comme une vibration d'élongation. Une variation dans l'angle entre deux liaisons est connue comme une vibration de déformation. Vibrations de flexion quatre existent à savoir, agiter, torsion, bascule et risque de coupure. Un groupe CH_2 est utilisé comme un exemple pour illustrer l'élongation et de déformation des vibrations ci-dessous (Davis, 2014).

II-7 spectre infrarouge :

La spectrométrie infrarouge conduit à un document de base appelé spectre infrarouge. (Galez, 2011), un spectre infrarouge est généralement obtenu en faisant passer une radiation infrarouge à travers un échantillon et en déterminant quelle fraction du rayonnement incident est absorbée à une énergie particulière (l'énergie au cours de laquelle s'affiche un pic dans un spectre d'absorption correspond à la fréquence d'une vibration d'une partie d'une molécule de l'échantillon) (Monsef Khoshhesab, 2012).

Le spectre infrarouge d'un composé est essentiellement la superposition des bandes d'absorption de groupes fonctionnels spécifiques : même les petites interactions avec les atomes de la molécule environnantes imposent le timbre de l'individualité sur le spectre de chaque composé. Pour l'analyse qualitative, l'une des meilleures caractéristiques d'un spectre infrarouge est que

l'absorption ou l'absence d'absorption dans les régions de fréquence spécifique peut être corrélée avec des étirements spécifiques et de mouvements de flexion et, dans certains cas, à la relation entre ces groupes pour le reste de la molécule. (Tranter, Holmes et Lindon ,2000), celui-ci représente graphiquement, en fonction de la longueur d'onde, le rapport en chaque point des intensités transmises, avec et sans échantillon. Ce rapport, appelé transmittance T , peut être remplacé par l'absorbance, $A = \log (1/T)$, paramètre directement exploitable en analyse quantitative. Dans le domaine du moyen infrarouge, il est d'usage d'exprimer les longueurs d'ondes sous forme de nombres d'ondes (cm^{-1} ou kaysers). Longueur d'onde et nombre d'onde sont liés par la formule :

$$\bar{\nu}(\text{cm}^{-1}) = \frac{1}{\lambda(\text{cm})} \quad (\text{Eq 01})$$

Ce qui implique :

$$E = \frac{hc}{\lambda} = hc\bar{\nu} \quad (\text{Eq12})$$

L'échelle du spectre, linéaire en cm^{-1} , donc linéaire en énergie, est présentée de telle sorte que les grandes longueurs d'onde, qui correspondent aux faibles énergies, soient situées à droite du graphique (Galez ,2011).

II -8 Applications de Spectroscopie infrarouge :

Spectroscopie infrarouge est utilisée en chimie et l'industrie pour l'identification et caractérisation des molécules. Un spectre IR étant la « empreinte digitale » de chaque molécule IR sert à caractériser les substances (Melissa et Grubbs, 1999 ; Hollas, 2004). La Spectroscopie infrarouge est une méthode non destructive et, par conséquent, il est utile d'étudier la structure secondaire des systèmes plus complexes comme les protéines de molécules biologiques, l'ADN et les membranes. Dans l'infrarouge de décennie dernière commencé à être utilisés pour caractériser les tissus humains sains et non dans la spectroscopie sciences médicales.

Spectroscopie infrarouge est utilisée dans la recherche et l'industrie pour la mesure et de contrôle de la qualité. Les instruments sont maintenant petits et portable à transporter, même pour une utilisation dans des essais sur le terrain. Les échantillons en solution peuvent aussi être mesurés avec précision. Les spectres de substances peuvent être par rapport à un magasin de milliers de spectres de référence. Quelques échantillons de spécifiques applications de la spectroscopie IR sont les suivantes :

Spectroscopie IR a remporté un franc succès dans la mesure du degré de polymérisation dans fabrication de polymère. Spectroscopie IR est utile pour identifier et caractériser substances et

confirmant leur identité puisque le spectre IR est « l’empreinte » d'une substance. Par conséquent, IR a également un but médico-légal et spectroscopie infrarouge sert à analyser substances, par exemple, l'alcool, de drogues, de fibres, de sang et de peintures (Theophanides ,2012).

Chapitre III :
Spectroscopie
Infrarouge à
Transforme de Fourier
(IR-TF)

III- Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF) :

La Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF) est l'un des plusieurs techniques possibles qui sert à étudier les modes vibrationnels. Une amélioration majeure par rapport aux techniques de râpage auparavant fréquemment utilisés, multiplex-avantage de FT-IR qui permet l'analyse de toutes les longueurs d'ondes disponibles en même temps au lieu d'utiliser le rayonnement monochromatique seulement (Mayer, 2007).

La FTIR repose sur l'idée de l'interférence de rayonnement entre deux poutres pour donner un interférogramme. Ce dernier est un signal produit en fonction du changement du temps de transmission entre les deux poutres. Les deux domaines de la distance et la fréquence sont inter convertibles par la méthode mathématique de Transformée de Fourier. Les composants de base d'un spectromètre FTIR figurent schématiquement dans la (figure12). Le rayonnement issu de la source est traversé d'un interféromètre à l'échantillon avant d'atteindre un détecteur. Lors de l'amplification du signal, dans lequel des contributions de haute fréquence ont été éliminées par un filtre, les données sont converties sous forme numérique par un convertisseur analogique-numérique et transféré à l'ordinateur pour la transformation de Fourier (Stuart, 2004).

La (FTIR) nécessite des quantités d'échantillon minimal pour fournir fiable caractérisation des composantes principales. Avec l'aide des techniques informatiques comme la soustraction spectrale et dé convolution, l'information intrinsèque des spectres peut être utilisée pour identifier les composants même mineurs d'un mélange. FTIR a des avantages significatifs sur spectrophotomètres dispersifs moins précis. L'instrument à transformée de Fourier produit un spectre de haute résolution dans lequel le faisceau d'énergie totale est examiné à un instant avec la longueur d'onde séparant par la distance au départ puis recombinaison et transforment, par une technique mathématique, dans la séparation de la longueur d'onde. Le temps d'acquisition rapide permet l'intégration de nombreux scans, ce qui donne des rapports signal sur bruit très élevés et des limites de détection donc faible, c'est-à-dire les tailles d'échantillon nanogramme. Exactitude photométrique est atteinte dans l'instrument FTIR avec étalonnage interne laser (Derrick, 1989).

La spectroscopie moyenne infrarouge est beaucoup utilisée pour l'élucidation de structure des molécules pour des applications chimiques. La technique était limitée essentiellement par la lenteur d'acquisition des spectres car la séparation des longueurs d'onde était réalisée séquentiellement par un monochromateur dispersif (prisme ou réseau).

Depuis près de vingt ans, grâce à l'utilisation de l'interférométrie et la transformée de Fourier (TF), l'application de la spectroscopie IR s'est généralisée dans tous les domaines d'investigation. Les spectromètres IR à transformée de Fourier (IRTF) peuvent de nos jours concurrencer les techniques utilisées en routine dans les laboratoires.

Les spectromètres IRTF ne contiennent aucun élément dispersif, toutes les longueurs d'onde sont détectées et mesurées simultanément grâce à l'intégration de l'interféromètre. Cet instrument de haute sensibilité génère des interférences constructives et destructives dans le rayonnement IR polychromatique, ce qui permet de recalculer précisément l'intensité de chacune des longueurs d'onde du rayonnement total.

Pour séparer les longueurs d'onde, le signal de la source est modulé de manière à ce qu'il puisse ensuite être décodé par une transformée de Fourier. 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.

Les spectromètres IRTF ont comme avantages une meilleure sensibilité, une résolution et une vitesse d'acquisition des données particulièrement élevées (un spectre complet peut être relevé en quelques secondes). Ces avantages sont dus essentiellement à l'application de la transformée de Fourier et la génération des interférences qui sont dévolues à l'interféromètre dont le modèle initial est l'interféromètre de Michelson (1891) (Essendoubi, 2007).

La spectroscopie FTIR est une technique basée sur la détermination de l'interaction entre un rayonnement IR et un exemple qui peut être solide, liquide ou gazeux. Il mesure les fréquences au cours de laquelle l'échantillon absorbe et aussi les intensités de ces absorptions. Les fréquences sont utiles pour l'identification de la composition chimique de l'échantillon dû au fait que des groupes fonctionnels chimiques sont responsables de l'absorption des rayonnements à des fréquences différentes. La concentration du composant peut être déterminée basé sur l'intensité de l'absorption. Le spectre est un terrain à deux dimensions où les axes sont représentés par l'intensité et la fréquence d'absorption de l'échantillon (Simonescu, 2012).

III -1 Spectromètre IRTF :

III -1-1 Description d'un spectromètre IRTF :

Un spectromètre FTIR comporte essentiellement cinq parties (figure 12) Une source lumineuse : pour notre cas, le Globar est utilisé pour le moyen IR. Il est constitué d'un bâtonnet en

carbure de silicium (SiC) et fonctionne à des températures de l'ordre de 1500°C. Il rayonne un spectre continu entre 10000 et 250 cm⁻¹.

- 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 de la technique spectroscopique employée et le mode de mesures utilisé (réflexion ou transmission).
- Un détecteur ou capteur photosensible : le spectromètre IRTF peut comporter un ou plusieurs détecteurs, qui peut être du type pyroélectrique (générant un courant proportionnel au différentiel de température entre les 2 faces du détecteur) comme les détecteurs DTGS (Deuterated Tri-glycine Sulfate) ou 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. Pour une plus grande sensibilité, les détecteurs de type MCT sont refroidis à l'azote liquide (77 K).
- 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.

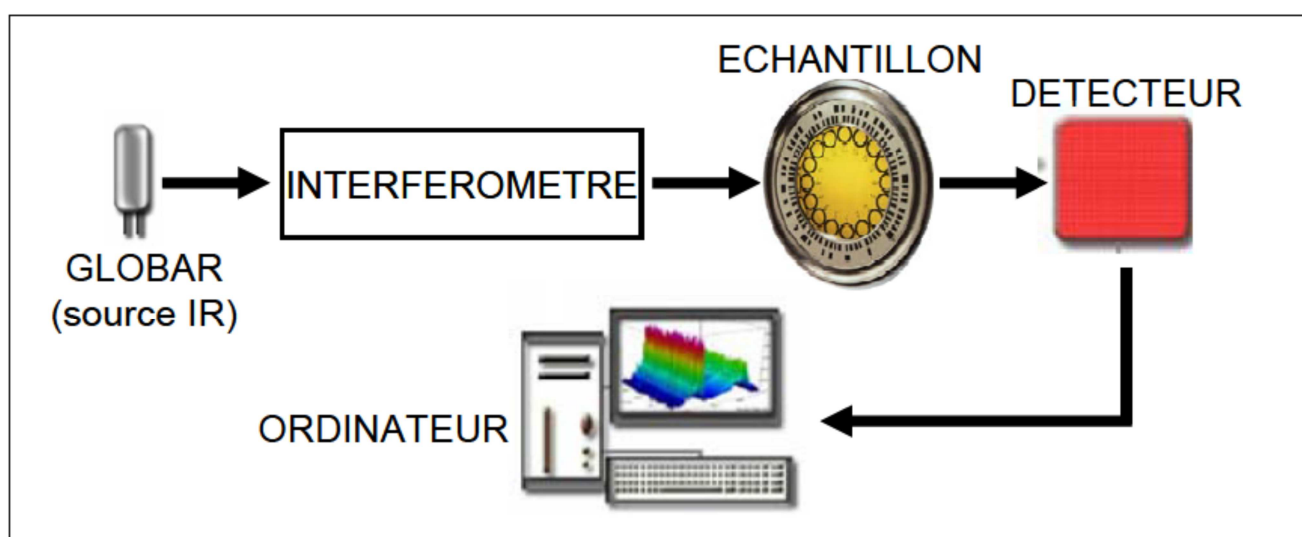


Figure 12 : Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier.

III -1-2 Fonctionnement du spectromètre IRTF :

Pour résumer, dans tous les spectromètres IRTF, le faisceau infrarouge provenant de la source est dirigé vers l'interféromètre qui va moduler chaque longueur d'onde du faisceau à une fréquence différente. Le faisceau modulé est ensuite réfléchi vers l'échantillon, où des absorptions interviennent. Le faisceau 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. L'interférogramme est la somme de toutes les fréquences du faisceau. Cet interférogramme est ensuite converti en un spectre infrarouge par l'opération mathématique de transformée de Fourier.

III -2 Interférométrie (l'interféromètre de Michelson) :

La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier est basée sur l'utilisation d'un interféromètre, dans la plupart des cas l'interféromètre de Michelson, qui se compose de deux miroirs perpendiculaires, mises dans une direction perpendiculaire au plan (Figure 13). Un film semi réfléchissant, le séparateur de faisceau, traverse les plans de ces deux miroirs. Le séparateur de faisceau matériel doit être choisi en fonction de la région à examiner. Les matériaux comme le germanium ou oxyde de fer sont adsorbé sur un substrat d'infrarouge-transparent" tels que le bromure de potassium ou iodure de césium pour produire des séparateur de faisceau pour les régions de milieu - ou proche-infrarouge. Couches minces organiques, tels que poly (éthylène téréphtalate), sont utilisés dans la région de l'infrarouge lointain (Stuart, 2004).

Interféromètre de Michelson (MI) change la fréquence du rayonnement électromagnétique (EMR) de source à oscillant proportionnellement plus lent signal. La somme d'oscillation lente signal se fait à l'ordinateur qui sépare mathématiquement le signal en oscillations individuelles et calculer les oscillations de fréquences correspondantes de rayonnement observés. Ces données sont enregistrées en continu. L'amplitude de chaque oscillation résolue est fonction de l'intensité du rayonnement. Une méthode mathématique appelée transformation de Fourier (FT) est utilisée pour convertir le spectre du domaine de temps en fréquences conventionnelles de domaine (Sawant, 2011).

L'interférométrie est l'utilisation des phénomènes d'interférence pour la mesure. Ces interférences sont générées par l'interféromètre de Michelson. Cet instrument 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. Le miroir mobile, perpendiculaire au miroir fixe, bouge à une vitesse constante le long de son axe. Le schéma de l'interféromètre de Michelson est décrit dans la figure 13.

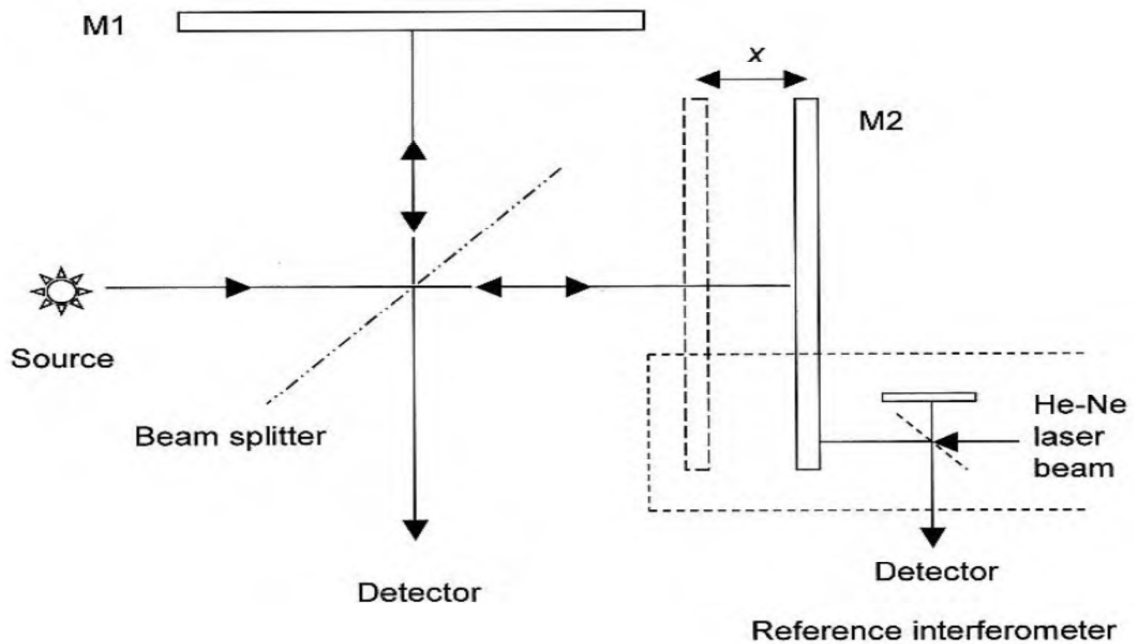


Figure 13 : Interféromètre de Michelson.

Dans ce système, le rayon lumineux prend deux trajets optiques différents, ce qui crée une interférence. Le rayon infrarouge provenant de la source frappe un miroir semi transparent (séparatrice). Ce rayon passe au préalable par un système de miroirs afin d'entrer dans l'interféromètre sous la forme d'un rayon parallèle. Sous l'action de la séparatrice, le rayon est scindé en deux parties égales, une réfléchi et l'autre transmise.

Chacun de ces rayons effectue un aller-retour miroir-séparatrice. La particularité réside dans la différence de parcours optique de ces deux rayons. Le rayon transmis frappe un miroir fixe et a donc un parcours optique fixe alors que le rayon réfléchi frappe un miroir mobile qui peut se déplacer dans les directions indiquées sur la figure 13 et a donc un parcours optique dépendant du déplacement d de celui-ci. Au niveau de la séparatrice, ces deux rayons se combinent à nouveau et sont focalisés vers le compartiment échantillon puis le détecteur.

Le déplacement du miroir mobile permet de changer la longueur du trajet optique transmis. Quand le miroir mobile est dans une position telle que les deux parcours optiques soient de longueurs égales, l'interférence est constructive. Pour chaque autre position, des interférences positives ou destructives sont générées.

Dans l'interféromètre de Michelson l'intensité du rayon lumineux en sortie de la source dépend de la longueur d'onde et on ne peut mesurer qu'une intensité globale $S(\lambda)$. En sortie de l'interféromètre, suite aux recombinaisons en raison du déplacement du miroir mobile, on a

artificiellement fait dépendre l'intensité globale du faisceau infrarouge en fonction cette fois ci du déplacement de ce miroir. On exprime généralement cette intensité par $I(x)$ où cette longueur d'onde x est définie comme le retard, c'est-à-dire la différence des parcours optiques de la partie réfléchiée et la partie transmise. Donc, avant d'atteindre l'échantillon, l'intensité du rayonnement IR émis par la source subit la transformation $S(\lambda) \rightarrow I(x)$ au travers l'interféromètre. Mathématiquement, la relation entre $S(\lambda)$ et $I(x)$ est une transformation de Fourier.

III -3 Résolution spectrale :

La notion est illustrée sur la figure 14. 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. Cela illustre ce que l'on appelle le critère de Rayleigh où 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 $1/d$.

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



Figure 14 : Deux signaux spectraux espacés de d (gauche) et leur interférogramme (droite).

III -4 facteurs correctifs appliqués à l'interférogramme (opérations Pré-Fourier) :

III -4-1 Fonctions d'apodisation :

Comme spécifié précédemment, l'obtention d'un spectre s'effectue par transformée de Fourier (TF) inverse de l'interférogramme qui subit une coupure nette quand la valeur absolue de x est au maximum. On appelle cette coupure, coupure de type boxcar et cela a pour conséquence, lorsque l'on a une bande d'absorption, l'apparition de bandes additionnelles (lobes ou feet). Cela signifie donc que l'on n'obtient pas nécessairement la forme naturelle de la bande en raison de l'influence liée à l'instrument.

Les solutions à ce problème sont soit d'acquérir l'interférogramme avec une grande résolution ou tronquer l'interférogramme de manière moins abrupte que la coupure de type boxcar. On appelle ce procédé apodisation. Avant la TF inverse, l'interférogramme est multiplié par une fonction d'apodisation afin d'atténuer ces bandes additionnelles. En contrepartie, l'apodisation affecte la largeur de bande dans le sens où la suppression de ces bandes additionnelles implique toujours un élargissement de la bande principale. Correction de phase Des corrections supplémentaires doivent être apportées pour tenir compte des décalages en phase introduits par l'appareillage. Ils ont deux origines principales. Tout d'abord, le déplacement rapide du miroir mobile entraîne une imprécision de la mesure de la position $x=0$. La deuxième source de décalage en phase du signal est introduite par les filtres électroniques utilisés pour diminuer le bruit de haute fréquence. La convolution de l'interférogramme par les fonctions de correction Mertz ou Power Spectrum est d'usage courant pour corriger la phase du signal.

III -5 Génération du spectre IRTF :

L'interférogramme est peu utile à la spectroscopie qui utilise généralement le tracé des valeurs d'absorbance ou de transmittance en fonction des fréquences (ou nombres d'onde). Le processus de génération du spectre (figure 15) de l'échantillon comporte 4 étapes:

- enregistrement d'un interférogramme simple-faisceau de référence sur le support porte-échantillon
- enregistrement d'un interférogramme simple-faisceau échantillon
- transformation de Fourier inverse des interférogramme et opérations post-Fourier
- calcul du spectre d'absorbance (ou transmittance) à partir des spectres simple Faisceau

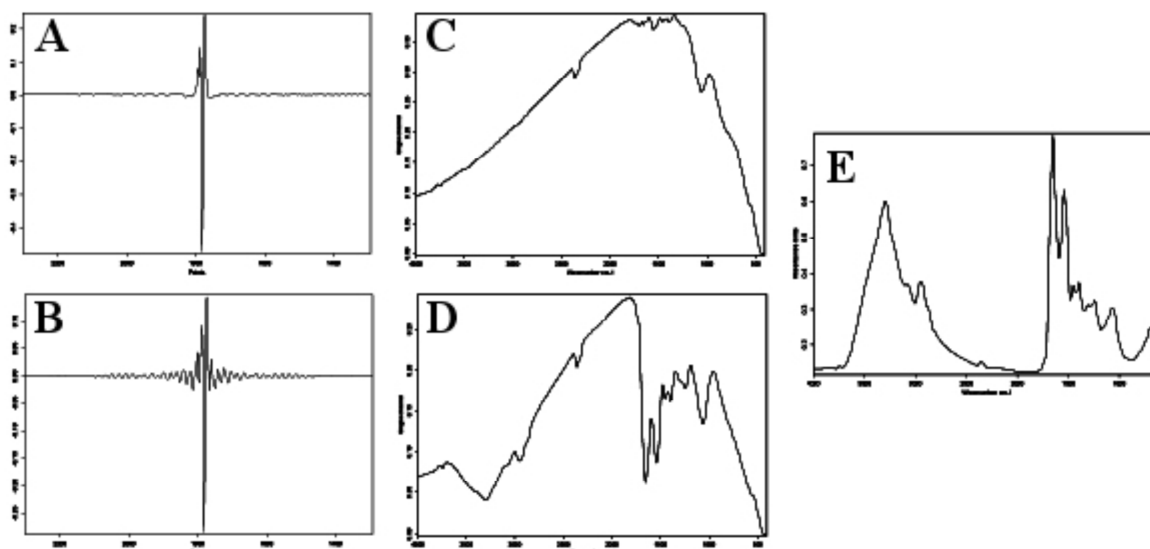


Figure 15 : Génération du spectre IRTF. Interférogramme de référence (A);interférogramme échantillon (B) ; spectre simple faisceau de référence (C); spectre simple faisceau échantillon (D); spectre en absorbance (E)).

Les informations obtenues à partir des spectres IRTF sont de deux sortes, qualitatives et quantitatives.

Informations qualitatives : un spectre d'absorption infrarouge, même d'une molécule simple, comporte un certain nombre de pics. Les longueurs d'onde auxquelles l'échantillon absorbe sont caractéristiques des groupements chimiques présents dans le matériau analysé.

Informations quantitatives : L'intensité de l'absorption à la longueur d'onde caractéristique est reliée à la concentration du groupement chimique à l'origine de cette absorption.

En mesurant l'aire du pic caractéristique, on peut comparer la proportion d'un groupement chimique présent dans plusieurs échantillons. Ce type d'analyse offre la possibilité de doser un nombre particulièrement élevé de substances car presque toutes les espèces moléculaires absorbent dans le moyen infrarouge. De plus, le caractère unique d'un spectre infrarouge permet un degré de spécificité que relativement peu d'autres méthodes possèdent. Cette spécificité est particulièrement mise à profit pour le dosage de mélanges de composés organiques présentant une grande similitude. Depuis les dix dernières années, divers travaux ont montré l'application de la méthode au dosage de nombreuses molécules plus complexes comme les protéines, le cholestérol et les sucres, dans des solutions de nature biologique comme le sang, le sérum et le plasma.

La spectroscopie IRTF est une méthode d'analyse simple à mettre en œuvre et non destructrice. Elle permet d'analyser aussi bien les matériaux organiques que les matériaux

inorganiques. La grande diversité des montages expérimentaux permet pratiquement la caractérisation de tout type d'échantillon, quel que soit son état physique ou de surface :

- Couches déposées sur un substrat transparent en infrarouge : montage en transmission/absorption.
- Couches déposées sur un substrat non-transparent en infrarouge : montage de Réflexion Totale Atténuée (ATR).
- Films polymères : montage en transmission (si épaisseur faible $<10\mu\text{m}$), montage de Réflexion Totale Atténuée (ATR).
- Poudres (dispersées dans une pastille de KBr) : montage en transmission Cependant, dans le cas de couches inférieures à 500 \AA d'épaisseur, la spectroscopie IRTF conventionnelle atteint ses limites de sensibilité et de détection (Essendoubi, 2007).

III -5-1 Les avantages du spectromètre IRTF :

Les spectromètres IRTF présentent plusieurs avantages comparés aux spectromètres dispersifs :

- Rapidité : un spectre de $800\text{-}8000 \text{ cm}^{-1}$ de résolution de 2 cm^{-1} , mesuré en 30 minutes sur un spectromètre dispersif, serait collecté en 1 seconde au même rapport signal bruit sur un spectromètre IRTF
- Reproductibilité de l'échelle des fréquences
- Haute résolution spectrale
- Fiabilité

III -6 Méthodes de mesure en spectroscopie IRTF :

Le choix de la technique d'échantillonnage dépend fortement 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.

III -6-1 Transmission /absorption :

Le principe de transmission/absorption est détaillé sur la figure 16. On définit $I_{\text{source}}(x)$, l'intensité globale émise par la source en fonction du retard et $I(x)$ est l'intensité transmise après passage à travers l'échantillon. Enfin, $I_0(x)$ est défini comme l'intensité transmise au détecteur après passage dans le spectromètre sans l'échantillon (souvent défini comme la référence).

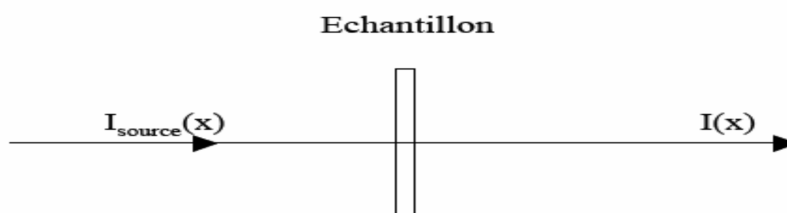


Figure 16 : Principe de la transmission

Suite à la mesure enregistrée par le détecteur et après conversion de l'intensité par transformée de Fourier inverse (passage de $I(x)$ en $S(\lambda)$), on définit le spectre soit en transmittance T , soit en absorbance A de la manière suivante :

$$T(\lambda) = S(\lambda)/S_0(\lambda) \text{ et } A(\lambda) = \log(S_0(\lambda)/S(\lambda)) = \log(1/T) \quad (\text{Eq13})$$

Ce mode de mesure nécessite absolument l'utilisation de supports transparents en infrarouge. Parmi ceux-ci, on trouve de nombreux sels de métaux alcalins tels que le bromure de potassium (KBr), qui pressé à 1000N, peut emprisonner une poudre dans un cristal transparent, ou encore le séléniure de zinc (ZnSe), le fluorure de calcium (CaF₂), le fluorure de baryum (BaF₂) et le germanium (Ge).

Contrairement au KBr, les supports ZnSe, CaF₂ et BaF₂, 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 (Essendoubi, 2007).

III -7- Analyse des données IR :

Les spectres IR contiennent des informations pertinentes sur les caractéristiques physiques et biochimiques des échantillons analysés. Cependant, ces informations peuvent être parfois difficiles à extraire. L'utilisation des méthodes mathématiques, informatiques et d'analyse statistique multivariée forment une autre approche qui permet d'améliorer l'extraction et l'exploitation des informations spectrales sous-jacentes. Parmi ces méthodes, la classification hiérarchique, l'analyse en composantes principales ou encore l'analyse discriminante linéaire, sont les plus utilisées.

La classification hiérarchique ascendante est une méthode d'analyse statistique qui regroupe les spectres en fonction de leur ressemblance sur le domaine spectral désiré. La classification hiérarchique est réalisée en utilisant un calcul qui permet de déterminer les distances euclidiennes entre les groupes de spectres suivant leurs ressemblances. L'algorithme de Ward est souvent utilisé pour ce calcul.

Une carte exploitant la totalité de l'information spectrale peut être créée en associant à chaque point un code de couleur dépendant de la classification du spectre enregistré à cette position. Il est possible de construire plusieurs cartes à partir du même jeu de spectre en faisant varier les paramètres de l'analyse hiérarchique (nombre de groupes formés, nombre, limites et contributions relatives des domaines spectraux utilisés).

Pour l'imagerie IR, parmi les méthodes d'analyse multivariée, l'analyse en composantes principales est applicable au traitement de l'information. Elle permet de décomposer un jeu de données en une série de composantes principales qui expriment l'essentiel de la variance. Si l'on associe un gradient de couleur à chacune des composantes principales, il est alors possible de générer des cartes spectrales qui tiennent compte de leur contribution en chaque point de la carte. Des cartes peuvent également être réalisées en combinant les scores de plusieurs composantes.

L'imagerie spectrale permet de mettre en évidence des variations de la répartition des espèces composant un échantillon en l'absence de changements de leur composition globale et de détecter des variations locales de compositions.

Les méthodes d'analyse et de traitement des spectres utilisées lors de ce travail seront détaillées dans la partie Matériels et Méthodes (Essendoubi, 2007).

III -8 Applications de la spectroscopie IRTF :

III -8-1 Les biomolécules et l'attribution spectrale en spectroscopie infrarouge :

Dans une macromolécule biologique, toutes les vibrations de groupes chimiques impliquant une variation du moment dipolaire électrique permanent du groupe absorbent dans le domaine infrarouge. La spectroscopie IRTF mesure directement les vibrations de groupes chimiques et l'énergie de ces vibrations (ou fréquence de vibration ν) dépend de la force des liaisons chimiques ainsi que de la masse des atomes impliqués dans la vibration.

Ainsi, à chaque fonction ou groupe chimique correspond une gamme de fréquences de vibration caractéristique. De plus, la fréquence de vibration est sensible aux interactions fines entre ces groupes et leur environnement : liaison hydrogène (environnement protique ou aprotique), interactions électrostatiques (environnement apolaire ou polaire), transfert de charge avec un système d'électrons délocalisés.

L'intensité d'un signal infrarouge dépend également de l'amplitude de la variation du moment dipolaire engendrée par la vibration. Elle dépend aussi du champ électrostatique

environnant le groupe chimique, par exemple de l'état d'oxydoréduction d'un site métallique dans une protéine.

L'étude des macromolécules biologiques initiée par Blout et Fields en 1949 pour les acides nucléiques, par Elliott et Ambrose en 1950 pour les protéines a montré que de nombreuses informations pouvaient être apportées par cette méthode. La spectroscopie infrarouge s'est révélée particulièrement sensible aux conformations de ces molécules complexes et est considérée comme l'une des méthodes les plus adaptées à l'étude des biopolymères. L'un des avantages majeurs de la technique est de pouvoir étudier les changements de conformation des molécules biologiques en interaction avec leur environnement (Essendoubi, 2007).

III-8-1-1 Les protéines :

La liaison peptidique caractérisant les protéines, possède de nombreux modes de vibration et donne 9 bandes (notées amide I à amide VII et amide A et B). Les bandes amide I, II et III sont très actives en infrarouge et ont été particulièrement étudiées. L'analyse fine de la position et de la structure de ces bandes donne des informations sur la structure primaire et secondaire de la protéine étudiée ainsi que sur les différentes conformations secondaires de type hélice α , feuillet β , coude β ou pelote statistique. De plus, la spectrométrie IRTF peut également renseigner sur les chaînes latérales des acides aminés et sur l'identité de certains acides aminés impliqués dans la structure des protéines (Annexe N°1 et figure 17).

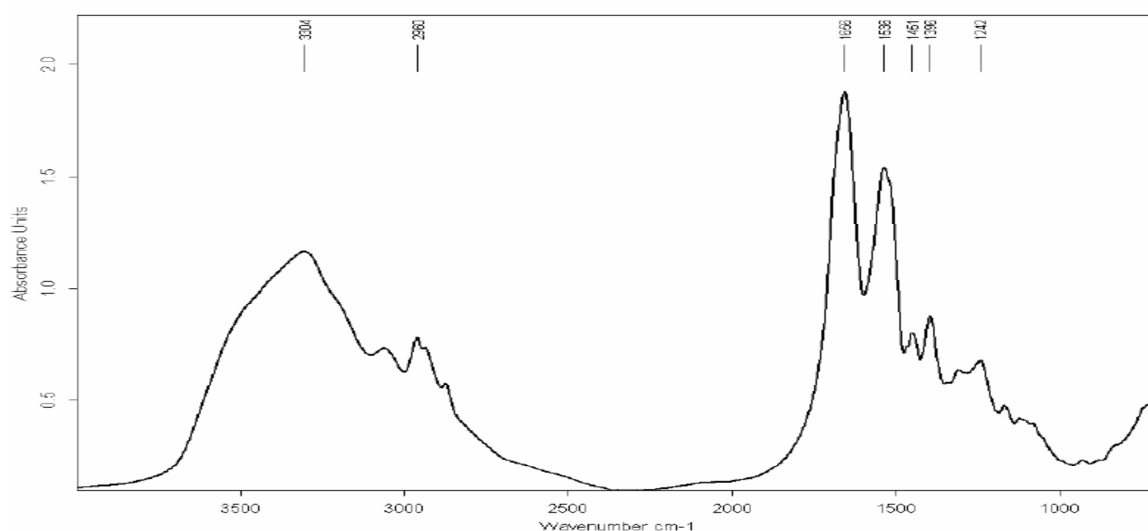


Figure17 : Spectre IRTF représentatif d'une protéine (Albumine) (64 accumulations à la résolution de 4 cm-1, facteur de zero filling de 2)

Dans des cas plus précis, la spectroscopie IRTF permet de suivre la formation d'intermédiaires réactionnels et leurs conséquences sur la protéine, comme la protonation et la déprotonation consécutives d'acides aminés pendant des mécanismes de transfert d'électrons et la caractérisation du site actif d'enzymes. L'évolution des liaisons chimiques du centre actif au cours des réactions catalytiques ont été décrites par Jung (Essendoubi, 2007).

L'aspect dynamique de cette technique ainsi que l'accès à des informations au niveau atomique rend cette spectroscopie indispensable pour l'analyse détaillée de mécanismes impliquant des molécules de nature protéique (Essendoubi, 2007).

III -8-1-2 Les acides nucléiques :

Les acides nucléiques sont actifs dans l'infrarouge et ce sont les groupes phosphates et les riboses qui présentent les vibrations les plus intenses. La spectroscopie infrarouge permet même d'évaluer les changements de conformation que peuvent présenter les acides nucléiques, la nature et la force des liaisons impliquées dans l'interaction avec un ligand. Des bandes caractéristiques des conformations A, B et Z de l'ADN ont par ailleurs été décrites (Annexe N°2). Des études par spectroscopie infrarouge de la structure conformationnelle des doubles et triples hélices d'ADN et d'ARN de séquences contrôlée sont été décrites (Fritzsche et al, 1993).

III -8-1-3 Les polysaccharides :

L'étude des sucres en spectrométrie infrarouge a débuté dans les années 50 mais il a fallu attendre les années 90 pour que l'étude des polysaccharides complexes soit réellement possible (Kacurakova et al, 2000). La spectroscopie infrarouge permet une analyse qualitative et quantitative des sucres renseignant sur leur nature et leur état (solution, cristallisation etc...).

L'industrie alimentaire est la première activité concernée par ce type d'analyse et a largement participé à l'amélioration des techniques spectroscopiques. Les pics caractéristiques de ces biomolécules sont détaillés dans l'Annexe N°3(Essendoubi, 2007).

III -8-1-4 Les lipides :

La biochimie des lipides est complétée par la spectroscopie IR grâce à l'activité vibrationnelle de ces molécules dans le moyen infrarouge surtout dans la région des pics attribués en général aux lipides (région 2700-3000 cm⁻¹) et aux triglycérides (1745 et 3011cm⁻¹).

L'attribution des bandes spectrales pour ces biomolécules a pu être réalisée grâce à des études sur les molécules isolées. L'Annexe N°4 présente les attributions des bandes obtenues à partir de phospholipides isolés (Essendoubi, 2007).

III -8-2- Les spectres d'origine biologique :

La plupart des biomolécules possèdent une signature caractéristique dans le MIR. Les cellules, les fluides biologiques et les tissus contiennent de nombreuses biomolécules (protéines, lipides, glucides et acides nucléiques). Ces molécules ont une formule chimique complexe, se traduisant par une multitude de bandes d'absorption dans le spectre MIR.

Le spectre MIR d'un échantillon biologique consiste donc en l'addition de nombreuses bandes spectrales qui vont se chevaucher et/ou se superposer (figure 18). L'analyse des spectres, dans ce cas, n'est pas simple, d'autant plus que l'environnement des molécules influence les fréquences de vibration. Néanmoins, de nombreuses bandes d'absorptions ont pu être attribuées (Annexe N°5). La spectroscopie MIR est donc une technique intéressante puisqu'elle permet d'obtenir une image globale et complète d'une cellule donnée dans un état particulier.

Une des particularités des échantillons biologiques est de contenir un fort pourcentage d'eau. Le spectre MIR de l'eau pure montre que les bandes d'absorption couvrent des larges domaines de la fenêtre spectrale du MIR. De plus, le spectre de l'eau est dépendant de son environnement et les molécules d'eau interagissent avec les solutés, ce qui a une influence sur les fréquences de vibration. La contribution de l'eau sur les spectres IRTF des échantillons biologiques est importante et il faut en tenir compte. Pour résoudre le problème d'eau, les spectres IRTF sont généralement enregistrés directement sur des échantillons desséchés selon un protocole rigoureux et spécifique de chaque type d'échantillon.

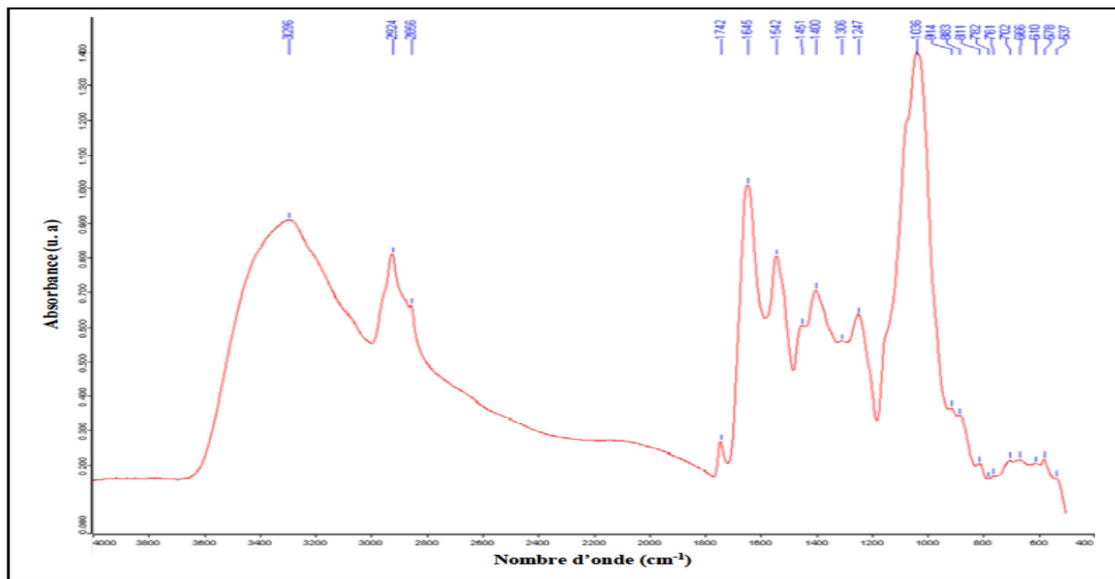


Figure 18 : Exemple de spectre IRTF d'un microorganisme avec la position des pics d'absorption

Le spectre d'un échantillon biologique peut être divisé en plusieurs parties dont la dénomination provient du composant dont l'absorbance est la plus significative dans la région donnée. Le spectre IRTF des échantillons biologiques est dominé entre 1500 et 1800 cm^{-1} par les bandes amide I et II des protéines, respectivement à 1650 et 1550 cm^{-1} , par la bande d'élongation antisymétrique des phosphates à 1240 cm^{-1} et par un massif peu résolu dit région des sucres entre 900 et 1200 cm^{-1} . La région s'étendant de 2800 à 3000 cm^{-1} est dominée par les vibrations d'élongation des liaisons C-H et nommée en conséquence région des lipides (Annexes N°6 et 7).

L'attribution putative des bandes a pu être réalisée grâce aux données obtenues sur les macromolécules isolées. Il est à noter que la capacité de la spectroscopie IRTF à détecter l'ADN sous forme de chromatine dans les noyaux cellulaires est encore débattue (Essendoubi, 2007).

III -8-3 spectroscopie IRTF et ses applications dans les domaines de la biologie et du biomédical :

La spectroscopie IRTF possède un potentiel particulièrement intéressant pour de nombreuses applications médicales. Il est en effet possible de détecter et de caractériser des variations spectrales liées à des modifications des différents constituants moléculaires (lipides, sucres, protéines...) dans un tissu, dans une cellule, ou dans un fluide biologique, en permettant d'orienter le diagnostic ou de détecter certaines pathologies à un stade précoce.

Les recherches dans le domaine de la caractérisation des systèmes biologiques peuvent être grossièrement catégorisées en 3 groupes d'applications (Essendoubi, 2007) :

- L'analyse des fluides biologiques (biochimie clinique)
- L'analyse des cellules et des tissus (cytologie/pathologie)
- L'analyse des microorganismes (microbiologie)

III -8-3-1 Biochimie clinique :

La biochimie clinique basée sur la spectroscopie IRTF permet essentiellement l'analyse des constituants de liquides biologiques tels que le sang, le sérum, la salive, le liquide amniotique et l'urine. Les analyses ont pour but principal l'évaluation de la concentration de certaines biomolécules dans ces fluides (Petibois et al, 2001).

L'objectif est de diagnostiquer certaines pathologies liées une concentration anormale de ces molécules ou tout simplement de faire des dosages de constituants. Dans la majorité des études biochimiques, ces analyses sont réalisées à partir de film déshydratés, ce qui permet de surmonter le problème de la teneur en eau de l'échantillon.

Parmi les exemples d'application récente de la spectroscopie IRTF en biochimie clinique, figurent l'analyse biochimique globale de paramètres sanguins et sériques du surentraînement (Petibois et al ,1999) et l'étude de l'effet de l'hormone thyroïdienne sur les cellules ostéoprogénitrices humaines et ses conséquences métaboliques (Essendoubi, 2007).

III -8-3-2 Cytologie/pathologie :

Le nombre important de publications relatif à ces applications montre l'intérêt de cette approche dans le diagnostic cellulaire et tissulaire (Moreno et al, 2002 ; Mourant et al, 2003).

III -8-3-2-1 Diagnostic cellulaire :

Au niveau cellulaire, la spectroscopie IRTF peut avoir plusieurs applications telles que la détection de composés intracellulaires, le suivi de la production d'écoproduits en réponse à des variations environnementales (Naumann, 2000) ainsi que l'étude des interactions cellule/médicament (Bouhedja et al ,1997).

Des différences spectrales entre cellules saines et cellules leucémiques ont été observées sur des cellules prélevées chez des patients et des sujets sains, conduisant à un classement des spectres en fonction de l'état pathologique (Schultz et al, 1996). Ainsi, on peut mettre en évidence des marqueurs spectraux caractéristiques du phénotype MDR (Krishna et al, 2006) sur des cultures de cellules HL60, K562 etMCF7. Ces études servent à mettre au point des modèles de prédiction en

vue de faciliter le diagnostic ou le suivi de pathologies ou encore à prévoir l'efficacité du traitement sur cellules isolées de patients.

III -8-3-2-2 Diagnostic tissulaire :

Au niveau tissulaire, au cours de ces 10 dernières années, on a assisté à une augmentation rapide du nombre d'études diagnostiques réalisées par spectroscopie IRTF sur les tissus biologiques. Parmi ces applications, on peut citer la détection de corps étrangers dans les tissus (Essendoubi, 2007), l'étude de l'encéphalopathie spongiforme bovine dans le tissu nerveux (Kneipp et al, 2000), l'étude de la biominéralisation du tissu osseux (Essendoubi, 2007) ainsi que des études sur la peau, le cerveau et l'aorte pour la détection de certaines pathologies (Amharref et al, 2006 ; Bonnier et al, 2006).

Plusieurs méthodes d'analyse en spectroscopie IRTF ont été employées. Des spectres de tissu mammaire ont été enregistrés en macro et microspectroscopie en mode transmission ou en mode ATR. Après une période d'optimisme où la séparation du tissu cancéreux mammaire et du tissu sain semblait aisée, plusieurs auteurs ont fait le catalogue des écueils liés à cette approche (Essendoubi, 2007).

Ces publications mettent en exergue les pièges qui peuvent compliquer ou fausser l'interprétation des données spectrales, comme la présence de collagène dans la matrice sous-jacente aux cellules cancéreuses ou encore la forte hétérogénéité cellulaire des tumeurs.

Pour le diagnostic de certaines pathologies de l'utérus, des applications ont été portées sur des frottis entiers et qui ont été analysés dans leur globalité en macro-spectroscopie (Wong et al, 1991; Morris et al, 1995; Wood et al, 1996). Ces études ont révélé une grande différence entre les spectres de frottis classés comme pathologiques et les spectres de frottis classés comme sains. Cette différence semble due à la présence de glycogène dans les cellules saines (Wong et al, 1991) ce qui est corrélé avec les observations cytologiques.

La différenciation entre tissu ovarien sain et pathologique par spectroscopie IRTF a été également démontrée par Krishna et coll (Essendoubi, 2007).

Partie théorique :

Chapitre I :
Spectroscopie

Chapitre II :
Infrarouge

Partie pratique

IV- 1 Materiel:

IV- 1 -1 Appareillage:

IV- 1- 1-1 Description:

Le Spectromètre FTIR-600 se compose des parties suivantes : interféromètre, chambre d'échantillon, détecteur électrique. System d'affichage et d'analyse des données (figure 19) ci-après.

Le système optique du spectromètre FTIR-600 est conçu de façon à augmenter la souplesse de fonctionnement et améliorer également le débit d'énergie. Il se compose de modules individuels, tels que l'interféromètre, détecteur et le compartiment échantillon etc., reliés entre eux constituant ainsi un bloc de simple construction.

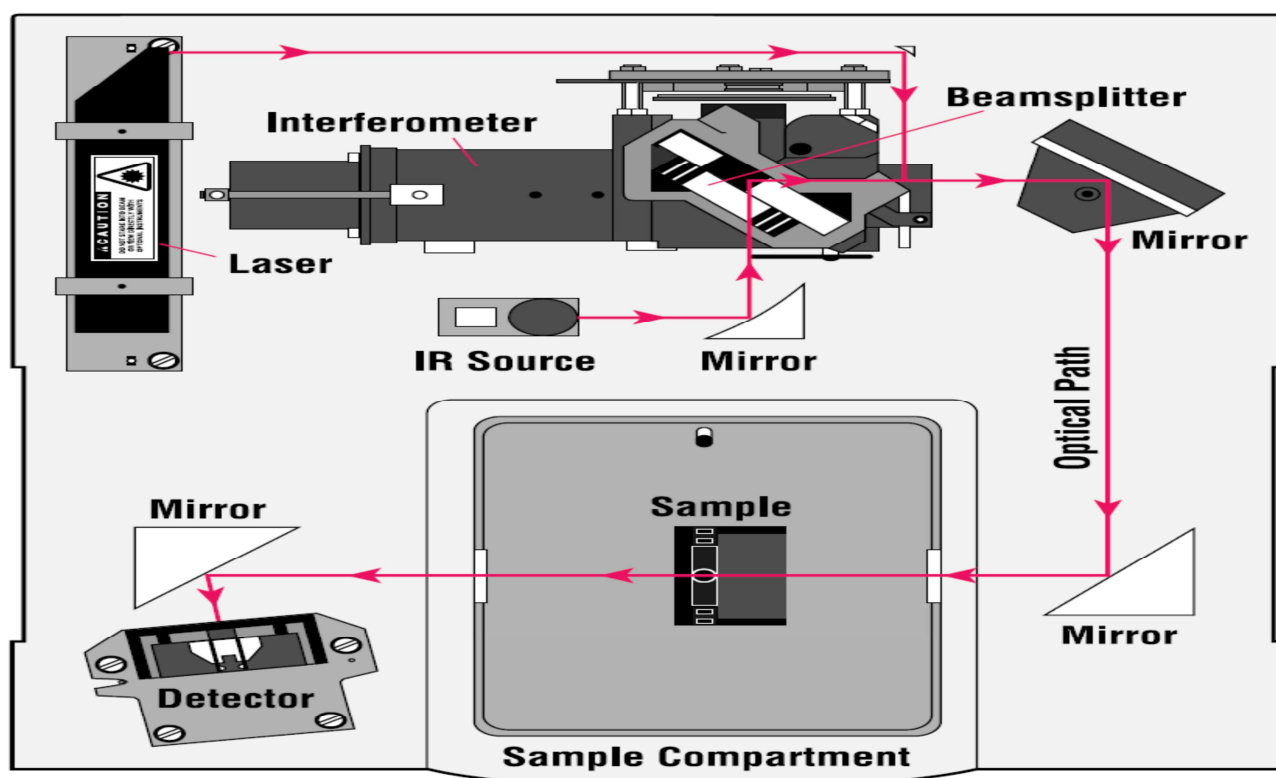


Figure 19: présentation générale de FTIR-600 FTIR spectromètre.

IV- 1-2 Fiche technique:

Spectral range	7800 - 380 cm ⁻¹ , IR / 15000-3850 cm ⁻¹ , NIR
Resolution	1 cm ⁻¹ (0.5 cm ⁻¹)
Wavenumber precision	0,01 cm ⁻¹
Ordinate precision	0,1 - 0.01 %T
Interferometer	Michelson type, self-compensated for tilt and shear
Beam diameter	30 mm
Aperture ratio	f/3,2
Operation mode	single channel
Throughput	0,015 cm ² sr
Beam splitter	KBr substrate, multilayer coated (ZnSe substrate – option)
Scanner	pendulous scan
Scanning rate	2 mm/s
Frequency reference system	VCSEL laser, 665 nm
Sampling	Conventional
Sample compartment	single beam, (WxDxH) 200x260x160 mm
Beam size	10 mm - center focus, beam center 74.5 mm above the baseplate
Input port (option)	entrance port for radiation from external sources
Source	coilform, air cooled
Detectors	DLATGS pyroelectric, (LN ₂ MCT-option) - IR Si and/or InGaAs photodiode - NIR
Atmosphere	sealed, with ports for dry nitrogen or air
A/D converter	18 bit, 500 kHz
Computer	IBM PC Pentium or similar

Operating system	Windows 95/98/XP/Win7
Display	SVGA (1024 x 768 points recommended)
Dimensions (w/d/h)	590/390/190 mm
Weight	24 kg
Power consumption	12 VDC, 40 W, Adapter 100 - 240 VAC, 50/60 Hz
Temperature environment	18 °C to 28 °C
Humidity environment	Below 65%, noncondensing



Figure20: Appareil de FTIR-600.

IV- 2 Méthode:

Afin de mettre en marche l'appareil de FTIR-600 du laboratoire de chimie de l'université de ghardaia, on a effectué un test de l'étude d'un échantillon d'Ethanol liquide de pureté 95% dont la formule est la suivante $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, pour cela nous avons mis une goutte prélevée à l'aide d'une micropipette dans le support d'échantillon (Crystal ATR), après fermeture du boîtier du porte, suivie des consigne de mise en marche et lecture de l'échantillon, nous avons observe l'allure du chromatogramme lu est affiché sur l'écran du module d'affichage munie du spectrometre .

IV- 3 Analyses des resultants:

Les chromatogrammes suivants reportent les résultats analysé du spectre IR d'absorbance (Figure21) et de transmittance (Figure22) de l'échantillon d'éthanol en fonction du nombre d'onde;

étant donné que l'échantillon d'éthanol comporte les liaisons C-H dans CH_3 et CH_2 , une liaison C-O et une liaison O-H. Ces derniers ont été bien identifiés sur le spectre imprimé; à partir des bandes caractéristiques de ces différentes liaisons.

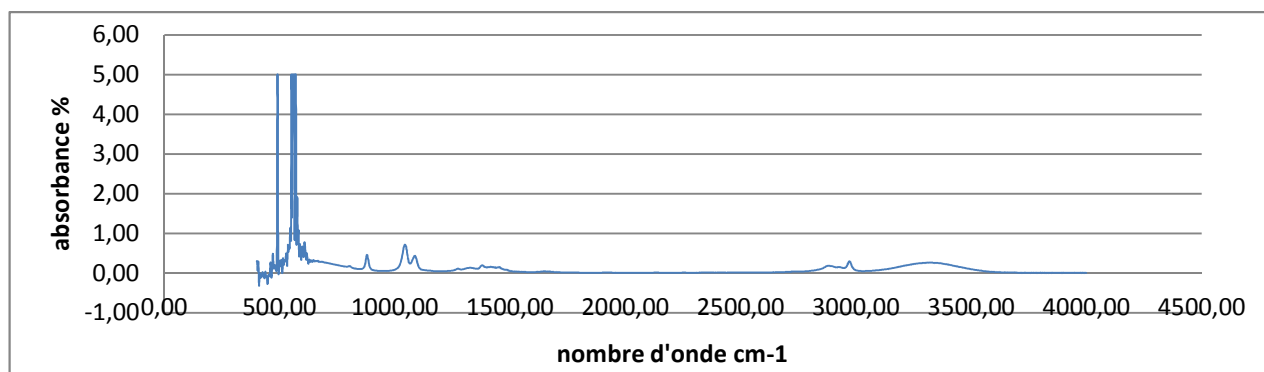


Figure 21: Spectre d'absorbance de l'éthanol.

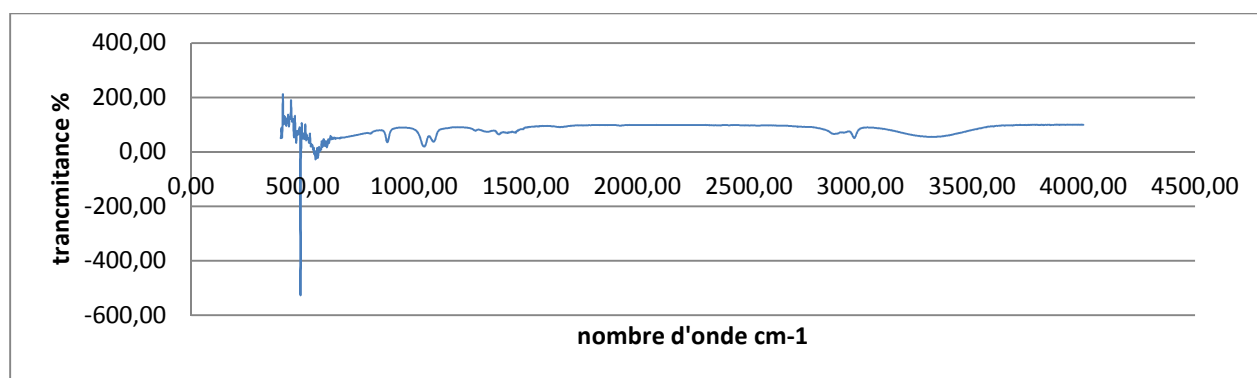


Figure 22: Spectre de la transmittance de l'éthanol.

En effet, notre spectre présente des caractéristiques d'alcool. Le point important à mettre en exergue ici est la liaison O-H qui est la bande caractéristique des alcools sous forme d'une large bande à environ $3100\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$. De même, la liaison C-H qui absorbe à environ 3000 cm^{-1} et la liaison C-O entre $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$. Ces spectres IR correspondent bien à ceux de la littérature et ont permis d'identifier bien notre échantillon éthanol.

IV- 4 Conclusion:

Dans notre travail on a mis en marche la spectroscopie FTIR-600, ainsi nous avons testé l'appareil sur un échantillon liquide constitué de l'éthanol pur à 95 %, l'analyse du chromatogramme obtenu révèle des absorbances caractérisant l'alcool correspondant aux bandes d'absorbance caractéristiques de celui-ci, notamment la bande OH à $3100\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$, CH des groupements CH_3 et CH_2 ainsi que celle du groupement CO observée respectivement à 3000 cm^{-1} et entre $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$.

Chapitre IV :

Conclusion

Conclusion :

Le travail que nous avons abordé dans notre projet de fin d'étude porte sur la mise en marche d'un nouvel appareil d'analyse spectroscopique par infrarouge (FTIR).

Nous avons ainsi présenté l'appareil en mettant en évidence ces principaux compartiments, puis tester un exemple de cas pratique consistant à l'analyse par IR d'un composé organique très utilisé en laboratoire : l'éthanol.

Les résultats du spectre d'un échantillon d'éthanol de pureté 95% (BIOCHEM CHEMOPHARMA, Montreal, Quebec. H2YOA4) Par FTIR révèlent l'authenticité du spectre obtenu en comparaison aux résultats de la littérature.

En effet toutes les absorbances des différents groupements fonctionnels constituant la molécule ont été mis en évidence, en l'occurrence le groupement OH caractéristique des alcools, les liaisons C-H dans les groupements CH₂ et CH₃ ont absorbées dans le domaine IR prévu ainsi que les liaisons C-O.

Les résultats analytiques ont réussi à identifier avec succès l'échantillon analysé. Ce qui montre l'authenticité et la fiabilité de l'appareil utilisé.

Par ailleurs, il est à noter que la spectroscopie IR n'est pas capable à elle seule d'identifier la structure moléculaire d'un composé donné, elle doit être suivie par une succession d'autres analyses spectrales telles que : l'UV, l'RMN et la spectroscopie de masse.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

References:

- 1 - Amharref, N. Beljebbar, A. Dukic, S. Venteo, L. Schneider, L. Pluot, M. et al. (2006).**Brain tissue characterisation by infrared imaging in a rat glioma model *Biochim Biophys Acta*; 1758(7): 892-9.
- 2 - Ballandras Anthony, (2011).**Apport et limitation de la spectroscopie infrarouge à la compréhension du phénomène de physisorption sur les zéolithes de topologie MFI. these de Doctorat en Chimie Physique .Université de Bourgogne.
- 3 - Bonnier, F. Rubin, S. Venteo, L. Krishna, C. M. Pluot, M. Baehrel, B. et al. (2006).** In-vitro analysis of normal and aneurismal human ascending aortic tissues using FTIR microspectroscopy. *Biochim Biophys Acta*; 1758(7): 968-73.
- 4 - Bouhedja, W., Sockalingum, G. D., Pina, P., Allouch, P., Mandray, C., Labia, R., Millot, J.M., Manfait, M., (1997).** ATR-FTIR spectroscopic investigation of E. coli transconjugants β -lactams-resistance phenotype. *FEBS. Lett.* 412, 39-42.
- 5 - Coates John, (2000).** **Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach .** in *Encyclopedia of Analytical Chemistry* .R.A. Meyers (Ed.). pp. 10815–10837.
- 6 - Derrick Michele R , Stulik Dusan , Landry James.M, (1999).** *Infrared Spectroscopy in Conservation Science. Scientific Tools for Conservation.* Los Angeles.
- 7 - Derrick Michel ,(1989).** fourier transform infrared spectral analysis of natural resins used in furniture finishes.
- 8 - Elhajji.A et Zaydoun .S,(2009);** Cours de Spectroscopie/ Master sciences analytiques./ M9 / Infrarouge ;.U.M. V / FSR.
- 9 - Essendoubi Mohammed,(2007).** Identification et typage par (micro)spectroscopie IRTF des levures du genre candida d'origine clinique ., Thèse de Doctorat en Biophysique. Université Reims Champagne – Ardenne.
- 10 - Fatela Laura, (2012).** Utilisation de la spectroscopie proche infrarouge comme outil pat pour la quantification de substances en solution .Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Joseph Fourier .

- 11 - Fritzsche, H. Akhebat, A. Taillandier, E. Rippe, K. Jovin, T. M ,(1993).** Structure and drug interactions of parallel-stranded DNA studied by infrared spectroscopy and fluorescence. *Nucleic Acids Res*; 21(22): 5085-91.
- 12 - Galez Philippe,(2011);**Techniques spectroscopiques d'analyse / Spectrométrie Infrarouge .p1.
- 13 - Gauglitz,. G and Vo-Dinh .T,(2003).** Handbook of Spectroscopy .
- 14 - Gennet Dominique ,(2004),** Introduction à la spectroscopie infrarouge(I.R.).
- 15 - Gillet Steve,(2007) ;** La spectroscopie. D.Sc .
- 16 - Herschel William,(2010).** Experiments on the Refrangibility of the Invisible Rays of the Sun. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 1800 90, 284-292.
- 17 - Hollas J. Michael,(2004).** Modern spectroscopy .Fourth Edition. University of Reading . England.
- 18 - Kacurakova, M. Capek, P. Sasinkova, V. Wellner, N. Ebringérova, A. (2000).** FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. *Carb Polymers*; 43: 195-203.
- 19 - Kneipp, J. Lastch, P. Baldauf, E. Beekes, M. Naumann, D. (2000) .**Detection of pathological molecular alterations in scrapie-infected hamster brain by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Biochim Biophys Acta*; 1501(2-3): 189-99.
- 20 - Krishna, C. M. Kegelaer, G. Adt, I. Rubin, S. Kartha, V. B. Manfait, M. et al. (2006).** Combined Fourier transform infrared and Raman spectroscopic approach for identification of multidrug resistance phenotype in cancer cell lines. *Biopolymers*; 82(5): 462-70.
- 21 - Larkin Peter,(2011).** infrared and raman spectroscopy principles and spectral interpretation,.
- 22 - Lindon John ; Holmes John ; Tranter George , (2000).** Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry .volume 1-3.
- 23 - Mahdjoubi Djaafar Berzekh, (2008).** Etude des modes de vibration internes dans le benzene trisubstitue: 1,3,5 tribromo-2,4,6 triméthyle-benzène (TBM) .Mémoire de Magistère en Physique . Université Mentouri Constantine.

- 24 - Malainey .M.E,(2011).**Electromagnetic Radiation ,A Consumer's Guide to Archaeological Science, Manuals in Archaeological Method, Theory and Technique, DOI 10.1007/978-1-4419-5704-7_2, Springer Science+Business Media, LLC.
- 25- Mass Van der j.h, (1972).**Basic infrared spectroscopy .Second Edition.
- 26 - Mayer Daniel.A, (2007).**a fourier transform – infrared spectroscopy study of hydrogen interaction with metal-organic-frameworks .Thèse de Master des Sciences. Université d'État de New Jersey . School-New Graduate Brunswick Rutgers.
- 27-Melissa A. (1999) .** Page and W. Tandy Grubbs, J. Educ., 76(5), p.666
- 28 - Monsef Khoshhesab Zahra,(2012).** Reflectance IR Spectroscopy ; Payame Noor University Department of Chemistry Iran.
- 29 - Moreno, P. R. Lodder, R. A. Purushothaman, K. R. Charash, W. E. O'Connor, W. N. Muller, J. E. (2002).**Detection of lipid pool, thin fibrous cap, and inflammatory cells in human aortic atherosclerotic plaques by near-infrared spectroscopy. Circulation; 105(8): 923-7.
- 30 - Morris, B. J. Lee, C. Nightingale, B. N. Molodysky, E. Morris, L. J. Appio, R. et al. (1995).**Fourier transform infrared spectroscopy of dysplastic, papillomavirus-positive cervicovaginal lavage specimens. Gynecol Oncol; 56(2): 245-9.
- 31 - Mourant, J. R. Gibson, R. R. Johnson, T. M. Carpenter, S. Short, K. W. Yamada, Y. R. et al. (2003).**Methods for measuring the infrared spectra of biological cells. Phys Med Biol; 48(2): 243-57.
- 32 - Naumann, D.(2000).**Infrared Spectroscopy in Microbiology Encyclopedia of analytical Chemistry R.A. Meyers Ed. Chichester, Wiley & Sons td.; 102-131.
- 33 - Online edition for students of organic chemistry lab courses at the University of Colorado, Boulder, Dept of Chem and Biochem. (2002)**
- 34 - Petibois, C. Cazorla, G. Cassaigne, A. Deleris, G. (2001).**Plasma protein contents determined by Fourier-transform infrared spectrometry. Clin Chem; 47(4): 730-8.
- 35 - Petibois, C. Rigalleau, V. Melin, A. M. Perromat, A. Cazorla, G. Gin, H. et al. (1999).**Determination of glucose in dried serum samples by Fourier-transform infrared spectroscopy. Clin Chem; 45(9): 1530-5.

- 36 - Rouessac Francis, Rouessac Annick,(2004).** Analyse Chimique Méthodes et techniques instrumentales modernes 6e édition.
- 37 - Sawant S. D ,(2011).** FT-IR spectroscopy: principle, technique and mathematics. Vol 2 /issue 1/jan –mar .
- 38 - Schultz, C. P. Liu, K. Johnston, J. B. Mantsch, H. (1996) .** Study of chronic lymphocytic leukemia cells by FT-IR spectroscopy and cluster analysis. Leuk Res; 20(8): 649-55.
- 39- Shakhshiri Fall B.Z , (2009).** Determination of molecular structure by molecular spectroscopy . Chemistry 103.
- 40 - Simonescu Claudia Maria ,(2012).** Application of FTIR Spectroscopy in Environmental Studies, (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0>).
- 41 - Stuart .B , (2004) .** Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications . John Wiley & Sons, Ltd ISBNs: 0-470-85427-8 (HB); 0-470-85428-6 (PB)
- 42 - Theophanides Theophile , (2012).** Introduction to Infrared Spectroscopy ; National Technical University of Athens, Chemical Engineering Department, Radiation Chemistry and Biospectroscopy, Zografou Campus, Zografou, Athens Greece.
- 43 - Thompson Stephen ; Staley Joe , (2009) .** foundations of spectroscopy . the Improvement of Postsecondary Education (FIPSE), United States Department of Education.
- 44 - UC Davis Chem Wiki is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial-Share Alike 3.0 United States License (2014),**University of California.
- 45 - Véronique Jacob , (2010) .**Spectroscopie Infrarouge ; Salle de TP de Génie Analytique. IUT de Chimie de Grenoble.
- 46 - Wong, P. T. Wong, R. K. Caputo, T. A. Godwin, T. A. Rigas, B. (1991).**Infrared spectroscopy of exfoliated human cervical cells: evidence of extensive structural changes during carcinogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A; 88(24): 10988-92.
- 47 - Wood, B. R. Quinn, M. A. Burden, F. R. Mcnaughton, D, (1996) .** An investigation into FTIR spectroscopy as a biodiagnostic tool for cervical cancer Biospectroscopy; 2(3): 143-153.

48 - Zaydoun .S , (2012) .Cours de Spectroscopie / Principes généraux de la spectroscopie .Um5a-FSR / Licence Sciences de la Matière Chimie / Parcours «Sciences Analytiques, Qualité & Environnement » & Parcours « Sciences des Matériaux et des Minéraux ».Université de Rebat.

49 – Zaydoun.S,(2007).Les méthodes spectroscopiques .Um5a-FSR /Master de « Génie et Gestion de l’Eau et l’Environnement ». Université de Rebat.

ANNEXES

N°1 :

Tableau 2 : Quelques pics d'absorption attribués aux vibrations des protéines

Vibrations de la liaison peptidique		Vibrations des chaînes latérales	
Fréquence (cm ⁻¹)	Attribution	Fréquence (cm ⁻¹)	Attribution
3250-3300	Amide A (résonance de Fermi ν (N-H) avec amide II)	1716	ν_{as} (C=O) de COO ⁻ de l'aspartate
3090-3100	Amide B (résonance de Fermi ν (N-H) avec amide II)	1712	ν_{as} (C=O) de COO ⁻ du glutamate
1600-1700	Amide I ν (C=O) couplé avec ν (C-N) et δ (N-H)	1622	δ (CH ₂) de l'asparagine
1550	Amide II δ (N-H) couple avec ν (C-N)	1596	Histidine (mouvement du cycle)
1230-1330	Amide III δ (N-H) et ν (C-N)	1516	tyrosine (mouvement du cycle)
625-767	Amide IV δ (O=C-N) et autres modes	2400-2700	Cystéine ν (S-H)
640-800	Amide V δ (O=C-N-H) et autres modes	3486-3491	Tryptophane ν (N-H du noyau indole)
537-606	Amide VI δ (N-H) hors du plan		
200	Amide VII (torsion du squelette)		

ν vibration d'élongation, ν_{as} élongation antisymétrique, δ vibration de déformation

N°2 :

Tableau 3: Quelques pics d'absorption attribués à l'ADN

Fréquence (cm ⁻¹)			Attribution
ADN A	ADN B	ADN Z	
1710	1717	1692	ν (C=O) carbonyle
1240	1220	1265	ν_{as} (P=O)
1090	1085	1090	ν (P=O)
810-820	820-825		OPO diester
665 - 675	680 - 690	600 - 625	Guanine, respiration du noyau

N°3 :

Tableau 4 : Quelques pics d'absorption attribués aux polysaccharides

Fréquence (cm ⁻¹)	Attribution	Fréquence (cm ⁻¹)	Attribution
1700-1730	ν (C=O) de COOH	1050-1070	
1600-1650	Amide I ν (C=O) + ν (C-N)	1030	
1540-1560	Amide II δ (N-H) + ν (C-N)	1016-1024	α -glucose
1420	ν_s (COO ⁻)	966	C-C désoxyribose
1160-1170	ν (C-O-C), ν (C-C) β -glucose	930	Vibration du cycle
1120-1150	ν (C-O-C), ν (C-C) α -glucose	830	δ (C-H)
1105		805-812	α et β -mannanes
1080	ν (C-O-C) β -glucose		

N°4 :

Tableau 5 : Quelques pics d'absorption attribués aux phospholipides

Fréquence (cm ⁻¹)	Attribution	Fréquence (cm ⁻¹)	Attribution
2950-2960	ν_{as} (C-H) de CH ₃	1470-480	δ (C-H) de CH ₂
2920-2930	ν_{as} (C-H) de CH ₂	1460	δ (C-H) de CH ₃
2865-2880	ν (C-H) de CH ₃	1230	ν_{as} (P=O) de PO ₂
2840-2860	ν (C-H) de CH ₂	1170-1200	ν (C-O-C) des esters
1730-1760	ν (C=O) des esters	1080	ν (P=O) de PO ₂

N°5 :

Tableau 6 : Principales bandes d'absorption caractéristiques des biomolécules dans un échantillon biologique (ν : élongation, δ : déformation)

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Attribution	Molécule
≈ 3500	ν OH	Groupes Hydroxyles
≈ 3200	ν NH Amide A	Protéines
3010	=C-H	Lipides
2956	ν CH ₃ asymétrique	Lipides
2921	ν CH ₂ asymétrique	Lipides
2870	ν CH ₃ symétrique	Lipides
2850	ν CH ₂ symétrique	Lipides
1742	ν C=O	Triglycérides
1738	ν C=O	Phospholipides
1695-1637	Amide I	Protéines
1636	δ OH	H ₂ O
1550	Amide II	Protéines
1468	CH ₂ cisaillement	Lipides
≈1400	ν C=O des fonctions COO ⁻	Acides Gras Acides Aminés
1310-1240	Amide III	Protéines
1250-1220	ν P=O asymétrique	Phosphodiester
1100-1080	ν PO ₂ symétrique	Phospholipides Acides nucléiques
1200-900	C-O-C C-O-P, P-O-P	Oligo- et Poly- saccharides

N°6 :

Tableau 7 : Table des noms usuels pour les différentes régions du spectre d'un échantillon biologique

Fréquence (cm ⁻¹)	Région	Fréquence (cm ⁻¹)	Région
2800-3000	Lipides	1350-1500	Région mixte
1700-1800	Esters des lipides	1250-1350	Amide III
1500-1700	Protéines	1200-1250	Acides nucléiques
1500-900	Empreinte	900-1200	Sucres

N°7 :

Tableau 8 : Attribution des principaux bandes IRTF des échantillons cellulaires et tissulaires

Fréquence (cm ⁻¹)	Attribution	Fréquence (cm ⁻¹)	Attribution
3250-3800	ν (O-H)	1380-1430	ν (C-H) de CH des protéines
2950-2960	ν_{as} (C-H) de CH ₃	1400	ν_{as} (C=O) de COO ⁻
2920-2930	ν_{as} (C-H) de CH ₂	1230-1330	Amide III
2865-2880	ν (C-H) de CH ₃	1240	ν_{as} (P=O) de PO ₂
2840-2860	ν (C-H) de CH ₂	1150-1170	ν (C-O-C) des esters
1700-1750	ν (C=O) esters des lipides	1120	ν (C-O) des riboses
1625-1695	Amide I	1080-1085	ν (C-O-C), ν (P=O)
1525-1560	Amide II	1050-1070	ν (C-O) glycogène
1515	Tyrosine (en dérivée 2 ^{nde})	1024	ν (C-O) glycogène
1460-1470	δ (C-H) de CH ₃ épaulement	968	ν (C-C/C-O) des phosphates et des acides nucléiques
1440-1460	δ (C-H) de CH ₂		

RESUME :

Le travail que nous avons entrepris a pour objectif, la mise en marche d'un nouvel appareil d'analyse spectroscopique par infrarouge (FTIR) .nous avons testé cet appareil par une étude spectroscopique d'un échantillon d'éthanol.

L'analyse des absorbances des différents groupements constituant la molécule, fait bien paraître qu'il s'agit de l'éthanol .notamment les bandes caractérisant les groupements OH d'un alcool, C-H dans CH₂ et CH₃ ainsi que la liaison CO.

Mots clés : spectroscopie, FTIR, éthanol.

المخلص :

يهدف العمل الذي قمنا به الى اظهار عمل الجهاز الجديد للتحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء (FTIR) حيث اختبرنا الجهاز بدراسة طيفية للإيثانول.

تحليل الامتصاص لمختلف المجموعات المكونة للجزيء, اظهر جيدا انه الإيثانول .خاصة الوظيفة OH المميزة للكحول, والرابطة C-H في CH₂ و CH₃ و الرابطة CO.

الكلمات الدالة: التحليل الطيفي, FTIR, الإيثانول.

Summary :

The work we have undertaken aims, starting a new infrared spectroscopic analysis apparatus (FTIR). We tested the appliance by a spectroscopic study of a sample of ethanol.

The analysis of the absorbances of the various components molecule clusters, because it is well seem ethanol. Including bands characterizing the OH groups of an alcohol, CH in CH₂ and CH₃ as the bond CO.

Key words : Spectroscopy, FTIR, ethanol.