

SPECTROSCOPIE dans le Proche Infrarouge

ÉCOLE TECHNIQUE SUPÉRIEURE DU LABORATOIRE

95, rue du Dessous des Berges, 75013 PARIS

<http://ligodin.free.fr>

godin.lionel@orange.fr

Licence des Industries Pharmaceutiques, Cosmétologiques,
et de Santé : gestion, production et valorisation.

Option CDA - Année 2024/2025



SOMMAIRE

- 1) Principe de la spectrométrie PIR (NIR)
- 2) Appareillage
- 3) Applications de la spectrométrie d'absorption par transmission dans le PIR

- 4) Applications de la spectrométrie d'absorption par réflexion dans le PIR
- 5) Interaction de la lumière avec un échantillon solide
 - Effets de la taille des particules

- 6) Avantages de la spectroscopie NIR
- 7) Inconvénients de la spectroscopie NIR
- 8) Résolution utilisée en PIR
- 9) Le pré-traitement informatique des spectres en PIR
 - 9.1 La normalisation
 - 9.2 Les dérivées
 - 9.3 Avantages et inconvénients du pré-traitement de données en PIR

- 10) Identification en PIR : chercher l'identité d'une substance
 - 10.1 Qualification de matière première
 - 10.2 OPUS/IDENT : construction de bibliothèque
 - 10.3 OPUS/IDENT : identification de nouveaux échantillons

- 11) Quantification en PIR :
construction d'un modèle de
calibration
 - 11.1 OPUS/QUANT : Mesure, calibration et
validation
 - 11.2 OPUS/QUANT : Dosage d'échantillons de
concentration inconnue

1) Principe de la spectrométrie PIR (NIR)

- La région du spectre correspondant au PIR s'étend de la limite supérieure du visible 800 nm jusqu'à 2500 nm (12800 à 4000 cm^{-1}). Dans ce domaine, les bandes d'absorption sont constituées d'harmoniques ou de combinaison de bandes fondamentales de vibration.
- Les liaisons impliquées sont habituellement C-H, N-H et O-H. Ces bandes étant soit des harmoniques supérieures, soit des combinaisons de bandes fondamentales, leur coefficient d'absorption molaire est peu élevée et les limites de détection sont de l'ordre de 0,1 %.
- À l'opposé de la spectroscopie MIR, le domaine PIR est surtout exploité pour l'analyse **quantitative** de routine d'espèces tel que l'eau (liaisons OH), les protéines (liaisons NH), les hydrocarbures de faible masse molaire (liaisons CH), ainsi que les graisses dans l'agriculture, les produits alimentaires, le pétrole et les industries chimiques. On utilise des mesures de transmission, aussi bien que des mesures de réflexion diffuse, ces dernières étant les plus fréquemment utilisées.

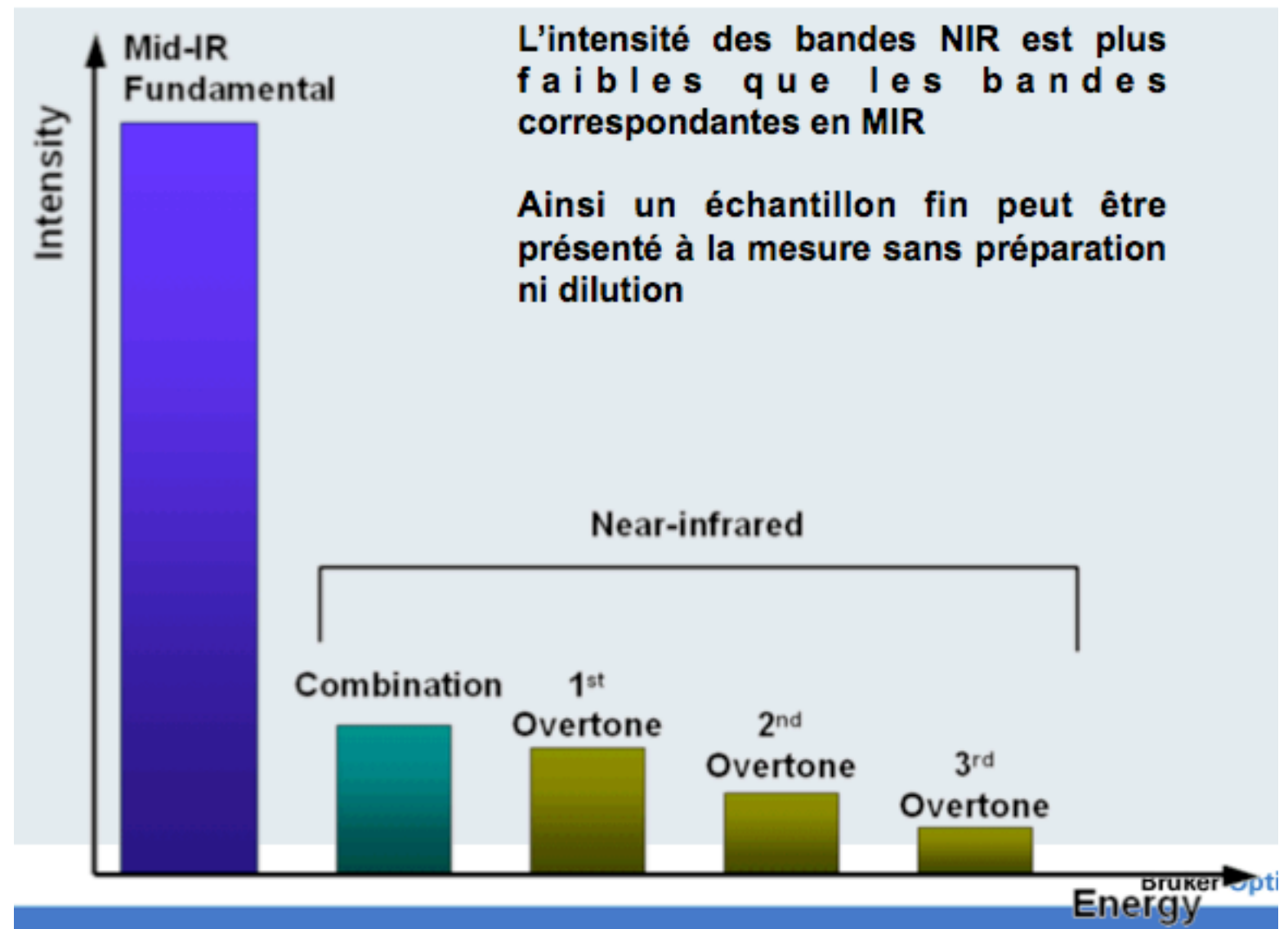
✎ Excitation et vibrations

- bandes harmoniques
- bandes de combinaison

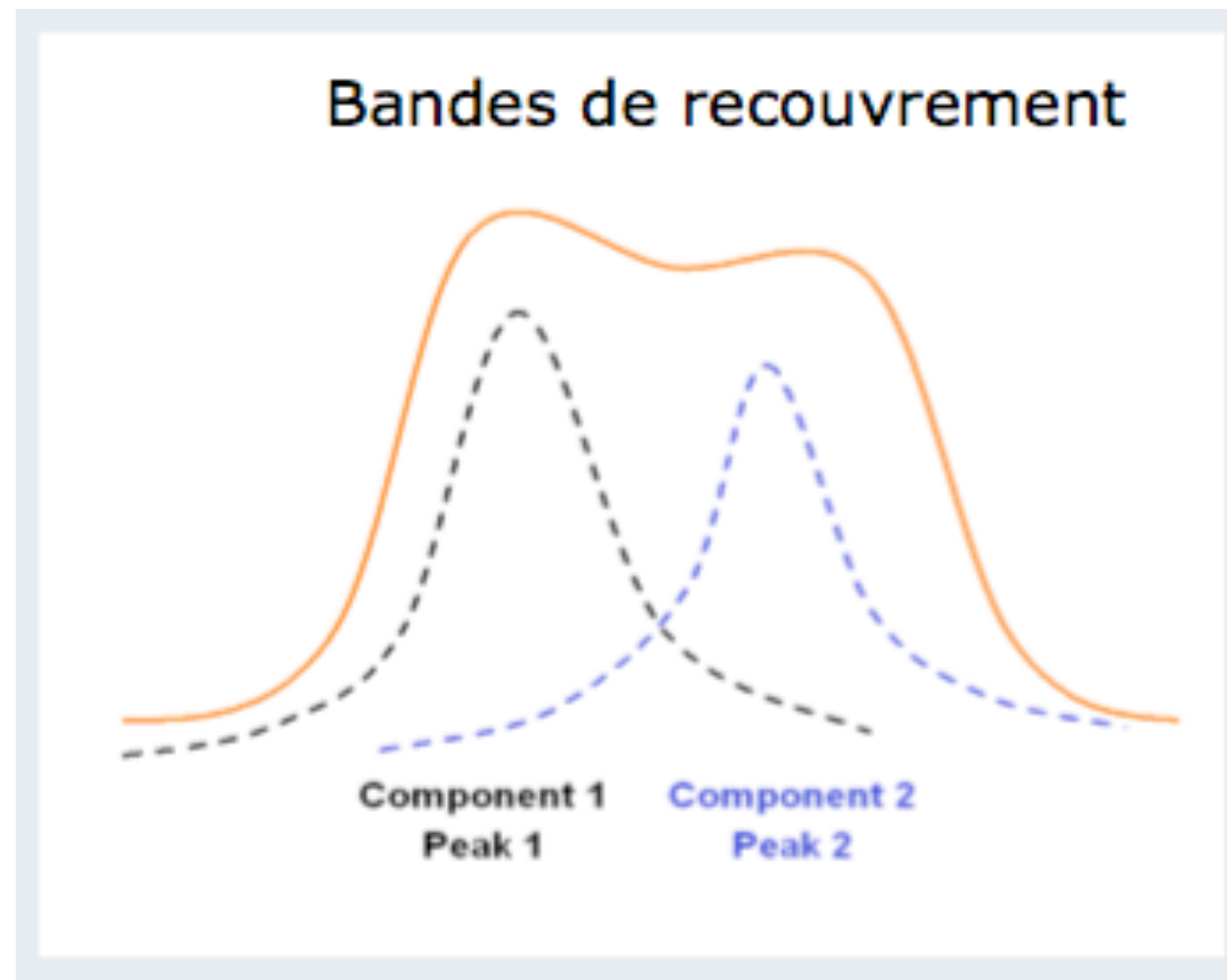
Evaluations des groupes fonctionnels OH, CH, NH

✎ Nécessite une

comparaison avec des données connues aussi bien pour les modèles de quantification que pour la qualification.

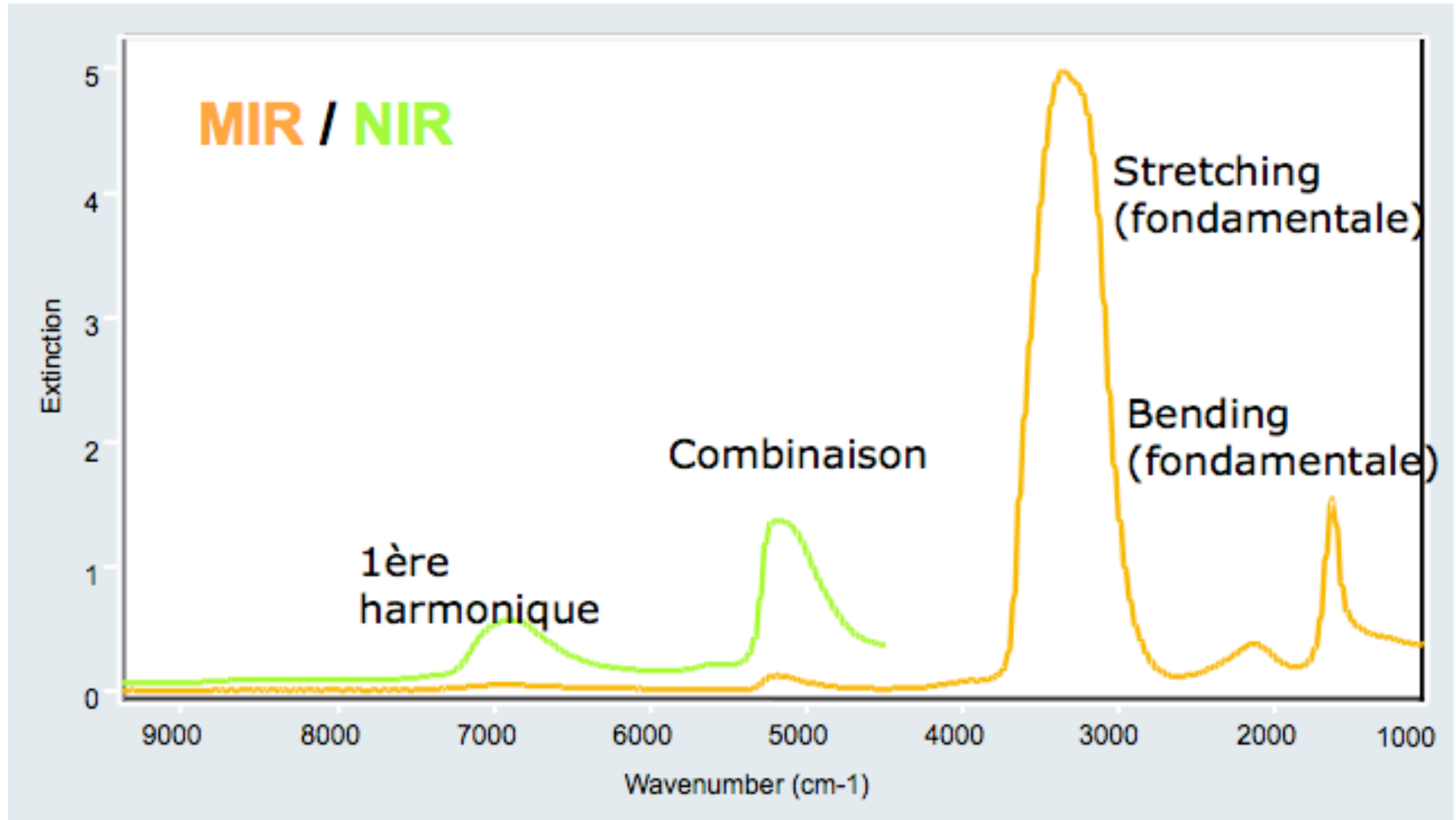


- ☞ Contient de larges bandes de recouvrement dues à de multiples composantes et /ou de multiples groupes fonctionnels.

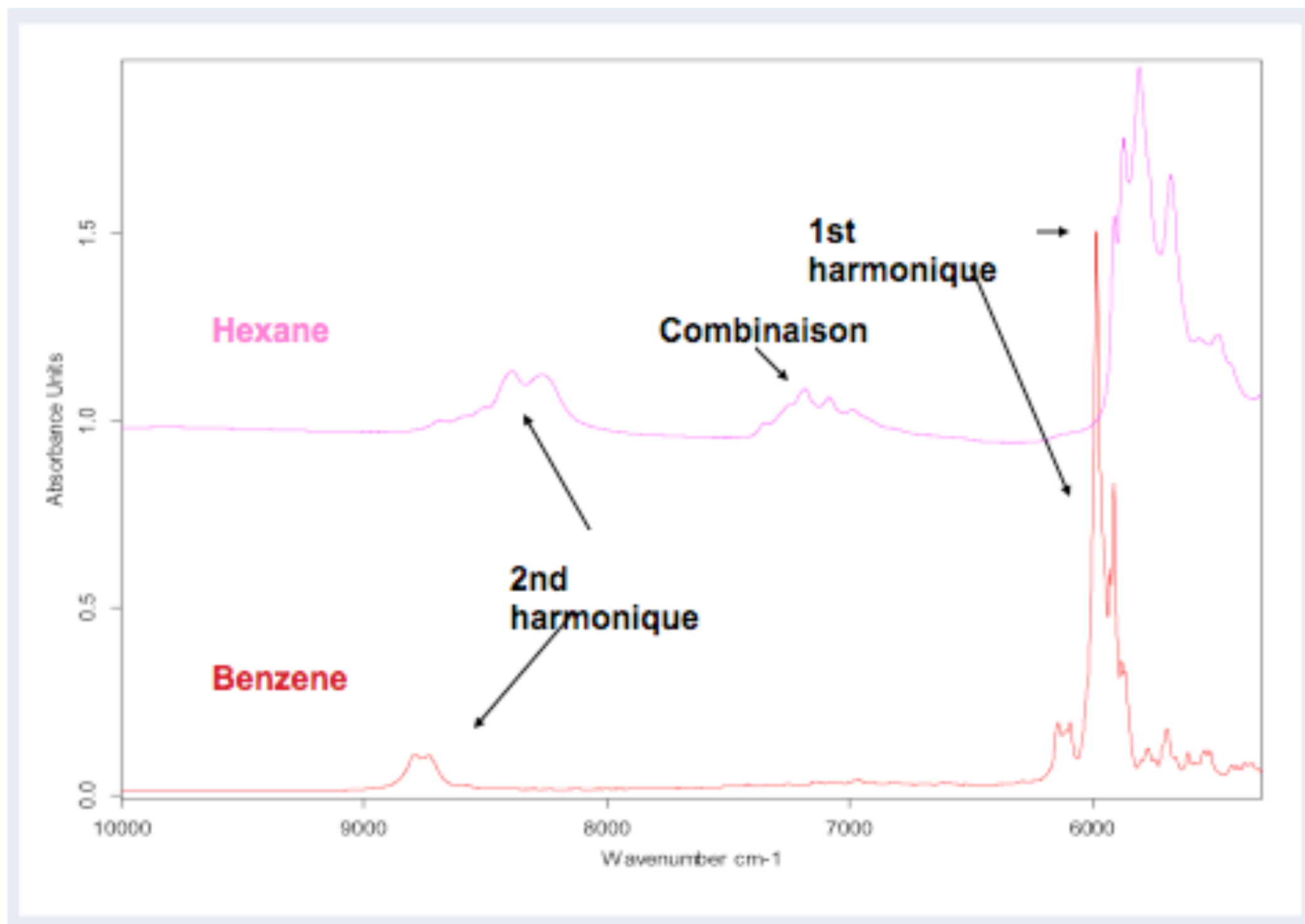


Exemple :

Spectre de l'eau



Composés avec des liaisons C-H ou C=C



Composés avec des liaisons O-H ou N-H

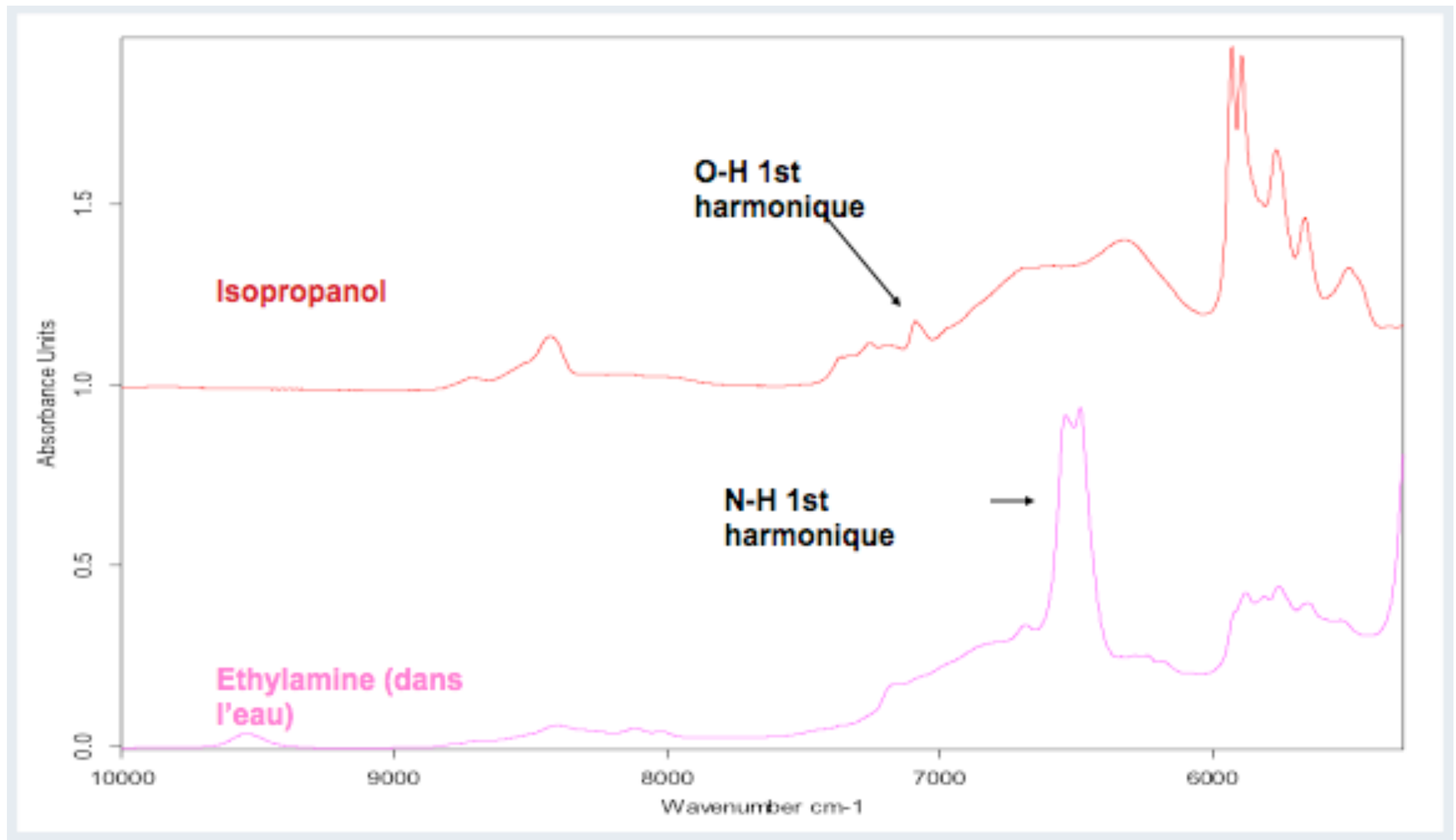
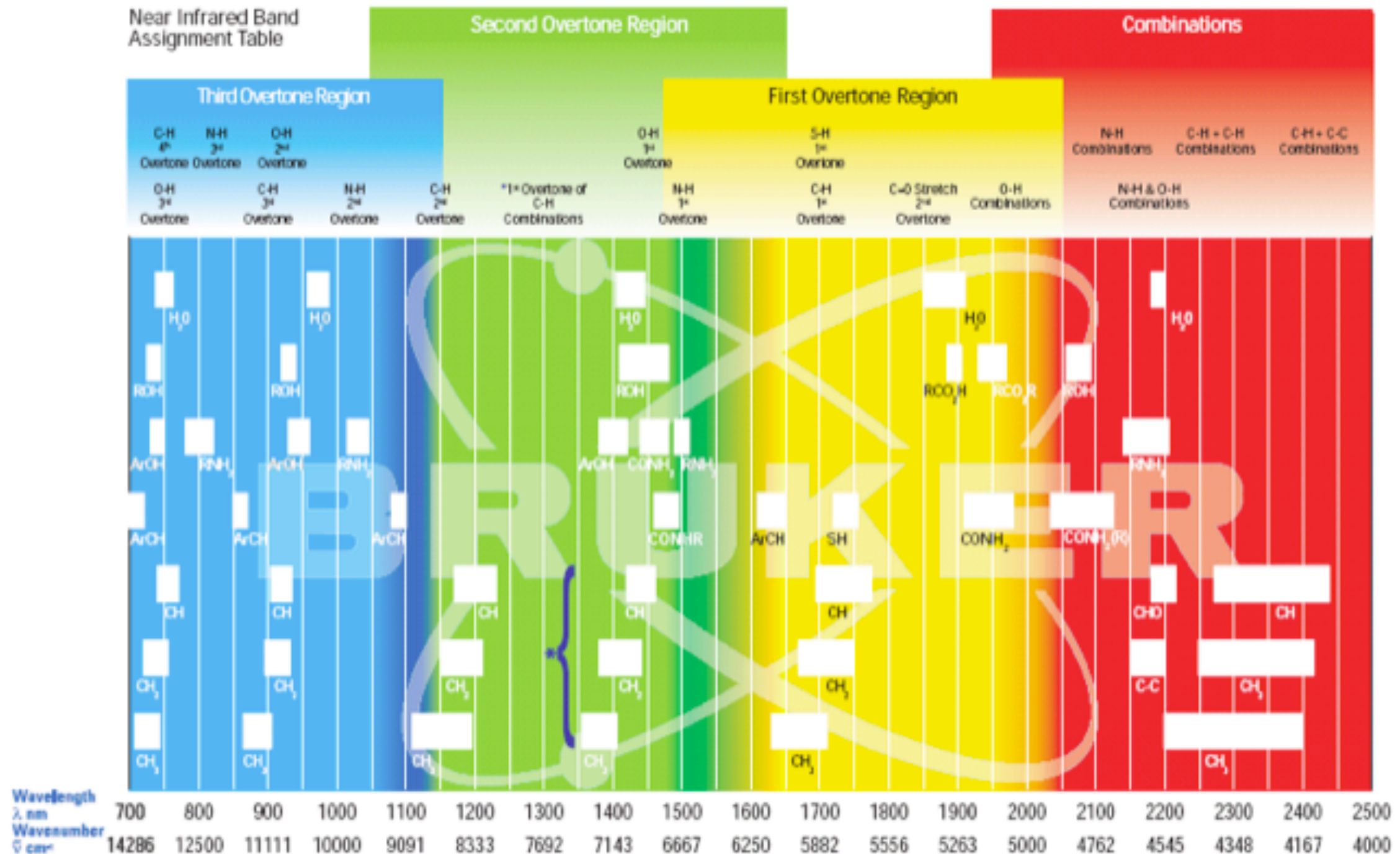


Table des bandes harmoniques et de combinaison

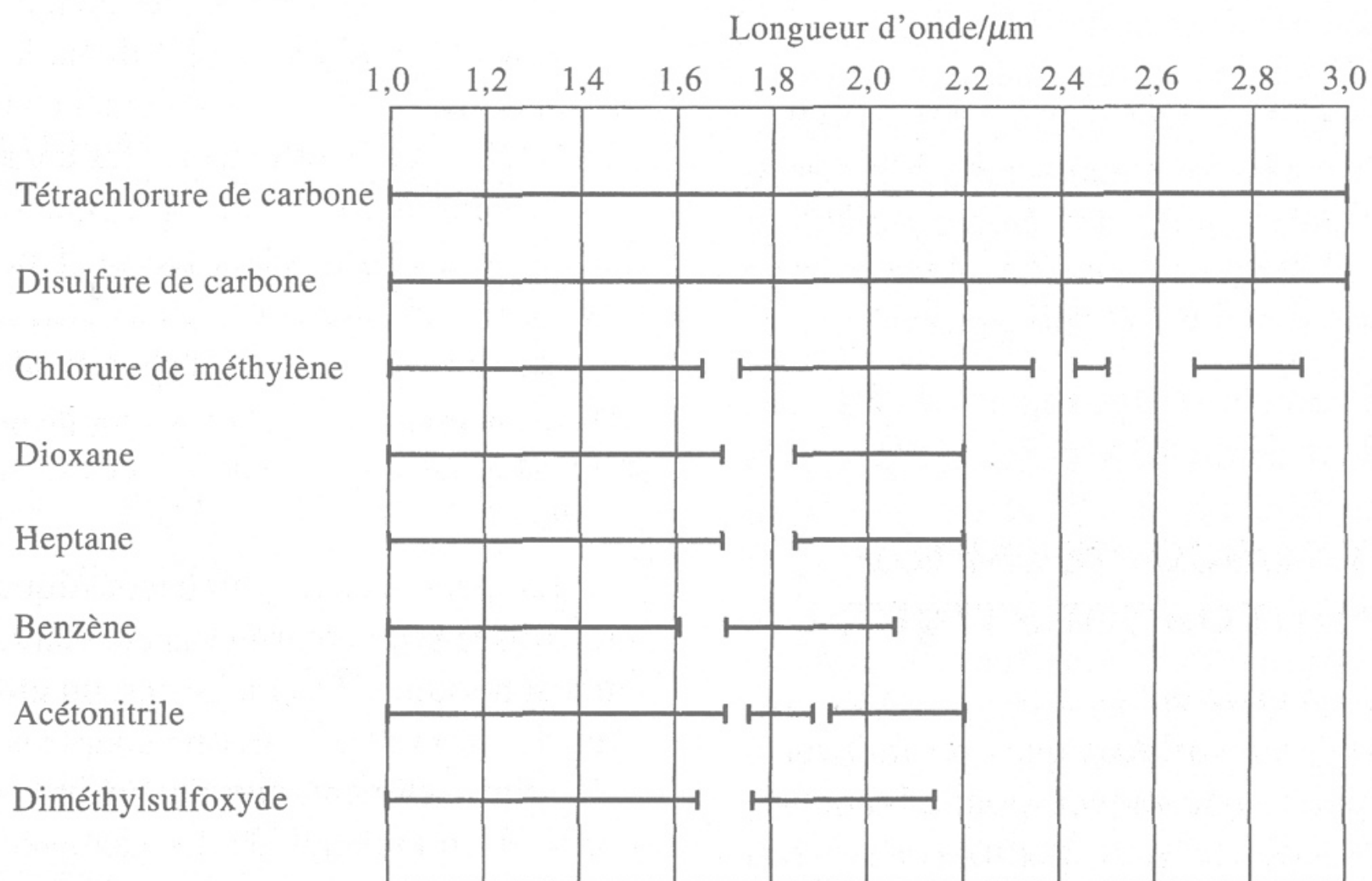


◆ 2) Appareillage

- ☞ L'appareillage utilisé dans le PIR est semblable à celui que l'on utilise en spectroscopie d'absorption dans l'UV/Visible.
- ☞ Les sources sont des lampes halogènes à filament de tungstène dotées de fenêtre en quartz.
- ☞ Les détecteurs sont souvent des photoconducteurs au sulfure de Plomb.

☞ On peut utiliser différents solvants dans le PIR.

On remarque qu'il n'y a que deux solvants transparents dans la totalité du PIR :
le CCl_4 et le CS_2 .



Solvants utilisés en spectroscopie dans l'infrarouge . Les lignes en trait plein indiquent les domaines où la transparence est satisfaisante lors de l'utilisation de cellules de 1 cm.

3) Applications de la spectrométrie d'absorption par transmission dans le PIR

■ Contrairement à la spectroscopie dans le MIR, les spectres dans le PIR sont moins utiles dans l'identification, mais plus utiles dans l'analyse quantitative des composés contenant des groupes fonctionnels constitués d'un atome d'H lié à un atome de C, N ou O.*

■ Parmi les principales applications, on peut citer :

- Le dosage de l'eau dans de nombreux échantillons, tel que le glycérol, l'hydrazine, les films organiques et l'acide nitrique fumant;
- Le dosage des phénols, alcools, acides et hydroperoxydes basé sur la première harmonique de la bande de vibration d'élongation de O-H qui absorbe à 7100 cm^{-1} ;
- Le dosage d'esters, de cétones et d'acides, basé sur leur absorption entre 3300 et 3600 cm^{-1} , qui, dans ce cas, est due à la première harmonique de la vibration d'élongation du groupement carbonyle.

- Le dosage des amines primaires et secondaires :

■ Les amines primaires sont analysés directement à partir de mesures de l'absorbance d'une combinaison de la bande d'élongation de N-H aux environs de 5000 cm^{-1} (les amines secondaires et tertiaires n'absorbent pas dans ce domaine)

■ Les amines primaires et secondaires possèdent plusieurs bandes qui peuvent se recouvrir dans la région qui s'étend de 3300 à 10000 cm^{-1} , et sont dues aux différents modes de vibrations de N-H ainsi qu'à leurs harmoniques. Ces bandes n'existent pas pour les amines tertiaires.

Par conséquent, la concentration de l'amine secondaire peut être déterminée à partir de l'une de ces bandes après correction de l'absorption due à l'amine primaire.

4) Applications de la spectrométrie d'absorption par réflexion dans le PIR

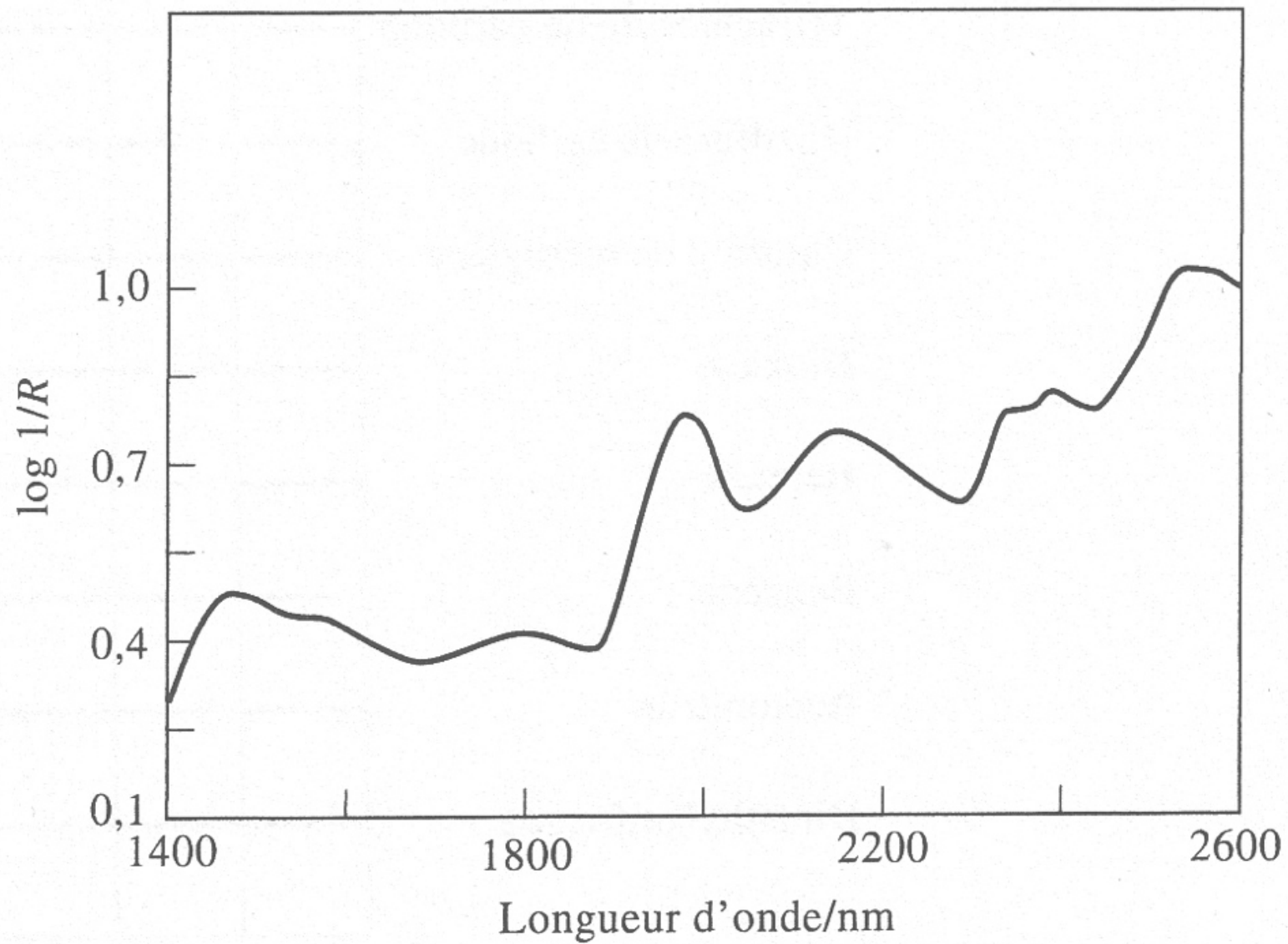
- ☞ La spectrométrie de réflexion dans le PIR est devenue un outil essentiel dans l'analyse quantitative de routine des constituants de solides finement divisés.
- ☞ Cette technique est largement utilisée dans la détermination de l'humidité d'échantillons, dans l'analyse des protéines, de l'amidon, de l'huile, des lipides et de la cellulose dans des produits agricoles tel que le blé et les oléagineux.

En spectroscopie de réflexion dans le PIR, le solide finement divisé est irradié par une ou plusieurs bandes de rayonnement dans le domaine de l.o qui s'étend de 10000 à 4000 cm^{-1} .

L'onde traverse la couche superficielle de la particule et excite les modes de vibration de la molécule de l'analyte avant d'être diffusée dans toutes les directions, donnant naissance au phénomène de **réflexion diffuse**.

☞ On obtient ainsi un spectre de réflexion qui dépend de la composition de l'échantillon.

Exemple : pour le blé



Spectre de réflexion diffuse d'un échantillon de céréale.

☞ Ici, l'échelle des ordonnées est le log de l'inverse de la réflectance R.

$$R \approx I/I_0$$

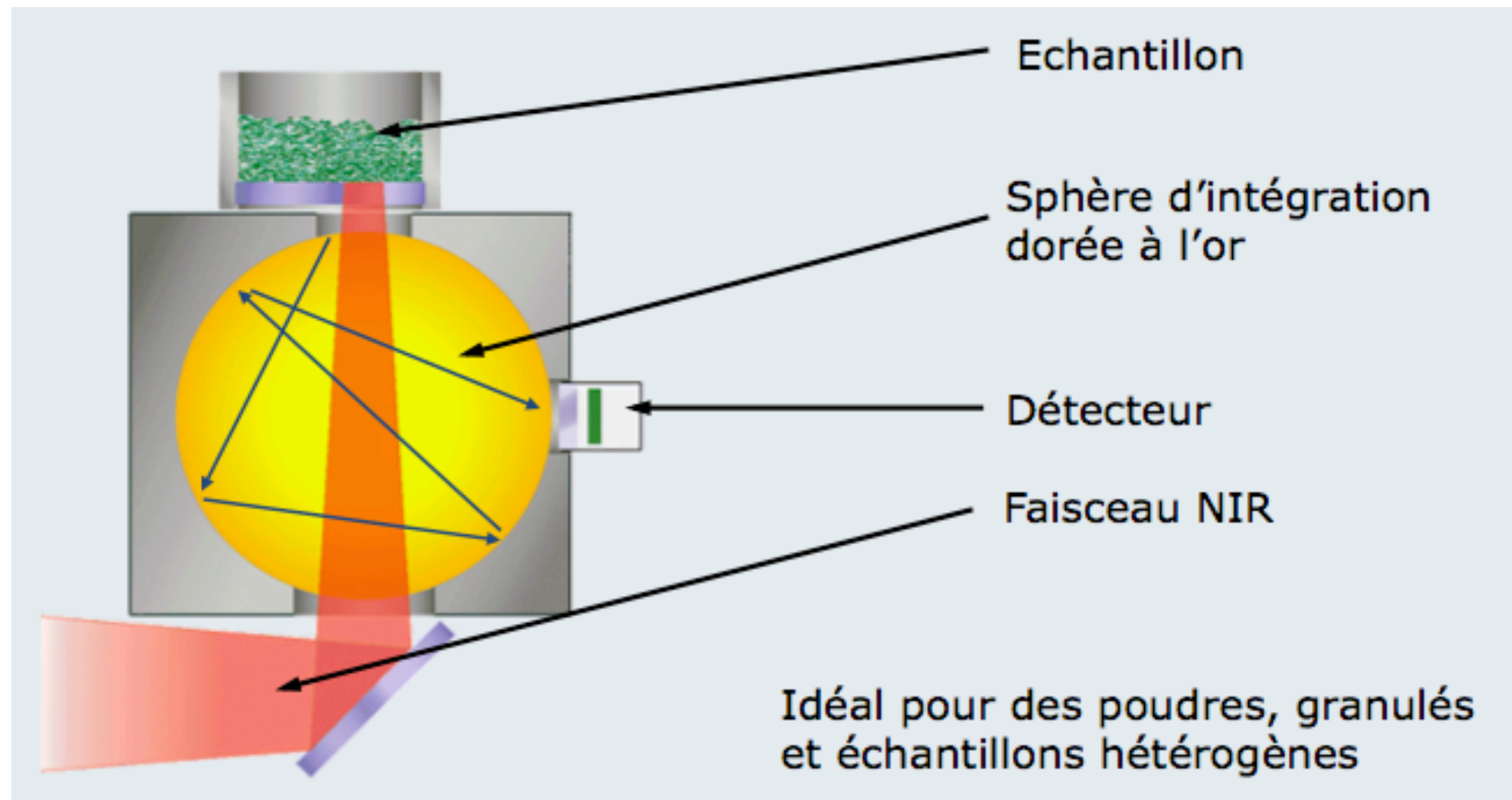
Où I représente l'intensité de l'onde réfléchiée par l'échantillon,
 I_0 l'intensité de l'onde réfléchiée par un étalon tel que le sulfate de baryum ou l'oxyde de magnésium finement broyé.

☞ Le pic de réflexion à 1940 nm, dû à l'eau, est utilisé pour déterminer l'humidité de l'échantillon.

☞ Le pic situé à 2100 nm est en réalité la somme de 2 pics qui se recouvrent, le premier dû à l'amidon, le second aux protéines.

En effectuant des mesures à 2 l.o dans cette région, on peut déterminer la concentration de chaque composant.

Le schéma ci-dessous présente un exemple de spectrophotomètre à réflexion diffuse utilisant une sphère d'intégration.



Les parois intérieures de la sphère d'intégration qui entoure l'échantillon sont recouvertes d'un matériau dont le pouvoir de réflexion est quasi parfait.

☞ Le rayonnement réfléchi par l'échantillon atteint le détecteur après plusieurs réflexions sur les parois de la sphère.

☞ L'étalonnage d'un appareil tel que celui représenté précédemment constitue souvent une tâche difficile. En premier lieu, il est nécessaire de se procurer au moins 30 à 50 échantillons du matériau à analyser, qui contient l'analyte à une concentration proche de celle qui doit être mesurée.



- Identification

- Matières Premières
- Polymères et papiers

- Quantification

- Mélanges
- Humidités dans des poudres et granulés
- Suivi de polymérisation
- Graisses, protéines et humidité en Food & Feed
- Fibres et matières sèches en Feed

Exemple : 1 : Pour analyser les protéines dans le blé, il est nécessaire de disposer de 30 à 50 échantillons de blé qui contiennent entre 10 et 20 % de protéines.

Chaque échantillon est soigneusement analysé par la méthode de Kjeldahl. Les échantillons sont ensuite broyés de manière à ce que les dimensions des particules obtenues soient reproductibles;

☞ Leur réflectance est alors mesurée à 2 l.o au moins.

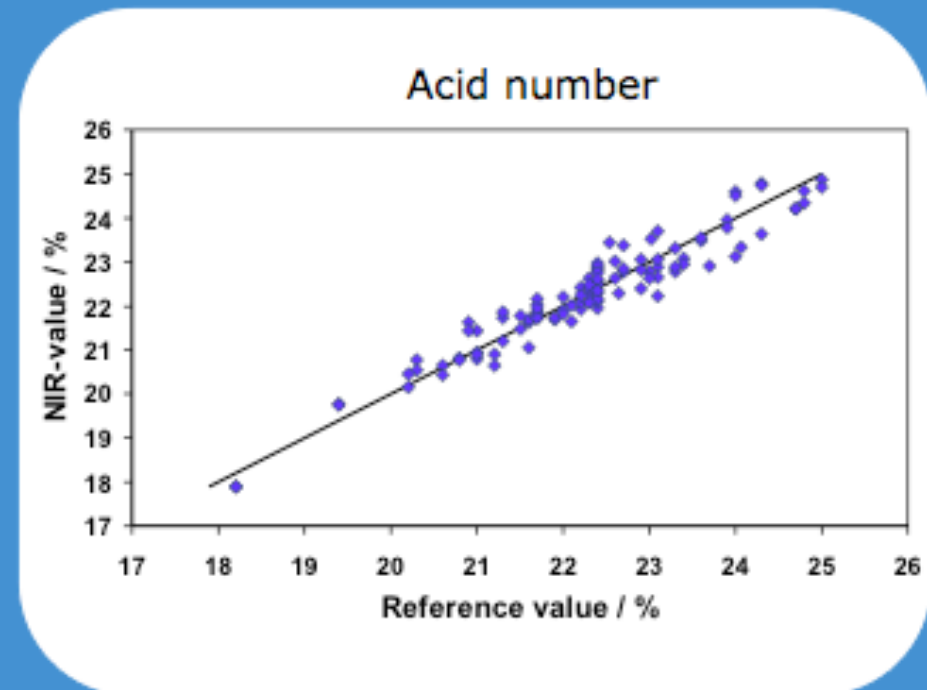
☞ Il est souvent nécessaire de consacrer beaucoup de temps et d'efforts à la détermination des l.o qui conduisent aux meilleurs résultats. Il sera alors possible, à partir de cette étude, de développer les équations qui relient la réflectance expérimentale au pourcentage en protéines et d'en contrôler la validité.

Exemple : 2 :

Indice d'acide dans des polymères

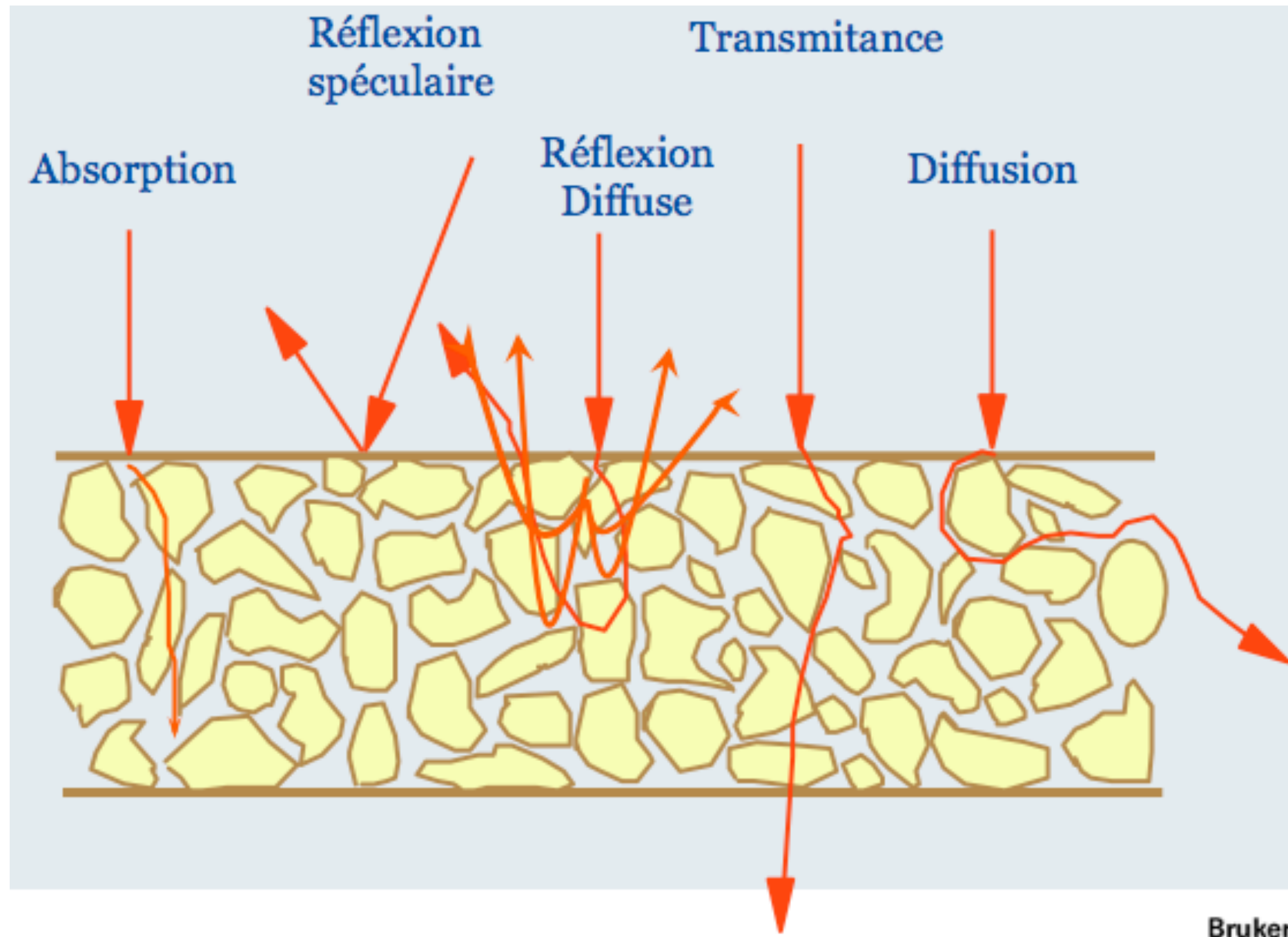
- 65 échantillons:
 - Range: 18 - 25 %
 - Erreur: 0,43 %
 - Méthode Robuste

Sphère d'intégration et support rotatif

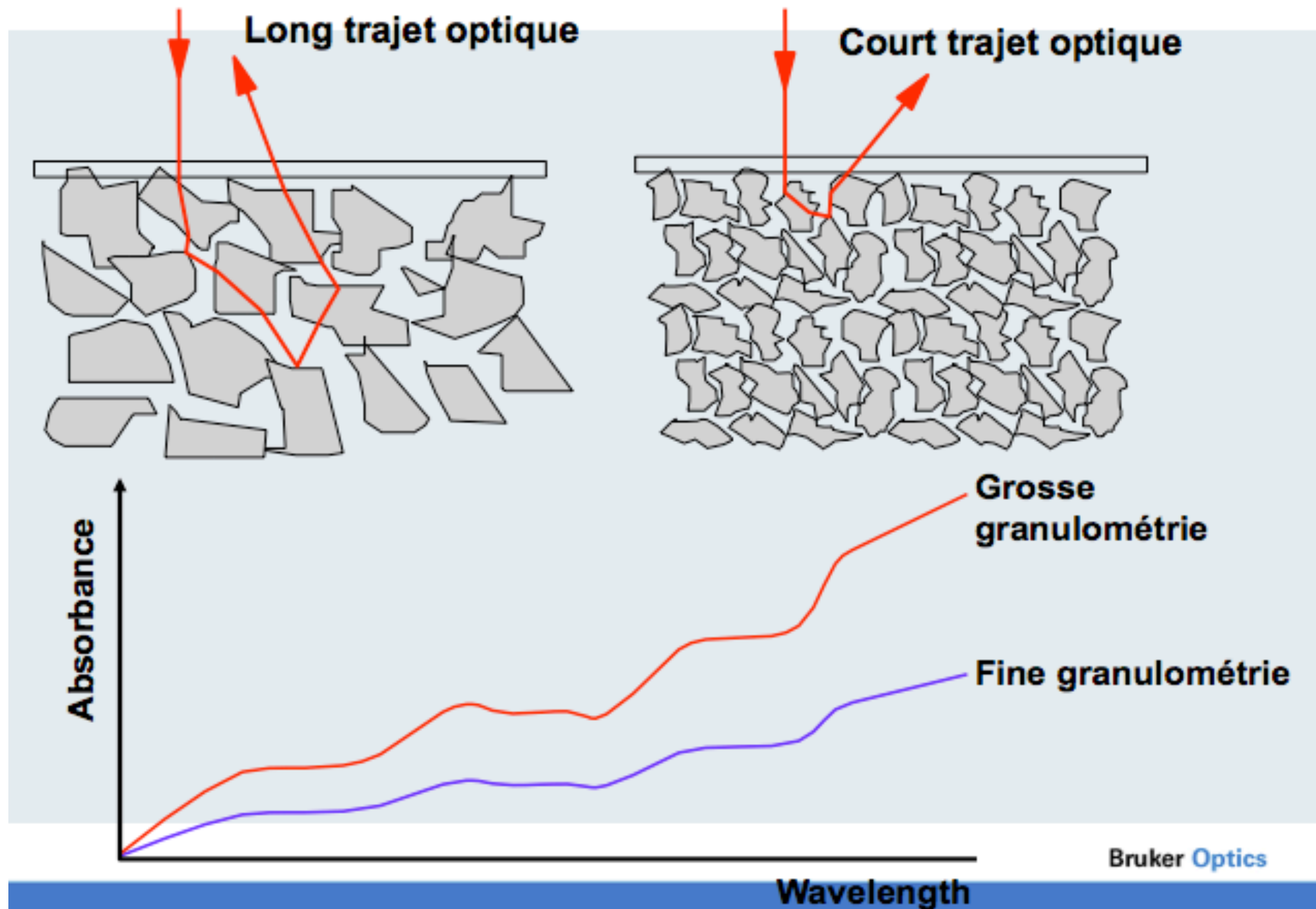


☞ L'avantage majeur des méthodes de réflexion dans le PIR réside dans leur rapidité et la préparation aisée de l'échantillon; en effet, dès que la méthode est mise au point, l'analyse de plusieurs espèces dans un échantillon solide ne prend que quelques minutes.
La justesse et l'exactitude sont en général de 1 à 2 %.

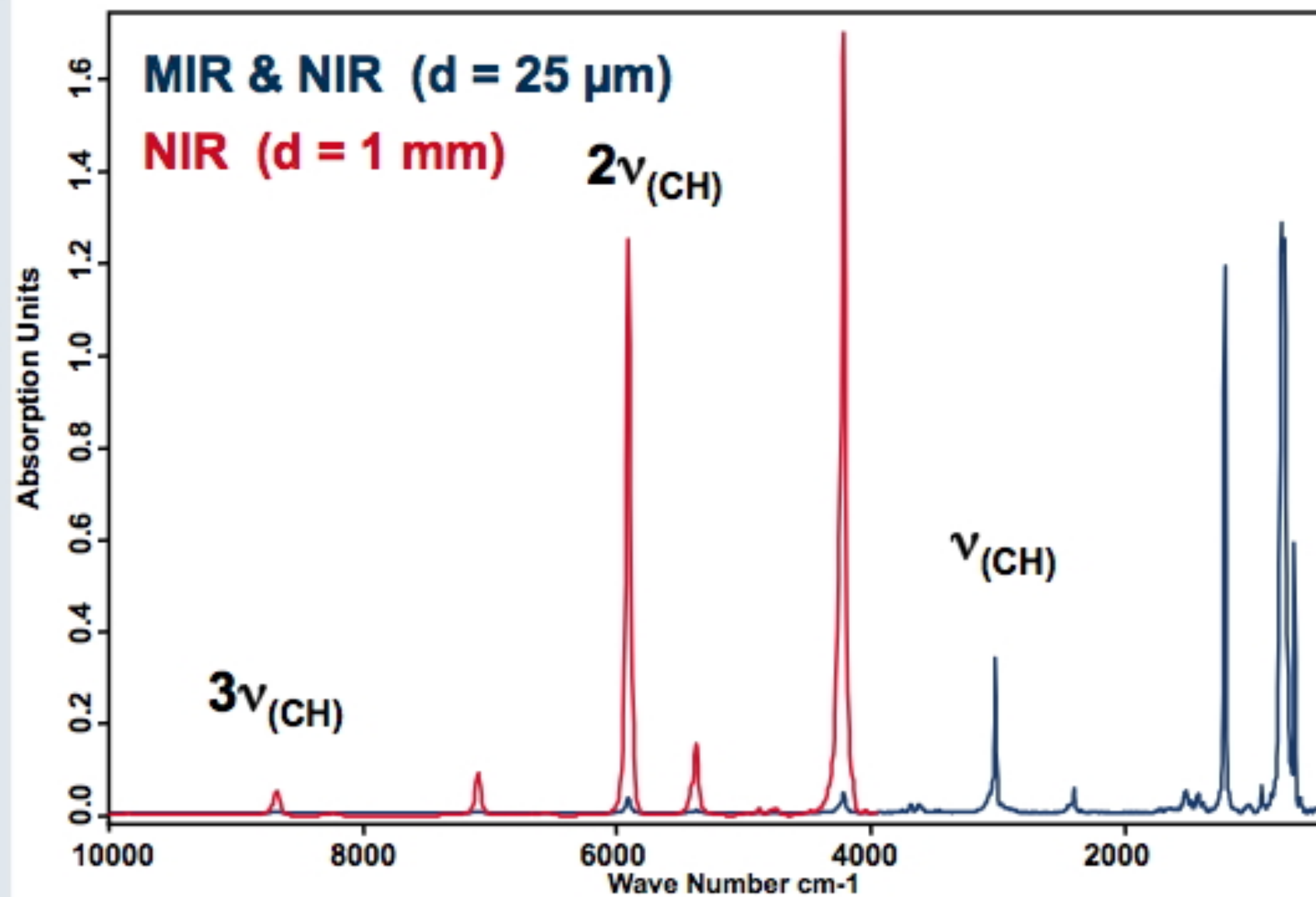
5) Interaction de la lumière avec un échantillon solide



Effets de la taille des particules



vibrations $\nu_{(\text{CH})}$ de CHCl_3 en MIR & NIR



6) Avantages de la spectroscopie NIR



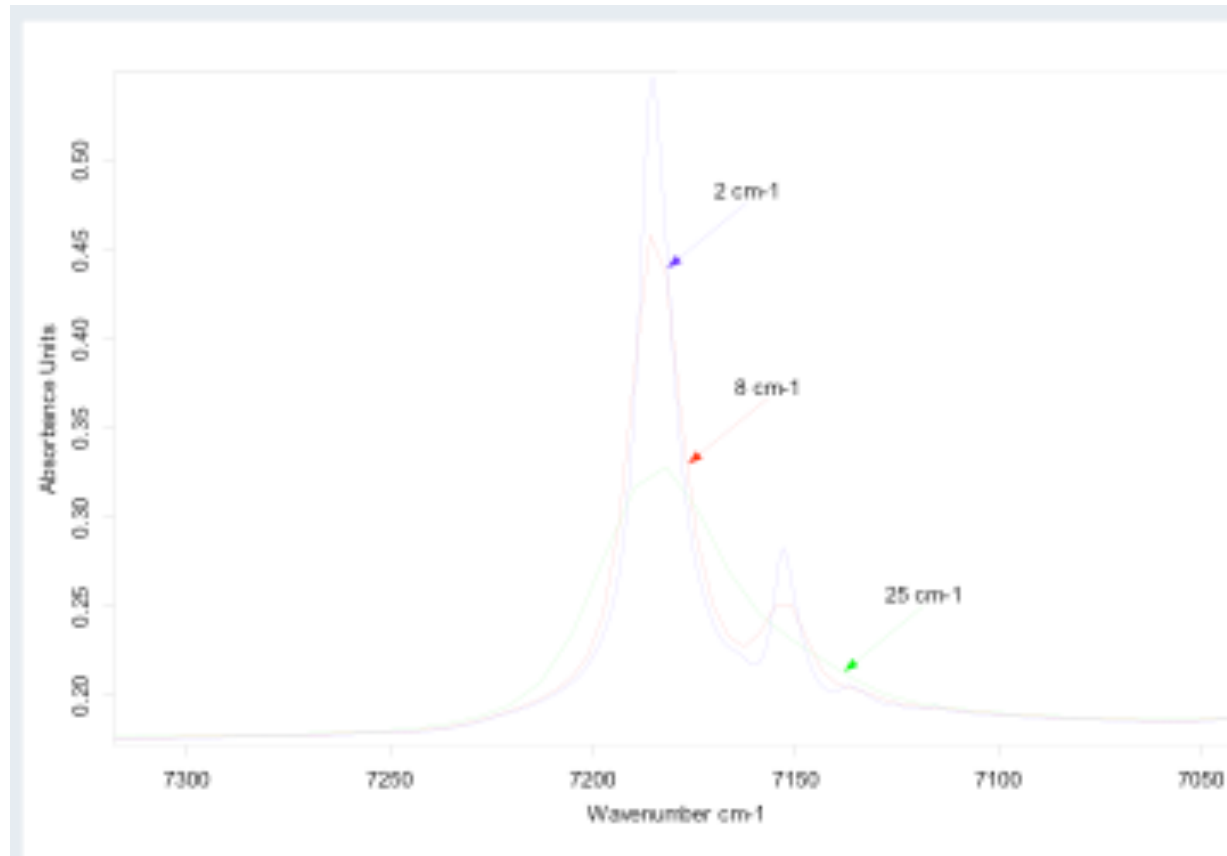
- Utilisation direct d'échantillons fins
- Mesures possible au travers du verre et des emballages
- Utilisation de fibres optiques
- Rapide et peu coûteux
- Grande reproductibilité

7) Inconvénients de la spectroscopie NIR



- ☞ Limitée aux fonctions OH, CH, NH.
- ☞ Nécessité d'effectuer une calibration longue et fastidieuse pour les analyses quantitatives.
- ☞ Peu efficace pour le dosage de traces.
- ☞ Est perçue comme compliquée à mettre en oeuvre.

8) Résolution utilisée en PIR



- **Résolution Standard = 8 cm⁻¹**
- Applications Food & Feed :
Résolution en général : 16 cm⁻¹
- Analyses de comprimé souvent
résolution 32 cm⁻¹

9) Le pré-traitement informatique des spectres en PIR

9.1 La normalisation

☞ La normalisation est utilisée comme pré-traitement aussi bien dans les analyses qualitatives que quantitatives.

☞ la normalisation est employée afin de compenser des variations en intensité de signal durant l'enregistrement des spectres, variations dues à des effets de diffusion de lumière, de taille de particules, de différences d'épaisseurs...

On peut distinguer 3 types de normalisations :

La normalisation Min-Max :

- ☞ Soustraction d'un offset puis le maximum en y est placé à 2 (par exemple) par l'emploi d'une constante (emploi similaire à la normalisation vectorielle).

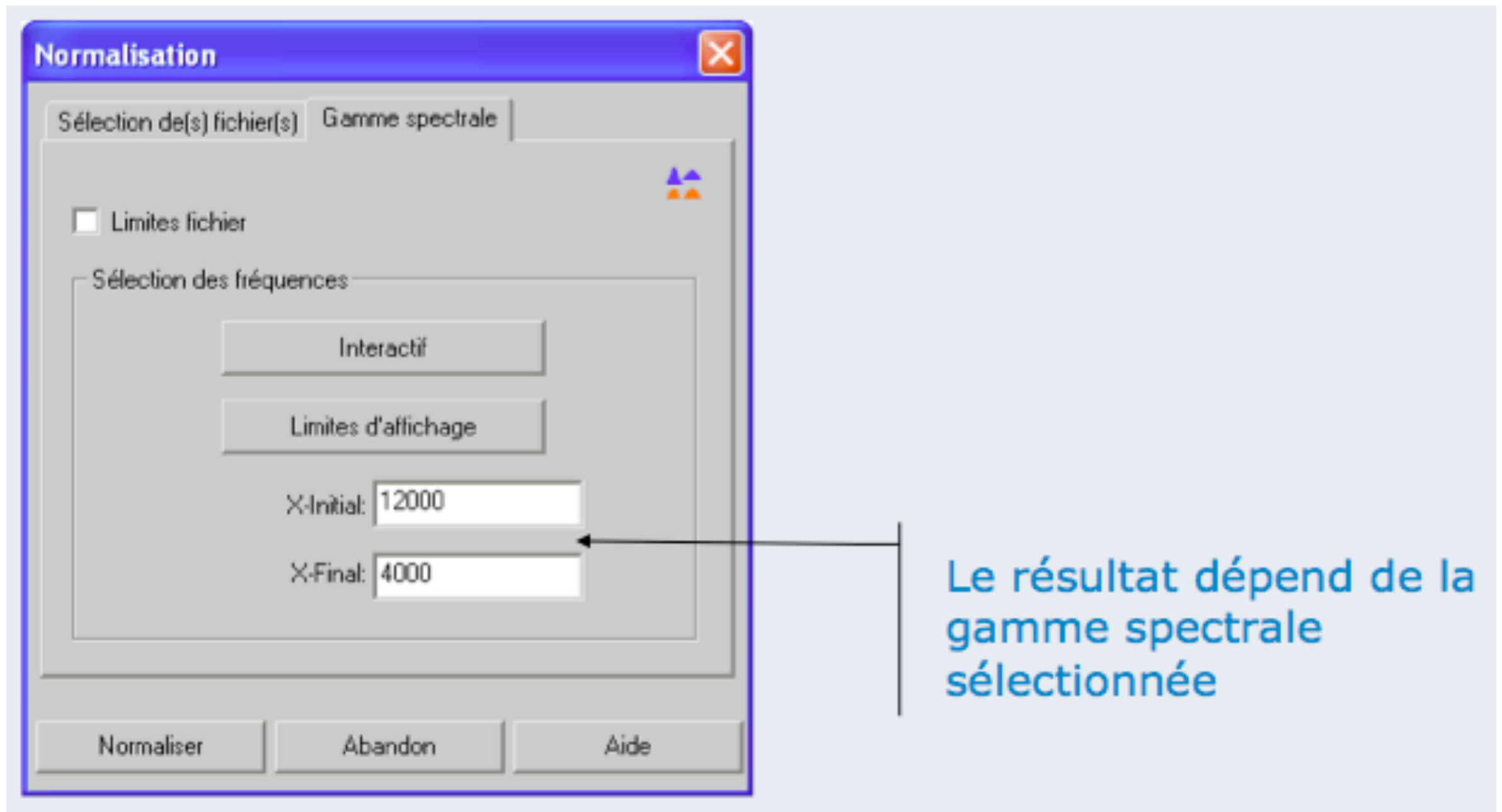
Correction d'offset :

- ☞ Décalage du spectre afin d'avoir la valeur y mini égale à 0.

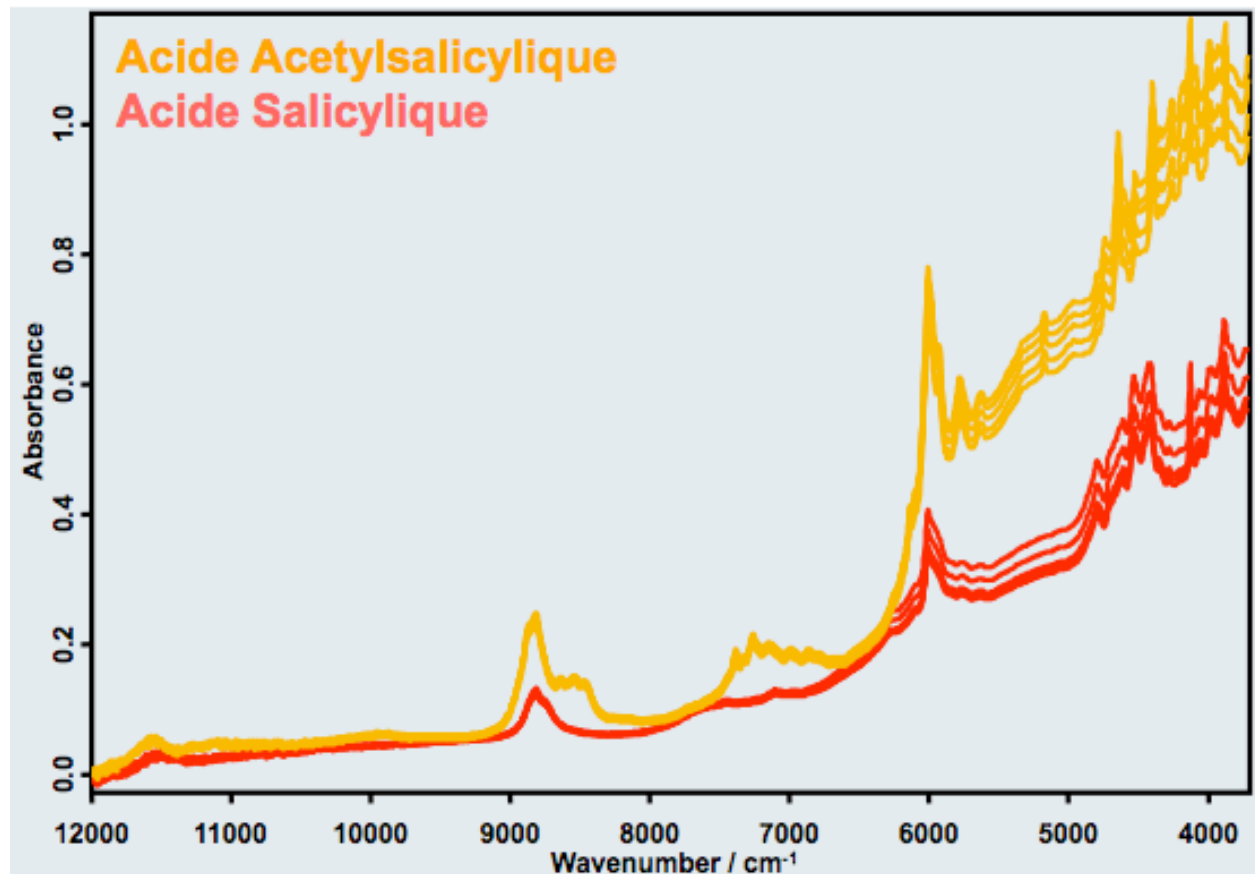
La normalisation vectorielle :

- ☞ Calcul de l'intensité moyenne.
- ☞ Soustraction de cette moyenne au spectre.
- ☞ La somme du carré des intensités est calculée.
- ☞ Le spectre est divisé par la racine carrée de cette somme.

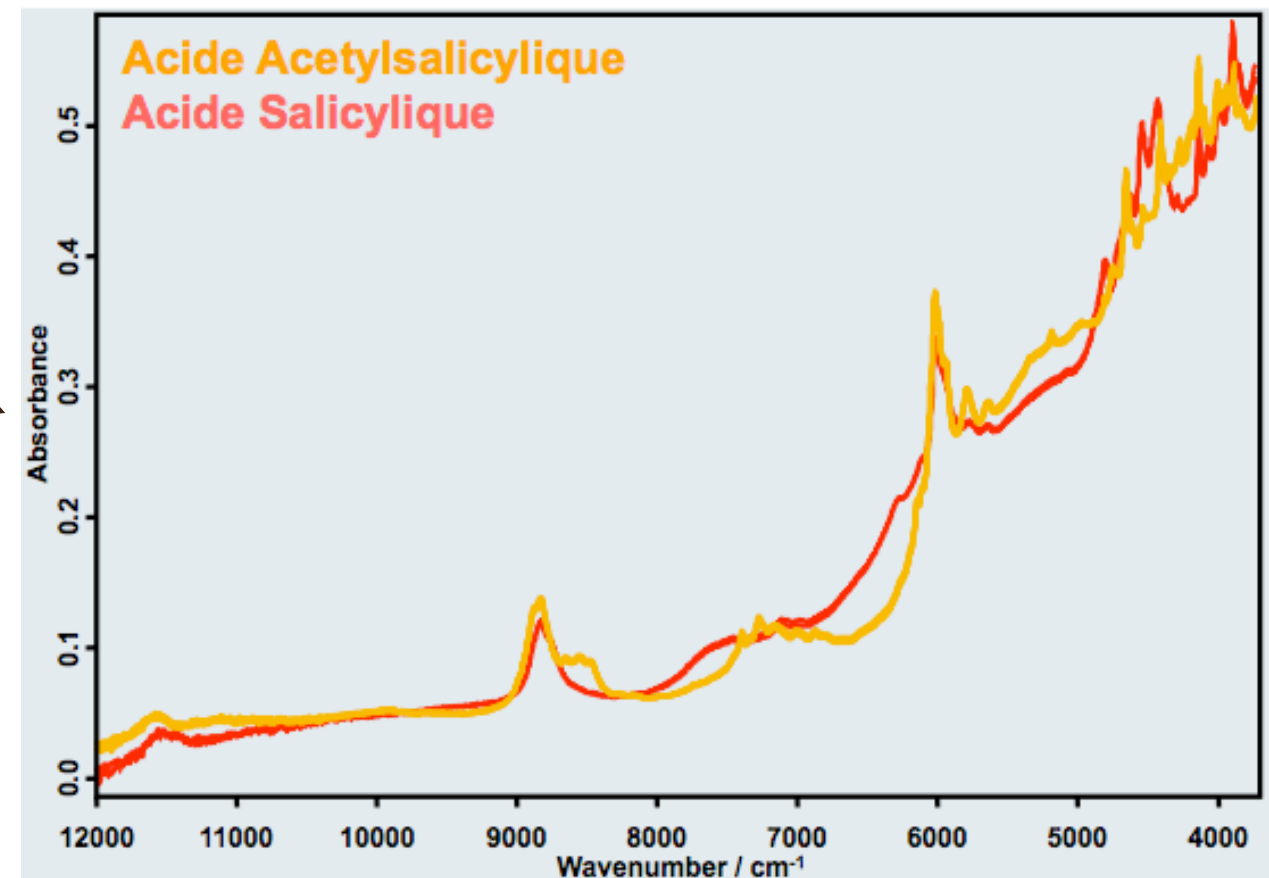
La normalisation vectorielle dépend de la gamme utilisée :



Exemple de correction en normalisation vectorielle :



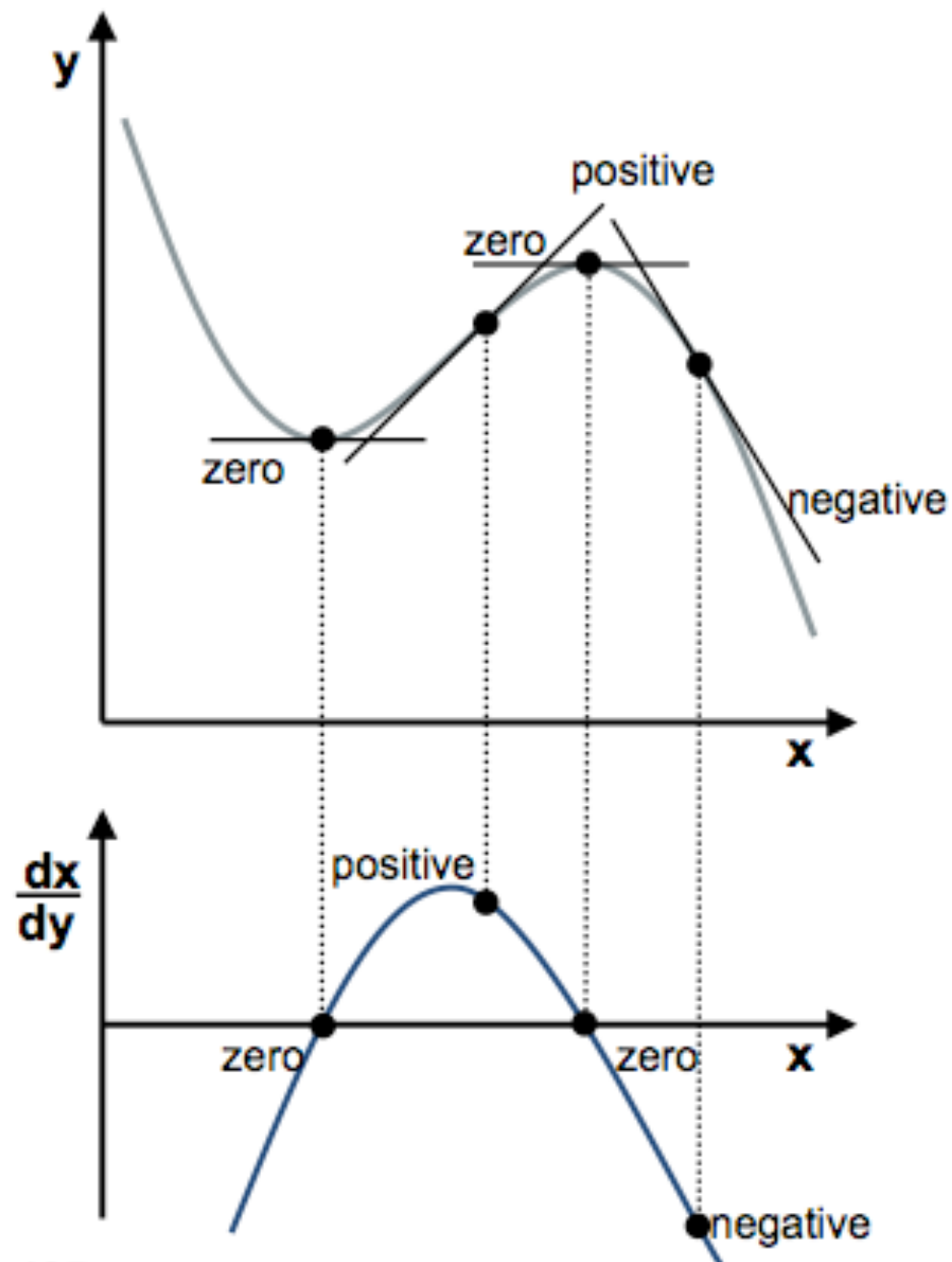
**Application de la normalisation
vectorielle
après sélection de tous les
spectres**



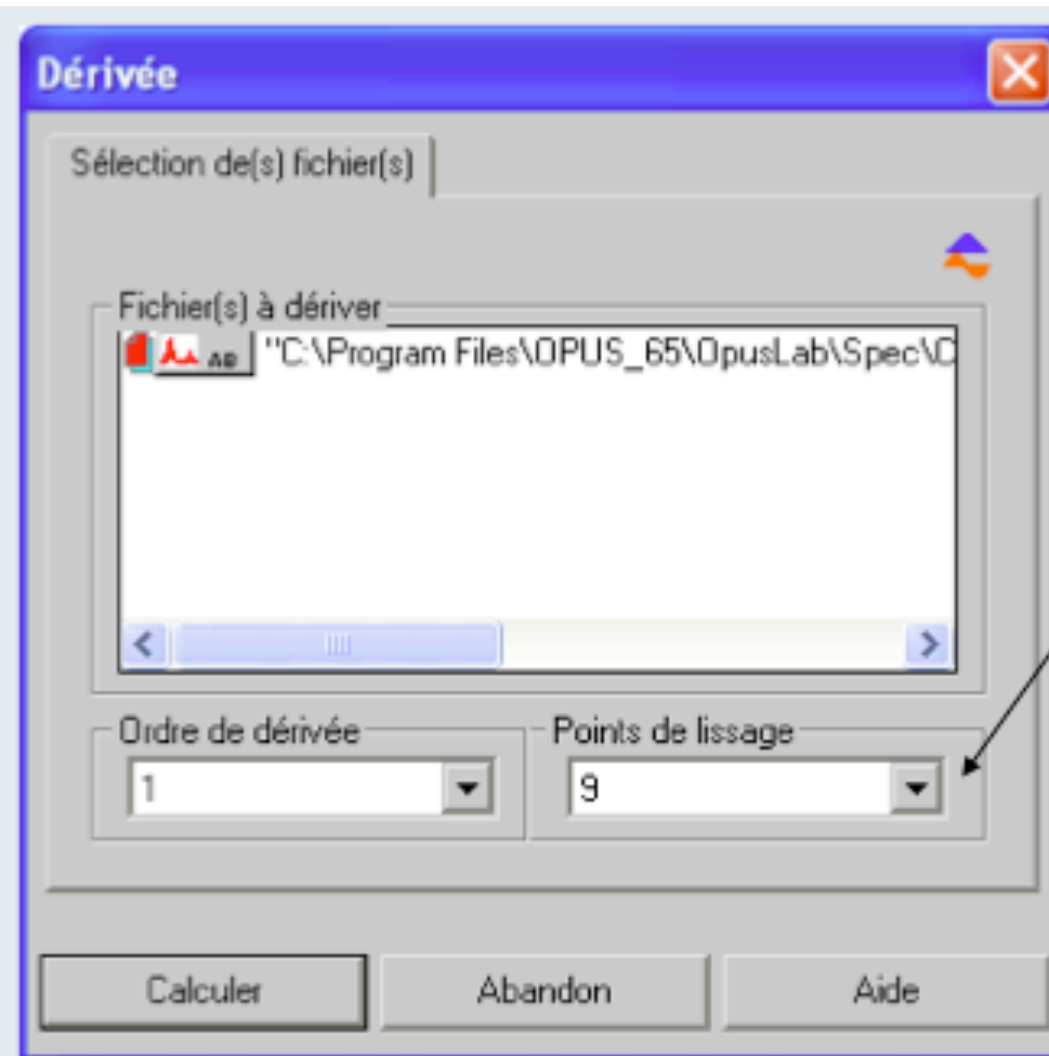
9.2 Les dérivées

Rappel sur la dérivée mathématique

La dérivée d'une fonction f au point x_0 est donnée par la pente de cette fonction en ce point.



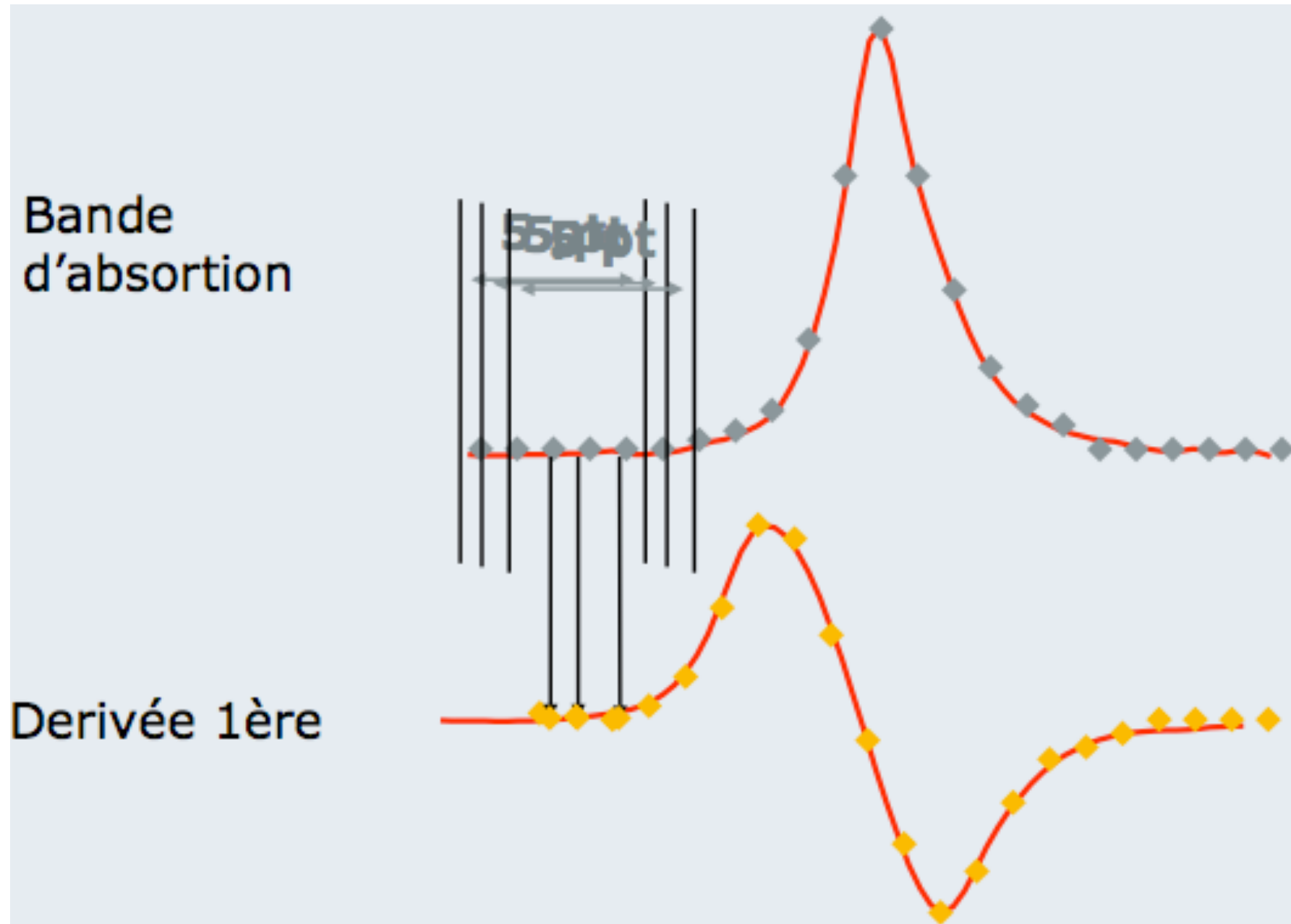
Fenêtre dérivée du logiciel OPUS (Bruker) permettant le pré-traitement dérivée des spectres en PIR :



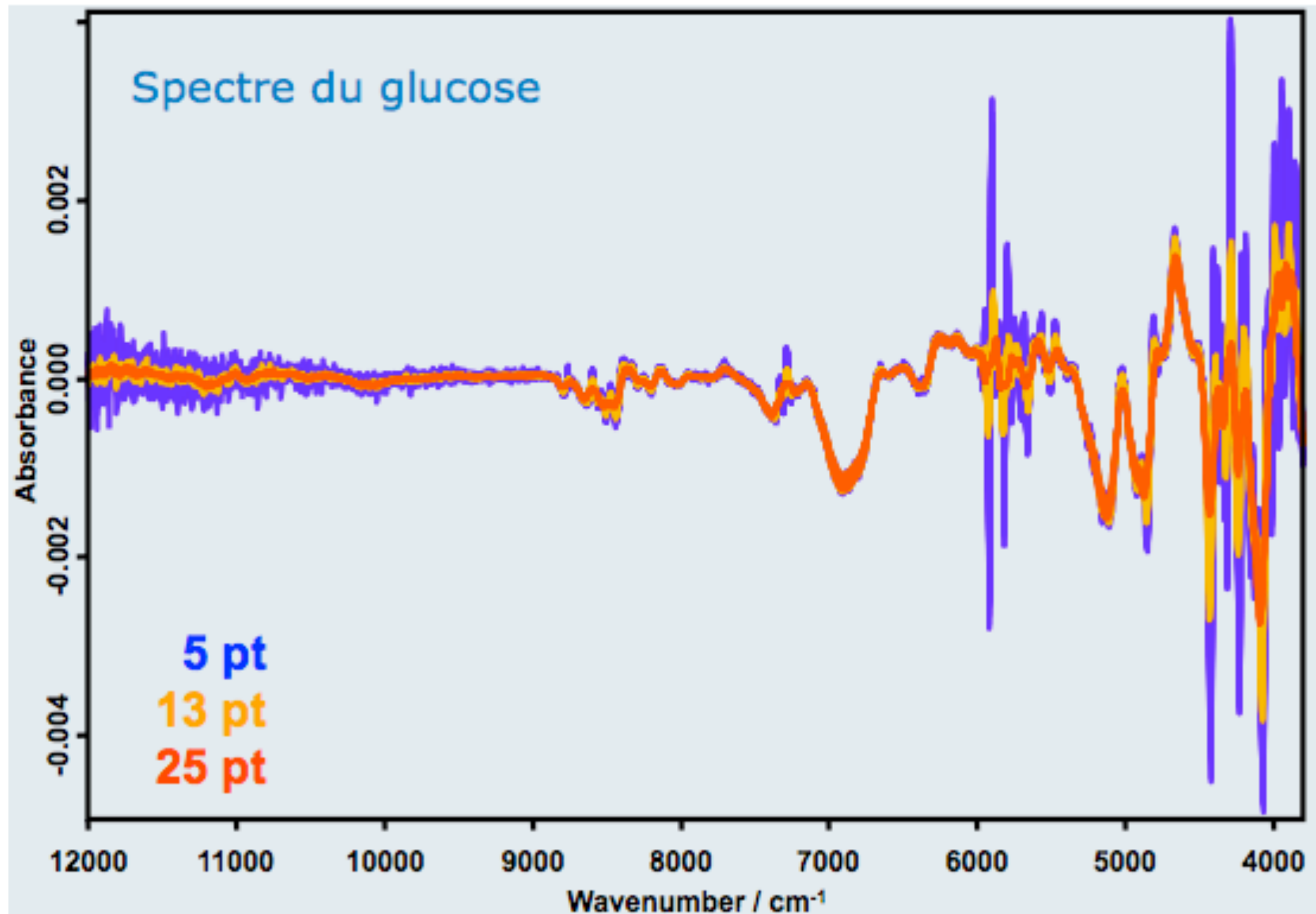
Le résultat dépend de

- L'ordre de la dérivée
1 ou 2
- Du nombre de points
de lissage (fenêtre):
1ère dérivée: 9-17
2nde dérivée : 17-23

Le pré-traitement dérivée des spectres en PIR



Exemple de spectres de dérivées 1^{ère} pour le glucose sur toute la gamme spectrale du PIR



9.3 Avantages et inconvénients du pré-traitement de données en PIR

Avantages de la normalisation vectorielle :

- ☞ Allure des spectres identiques.
- ☞ Interprétation des spectres plus facile.

Inconvénients de la normalisation vectorielle :

- ☞ Résultats dépendant de la gamme spectrale utilisée.

Avantages de la dérivée :

- ☞ Contraste amplifié.
- ☞ Résultats indépendant de la gamme spectrale.

Inconvénients de la dérivée :

- ☞ Bruit accru, besoin de lissage de spectre.
- ☞ Résultats dépendant des tailles de fenêtre utilisées (nombre de points de lissage).

10) Identification en PIR : chercher l'identité d'une substance :

Le PIR est un outil analytique parfait pour le contrôle qualité. Il répond à la question suivante : “Est-ce que la qualité du composé fourni par le bureau de réception d'une compagnie est conforme aux spécifications ?”

Le concept est simple :

composé identique = spectre PIR identique

L'identification est réalisée en comparant le spectre mesurée avec le spectre référence déjà réalisé. La méthode est basée sur les considérations suivantes :

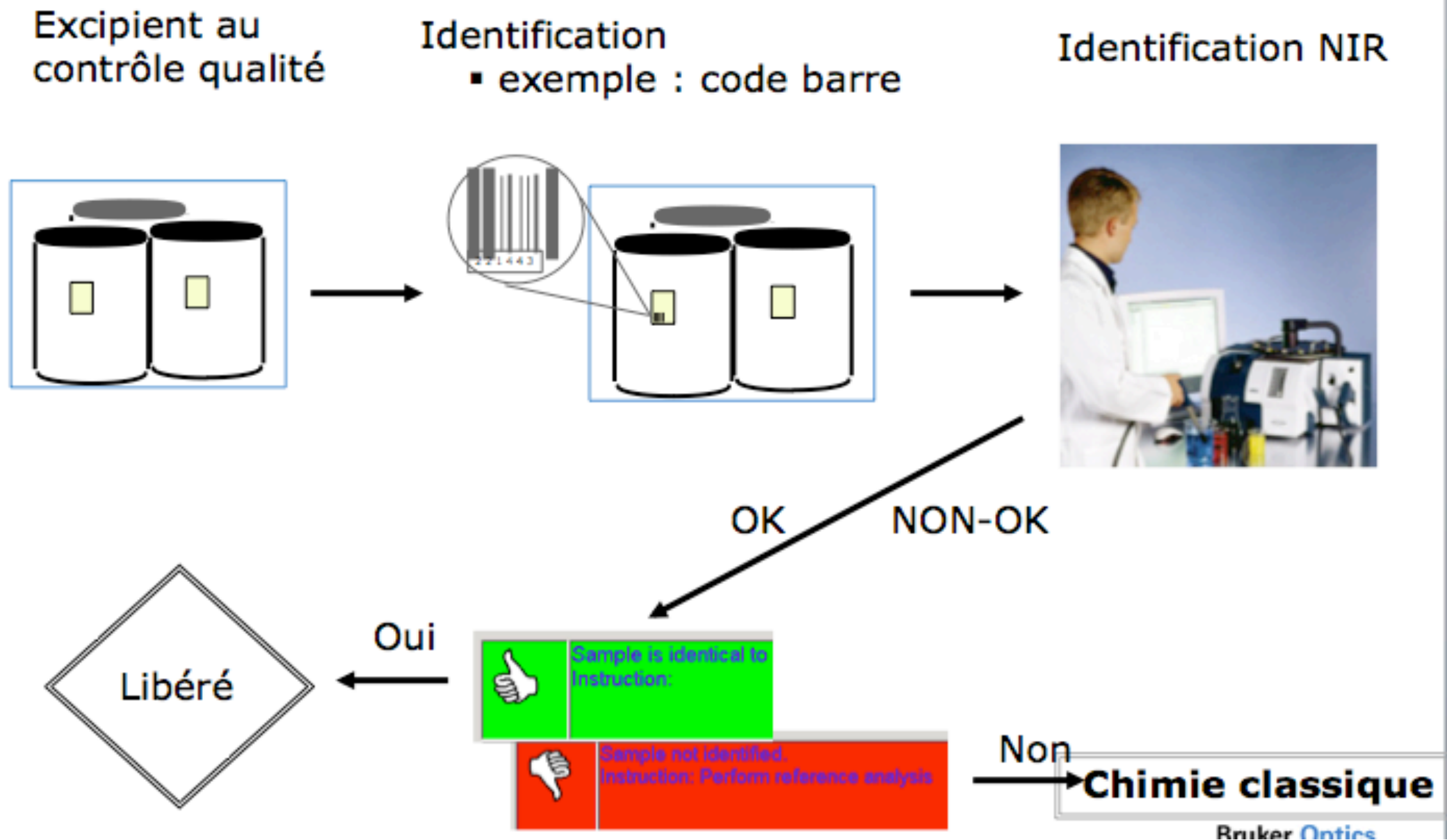
- Des composés chimiquement différents auront des spectres différents.
- Les différences réelles entre spectres doivent être plus grandes que la reproductibilité des mesures.
- Les échantillons références doivent représenter les variations attendues sur ce type d'échantillon, variations causées par le fournisseur, le lot reçu, les saisons, la pureté, la taille de grain, etc...

Il est important de noter que les échantillons références peuvent varier d'un certain degré.

Le spectre du composé à identifier est comparé à la référence au moyen d'une tolérance précédemment définie.

On décrira par la suite comment créer une bibliothèque de référence et comment comparer le spectre du composé à identifier avec cette bibliothèque.

10.1 Qualification de matière première

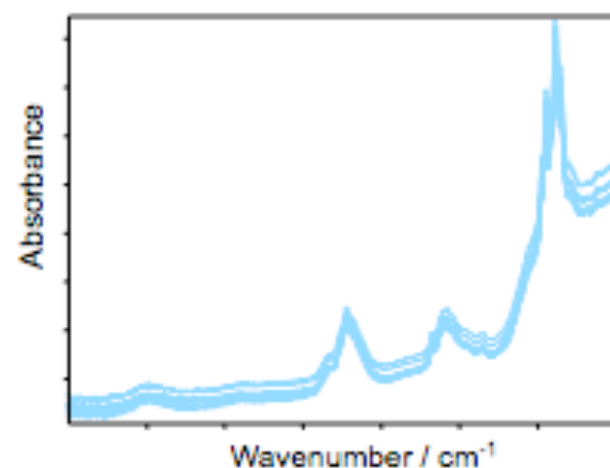


10.2 OPUS/IDENT : Construction de bibliothèque

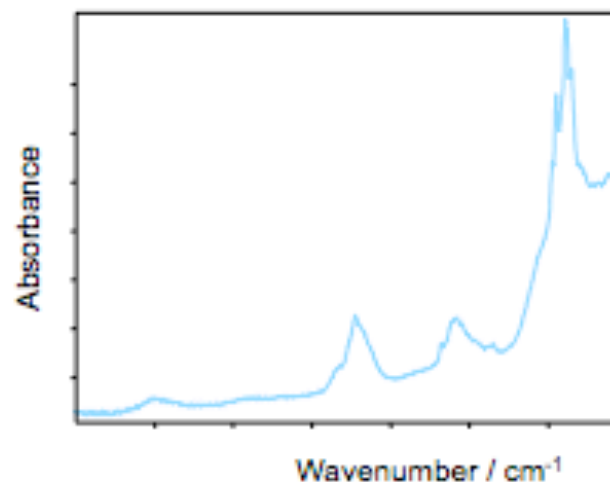
3 analyses différentes peuvent avoir lieu :

- Le **test de conformité** dans lequel on possède un ou plusieurs lots, et on regarde si l'échantillon inconnu correspond à un des lots ou pas.
- L'**analyse Cluster**, pour laquelle, nous n'avons **aucun à priori sur l'échantillon** : c'est une aide à la création de famille (bibliothèque).
- Le **test d'identification**, pour lequel, on a **un à priori**, c'est-à-dire que l'on sait déjà à quelle famille appartient l'échantillon à tester.

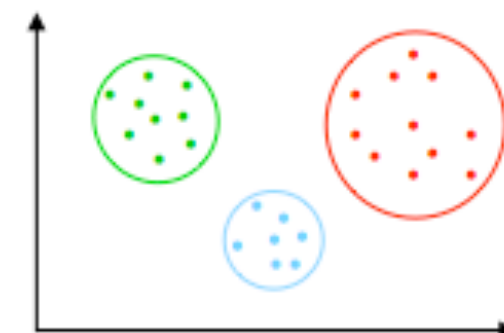
1.) Mesure des échantillons références



2.) Calcul des spectres moyens et des valeurs seuils



3.) Structuration de la bibliothèque et validation



10.3 OPUS/IDENT : Identification de nouveaux échantillons

1.) Mesures des nouveaux échantillons



2.) Comparaison à la bibliothèque



3.) Identification



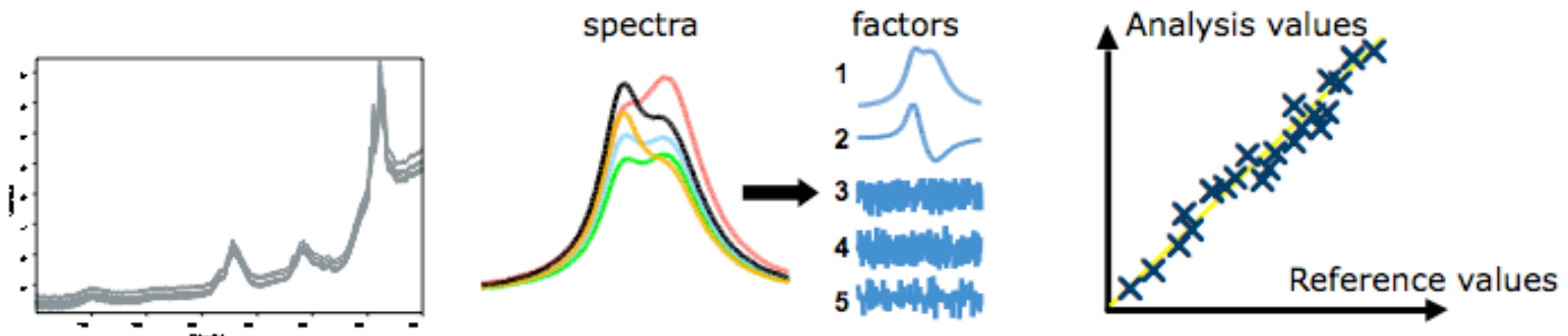
11) Quantification en PIR : chercher à doser une substance par construction d'un modèle de calibration

11.1 OPUS/QUANT : Mesure, calibration et validation

1.) Mesure de spectres de concentrations connues

2.) Calibration, création du modèle

3.) Validation du modèle



11.2 OPUS/QUANT : Dosage d'échantillon de concentration inconnue

1.) Mesure des échantillons inconnus

2.) Utilisation du modèle créé

3.) Résultats des analyses

