

La spectroscopie infrarouge ( IR ) est l'étude de la diffusion, de la réflexion, et de l'absorption ou de la transmission du rayonnement IR dans la gamme spectrale de 800 nm à 1 000 000 nm (0,8 à 1 000  $\mu\text{m}$ ). Dans la littérature plus ancienne (avant 1970), le rayonnement IR était mesuré en termes de longueurs d'onde en microns ( $\mu\text{m}$ ). De nos jours, l'unité nombre d'onde ( $\nu$ ) est utilisée presque exclusivement. La relation entre le nombre d'onde en  $\text{m}^{-1}$  et la longueur d'onde ( $\lambda$ ) en  $\mu\text{m}$  est donnée par:

$$\bar{\nu} = 1/\lambda$$

Le spectre IR peut être divisé en trois sous-régions, de 12 500 à 4 000  $\text{cm}^{-1}$  (de 0,8 à 2,5  $\mu\text{m}$ , près de IR ), de 4 000 à 400  $\text{cm}^{-1}$  (de 2,5 à 25  $\mu\text{m}$  et de 400 à 10  $\text{cm}^{-1}$ ). (25 à 1000  $\mu\text{m}$ , IR lointain). Seule la région du centre de l' IR (souvent appelée simplement infrarouge) est considérée ici parce que c'est la région *largement utilisée dans l'analyse des médicaments et des pesticides*. Cependant, certains instruments numérisent de 5000 à environ 200  $\text{cm}^{-1}$ ; l'extension à l' IR lointain est utile pour les composés halogénés et pour les substances inorganiques.

L'énergie associée au rayonnement électromagnétique est donnée par l'équation de Planck:

$$E = hc/\lambda$$

où E est l'énergie, h est la constante de Planck, C est la vitesse de la lumière et  $\lambda$  est la longueur d'onde de la lumière.

Le rayonnement IR peut exciter les vibrations moléculaires (et les rotations moléculaires associées). A température ambiante, une molécule est généralement dans son état électronique fondamental où elle se trouve dans son état vibrationnel au sol. A condition que le rayonnement IR entrant ait l'énergie appropriée (longueur d'onde, nombre d'onde), une absorption résonnante se produit pour exciter la molécule à un état vibrationnel supérieur particulier. Les transitions vibrationnelles donnent lieu à un spectre d'absorption caractéristique du composé. Plusieurs facteurs caractérisent ce spectre d'absorption: le nombre de caractéristiques d'absorption et leurs nombres d'ondes associés, la force (l'intensité) des caractéristiques d'absorption et la netteté de ces caractéristiques.

## Sommaire

- [1 Energie et nombre d'onde d'absorption infra-rouge par vibration moléculaire](#)

- [2 Force d'absorption des vibrations moléculaires](#)
- [3 Largeur d'une bande d'absorption infrarouge](#)
- [4 Instrumentation](#)
  - [4.1 Spectromètres dispersifs](#)
  - [4.2 Spectromètres dispersifs à faisceau unique](#)
  - [4.3 Spectromètre à double faisceau](#)
- [5 Spectrophotomètres interférométriques](#)
- [6 Traitement de l'information](#)
  - [6.1 Echelle de longueur d'onde \(nombre d'ondes\)](#)
  - [6.2 Échelle d'absorption](#)
  - [6.3 Lumière parasite](#)
  - [6.4 Résolution spectrale \(bande passante spectrale\)](#)
  - [6.5 Résolution de données](#)
  - [6.6 Échelle de temps de la mesure \(constante de temps, balayages moyennés\)](#)
- [7 La préparation des échantillons](#)
  - [7.1 Chromatographie sur couche mince](#)
  - [7.2 Chromatographie des gaz](#)
    - [7.2.1 Tubes refroidis](#)
    - [7.2.2 Tubes aux halogénures alcalins](#)
  - [7.3 Chromatographie en phase liquide à haute performance](#)
  - [7.4 Microsublimation](#)
- [8 Exemple de présentation](#)
  - [8.1 Des gaz](#)
  - [8.2 Liquides et solutions](#)
  - [8.3 Solides](#)
    - [8.3.1 Mulls](#)
    - [8.3.2 Disques aux halogénures alcalins](#)
    - [8.3.3 Films minces](#)
    - [8.3.4 Mesure d'échantillons fortement absorbants ou fortement diffuseurs de lumière](#)

- [8.3.5 Diffusion de la lumière](#)
- [8.3.6 Réflectance totale atténuée](#)
- [9 Interprétation des spectres](#)
- [10 Correspondance des spectres infrarouges et identification des empreintes digitales](#)
  - [10.1 Spectres infrarouges des amfetamines](#)
  - [10.2 Spectres infrarouges des barbituriques](#)
  - [10.3 Spectres infrarouges de l'aspirine, du Nujol et du paracétamol](#)
  - [10.4 Polymorphisme](#)
  - [10.5 Interférences](#)
  - [10.6 Données infrarouges dans les monographies](#)
- [11 Analyse quantitative](#)
  - [11.1 Concentration d'espèces moléculaires](#)
- [12 Collections de données](#)
  - [12.1 Collections générales](#)

## Energie et nombre d'onde d'absorption infra-rouge par vibration moléculaire

Les molécules peuvent subir deux types de vibrations, à savoir des vibrations d'étirement qui impliquent des changements de longueur de liaison et des vibrations de flexion qui impliquent des changements dans les angles de liaison. Les modes vibrationnels associés au groupe méthylène  $\text{CH}_2$  sont illustrés à la figure 1.

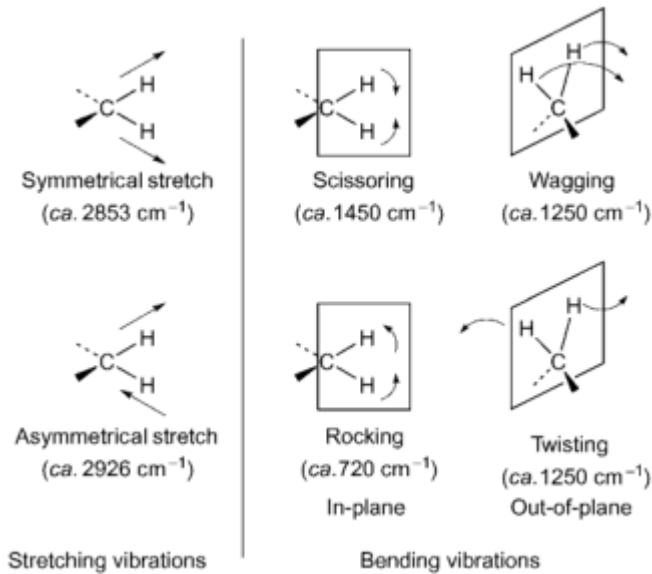


Figure 1 Vibrations moléculaires du groupe méthylène  $\text{CH}_2$  (avec la permission de Pavia et al., 1996).

Théoriquement, une molécule de médicament a  $(3N^5)$  de tels modes de vibration, où N est le nombre d'atomes dans la molécule. Ceux-ci sont appelés modes fondamentaux et nécessitent une énergie IR comprise entre 4000 et 400  $\text{cm}^{-1}$  (IR moyen) pour être excités. Toutes les vibrations d'une molécule ne sont pas assignables; en général, seuls les plus importants sont facilement affectés à un mode vibratoire donné. Ces vibrations caractéristiques sont un bon moyen de détecter l'existence de groupes fonctionnels dans un composé chimique. Le nombre d'onde précis auquel une vibration particulière absorbe la lumière est associé à la force de liaison et aux masses atomiques des atomes dans la liaison. Les nombres d'onde requis pour l'excitation des vibrations typiques sont donnés dans le Tableau 1.

Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	Vibration
3600-2500	O-H stretch, broad, strong (prominent)
3400	N-H stretch, broad, strong (prominent)
3000	C-H aromatic stretch
2900	C-H aliphatic stretch
1800-1650	C=O stretch strong (prominent) Ester R-O-C=O, ca. $1740 \text{ cm}^{-1}$ Ketone C=O, ca. $1715 \text{ cm}^{-1}$ Carboxylic acid HO-C=O, ca. $1705 \text{ cm}^{-1}$ Amide $\text{H}_2\text{N-C=O}$ , ca. $1650 \text{ cm}^{-1}$
1300-1000	C-O stretch, strong
1800-400	Forest of vibrations - fingerprint region

Tableau 1. Vibrations importantes et fréquences IR

De plus, il y a des harmoniques (l'excitation d'une vibration à une fréquence double ou plus élevée) et des combinaisons qui sont la somme ou la différence de deux ou plusieurs bandes fondamentales. Aucune vibration fondamentale ne nécessite une énergie supérieure à  $4000 \text{ cm}^{-1}$  pour être excitée. Toutes les vibrations dans le proche IR sont donc des harmoniques ou des bandes de combinaison. Le lecteur se reportera à des textes spectroscopiques pour une explication plus détaillée de l'origine des bandes IR (par exemple, Williams et Fleming 1995, et d'autres listés dans le supplément de lecture).

Les changements dans le nombre d'onde d'une bande peuvent être liés à des changements dans l'environnement structural ou l'état physique de la molécule. Cependant, de nombreuses bandes dans la région complexe de  $1800$  à  $400 \text{ cm}^{-1}$ , que l'on appelle généralement la «région des empreintes digitales», restent d'origine non confirmée. De nombreuses bandes sont caractéristiques de la molécule dans son ensemble et ne peuvent pas être directement affectées à des liaisons particulières. Néanmoins, l'inspection des spectres IR peut constituer la base d'un travail analytique qualitatif en spectroscopie IR pour confirmer l'identité d'un échantillon. Une structure moléculaire complète ne peut pas être déduite directement d'un spectre IR. Au contraire, les groupes fonctionnels sont identifiés et l'identité moléculaire totale est confirmée par comparaison avec les spectres IR dans un compendium.

## Force d'absorption des vibrations moléculaires

Traditionnellement, un spectre IR est rapporté comme un graphique du pourcentage de transmission ( $T\%$ ) par rapport au nombre d'onde  $\nu$ . Le spectre de transmission IR d'un film

de polystyrène utilisé pour calibrer l'échelle du nombre d'ondes est donné à la figure 2.

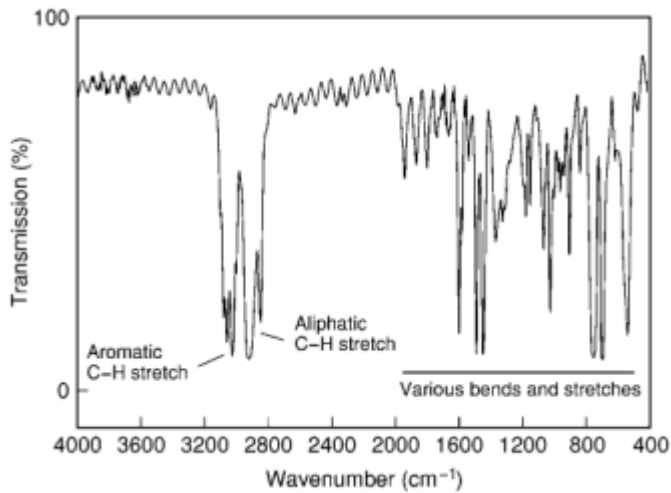


Figure 2. Spectre de transmission d'un film de polystyrène.

L'absorption de la lumière sur la figure 2 est enregistrée comme transmission de la lumière. Le rapport simple de l'intensité transmise à l'intensité incidente est connu sous le nom de transmittance. Le pourcentage de transmittance est 100 fois le facteur de transmission (voir la figure 3).

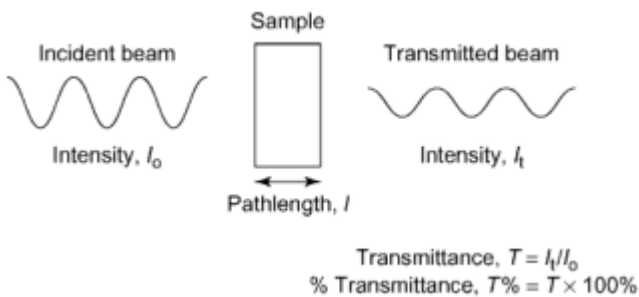


Figure 3. Transmission de la lumière par un échantillon.

L'absorption de la lumière est quantifiée par la loi de Beer comme:

$$A = \log(I_0/I_t) = \epsilon cl$$

où  $A$  est l'absorbance,  $c$  est la concentration molaire,  $l$  est la longueur de trajet de l'échantillon et  $\epsilon$  est le coefficient d'extinction molaire. L'absorbance est le log de l'inverse

de la transmittance: 
$$A = \log(I_0/I_t) = \log(1/T) = 1 - \log T = 2 - \log(T\%/100)$$

Les différents modes vibrationnels ont des tendances différentes à absorber différents coefficients d'extinction molaires et ont donc des intensités différentes dans le spectre. Le tronçon carbonyle (C = O) à environ  $1650 \text{ cm}^{-1}$  a un moment dipolaire électrique de transition particulièrement fort, et donc  $\epsilon$  est important pour une vibration (environ 100) et l'absorption du carbonyle est une caractéristique très importante. On dit que l'étirement C = O est autorisé par spectroscopie. Le mode d'allongement C-H génère un moment dipolaire électrique de transition inférieur et la valeur  $\epsilon$  est plus petite à environ 10. Cependant, il y a habituellement beaucoup de liaisons C-H dans une molécule et l'absorption additive de celles-ci fait la vibration C-H fonctionnalité.

Les tronçons de liaisons symétriques, tels que H-H (hydrogène gazeux), -C-C- (éthane), O-O (oxygène) et N-N (azote), n'ont pas de moment dipolaire de transition et donc  $\epsilon \rightarrow 0$  et ces tronçons ne sont pas observés et sont censés être interdits. Des vibrations similaires dans des molécules complexes absorbent, mais extrêmement faiblement. D'autre part, les gaz tels que NO, NO<sub>2</sub>, CO, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> et H<sub>2</sub>O (vapeur d'eau) ont des vibrations actives IR qui peuvent être mesurées pour surveiller les niveaux environnementaux. La faible valeur de  $\epsilon$  et les faibles concentrations de ces gaz signifient que les cellules à gaz pour l'IR sont très longues (jusqu'à 1 m ou plus). La vapeur d'eau et le CO<sub>2</sub> présents dans l'atmosphère normale produisent des effets d'absorption dans un spectromètre IR en l'absence ou en présence d'un échantillon. Les travaux de haute précision bénéficient donc d'un rinçage à l'air sec ou à l'azote. Les vibrations de l'eau centrées à  $3782 \text{ cm}^{-1}$  et  $1587 \text{ cm}^{-1}$  montrent une structure fine associée aux rotations de la molécule d'eau.

Le mouvement réel de charge lors d'une vibration est en pratique très faible et une valeur de  $\epsilon$  d'environ 200 est une limite supérieure pratique. Dans les tableaux de données IR, l'intensité d'une bande de vibration est désignée par vs (très fort), s (fort), m (moyen) et w (faible) pour refléter la variation du coefficient d'extinction (intensité de la caractéristique spectrale). Pour les anciens modèles d'instruments, la mesure de l'intensité des IR n'était pas fiable, ce qui rendait le travail quantitatif dans l'IR peu fiable. C'est moins vrai pour les instruments modernes.

Le caractère spectroscopique des harmoniques et des combinaisons est moins bien défini. En conséquence,  $\epsilon$  dans le proche IR est faible et l'absorption est détectée uniquement pour les solutions concentrées avec une absorption qui peut être trop forte pour

les régions spectrales dans lesquelles  $\epsilon$  est plus grande. Le coefficient d'extinction molaire,  $\epsilon$ , est largement responsable de la détermination de la sensibilité d'une analyse.

## Largeur d'une bande d'absorption infrarouge

En spectroscopie d'absorption électronique ultraviolette ( UV ) et visible, l'absorption est limitée à l'excitation d'un seul électron dans un chromophore, bien que ce soit à l'un de plusieurs états excités. Un spectre électronique est rarement composé de plus de trois caractéristiques spectrales proéminentes. Cependant, l'énergie nécessaire pour exciter un électron est suffisante pour exciter des états de vibration et de rotation associés, et le profil d'absorption est large. Le spectre UV visible n'est caractérisé que par quelques caractéristiques générales. Une largeur typique à mi-hauteur d'une absorption UV- visible est comprise entre 2000 et 5000  $\text{cm}^{-1}$ .

Le spectromètre IR voit l'excitation des vibrations de liaison et des mouvements de rotation associés. Le spectre IR comprend de nombreuses caractéristiques relativement nettes qui fournissent une excellente empreinte digitale pour l'identification. Une largeur typique à mi-hauteur d'une bande d'absorption IR est de 10 à 20  $\text{cm}^{-1}$ .

## Instrumentation

### Spectromètres dispersifs

Les spectromètres classiques commencent avec une source de lumière appropriée focalisée sur la fente d'entrée d'un monochromateur qui divise la lumière en ses composantes de longueur d'onde. La fente de sortie du monochromateur sélectionne une longueur d'onde émergente particulière. La lumière monochromatique traverse un échantillon où elle peut ou non être absorbée avant d'être détectée par un détecteur de lumière (photomultiplicateur ou photodiode). Ce type de spectromètre est connu comme un instrument dispersif. Pour mesurer la transmittance ou l'absorbance, l'intensité incidente  $I_0$  et l'intensité transmise doivent être mesurées à chaque longueur d'onde.

### Spectromètres dispersifs à faisceau unique

Avec un instrument à faisceau unique, le spectre  $I_0$  est d'abord mesuré avec de l'air (ou du solvant) comme référence dans le faisceau lumineux. Dans une mesure séparée, le spectre  $I_t$



de l'échantillon est enregistré. Les ordinateurs permettent de stocker et de traiter les données automatiquement. Pour assurer l'exactitude et la précision, tous les composants de l'instrument (source de lumière, détecteur et électronique) doivent être très stables pour s'assurer que  $I_0$  ne dérive pas.

De nos jours, les spectromètres IR dispersifs à faisceau unique sont susceptibles de se trouver uniquement dans les processus de surveillance (par exemple la pollution de l'environnement). Le spectromètre à transformée de Fourier IR ( FTIR ) décrit ci-dessous fonctionne normalement comme un instrument à faisceau unique.

## Spectromètre à double faisceau

Les spectromètres à double faisceau sont conçus pour compenser les dérives de l'instrument et la nécessité de déterminer  $I_0$  et  $I_t$  dans des mesures séparées. La disposition d'un spectromètre à double faisceau typique est illustrée à la Figure. 4. Les instruments dispersifs dans l'IR ont l'échantillon situé à côté de la source de lumière avant le monochromateur, contrairement à leurs homologues visibles UV .

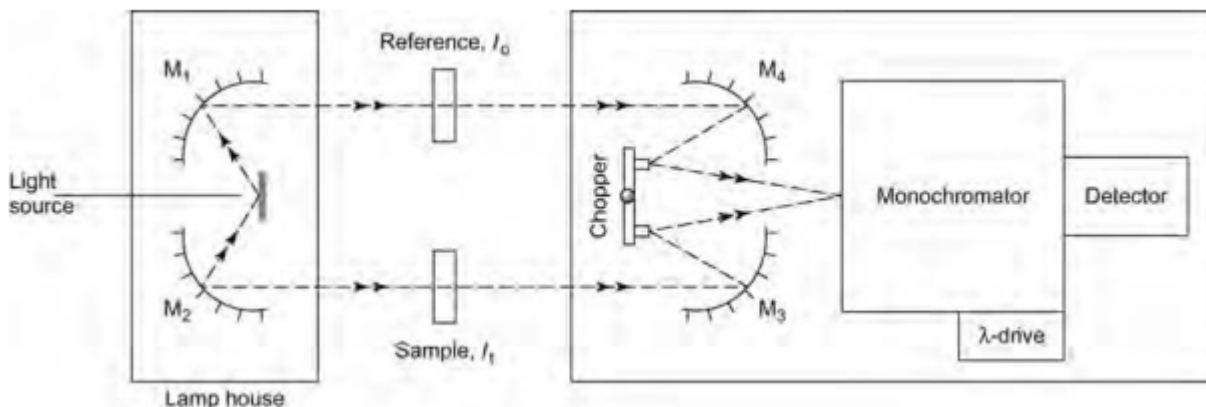


Figure 4. Spectromètre IR dispersif à double faisceau.

La lumière IR provenant de la source, généralement un élément électriquement conducteur tel qu'un Globar maintenu à environ 1000 K, illumine également deux miroirs M1 et M2. La lumière du miroir M1 agit comme le faisceau de référence; la lumière de M2 est le faisceau d'échantillon. Les miroirs M3 et M4 envoient les faisceaux lumineux aux miroirs sur un hacheur mécanique. Le hacheur mécanique est un disque rotatif portant des miroirs qui

réfléchissent alternativement les faisceaux de référence et d'échantillon dans le monochromateur. Après passage à travers le monochromateur, la lumière monochromatique provenant de l'échantillon et des faisceaux de référence est détectée alternativement par le détecteur unique lorsque le lecteur de longueur d'onde change la longueur d'onde qui traverse le système. Dans la période de découpage de faisceau de référence, le détecteur enregistre  $I_0$  et dans la période de découpage de faisceau d'échantillon. Il est mesuré. Les signaux alternatifs sont amplifiés et leur rapport calculé pour donner  $I_t / I_0 = T$  ou  $\log(I_0 / I_t) = A$ . Le détecteur préféré, certainement dans les années 1980, était le sulfate de triglycine deutéré ( TGS ). C'est un détecteur pyroélectrique avec une résistance électrique très sensible à la chaleur (intensité IR ).

Toutes les mesures peuvent être faites simplement avec de l'air dans le faisceau de référence. Le fait de placer une cellule avec du solvant dans le faisceau de référence permet de compenser une absorption indésirable (par exemple à partir de solvants). Les longueurs de trajet des cellules de mesure dans les faisceaux de référence et d'échantillonnage doivent être identiques. Un ordinateur interfacé avec le spectromètre permet la soustraction post-mesure d'un spectre de référence à partir du spectre de l'échantillon.

La quantité de lumière IR polychromatique qui frappe le détecteur à partir du rayonnement naturel à corps noir des parois du compartiment à cellules peut être 10 fois supérieure au rayonnement IR monochromatique souhaité provenant de la référence ou de l'échantillon. Ce rayonnement de fond est une lumière parasite qui affecte gravement la précision de la valeur  $I_0 / I_t$ . La localisation de l'échantillon avant le monochromateur garantit que le signal «haché» sélectionné par le système de détection est presque exclusivement lié à la lumière dérivée de l'échantillon ou des faisceaux de référence. La réduction artificielle des valeurs d'absorbance est ainsi grandement réduite. Cependant, la localisation d'un échantillon à proximité d'une source IR peut entraîner des effets de chauffage nuisibles.

## Spectrophotomètres interférométriques

Les spectromètres FTIR ont l'échantillon à côté du détecteur après la sélection de la longueur d'onde. Cela réduit les effets de la chaleur d'avoir un échantillon à proximité d'une source IR . Le verrouillage dans la fréquence d'oscillation du miroir couplée au filtrage de signal associé à la transformée de Fourier et aux améliorations dans l'optique et les détecteurs rend cette position d'échantillon préférée viable.

Le spectromètre FTIR incorpore un interféromètre à la place d'un monochromateur (figure 5). Le fonctionnement d'un spectromètre FTIR est présenté ici en référence à la Figure. 5:

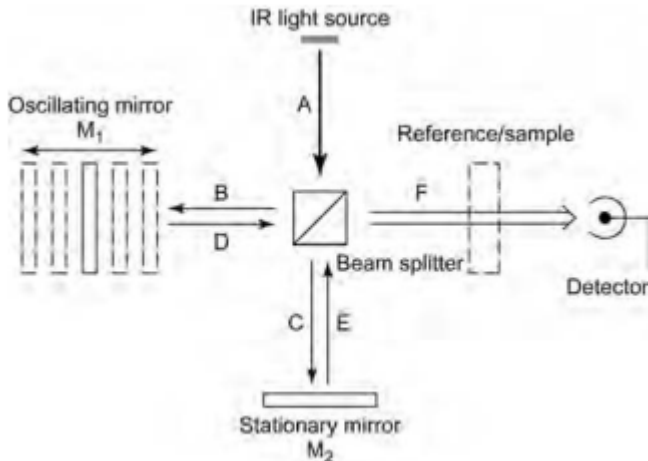


Figure 5. Disposition d'un interféromètre IR (spectromètre FTIR).

- Si le miroir M1 est réglé pour osciller le long de l'axe optique, la distance parcourue par le faisceau (B + D) varie, tandis que la distance parcourue par (C + E) reste inchangée.
- Les distances identiques (B + D) et (C + E) signifient que D et E sont en phase et que la recombinaison est entièrement constructive. Lorsque le miroir M1 se déplace vers le diviseur de faisceau, le faisceau D arrive 'en avant' du faisceau E; la recombinaison n'est pas entièrement constructive et l'intensité du faisceau F est réduite et sa phase change. Finalement, le mouvement de miroir de M1 conduit le faisceau D à une demi-onde en avant du faisceau E. La recombinaison est maintenant totalement destructive et l'intensité du faisceau F devient nulle. À ce stade, le mouvement de M1 est inversé par rapport au point médian d'oscillation pour finalement rendre D retardé par rapport à E pour donner une intensité nulle à un retard de demi-onde avant de revenir au point médian de l'oscillation.
- Lorsque le miroir se déplace d'avant en arrière à travers une seule période d'oscillation du miroir, l'intensité d'une seule longueur d'onde de la lumière infrarouge varie considérablement. En pratique, toutes les longueurs d'onde traversent le système simultanément. Par conséquent, l'intensité totale de la lumière IR enregistrée comme tombant sur le détecteur pendant une période d'oscillation d'un seul miroir est très compliquée et prend la forme illustrée sur la figure 6.

- Le signal illustré à la figure 6 est maintenant soumis à une procédure mathématique appelée transformée de Fourier. Ceci extrait les informations d'intensité lumineuse en fonction de la longueur d'onde (nombre d'onde).
- Sans référence ou échantillon dans le faisceau, cette mesure est le spectre d'arrière-plan ou  $I_0$ , qui est stocké dans l'ordinateur pour être utilisé comme  $I_0$  pour toutes les mesures ultérieures de transmittance ( $I_t / I_0$ ) ou d'absorbance [ $\log(I_0 / I_t)$ ] pendant la séance de travail.
- Une mesure est maintenant faite avec l'échantillon en place. Un interférogramme similaire est créé. Celui-ci est également soumis à une transformation de Fourier pour produire un échantillon, spectre de débit d'intensité lumineuse.
- La manipulation ultérieure des données dans l'ordinateur produit le spectre de transmission ou d'absorption de l'échantillon.

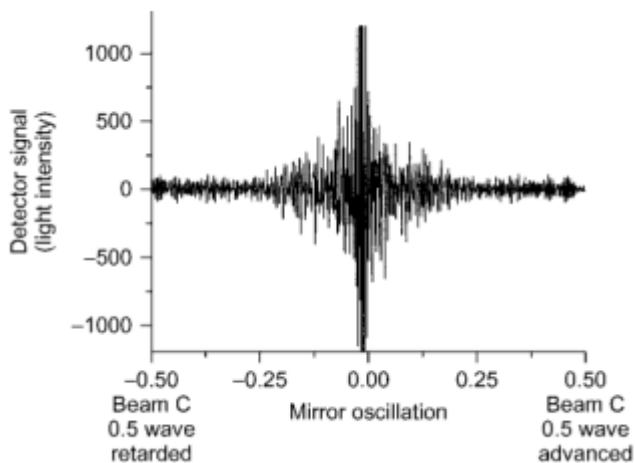


Figure 6. Interférogramme produit par une seule oscillation de miroir.

### Détails techniques

- La source IR est un élément «chaud» propriétaire de Globar ou similaire qui fonctionne à environ 1300 K. Le détecteur doit avoir une réponse rapide et un faible bruit inhérent. Le détecteur TGS reste le plus largement utilisé pour une utilisation de routine. Les dispositifs pyroélectriques à base de tantalate de lithium deviennent populaires car ils sont moins coûteux, ont une plus grande linéarité en ordonnée et présentent une meilleure stabilité à la température (la linéarité du TGS tombe au-dessus d'environ 32 °). Pour les travaux de haute précision à faible bruit, des détecteurs semi-conducteurs refroidis à l'azote liquide sont disponibles à base

d'indium-antimonide (In-Sb), d'indium-gallium-arséniure (In-Ga-As) ou de mercure-cadmium-tellurure (Hg-Cd-Te).

- Les spectromètres FTIR ont des avantages sur les instruments dispersifs. L'interféromètre offre une meilleure collecte de la lumière et un meilleur rendement. Plus de lumière signifie moins de bruit et une plus grande sensibilité. L'avantage du multiplex concerne la nature même de la mesure interférométrique. Toutes les longueurs d'onde sont observées pour un seul balayage en même temps. Dans un instrument dispersif, une seule longueur d'onde est détectée à la fois. Dans l'interféromètre, on passe plus de temps à mesurer efficacement chaque longueur d'onde, même si le temps total de balayage peut être le même. Plus de temps pour mesurer chaque longueur d'onde signifie moins de bruit et une plus grande sensibilité.
- Deux options sont disponibles pour la technique FT: soit un spectre peut être scanné beaucoup plus rapidement qu'un instrument dispersif ou en même temps que l'instrument dispersif peut être utilisé pour mesurer un spectre afin de présenter des résultats de bruit plus faibles. En pratique, une oscillation à un seul miroir dans l'interféromètre produit un balayage du spectre en une fraction de seconde. Un balayage d'instrument dispersif peut prendre jusqu'à 10 minutes. Prendre 10 minutes au-dessus d'une mesure FTIR permet de faire la moyenne de très nombreuses balayages. Le rapport signal sur bruit (S / N) dans un spectromètre IR est proportionnel à  $\sqrt{}$  (nombre de balayages). Accumuler et faire la moyenne 1, 4, 16, 64, 256 ou 1024 balayages produit une amélioration de signal à bruit de 1, 2, 4, 8, 16 ou 32 fois, respectivement.
- Le niveau de lumière parasite associé à la spectroscopie FTIR est faible, typiquement inférieur à 0,02% car la technique est dépourvue de réseaux imparfaits et les signaux sélectionnés sont associés uniquement au mouvement du miroir oscillant. Les valeurs d'absorbance restent linéaires jusqu'à deux unités d'absorbance, ce qui conduit à des mesures quantitatives plus précises, même avec des bandes fortement absorbantes.
- La résolution est généralement excellente sur tout le spectre, avec une largeur de bande spectrale de mesure efficace ( SBW ) de  $1 \text{ cm}^{-1}$  étant facilement réalisée.

## Traitement de l'information

Tous les spectromètres IR modernes sont contrôlés par ordinateur, avec des données mesurées stockées numériquement. Le contrôle par ordinateur simplifie le processus de fonctionnement des instruments et permet la mise en œuvre facile des procédures d'utilisation normalisées ( SOP ). Bien que les logiciels soient généralement spécifiques au fabricant, des sociétés telles que Galactic Industries, entre autres, ont produit un logiciel

(GRAMS / AI de Thermo Galactic, 395 Main Street, Salem, NH 03079, USA) qui exploite de nombreux instruments et accepte les données de tous les spectromètres. marché.

Les ordinateurs permettent facilement les changements entre les unités spectrales. Dans les premiers temps, le spectre IR d'un composé a été rapporté en tant que pourcentage de transmittance en fonction de la longueur d'onde en microns; dans les années 1970, le pourcentage de transmittance en fonction des nombres d'ondes est devenu la forme préférée. L'ordinateur permet la conversion facile entre la transmittance et l'absorbance et entre les microns et les nombres d'onde. La présentation en termes d'absorbance / nombre d'onde est susceptible de devenir de plus en plus familière.

Les ordinateurs permettent facilement l'accumulation de spectres. Le spectre d'un échantillon faible peut être balayé de façon répétée pour donner un spectre moyenné avec un bruit sensiblement réduit et une amélioration de la sensibilité. Par exemple, il existe peu de différence entre les spectres du disulfure de carbone et de la benzocaïne dans le disulfure de carbone (figure 7), mais avec la manipulation du spectre, on obtient facilement un bon spectre de benzocaïne (figure 8). La quantité de benzocaïne dans la cellule était d'environ 4 µg, mais seulement environ le quart était dans le faisceau IR . Chaque spectre a été enregistré en moins de 30 secondes.

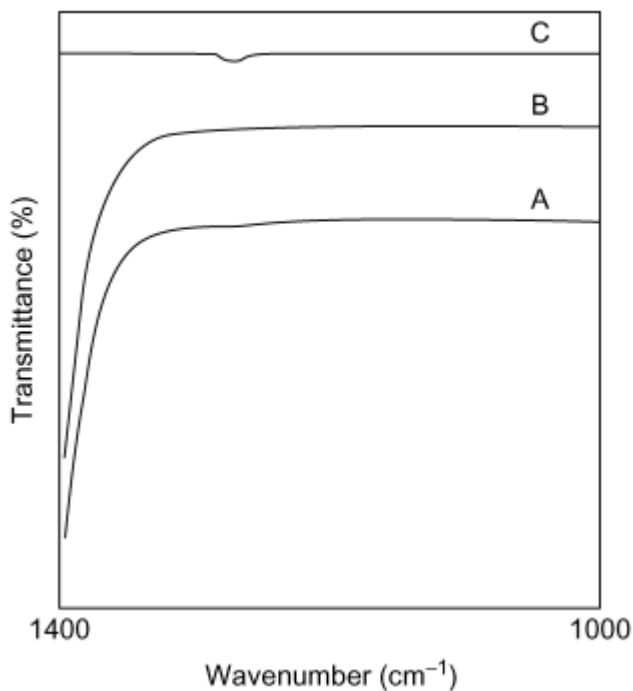


Figure 7. Spectre IR de A, benzocaïne dans le disulfure de carbone; B, disulfure de carbone; C, le spectre de différence (A - B) (avec la permission de Perkin-Elmer Ltd).

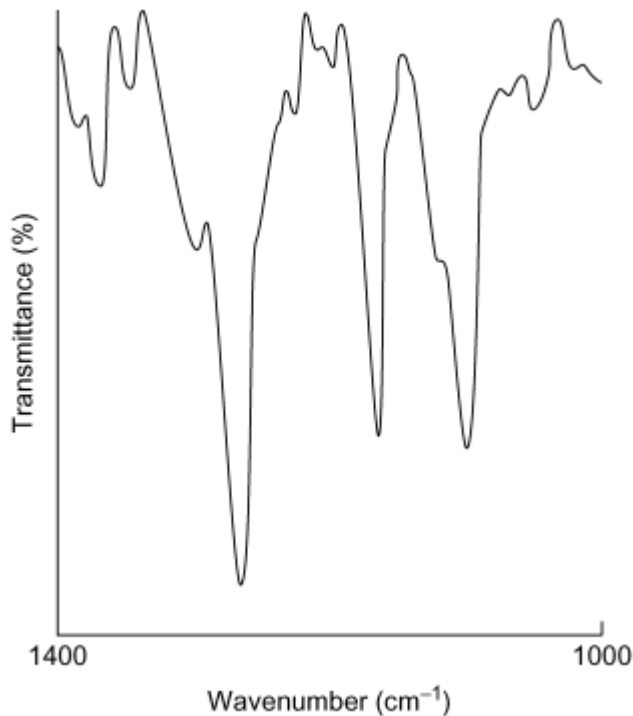


Figure 8. Le spectre de différence de la benzocaïne montré sur la figure 7a été lissé, corrigé pour la contribution de base et avec une échelle de transmittance en pourcentage expansée 200 fois (avec la permission de Perkin-Elmer Ltd).

Les spectres numérisés peuvent être corrigés facilement pour l'absorption de solvant ou la présence d'impuretés. Diverses procédures mathématiques peuvent être appliquées, qui comprennent les corrections de base et le nivellement, le lissage, la détermination des pics de largeur de bande et le calcul des zones de bande d'absorption. Les spectres dérivés peuvent être produits pour aider à distinguer les contributions des composants qui se chevauchent dans une bande d'absorption.

L'identification et l'interprétation des spectres sont grandement assistés par l'analyse informatique. Les spectres peuvent être facilement superposés à des fins de comparaison. Le spectre d'un échantillon peut être comparé à une bibliothèque de spectres (base de données) et une liste des composés de meilleur ajustement peut être affichée sur

un écran ou imprimée. La présence de certains groupes fonctionnels peut également être confirmée.

Six facteurs doivent être pris en compte lors de l'étalonnage d'un spectromètre IR :

- échelle de longueur d'onde (nombre d'onde)
- échelle d'absorbance
- lumière parasite
- résolution spectrale
- résolution de données
- échelle de temps de mesure (constante de temps).

### **Echelle de longueur d'onde (nombre d'ondes)**

Une carte portant un film transparent accrédité de polystyrène (épaisseur de 0,04 mm) est utilisée pour calibrer l'échelle de longueur d'onde (nombre d'onde).

### **Échelle d'absorption**

Malheureusement, il n'existe pas de normes internationalement reconnues pour les spectres IR . L'échelle d'absorbance est réglée en usine à l'aide d'optiques compliquées. Les filtres sont disponibles dans la gamme de 4000 à 2000  $\text{cm}^{-1}$ . Le rayonnement de fond noir élevé qui tombe sur le détecteur à partir de sources autres que l'échantillon signifie que l'absorbance idéale pour un bon rapport signal / bruit est d'environ 0,4.

### **Lumière parasite**

La lumière parasite peut être testée en introduisant un solvant pur ou un échantillon de très forte concentration dans le faisceau d'échantillon de sorte que la longueur d'onde (nombre d'onde) d'intérêt dépasse l'absorbance attendue de  $A = 5$ . Toute la lumière pertinente à cette longueur d'onde (wavenumber ) a été efficacement absorbé.

### **Résolution spectrale (bande passante spectrale)**

Dans les instruments dispersifs, la SBW est fixée par les fentes d'entrée et de sortie du



monochromateur. Dans le spectromètre FTIR, la «profondeur» de la transformation de Fourier permet d'obtenir des valeurs typiques de  $1\text{ cm}^{-1}$ ,  $2\text{ cm}^{-1}$  et  $4\text{ cm}^{-1}$  dans le logiciel de contrôle du spectromètre. Plus la bande SBW est étroite, plus les bandes d'absorption aiguës sont fidèles; cependant, plus le spectre est bruyant (moins de lumière), plus il faut de temps (accumulations) pour réduire le niveau de bruit.

La Pharmacopée britannique (British Pharmacopoeia Commission 2002) recommande ce qui suit pour assurer une bonne résolution spectrale:

Enregistrer le spectre d'un film de polystyrène de  $0,04\text{ mm}$  d'épaisseur. La différence  $x$  entre le pourcentage de transmission à la transmission maximale  $A$  à  $2870\text{ cm}^{-1}$  et celle à la transmission minimale  $B$  à  $2849,5\text{ cm}^{-1}$  doit être supérieure à 18. La différence  $y$  entre le pourcentage de transmission à la transmission  $C$  maximale à  $1589\text{ cm}^{-1}$  et qu'à la transmission,  $D$  minimum à  $1583\text{ cm}^{-1}$  devrait être supérieur à 12.

Cette recommandation est très spécifique pour un film de polystyrène de  $0,04\text{ mm}$  d'épaisseur.

## Résolution de données

Dans un ordinateur, les spectres sont stockés sous forme de listes de paires de données de nombre d'ondes et de transmittance (absorbance). Ces paires de données  $X, Y$  sont tracées sur demande. Un nombre suffisant de points de données est requis pour donner une image non déformée. Trop de points peuvent être inutiles et nécessitent des allocations de mémoire excessives.

Les termes résolution spectrale et résolution de données sont souvent confondus. Certains instruments, en modifiant les mathématiques de la transformée de Fourier pour réduire le SBW, produisent également un changement dans la résolution des données des spectres calculés. La bande de polystyrène de  $1154\text{ cm}^{-1}$  est reproduite, mesurée avec différentes résolutions de SBW et de données. En général, pour les molécules médicamenteuses typiques, une PBS de  $4\text{ cm}^{-1}$  est probablement suffisante pour décrire fidèlement la bande passante naturelle d'une bande d'absorption vibrationnelle. Cependant, une résolution de données de  $1\text{ cm}^{-1}$  est préférée pour s'assurer que les données mesurées sont une représentation fidèle de la capacité du spectromètre. Augmenter le SBW, réduire la résolution des données, ou les deux, peut réduire le bruit.

## **Échelle de temps de la mesure (constante de temps, balayages moyennés)**

Dans les instruments dispersifs analogiques, la vitesse de balayage se réfère à la vitesse de rotation du réseau de diffraction du monochromateur, qui contrôle à son tour le taux de changement de la longueur d'onde (nombre d'onde) qui provient de la fente de sortie du monochromateur. L'instrument a un temps de réponse inhérent contrôlable (constante de temps). Une lecture trop rapide signifie que les pics mesurés sont déformés et aplatis (intensité réduite); l'instrument fonctionne trop vite pour que l'électronique puisse faire face au changement de signal du détecteur. Un balayage devrait être assez rapide pour éviter le gaspillage de temps, mais assez lent pour laisser le spectre non déformé. Plus le temps de réponse (constante de temps) est faible, plus le bruit est faible et plus le temps nécessaire pour mesurer les spectres est long. Le choix de la réponse temporelle par rapport à la vitesse de balayage dépend de l'échantillon et doit être sélectionné par l'expérience.

Dans un spectromètre FTIR, la vitesse de balayage est réglée par la vitesse d'oscillation du miroir mobile et la vitesse de transformation de Fourier de l'ordinateur. Un spectre typique peut être accumulé dans une seconde ou deux. L'opérateur de l'instrument n'a aucun contrôle sur cela. Le temps nécessaire pour mesurer un spectre FTIR est défini par le nombre de balayages accumulés et moyennés et la vitesse de l'ordinateur (voir les détails techniques).

## **La préparation des échantillons**

Un avantage majeur de la spectroscopie IR est la capacité à mesurer des matériaux relativement hétérogènes et des échantillons mal caractérisés, en particulier dans des phases condensées (par exemple des crèmes, des poudres, des matériaux cristallins). De par leur nature, ces échantillons ne sont souvent pas chimiquement purs et la spectroscopie IR peut identifier ou confirmer l'existence de constituants majeurs. La spectroscopie IR est souvent utilisée pour démontrer qu'un échantillon est concordant avec les attentes.

Néanmoins, il est essentiel d'avoir des échantillons purs pour agir en tant que standards pour la spectroscopie IR. Une difficulté majeure peut être celle de la purification et de la manipulation de quelques microgrammes de matériau sans pertes substantielles, bien que

ces problèmes aient été largement surmontés en utilisant une cristallisation fractionnée ou une chromatographie en prélude à la spectroscopie IR . La spectroscopie FTIR en ligne est possible, mais est en grande partie un outil de recherche. De nos jours, l'identification des échantillons en quantités infimes est réalisée par d'autres techniques, telles que la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire ( RMN ) et la spectrométrie de masse ( MS ). Ceci est particulièrement le cas avec les techniques de césure, qui impliquent l'utilisation de méthodes spectrométriques en ligne avec un processus chromatographique. Néanmoins, la spectroscopie IR a un rôle important à jouer dans l'identification des groupes fonctionnels.

Cependant, l'isolation d'échantillons purs d'un analyte pour la spectroscopie IR peut toujours être un problème important. Lorsque le matériau de départ est un résidu provenant de l'évaporation d'un extrait de solvant d' [urine](#) , de sang, de tissu ou d'un autre matériau, la méthode de purification la plus appropriée est une forme quelconque de Chromatographie.

## Chromatographie sur couche mince

Des systèmes appropriés pour la chromatographie sur couche mince (CCM) sont décrits. Chacun de ces systèmes est potentiellement utile lorsqu'il est nécessaire d'éluer un point, mais les systèmes à phase inversée doivent être évités car il est difficile d'enlever le point sans la phase stationnaire, ce qui interfère avec le spectre IR . En outre, les réactifs de localisation doivent être choisis avec soin, et un réactif destructeur, tel que le réactif Marquis pour les alcaloïdes, ne doit pas être utilisé. Des réactifs non destructifs, tels qu'une solution d'iodoplatinate, peuvent être utilisés car le complexe coloré est décomposable pour donner le composé d'origine. Cependant, même cette procédure peut introduire des pics étrangers dans le spectre et, idéalement, les réactifs de localisation sont mieux évités. Si le composé ne peut pas être détecté sous lumière UV , il peut être appliqué sur la plaque à couche mince deux fois et seule une partie du chromatogramme peut être pulvérisée, ce qui permet ainsi d'éluer la partie non traitée.

L'utilisation d'un acide ou d'un alcali aqueux pour éluer le composé de la plaque à couche mince, suivie de l' [extraction](#) par solvant de la solution aqueuse, est plus efficace que l'extraction directe par solvant de l'adsorbant. Dans un procédé d'extraction directe, l'adsorbant est gratté autour du point, le verre adjacent à la tache est soigneusement nettoyé et l'adsorbant est élue in situ directement sur une paroi de bromure de potassium (KBr) construite autour de la pointe du spot. Le KBr est ensuite pressé dans un disque. Cette technique ne convient que pour les taches bien résolues. L'élution du point

latéralement réduit la contamination par des composés qui ne sont pas résolus aussi bien. La récupération du matériau à partir des chromatogrammes varie de zéro à plus de 70%. Les composés qui contiennent des groupes hydroxyle et carboxyle, qui peuvent facilement former des liaisons hydrogène avec le support solide, ont tendance à être récupérés avec un faible rendement. Une interférence considérable dans la région de  $1100\text{ cm}^{-1}$  est observée avec certains adsorbants et composés.

Dans une variante de cette méthode, l'adsorbant à couche mince est placé dans le fond d'un récipient en verre avec une « mèche » triangulaire de KBr comprimé. Le solvant est ajouté et il monte la mèche et s'évapore de la région supérieure. Le composé est transporté vers le haut de la mèche par le solvant et s'accumule à l'extrémité du triangle, qui est ensuite découpé, séché et utilisé pour préparer un disque. Environ  $10\text{ }\mu\text{g}$  de composé sont nécessaires pour produire un spectre satisfaisant. L'avantage de cette technique est que la partie inférieure de la mèche KBr agit comme un filtre et élimine l'adsorbant finement divisé, ce qui peut donner lieu à des pics parasites.

Dans un autre procédé, l'adsorbant à couche mince est raclé sur une petite quantité de poudre de KBr dans le moyeu d'une aiguille hypodermique métallique de calibre 18. Une seringue en verre de 1 ml est remplie de solvant pur et reliée à l'aiguille, et le composé est élué goutte à goutte sur un monticule (10 mg) de poudre de KBr sèche. Chaque goutte de solvant peut s'évaporer complètement avant l'élution de la prochaine goutte. La poudre et le soluté sont ensuite mélangés et pressés dans un disque.

Le matériau élué comprend presque toujours des matières étrangères indésirables co-extraites du chromatogramme sur couche mince. Il est donc conseillé d'utiliser l'éluant d'une zone «vierge» comme solution de référence. La contamination par les plastifiants, les solvants et la verrerie sale peut également être un problème sérieux lorsqu'un spectre doit être obtenu à partir de quelques microgrammes d'un composé. Même un contact momentané de l'adsorbant sec avec un tube en plastique peut éliminer des quantités appréciables de plastifiants. D'où les précautions suivantes devraient être prises:

- Utilisez la quantité minimale de l'adsorbant le plus pur disponible.
- Eluer avec moins de 1 ml d'un solvant contenant  $<0,0001\%$  (1 ppm) de résidu non volatil.
- Gardez la manipulation d'échantillon au minimum.
- Nettoyer toute la verrerie avec un détergent efficace dans un bain à ultrasons.
- Éviter le contact des matériaux et des échantillons avec les plastiques.

## Chromatographie des gaz

La chromatographie en phase gazeuse peut fournir une méthode très pratique pour obtenir des échantillons purs pour la spectroscopie IR . Cependant, l'échantillon peut encore être contaminé par des impuretés éluées à partir de la phase stationnaire. L'effluent du chromatographe est une vapeur chaude et le problème est d'obtenir de petites quantités sous une forme appropriée à présenter au spectromètre. Le spectre de la vapeur peut être enregistré directement ou le composé peut être piégé puis son spectre enregistré. Malheureusement, il n'existe pas de méthode entièrement satisfaisante pour le couplage direct d'un chromatographe en phase gazeuse à un spectromètre IR dispersif standard. La sortie du chromatographe en phase gazeuse peut être divisée et une partie connectée à une cellule chauffée (ou un conduit de lumière) placée dans le faisceau d'un spectromètre IR . Le flux de gaz est ensuite arrêté, piégeant l'échantillon dans la cellule, et le spectre est enregistré dans la phase vapeur. Cette technique peut fournir des spectres acceptables de composés volatils tels que l'acétate de butyle, qui a une forte bande carbonyle, mais les spectres de composés moins volatils tels que la caféine et la phénylbutazone sont plus difficiles à obtenir. Les températures du tuyau de raccordement et de la cellule sont clairement d'une grande importance pour maintenir les composés sous forme de vapeurs. Le couplage d'un chromatographe en phase gazeuse à un instrument à transformée de Fourier est beaucoup plus satisfaisant car la vitesse de balayage est suffisamment rapide pour permettre l'enregistrement du spectre d'un composé lors de son élution. Néanmoins, les températures de la cellule et de la tuyauterie sont toujours d'une importance critique.

La méthode utilisée pour piéger un composé dépend si c'est un solide ou un liquide et, si ce dernier, sur sa volatilité. Des moyens dans lesquels de petits échantillons peuvent être obtenus à partir d'un chromatographe en phase gazeuse sous une forme appropriée à présenter au spectromètre sont donnés ci-dessous. La difficulté principale, commune à toutes ces méthodes de collecte des fractions, est de déterminer la température optimale du tube de sortie du chromatographe et la température du dispositif collecteur. Ce problème ne peut être résolu par essais et erreurs.

### Tubes refroidis

La plupart des techniques de collecte de l'effluent utilisent des tubes refroidis de verre ou de métal, mais il est difficile d'obtenir de bonnes récupérations de quelques microgrammes de composés de différentes volatilités par une technique quelconque. Les médicaments tels

que les barbituriques et les phénothiazines peuvent être récupérés dans des tubes capillaires en verre ou en métal à température ambiante de 50 à 70%, tandis que les médicaments plus volatils comme les amfetamines doivent être refroidis dans de l'azote liquide ou du dioxyde de carbone solide (Curry et al., 1968, De Leenheer, 1972).

### **Tubes aux halogénures alcalins**

Un tube droit contenant un bouchon d'halogénure alcalin en poudre est relié à la sortie du chromatographe. L'effluent se condense sur l'halogénure, qui peut ensuite être pressé dans un disque. Cette technique est la plus utile pour les composés solides à température ambiante.

### **Chromatographie en phase liquide à haute performance**

La chromatographie en phase liquide à haute performance (chapitre 29) fournit une méthode de purification très pratique, en particulier si la chromatographie en phase gazeuse est inapplicable ou si la dérivatisation du composé est nécessaire. Contrairement aux chromatographes en phase gazeuse, les chromatographes en phase liquide fonctionnent généralement à la température ambiante ou légèrement au-dessus, et la plupart des types de détecteurs sont non destructifs. Ainsi, la fraction appropriée d'éluat peut être recueillie en maintenant un tube à essai sous l'orifice de sortie.

La méthode utilisée pour récupérer l'échantillon de l'éluat à présenter au spectromètre dépend si le composé est un solide ou un liquide et, si ce dernier, sur sa volatilité et la quantité présente. Tous les solvants communs absorbent dans la région IR. Cependant, avec les installations de traitement de données des spectromètres IR modernes, ceci n'est pas un grand inconvénient. Le spectre du solvant peut être enregistré puis soustrait des spectres combinés du composé et du solvant pour donner un spectre de différence. Si la concentration de l'échantillon est faible, le spectre de différence peut être amélioré soit par balayage répétitif et par moyennage du signal, soit par expansion de l'échelle des ordonnées. Cependant, dans de nombreux cas, la quantité de matière est trop faible pour permettre la collecte et le transfert du composé dans des cellules standard.

En variante, le composé peut être récupéré par évaporation du solvant. Cependant, l'évaporation concentre également toutes les impuretés non volatiles dans le solvant, de sorte que l'utilisation de solvants purs est essentielle. Une autre source possible de contamination est le matériau d'emballage utilisé dans les colonnes de chromatographie

liquide. Beaucoup de ces matériaux sont à base de gel de silice et des quantités appréciables de silice peuvent être dissoutes par certains solvants.

## Microsublimation

Cette technique simple peut être très efficace pour purifier certains composés. Les médicaments peuvent être sublimés à partir d'un extrait de solvant évaporé dans le tube sur le doigt froid de l'appareil, et le sublimé peut être transféré en broyant doucement la poudre de KBr avec le doigt froid.

## Exemple de présentation

Les spectres IR peuvent être mesurés dans la phase gazeuse, liquide ou solide. Cependant, la plupart des composés d'intérêt sont des solides à température ambiante. En principe, un spectre IR peut être obtenu à partir d'aussi peu que 1 µg d'un composé. D'un point de vue pratique, les quantités de l'ordre de 200 à 1000 µg sont beaucoup plus faciles à manipuler. De très petites quantités nécessitent une plus grande sensibilité à réaliser avec des micro-cellules, en plaçant le plus de matériau possible dans le faisceau IR. Les microcellules nécessitent des optiques à condensation par faisceau pour concentrer autant de lumière que possible à travers l'ensemble microcellulaire.

Le verre et la silice contiennent des liaisons SiO-H et Si-O qui peuvent vibrer et absorber fortement le rayonnement IR. Par conséquent, les fenêtres de cellules doivent être fabriquées à partir de matériaux ioniques avec des liaisons qui n'ont pas de vibrations. Les vibrations du réseau cristallin provoquent une absorption dans l'IR lointain. Le fluorure de baryum (et le fluorure de calcium) est excellent pour les milieux aqueux, bien que l'absorption par les fenêtres empêche les mesures inférieures à 1000 cm<sup>-1</sup>. Les fenêtres en chlorure d'argent résistent à l'eau, permettent une transmission jusqu'à 400 cm<sup>-1</sup>, mais sont friables. Le matériau de fenêtre IR le plus populaire est le chlorure de sodium, qui est soluble dans l'eau mais transparent jusqu'à 600 cm<sup>-1</sup>.

## Des gaz

Dans les expériences de laboratoire normales, la spectroscopie IR est rarement utilisée pour l'analyse en phase gazeuse. Les gaz sont susceptibles d'être à une très faible concentration et des cellules à gaz étanches à l'air sont nécessaires. Ces cellules ont normalement des

fenêtres de chlorure de sodium, et des miroirs peuvent être utilisés pour réfléchir la lumière à travers la cellule de gaz plusieurs fois pour atteindre une longueur de trajet très longue. La détection de gaz dans l'environnement est une application typique de la spectroscopie IR en phase gazeuse.

## Liquides et solutions

Les liquides ont une très forte molarité. Ainsi, on peut dire que le chloroforme, avec une masse moléculaire relative de 119,4 et une densité de 1,48 g / mL, est de 124 M. Selon la loi de Beer, détecter l'allongement C-H ( $\epsilon \approx 10$ ) avec absorption  $A = 0,4$ , longueur de trajet requis, donné par  $l = A / (\epsilon c)$ , est d'environ  $3 \times 10^{-4}$  cm.

Les liquides purs et non volatils peuvent être mesurés simplement en plaçant une goutte entre deux plaques transparentes IR et en pressant les plaques ensemble pour assurer une longueur de trajet de mesure étroite ( $< 0,1$  mm). Les liquides volatils peuvent nécessiter des cellules liquides scellées appropriées.

Les cellules liquides sont généralement constituées de deux fenêtres transparentes parallèles (espacées de 0,1 à 0,01 mm) séparées par un joint d'étanchéité en téflon ou en plomb et munies d'orifices d'entrée et de sortie. Des cellules avec des longueurs de trajet variables sont également disponibles, dans lesquelles une fenêtre est retenue sur une vis qui peut être finement ajustée pour donner une longueur de trajet précise dans la plage de 0,1 à 0,01 mm. Ces cellules sont particulièrement utiles pour faire varier la longueur du trajet afin de s'adapter à l'absorption du solvant et aux variations des plages de concentration. L'absorption de solvant peut être prise en compte dans un ordinateur par comparaison des spectres de solution et de solvant.

Le nombre de solvants appropriés pour la spectroscopie IR est limité. La mesure de l'absorption IR d'un soluté n'est possible que dans une gamme spectrale pour laquelle le solvant est relativement transparent. Le tétrachlorure de carbone et le disulfure de carbone, qui manquent d'hydrogène et contiennent un nombre minimal de types de liaisons, sont souvent suggérés comme les solvants les plus utiles car ils ont relativement peu de bandes d'absorption dans la région IR. Cependant, ils ont de mauvaises caractéristiques de solubilisation. En pratique, le choix du solvant est basé sur la solubilité et la transparence IR au nombre d'ondes d'intérêt. Les solvants deutérés peuvent aider à ouvrir les régions pour l'analyse. Le chloroforme-deutérochloroforme, l'acétonitrile, l'eau deutérée, le toluène et le dioxane sont de bons solvants à considérer.



Pour surmonter l'absorption inhérente des solvants et le coefficient d'extinction relativement faible d'une vibration, les longueurs de trajet sont étroites et les concentrations sont élevées. La concentration du composé d'essai est habituellement d'environ 5 à 10%, mais des concentrations allant jusqu'à 20% (poids / volume) peuvent être utilisées. Avec ces concentrations élevées, les composés hydroxyle et amino présentent souvent des bandes provoquées par une liaison hydrogène intermoléculaire. Des interactions entre le composé et le solvant peuvent se produire, ce qui peut entraîner des changements de l'intensité et du nombre d'ondes de différents solvants et la rupture de la loi de Beer.

Les solvants IR sont souvent volatils et nécessitent des longueurs de trajet très courtes. Cette combinaison peut conduire à l'évaporation du solvant, ce qui produit de grandes variations de concentration. Dans les spectromètres IR de style ancien, la chaleur du rayonnement IR pourrait provoquer une évaporation - ceci pose moins de problème avec les systèmes FT avec l'échantillon placé après l'interféromètre. Un exemple est présenté ici de la détermination de la quantité de diméticone dans une formulation de crème.

La diméticone peut être extraite de crèmes avec 4% (p / p) de paraffine liquide dans du toluène et quantifiée par référence à des solutions étalons basées sur la vibration d'étirement Si-O à  $1260\text{ cm}^{-1}$  dans une cellule liquide de chlorure de sodium de 0,1 mm.

## Solides

Les solides sont généralement examinés sous forme de films minces ou de dispersions dans des liquides ou des solides. L'échantillon idéal pour les mesures de transmission IR est clair, visuellement transparent et homogène. Cela peut être difficile à réaliser avec des solides. Les échantillons hétérogènes qui sont optiquement pauvres avec de grandes particules d'échantillon peuvent introduire la diffusion de la lumière et l'effet Christansen. La diffusion de la lumière devient significative lorsque la taille des particules est supérieure à  $1/20$  de la longueur d'onde de la lumière incidente. La diffusion de la lumière produit un décalage spectral incurvé, avec une diffusion de la lumière élevée à des longueurs d'onde plus courtes / nombres d'ondes plus élevés et une diffusion de la lumière plus faible à des longueurs d'onde plus longues / nombres d'ondes plus faibles. Les échantillons doivent être broyés jusqu'à ce que la taille des particules soit inférieure à  $1\text{ }\mu\text{m}$ . L'effet Christansen, qui résulte de changements importants de l'indice de réfraction à la surface de l'échantillon, conduit à des formes de bande déformées. Les pics prennent une forme en S avec une absorption apparente réduite (ou même négative) au bord du plus long nombre d'ondes. Par conséquent, on peut observer des bandes asymétriques dont la

position et l'intensité varient en fonction des valeurs réelles. Pour les mesures de transmission, l'échantillon doit idéalement avoir l'apparence d'un «verre parfait». Pour réduire la diffusion de la lumière et l'effet Christansen, tous les composants de l'échantillon doivent avoir une très petite taille de particule ( $\leq 1 \mu\text{m}$ ) et ils doivent être secs.

La forme polymorphe d'un échantillon solide peut affecter le spectre IR . Ceci est un problème important dans l'industrie pharmaceutique, car la vitesse de dissolution d'un médicament solide peut dépendre de sa morphologie cristalline. Le succès a été atteint en écrasant simplement l'échantillon entre deux fenêtres en diamant dans un dispositif connu sous le nom d'enclume de diamant.

## Mulls

Les composés solides sont dispersés dans un liquide, tel que la paraffine liquide (Nujol). Le composé finement pulvérisé (environ 1 à 10 mg) est mélangé avec une goutte du liquide et broyé dans un mortier d'agate. L'échantillon d'essai doit avoir la constitution d'une crème fine et lisse. La pâte est étalée sur une plaque d'halogénure alcalin, habituellement du chlorure de sodium ou du KBr, et une autre plaque placée sur le dessus, en prenant soin d'exclure les bulles d'air. Les plaques sont pressées ensemble fortement. Un inconvénient de cette méthode est que le spectre de l'agent de broyage se superpose à celui de l'échantillon. Par conséquent, la paraffine liquide ne peut pas être utilisée si les vibrations d'étirement C-H doivent être examinées, et un liquide halogéné, tel que 'Fluorolube' (un hydrocarbure fluoré) ou l'hexachlorobutadiène, doit être utilisé.

## Disques aux halogénures alcalins

La technique de dispersion du composé dans un halogénure alcalin a été largement utilisée dans l'identification des médicaments. À l'origine, le KBr était utilisé et la technique est encore souvent appelée «technique KBr». Cependant, le chlorure de potassium (KCl) est supérieur au KBr car il est moins hygroscopique. Le stockage de l'halogénure alcalin dans un four à 80 ° aide à assurer des conditions anhydres.

Le composé d'essai sec et finement pulvérisé (environ 1 mg) est mélangé avec l'halogénure alcalin (environ 250 mg) et broyé mécaniquement dans un broyeur à boulets en agate ou à la main dans un mortier d'agate. Une texture proche de celle de la poudre de talc est une bonne consistance. Le mélange est pressé sous une pression d'environ 10 tonnes dans une presse spécialement conçue pour produire un disque mince optiquement bon. Un vide aide à

maintenir les conditions sèches et la formation de disque lisse. La pression est appliquée pendant 10 min.

Si seulement de petites quantités du composé sont disponibles (environ 200 µg), un masque en carton mince avec une fente au centre peut être utilisé. Le masque est placé dans la matrice et la fente est remplie avec le mélange avant de presser. Un masque est souvent utilisé de manière routinière car il fournit un support pour l'halogénure alcalin et permet ainsi de manipuler le disque plus facilement. Des microdisques de diamètre inférieur ou égal à 0,5 mm peuvent être préparés en utilisant des disques en métal (plomb ou acier inoxydable) de 13 mm de diamètre avec un trou de la taille appropriée au centre. Le trou est rempli de KBr (environ 1 mg) qui contient de 0,05 à 0,2% de l'échantillon, qui est ensuite pressé de la manière habituelle. Les disques métalliques doivent être lavés avant utilisation dans des solvants polaires et non polaires et enfin dans de l'acétone de bonne qualité pour éliminer les traces d'huile et de graisse, ce qui peut produire des artefacts dans la région C-H du spectre. La méthode peut échouer si une pression excessive est utilisée, car cela provoque une déformation du disque de plomb.

Une autre technique utile consiste à dissoudre le composé dans un petit volume de chloroforme et à l'introduire dans une seringue de type Hamilton maintenue dans un porte-répéteur. Une petite grappe de fines particules de KBr est ramassée à l'extrémité de l'aiguille par une trace de chloroforme exprimée par l'aiguille. Le solvant est évaporé doucement et le reste de la solution est introduit dans le KBr à partir de la seringue lors de son évaporation. Un disque est ensuite fabriqué à partir de la poudre. Il est important que l'extrémité de l'aiguille soit coupée perpendiculairement à l'arbre et rectifiée à plat; ceux fournis pour une utilisation avec des chromatographes en phase liquide sont appropriés. Pour les bases, il faut décider d'évaporer les solvants sans addition d'acide chlorhydrique et accepter la perte consécutive de certaines amines par volatilisation, ou ajouter de l'acide chlorhydrique et accepter la solubilité réduite des chlorures d'amine dans le chloroforme. Des pertes considérables de l'échantillon par évaporation peuvent se produire pour d'autres types de composés (par exemple des phénols), en particulier lorsque des solutions diluées sont utilisées.

KBr est hygroscopique, ce qui signifie qu'il est parfois difficile d'enlever la dernière trace d'eau, et donc le chlorure d'argent peut être utilisé à la place. Une empreinte d'environ 0,8 mm de profondeur et légèrement plus large est faite au centre d'un petit morceau de feuille de chlorure d'argent, et une solution (environ 0,1 µL) contenant seulement 500 ng de substance est placée dans l'indentation et réchauffée doucement pour évaporer le solvant. La feuille est ensuite placée dans une matrice qui produit un cône de chlorure d'argent dans lequel est inséré l'échantillon. Un cône similaire de chlorure d'argent simple

est monté dans le faisceau de référence. D'excellents spectres peuvent être obtenus avec cette technique.

Les disques aux halogénures alcalins peuvent être stockés dans un environnement sec et donner de bons spectres plusieurs années après la préparation. Un disque bien préparé devrait avoir une transmittance de plus de 80% dans les régions où l'échantillon n'absorbe pas, bien qu'il ne soit pas nécessairement visuellement clair. Il n'est pas toujours facile d'obtenir un bon disque lorsqu'une très petite quantité d'un médicament récupéré est disponible. Dans ces circonstances, l'atténuation du faisceau de référence peut « affiner » le spectre. Une autre technique consiste à chauffer le disque d'halogénure alcalin à environ 80 ° pendant 30 à 60 minutes avec une lampe IR pour évaporer toute l'eau absorbée. Cependant, la température élevée accentue les inconvénients de la technique des disques aux halogénures alcalins. De plus, les artefacts suivants ont été observés :

- Formation d'anhydrides à partir d'acides carboxyliques.
- Les cétales et les cyanhydrines retournent à la cétone parente.
- Perte d'eau des alcools secondaires.

Plusieurs inconvénients sont inhérents à la technique du disque aux halogénures alcalins. Les halogénures alcalins généralement utilisés sont hygroscopiques et il est très difficile d'exclure toute trace d'eau. Cela entraîne souvent une bande O-H dans le spectre. Un certain nombre de composés qui contiennent des groupes O-H forment soit des liaisons hydrogène avec l'halogénure alcalin, soit sont adsorbés sur sa surface, de sorte que le procédé n'est pas approprié si la bande O-H doit être examinée. Dans de tels cas, la poudre de polytétrafluoroéthylène ( PTFE ) peut parfois être utilisée à la place de l'halogénure alcalin. Le polymorphisme se produit dans de nombreux composés et le broyage et le pressage peuvent altérer la forme cristalline et par conséquent le spectre. La division des bandes se produit également fréquemment. Un autre inconvénient est la possibilité que des changements chimiques se produisent pendant la préparation du disque. Par exemple, une double décomposition peut se produire :



Par conséquent, de préférence les chlorhydrates doivent être examinés dans du KCl. Le bromure peut être oxydé en brome par certains composés, en particulier par des agents oxydants forts, ce qui peut entraîner la décoloration d'un disque ou l'apparition de taches brun-jaune. Si l'échantillon est un oxydant potentiel, d'autres techniques de préparation

d'échantillons doivent également être utilisées pour vérifier la fiabilité des spectres obtenus à partir du disque alcalin.

Les composés organiques contenant de l'azote dans un groupe fonctionnel ne doivent pas être utilisés avec des plaques constituées de bromure de thallium et d'iodure de thallium, car elles semblent réagir avec les plaques.

Malgré ces inconvénients, la technique reste très utile pour les médicaments solides. Les avantages sont que, en plus d'être facile à utiliser, l'absorption de l'halogénure alcalin est très faible et la quantité de composé requise est faible. Les disques peuvent facilement être stockés à des fins de référence ou le composé peut être récupéré si nécessaire.

### **Films minces**

Cette méthode est utile s'il est nécessaire d'obtenir des spectres exempts de milieux de dispersion. Le film peut être préparé soit en faisant fondre le solide et en le versant sur une plaque appropriée, soit en évaporant une solution sur une plaque transparente IR .

### **Mesure d'échantillons fortement absorbants ou fortement diffuseurs de lumière**

La lumière infrarouge incidente sur les solides, les poudres ou d'autres matériaux tels que les crèmes n'est transmise que de façon médiocre, voire pas du tout, en raison des longues distances et de la diffusion de la lumière. Les liquides purs et les solutions nécessitent des longueurs de trajet très étroites pour surmonter l'absorption du solvant. Cependant, la lumière diffusée ou la lumière réfléchie peuvent être surveillées dans ces cas et ces techniques peuvent être utilisées pour examiner des préparations pharmaceutiques intactes.

### **Diffusion de la lumière**

La lumière infrarouge tombant sur une poudre peut être réfléchie de deux façons. La lumière peut être réfléchie vraiment dans le sens de la réflexion du miroir (l'angle d'incidence est égal à l'angle de réflexion); c'est ce qu'on appelle la réflectance spéculaire. En variante, la lumière IR peut être diffusée, dans le sens de la diffusion de Rayleigh, sur tous les angles avec une intensité de diffusion liée à la taille des particules; on parle souvent de réflectance diffuse. La réflectance spéculaire est liée à l'indice de réfraction de l'échantillon et l'intensité par rapport aux données d'onde est difficile à

interpréter. D'autre part, la réflectance diffuse est plus simplement liée à l'intensité de la lumière; Si la lumière est absorbée à la surface, elle ne peut pas être dispersée. Un appareil typique, souvent donné l'acronyme DRIFT (spectroscopie de transformée de Fourier à réflectance diffuse IR). L'échantillon est placé sur un plateau d'échantillons situé sous deux miroirs ellipsoïdaux M3 et M4. Les poudres et fibres hétérogènes ont souvent avantage à être broyées et «diluées» avec du KBr. Le KBr pur peut être utilisé comme matériau de référence dans une mesure séparée pour le spectre de référence. Un bon échantillon peut être produit en frottant un échantillon solide avec du papier carbure de silicium P220C de English Abrasives pour produire un échantillon d'environ 150 µg sur une surface de 35 mm<sup>2</sup>.

La réflectance diffuse est une mesure de l'intensité en fonction des données de nombre d'ondes, normalement dans une configuration à faisceau unique. Pour s'assurer que les mesures sont au moins approximativement proportionnelles à la concentration, une transformation de Kubelka-Munk peut être appliquée (Kubelka et Munk 1931).

$$\text{Kubela-Munk spectrum} = \left[ \frac{\left(1 - \frac{\text{Sample spectrum}}{\text{Reference spectrum}}\right)^2}{2 \left(\frac{\text{Sample spectrum}}{\text{Reference spectrum}}\right)} \right]$$

Alternativement, les données peuvent être présentées sous la forme [-log (spectre de réflectance)] par rapport à wavenumber.

### Réflectance totale atténuée

La lumière qui arrive à un angle approprié à la limite entre deux milieux (ou matériaux) avec des indices de réfraction  $n_1$  et  $n_2$  appropriés peut être réfléchié dans le premier milieu. Ceci est connu comme la réflectance interne. Pour que cela se produise, le faisceau lumineux doit avoir au moins échantillonné le second milieu, ne serait-ce que jusqu'à une profondeur d'environ 10 µm. La lumière dans cette fine tranche du second milieu est appelée onde évanescente. Si le second milieu a des propriétés d'absorption, cela est détecté par l'onde évanescente et le faisceau réfléchi a une intensité réduite (atténuée), la réflectance totale atténuée (ATR). Le faisceau détecté fournit maintenant l'intensité en fonction des caractéristiques du nombre d'onde qui sont effectivement le spectre d'absorption du second milieu.

Plusieurs attachements exclusifs sur le marché sont basés sur un seul prisme rhomboïde. Les matériaux optiques appropriés pour le milieu 1 sont le sélénure de zinc (ZnSe), le germanium et le diamant. Un puits d'échantillon est créé du côté du bloc optique rhomboïde. Un bloc ZnSe typique est de 50 mm × 1 ou 2 mm, ce qui donne 15 à 45 réflexions, selon les angles de losange. Dans ce cas, des sections de 5 à 10 µm du milieu 2 sont échantillonnées sept à 22 fois, ce qui donne une longueur de trajet optique efficace de l'ordre de 35 à 220 µm. La longueur de trajet est reproductible et les échantillons sont faciles à changer par rapport à la cellule espaceur de transmission simple équivalente, bien que ce dernier puisse être préféré pour des solutions simples. Tout matériau qui forme un bon contact optique avec le prisme peut, en principe, être mesuré (solutions, huiles, cires, crèmes, pâtes, poudres et films).

Des dispositifs plus sophistiqués existent, la réflexion interne suivante dirige le rayonnement IR à travers un prisme en diamant, où l'onde évanescente est réfléchi à travers le prisme ZnSe et ensuite sur le détecteur via le miroir M2. En principe, un échantillon de poudre, sans préparation d'échantillon, est placé sur les surfaces du prisme en diamant où il est compacté par un plongeur. Les poudres, les films, les solutions, etc., peuvent tous être mesurés avec la même facilité et aucun pré-traitement d'échantillon. Cet appareil produit d'excellents résultats. Les lignes de base sont plates car la technique ne dépend pas de la diffusion de la lumière.

## Interprétation des spectres

Une molécule non linéaire a  $(3N - 5)$  modes fondamentaux (normaux) de vibration (ceci exclut les harmoniques et les combinaisons). Ainsi, une molécule telle que le paracétamol (voir Figure 21) de formule  $C_8H_9NO_2$  a  $(3 \times 20^5) = 55$  fondamentaux (modes normaux de vibration). Assigner 55 pics dans un spectre IR est une tâche intimidante à tout le moins. Par conséquent, il est peu probable que la structure moléculaire totale d'un médicament soit déterminée directement à partir de l'information sur les spectres IR seul.

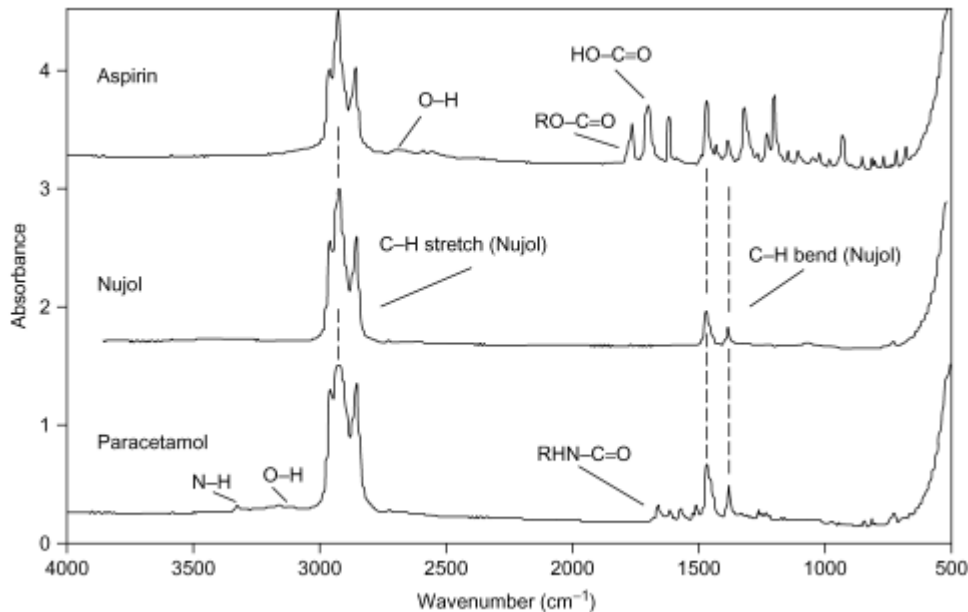


Figure 21. Les spectres IR de l'aspirine, du Nujol et du paracétamol. Les spectres de médicament ont été mesurés en tant que rumeurs de Nujol.

L'identification d'une entité chimique comporte trois aspects. Dans un premier temps, les propriétés (biologiques, chimiques et spectroscopiques) d'un médicament sont évaluées et le médicament est classé en fonction de son type (par exemple, médicament inflammatoire non stéroïdien, barbiturique, stéroïde, etc.). L'analyte peut être un composé précédemment caractérisé, auquel cas une comparaison des données provenant de l'inconnu avec des données de référence, souvent appelée identification par empreinte digitale, confirme l'identité du composé. Cela peut être possible grâce à l'appariement par ordinateur des spectres. La structure moléculaire d'une nouvelle entité chimique devra probablement être déterminée par spectroscopie RMN, peut-être en combinaison avec MS. Cependant, des informations telles que l'existence de groupes fonctionnels spécifiques ou l'élimination de structures putatives sont d'une grande aide dans le traitement de l'information RMN.

## Correspondance des spectres infrarouges et identification des empreintes digitales

Dans le cas le plus simple, deux impressions spectrales, l'une de la référence et l'autre de l'analyte, peuvent être superposées sur une boîte à lumière et les caractéristiques spectrales liées à l'oeil. La superposition des spectres sur l'écran de l'ordinateur atteint le



même objectif.

Lorsque le spectre d'une substance examinée est comparé à un spectre de référence, comme ceux de la Pharmacopée britannique, les positions et les intensités relatives des bandes d'absorption du spectre de la substance examinée doivent être conformes à celles du spectre de référence. Lorsque les deux spectres sont comparés, il faut prendre soin de tenir compte de la possibilité de différences de puissance de résolution entre l'instrument sur lequel le spectre de référence a été préparé et l'instrument utilisé pour examiner la substance. C'est une bonne pratique de faire fonctionner un spectre d'un film de polystyrène sur le même instrument pour le comparer avec celui enregistré sur le spectre de référence. Les plus grandes variations dues aux différences de puissance de résolution sont susceptibles de se produire dans la région entre 4000 et 2000  $\text{cm}^{-1}$  (British Pharmacopoeia Commission 2002, page A129).

Lorsqu'une substance chimique de référence est disponible, la substance examinée et la substance chimique de référence doivent être préparées selon la même procédure avant d'enregistrer les spectres (voir plus loin sous Polymorphisme). Les minima de transmission dans le spectre obtenus avec la substance examinée doivent correspondre en position et en taille relative à ceux du spectre obtenu avec la substance de référence (British Pharmacopoeia Commission 2002, page A128).

Ces dernières années, des bases de données spectrales IR ont été créées et stockées électroniquement dans des bases de données et / ou des bibliothèques. Le spectre de l'analyte est présenté à la base de données et l'ordinateur tente de faire correspondre le spectre avec un spectre déjà présent dans la base de données. Un rapport est fait des meilleurs matchs. Le programme d'ordinateur répertorie les résultats les plus probables dans l'ordre d'une proximité d'ajustement. De nombreuses compilations de spectres (bases de données) sont des collections privées, généralement détenues par des sociétés pharmaceutiques individuelles; certains peuvent être achetés et quelques-uns sont dans le domaine public.

Le nombre de composés pour lesquels les spectres IR ont été mesurés est maintenant massif. Potentiellement, plus le nombre de spectres dans une base de données est grand, plus la probabilité de faire une bonne correspondance pour l'échantillon inconnu est grande. Cependant, la probabilité de faire une discordance est également plus grande, car plus de spectres avec des différences fines sont disponibles pour la comparaison. L'ordinateur correspond simplement à des «images» par le nombre de pics, leurs positions et leurs intensités relatives. Le mieux que l'essayage peut faire est d'indiquer une similarité mathématique. Il est important de qualifier une recherche sur ordinateur:

- Une superposition visuelle du spectre du composé d'essai et du spectre de pénétration garantit que la recherche n'a pas choisi une correspondance mathématiquement acceptable, mais chimiquement inacceptable.
- La connaissance de la classe d'un composé peut aider à restreindre la recherche à un ensemble de référence plus raffiné (base de données).
- D'autres propriétés de l'échantillon et du composé de référence doivent correspondre, telles que les temps de rétention chromatographiques, les réactions chimiques et colorées et les affectations de groupes fonctionnels.
- L'ordinateur ne peut sélectionner que les spectres qui sont dans sa bibliothèque et si le spectre du composé étudié est absent, il sélectionne ceux qui donnent le meilleur ajustement.
- Différentes formes du même composé donnent des spectres IR différents (polymorphes différents, racémate et / ou énantiomère, statut d'ionisation, cations et anions).
- Si les spectres ont été enregistrés sur différents instruments, ils peuvent, au moins superficiellement, apparaître très différents. Dans ce cas, une étude plus détaillée des fréquences de bande et des intensités relatives doit être entreprise.

Si la procédure d'appariement échoue, et dans les cas où le type de composé est inconnu ou ne peut être attribué qu'à une certaine classe (par exemple une phénothiazine ou un barbiturique), on peut se référer à l'indice des pics IR dans la partie 3 de ce livre et à l'information dans les monographies individuelles. La comparaison du spectre de l'inconnu avec celui du composé suspect devrait confirmer ou infirmer l'identification provisoire. Si les deux spectres ont été enregistrés dans des conditions similaires sur le même type d'instrument, ils devraient être très similaires en apparence. Quelques exemples d'identification de médicaments sont donnés ci-dessous.

## **Spectres infrarouges des amfetamines**

Les spectres IR de base d'amfetamine et le chlorhydrate ont beaucoup de similitudes, mais le spectre de chlorhydrate montre beaucoup de détails plus fins. Les spectres IR des sels de chlorhydrate et de mandélate montrent des différences dues à l'absorption de l'acide mandélique. Cependant, les spectres des sels de chlorhydrate et de sulfate sont très similaires puisqu'ils ont tous les deux des anions inorganiques. La seule différence majeure est la bande d'absorption causée par le sulfate à  $1110\text{ cm}^{-1}$ .

## Spectres infrarouges des barbituriques

Des dérivés importants de la malonylurée (acide barbiturique) ont deux substituants en position 5. D'autres sont également substitués en position 1 et dans d'autres, l'atome d'oxygène attaché à la position 2 est remplacé par du soufre pour former des thiobarbiturates.

Les barbituriques peuvent être classés chimiquement en trois classes: les acides barbituriques 5,5-disubstitués, les acides barbituriques 1,5,5-trisubstitués et les acides thiobarbituriques 5,5-disubstitués. Ces classes peuvent être davantage divisées selon que les substituants en position 5 sont des groupes alkyle, alcényle, aryle ou cycloalcényle. Dans la plupart des barbituriques courants, l'un des 5 substituants est soit éthyle ou allyle et l'autre est un groupe alkyle ou alcényle à chaîne droite ou ramifiée avec cinq atomes de carbone ou moins. Certains barbituriques sont disponibles sous forme de sels de sodium. Le spectre IR d'un barbiturique dépend donc de la classe de composé, de la nature des substituants et du fait qu'il s'agisse de l'acide libre ou du sel de sodium.

A l'exception du phénobarbital et de l'acide barbiturique, les barbituriques libres n'absorbent pas sensiblement au-dessus de  $3300\text{ cm}^{-1}$  (par exemple le barbitum), ce qui les distingue des uréides; une bande faible d'origine inconnue se produit parfois entre  $3500$  et  $3400\text{ cm}^{-1}$ . Tous les barbituriques ont deux bandes, qui se produisent près de  $3200$  et  $3100\text{ cm}^{-1}$  et sont causées par des vibrations d'étirement N-H. Dans les composés 5,5-disubstitués, les intensités relatives des deux bandes sont similaires, bien que celle de  $3100\text{ cm}^{-1}$  soit habituellement légèrement moins intense. Dans les composés substitués sur l'atome d'azote en position 1, l'intensité de la bande à  $3100\text{ cm}^{-1}$  peut être fortement réduite et est souvent présente seulement comme un épaulement sur la bande à  $3200\text{ cm}^{-1}$ , par exemple métharbital. Le méthylphénobarbital semble être une exception dans la mesure où la bande à  $3100\text{ cm}^{-1}$  est la plus intense de la région. Un phénomène similaire se produit avec les sels de sodium, car ici encore l'un des atomes d'hydrogène dans l'une ou l'autre des positions 1 ou 3 a été remplacé.

Une série de jusqu'à quatre bandes moyennes à intenses se produit dans la région de  $3000$  à  $2800\text{ cm}^{-1}$ , et est causée par des vibrations étirement alkyl-C-H des substituants dans les positions 1 et 5. L'intensité des bandes donne une très indication approximative du nombre de liaisons C-H et donc du nombre d'atomes de carbone dans la chaîne. Ceci ne semble pas s'appliquer aux sels de sodium, dans lesquels la bande qui se produit à  $3000\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$  a habituellement une intensité accrue, comparée à celle de l'acide libre, et devient la bande la plus forte. Comparez, par exemple, les spectres du barbital et du barbital sodique.

Les barbituriques ont jusqu'à trois bandes fortes dans la région  $1765$  à  $1670\text{ cm}^{-1}$ , qui résultent des vibrations d'étirement  $\text{C} = \text{O}$ . La connaissance de l'origine de ces bandes aide à comprendre les différences dans les spectres des différents types de barbituriques.

Dans les molécules symétriques, les trois bandes ont toutes une intensité similaire. Dans les molécules asymétriques, la bande à la plus haute fréquence est souvent moins intense que les deux autres, en particulier lorsque la molécule est substituée en position 1. Les sels de sodium des barbituriques n'ont que deux bandes dans cette région, puisque la molécule n'est plus symétrique, et ceux-ci se produisent à une fréquence plus faible, entre  $1700$  et  $1650\text{ cm}^{-1}$ . En outre, une large bande forte se produit entre  $1600$  et  $1550\text{ cm}^{-1}$ ; les barbituriques libres ne montrent pratiquement aucune absorption dans cette région. Les sels de sodium des thiobarbiturates présentent seulement la plus faible des trois vibrations  $\text{C} = \text{O}$  dans la région de  $1700$  à  $1680\text{ cm}^{-1}$ . Ils présentent, cependant, la bande large et forte qui se produit entre  $1650$  et  $1600\text{ cm}^{-1}$ . Par conséquent, le nombre, la position et l'intensité des bandes entre  $1800$  et  $1500\text{ cm}^{-1}$  donnent une très bonne indication si le barbiturique est l'acide libre, le sel ou un thiobarbiturate.

La plupart des barbituriques ont un nombre de bandes fortes entre  $1460$  et  $1250\text{ cm}^{-1}$ , et certains résultent de la déformation de  $\text{C-H}$  et des vibrations d'étirement de  $\text{C-N}$ . Les sels de sodium des thiobarbiturates ont une bande large et large entre  $1500$  et  $1480\text{ cm}^{-1}$ , que l'on pense être provoquée par des vibrations d'étirement de  $\text{C-N}$  de l'atome de carbone attaché au soufre. Cette bande n'est pas présente dans les barbituriques ordinaires et fournit donc une autre façon de distinguer ceux qui contiennent du soufre. De nombreux barbituriques présentent quelques bandes d'intensité faible à moyenne dans la région de  $1150$  à  $900\text{ cm}^{-1}$ . Les barbituriques 1-substitués présentent un plus grand nombre de bandes aiguës d'intensité moyenne. Les composés qui contiennent un groupe allyle présentent des bandes à environ  $1000$  à  $960\text{ cm}^{-1}$ , ce qui résulte probablement des vibrations de déformation de  $\text{C-H}$ . Les sels de sodium des thiobarbiturates présentent une bande d'intensité moyenne comprise entre  $1020$  et  $1000\text{ cm}^{-1}$ . Enfin, de nombreux barbituriques, mais pas les thiobarbituriques, présentent une large bande d'intensité moyenne à forte entre  $900$  et  $800\text{ cm}^{-1}$ .

## **Spectres infrarouges de l'aspirine, du Nujol et du paracétamol**

Les spectres de l'aspirine, du Nujol et du paracétamol, qui illustrent la différenciation des groupes  $\text{N-H}$ ,  $\text{O-H}$ , ester, acide carboxylique et amide. En particulier, l'effet de Nujol sur les spectres de médicament est apparent.

## Polymorphisme

De nombreux médicaments existent sous des formes polymorphes et ont des spectres IR différents pour chaque forme cristalline différente. La spectroscopie IR peut donc être utilisée pour distinguer différentes formes polymorphes, pour les identifier et aussi pour mesurer quantitativement les proportions de chacune dans un mélange.

Si un composé d'essai donne un spectre différent à la substance chimique de référence correspondante, et si l'on soupçonne un polymorphisme, les deux doivent être traités de la même manière pour qu'ils cristallisent ou soient produits sous la même forme. Ceci peut souvent être réalisé en les dissolvant dans un solvant approprié et en évaporant à sec.

Les barbituriques sont remarquables dans la mesure où ils présentent un polymorphisme, y compris de nombreuses formes métastables que l'on trouve uniquement dans les mélanges. Les différences spectrales entre les polymorphes sont associées à différents types de liaisons hydrogène, et il existe une corrélation entre la force de la liaison hydrogène et la durée d'action des barbituriques sur le système nerveux central. La structure cristalline des barbituriques peut être affectée par le broyage avec un halogénure alcalin ou dans la préparation d'une pâte, mais si des précautions sont prises pour assurer la reproductibilité, les spectres des barbituriques sont suffisamment différents pour être utilisés à des fins d'identification.

## Interférences

Des bandes parasites peuvent facilement apparaître dans les spectres IR, en particulier lorsqu'un échantillon biologique a subi plusieurs procédures de purification. Des traces de plastifiants, de tensioactifs et d'huiles laissées sur la verrerie peuvent toutes donner naissance à de fausses bandes IR. Une liste utile a été compilée par Szymanski (1971).

## Données infrarouges dans les monographies

L'identification spectrale moderne par référence à des bases de données informatiques implique des algorithmes chimiométriques sophistiqués pour comparer tous les points numérisés dans un spectre de test avec un ensemble de spectres de référence. Les spectres jugés les plus similaires sont considérés comme une correspondance, ce qui permet d'établir l'identité du spectre de test. Ce type de travail nécessite des ensembles de

référence de base de données spécialisés et des programmes informatiques. Une grande partie est propriétaire et liée au logiciel du spectromètre utilisé.

Cependant, il a été démontré (Curry et al., 1969, Ingle et Mathieson 1976) qu'un spectre IR d'une substance particulière peut être récupéré à partir d'une collection, avec un certain degré de confiance, en se référant à ses six grandes bandes d'absorption. Ceci constitue la base d'un système d'identification.

Les données composées de six grandes bandes d'absorption ont été sélectionnées à partir du spectre enregistré dans la gamme de 2000 à 650  $\text{cm}^{-1}$  (5 à 15  $\mu\text{m}$ ) et sont incluses dans les monographies de la partie 2. Dans de nombreux cas, le spectre est reproduit une taille réduite. Les pics sélectionnés sont les six pics les plus intenses, à l'exception de ceux dans la région où Nujol absorbe (1490 à 1320  $\text{cm}^{-1}$ , 6,7 à 7,6  $\mu\text{m}$ ) ont été omis. Les pics sont disposés par ordre décroissant d'amplitude. Il convient de noter qu'en raison des variations des instruments et des conditions, d'autres déterminations du spectre pourraient ne pas donner de pics avec les mêmes intensités relatives.

Les principaux pics sont également énumérés dans l'ordre décroissant de l'amplitude dans la partie 3 de ce livre. Les détails sur l'utilisation des données sont donnés dans les index des données analytiques.

## Analyse quantitative

### Concentration d'espèces moléculaires

Les spectromètres FTIR sont maintenant des instruments très stables et, couplés au contrôle par ordinateur et à la manipulation des données, devraient être aussi faciles à utiliser que les spectrophotomètres UV- visibles. Ils peuvent fonctionner de manière routinière en mode d'absorbance, ce qui est nécessaire pour les déterminations de concentration. Cependant, des concentrations relativement élevées sont nécessaires étant donné la restriction de l'absorption du solvant, le besoin de longueurs de trajet étroites et les faibles coefficients d'extinction des vibrations. En supposant que la loi de Beer soit respectée, les concentrations absolues peuvent être déterminées en solution à partir de bandes spécifiques dans des fenêtres de transparence au solvant. À l'état solide, les quantités relatives de deux composants peuvent être facilement estimées à partir des intensités relatives de deux bandes d'absorption spécifiques:

$$A_{1\lambda_1} = \varepsilon_{1\lambda_1} c_1 l$$

$$A_{2\lambda_2} = \varepsilon_{2\lambda_2} c_2 l$$

$$\frac{A_{1\lambda_1}}{A_{2\lambda_2}} \propto \frac{c_1}{c_2}$$

où  $A_{1\lambda_1}$ ,  $A_{2\lambda_2}$ ,  $\varepsilon_{1\lambda_1}$  et  $\varepsilon_{2\lambda_2}$  sont, respectivement, les coefficients d'absorbance et d'extinction des espèces 1 et 2 aux longueurs d'onde correspondantes  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$ . La concentration des espèces 1 et 2 est  $c_1$  et  $c_2$ , et la longueur du trajet est  $l$ .

## Collections de données

### Collections générales

Les compilations de données spectrales IR sont disponibles sous deux formes, soit sous forme d'images, soit sous forme d'absorbance numérique / nombre d'onde dans les bases de données électroniques. Les images sont disponibles sous forme de livre ou d'ordinateur et conviennent à l'inspection visuelle. Les caractéristiques spectrales peuvent être déterminées à l'aide d'une règle. Les bases de données électroniques sont disponibles dans la mémoire de l'ordinateur pour la manipulation des données et l'appariement spectral. Les logiciels tiers pour la manipulation informatique des données spectrales IR comprennent:

- GRAMSAI version 7 et Spectral ID<sup>®</sup> disponibles auprès de Thermo Galactic, 395 rue Main, Salem, NH 03079, USA.
- Aldrich Spectral Viewer disponible auprès de Sigma-Aldrich Company Ltd., The Old Brickyard, New Road, Gillingham, Dorset SP8 4XT, Royaume-Uni, ou leur site Web <http://www.sigmaaldrich.com>.
- Thermo Nicolet OMNIC FTIR disponible auprès de Thermo Nicolet Corporation, 5225 Verona Road, Madison, WI 53711-4495, USA.

D'autres fabricants d'instruments peuvent fournir un logiciel approprié.

La collection la plus complète de spectres publiés est celle des Sadtler Research Laboratories. Ceci est disponible par l'intermédiaire de Bio-Rad, Informatics / Sadtler Group, 3316 Spring Garden Street, Philadelphie, PA 19104-2596, États-Unis. La base de données totale couvre 220 000 spectres, qui sont divisés en groupes spécialisés:

- polymères et composés apparentés
- composés organiques purs
- composés industriels
- sciences médico-légales
- applications environnementales
- inorganique
- organométalliques.