

# Chapitre<sup>2</sup> Analyse quantitative en spectroscopie RMN

SAMIR KENOUCHE - DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIÈRE - UMKB

*Module : Spectroscopie atomique et moléculaire - Niveau Master 1*

*Version corrigée, améliorée et augmentée*

## Résumé

La spectroscopie RMN apporte des informations notamment sur l'environnement d'un noyau, la nature des noyaux voisins, la stéréochimie de certains types de molécules ainsi que les propriétés texturales des matériaux. Elle est également utile pour caractériser la dynamique moléculaire à travers la mesure des temps de relaxation magnétique et du coefficient de diffusion. Cet large éventail d'applications fait de la spectroscopie RMN, un outil d'analyse très puissant. Dans ce chapitre, il sera question uniquement de la RMN en milieu liquide. Les rappels théoriques sont réduits au strict minimum. Les étudiants (es) auxquels est destiné ce cours sont censés avoir connaissance des fondements théoriques de la RMN et notamment les aspects inhérents à l'interprétation des spectres (les noyaux utiles à la RMN, multiplicité des raies, les différents couplages, ... etc). Ce cours s'attèlera uniquement à l'analyse quantitative, après un bref rappel théorique de quelques notions élémentaires. Pour les étudiants (es) ayant déjà acquis ces notions, peuvent passer directement à la partie Analyse Quantitative, cf. (II).

Au sujet de la quantification de l'énergie, *Gaston Bachelard* disait :

*" ... Sans quanta d'énergie nous ne pouvons pas comprendre l'arithmétique fondamentale de la matière et du rayonnement "*

Cf. Gaston Bachelard - Mathématicien et Philosophe des sciences  
L'activité rationaliste de la physique contemporaine, Pres. Univ. de France.

## TABLE DES MATIÈRES

<b>I</b>	<b>Rappels théoriques</b>	<b>2</b>
I-A	Précession de Larmor . . . . .	3
I-B	Rapport $S/B$ . . . . .	4
I-C	Déplacement chimique . . . . .	5
<b>II</b>	<b>Analyse quantitative</b>	<b>6</b>
II-A	Détermination de la concentration : étalon externe . . . . .	6
II-B	Détermination de la concentration : étalon interne . . . . .	7
II-C	Détermination de la proportion massique . . . . .	8
II-D	Mesure des temps de relaxation $T_1$ et $T_2$ . . . . .	9
	II-D1 Mesure du $T_1$ . . . . .	10
	II-D2 Mesure du $T_2$ . . . . .	11

S. Kenouche est docteur en Physique de l'Université de Montpellier et docteur en Chimie de l'Université de Béjaia.

Site web : voir <http://www.sites.univ-biskra.dz/kenouche>

Document fait le 01.12.2020.

## I. Rappels théoriques

Lorsqu'une population de spin  $N$ , les noyaux de  $^1\text{H}$  ( $I = \frac{1}{2}$ ) par exemple, est placée dans un champ magnétique statique d'amplitude  $B_0$ , elle acquiert une aimantation macroscopique dirigée suivant l'axe du champ appliqué. Cette aimantation résultante est la conséquence de l'existence de différentes orientations des spins par rapport au champ  $B_0$ . Ces orientations, sont quantifiées par le biais du nombre quantique magnétique  $m$ . À l'équilibre thermique, et d'après l'équation de *Boltzmann*, les populations des niveaux énergétiques sont données par :

$$\frac{N_2}{N_1} \propto \exp\left(\frac{-\Delta E}{k_B T}\right) \quad (1)$$

Avec  $\Delta E$  est la différence d'énergie entre les niveaux  $N_2$  et  $N_1$ . Où  $k_B$  est la constante de *Boltzmann*  $1.38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$  et  $T$  est la température absolue  $K$ .

$$\Delta E = h\nu = h \frac{\omega}{2\pi} = \frac{h}{2\pi} \omega \quad \text{avec} \quad \omega = \gamma B_0 \Rightarrow \Delta E = \hbar \gamma B_0 \quad (2)$$

Avec  $\hbar = \frac{h}{2\pi}$  est la constante de *Planck* réduite valant  $1.05 \times 10^{-34} \text{ Js}$  et  $\gamma$  est la constante gyromagnétique<sup>1</sup> du noyau considéré valant  $2.67 \cdot 10^8 \text{ rad/T s}$ . La sensibilité de la spectrométrie RMN dépend explicitement du rapport exprimé par la relation (1). Calculons justement ce rapport pour un champ magnétique d'intensité  $B_0 = 4 \text{ T}$  et pour une température  $T = 300 \text{ K}$ , il vient :

$$\Delta E = 1.05 \cdot 10^{-34} \times 2.67 \cdot 10^8 \times 4 \Rightarrow \Delta E = 11.20 \times 10^{-26} \text{ J}$$

$$\Rightarrow \frac{N_2}{N_1} \propto \exp\left(\frac{-11.21 \times 10^{-26}}{1.38 \cdot 10^{-23} \times 300}\right) \quad (3)$$

$$\Rightarrow \frac{N_2}{N_1} \propto \exp(-0.03 \times 10^{-3}) \quad (4)$$

$$\Rightarrow \frac{N_2}{N_1} \propto 0.999968 \quad (5)$$

Ce résultat implique que le niveau fondamental  $N_1$  est sensiblement égale au niveau excité  $N_2$ . En effet, pour  $N_1 = 100\,000$  on aura  $N_2 = 99\,997$ . Soit une différence de trois protons. En d'autres mots, sur les 100 000 noyaux  $H^1$  occupant le niveau  $N_1$  seuls 3 protons!! transitent au niveau  $N_2$ , ce sont ces trois protons uniquement qui participent à la construction du signal RMN. C'est pour cette raison que la spectroscopie RMN est très peu sensible comparativement à la spectroscopie UV-Vis ou IR. Par conséquent, afin d'augmenter la sensibilité de cette technique, on peut agir soit sur l'intensité  $B_0$ , la population de spin  $N$  (échantillon riche en proton) ou la diminution de la température. Or, les expériences RMN sont très souvent réalisées à la température ambiante et plus le  $B_0$  est intense plus le coût de la machine est élevé.

1.  $\gamma = \frac{q_N}{2m_N}$  avec  $q_N$  est la charge du noyau et  $m_N$  sa masse.

### A. Précession de Larmor

À l'instar de toute particule, un noyau, possède une charge électrique et une masse. Il est pourvu également d'un moment cinétique  $\vec{L}$  et d'un moment magnétique  $\vec{M}$  (ce vecteur de magnétisation macroscopique s'écrit comme la somme des moments magnétiques nucléaires individuels) qui caractérisent son mouvement de rotation intrinsèque. L'application d'un champ magnétique statique  $\vec{B}_0$  sur une population de noyau de moment magnétique  $\vec{M}$  va engendrer l'apparition d'un couple de forces  $\vec{\Gamma}$  :

$$\vec{\Gamma} = \vec{M} \wedge \vec{B}_0 \quad (6)$$

ce couple de forces modifie le moment cinétique total  $\vec{L}$  des noyaux de l'échantillon en vertu du principe fondamental de la dynamique, suivant :

$$\frac{d\vec{L}}{dt} = \vec{\Gamma} = \vec{M} \wedge \vec{B}_0 \quad (7)$$

Le moment magnétique  $\vec{M}$  étant à une constante près (constante gyromagnétique) proportionnel au moment cinétique total  $\vec{L}$  :

$$\vec{M} = \gamma \vec{L} \quad (8)$$

Ainsi, le mouvement du moment magnétique obéit à l'équation :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \wedge \vec{B}_0 \quad (9)$$

En présence du champ magnétique externe  $\vec{B}_0$  uniforme et homogène, l'aimantation des noyaux décrit un mouvement de rotation autour de  $\vec{B}_0$ . Ce mouvement est régi par l'Eq. (9). La solution de cette équation différentielle est un mouvement de précession de  $\vec{M}$  autour de l'axe de  $\vec{B}_0$ . Afin de mieux illustrer ce propos, à partir de la Fig. 1, nous remarquons que le vecteur  $\frac{d\vec{M}}{dt}$  est normal au vecteur  $\vec{M}$ . Comme le produit scalaire  $d\vec{M} \times \vec{M}$  est nul, il en résulte que la norme  $M$  est constante. De même,

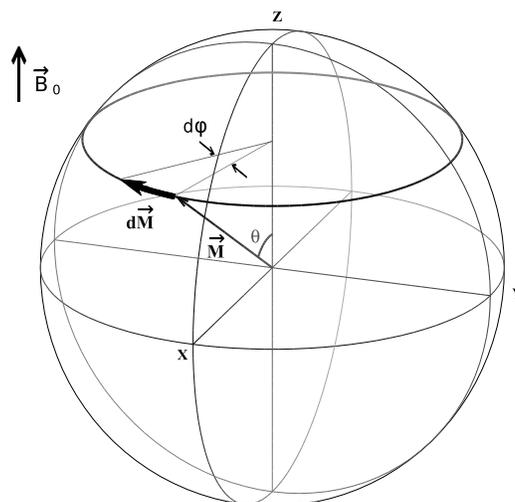


FIGURE 1: Précession de Larmor : le couple exercé sur l'aimantation  $\vec{M}$  par le champ magnétique statique  $\vec{B}_0$ , induit un mouvement de précession de  $\vec{M}$  autour de  $\vec{B}_0$  avec une vitesse angulaire  $\omega_0$

le produit scalaire  $d\vec{M} \times \vec{B}_0$  est nul par conséquent,  $B_0 M \cos(\theta) = cte$ . Ce qui implique, que l'angle  $\theta$

est toujours constant. Dans ce cas, l'extrémité du vecteur aimantation décrit autour de la direction du champ magnétique un cône d'axe  $B_0$  et d'angle au sommet  $\theta$ . Ce mouvement de rotation est appelé précession de *Larmor*. Cherchons désormais à déterminer la vitesse angulaire  $\omega_0$  de l'aimantation. Géométriquement, à partir de la figure 1, nous tirons  $dM = M \sin(\theta)d\varphi$ , or par définition, nous avons :

$$\omega_0 = \frac{d\varphi}{dt} \Rightarrow \frac{dM}{dt} = M \sin(\theta)\omega_0 \Rightarrow \frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{\omega}_0 \wedge \vec{M} \quad (10)$$

À partir de l'Eq. (9) et par identification, il vient :

$$\vec{\omega}_0 \wedge \vec{M} = -\gamma \vec{B}_0 \wedge \vec{M} \Rightarrow \vec{\omega}_0 = -\gamma \vec{B}_0 \quad (11)$$

Ainsi, la vitesse angulaire de rotation est proportionnelle à l'intensité du champ magnétique appliqué. Le signe négatif indique le sens de la précession.

### B. Rapport $S/B$

Concrètement, afin d'augmenter le rapport  $S/B$ , on augmente le nombre d'accumulation du spectre. Chaque point du spectre est accumulé  $n$  fois. Du coup, le bruit<sup>2</sup> augmente aussi de  $\sqrt{n}$ , au final le rapport  $S/B$  augmente selon :

$$\frac{S}{B} = \frac{n A_S}{2 \sqrt{n} s_B} \simeq 2.5 \frac{A_S}{A_B} \times \sqrt{n} \quad (12)$$

Avec  $A_S$  est l'amplitude du spectre,  $s_B$  est l'écart-type du bruit,  $A_B$  est l'amplitude pic à pic du bruit de la mesure et  $n$  est le nombre d'accumulation du spectre. L'augmentation de  $n$  améliore le rapport  $S/B$  mais augmente par la même occasion le temps d'acquisition du spectre. Un compromis doit être trouvé entre un bon rapport  $S/B$  et un temps d'acquisition acceptable. Par ailleurs, les spectres RMN sont plus fins que ceux de l'UV-Vis. On modélise les spectres RMN à l'aide d'une courbe théorique formée d'une somme de *Lorentziennes*. L'allure d'une Lorentzienne en absorption dans le domaine fréquentiel est modélisée par l'équation ci-dessous :

$$S = \frac{M_0}{1 + \left(\frac{\nu - \nu_0}{\Delta\nu}\right)^2} \quad (13)$$

Avec  $M_0$ ,  $\mu_0$  et  $\Delta\mu$  sont les paramètres d'ajustement de la *Lorentzienne*. L'allure théorique est représentée sur le graphe ci-dessous.

Plus en détail,  $M_0$  est l'amplitude du spectre,  $\mu_0$  est la fréquence de résonance et  $\Delta\mu$  est la largeur à mi-hauteur. A titre informatif, la Lorentzienne en absorption est  $\sqrt{3}$  moins large que la Gaussienne. La largeur spectrale  $\Delta\nu$  impacte la résolution spectrale mais également la résolution digitale<sup>3</sup> déterminée par la fréquence d'échantillonnage du spectre. La largeur spectrale  $\Delta\nu$  vaut :

$$\Delta\nu = \frac{1}{\pi T_2} + \gamma \Delta B_0 \quad (14)$$

Avec  $T_2$  est le temps de relaxation transversal, plus de détails sur cette constante de temps seront donnés dans la dernière section de ce chapitre. Tenant compte de la relation (14), on note que la résolution spectrale dépend des inhomogénéités du champ magnétique exprimées à travers la quantité  $\Delta B_0$ . Dans une expérience RMN, on fait sorte de minimiser le plus possible ces inhomogénéités du champ magnétique afin de ne pas trop parasiter la fréquence de résonance.

2. La fluctuation du signal du bruit de fond du spectromètre que l'on caractérise généralement par son écart-type.
3. Le nombre de points par Hz utilisés afin de digitaliser le spectre

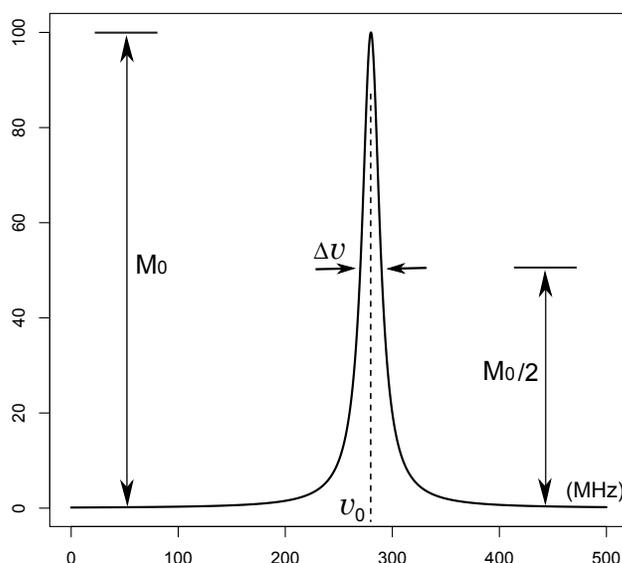


FIGURE 2: Allure Lorentzienne du spectre RMN.

### C. Déplacement chimique

Nous avons démontré dans la section précédente que la fréquence de *Larmor*,  $\omega_0 = 2\pi\nu_0 = \gamma B_0$ , ne dépendait que du rapport gyromagnétique et du champ magnétique statique d'intensité  $B_0$ <sup>4</sup>. Cela suggère que le champ est homogène dans l'échantillon. Ainsi, on pourrait croire que les noyaux d'une même espèce chimique résonnent à la même fréquence et donnent un seul pic. Il en est pas ainsi, car bien que le champ  $B_0$  est considéré uniforme à l'échelle macroscopique, au niveau microscopique le champ magnétique perçu dépend de l'environnement électronique du noyau considéré. Par conséquent, deux noyaux d'une même espèce chimique, ayant deux environnements électroniques différents vont avoir une fréquence de résonance différente.

La variation du champ perçu par les noyaux est due aux champs magnétiques locaux induits  $B_{ind}$  engendrés par le mouvement des électrons autour des noyaux. Cet environnement électronique forme un écran autour des noyaux. Ces derniers perçoivent un champ effectif :

$$B_{eff} = B_0 + B_{ind} \quad \text{avec} \quad B_{ind} = -\sigma B_0 \quad (15)$$

Avec  $\sigma$  est la constante d'écran dépendant de l'environnement électronique du noyau. Ainsi, la fréquence de résonance s'écrira :

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} B_{eff} = \frac{\gamma}{2\pi} (1 - \sigma) B_0 \quad (16)$$

La fréquence de résonance est très sensible aux fluctuations du champ  $B_0$ , que ce soient celles générées par l'échantillon ou bien celles qui sont provoquées par la machine. Il est donc difficile de quantifier toutes ces hétérogénéités du champ magnétique perçues par le noyau d'intérêt. C'est pour cette raison qu'on préfère travailler selon une échelle relative  $\frac{\Delta\nu}{\nu}$ , appelée *déplacement chimique*. Cette échelle présente aussi l'avantage d'être complètement indépendante de  $B_0$ .

$$\delta_i = \frac{\nu_i - \nu_{TMS}}{\nu_{appareil}} \times 10^6 \quad (17)$$

4. Les intensités de champ  $B_0$  utilisées en RMN couvrent le domaine de 4.7 à 18.8 T soit en fréquence 4.7 à 800 MHz pour le proton

La grandeur exprimée en abscisse d'un spectre RMN est le déplacement chimique  $\delta$  exprimée en ppm (parties par million). Le pic du TMS constitue l'origine du spectre car son déplacement chimique est considéré comme nul. Le TMS donne un pic unique (ses 12 protons étant tous équivalents) situé à droite du spectre car sa résonance a lieu à champ plus fort que dans la plupart des composés étudiés. Les valeurs usuelles des déplacements chimiques vont de 0 à 15 ppm.

## II. Analyse quantitative

### A. Détermination de la concentration : étalon externe

Dans cette analyse, la substance de référence est mise dans un tube concentrique, voir la figure ci-dessous. Cette disposition s'affranchit des problèmes de solubilité et réaction chimique entre la substance de référence et celle à doser.

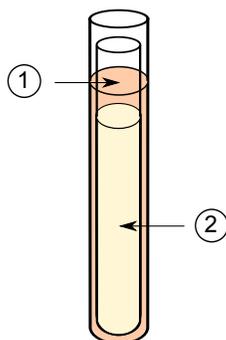


FIGURE 3: Tubes concentriques. (1) échantillon à doser (2) référence externe

La surface d'une raie RMN est proportionnelle à la population de noyaux  $N$  résonnant à une fréquence de résonance donnée, soit :

$$S = k N \quad \text{avec} \quad k \propto \frac{\gamma^3 B_0^3}{T} \quad (18)$$

Avec  $k$  est un coefficient de proportionnalité dépendant de la nature de l'échantillon ( $\gamma^3$ ), de l'intensité du champ magnétique ( $B_0$ ), de la température mais aussi de la dérive du spectromètre. Ce coefficient est très difficile à quantifier, c'est pour cette raison d'ailleurs que le calcul de la concentration en RMN se fait au moyen d'une mesure relative. A partir de l'équation (18) on comprend que plus l'intensité  $B_0$  est forte plus l'intensité du signal recueilli est importante. d'où l'intérêt à travailler à haut champ. D'un autre côté, plus la température est élevée plus l'intensité du signal recueilli diminue. Ceci est logique dans la mesure où l'élévation de la température détruit l'ordre magnétique des spins. De plus, pour une même intensité  $B_0$  et température constante, l'intensité du signal recueilli pour le noyau  $H^1$  est plus importante que celle du noyau  $C^{13}$ , soit :

$$\frac{\gamma_{H^1}}{\gamma_{C^{13}}} \simeq 4.00 \Rightarrow S_{H^1} \simeq 4.00 S_{C^{13}} \quad (19)$$

Le nombre de noyaux  $N$  étant proportionnel à la concentration de la substance chimique mais aussi au nombre de protons équivalents  $p$ . L'équation (18) devient :

$$S = k p [\text{substance}] \quad (20)$$

La concentration est déterminée en fonction d'une mesure d'un étalon. Soient deux substances chimiques A et B, les aires estimées pour chaque substance sont :

$$S_A = k p_A [A] \quad (21)$$

$$S_B = k p_B [B] \quad (22)$$

Le rapport des deux équations donne :

$$\frac{S_A}{S_B} = \frac{p_A}{p_B} \times \frac{[A]}{[B]} \quad (23)$$

$$\Rightarrow [A] = \frac{S_A}{S_B} \times \frac{p_B}{p_A} \times [B] \quad (24)$$

Connaissant la concentration  $[B]$ , par exemple, il est possible de déterminer la concentration  $[A]$ . Le calcul des aires peut se faire soit par l'implémentation de méthodes numériques d'intégration (méthode des rectangles ou celle des trapèzes) ou bien faire une estimation à partir de la relation :

$$S \simeq h \times \Delta\nu \quad (25)$$

Avec  $h$  est la hauteur du spectre et  $\Delta\nu$  sa largeur à mi-hauteur. Dans ce cas, l'équation (24) devient :

$$[A] = \frac{h_A \Delta\nu_A}{h_B \Delta\nu_B} \times \frac{p_B}{p_A} \times [B] \quad (26)$$

La relation (20) ne peut être utilisée comme une mesure absolue afin d'établir par exemple une courbe d'étalonnage. Le facteur de proportionnalité  $k$  change, pour les raisons citées précédemment, pour chaque mesure du signal RMN à une concentration donnée. C'est pour cette raison qu'on a eu recours à une mesure relative par le biais de la relation (26). La méthode de l'étalon externe présente deux limitations principales qui sont :

- La susceptibilité magnétique différente des deux échantillons produit des inhomogénéités de  $B_0$  différentes pour chaque substance, soit :

$$B_{Loc} \propto (1 + \chi_m) B_0 \quad (27)$$

Avec  $B_{loc}$  est le champ magnétique perçu par l'échantillon et  $\chi_m$  est la susceptibilité magnétique de l'échantillon. Cela impacte différemment le rapport  $S/B$ .

- Comme est illustré sur la figure (3), le volume de la substance de référence est faible par rapport à celui de la substance à doser. Cela réduit le rapport  $S/B$  de l'étalon.

### B. Détermination de la concentration : étalon interne

Considérons un mélange M constitué des substances chimique A, B, C et D. Admettons que l'on souhaite déterminer la concentration massique du composé A par exemple. On commence par prélever une quantité  $Q_M$  (mg) du mélange en question. A cette quantité on additionne une quantité  $Q_{ref}$  (mg) d'une substance de référence. Désormais nous avons constitué un nouveau mélange formée de  $Q_M$  du mélange initial et  $Q_{ref}$  de la substance de référence. Ensuite, on lance l'acquisition du spectre RMN de ce nouveau mélange. Puis on identifie sur le spectre, la raie de la substance d'intérêt A et celle de la référence. Ainsi, on calcule l'intégrale de chaque raie, soit  $S_A$  et  $S_{ref}$ . Le rapport molaire des deux substances étant proportionnel au rapport des deux intégrales :

$$\frac{S_A}{S_{ref}} = \frac{N_A}{N_{ref}} \quad (28)$$

Les concentrations massiques correspondantes sont :

$$\frac{C_A}{C_{ref}} = \frac{N_A}{N_{ref}} \times \frac{M_A}{M_{ref}} \quad (29)$$

Avec  $M_A$  et  $M_{ref}$  étant les masses molaires correspondantes. A partir de (28), il vient :

$$\frac{C_A}{C_{ref}} = \frac{S_A}{S_{ref}} \times \frac{M_A}{M_{ref}} \quad (30)$$

Tenant compte des protons équivalents  $p_A$  et  $p_{ref}$  de chaque substance, on obtient :

$$\frac{C_A}{C_{ref}} = \frac{(S_A/p_A)}{(S_{ref}/p_{ref})} \times \frac{M_A}{M_{ref}} \quad (31)$$

La concentration massique de la référence est égale à :

$$C_{ref} = \frac{Q_{ref}}{Q_{ref} + Q_M} \times 100 \quad (32)$$

Substituons (32) dans (31), il vient :

$$C_A = \frac{(S_A/p_A)}{(S_{ref}/p_{ref})} \times \frac{M_A}{M_{ref}} \times C_{ref} \quad (33)$$

$$\Rightarrow C_A = \frac{(S_A/p_A)}{(S_{ref}/p_{ref})} \times \frac{M_A}{M_{ref}} \times \frac{Q_{ref}}{Q_{ref} + Q_M} \times 100 \quad (34)$$

Dans cette analyse, la concentration de la substance de référence (étalon) est ajoutée à une concentration connue. Elle doit, dans la mesure du possible, vérifier les critères suivants :

- Solubilité en présence de la substance à doser.
- Pas de réaction chimique avec la substance à doser.
- Elle doit être non volatile et non hygroscopique.
- Elle doit présenter un déplacement chimique suffisamment éloigné de celui de la substance à doser.

### C. Détermination de la proportion massique

Une fois que toutes les étapes mentionnées précédemment ont été réalisées, il est possible désormais de passer au calcul des proportions des substances présentes dans un mélange. Le principe de calcul des proportions est mené comme suit : considérons un mélange de deux constituants A et B présentant respectivement  $N_A$  et  $N_B$  molécules. L'amplitude du spectre (ou sa surface désignée par  $S$ ) est proportionnelle à la concentration et donc au nombre de molécule de chaque espèce chimique impliquée. Cela se traduit mathématiquement par la relation :

$$\frac{S_A}{S_B} = \frac{N_A}{N_B} \quad (35)$$

Désignant par  $C_A$  et  $C_B$  les concentrations massiques relatives des constituants A et B. Le mélange étant formé de deux constituants, donc leur somme doit donner 100 % selon :

$$C_A + C_B = 100 \quad (36)$$

d'un autre côté, nous avons aussi :

$$\frac{C_A}{C_B} = \frac{N_A \times M_A}{N_B \times M_B} \approx \frac{S_A \times M_A}{S_B \times M_B} \quad (37)$$

Avec  $M_A$  et  $M_B$  sont les masses molaires correspondantes. De l'équation (37), il vient :

$$C_A = \frac{S_A \times M_A}{S_B \times M_B} \times C_B \quad (38)$$

Ensuite, mettons l'équation (38) dans (36) :

$$\begin{aligned} \frac{S_A \times M_A}{S_B \times M_B} \times C_B + C_B &= 100 \Rightarrow C_B \left( 1 + \frac{S_A \times M_A}{S_B \times M_B} \right) = 100 \\ \Rightarrow C_B \left( \frac{S_B \times M_B + S_A \times M_A}{S_B \times M_B} \right) &= 100 \\ \Rightarrow C_B &= \frac{S_B \times M_B}{S_B \times M_B + S_A \times M_A} \times 100 \end{aligned} \quad (39)$$

Avec un raisonnement analogue sur le constituant A, on obtient :

$$\Rightarrow C_A = \frac{S_A \times M_A}{S_B \times M_B + S_A \times M_A} \times 100 \quad (40)$$

Il est possible également d'affiner cette analyse en prenant en considération le nombre de chromophore de chaque constituant. Désignons par  $a$  et  $b$  le nombre de protons équivalents respectifs des constituants A et B. On normalisera ainsi les intégrales en divisant par le nombre de chromophore de chaque composé :

$$C_A = \frac{(S_A/a) \times M_A}{(S_B/b) \times M_B + (S_A/a) \times M_A} \times 100 \quad (41)$$

En généralisant cette dernière relation pour un mélange contenant  $n$  constituants, on obtient pour un constituant  $i$  du mélange :

$$C_i = \frac{(S_i/a_i) \times M_i}{(S_B/b) \times M_B + (S_A/a) \times M_A + \dots + (S_i/a_i) \times M_i + \dots + (S_n/a_n) \times M_n} \times 100 \quad (42)$$

Il convient de rappeler que le calcul des proportions, développé dans cette section est commun à toutes les analyses chimique ou physique impliquant des spectres (chromatographie, spectrométrie de masse ... etc).

#### D. Mesure des temps de relaxation $T_1$ et $T_2$

L'efficacité d'un agent de contraste se quantifie par le biais de ses relaxivités. En effet, plus les valeurs de relaxivité sont importantes plus l'agent de contraste est efficace et il entraînera un raccourcissement significatif des  $T_1$  et  $T_2$  des protons avoisinants. Les relaxivités longitudinale ( $r_1$ ) et transversale ( $r_2$ ) sont données par la pente de la droite des taux de relaxation ( $R_{1,2}$ ) en fonction de la concentration en agent de contraste ( $C$ ), selon :

$$R_{1,2} = R_{1,2}^0 + r_{1,2} \times C \quad (43)$$

Avec,

$$R_{1,2} = \left( \frac{1}{T_{1,2}} \right)_{obs} \quad R_{1,2}^0 = \left( \frac{1}{T_{1,2}} \right)_{dia} \quad (44)$$

Avec  $R_{1,2}$  sont les taux de relaxation ( $s^{-1}$ ) respectivement longitudinal et transversal en présence de l'agent de contraste,  $R_{1,2}^0$  ( $s^{-1}$ ) sont les taux de relaxation en absence de l'agent de contraste,  $C$  ( $mM$ ) est la concentration de l'agent de contraste et  $r_{1,2}$  sont respectivement les relaxivités longitudinale et transversale ( $mM^{-1} s^{-1}$ ).

1) *Mesure du  $T_1$* : Les temps de relaxation  $T_1$  sont très souvent mesurés au moyen de la séquence *inversion-récupération*, implémentée dans les spectromètres RMN.

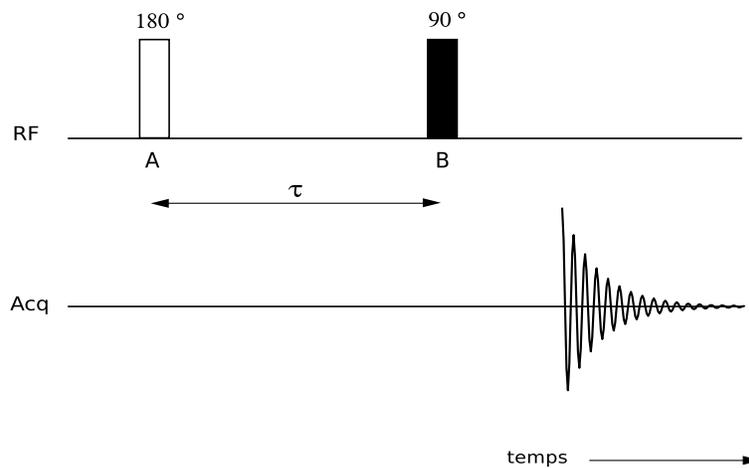


FIGURE 4: Chronogramme de la séquence inversion-récupération.

Le principe de la mesure du  $T_1$  par cette séquence, consiste à basculer l'aimantation  $M_0$  dans un état hors équilibre, puis durant un certain délai  $\tau$  (table de délais), une séquence de lecture est appliquée afin de mesurer la valeur de l'aimantation pour les différents délais. La figure 4 illustre le chronogramme de la séquence inversion-récupération.

Avant l'application de l'impulsion RF d'inversion  $\theta = 180^\circ$ , le vecteur magnétisation est à sa position d'équilibre le long de l'axe  $z$ , tel que  $\vec{M} = (0, 0, M_0)$ . (A) inversion de l'aimantation à l'équilibre  $M_0$  suite à l'application du *pulse d'inversion*. Après cette inversion, les composantes transversale et longitudinale de l'aimantation sont données respectivement, par  $M_{x,y} = M_0 \sin \theta_{inv}$  et  $M_z = M_0 \cos \theta_{inv}$ . (B) lecture du signal à l'instant  $\tau$  après une impulsion de radiofréquence  $\theta = \frac{\pi}{2}$ . L'enregistrement de la valeur de l'aimantation pour des  $\tau$  strictement inférieurs à  $\log(2) \times T_1$ , donne des valeurs négatives. Pour une valeur particulière du *temps d'inversion*  $\tau = \log(2) \times T_1$  l'aimantation est nulle. Des valeurs positives de l'aimantation sont enregistrées pour des  $\tau$  strictement supérieures à  $\log(2) \times T_1$ . L'évolution de l'aimantation  $M(\tau)$  pour différentes valeurs de  $\tau$ , est une courbe croissante de  $-M_0$  à  $+M_0$ , selon :

$$M_z(\tau) = M_0 \times \left( 1 - (1 - \cos \theta_\pi) \times e^{-\tau/T_1} \right) \quad (45)$$

Avec,  $M_0$  et  $T_1$  étant les paramètres d'ajustement. La liste des délais  $\tau$  est choisie de façon à ce que l'aimantation  $M(\tau_{inv})$  retrouve systématiquement sa valeur maximale  $+M_0$  (aimantation à l'équilibre thermique). Afin de s'assurer que l'aimantation soit à l'équilibre après chaque répétition de la séquence, un temps de répétition de l'ordre de  $5 T_1$  est choisi.

2) *Mesure du  $T_2$* : Les temps de relaxation  $T_2$  sont très souvent mesurés au moyen de la séquence *echo de spin CPMG* (Carr-Purcell Meiboom Gill), implémentée dans les spectromètres RMN. La figure 5 illustre le chronogramme de la séquence *echo de spin*.

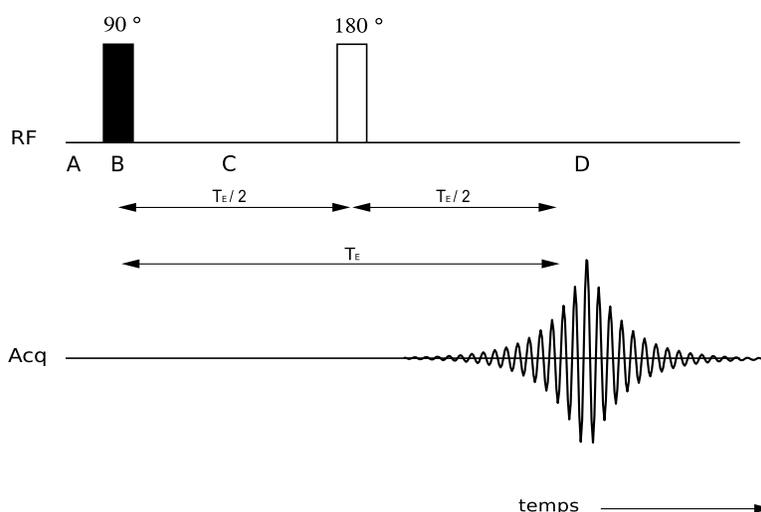


FIGURE 5: Illustration du principe de la mesure du  $T_2$  par la séquence d'écho de spin. Polarisation de l'aimantation suivant l'axe longitudinal (A). Basculement de l'aimantation dans le plan transverse suite à l'application de l'impulsion RF de  $90^\circ$  (B), l'aimantation présente une amplitude maximale. Une fois la RF arrêtée, les spins se déphasent (C). L'application de l'impulsion RF de  $180^\circ$  aura pour effet de rephaser les spins et l'amplitude de l'aimantation transversale atteint son maximum (D) au temps d'écho (délai entre B et D). En répétant régulièrement la RF  $180^\circ$ , on peut générer une série d'écho.

L'amplitude de l'aimantation décroît dans le plan transverse selon :

$$M_{x,y}(t) = M_0 \times \sin \theta_{\pi/2} \times \left( e^{-t/T_2} \right) \quad (46)$$

Avec  $t = nT_E$ ,  $n$  est le nombre d'échos enregistrés,  $M_0$  et  $T_2$  étant des paramètres d'ajustement.

## Bibliographie

- B. C. Smith, *Quantitative Spectroscopy : Theory and Practice, 1st Edition, Academic Press, 2003.*
- Richard Kramer, *Chemometric Techniques for Quantitative Analysis, 1st Edition, CRC Press, 1998.*
- Vladimir A. Krasnopolsky, *Quantitative Spectroscopy, Catholic University of America, Washington DC, Cambridge University Press, 2019.*