

Notions de spectrométrie de masse et de spectroscopie RMN ^{13}C

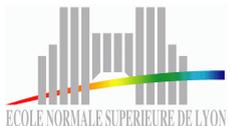
Cyril BARSU

Laboratoire de Chimie

Département des sciences de la matière

école
normale
supérieure
de lyon

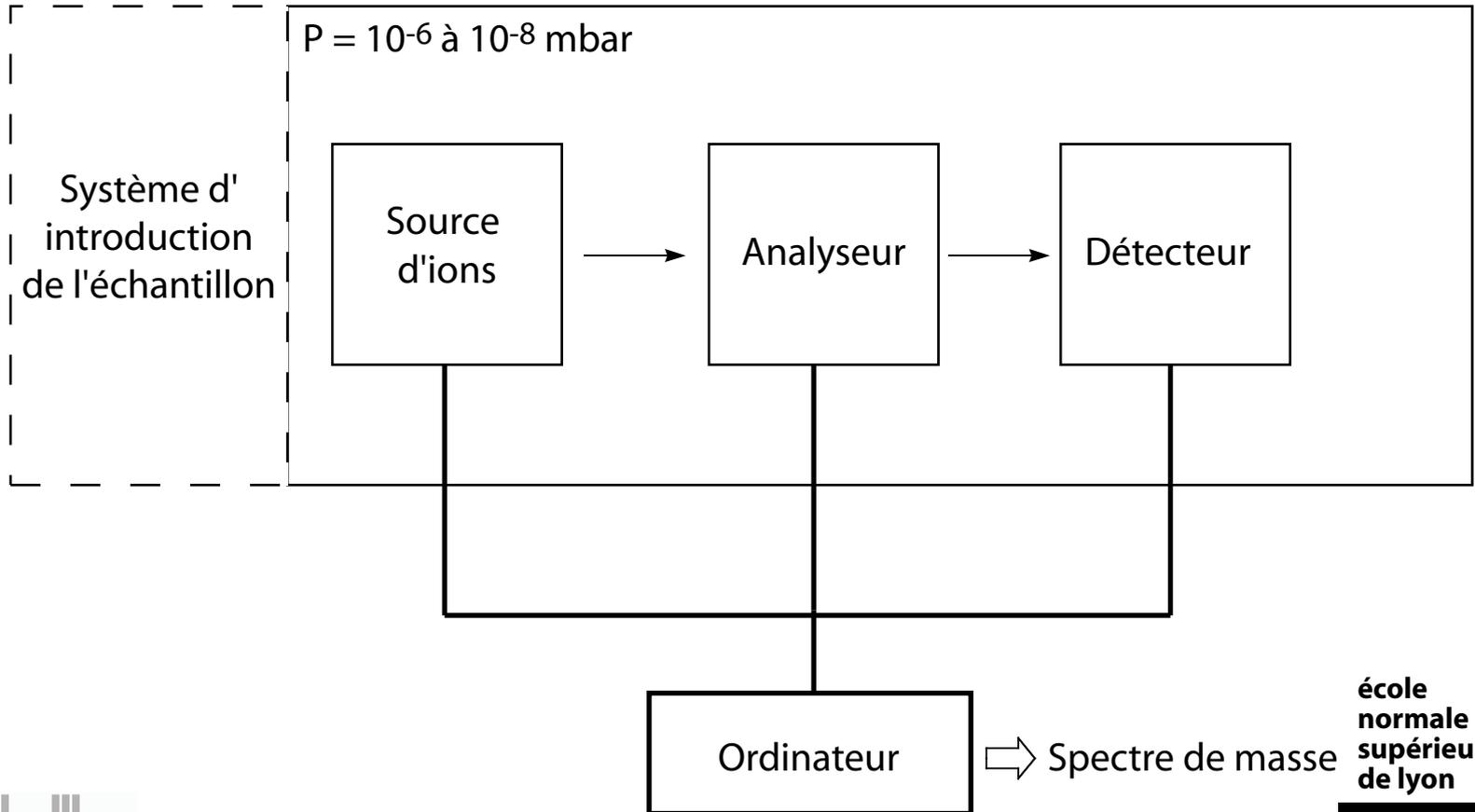
ENS LYON



Spectrométrie de masse

- Actuellement, le secteur le plus dynamique de la chimie analytique
- Spectrométrie de masse (éviter spectroscopie)
- But : déterminer la masse moléculaire et la structure d'un composé

Le spectromètre de masse



école
normale
supérieure
de lyon

ENS LYON

Le spectromètre de masse

Introduction de l'échantillon

De 0,1 à 1 mg (1 fmole suffit !) de produit est vaporisé par diminution de pression (10^{-4} à 10^{-6} Pa).

- composés gazeux à T.A.: introduction directe par une vanne
- composés liquides à T.A.: la pression de vapeur suffit en général, sinon on chauffe le liquide
- composé solide à T.A.: évaporation sous vide dans la source par chauffage, faisceau laser, faisceau accéléré d'ions ou d'atomes

Ou couplage avec un chromatographe (LC ou GC)

Le spectromètre de masse

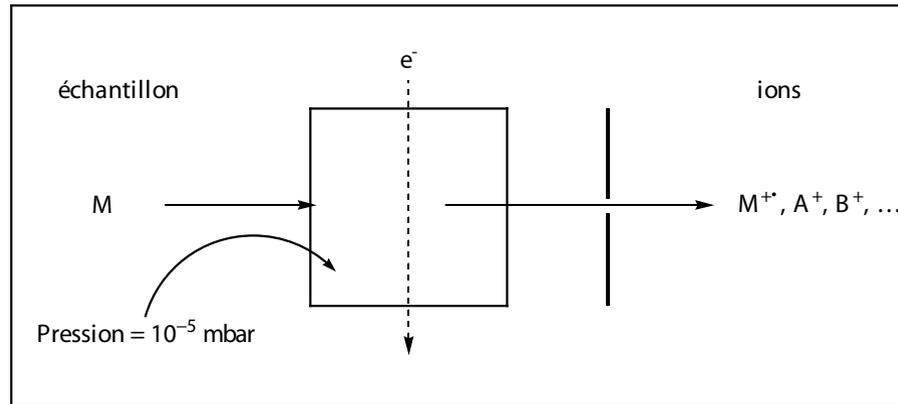
Ionisation de l'échantillon

- **Substances thermostables ($M < 500$)** : cas le plus fréquent
L'ionisation est assurée par impact électronique ou ionisation chimique.

- **Substances thermolabiles ($M > 500$)** :
L'échantillon ne peut être vaporisé. Il peut être introduit par désorption-ionisation. Il peut aussi être introduit en solution, éventuellement après séparation par chromatographie phase liquide, puis ionisé par nébulisation-ionisation.

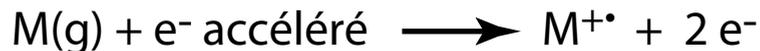
Ionisation de l'échantillon

Impact électronique (IE)



Les évènements :

a) Formation des « ions moléculaires » $M^{+\bullet}$:



b) Fragmentation de certains d'entre eux dans la source d'ions :



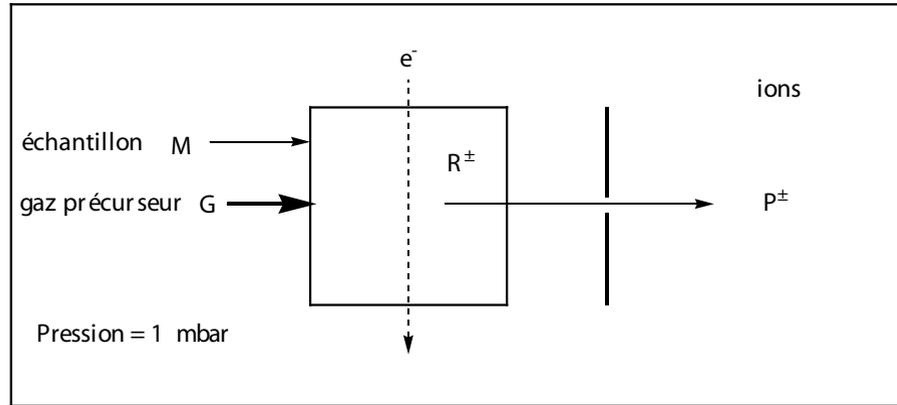
les ions moléculaires $M^{+\bullet}$ non fragmentés et les ions fragments A^+, B^+, C^+, \dots sont expulsés de la source sous l'effet d'un champ électrique accélérateur V_{acc} pour être ensuite analysés et détectés.

école
normale
supérieure
de lyon

ENS
LYON

Ionisation de l'échantillon

Ionisation chimique

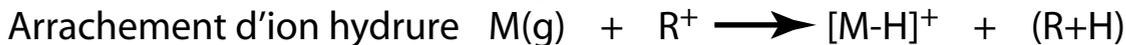
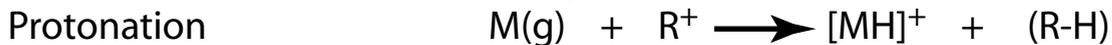


Les évènements :

- Formation des ions réactifs positifs ou négatifs, $R^{+/-}$, à partir d'un gaz précurseur approprié G (méthane, ammoniac, isobutane).
- Réaction avec l'échantillon



Exemple : en ionisation chimique positive :

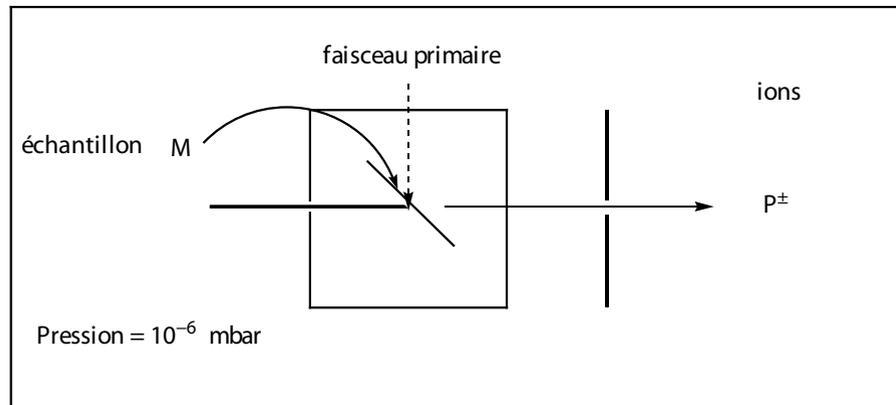


Certains ions $[MH]^+$ ou $[M-H]^+$ peuvent ensuite se fragmenter.

Ionisation de l'échantillon

Desorption-Ionisation

L'échantillon est déposé sur une cible à l'état condensé, pur ou en mélange avec une matrice liquide ou solide. Il est soumis au bombardement d'un faisceau de particules apportant une forte énergie en un temps extrêmement bref ($< 10^{-14}$ s) de manière à ioniser en évitant les décompositions thermiques de la substance étudiée.



Le faisceau primaire peut être constitué de :

- Photons (**LDMS** = laser desorption mass spectrometry, **MALDI** = matrix assisted laser desorption ionisation) [Prix Nobel 2002 à Koichi TANAKA (Japon)]

- D'ions d'énergie cinétique # 10 keV à 100 MeV (**SIMS** = secondary ion mass spectrometry,

PDMS = plasma desorption mass spectrometry)

- D'atomes de Xe d'énergie cinétique # 10 keV (**FAB** = fast atom bombardment)

école
normale
supérieure
de lyon

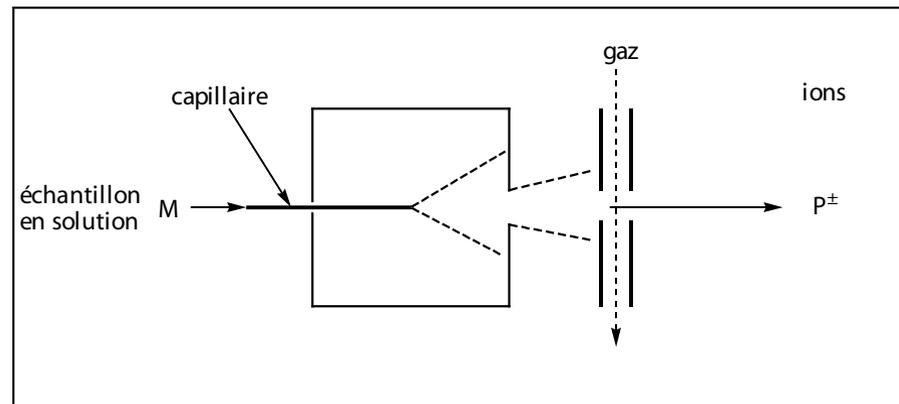
ENS
LYON

Ionisation de l'échantillon

Nébulisation-Ionisation

La solution contenant l'échantillon est nébulisée à pression atmosphérique après passage dans un tube capillaire. La désolvatation des ions est favorisée par passage dans un courant de gaz et par un pompage poussé.

$M_{\text{solvaté}} \longrightarrow p^{+/-}$



Ionisation de l'échantillon

Nébulisation-Ionisation

Les ions sont produits par des procédés spécifiques. En APCI (**a**tmospheric **p**ressure **c**hemical **i**onisation) l'ionisation est assurée par une décharge électrique dans le brouillard sortant du capillaire. Les ions formés sont analogues à ceux qui résultent d'une ionisation chimique, positive ou négative, conventionnelle.

Dans la méthode ESI (**e**lectrospray **i**onization), les gouttelettes deviennent électriquement chargées sous l'influence d'une différence de potentiel de plusieurs kV appliquée entre le capillaire et l'entrée du spectromètre de masse. Les gouttelettes se transforment en gouttelettes plus petites par une suite d'explosions induites par la répulsion électrostatique. L'ionisation par électrospray produit une variété de molécules multi-protonées $[M+nH]^{n+}$ (en mode positif) ou multi-déprotonées $[M-nH]^{n-}$ (en mode négatif). Les pics observés sur le spectre de masse correspondent par conséquent à des rapports masse/charge = $(M\pm n)/n$. Deux pics successifs permettent, en principe, de déterminer la masse moléculaire de la molécule échantillon. [Prix Nobel 2002 à John B. FENN (USA)]

école
normale
supérieure
de lyon

ENS
LYON

Spectromètre de masse

Analyseur et détecteur

- Analyseur

L'analyseur effectue le tri des ions $m^{\pm ze}$ formés par la source en fonction de leur rapport m/ze . Son fonctionnement repose sur l'action d'un champ électrique ou magnétique sur les particules chargées.

Il existe 4 grands types d'analyseurs utilisant :

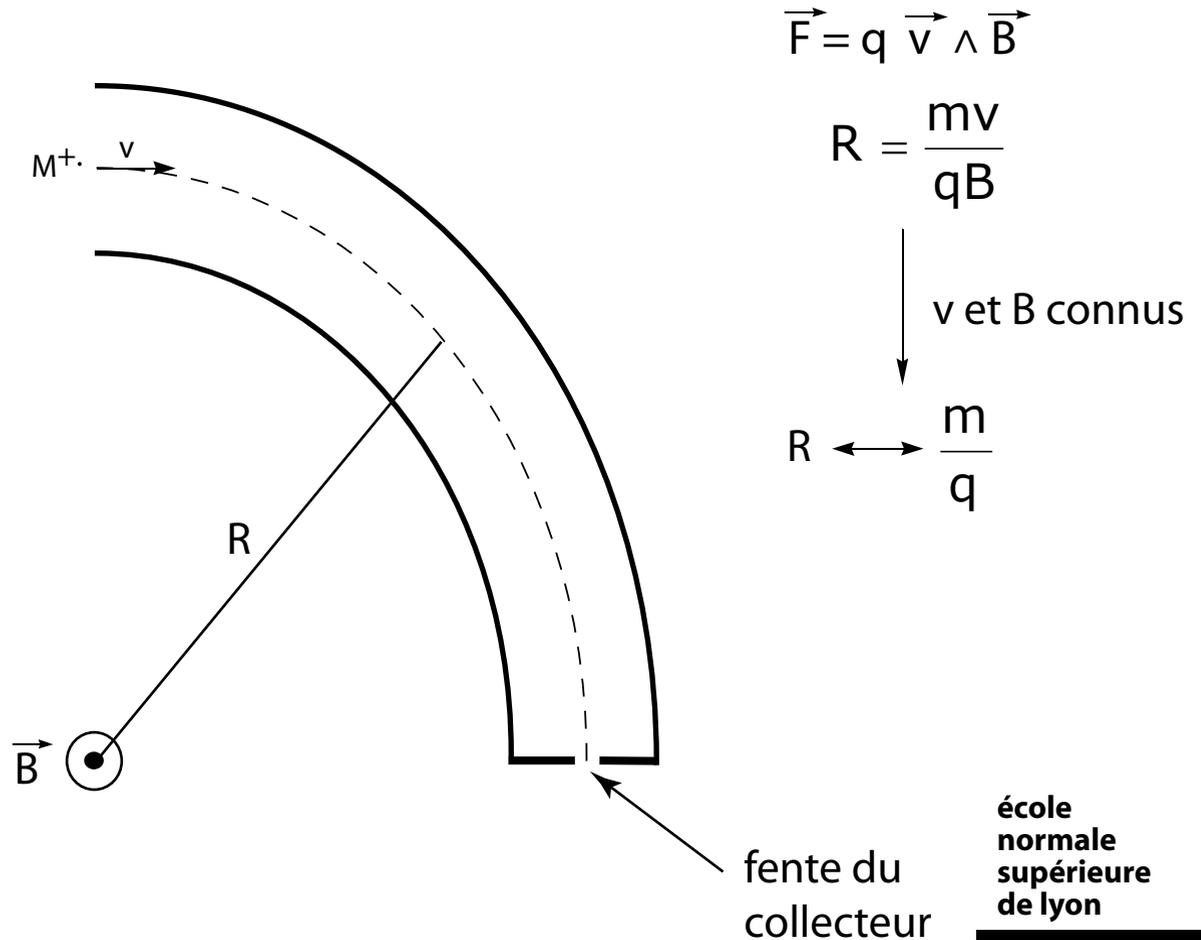
- a) un champ magnétique variable (spectromètre de masse à secteur magnétique)
- b) un champ magnétique fixe (résonance cyclotronique ionique : FTMS)
- c) un champ électrique fixe (spectromètre à temps de vol : TOF)
- d) un champ électrique variable (filtre quadripolaire ; piège à ions)

- Détecteur

Il s'agit d'un récepteur détectant l'impact des ions et fournissant par amplification un signal électrique enregistré sous forme de pic.

Spectromètre de masse

Analyseur à secteur magnétique



école
normale
supérieure
de lyon

ENS
LYON

Spectromètre de masse

Analyseur et détecteur

- Analyseur

L'analyseur effectue le tri des ions $m^{\pm ze}$ formés par la source en fonction de leur rapport m/ze . Son fonctionnement repose sur l'action d'un champ électrique ou magnétique sur les particules chargées.

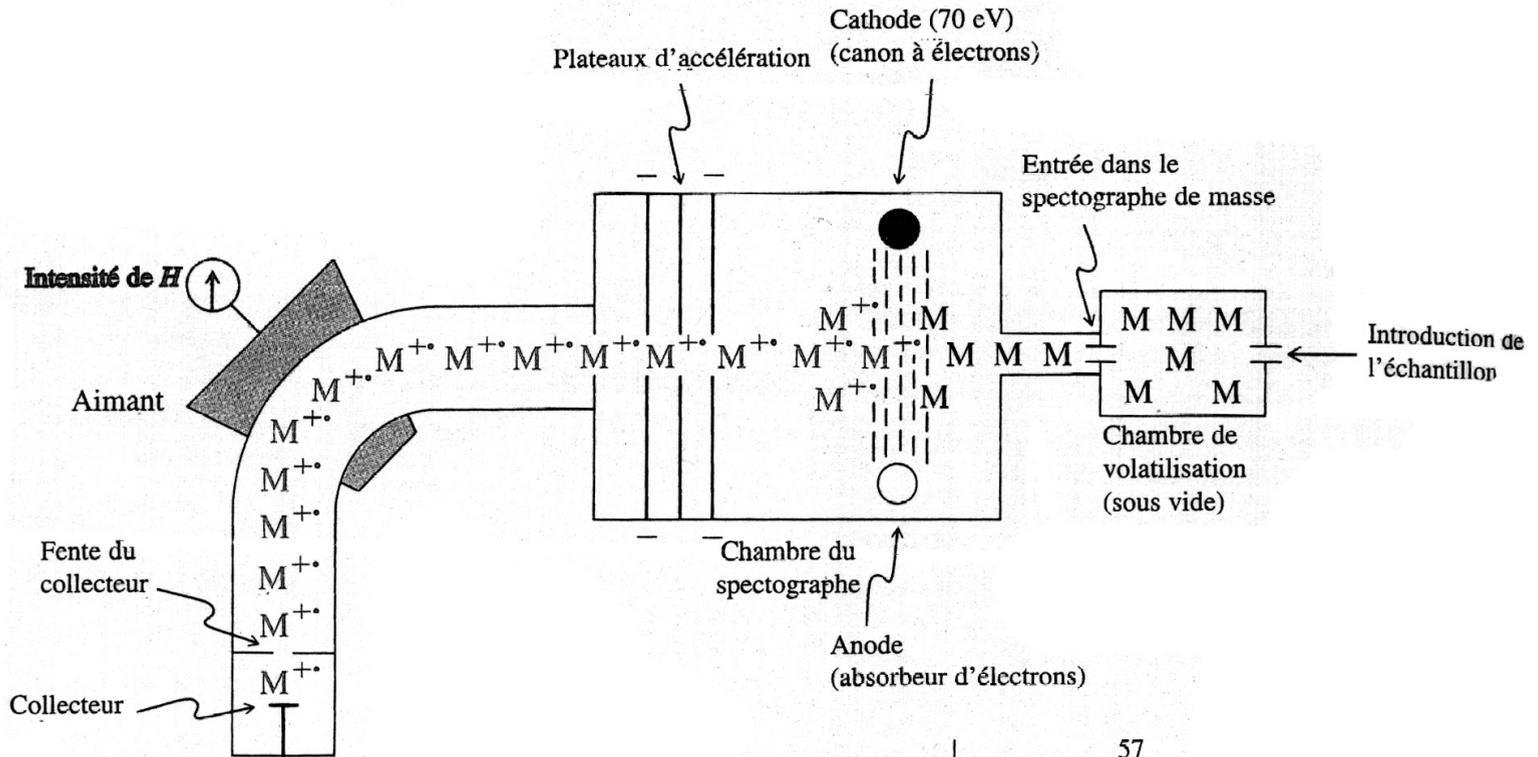
Il existe 4 grands types d'analyseurs utilisant :

- a) un champ magnétique variable (spectromètre de masse à secteur magnétique)
- b) un champ magnétique fixe (résonance cyclotronique ionique : FTMS)
- c) un champ électrique fixe (spectromètre à temps de vol : TOF)
- d) un champ électrique variable (filtre quadripolaire ; piège à ions)

- Détecteur

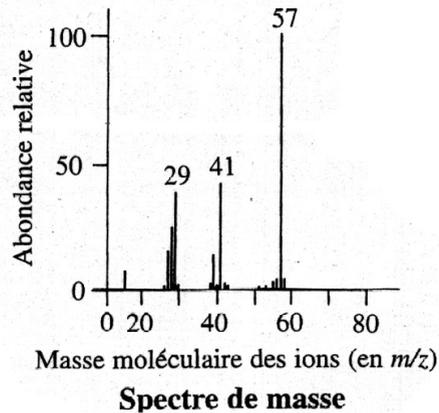
Il s'agit d'un récepteur détectant l'impact des ions et fournissant par amplification un signal électrique enregistré sous forme de pic.

Le spectromètre de masse



Amplificateur

Enregistreur



Détermination de formule brute

Spectrométrie de masse **haute résolution** : précision 10^{-5} unités de masse

Masse isotopique exacte des éléments les plus communs :

^{12}C : 12,000000 (référence)

^1H : 1,007824

^{16}O : 15,994914

^{12}C : 12,000000

^{14}N : 14,003074

Masse exacte de 3 composés de masse molaire approchée de 32 :

O_2 : 31,9898 N_2H_4 : 32,0375 CH_3OH : 32,0262

Formule brute \longleftrightarrow **Masse caractéristique**

**Méthode la plus employée pour déterminer
la formule brute d'un composé**

école
normale
supérieure
de lyon

ENS LYON

Notion d'amas isotopique

Groupes de pics :

- énergie du faisceau d'électrons (70 eV) : permet de rompre toutes les liaisons et il apparait des fragments peu classiques

- effet isotopique : présence de plusieurs isotopes pour un même élément

Isotopes légers		Isotopes lourds			
	Abondance naturelle (%)	Abondance naturelle (%)	Abondance naturelle (%)		
^1H	99,985	^2H	0,015		
^{12}C	98,893	^{13}C	1,107		
^{14}N	99,64	^{15}N	0,36		
^{16}O	99,759	^{17}O	0,037	^{18}O	0,204
^{32}S	95,0	^{33}S	0,76	^{34}S	4,2
^{19}F	100				
^{35}Cl	75,8			^{37}Cl	24,2
^{79}Br	50,537			^{81}Br	49,463
^{127}I	100				

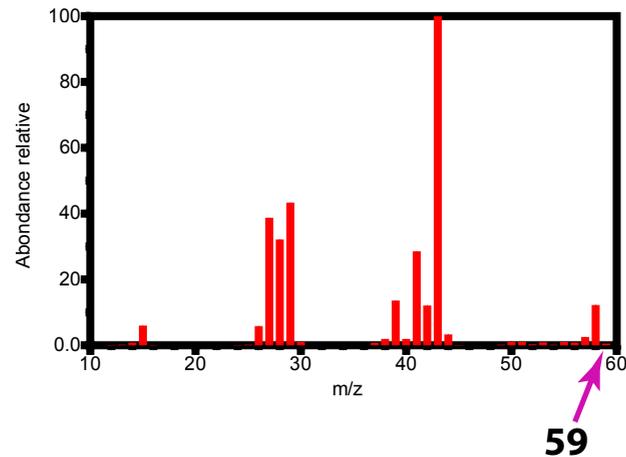
école
normale
supérieure
de lyon

Notion d'amas isotopique

Remarque

- Pic moléculaire à M
- Pic à M+1 = $(1,1\% \times n_{\text{carbones}} + 0,015\% \times n_{\text{hydrogènes}})$ de la hauteur du pic à M

Exemple du butane C_4H_{10} : Pic à M+1 = $(1,1\% \times 4 + 0,015\% \times 10) = 4,55\%$ de la hauteur du pic à M



Conclusion : attention à la définition du pic moléculaire

école
normale
supérieure
de lyon

ENS
LYON

Spectroscopie RMN ^{13}C

Introduction

- ^{12}C $I = 0$ Pas de RMN possible
 ^{13}C $I = \frac{1}{2}$ **RMN possible** (identique à celle du proton)

- Développement lent car :

^{13}C faiblement abondant (1,1 % de l'élément C)

sensibilité intrinsèque (prop. à γ^3) faible : 64 fois moins sensible que ^1H

⇒ **signal de ^{13}C environ 6000 fois moins intense que ^1H**

- Zone de résonance de ^{13}C est totalement différente de celle de ^1H
pour un champ magnétique de $B = 2,35 \text{ T}$

^1H résonne à 100 MHz sur une zone d'environ 2 kHz (20 ppm)

^{13}C résonne à 25,2 MHz sur une zone d'environ 5 kHz (200 ppm)

⇒ **aucun recouvrement possible
entre les spectres RMN ^1H et ^{13}C**

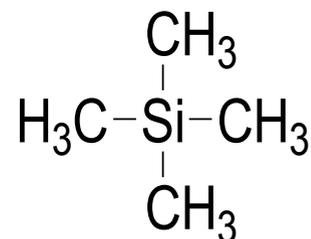
école
normale
supérieure
de lyon

ENS LYON

Spectroscopie RMN ^{13}C

Déplacement chimique : référence

Tétraméthylsilane ($\delta = 0$ ppm) : TMS



Raisons de ce choix, le TMS est :

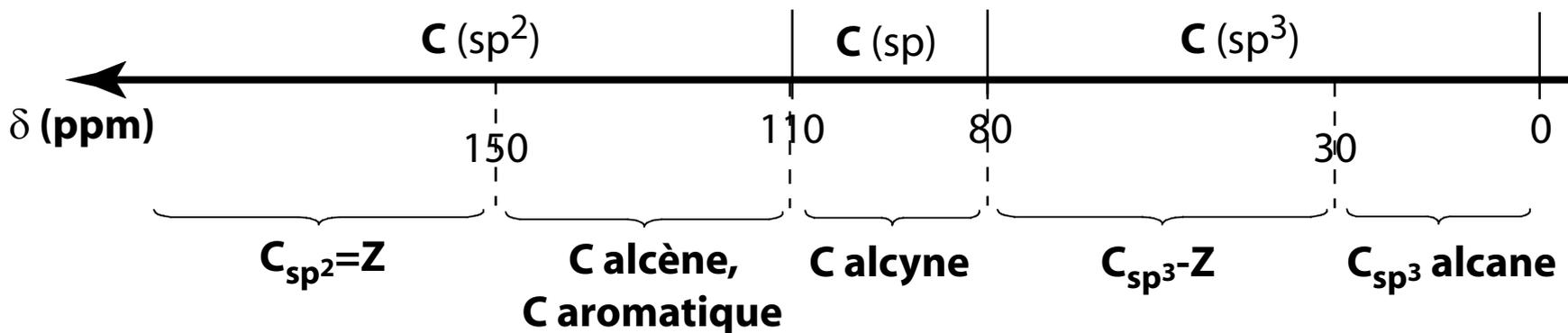
- peu toxique
- peu onéreux
- peu réactif
- très soluble
- très volatile
- il possède 4 carbones équivalents
- il donne un seul signal situé en dehors de la zone de résonance de la plupart des composés organiques

Spectroscopie RMN ^{13}C

Déplacement chimique : valeur

- Mêmes influences que pour ^1H (déblindage par les substituant électroattracteurs et blindage par les substituants électrodonneurs)

- Influence de l'hybridation du carbone :



- Influence de la parité du carbone (à substitution équivalente) :

$$\delta(\text{C quaternaire}) > \delta(\text{CH}) > \delta(\text{CH}_2) > \delta(\text{CH}_3)$$