

# Techniques d'identification et de caractérisation cellulaire

# Contenu de la matière

**Spectroscopie de l'UV -Visible:** Interaction de la lumière avec les molécules - Spectres électroniques ; Origine des absorptions en relation avec les O.M. - Etude des différents chromophores - Spectrophotomètre UV – Visible et Applications

**Spectroscopie Infra Rouge :** Domaine de longueur d'onde - Origine de l'absorption dans le moyen infra – rouge - Théorie classique des transitions vibrationnelles- Théorie quantique des vibrations dans l'I. R. ; Spectre de raie et spectre de bande - Absorptions caractéristiques des composés organiques - Instrumentation en spectroscopie infra rouge

**Résonance magnétique nucléaire :** Moment cinétique et moment magnétique- Etude du spin  $\frac{1}{2}$  : Appareil de résonance magnétique nucléaire- Théorie de la RMN du  $^1\text{H}$ , Champ magnétique haute fréquence, Champ radio fréquence- Signal RMN (FID) : Influence de l'environnement d'un spin sur les conditions de résonance - Déplacement Chimique  $\delta$  : Interaction spin-spin et couplage scalaire  $J$ , Interprétation des spectres RMN  $^1\text{H}$ , Présentation d'un autre spin  $\frac{1}{2}$  : le  $^{13}\text{C}$ , Spectres caractéristiques du  $^{13}\text{C}$

**Spectroscopie de masse :** Principe et théorie de la spectrométrie de masse - Différentes méthodes d'ionisation (IE, IC...) - Spectromètres de masse (magnétique, quadripôle, simple et double focalisation) -Mécanismes de fragmentation - Interprétation de spectres et applications.

# Spectroscopie UV-Visible

## Généralités:

La couleur d'un objet éclairé en lumière blanche correspond aux radiations qu'il n'absorbe pas et qu'il transmet, quand il est transparent, ou qu'il diffuse, quand il est opaque.

Quand une solution devient plus opaque, cela signifie qu'elle absorbe plus de lumière visible. Une des techniques analytiques les plus utilisées en chimie consiste à placer une solution dont la concentration est inconnue dans un spectrophotomètre—une appareil qui mesure l'absorbance de la solution. L'absorbance a une valeur comprise entre 0 et 1. Une absorbance de zéro signifie que la lumière passe totalement à travers la solution (la solution est totalement transparente), et une absorbance de 1 signifie qu'aucune lumière ne passe à travers la solution (la solution est totalement opaque). L'absorbance est reliée à la concentration du composé coloré en solution par la loi de Beer-Lambert :  $A = \epsilon CL$

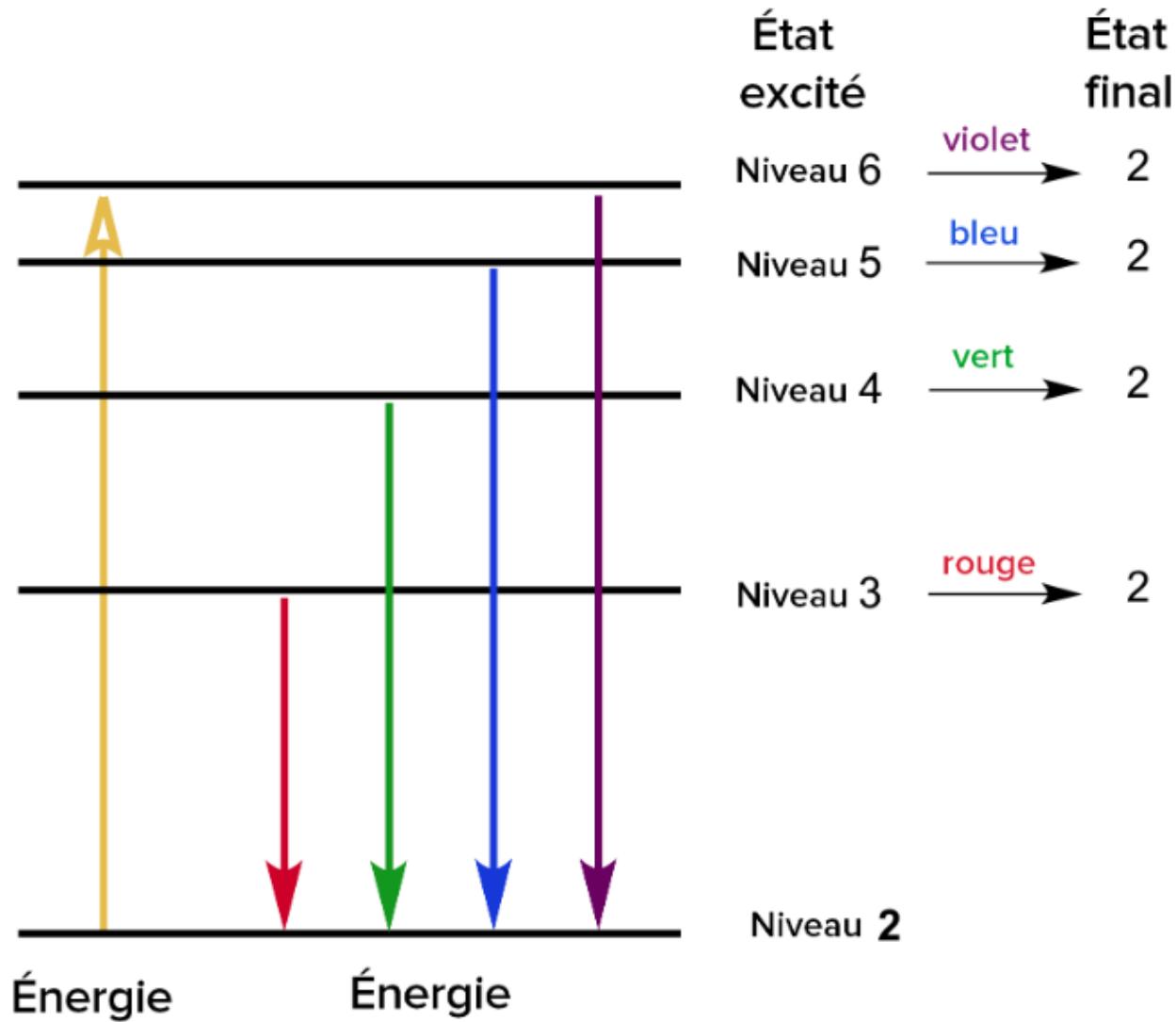
Où A est l'absorbance (une quantité sans unité),  $\epsilon$  est le coefficient d'absorption molaire (une constante unique pour chaque composé, donnée en unités de  $\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )

$L$ , est la longueur du trajet optique dans la solution en cm, C est la concentration molaire de la solution mol/L

# 1) Interaction de la lumière et la matière

- C'est la façon dont les différents rayonnements électromagnétiques interagissent avec les atomes et les molécules.
- Comme il y a différents types de rayonnement électromagnétique, il y a différents types de spectroscopie en fonction de la fréquence de l'onde électromagnétique utilisée.
- On s'intéresse à l'étude de la spectroscopie dite UV-Vis – c.à d. ce qu'il se passe dans les atomes et les molécules quand des photons des domaines ultraviolet et visible de longueurs d'onde comprises entre 10 et 700 nm sont absorbés ou émis.

- Quand un atome absorbe un photon UV-visible, l'énergie de ce photon peut exciter un des électrons de cet atome vers un niveau d'énergie supérieur.
- Ce déplacement de l'électron depuis un niveau d'énergie inférieur vers un niveau d'énergie supérieur, ou vice-versa, est appelé une transition.
- Pour qu'une transition ait lieu, il faut que l'énergie du photon absorbé soit supérieure ou égale à la différence d'énergie entre les 2 niveaux.
- Quand l'électron est dans un état excité, il est alors dans une situation plus instable que lorsqu'il était dans son état fondamental.
- L'électron va ainsi rapidement retomber dans un état d'énergie inférieur et ce faisant, il émet un photon avec une énergie égale à la différence des niveaux d'énergie.



- les photons de domaine UV-VVisible mettent en jeu des énergies de l'ordre de la centaine de  $\text{kJ mol}^{-1}$  , d'environ  $600 \text{ kJ mol}^{-1}$  pour  $200 \text{ nm}$  à  $150 \text{ kJ mol}^{-1}$  pour  $800 \text{ nm}$ .
- Ces énergies sont susceptibles de provoquer des transitions électroniques entre OM de la couche de valence.
- Elles sont insuffisantes pour l'excitation les électrons de « cœur » c'est-à-dire des couches atomiques internes (ex.  $1s$  du carbone) qui requiert l'énergie des rayons X

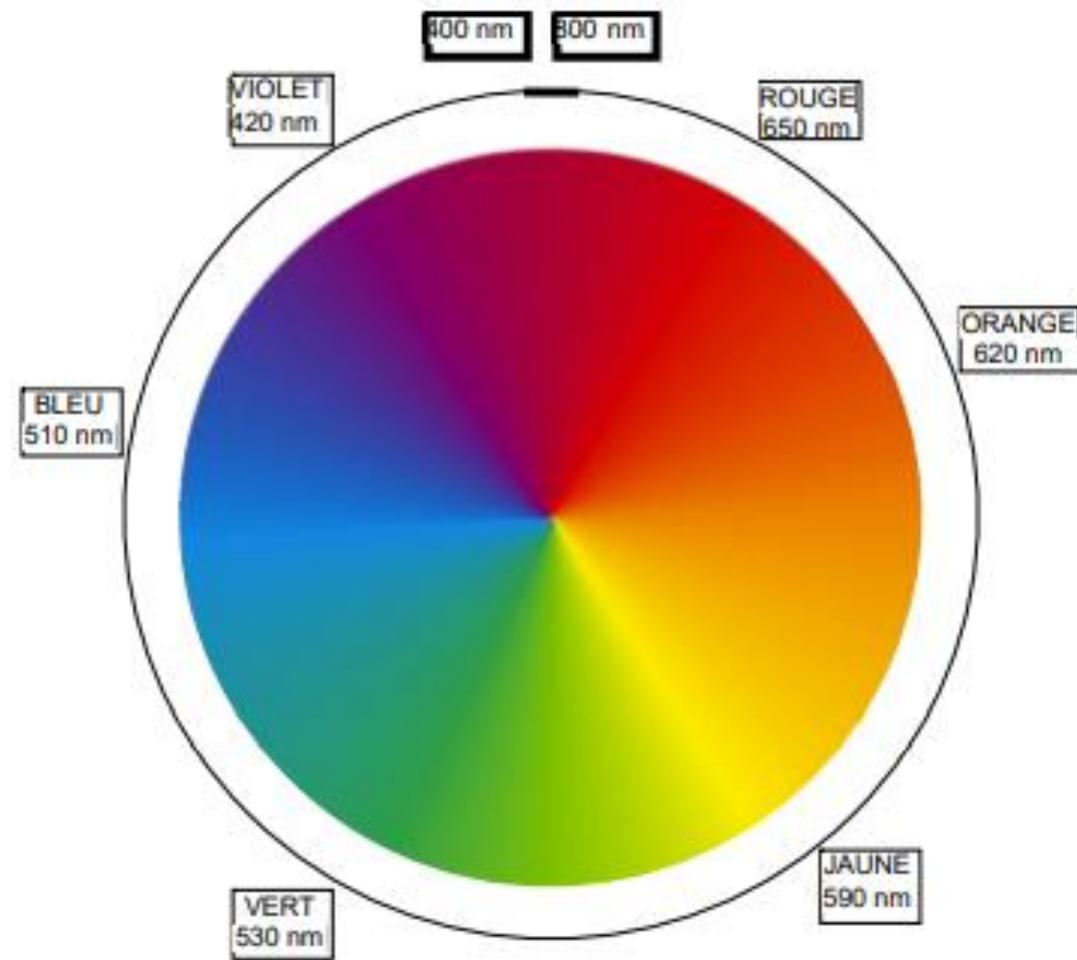
- Les molécules absorbent les radiations électromagnétiques sous forme de paquets discrets d'énergie, ou quanta. L'absorption d'une radiation n'a lieu que si celle-ci correspond exactement à une différence d'énergie entre deux niveaux d'énergie de la molécule. On dit que la molécule subit une excitation. Une molécule peut subir différents types d'excitation, à chaque excitation correspondant une énergie caractéristique.

Domaine de la radiation	Nature de la transition	Energie correspondante
Rayons X	Transition électronique des couches internes vers les couches externes	$> 1\ 250\ \text{kJ.mol}^{-1}$
UV et visible	Transition électronique par promotion des électrons de valence uniquement	$170\ \text{à}\ 1\ 250\ \text{kJ.mol}^{-1}$
Infrarouge	Excitation vibrationnelle des liaisons	$8\ \text{à}\ 42\ \text{kJ.mol}^{-1}$
Micro-onde	Rotations autour des liaisons	$10^{-4}\ \text{kJ.mol}^{-1}$
Ondes radios	Interactions avec les noyaux des atomes	$10^{-6}\ \text{kJ.mol}^{-1}$

$$\Delta E = h \cdot v = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

# Les spectres électroniques

- Un spectre UV-visible apporte des informations sur la délocalisation des électrons dans les molécules. On y reporte l'absorbance A en fonction de la longueur d'onde. Plus une molécule présente une délocalisation électronique importante, plus la longueur d'onde d'absorption maximale se déplace vers les longueurs d'onde plus grandes, ce  $\lambda_{\text{max}}$  se déplaçant alors de l'UV vers le visible.



- Les électrons occupent des orbitales moléculaires (dans les molécules, comme les orbitales atomiques dans les atomes) et lorsqu'il y a absorption, il y a passage d'une orbitale moléculaire donnée à une orbitale moléculaire de niveau d'énergie plus élevée. En spectroscopie UV-visible, une absorption sera importante lorsque la molécule possèdera un système  $\pi$ , appelé aussi système conjugué, c'est à dire un système où au moins deux doubles liaisons sont séparées par une seule liaison simple. Plus le nombre d'enchaînement double-simple-double... liaisons sera important, plus la longueur d'onde maximale sera déplacée vers les longueurs d'onde faible, donc vers le visible : les molécules apparaissent alors colorées si l'absorption a vraiment lieu dans le domaine du visible.

Sur un spectre UV-visible, l'intensité du pic est décrite par son coefficient d'extinction molaire, qui est caractéristique de la molécule. La valeur de  $\epsilon$  peut se situer dans une large fourchette, s'étendant de quelques unités à quelques centaines de milliers. Les spectres électroniques ont permis surtout d'évaluer « l'ampleur » de la délocalisation au sein d'un système  $\pi$  étendu.

plus il y a de doubles liaisons conjuguées, plus la longueur d'onde max sera déplacée vers les plus grande longueurs d'onde, et plus grand sera le coefficient  $\epsilon$

le penta-1,4-diène non conjugué absorbe à  $\text{max} = 178 \text{ nm}$ . Par contre, pour le diène conjugué qu'est le buta-1,3-diène,  $\text{max} = 217 \text{ nm}$ , ce qui correspond à une énergie beaucoup plus faible.

# Chromophores

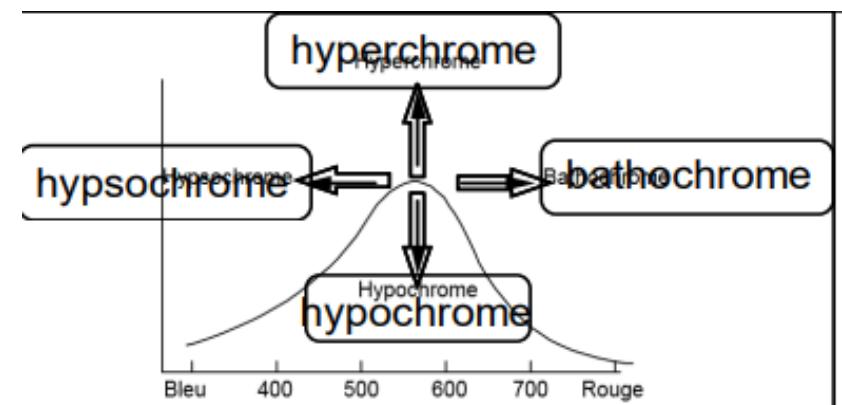
- Un groupe qui est à l'origine d'une absorption est appelé un chromophore. Dans une molécule organique un groupe d'atomes constitue un groupement chromophore s'il modifie l'intervalle des longueurs d'ondes des rayonnements absorbés par cette molécule.
- Il inclus toujours un ensemble de liaisons multiples conjuguées, par définition il comprend donc toujours une portion de chaîne où alternent liaisons simples et multiples.
- Le plus petit groupement chromophore est par conséquent constitué d'une chaîne de quatre atomes avec une liaison simple au centre et deux doubles liaisons aux extrémités.

Des substituants qui entraînent un déplacement de max vers les plus grandes longueurs d'onde exercent un effet bathochrome.

Généralement,  $\epsilon$  augmente parallèlement : c'est un effet hyperchrome.

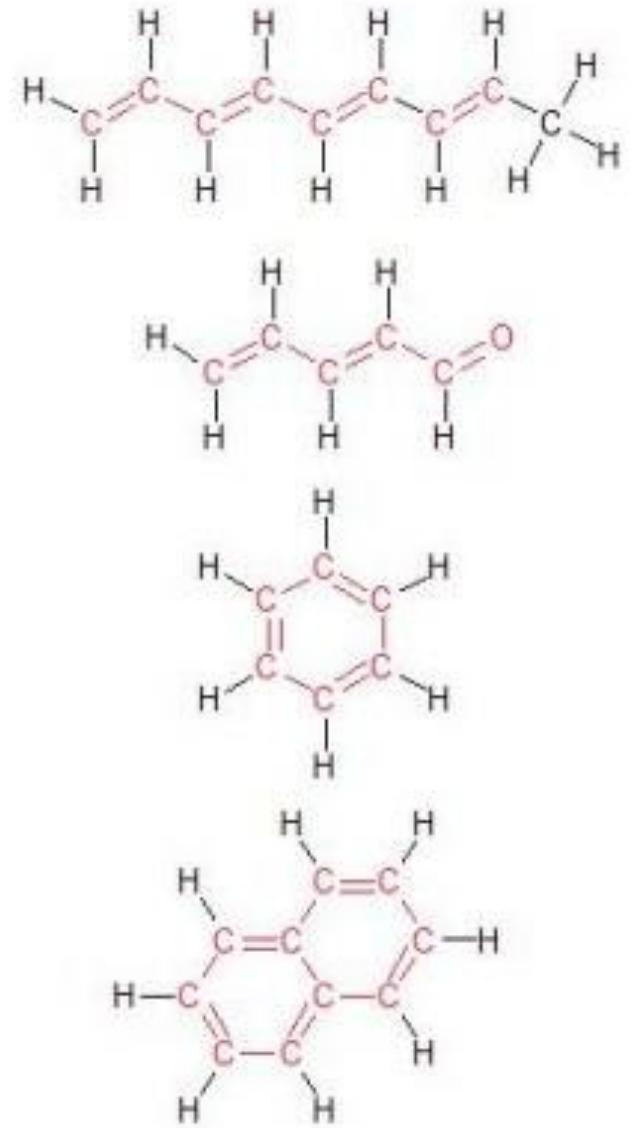
Des substituants qui entraînent un déplacement de max vers les plus petites longueurs d'onde exercent un effet hypsochrome.

Généralement,  $\epsilon$  diminue parallèlement : c'est un effet hypochrome.



# Exemples de groupements chromophores

- Dans chacune des molécules suivantes le système conjugué constituant le groupement chromophore est en rouge
- L'effet d'un groupement chromophore dépend du nombre de liaisons multiples conjuguées qu'il comporte: plus il y en a et plus le domaine d'absorption s'étend vers des longueurs d'ondes élevées.

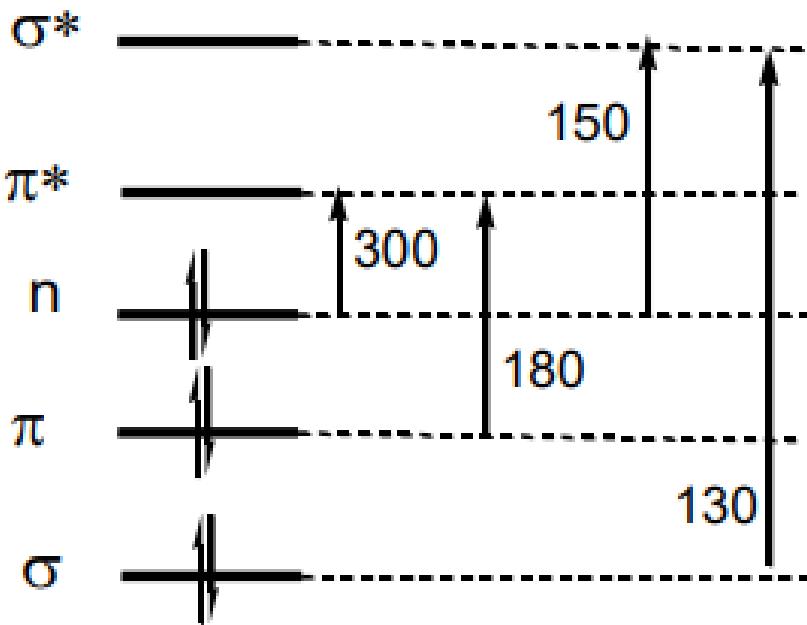


- **Groupements chromophores des espèces chimiques colorées**
- Les groupements chromophores ne comportant qu'un faible nombre de liaisons multiples conjuguées absorbent des rayonnements ultraviolets et diffusent donc toutes les lumières du spectre visible: elles sont incolores.
- Lorsque le nombre de liaisons conjuguées augmente le domaine d'absorption s'étend vers des longueurs d'ondes de plus en plus grandes et à partir de sept liaisons conjuguées l'absorption se fait dans le domaine visible et permet aux espèces organiques d'être colorées.
- Certains groupements dits auxochromes (comme -OH, NH<sub>3</sub> ...) peuvent venir renforcer l'effet des groupements chromophores. Lorsqu'ils sont associés: un groupement auxochrome situé sur un groupement chromophore étend le domaine d'absorption vers des longueurs d'ondes plus faibles.
- Cette extension du domaine d'absorption peut soit:
  - influencer la couleur de l'espèce chimique, soit permettre de passer d'une absorption dans l'ultraviolet à une absorption dans le visible et donc de donner une coloration à une espèce qui sans ce groupement serait incolore.

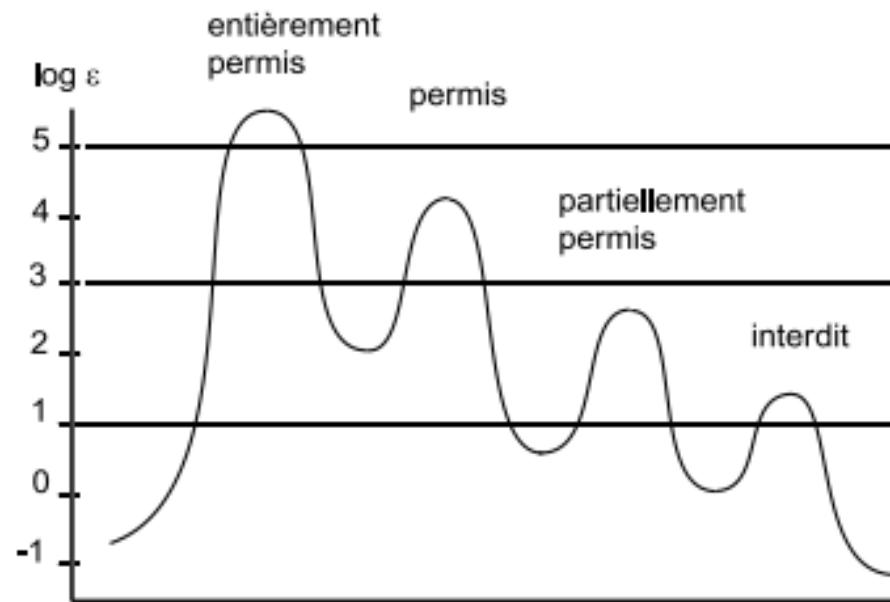
# Les transition électroniques permises et interdites

- les transitions interdites par symétrie sont en général observables pour la raison, entre autres, que la molécule en se déformant par vibration s'écarte souvent légèrement de la symétrie de la position d'équilibre des noyaux.
- En pratique une transition interdite présente un  $\epsilon_{\max}$  généralement inférieur à 100, alors que celui d'une transition permise est de l'ordre de 10 000. Les résultats (i) et (ii) du § 3 .2. sont généraux pour les transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  et  $\pi \rightarrow \pi^*$ , même pour des molécules de symétrie différente ou sans élément de symétrie, car le groupement carbonyle conserve une quasi-symétrie C2v.

Les transitions interdites par le spin ne sont généralement pas observées dans les molécules organiques avec les appareillages standard. Leur E est très inférieur à 1, souvent de l'ordre de 10-2 .



Règle de symétrie  
Transitions permises: changement de symétrie  
Permises  $\pi \pi^*$   
Interdites  $\sigma \pi^*$



## Transitions $\sigma \rightarrow \sigma^*$

Maximum d'absorption correspondant aux transitions  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  n'appartiennent pas à la région UV-Vis. (200 - 700 nm)

Ex: méthane (C-H bonds  $\rightarrow \sigma \rightarrow \sigma^*$   $\rightarrow$  absorbance maximum à 125 nm)

## Transitions $n \rightarrow \pi^*$ and $\pi \rightarrow \pi^*$

Molécules organiques: absorption dans la région 200 - 700nm. Ces transitions n'existent que s'il existe un groupement insaturé dans la molécule ( $\pi$  électrons).

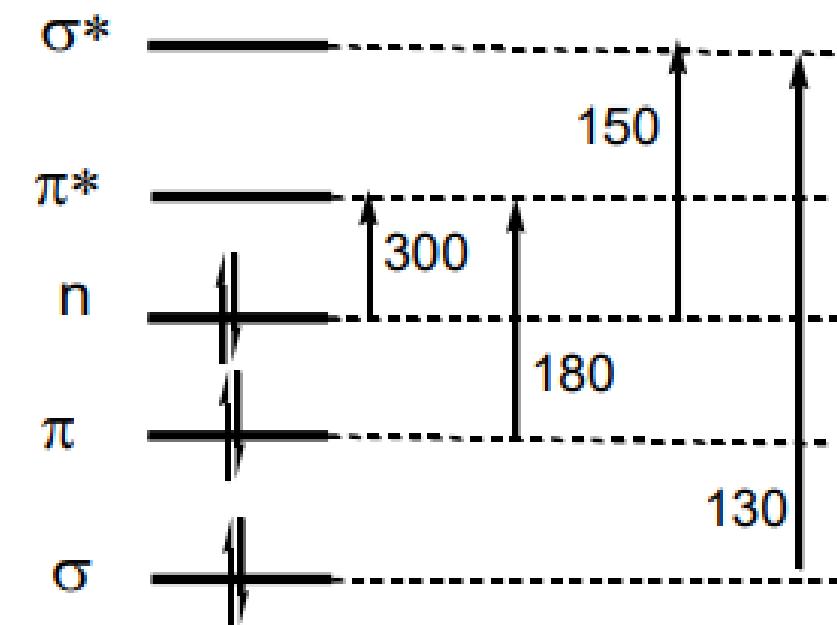
$n \rightarrow \pi^*$ : en présence d'un hétéroatome (O, N, S) dans la molécule organique

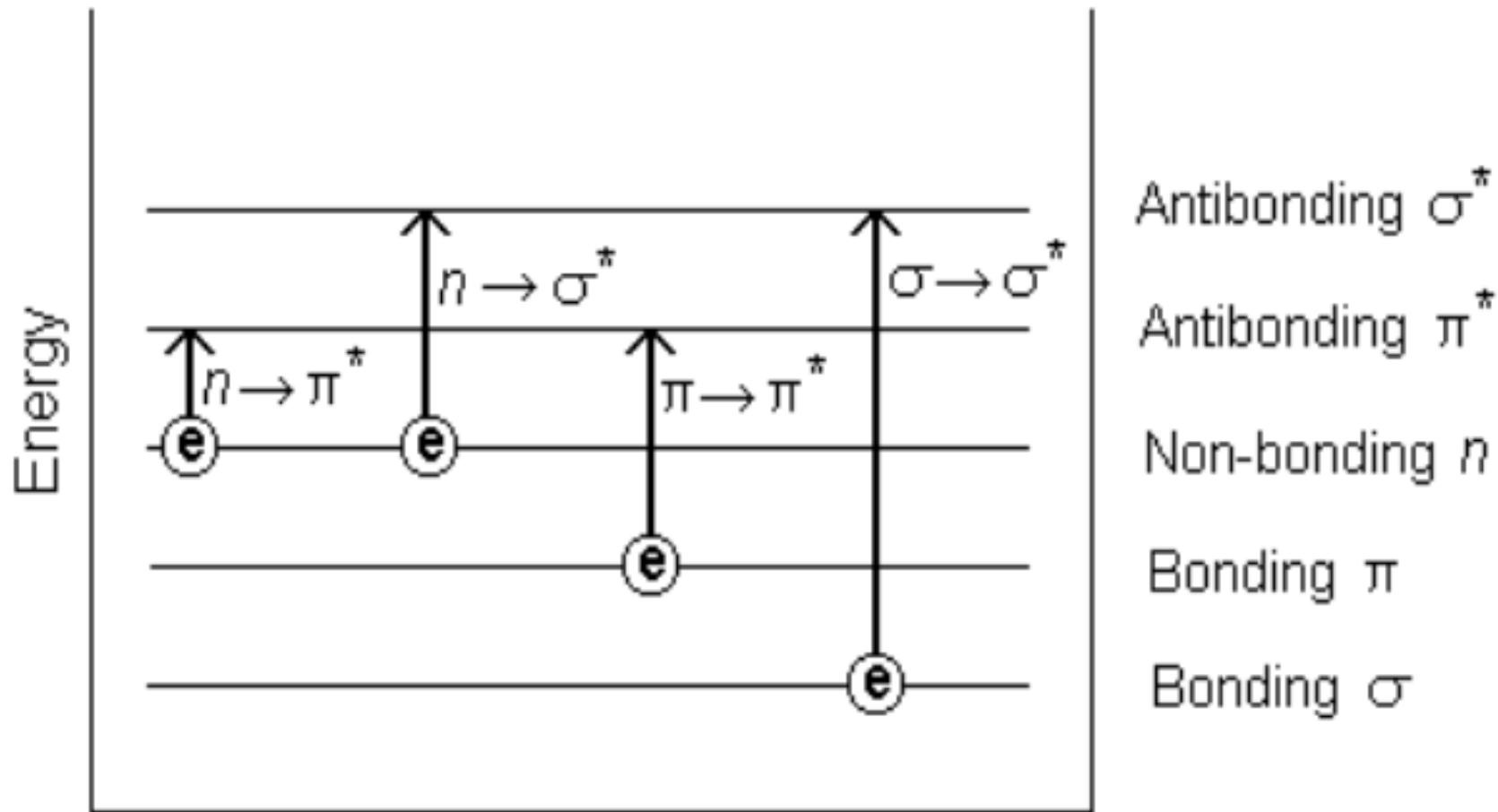
-transitions  $\pi \pi^*$ : coefficients d'absorption molaire élevés

=  $1000 - 100\,000 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  .-qui traduit le caractère permis de ces transitions.

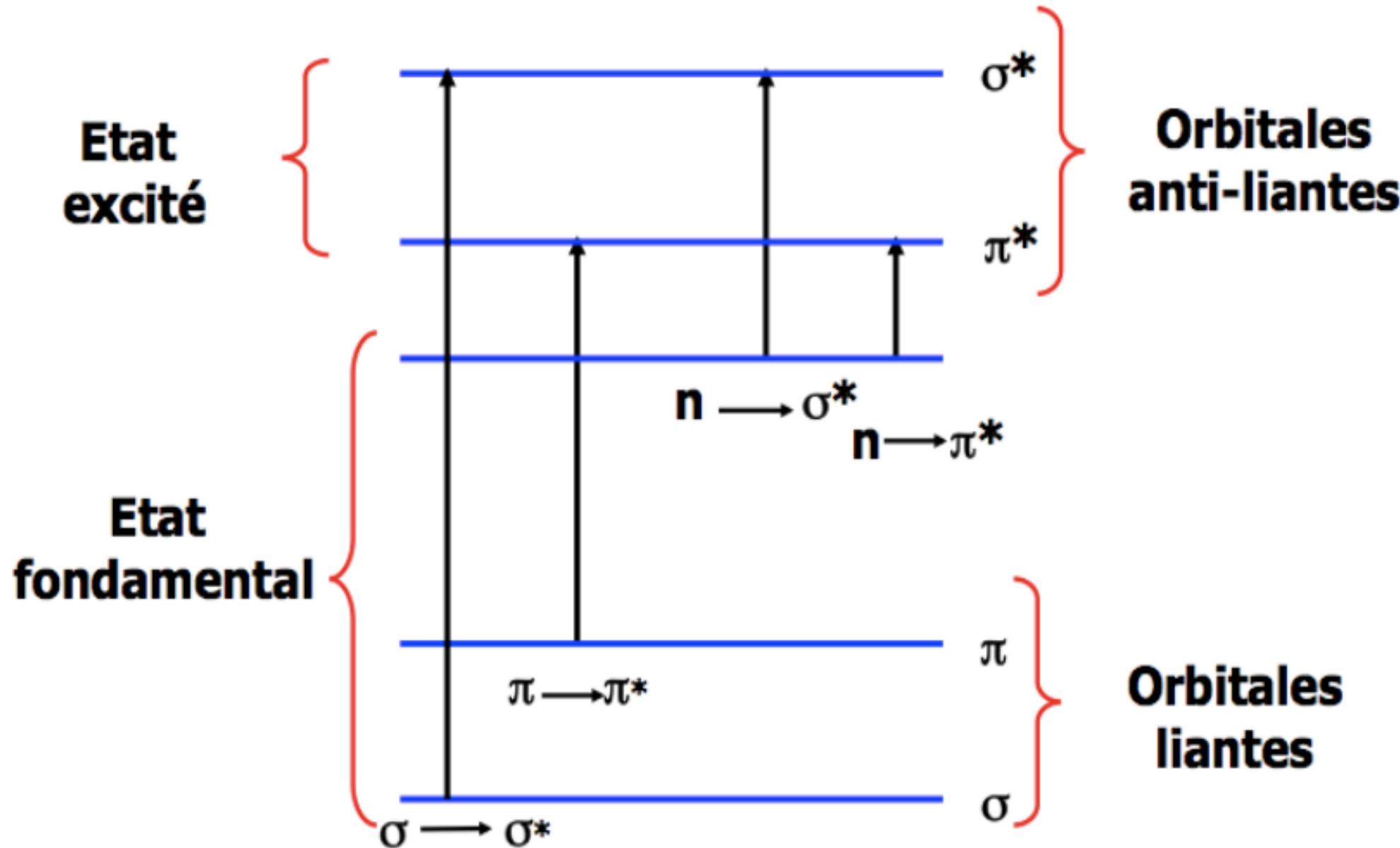
-transitions  $n \pi^*$  coefficients d'absorption molaire plus faible

=  $100$  and  $1000 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  qui traduit le caractère 'interdit' de ces transitions





$$n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \pi^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$$



# Application de la spectrophotométrie UV-Visible

## 1) Détermination de la concentration

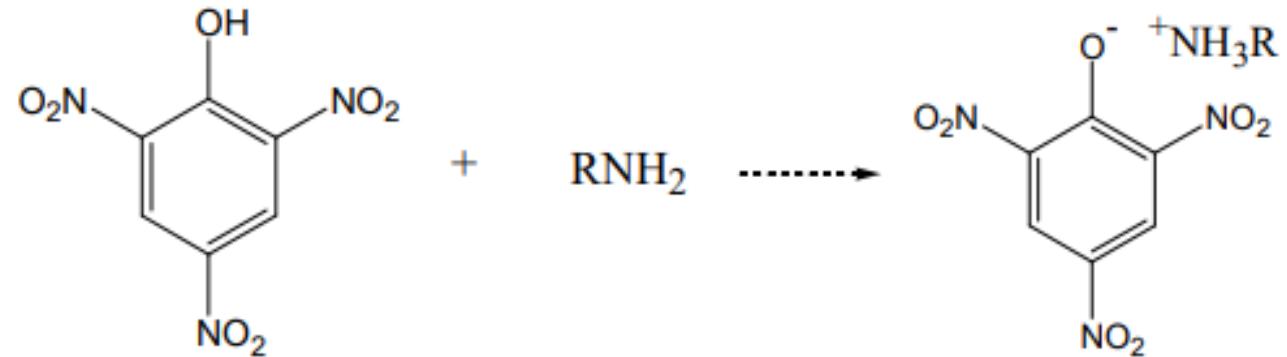
- L'analyse quantitative par la spectrométrie UV-visible est très employée grâce à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert. La concentration d'un système peut être déterminée par la mesure de l'absorption de la radiation par l'espèce. Expérimentalement, on commence généralement par construire une courbe d'étalonnage  $A = f(C)$  à partir de solutions de concentrations connues du composé à doser. Cette courbe est le plus souvent assimilable à une droite pour les solutions diluées. Elle permet de déduire la concentration  $C_X$  de la solution inconnue

## 2) Détermination de la masse molaire

- La masse molaire d'un composé peut être déterminée par des mesures spectrophotométriques si un dérivé convenable du composé peut être préparé. le spectre d'absorption d'un composé dépend du groupe chromophore présent. Si un dérivé est formé via un groupement fonctionnel du composé, éloigné du système chromophorique, alors l'absorption provenant du chromophore restera inaltérée pourvu que le nouveau groupement n'absorbe pas dans la même région. Aussi,  $\epsilon$  dans la région d'absorption du chromophore restera constant. Cependant, l'absorbance va changer puisqu'elle dépend de la masse molaire de l'espèce absorbante :  $A = \epsilon lC = \epsilon lC'/M$  ; où  $M$  est la masse molaire des espèces absorbantes,  $C$  est la concentration massique des espèces absorbantes en g.l<sup>-1</sup> et  $l$  l'épaisseur du milieu absorbant en cm. La masse molaire des espèces absorbantes peut être déterminée par mesure de  $A$  d'une solution contenant une masse connue de cette espèce dans un volume connu.

# Exemple

- Le spectre de l'acide picrique montre une absorption vers 360 nm due aux groupes chromophores  $\text{NO}_2$ . Cette bande peut être utilisée pour déterminer la masse molaire du picrate à condition que le groupe R n'absorbe pas à la longueur d'onde à laquelle les mesures sont faites. Il est ensuite possible de calculer la masse de l'amine.



### 3) Suivre une cinétique

- La cinétique d'une réaction peut être déterminée par la mesure de la variation de la concentration à la fois d'un réactif ou d'un produit en fonction du temps. Comme l'absorbance est directement proportionnelle à la concentration, la spectrométrie d'absorption constitue une méthode de choix pour suivre le déroulement d'une réaction. On suit alors l'absorbance d'un des réactifs ou des produits qui présente une absorption convenable en UV ou visible et qui ne se recouvre pas avec l'absorption due à d'autres espèces présentes.

## 4) Détermination des constantes d'association et de dissociation

- La spectroscopie UV est une très bonne méthode pour l'étude des équilibres en solution très diluée. La dissociation d'un acide HA dans l'eau peut s'écrire :

$\text{HA} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_3\text{O}^+ + \text{A}^-$  où  $\text{A}^-$  est la base conjuguée de HA. Pour des solutions diluées, on a :  $\text{pK}_a = \text{pH} + \log[\text{HA}]/[\text{A}^-]$  La valeur du  $\text{pK}_a$  de l'acide peut être calculée à partir de la mesure du pH et du rapport  $[\text{HA}]/[\text{A}^-]$  à ce pH. Ce rapport peut être immédiatement déterminé spectrophotométriquement. Le spectre UV dépend de l'ionisation (donc du pH) des molécules. Le chromophore de la molécule doit être en interaction avec le site d'ionisation.

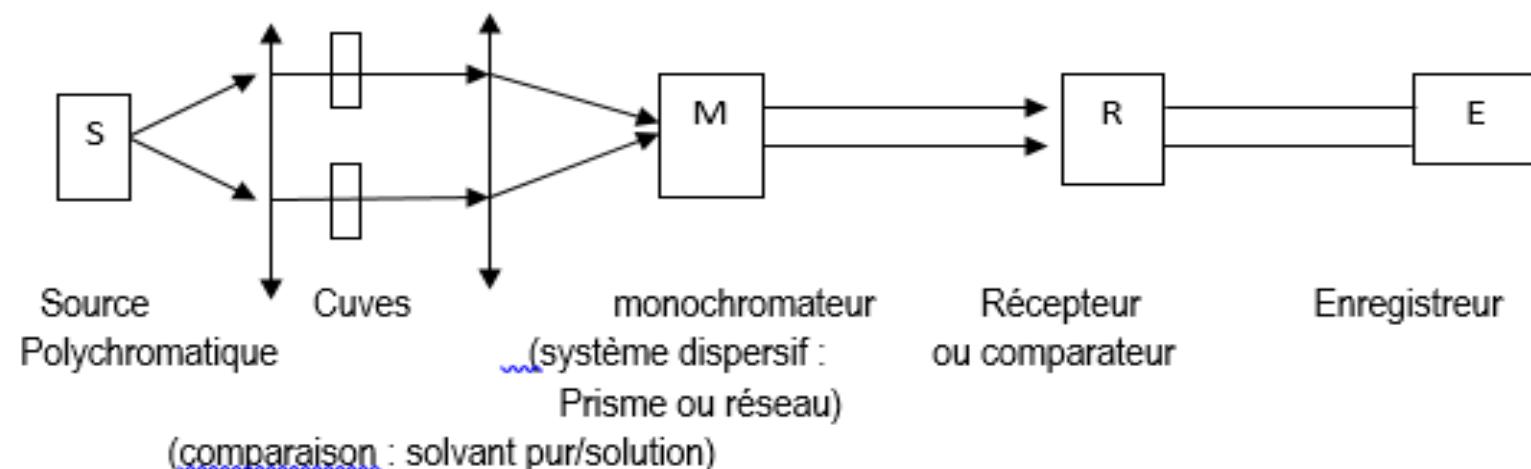
# Appareillage

L'absorption d'un quantum d'énergie d'une radiation provoque une transition de son état fondamental vers un état excité. On enregistre les absorptions à l'aide d'un spectromètre.

- L'appareil comprend une source de radiation électromagnétique (IR, UV,...). Une radiation d'une longueur d'onde définie traverse l'échantillon.
  - La fréquence de ce faisceau incident est modifiée progressivement et l'intensité de la lumière émergente (par rapport à un faisceau de référence) est mesurée par un détecteur et enregistrée sur un papier calibré.
  - l'échantillon吸orbe de la lumière incidente, l'intensité qui en résulte est mesurée par le détecteur et est enregistrée sous forme d'un pic.
  - On obtient ainsi un spectre de l'échantillon dans le domaine de longueur d'onde considéré.

Le choix de la source (et du récepteur) est imposé par la gamme des longueurs d'onde que l'on veut balayer.

Le choix des cuves (et du solvant) correspond à des substances n'absorbant pas dans le domaine étudié.



# Les spectres de raies d'absorption et d'emission

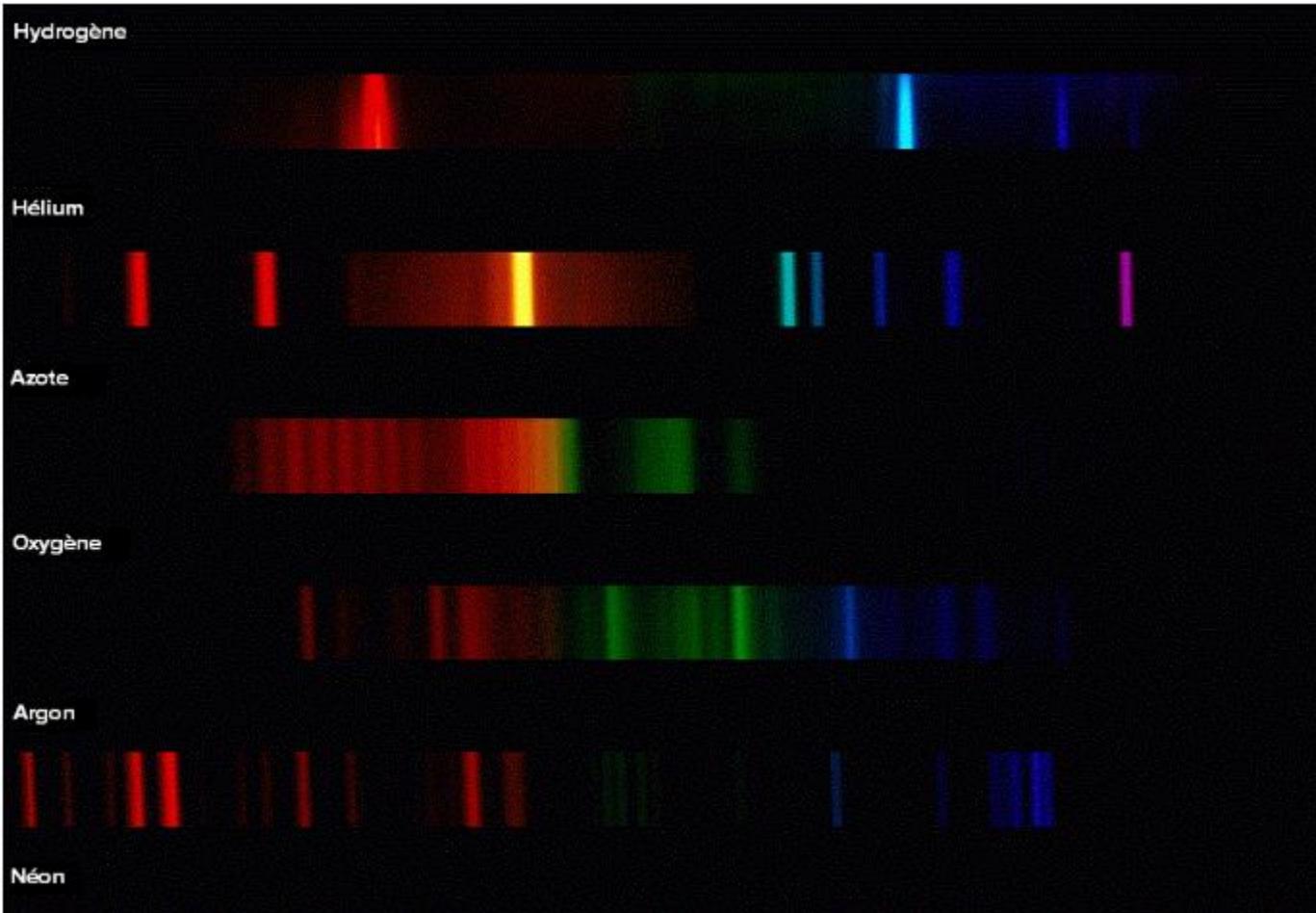
- Un spectre de raies d'émission est obtenu en décomposant la lumière émise par une source. Les radiations émises apparaissent colorées.
- Un spectre de raies d'absorption est obtenu en décomposant la lumière ayant traversé un corps. Les radiations absorbées apparaissent noires.

Dans un spectre de raies d'émission, on observe des raies colorées sur un fond noir.

Dans un spectre de raies d'absorption, on observe des raies noires sur un fond coloré.



- Les transitions énergétiques des électrons d'un élément chimique donné sont uniques et elles diffèrent d'un élément à l'autre. Ainsi, en étudiant les couleurs de la lumière émise par un atome, on peut déterminer à quel élément chimique il appartient à partir de son spectre d'émission.



# Spectroscopie IR

- L'étude d'un spectre I.R permet :
- D'identifier un composé inconnu ou, ses groupes fonctionnels
- Vérifier la pureté d'un produit connu, par l'absence de bande signalant la présence de composé étrangers
- De suivre un processus réactionnel en étudiant l'apparition ou la disparition des bandes caractéristiques de certains groupes fonctionnels.
- Obtention d'un spectre IR
- On réalise les spectres IR de composés solide, liquide ou gaz. Les solides sont placés en suspension dans une paraffine liquide, ou par pastillage.
- Les liquides sont analysés purs ou en solution. Les gaz demandent des techniques plus particulières.

# Spectroscopie IR

- Une molécule est un assemblage de plusieurs atomes, et l'énergie totale de la molécule est une somme de plusieurs contributions, quantifiées (hors-mis l'énergie de translation, qui n'est pas quantifiée et que nous ne considérons pas ici). L'expression de l'énergie « propre » à la molécule est la somme de 3 termes :
- Une énergie électronique, associée aux électrons de la molécule dans leur niveau d'énergie : Eélec
- Une énergie associée aux déformations des longueurs de liaisons et des angles valentiels, autour d'une position d'équilibre : Evib
- Une énergie associée aux mouvements de rotation autour d'un axe passant par le centre d'inertie : Erot
- Cette énergie « propre » totale de la molécule est  $E_{\text{tot}} = E_{\text{élec}} + E_{\text{vib}} + E_{\text{rot}}$
- Il est important de retenir que les différences d'énergie entre de niveaux d'énergie « de même nature » sont très différentes :

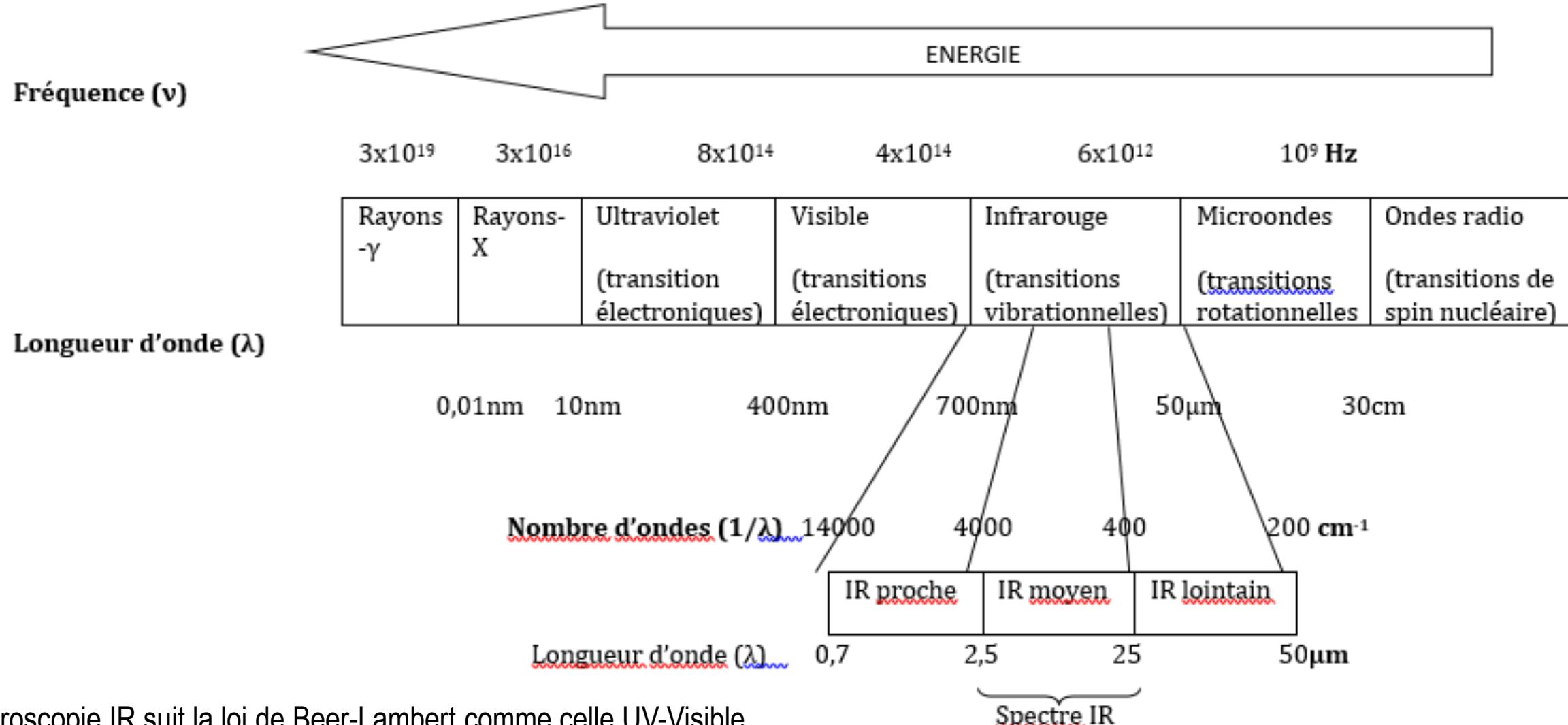
$$\Delta E_{\text{rot}} \ll \Delta E_{\text{vib}} \ll \Delta E_{\text{élec}}$$

Les transitions électroniques ont lieu dans le domaine de l'UV-visible.

Les transitions vibrationnelles ont lieu dans le domaine du proche infrarouge

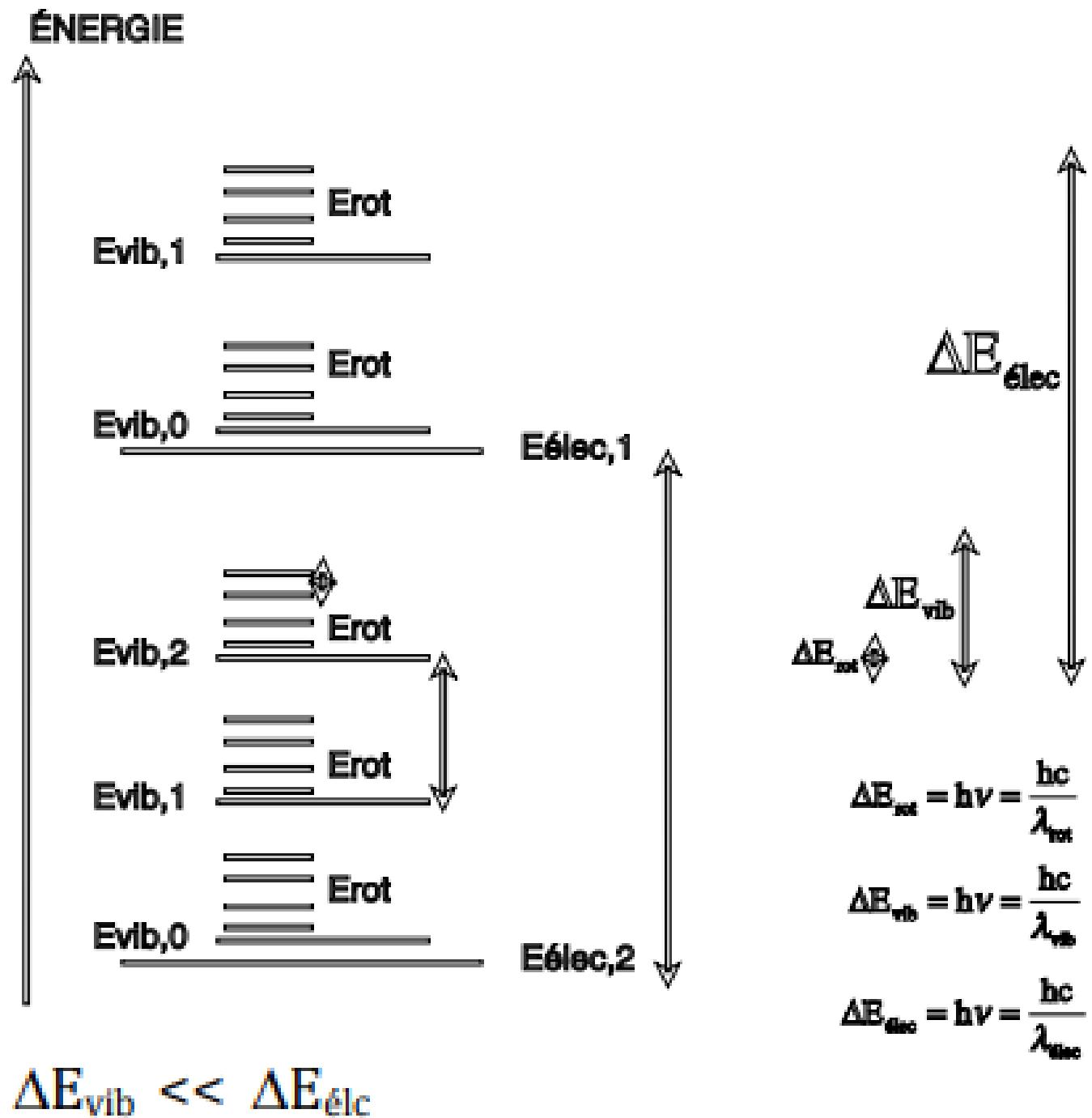
Rayonnement UV-visible → transition électronique

Rayonnement IR → vibration des liaisons

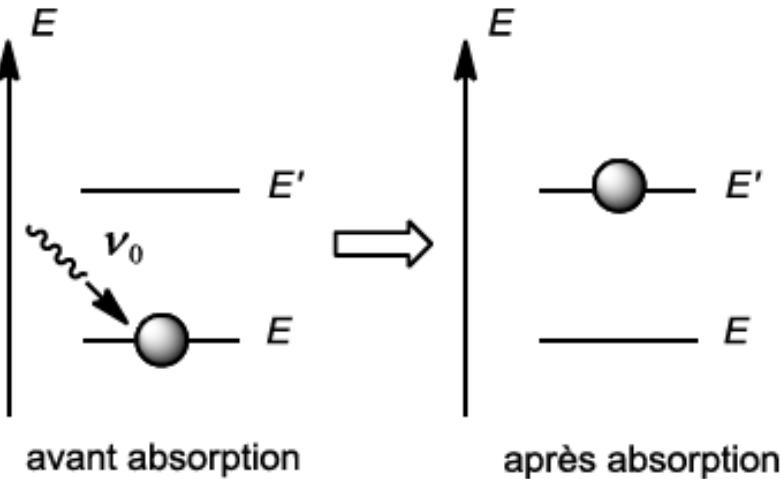


- La spectroscopie IR suit la loi de Beer-Lambert comme celle UV-Visible.
- Les bandes sont plus étroites en IR que dans le spectre UV visible. On parle de bandes ou de pics.
- On qualifie une bande ou un pic en indiquant :
  - La valeur du nombre d'onde correspondant au minimum de transmittance
  - L'intensité du pic (fort (intense)/moyen/faible)
  - La largeur de la bande (étroite/large).

- Ainsi les transitions observées pour passer d'un niveau d'énergie à un autre niveau de même nature ne vont pas mettre en jeu les mêmes énergies, donc pas les mêmes domaines d'énergie, et donc pas les mêmes domaines de longueurs d'onde du spectre électromagnétique.



Une onde électromagnétique de fréquence  $\nu_0$  peut être absorbée par une molécule qui va passer d'un niveau énergétique à un autre.



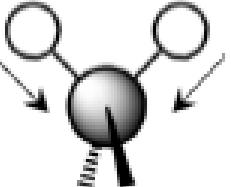
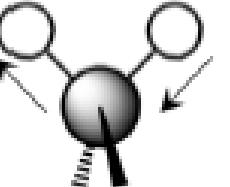
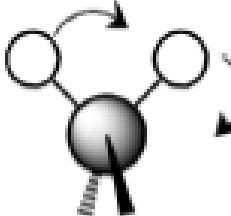
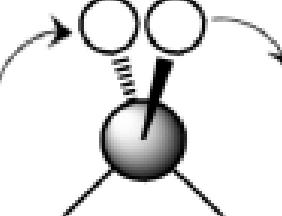
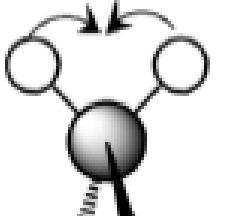
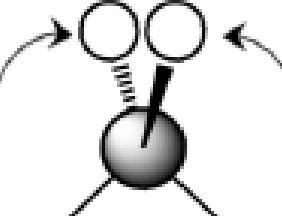
L'absorption n'est possible que si l'énergie de l'onde correspond à la différence d'énergie entre les deux niveaux énergétiques:

$$E' - E = h\nu_0 = \frac{hc}{\lambda_0}$$

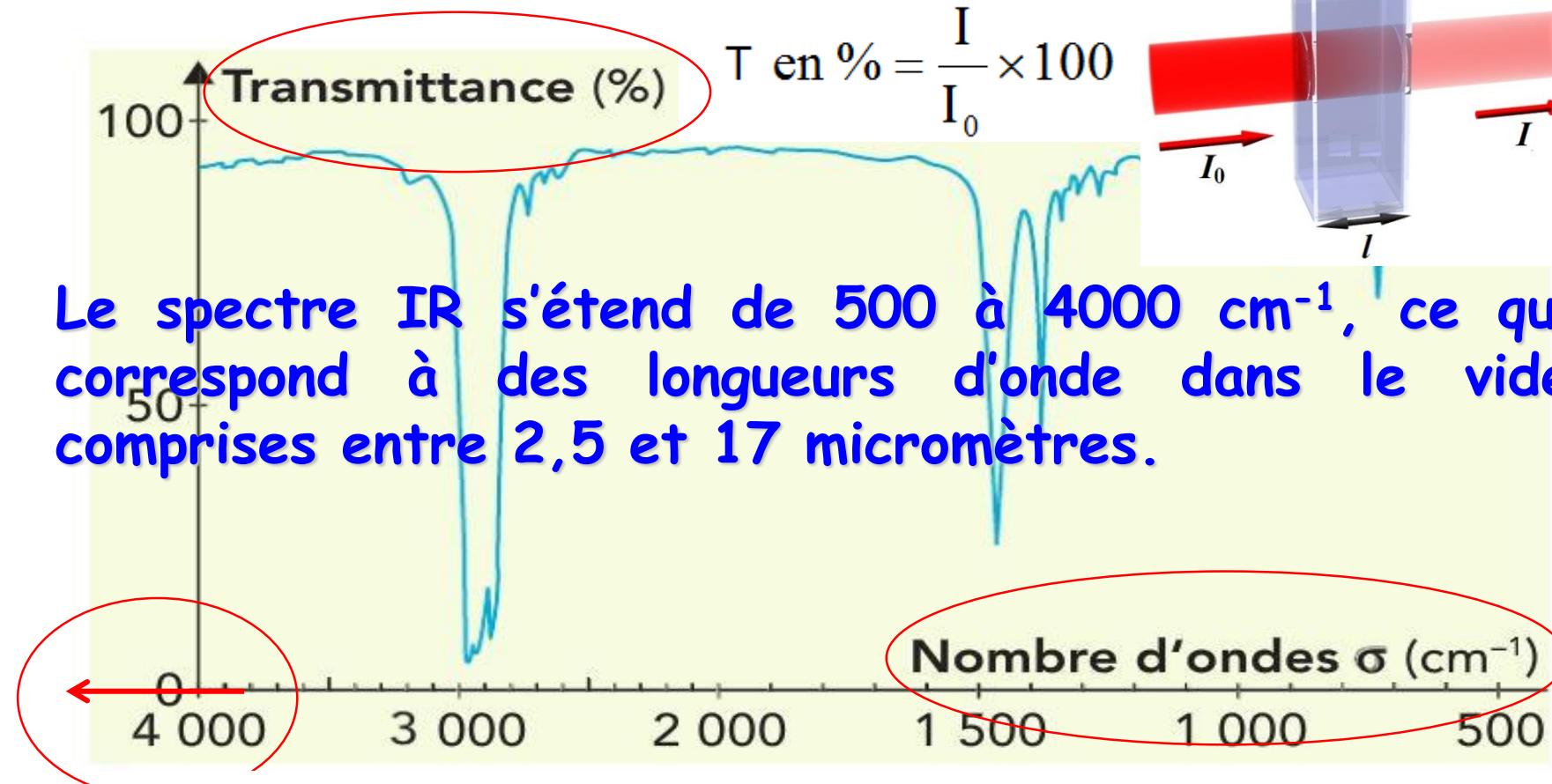
h constante de Planck  $h = 6,62 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}$

## Deux types de vibration:

- vibration d'élongation correspondant à l'étirement d'une liaison A - B.
- vibration de déformation (ou flexion) correspondant à la variation d'un angle de valence.

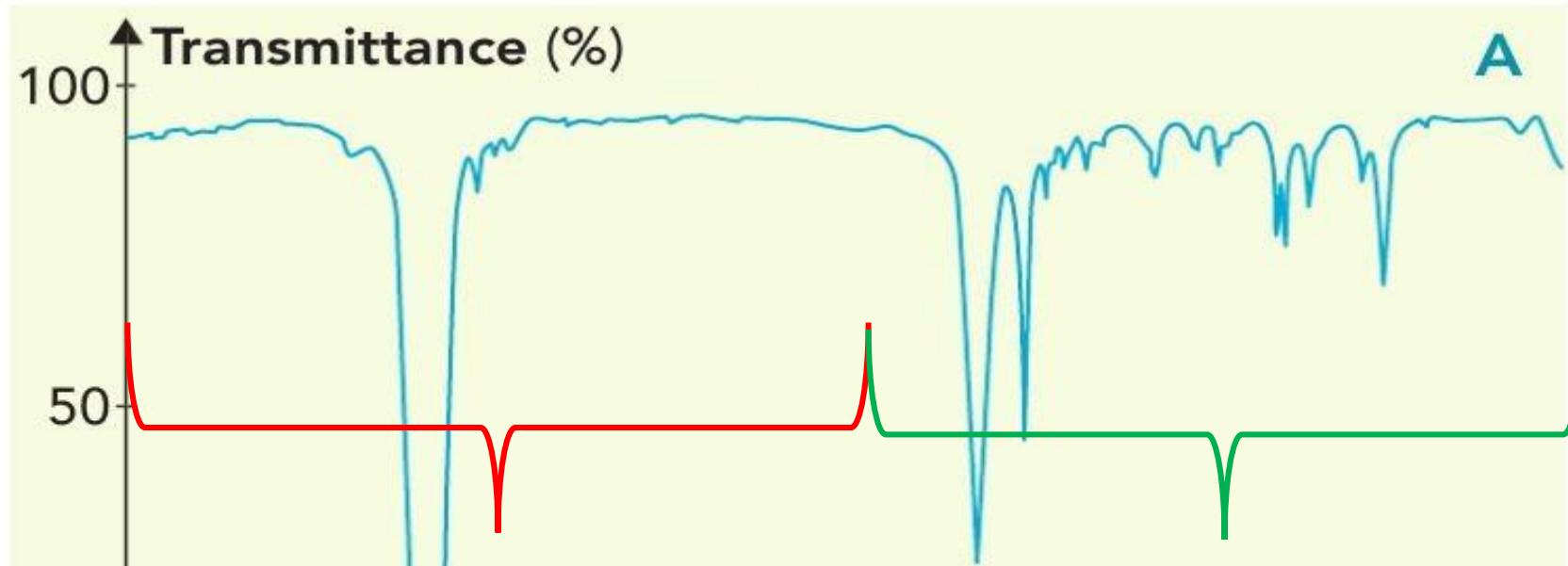
Vibration d'élongation (de valence)	
	
Vibration de déformation	
Dans le plan	Hors du plan
	
	

exemples des modes de vibration d'un groupement  $\text{CH}_2$



Le nombre d'onde  $\sigma$  a l'avantage d'être directement proportionnel à la fréquence (donc à l'énergie) du rayonnement absorbé.

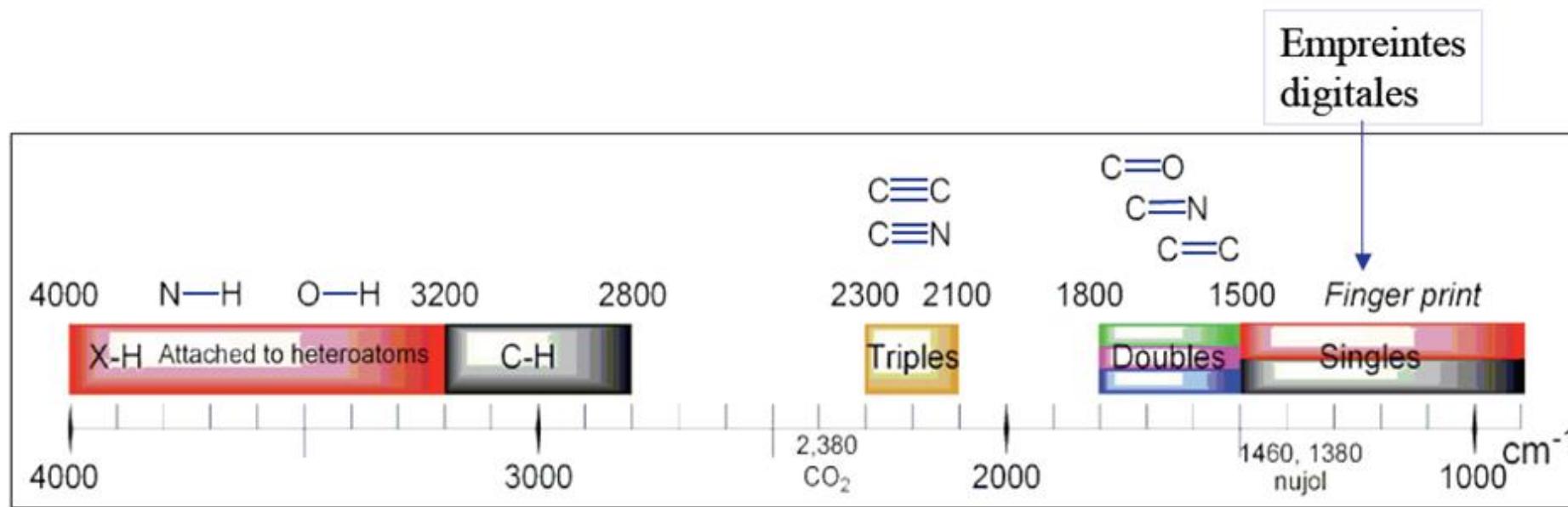
$$\sigma = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} = \frac{\Delta E}{hc}$$



Entre 4000 et  $1300\text{cm}^{-1}$ ,  
bandes de vibration d'élongation:  
caractéristiques des fonctions.

Entre  $1300$  et  $600\text{cm}^{-1}$ , bandes de vibration de déformation:  
zone difficile à analyser, appelée  
zone des empreintes digitales.

Doc. 8 Spectre infrarouge au pentane (A).



## L'exploitation d'un spectre se fait par :

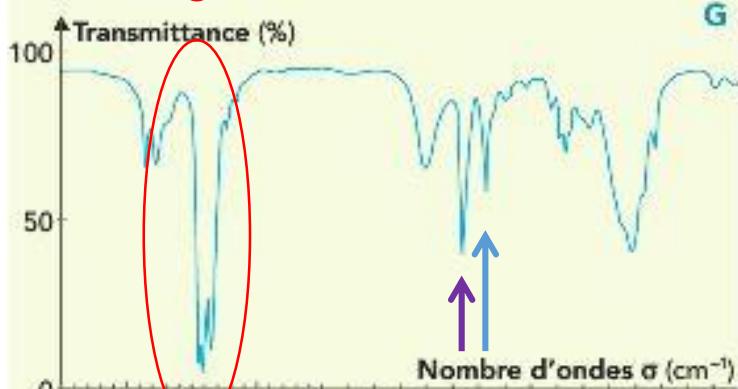
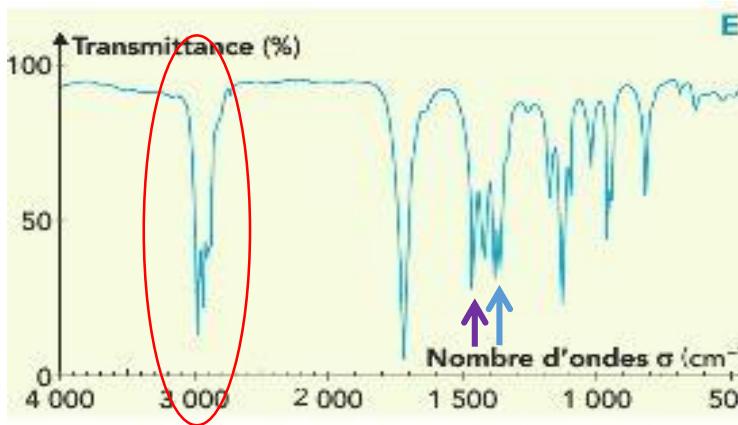
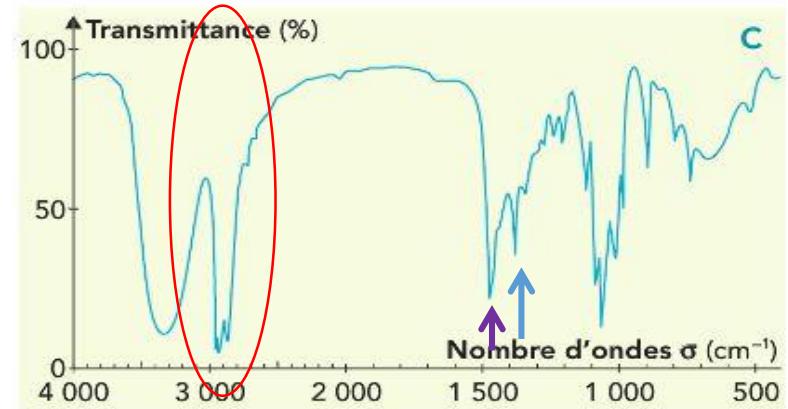
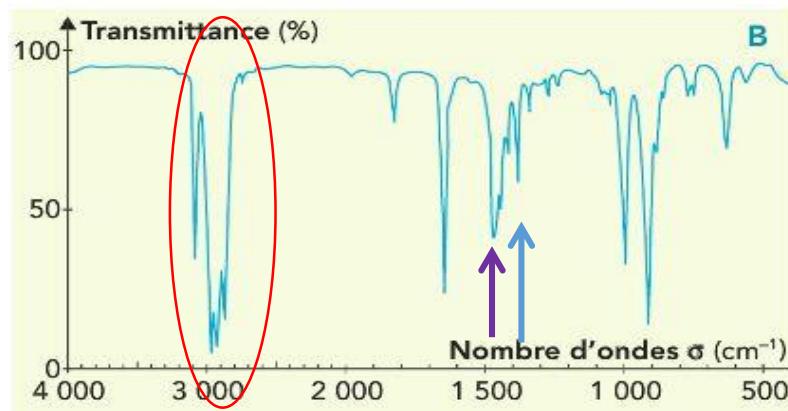
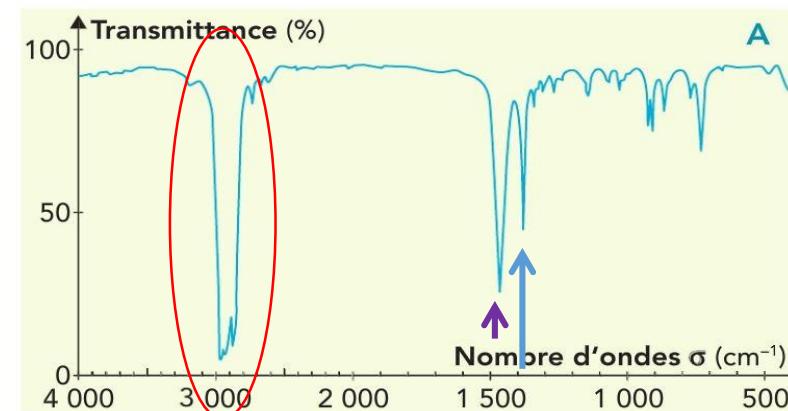
- Repérage des bandes caractéristiques des groupes fonctionnels, grâce aux tables existantes.

Les bandes seront analysées selon leurs :

- Position ( $\text{cm}^{-1}$ ),
- Intensité (faible, moyenne, forte)
- Forme (large ou étroite).

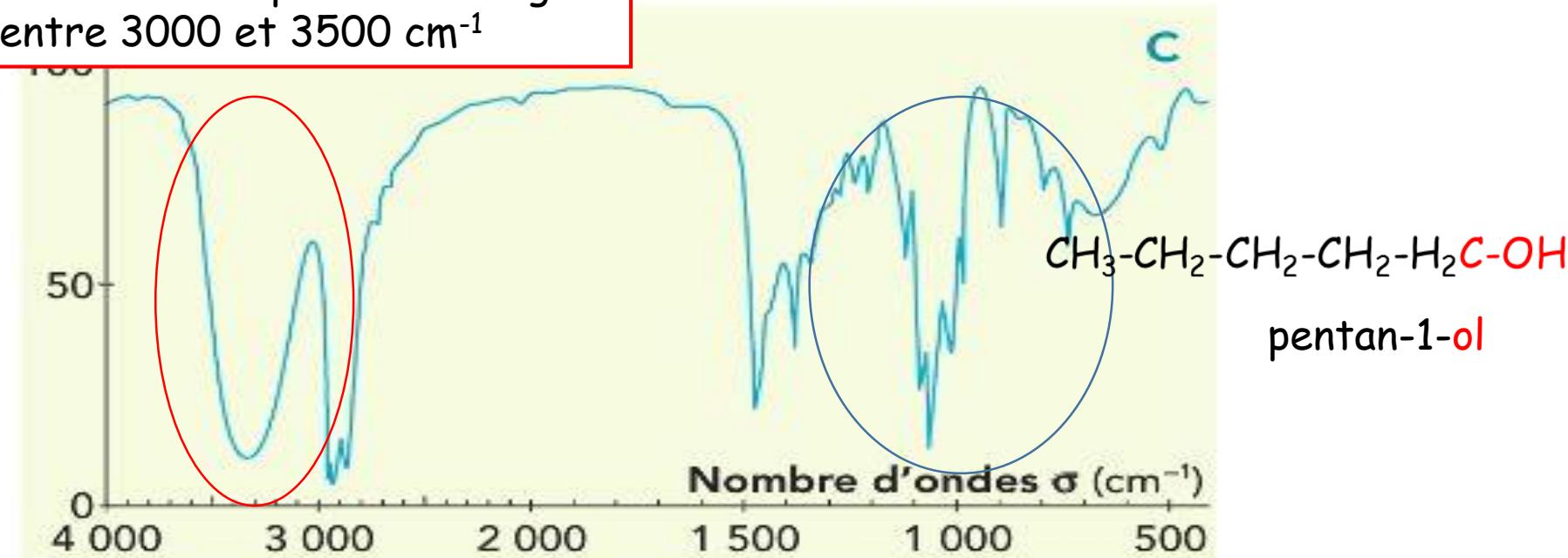
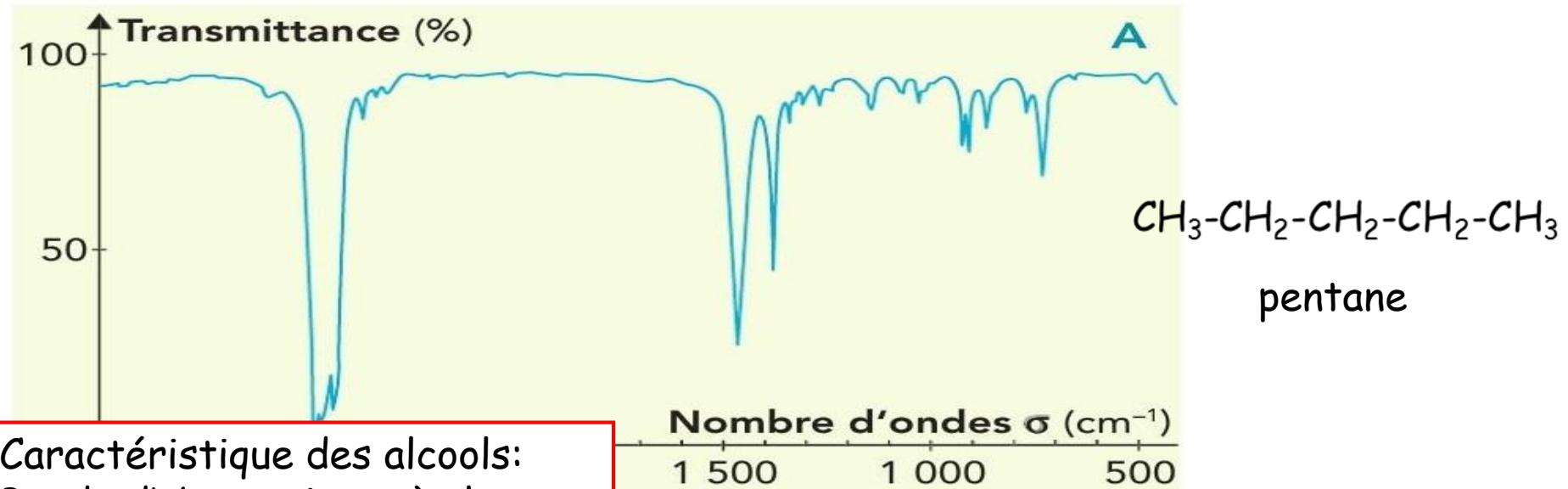
- Comparaison du spectre étudié et, en particulier, de la région « empreinte digitale » à un spectre de référence.

A	Pentane	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	groupe <b>alcano</b>
B	Pent-1-ène	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-HC=CH}_2$	groupe <b>alcène</b>
C	Pantan-1-ol	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-H}_2\text{C-OH}$	groupe <b>hydroxyle</b>
D	Pantanal	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-HC=O}$	groupe <b>carbonyle</b> (aldéhyde)
E	Pantan-3-one	$\text{CH}_3\text{-H}_2\text{C-CO-CH}_2\text{-CH}_3$	groupe <b>carbonyle</b> (cétone)
F	Acide pentanoïque	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}_2\text{H}$	groupe <b>carboxyle</b>
G	Pantan-1-amine	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$	groupe <b>amine</b>
H	Propanoate d'éthyle	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CO-O-CH}_2\text{-CH}_3$	groupe <b>ester</b>
I	pentanamide	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}_2$	groupe <b>amide</b>

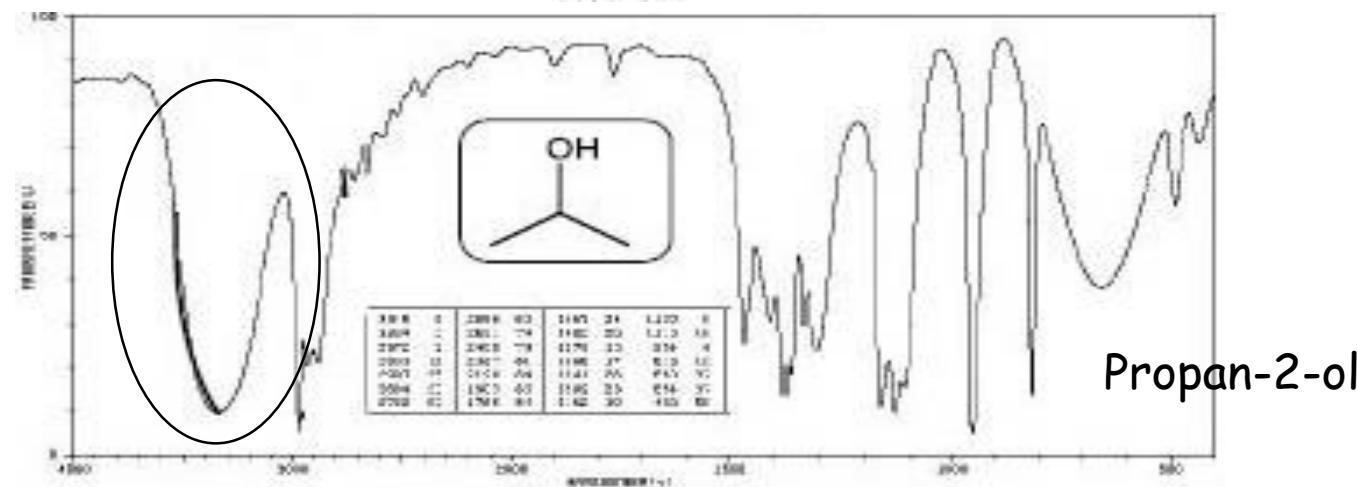
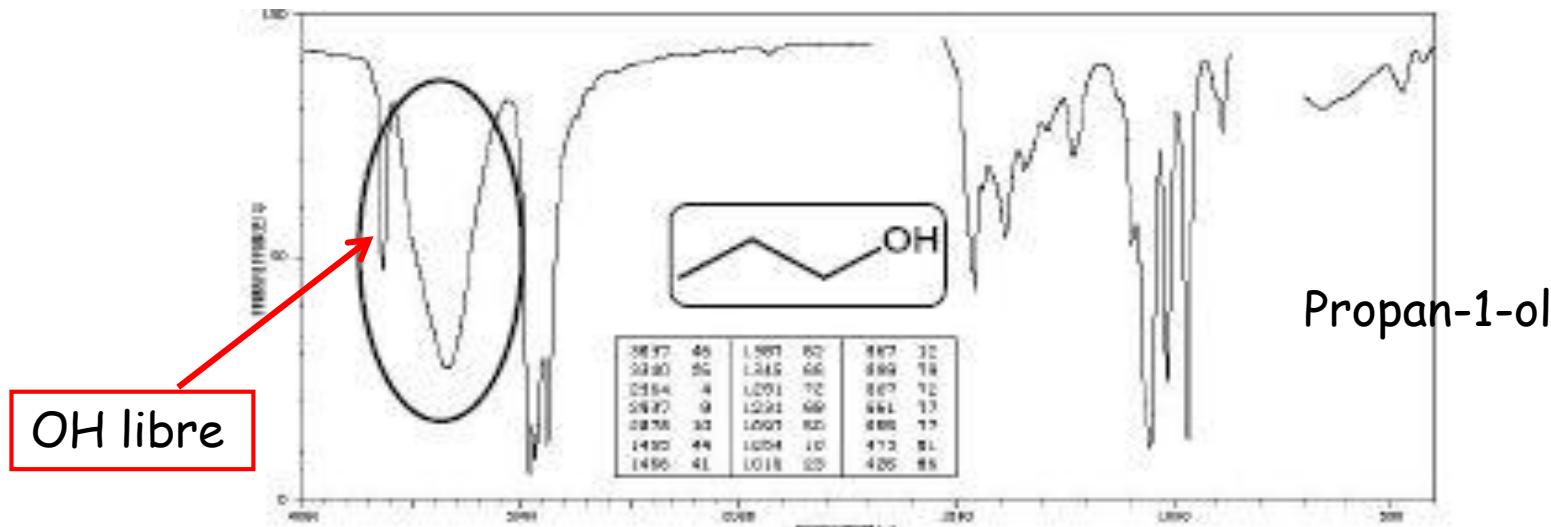


Liaison	Nature de la vibration	Nombre d'onde (cm $^{-1}$ )	Intensité
C(tétraédrique) – H	élongation	2800 – 3000	Forte, multiple (correspondant à différents modes de vibration, symétriques et antisymétriques des groupes CH <sub>2</sub> et CH <sub>3</sub> )
C(tétraédrique) – H	déformation	1425 – 1470	Forte
C(tétraédrique) – H (CH <sub>3</sub> )	déformation	1365 – 1385	Forte, 2 bandes
C – C	élongation	1000 – 1250	Forte

Différence alcane alcool



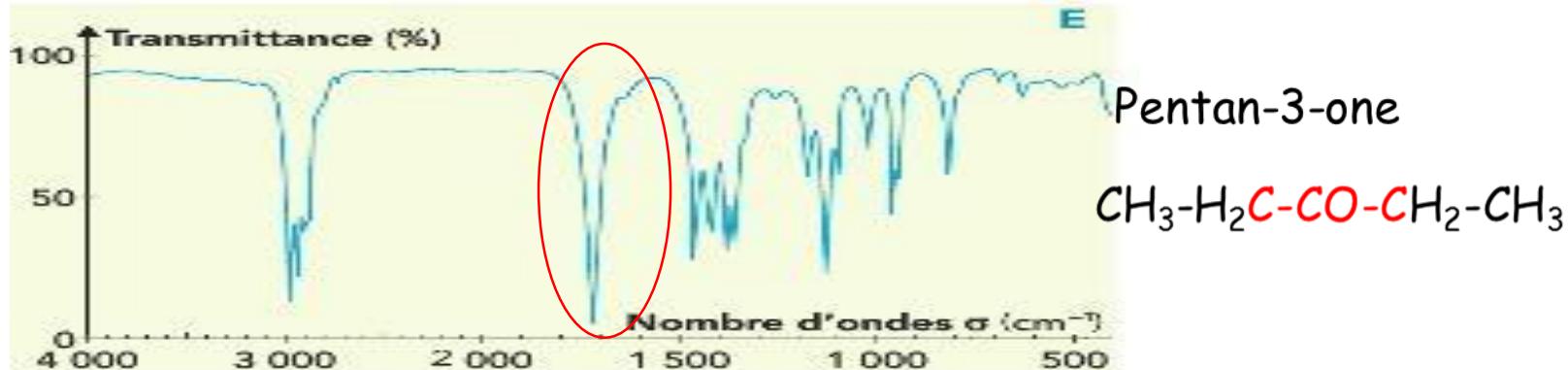
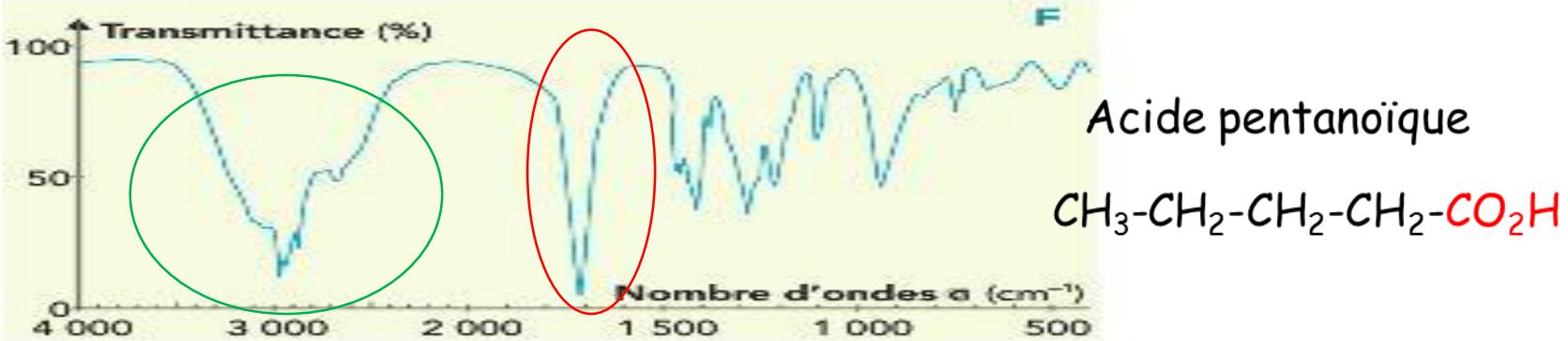
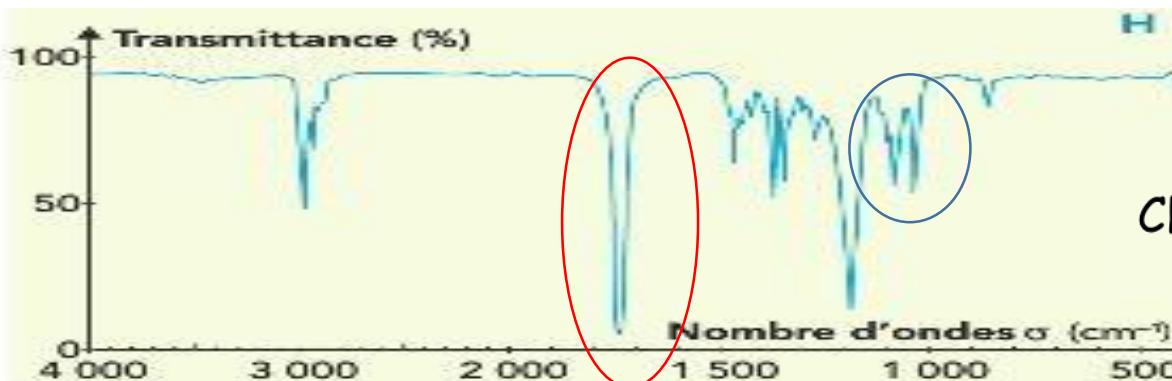
Cette bande large caractéristique des alcools ne permet pas toujours de savoir de quel isomère il s'agit.



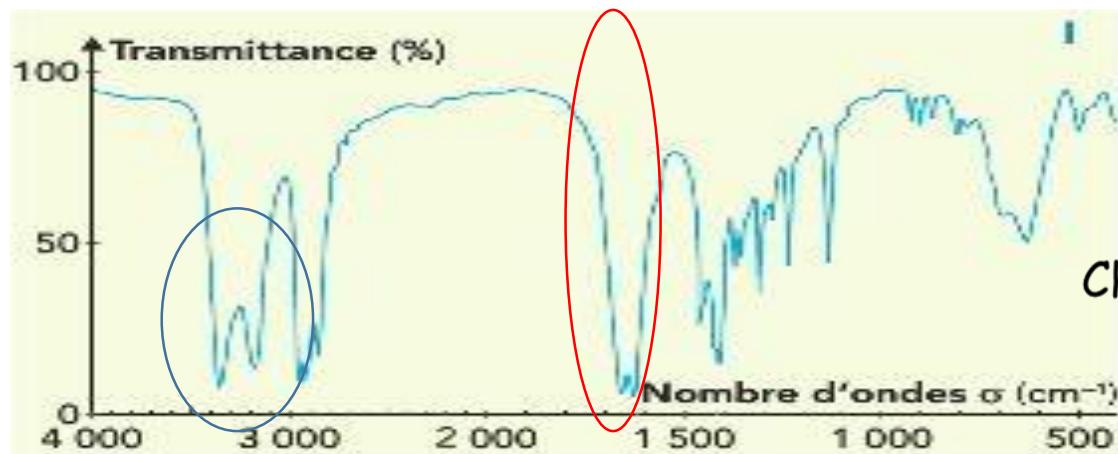
En présence de liaisons hydrogène, la liaison OH est affaiblie , ce qui diminue la constante de raideur de la liaison . Cela provoque la diminution de  $\sigma$  et l'élargissement de la bande d'absorption

Liaison	Nature de la vibration	Nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensité
O – H (alcool libre)	élongation	3580 – 3670	Forte, fine
O – H (alcool lié)	élongation	3200 – 3400	Forte, large
C – O	élongation	1050 – 1450	Forte

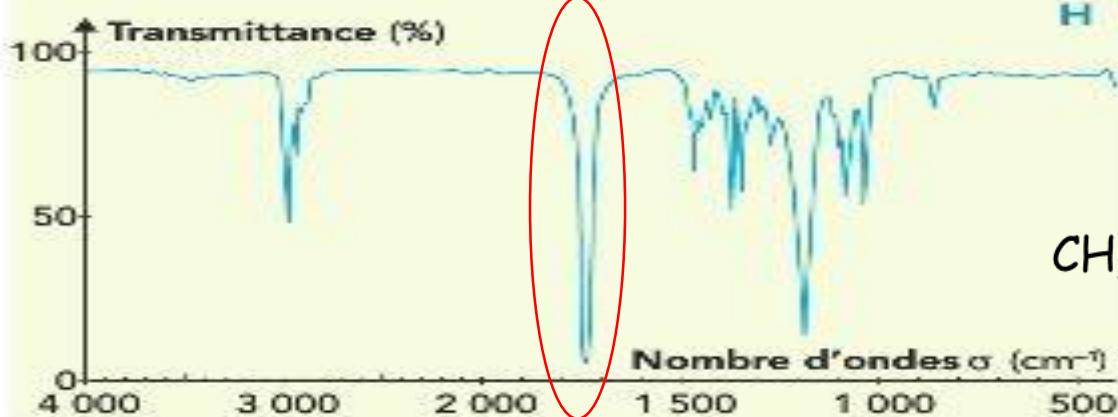
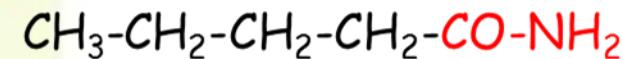
Différence alcane alcène



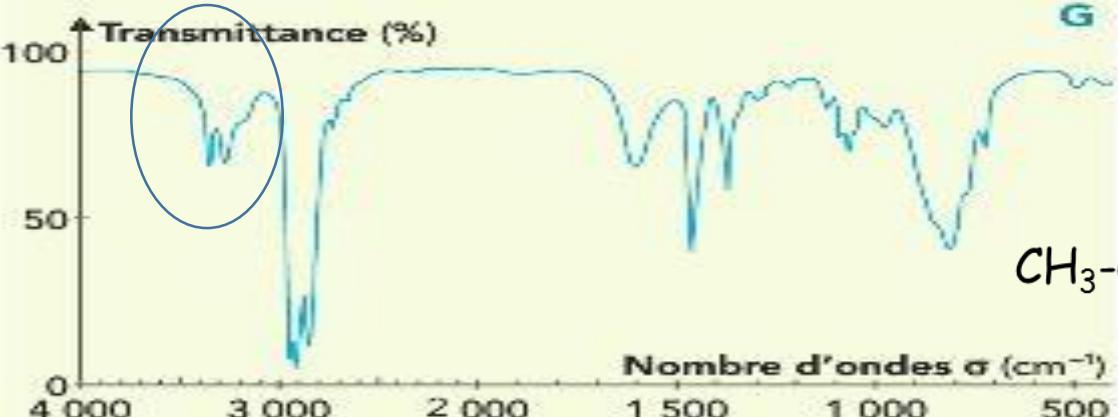
Amide



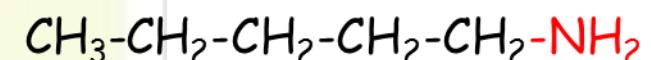
pentanamide



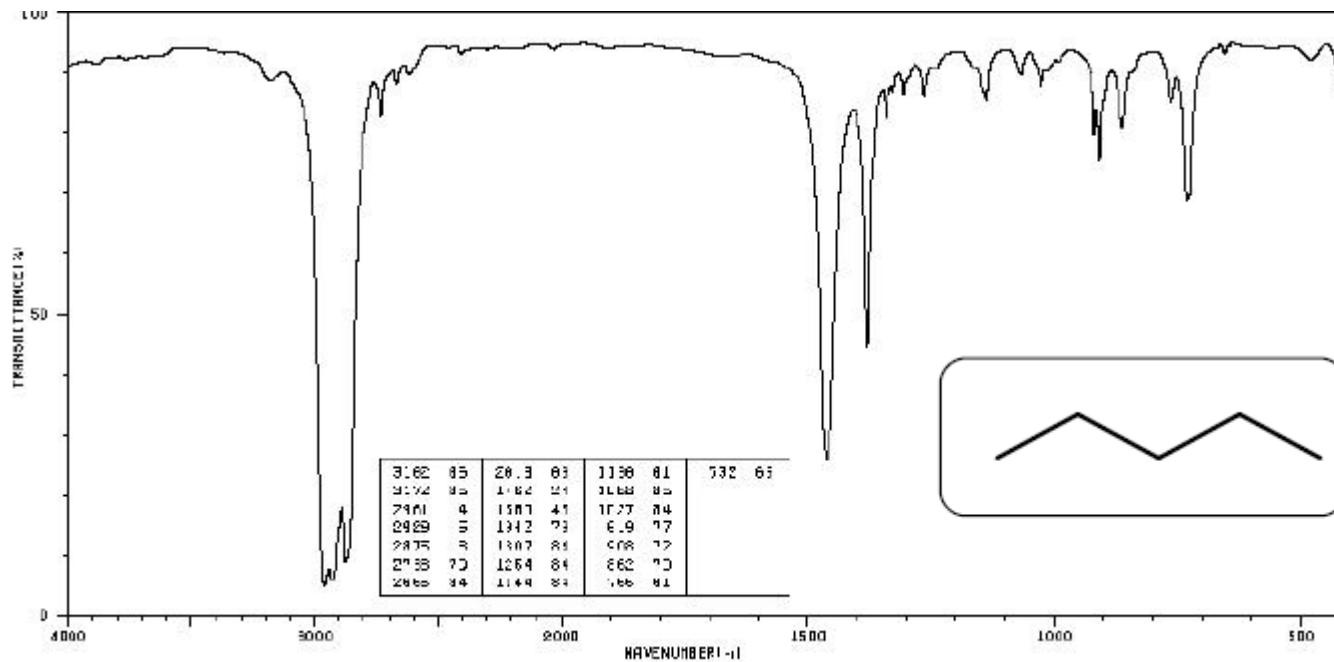
Propanoate d'éthyle



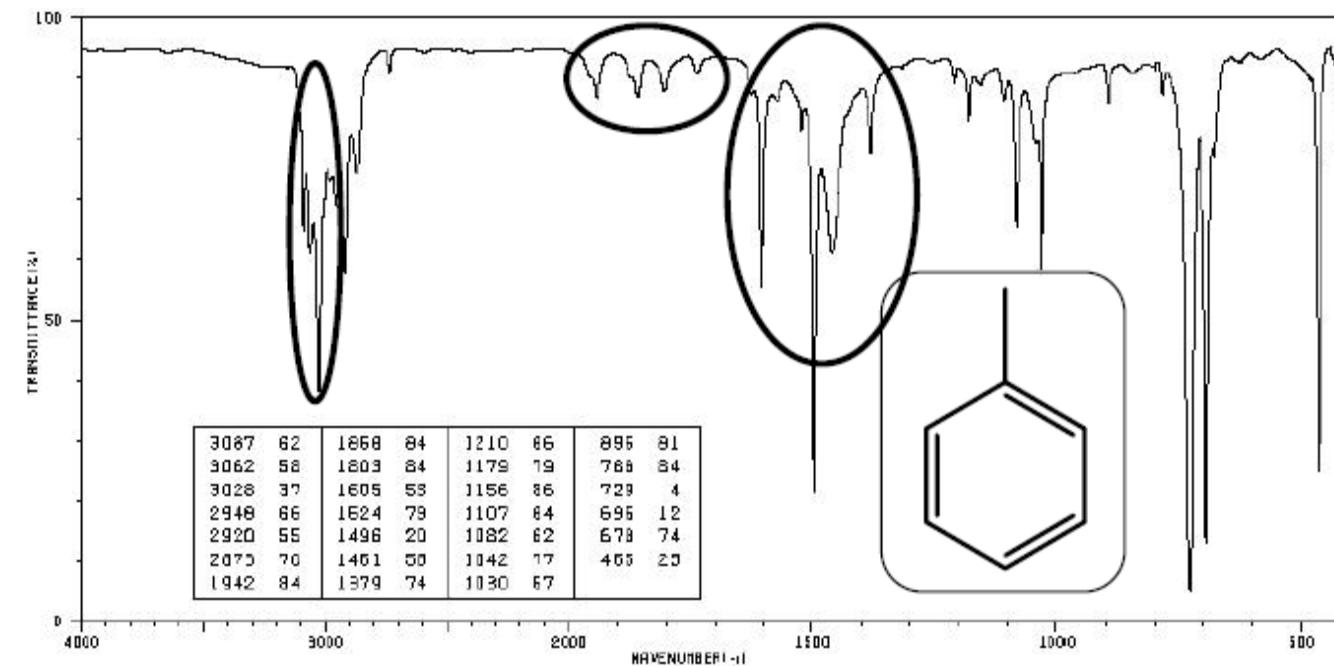
Pentan-1-amine



Cycle aromatique



pentane

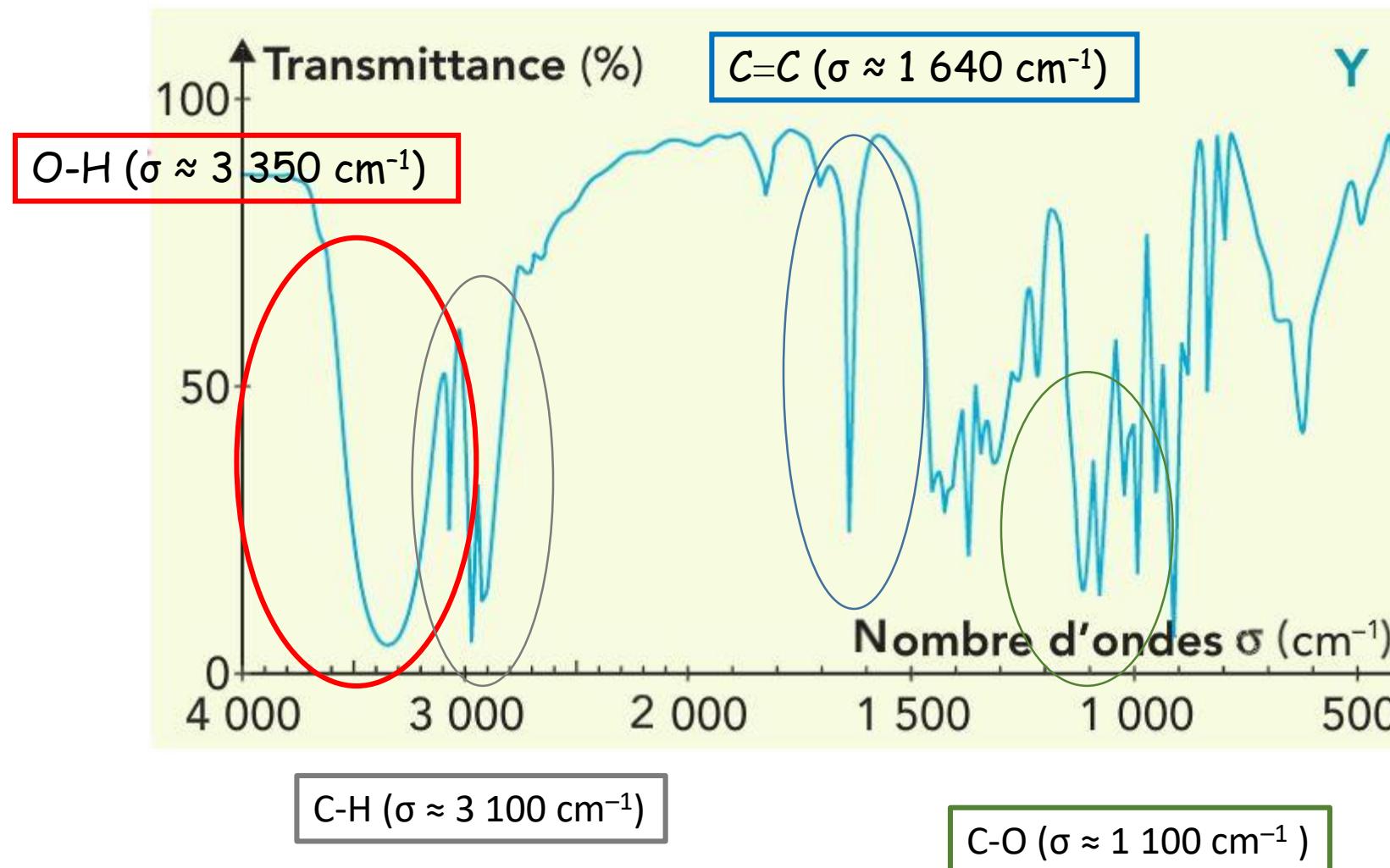


Toluène

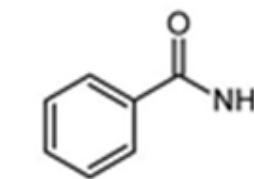
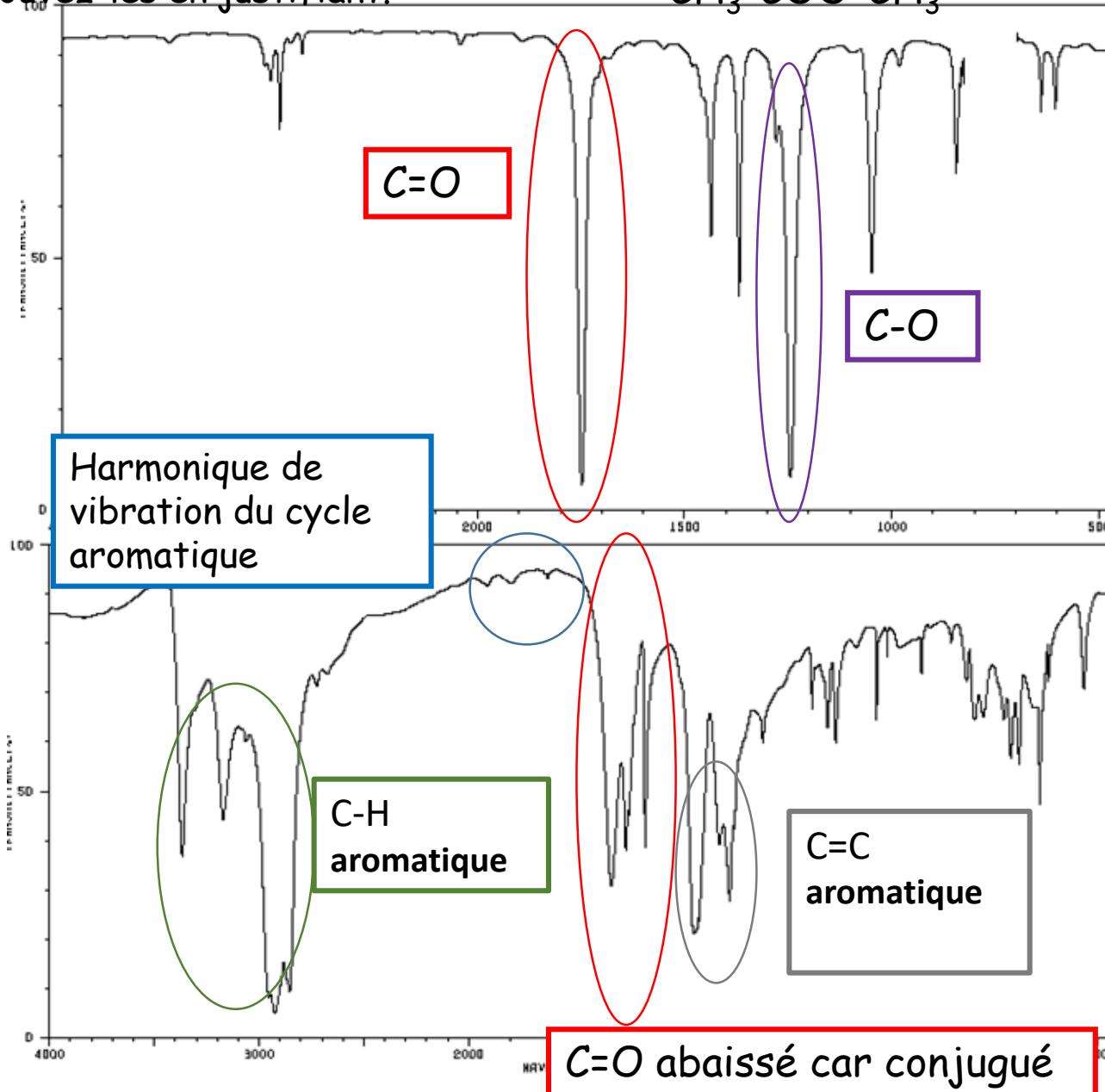
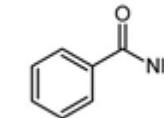
Nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )	Liaison	Nature de la vibration
3000 – 3200	C(tri) – H (aromatique et alcène)	élongation
2700 – 2800	C – H (aldéhyde)	élongation
1700 – 2000	Harmoniques des vibrations du cycle aromatique	
1677	C = O (carbonyle) abaissé car conjugué	élongation
1627	C = C (alcène)	élongation
1400 – 1600	C = C (aromatique)	élongation

# Identification d'un composé

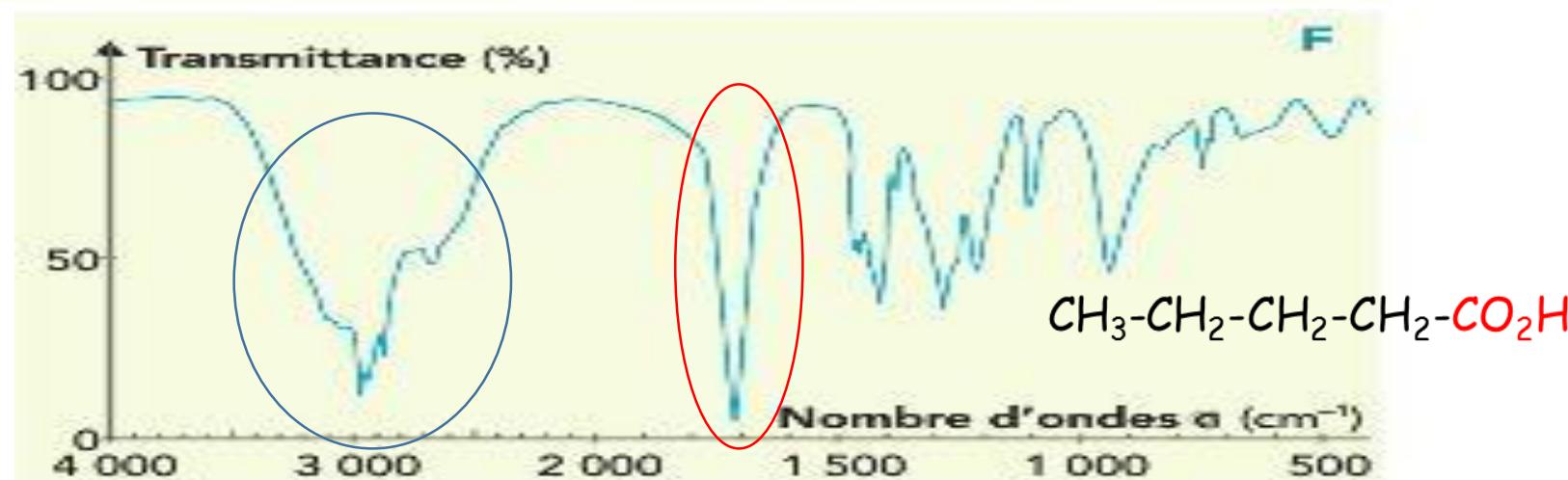
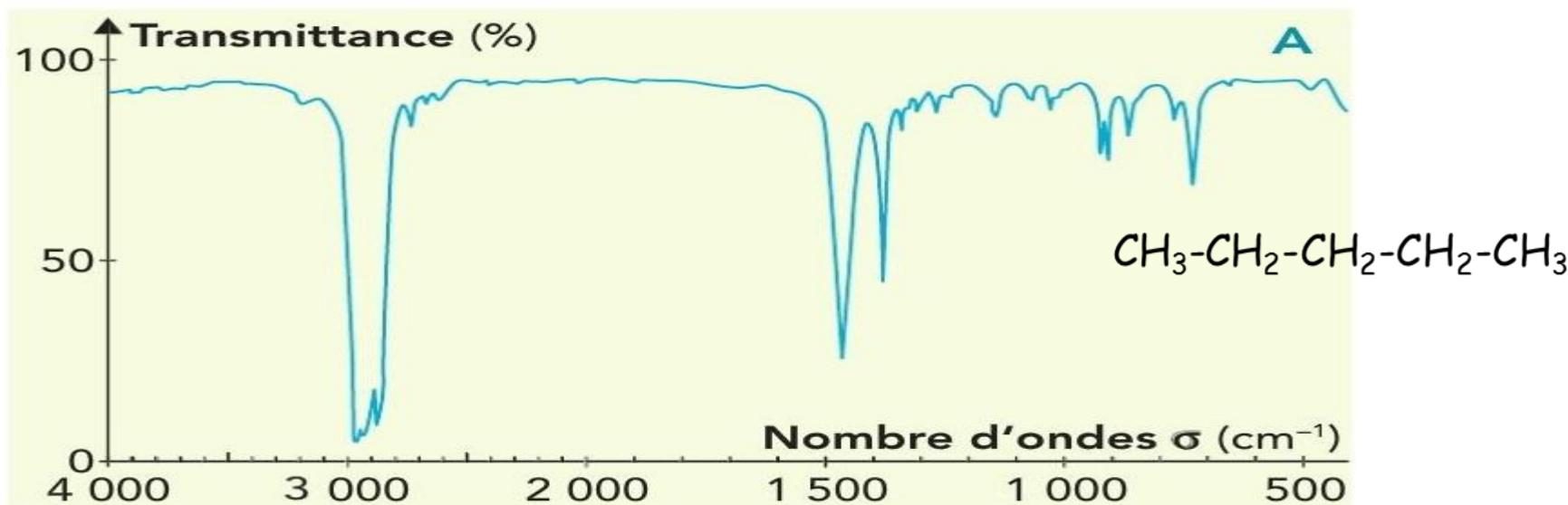
la molécule M, soit le pent-4-ène-2-ol.

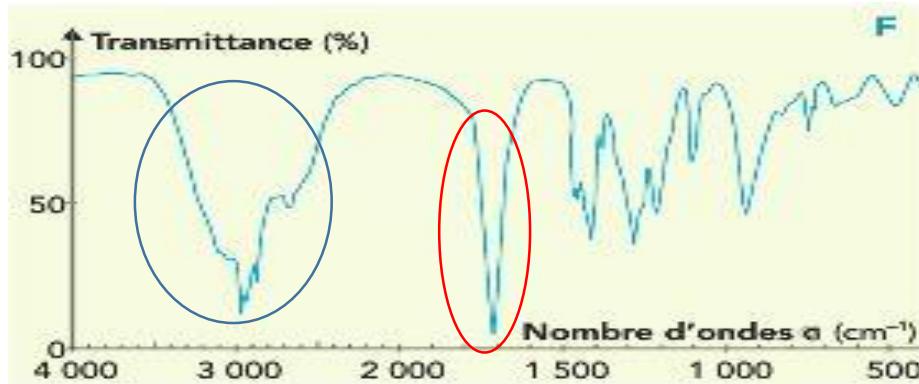


Les spectres IR ci-dessous sont ceux de l'éthanoate de méthyle et de la benzamide  
Retrouvez-les en justifiant.

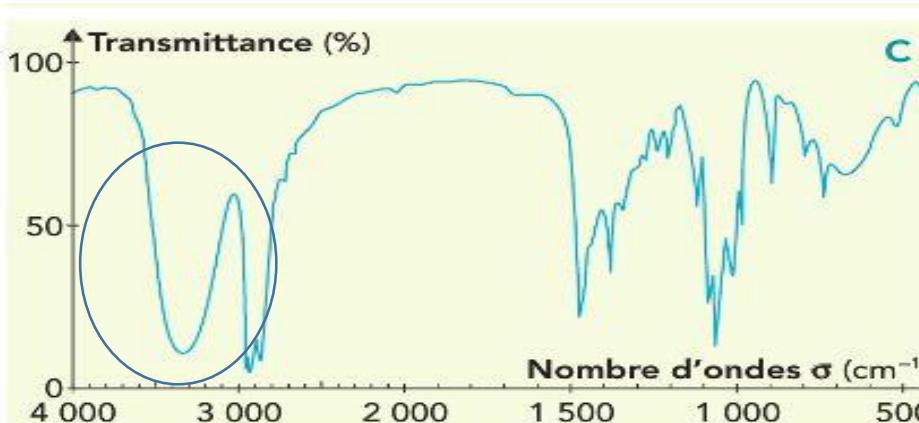
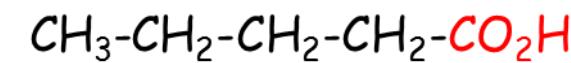


acide carboxylique

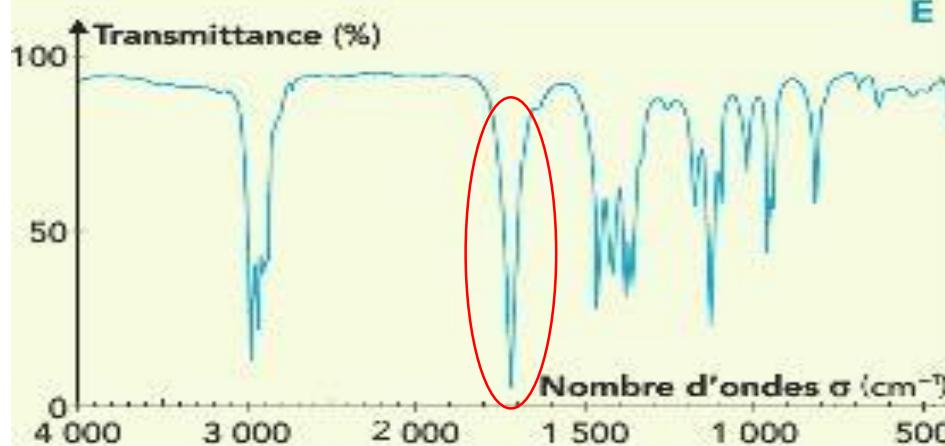
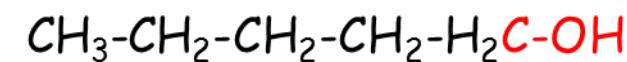




Acide pentanoïque



Pentan-1-ol



Pentan-3-one



# RMN

- Résonance magnétique nucléaire

- RMN signifie Résonance magnétique nucléaire: il s'agit d'une technique d'analyse qui permet de déterminer la structure d'une molécule organique. Il existe plusieurs types de RMN. Celle que nous allons étudier est la RMN du proton, c'est-à-dire celle mettant en jeu les atomes d'hydrogène, atomes composés d'un proton et d'un électron. La RMN consiste à soumettre une molécule à un champ magnétique. Ce dernier permet de faire résonner les atomes d'hydrogène de la molécule. Les différentes fréquences de résonance des atomes d'hydrogène sont consignées dans un graphique permettant de déterminer la structure de la molécule.

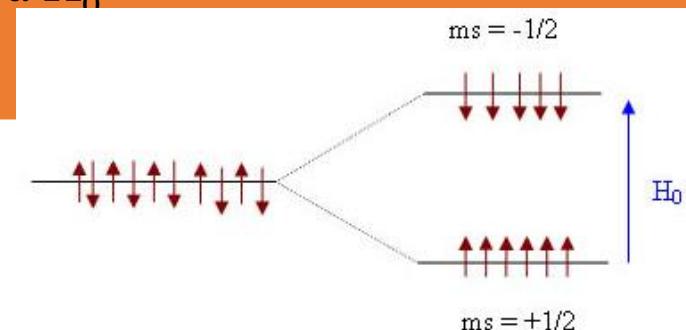
L'intérêt principal de la RMN en chimie est de déterminer la structure d'une molécule. Mais avec le développement des RMN de paillasse, le dosage est devenu une application très intéressante.

## Principe de la RMN

La **spectroscopie RMN** consiste à observer les transitions entre 2 niveaux d'énergie très proches d'un noyau soumis à un champ magnétique.

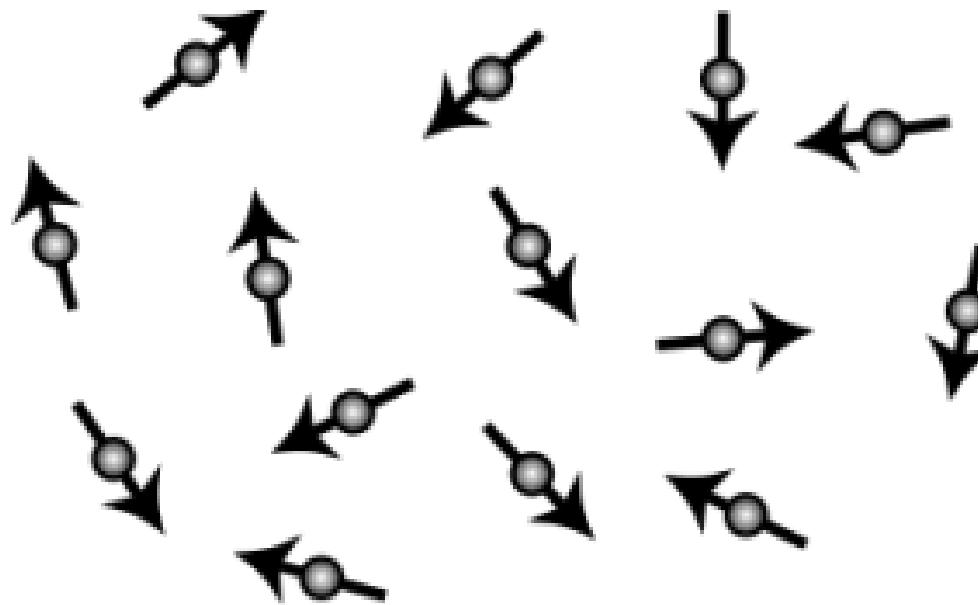
Lorsque l'on soumet un noyau d'hydrogène à un champ  $H_0$ , les noyaux vont s'aligner sur champ magnétique (c'est à dire leur moment magnétique de spin  $\mu$ ). Leur nombre quantique magnétique de spin aura soit comme valeur  $m_s = \frac{1}{2}$ , état le plus stable dans le même sens que  $H_0$ , soit  $m_s = -\frac{1}{2}$  à l'opposé de  $H_0$  et minoritaire (valable pour les noyaux de nombre de spin  $I = \frac{1}{2}$ ). Le rapport entre les 2 populations est proche de 1. Il en résulte une légère aimantation notée  $M_0$ . Une transition électronique entre ces 2 niv

veaux est possible, d'où le phénomène de résonnance. Au niveau macroscopique, l'apparition de 2 niveaux d'énergie avec des populations de spins différentes entraîne une aimantation résiduelle alignée à  $H_0$



En l'absence de champ magnétique externe, les moments de spin des noyaux d'un échantillon sont distribués uniformément (ils pointent dans n'importe quelle direction).

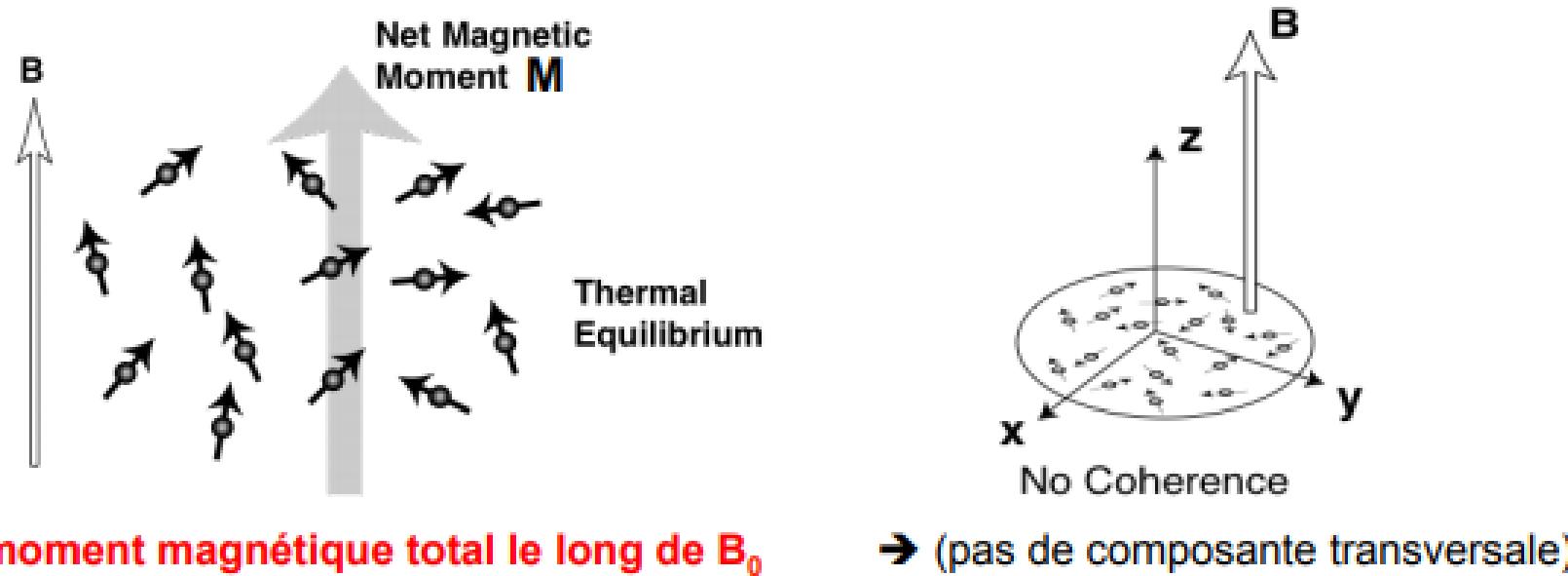
Le moment magnétique TOTAL d'un échantillon est donc NUL.



Attention par la suite à différencier le comportement d'UN spin et celui d'une POPULATION de spins.

Un échantillon = une population de spins nucléaires.

La différence de population  $N_\alpha - N_\beta$  est faible mais suffisante pour conduire à une aimantation résiduelle  $M$ . La RMN est ainsi peu sensible par rapport à d'autres techniques.



Le moment magnétique total est appelé aimantation macroscopique

# Blindage/déblindage:

- La fréquence de résonance de l'atome d'hydrogène dépend de son voisinage. Plus l'atome d'hydrogène est à proximité d'un substituant très électronégatif (oxygène, halogènes, ...), plus il sera déblindé.
- Si un proton est déblindé, son déplacement va être bien plus élevé par rapport à un proton placé à côté d'un groupement alkyl de type  $-\text{CH}_2$  ou  $-\text{CH}_3$ .
- Par exemple, dans la molécule  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-Br}$
- Les protons en  $\text{CH}_2$  sont dits déblindés car proches de l'atome de Brome plus électronégatif. Ils ont le déplacement chimique le plus élevé.
- Les protons en  $\text{CH}_3$  sont dits blindés car aucun atome particulièrement électronégatif ne se trouve dans leur voisinage.

## Spin = propriété physique du noyau

nb de masse A	n° atomique Z	nb de spin I	exemples
pair	pair	$I = 0$	$^{12}\text{C}$ , $^{16}\text{O}$
pair	impair	$I = \text{entier}$	$^2\text{H}$ , $^{14}\text{N}$
impair	pair/impair	$I = (2n+1)/2$	$^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , $^{31}\text{P}$ , $^{19}\text{F}$ , $^{15}\text{N}$ , $^{17}\text{O}$ ...

Des isotopes différents d'un même atome ont des spins différents!

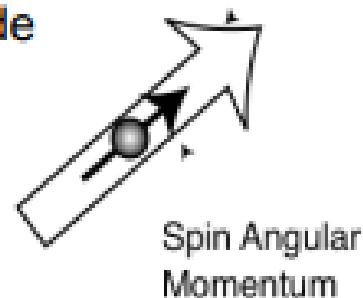
En RMN on s'intéresse aux noyaux de spin  $\neq 0$ .

Magnetic Moment      Magnetic Moment

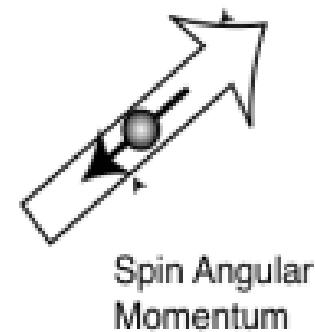
Moment magnétique nucléaire  $\mu$  et moment de spin  $S$  sont liés:

$$\overset{\wedge}{\mu} = \gamma \overset{\wedge}{S}$$

$\gamma$  = rapport gyromagnétique, caractéristique de chaque noyau

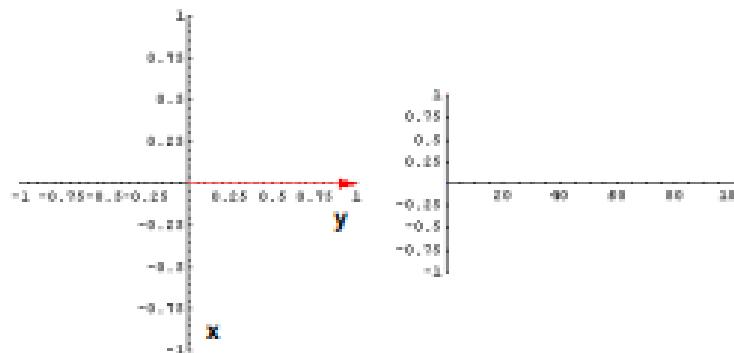


$$\gamma > 0$$

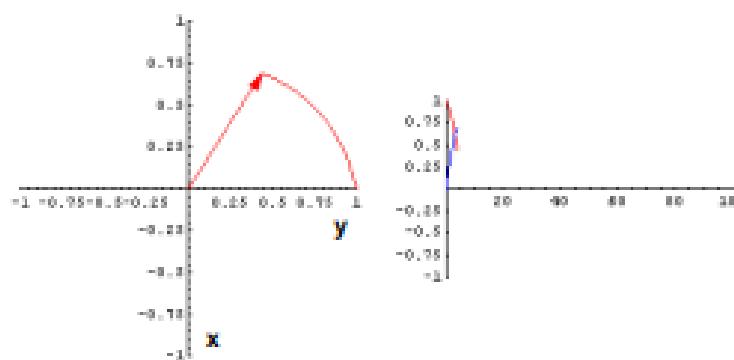


$$\gamma < 0$$

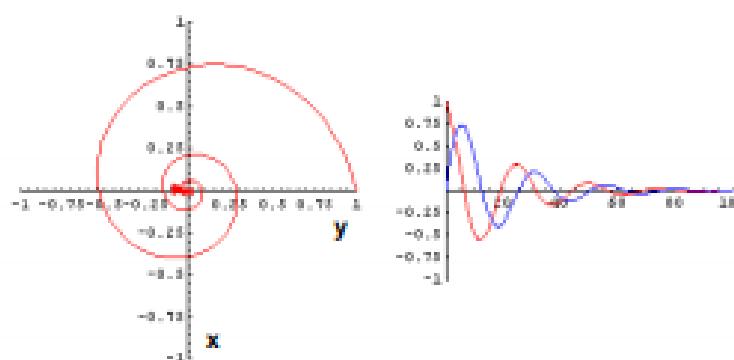
# Le signal RMN



Un récepteur enregistre l'évolution des composantes  $M_x$  et  $M_y$  de l'aimantation pendant la phase de retour à l'équilibre.



En rouge, enregistrement selon y  
En bleu, enregistrement selon x



Le signal RMN est appelé FID (Free Induction Decay).

# Transformée de Fourier

La transformée de Fourier permet de passer d'un signal dans le domaine des temps (FID) à un signal dans le domaine des fréquences (spectre).



$$f(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{i\omega t} dt$$

$$e^{i\omega t} = \cos \omega t + i \sin \omega t$$

$$\text{Re}[f(\omega)] = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \cos \omega t dt$$

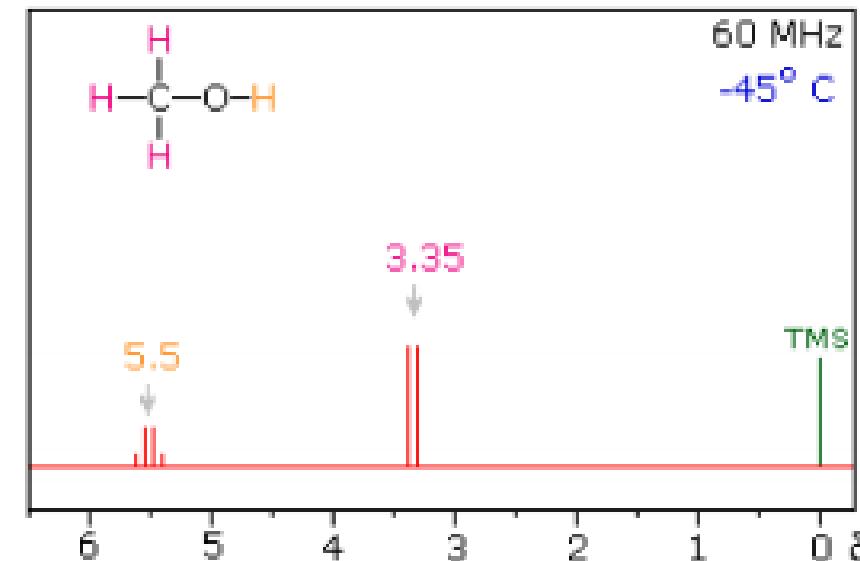
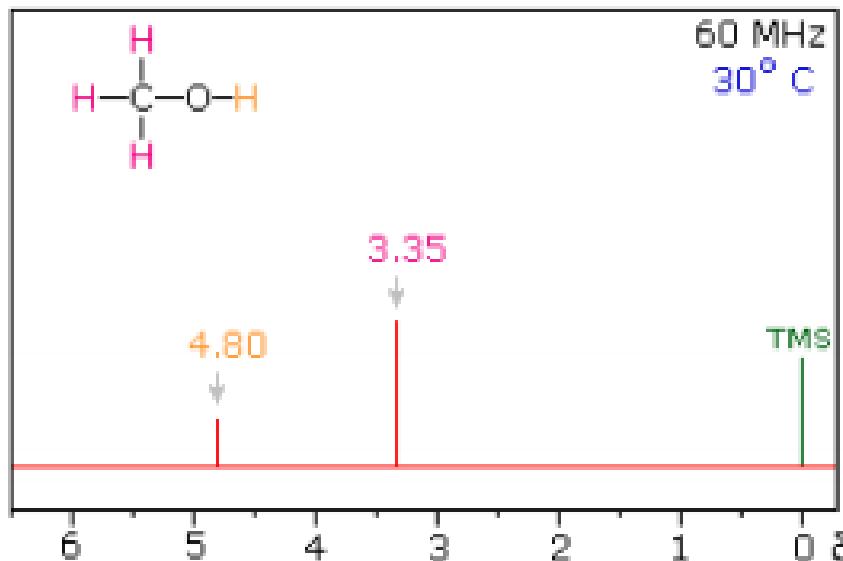
$$\text{Im}[f(\omega)] = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \sin \omega t dt$$

- Un spectre RMN se présente de la manière suivante : A> Sur l'axe des ordonnées, une unité arbitraire proportionnelle à l'intensité du signal. B> Sur l'axe des abscisses, la fréquence de résonance convertie en une grandeur appelée « déplacement chimique » qui ne dépend pas de la fréquence émise par le spectromètre. Le déplacement chimique est exprimé en partie par million noté PPM et est caractéristique d'une configuration précise d'atomes d'hydrogène. Ces différentes configurations sont consignées dans des tables qui peuvent être en dernier recours utilisées pour orienter votre analyse du spectre RMN. C> Des pics simples ou multiples qui correspondent aux signaux des atomes d'hydrogène. D> Une courbe dite « d'intégration » apporte des informations supplémentaires.

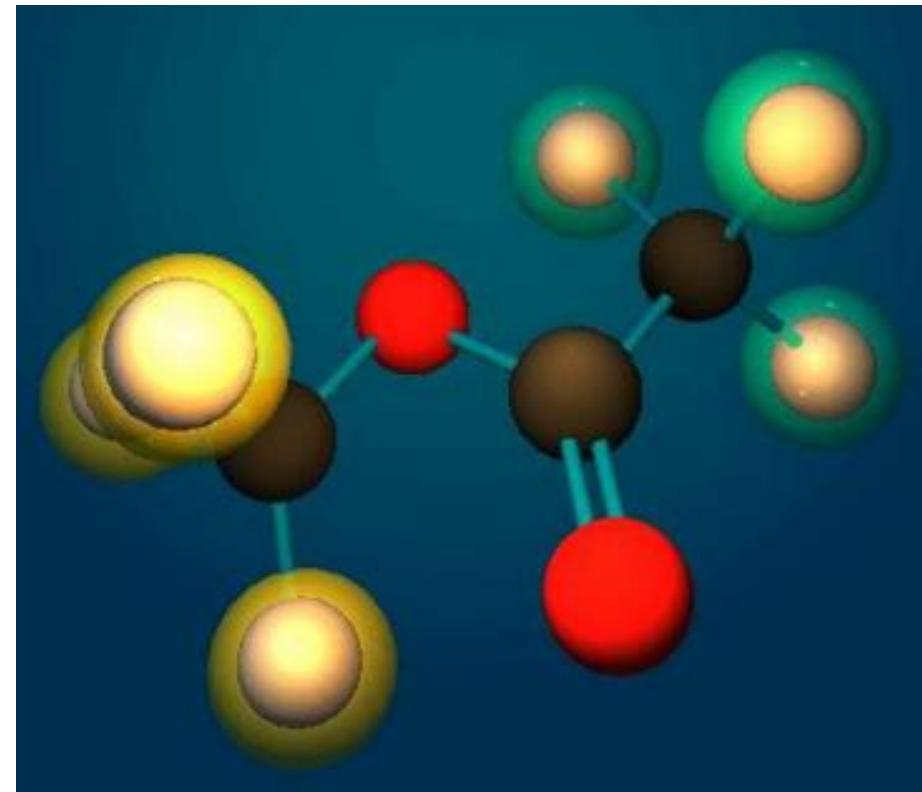
# Déplacement chimique ${}^1\text{H}$

Le déplacement chimique  $\delta({}^1\text{H})$  dépend de nombreux facteurs :

- densité électronique (importance des effets inductifs)
- existence de liaisons-H (intra ou intermoléculaire)
- solvant
- concentration
- délocalisation (électrons  $\pi$ )
- échange chimique (cas des protons labiles OH, NH ...)



- Des protons équivalents sont représentés par le même signal sur le spectre. En effet,
- plusieurs protons peuvent contribuer au même signal. Des protons sont équivalents s'ils ont
- le même environnement chimique. On considère des protons comme équivalents s'ils sont
- portés par le même atome de carbone, ou s'ils sont portés par deux atomes de carbone
- impliqués dans une relation de symétrie dans la molécule.
- Dans l'exemple ci-dessous, voici deux groupes de protons équivalents surlignés pour le
- premier en jaune, et pour le deuxième en bleu clair



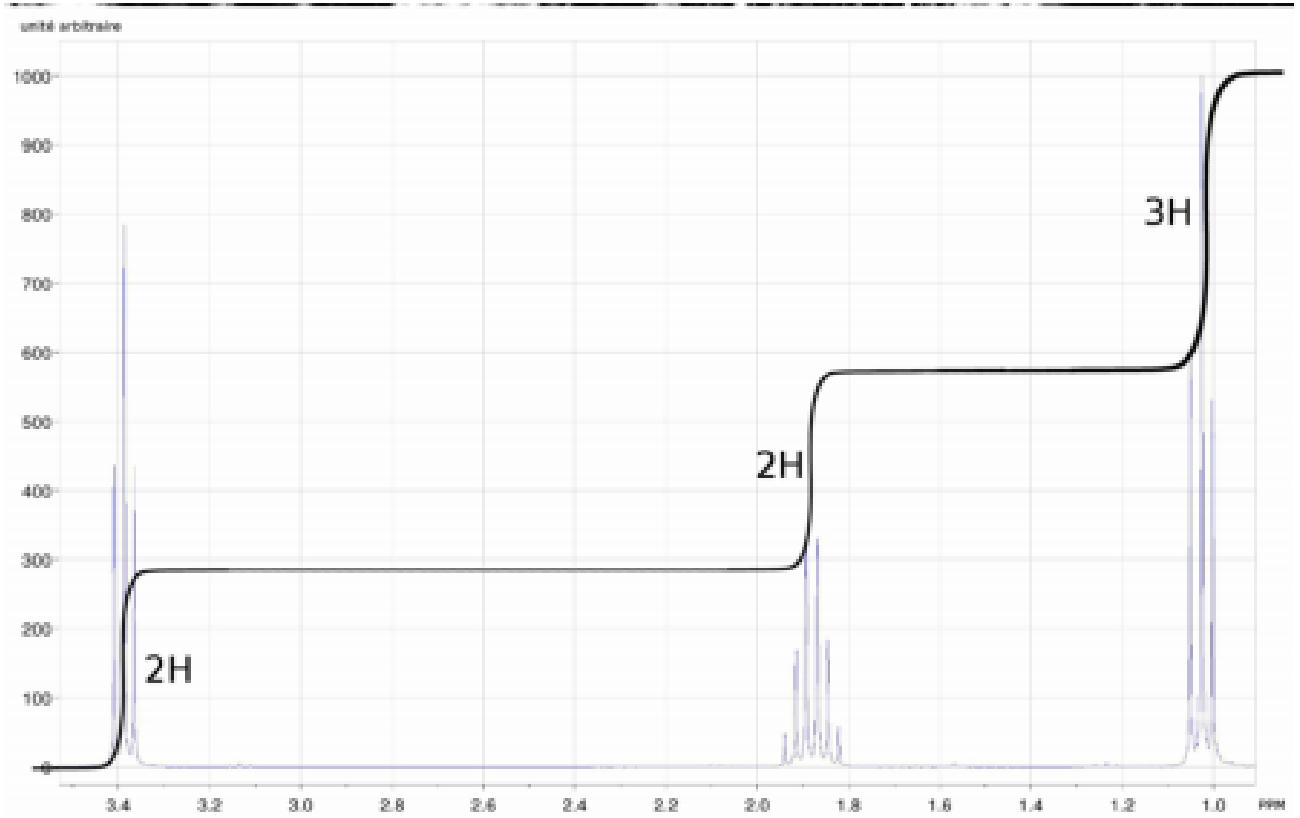
# La courbe d'intégration

- La courbe d'intégration du spectre RMN correspond au nombre d'atomes d'hydrogène équivalents responsables du signal. La hauteur de chaque palier est proportionnelle au nombre d'atomes d'hydrogène équivalents responsable du signal. Pour connaître le nombre d'atomes d'hydrogène responsables d'un pic ou d'un ensemble de pic, on mesure à la règle : - la hauteur globale de la courbe. - la hauteur de chaque palier. Puis, en connaissant le nombre total d'atomes d'hydrogène de la molécule grâce à la formule brute, on peut en déduire le nombre d'atomes d'hydrogène équivalents correspondant.

- Exemple : on mesure sur le papier avec une règle. Hauteur totale de la courbe : 7 cm pour 7H (car la formule brute est C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>Br) •

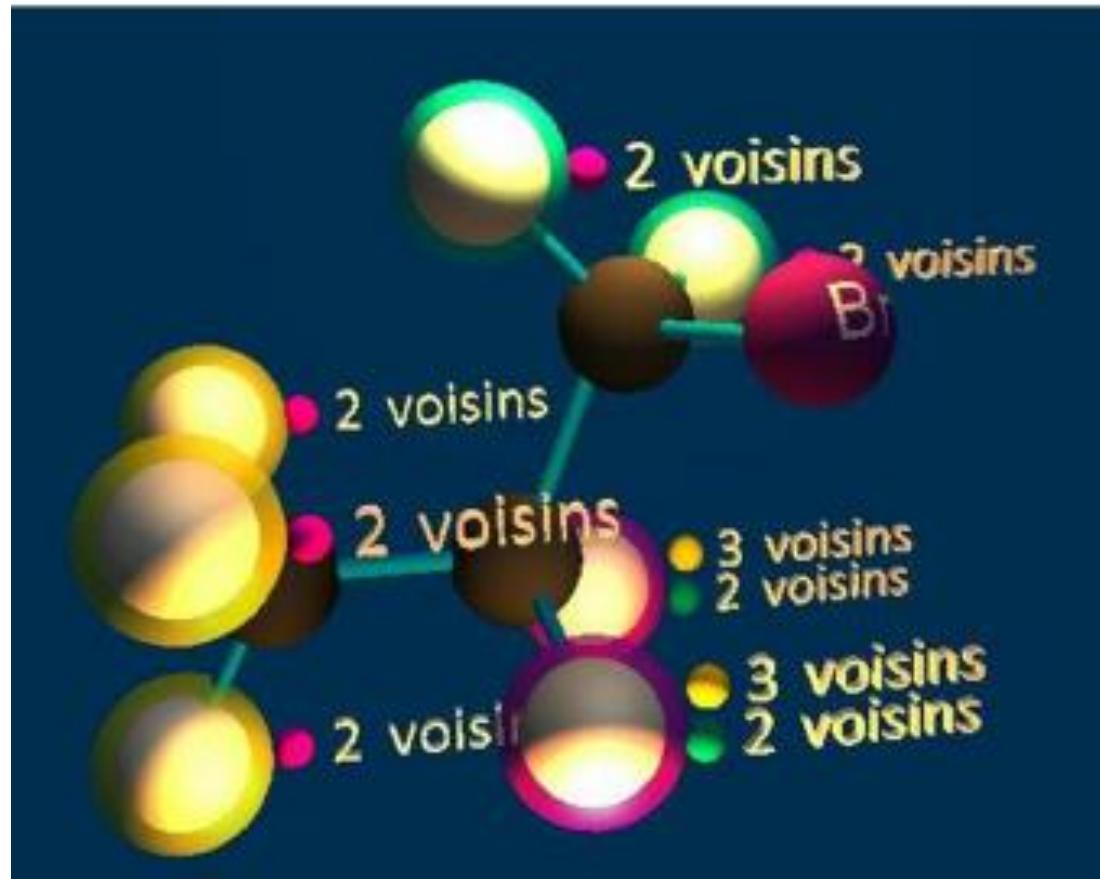
Ensemble de pic 1 : 2 cm > 2 H

- Ensemble de pic 2 : 2 cm > 2 H • Ensemble de pic 3 : 3 cm > 3 H



# Les protons voisins

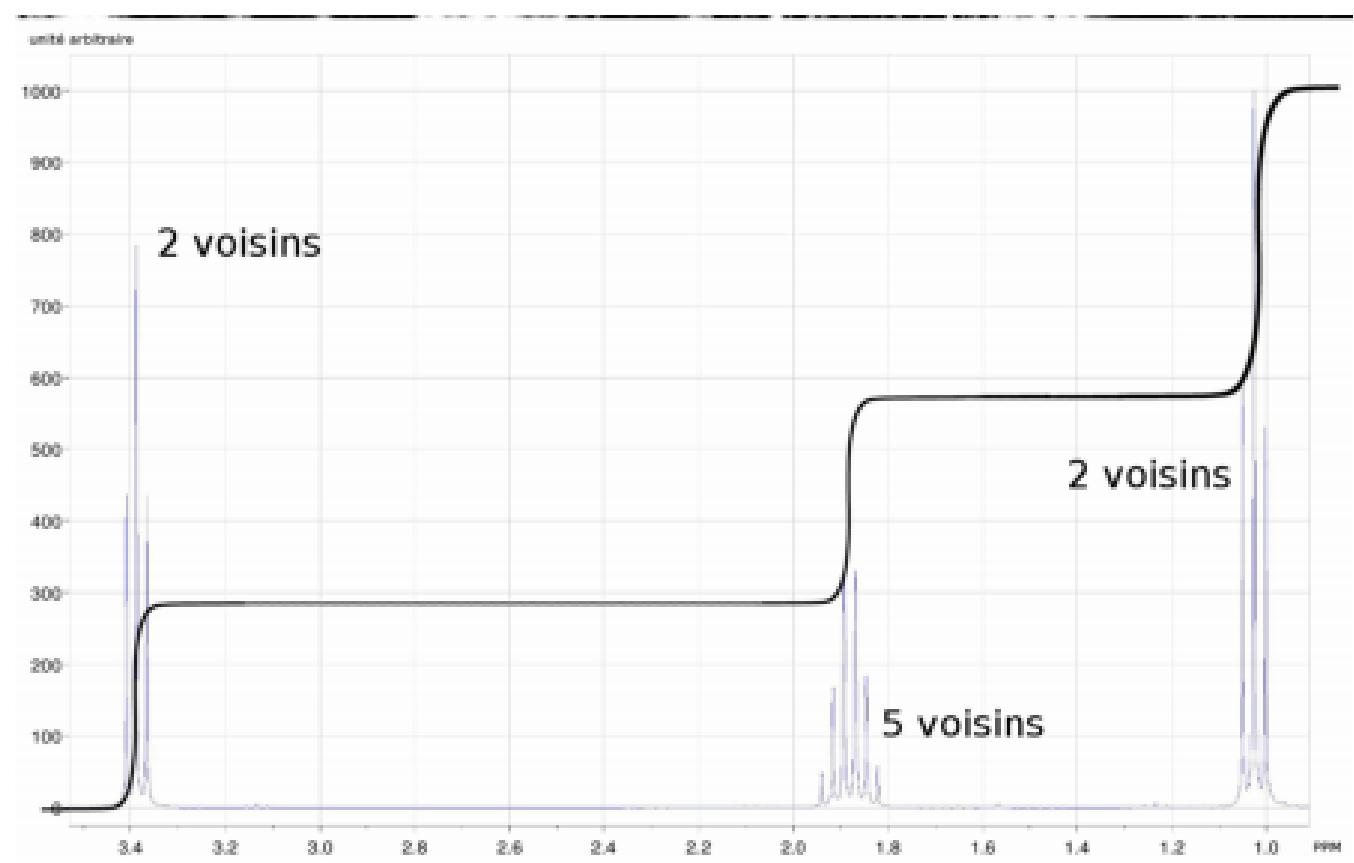
- Deux atomes d'hydrogène sont dits voisins s'ils sont séparés par trois liaisons simples. Si des atomes d'hydrogène sont séparés par plus de 3 liaisons simples, ils ne sont pas voisins.



# Multiplicité des signaux

- Multiplicité des signaux : Un signal de résonance comporte souvent plusieurs pics. On peut tirer une information sur la molécule en comptant le nombre de pics selon la règle suivante : si un ensemble de pics dispose de  $n$  pics, alors les atomes d'hydrogènes contribuant à cette partie du signal seront entourés de  $n-1$  atomes d'hydrogène voisins.

- Exemples : - un proton dispose de deux voisins, alors son pic sera un triplet soit 3 pics. - un proton dispose d'un voisin, alors son pic sera un doublet soit 2 pics. - un proton dispose de n voisins, alors son pic sera un multiplet soit  $(n+1)$  pics.



# Couplage scalaire

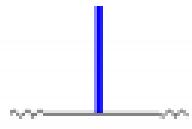
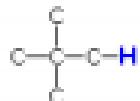
Le couplage scalaire peut être homo- ( $J_{HH\dots}$ ) ou hétéronucléaire ( $J_{CH}$ ,  $J_{CF\dots}$ )

La multiplicité des signaux dépend du nombre de voisins impliqués dans le couplage.

Exemple: couplage vicinal proton ( $^3J_{HH}$ )

Triangle de Pascal

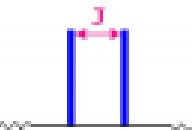
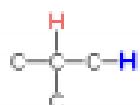
No Coupled Hydrogens



1

0 voisin: **singulet**

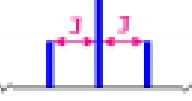
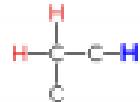
One Coupled Hydrogen



11

1 voisin: **doublet**

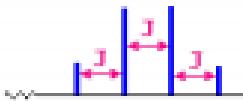
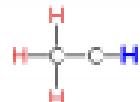
Two Coupled Hydrogens



121

2 voisins: **triplet**

Three Coupled Hydrogens



1331

3 voisins: **quadruplet**

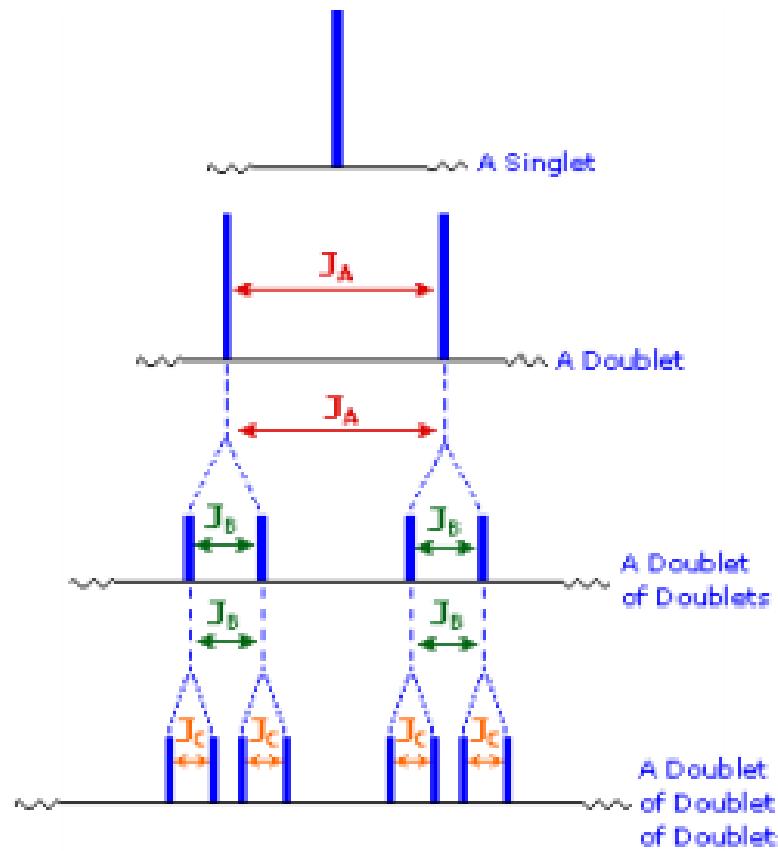
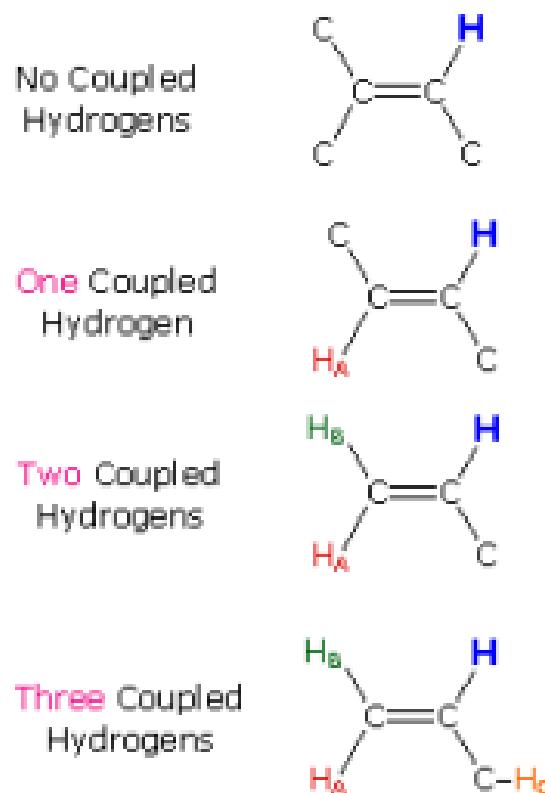
...

...

Dans cet exemple, il ne faut pas oublier que le signal du (des) proton(s) en **rouge** est un doublet en raison du couplage avec le proton **bleu** voisin.

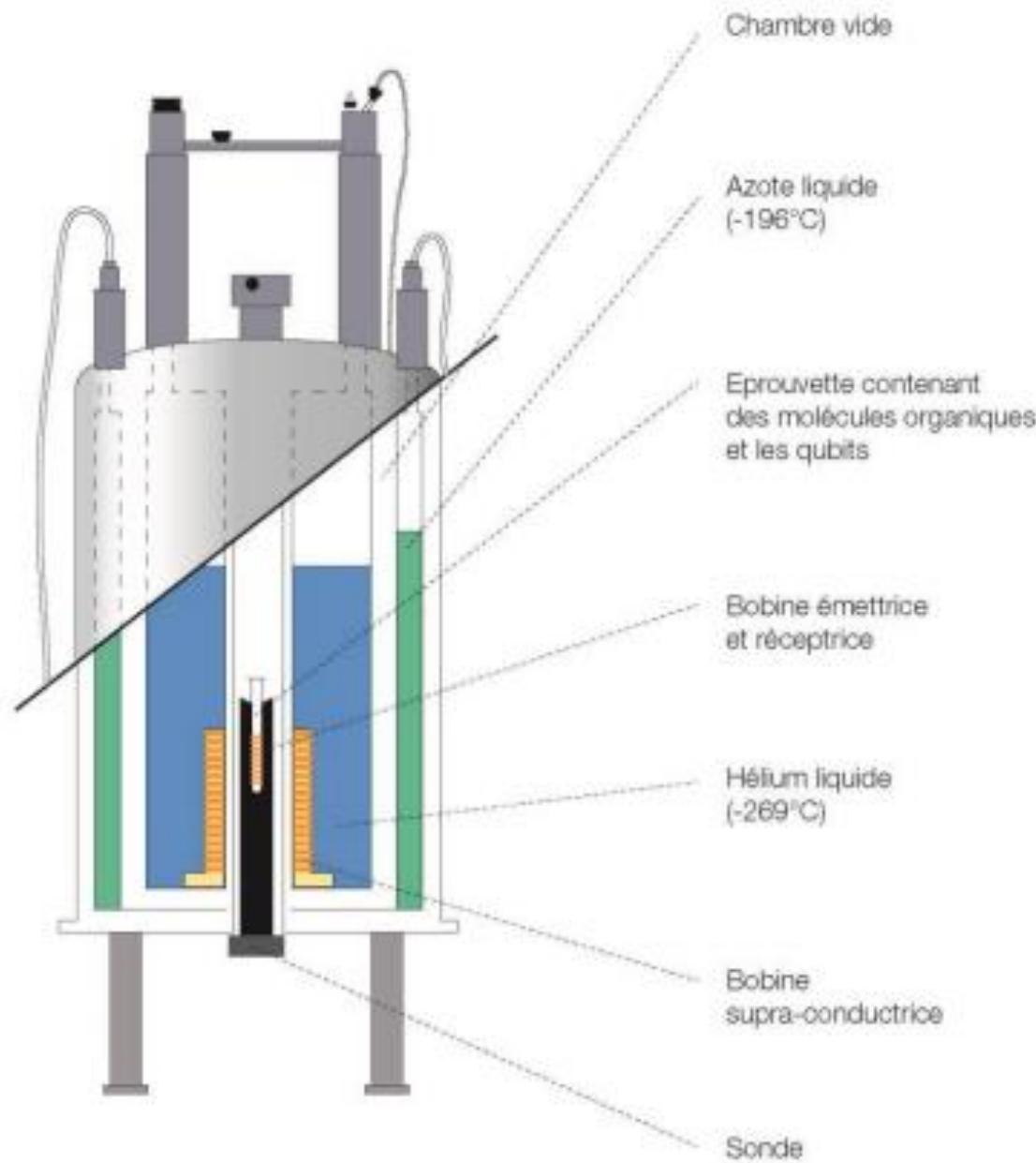
# Cas de plusieurs couplages

Un noyau peut être impliqué dans plusieurs couplages (avec des voisins non équivalents dans ce cas). Le multiplet correspondant est alors plus complexe et fait apparaître les différentes constantes de couplages.



<b>d'atomes H<sup>1</sup> équivalents couplés</b>	<b>de pics = n+1</b>	<b>signal</b>	<b>des pics individuels triangle de Pascal</b>
<b>0</b>	<b>1</b>	<b>singulet</b>	<b>1</b>
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>doublet</b>	<b>1:1</b>
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>triplet</b>	<b>1:2:1</b>
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>quadruplet</b>	<b>1:3:3:1</b>
<b>4</b>	<b>5</b>	<b>quintuplet</b>	<b>1:4:6:4:1</b>
<b>5</b>	<b>6</b>	<b>sextuplet</b>	<b>1:5:10:10:5:1</b>
<b>6</b>	<b>7</b>	<b>septuplet</b>	<b>1:6:15:20:15:6:1</b>

# appareillage



# RMN du $^{13}\text{C}$

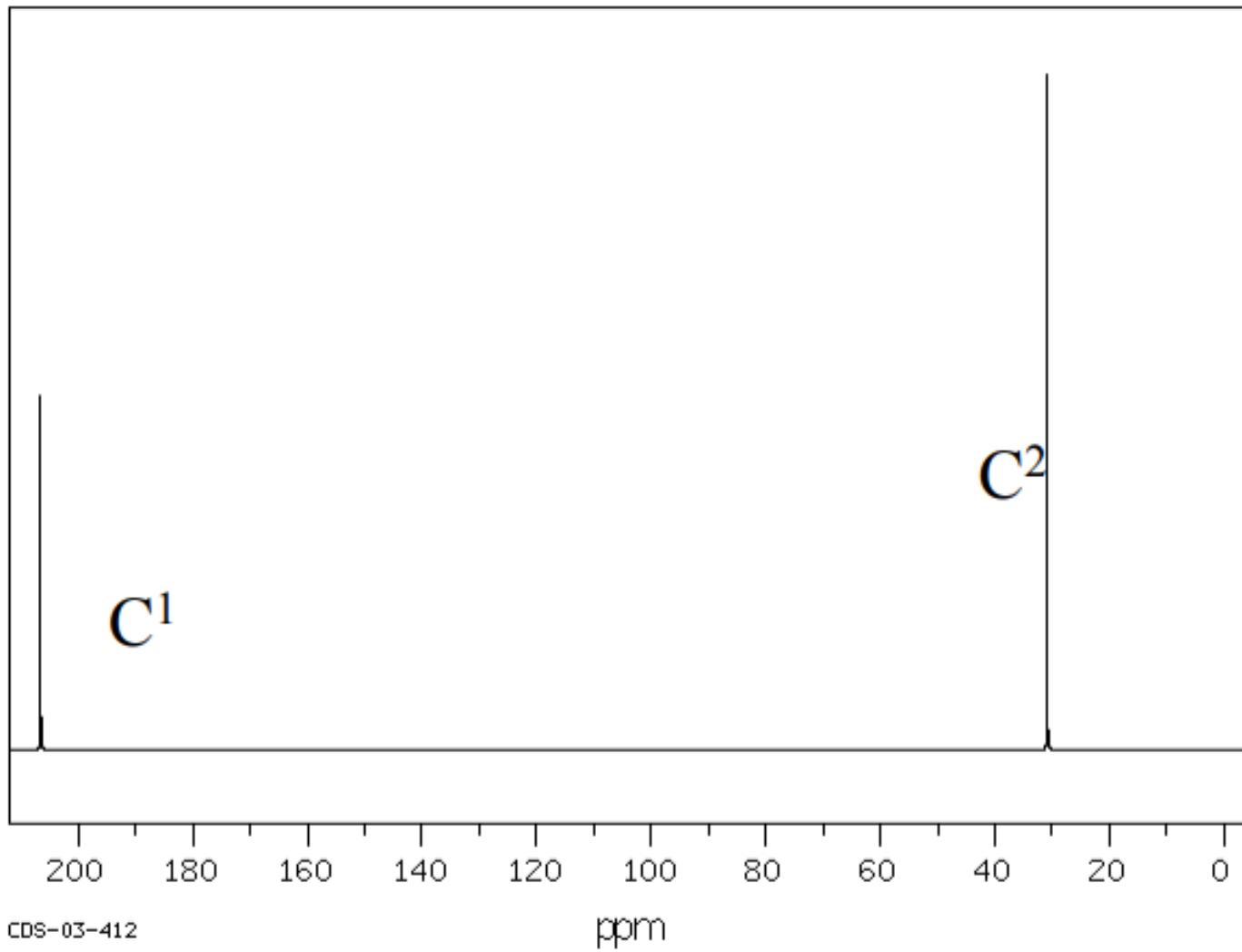
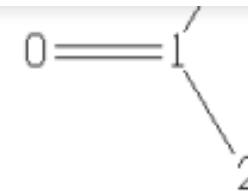
- Le comportement vis-à-vis d'un champ  $\text{B}_0$  est comparable à celui de l'hydrogène : On obtient une résonance et un signal pour chaque atome de carbone. Les déplacements chimiques dépendent aussi de l'environnement de l'atome de C dans la molécule. Les déplacements chimiques des atomes de carbone  $^{13}\text{C}$  vont de 0 à 200 ppm.

- Couplage du  $^{13}\text{C}$  avec d'autres noyaux d'atomes de carbone 13 voisins : la probabilité d'avoir deux atomes de  $^{13}\text{C}$  voisins est de 1/10 000, il n'y a donc quasiment pas de couplage carbone – carbone.

- Couplage du  $^{13}\text{C}$  avec les protons voisins :  $^{13}\text{C}/\text{H}$
- Ces couplages existent.
- Pour simplifier la lecture des spectres, il existe une technique de découplage permettant de supprimer les éclatements des signaux liés à ces couplages.
- Ainsi, un spectre de RMN du  $^{13}\text{C}$  se réduit pratiquement à des singulets.

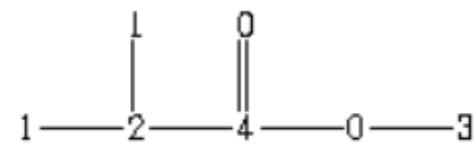
## RMN du $^{13}\text{C}$

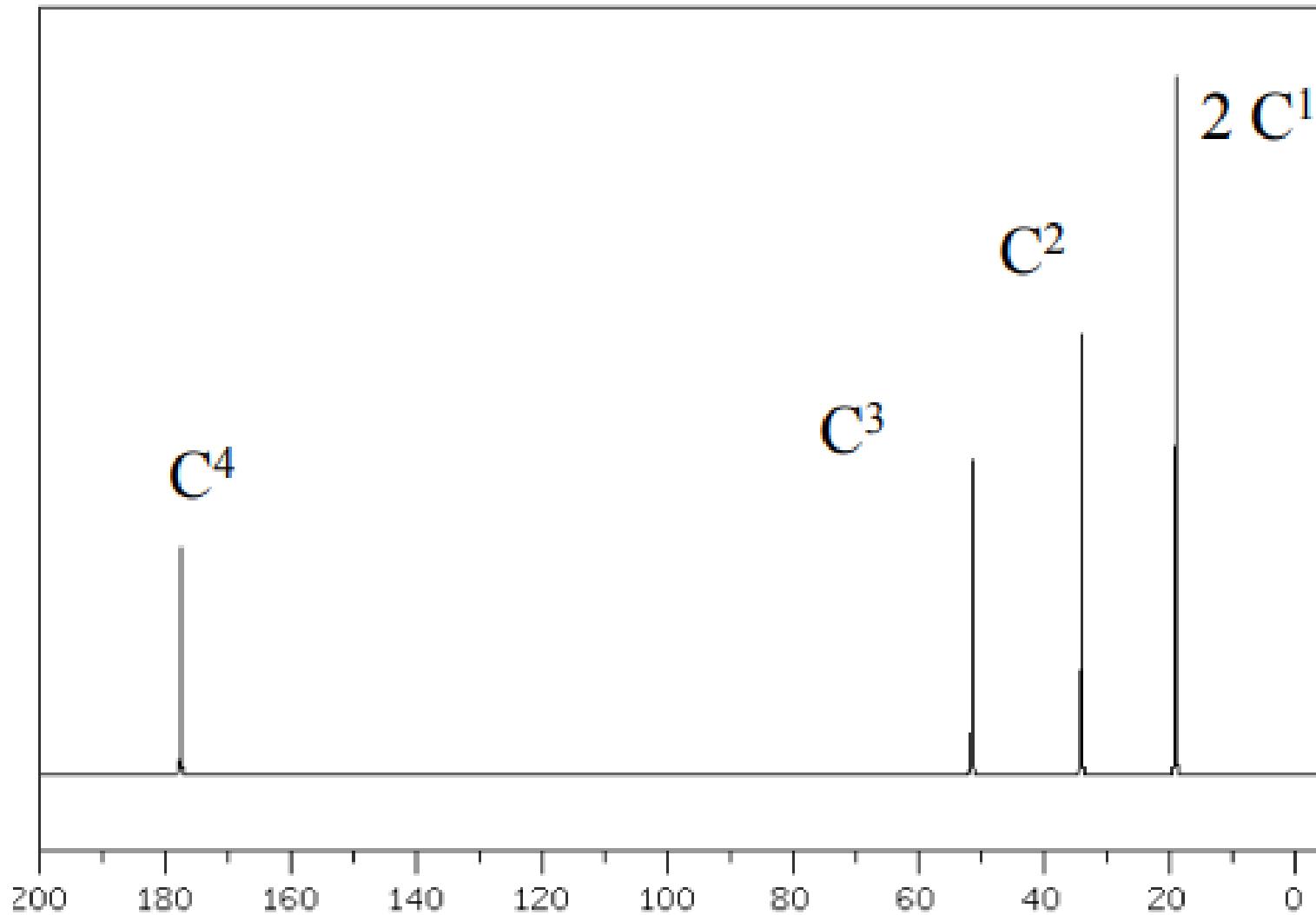
### Propanone



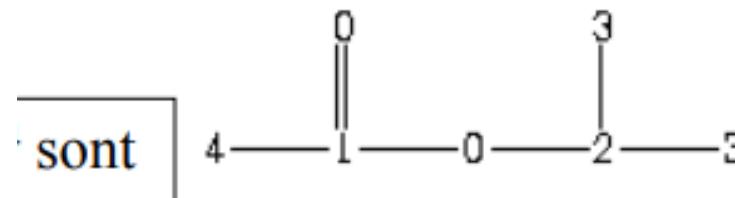
---

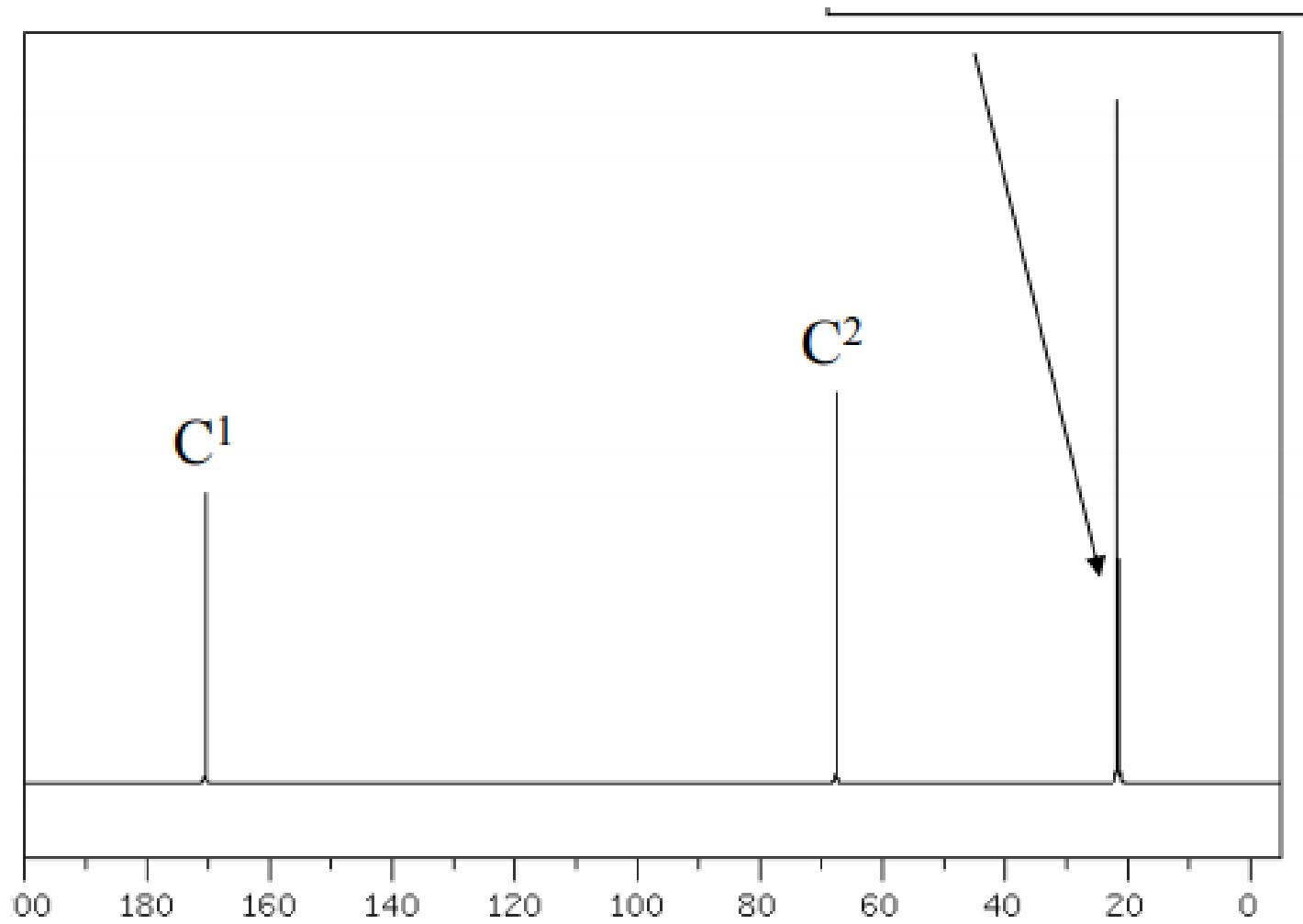
## RMN du $^{13}\text{C}$



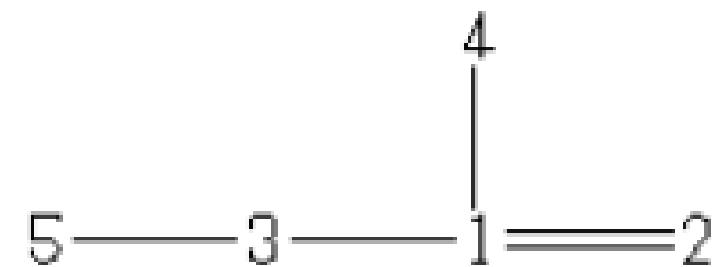


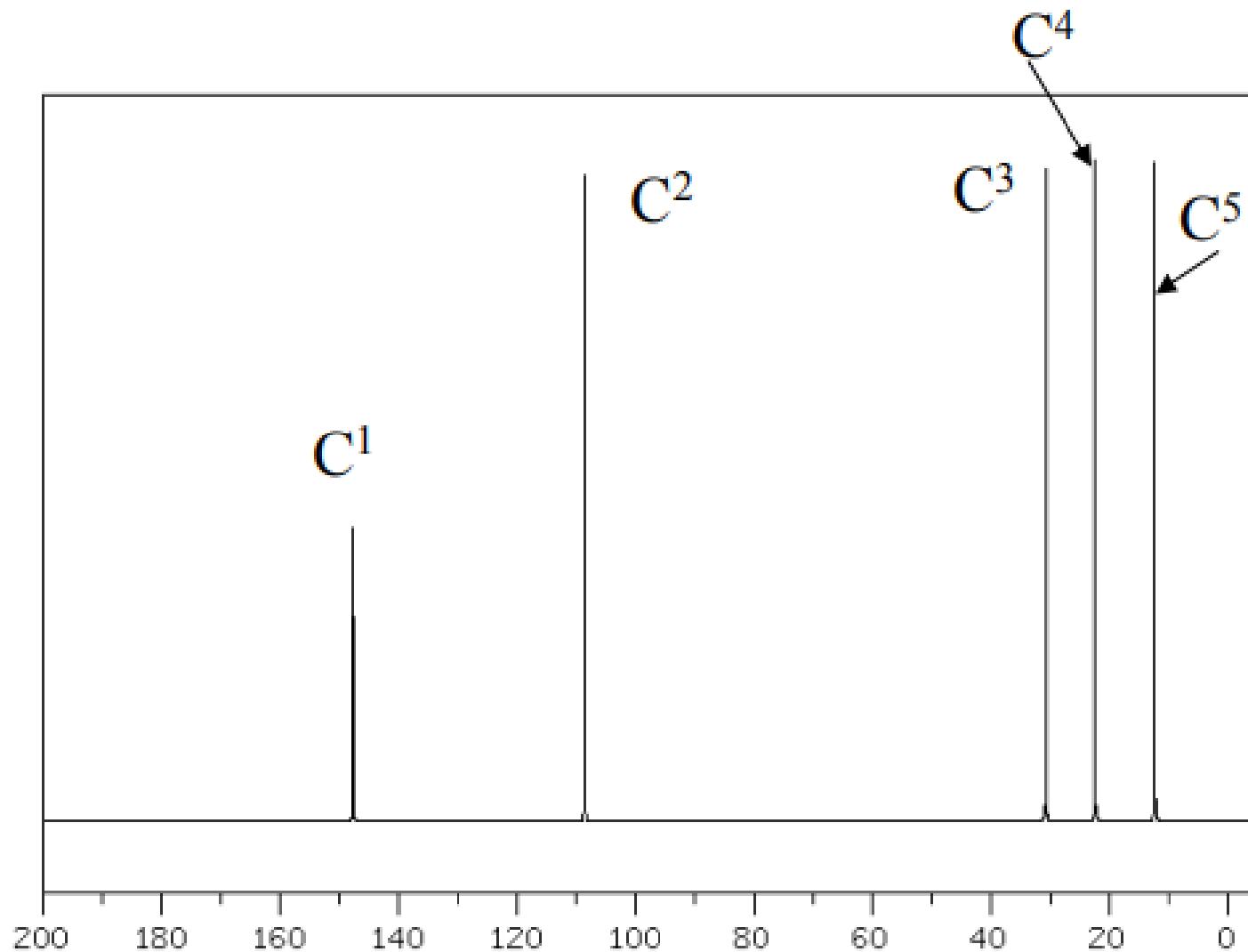
## Éthanoate de 1-méthyléthyle



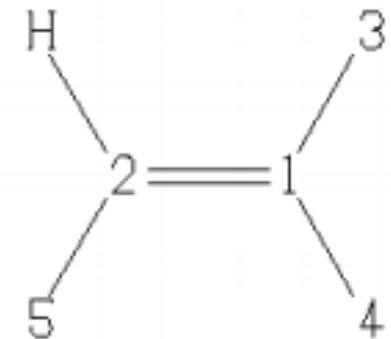


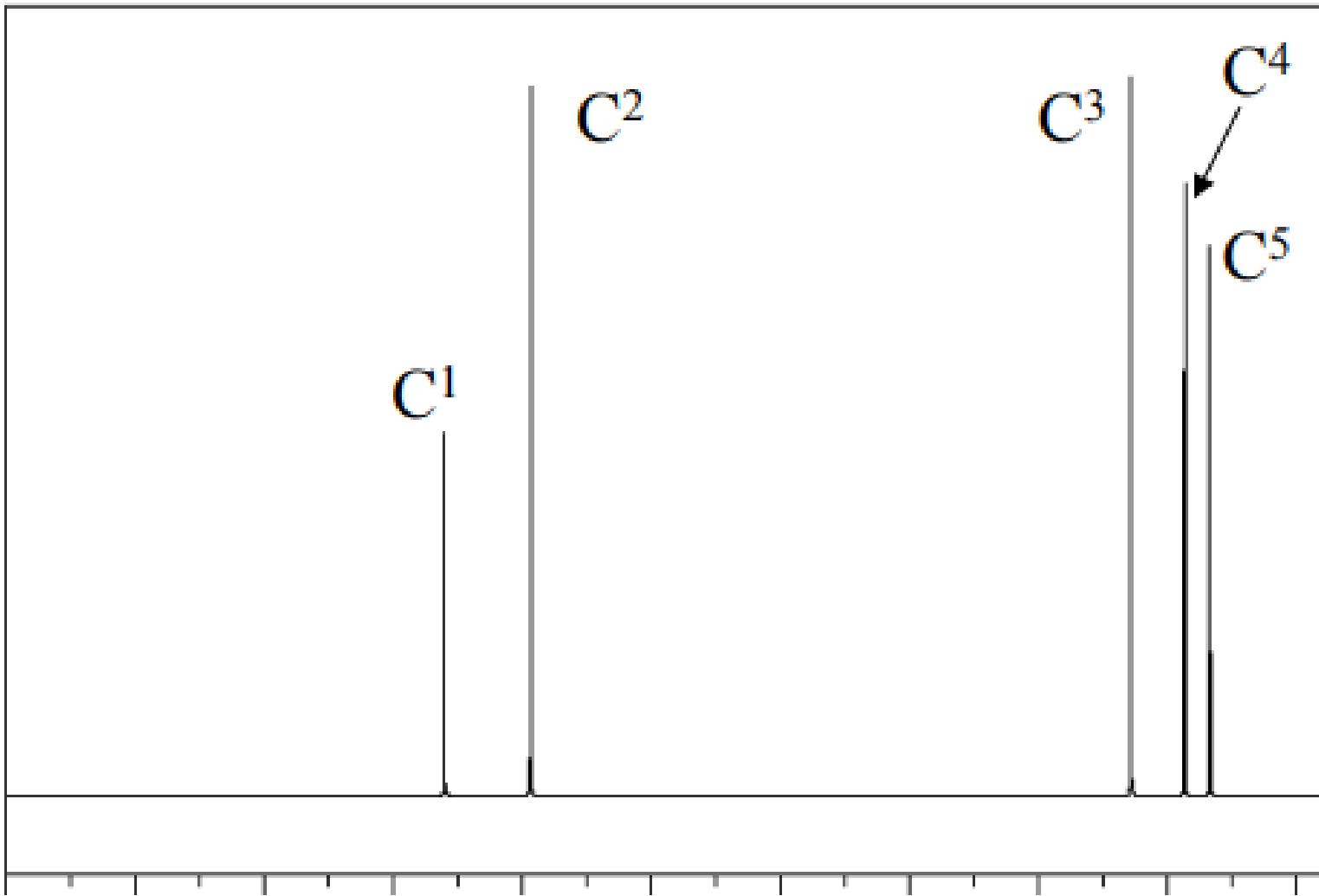
# 2-méthylbut-1-ène





## **2-méthylbut-2-ène**

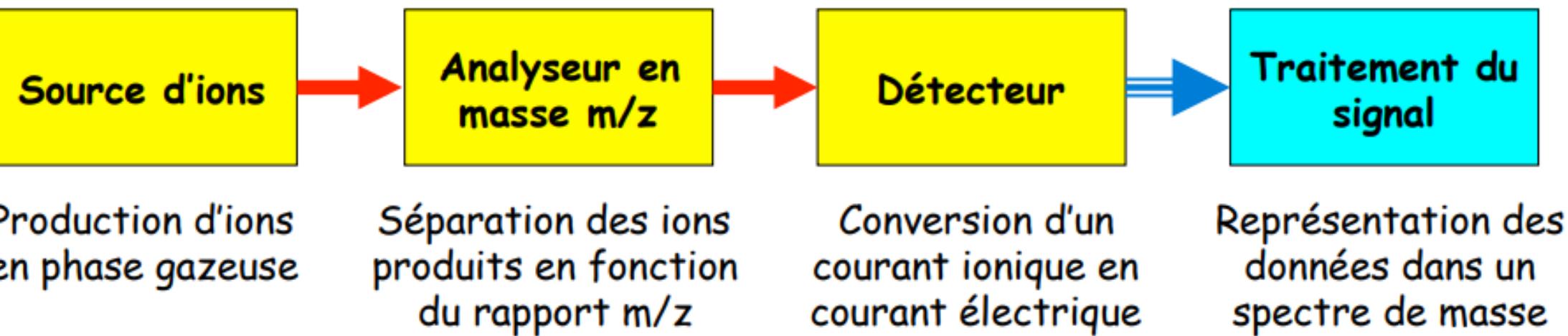




# Spectroscopie de masse

- La spectrométrie de masse est une technique d'analyse physico-chimique permettant de détecter, d'identifier et de quantifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse
- Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ). De plus, la spectrométrie de masse permet de caractériser la structure chimique des molécules en les fragmentant

# Principe



# Les différentes sources

## Production d'ions en phase gazeuse

**Molécules volatiles**

Chauffage et  
introduction du gaz

**L'ionisation chimique**

Phase solide  
(microcristaux)

Impact laser

**Désorption/Ionisation  
Laser  
Assistée par Matrice**

**Molécules  
non volatiles**

Phase liquide

Dispersion en  
microgouttelettes  
sous haute tension

**Electronébulisation**

s'adresse à des composés volatils, apolaires et stables à la chaleur



**CH<sub>4</sub>** (méthane) en large excès

**e<sup>-</sup>** électron de haute énergie



ion moléculaire à M+1

**M** (analyte)



ion moléculaire à M+16

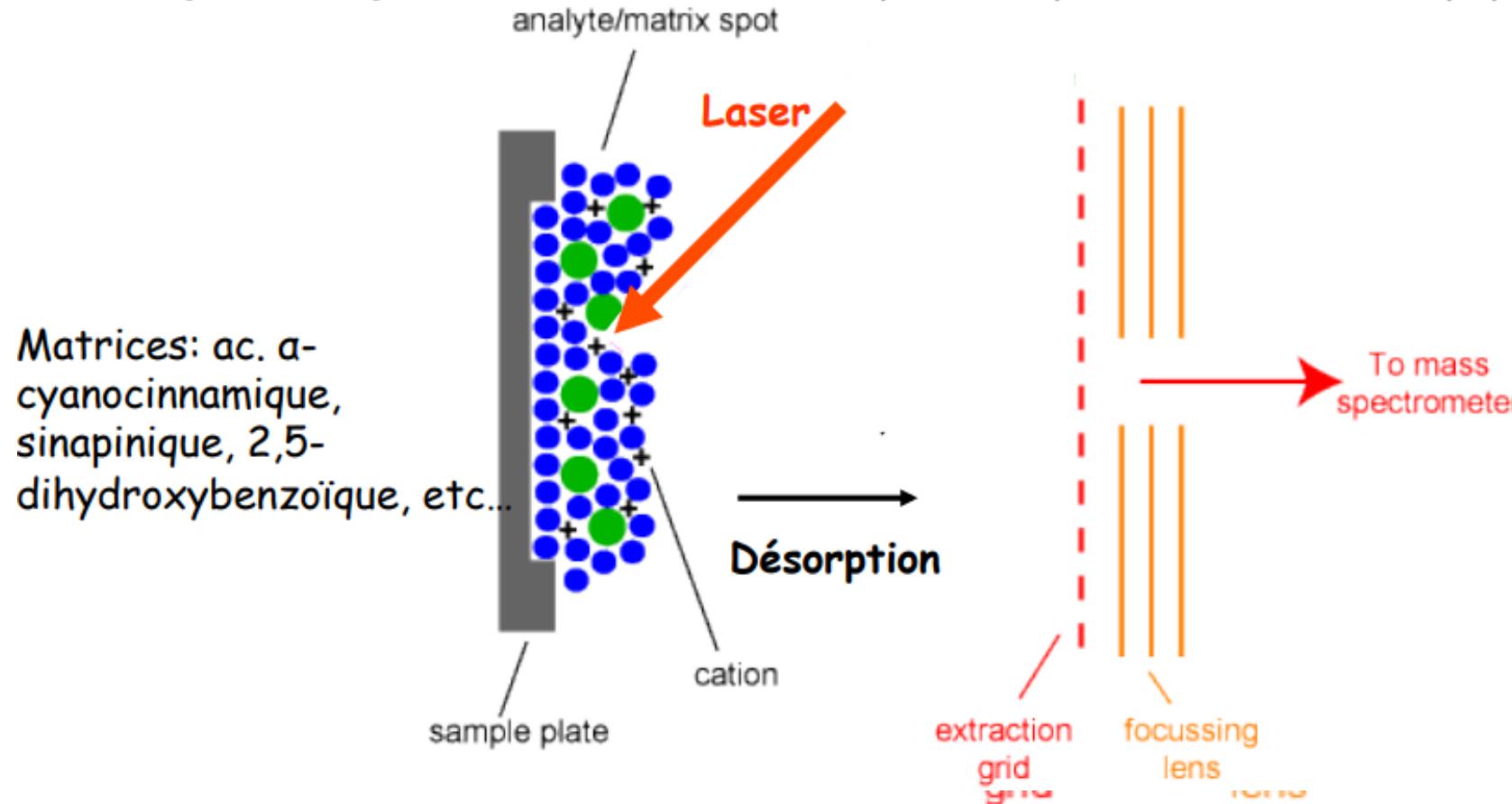
Une molécule de méthane qui reçoit l'impact d'un électron à haute énergie émis par un filament chauffé à haute température va subir l'arrachage d'un électron pour donner un ion radicalaire chargé positivement (**CH<sub>4</sub><sup>··</sup>**).

Il s'ensuit une réaction qui donne naissance à des ions **CH<sub>5</sub><sup>+</sup>** pouvant réagir avec les molécules d'analyte (M) arrivant dans la source.

Ce type de réactions ions-molécules produit principalement des ions **[MH]<sup>+</sup>** et **[MCH<sub>4</sub>]<sup>··</sup>**.

## 1.2.2. Désorption/Ionisation Laser Assistée par Matrice

(MALDI) s'adresse aux molécules polaires, peu volatiles comme peptides/protéines

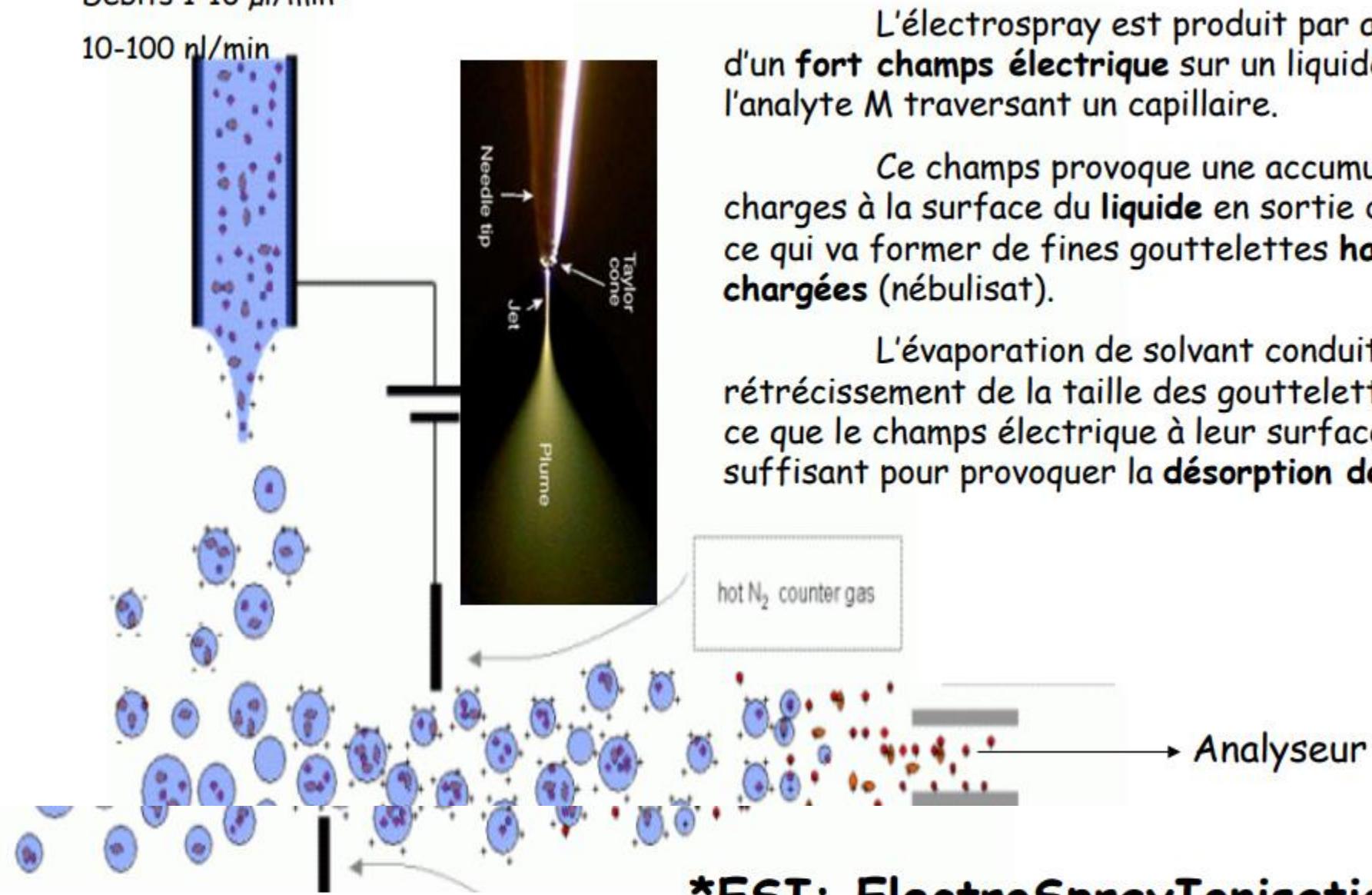


L'analyte M est dispersé dans une solution saturée de petites molécules aromatiques (**matrice**) et l'ensemble est co-cristallisé par évaporation du solvant. Le **dépôt solide** obtenu est irradié par un **laser** de longueur d'onde où les molécules de matrice ont une forte absorption. Il en résulte la **désorption** des ions formés par transfert de proton ( $H^+$ ) entre la matrice photoexcitée et l'analyte M:  $[MH]^+$ .

### 1.2.3. Electronébulisation (ESI)

Débits 1-10  $\mu$ l/min-

10-100 nL/min



L'électrospray est produit par application d'un **fort champs électrique** sur un liquide contenant l'analyte M traversant un capillaire.

Ce champs provoque une accumulation de charges à la surface du **liquide** en sortie du capillaire, ce qui va former de fines gouttelettes **hautement chargées** (nébulisat).

L'évaporation de solvant conduit au rétrécissement de la taille des gouttelettes jusqu'à ce que le champs électrique à leur surface soit suffisant pour provoquer la **désorption des ions**.

\*ESI: ElectroSprayIonisation

## L'ionisation chimique

### Le MALDI

Molécules **monochargées**, essentiellement sous la forme

$[M+H]^+$  donne le rapport m/z:  $\frac{[M+H]}{1}$

## L'électronébulisation

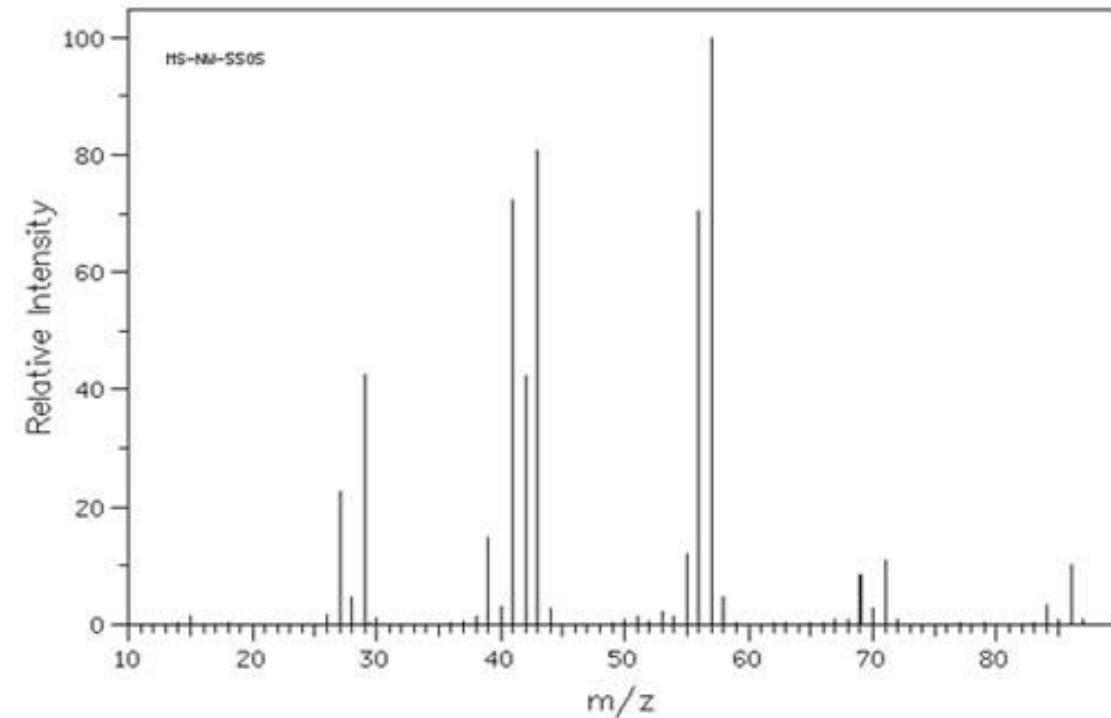
Molécules le plus souvent **multichargées** :

$[M+2H]^{2+}$ ,  $[M+3H]^{3+}$ ...  $[M+nH]^{n+}$

Ce qui donne des rapports m/z:

$\frac{[M+2H]}{2}$     $\frac{[M+3H]}{3}$    ...    $\frac{[M+nH]}{n}$

- Principe de la spectrométrie de masse
- La molécule est ionisée ce qui entraîne la
- formation d'ions positifs dans un état excité
- qui vont se dissocier pour former des ions de
- masse inférieure. Ils sont ensuite séparés
- suivant le rapport masse sur charge (m/e).



- La charge étant généralement égale à 1 pour les molécules ayant une masse moléculaire < 1000 g/mol

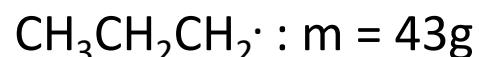
Le spectre classique dit de fragmentation est sous forme de traits verticaux dont le plus intense est appelé pic de base auquel on donne une valeur de 100. Toutes les autres intensités étant calculées à partir de cet indice 100.

- Exemple de fragmentation
- La rupture d'une liaison  $\sigma$  C-C donne naissance à un cation et à un radical neutre.

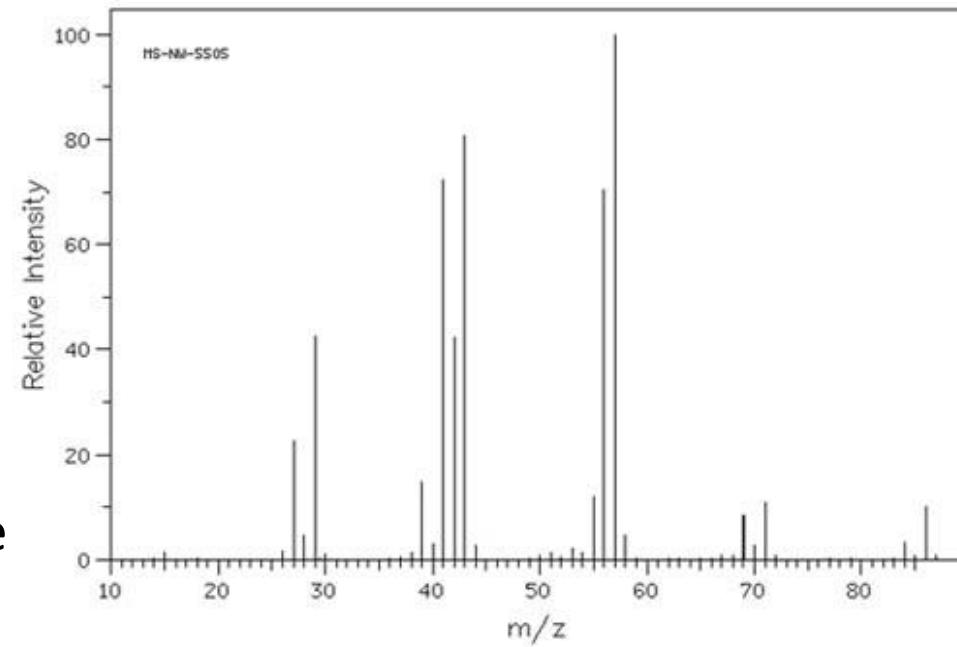


- le cation le plus stable étant celui qui correspond au radical ayant le plus faible potentiel ionisation ( règle de Stevenson)

Valeur de la perte de masse due au départ de quelques radicaux issus d'une fragmentation d'hydrocarbure aliphatique saturé



- **Types de pics**
- **Pic moléculaire** Attention, il n'est pas toujours présent  
Pics de fragmentation important pour établir la structure
- pics de réarrangement générés par les ions dont au moins un atome a subi un déplacement
- pics des ions métastables
- **pic de base** : pic qui sert à normaliser le spectrogramme, en général c'est le pic le plus important, on lui attribue l'abondance 100%
- **pic isotopiques** : présence des isotopes des éléments permet de déterminer la formule brute  $M$  Multiples : ils sont formés par les ions ayant les mêmes masses nominales

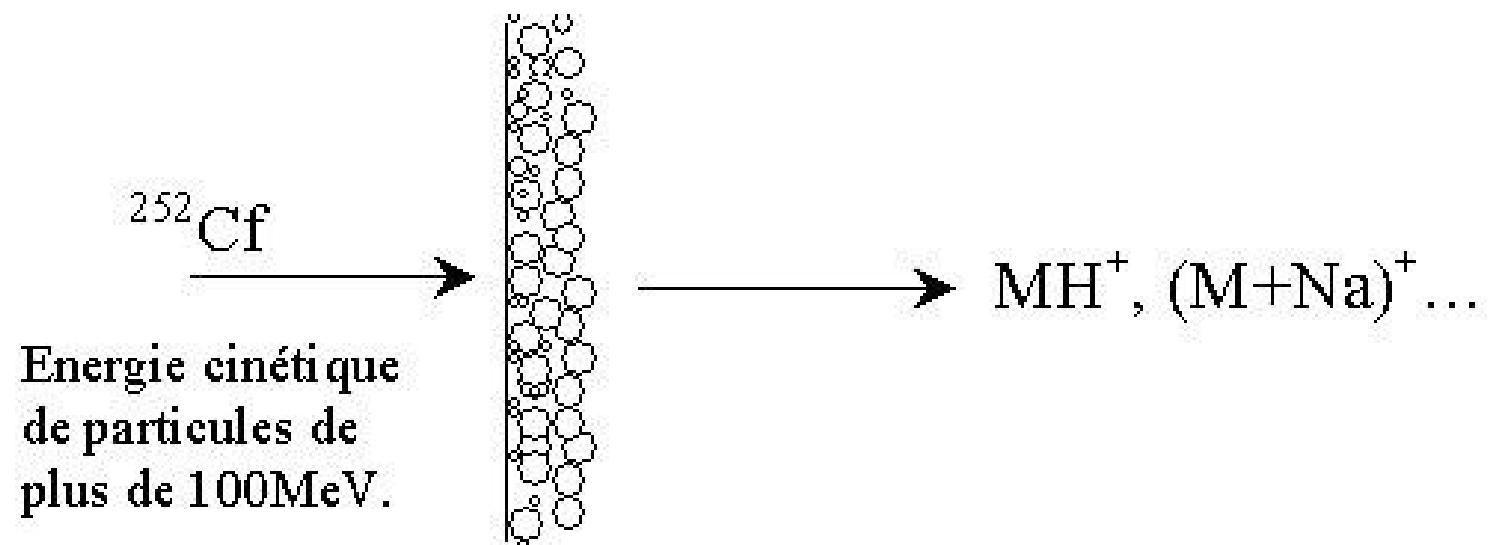


## Modes d'ionisation

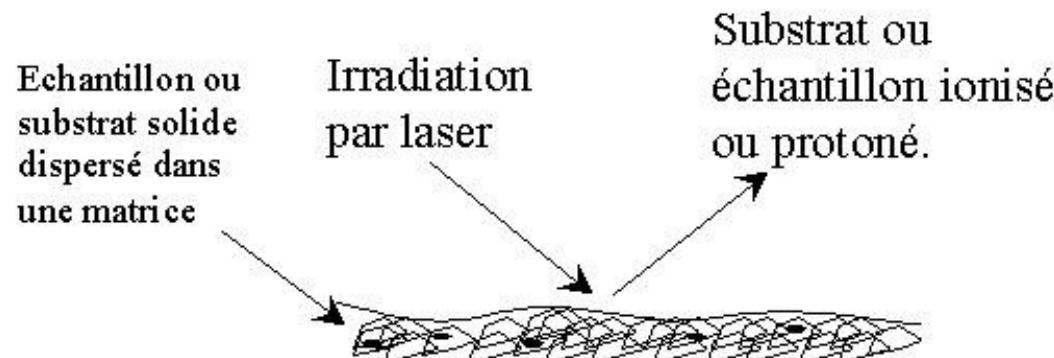
- L'ionisation par impact électronique (I.E.) est une technique choisie pour créer des ions à partir de molécules volatiles en phase gazeuse.
- L'ionisation chimique (I.C.) est une réaction ion-molécule entre une molécule M et un ion réactant  $\text{NH}_4^+$  ; il en résultera soit un transfert de proton et l'on obtiendra  $(\text{M} + \text{H})^+$ , soit la réaction d'adduit et l'on obtiendra  $(\text{M} + \text{NH}_4)^+$  .
- Dans ces deux méthodes, l'échantillon à analyser est en phase gazeuse. Le processus de volatilisation met l'échantillon en phase gazeuse sans décomposition.
- Par contre, pour des échantillons non volatils et thermolabiles de masses moléculaires élevées, d'autres techniques d'ionisation qui sont des techniques de désorption-ionisation ou de désolvatation-ionisation ont été mises au point depuis 20 ans. Il s'agit de la PD-MS (désorption plasma), du MALDI (désorption-ionisation laser assistée par matrice), du LSIMS (spectrométrie de masse à ions secondaires avec cible liquide), du FAB (bombardement par atomes rapides), de l'APCI (ionisation chimique à pression atmosphérique) et de l'ESI (électrospray) qui sont des techniques de désolvatation-ionisation à pression atmosphérique.

- **Principe de la désorption plasma (PDMS)**

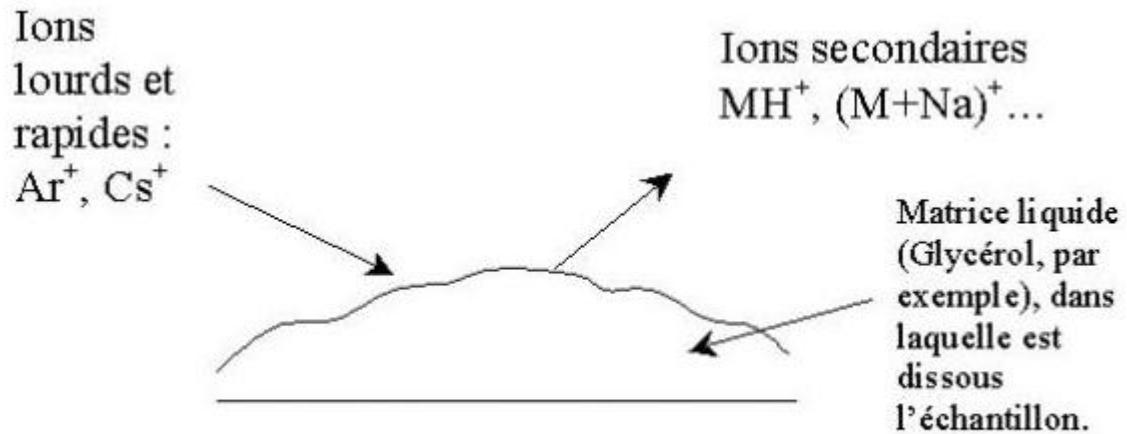
Cette technique utilise les produits de fission de l'isotope radioactif  $^{252}$ Cf pour bombarder une cible sur laquelle est déposée l'échantillon à analyser. Le californium se désintègre en émettant des ions multichargés de très grande énergie cinétique (environ 100 MeV). Ce principe est illustré sur la figure ci-dessous :



- **Principe de la technique MALDI (Désorption-ionisation laser assistée par matrice)**
- Le Maldi est une méthode d'ionisation permettant d'analyser des molécules de hautes masses moléculaires, supérieures à 300 kDa. Elle s'utilise pour analyser les peptides et les protéines.
- Un échantillon solide, dispersé dans une grande quantité de matrice (cristalline) est irradié par des photons émis par un laser dont la longueur d'onde est située dans la bande d'absorption de la matrice. L'irradiation de la matrice et de l'échantillon va provoquer la création d'une grande quantité d'énergie dans la phase condensée, par excitation électronique des molécules de la matière. Des ions, formés par transfert de protons ou d'électrons entre la matière photoexcitée et l'échantillon analysé désorbent. la source MALDI est utilisée avec un analyseur à temps de vol (TOF). On obtient des ions en phase gazeuse en irradiant le composé à analyser en utilisant un laser à impulsion courte (1-10ns). L'échantillon est incorporé uniformément dans une matrice cristalline solide possédant une grande absorbance. Ce principe est illustré par la figure ci-dessous :



- **Principe de la technique LSIMS (Spectrométrie de masse à ions secondaires avec cible liquide)**
- C'est une technique de désorption-ionisation par des ions rapides ( $\text{Cs}^+$  ou  $\text{Ar}^+$ , ayant une énergie cinétique de l'ordre de 30 keV) en présence d'une matrice liquide tel que le glycérol ou l'alcool métanitrobenzylique. • Les électrons émis par un filament sont accélérés par une différence de potentiel d'environ 400 volts. Ces électrons ionisent les molécules de gaz réactif présents dans la chambre d'ionisation sous une pression de 1 mmHg. Les ions ainsi formés réagissent avec les molécules du composé introduit à une pression partielle de quelques 10-6mmHg.



Source à ionisation chimique (C.I.)

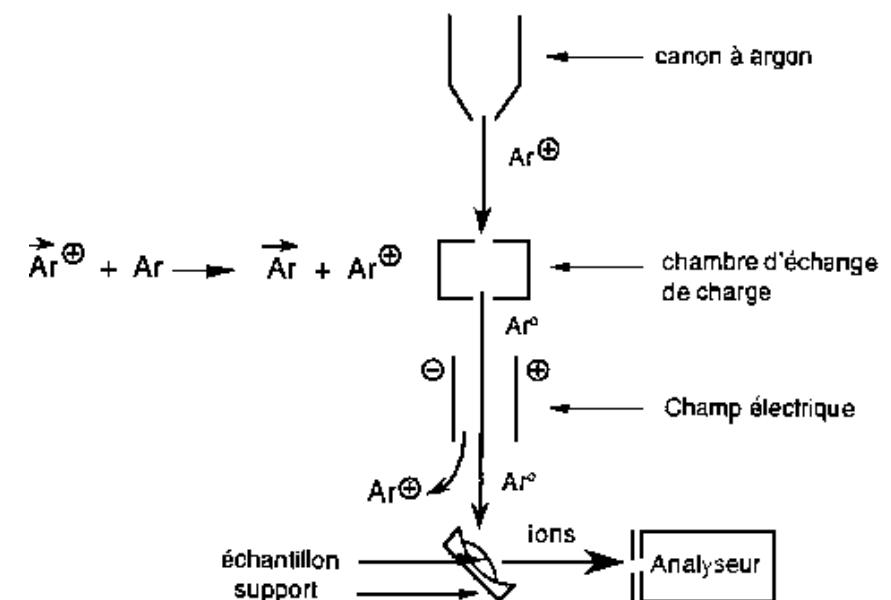
- **Désorption par effet de champ : F.D.**
- On dépose sur un filament de Tungstène ou de Rhénium un échantillon en solution, le filament étant recouvert d'aiguilles de carbone, et placé dans un champ électrique très puissant pouvant atteindre  $108\text{V/cm}$ .
- Le filament est chauffé jusqu'à fusion de l'échantillon. Les ions migrent et s'accumulent à l'extrémité des aiguilles où ils finissent par se désorber, entraînant avec eux des molécules de l'échantillon, pour observer souvent des ions moléculaires : .
- Cette méthode d'ionisation est utilisée pour des substances de haut poids moléculaire (environ 5 000 uma) et pour des produits polaires instables ou peu volatils, tels les acides et les sucres, ...

## • Bombardement atomique rapide: F.A.B.

- Dans une source F.A.B.(Fast Atomic Bombardement), des ions argon ou xénon généralement, sont produits par bombardement électronique puis accélérés et focalisés vers le porte-échantillon. sont ensuite "neutralisés" dans une chambre de résonance comme s'il y avait capture d'un électron. Les ions restants sont déviés à l'aide d'un champ électrique, de façon à éviter qu'ils ne viennent frapper la cible, car ils détriraient les molécules organiques.
- Les atomes neutres poursuivent leur trajectoire avec la même vitesse et viennent frapper les substances dissoutes dans une matrice déposée sur la cible, provoquant une ionisation douce du composé.
- La matrice permet de maintenir physiquement le composé et

surtout d'assister à l'ionisation de la molécule par protonation par exemple. Les matrices utilisées sont le plus souvent ioniques comme le glycérol, le thioglycérol, ou l'alcool métanitrobenzylique (mNBA). Cette méthode est aisée à mettre en oeuvre et permet d'observer des ions moléculaires de masses très élevées.

Les ions obtenus sont généralement des ions quasi-moléculaires



## • Electrospray : E.S.I.

Contrairement à toutes les sources précédentes, l'ionisation des molécules se déroule à pression atmosphérique et température ambiante, c'est donc la plus douce de toutes les méthodes. Le composé est généralement dissout dans une solution aqueuse (mélange méthanol-eau 50% / 50% ou acétonitrile-eau dans les mêmes proportions). La solution est introduite dans la source par l'intermédiaire d'un capillaire d'environ 50  $\mu\text{m}$  de diamètre. Sous l'action d'un gaz nébuliseur ( $\text{N}_2$ ), et celle conjuguée d'un champ électrique, on crée un fin brouillard de gouttelettes polychargées

