# Hydrolyse d'anhydride acétique à l'aide d'eau lourde ($D_2O$) : picoSpin 45 ou 80 picoSpin

## Introduction

Lors d'une réaction d'hydrolyse, toute liaison chimique est rompue par l'addition d'eau. L'hydrolyse est habituellement effectuée à l'aide d'un sel faible provenant d'un acide ou d'une base. L'eau s'auto-ionise en ions hydroxyles ($^{-}OH$) et en ions d'hydronium ($H_3O^+$), agissant comme une source de nucléophiles et un catalyseur d'acide ; mais elle est également un acide faible et dans la plupart des cas, l'hydrolyse (qui utilise l'eau) permet de ralentir la réaction sans ajouter d'acide fort. L'hydrolyse des anhydrides est souvent facilitée par la présence d'eau, qui n'exige qu'un chauffage doux du mélange réactionnel.

L'hydrolyse de l'anhydride acétique ($Ac_2O$) pour donner l'acide acétique (AcOH) nous servira de modèle d'exemple de réaction d'hydrolyse. L'anhydride acétique s'hydrolyse rapidement en présence d'eau, d'alcool et d'acide catalysant – dans notre cas, l'eau. Nous pouvons suivre l'évolution de la réaction par RMN en utilisant une fonctionnalité de surveillance de la réaction *in situ* modifiée, pour cela, une seule partie aliquote du mélange réactionnel est injectée dans la bobine RF de la sonde RMN. La surveillance de la réaction *in situ* par RMN a plusieurs exigences :

- les réactifs et les produits doivent être solubles tout au long de la réaction
- les signaux qui subissent des modifications doivent être résolus
- la vitesse de la réaction doit être plus lente que la durée de l'expérience de RMN.

En plus de leurs applications dans la détermination des structures moléculaires statiques, de nombreuses expériences de RMN sont réalisées pour suivre la croissance et l'évolution des signaux de résonance au cours de leur modification dynamique. Un exemple de processus dépendant du temps est la réaction chimique. Au cours d'une réaction, les signaux de résonance changent de position, fusionnent, se développent et diminuent en intensité. Le suivi et l'extraction d'informations chimiquement pertinentes par RMN nécessitent que l'échelle de temps de la dynamique soit plus lente que l'« échelle de temps RMN ». L'échelle de temps RMN trouve son fondement dans le principe d'incertitude, où la largeur de la résonance $\Delta\nu$, à une fréquence donnée, est mesurable, apparaissant sous forme de ligne de démarcation nette et distincte si la durée de vie ($1/t$) de l'état particulier est longue.

$$\Delta\nu = h/(2\pi\tau)$$

Quand la durée de vie de la résonance raccourcit, un élargissement du signal se produit. C'est ce que l'on appelle également l'élargissement de la durée de vie. L'élargissement de la durée de vie est évident dans les larges résonances observées lors de l'échange rapide des protons labiles – des alcools, notamment. L'exigence d'une échelle de temps minimale pour établir la moyenne de deux résonances étroitement espacées est la l'inverse de la différence entre les pics. Sinon, les signaux commencent à fusionner.

# Objectif

Dans cette expérience, nous surveillerons les changements survenus au cours d'une réaction simple, l'hydrolyse de l'anhydride acétique avec de l'eau lourde ($D_2O$), en utilisant une technique de surveillance de la réaction *in situ* modifiée. Nous profiterons également de la substitution isotopique pour supprimer un signal de protons de grande taille dans le spectre RMN provenant du réactif/solvant $H_2O$. La substitution isotopique ne modifie pas la surface potentielle d'énergie le long de la coordonnée de réaction, mais elle affecte la vitesse de réaction en modifiant l'enthalpie d'activation.

Dans l'eau, l'hydrolyse convertit l'anhydride acétique en acide acétique – un acide carboxylique. L'acide acétique est un acide faible qui se dissocie partiellement en ions d'hydronium et d'acétate. La RMN permet de suivre la réaction en surveillant les tailles relatives de la résonance de l'acétyle du réactif, l'anhydride acétique, au fur et à mesure de sa « consommation », tout en observant la croissance du signal d'acétyle à partir du produit d'acide acétique. Les deux signaux d'acétyle ont des déplacements chimiques similaires, à 2,26 et 2,10 ppm, respectivement, mais sont facilement résolus au moyen des spectromètres NMR $^1$H Thermo Scientific™ picoSpin™ 45 ou Thermo Scientific™ picoSpin™ 80. Grâce à ce cas, nous acquerrons les compétences de base d'une surveillance pendant une réaction chimique à mesure que celle-ci évolue dans la bobine RF du spectromètre de RMN. Cette approche *in situ* peut être appliquée à d'autres réactions en phase liquide.

# Documentation

Binder, D. A.; Ellason, R.; Axtell, D. D., Kinetic hydrogen isotope effect, *J. Chem. Educ.,* **1986***, 63*, 536.

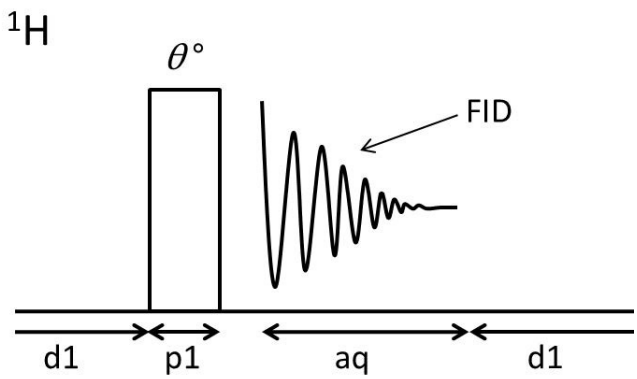
Gold, V. The Hydrolysis of Acetic Anhydride, *Trans. Faraday Soc.,* **1948**, *44*, 506-518.

Seoud, O.A., Bazito, R. C. and Sumodjo, P. T., Kinetic Solvent Isotope Effect: A Simple, Multipurpose Physical Chemistry Experiment, *J. Chem. Educ.,* **1997**, *74*, 562

Lowry, T.H.; Richardson, K.S. *Mechanism and Theory in Organic Chemistry*, 3$^e$ éd., Harper and Row, 1987 pp 232–244. Carey, F.A.; Sundberg, R.J. *Advanced Organic Chemistry Part A: Structure and Mechanisms*, 2$^e$ éd., Plenum Press, pp 190-194.

# Séquence d'impulsions

Dans cette expérience, nous utilisons une impulsion unique standard de 90°. Le délai (d1) de répétition de la séquence d'imp. est réglé pour permettre l'acquisition d'un FID à un pas de temps particulier.




Séquence : d1-[$\theta$°-aq-d1]$_{ns}$
$\theta$°: Angle de rotation d'impulsion (angle de bascule)
FID : Signal de précession libre
d1 : Délai de répétition de la séquence d'imp. (µs) pour la relaxation spin-milieu
p1 : Durée de l'impulsion de l'émetteur de RF (µs)
aq : Temps d'acquisition (ms)
ns : Nombre de balayages (FID individuels)

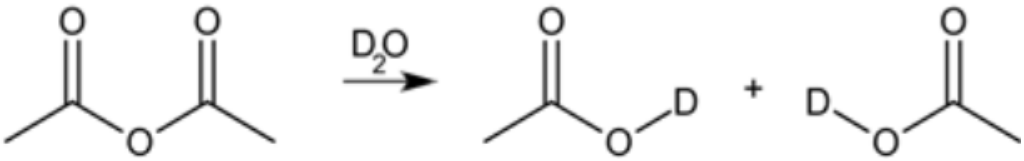
# Procédure et acquisition

*Temps requis* : 45 minutes
*Échantillon* : 2 % (v/v) d'anhydride acétique dans de l'oxyde de deutérium ($D_2O$)
*Difficulté* : Facile

*Équipement/matériel* :

- picoSpin 45 ou picoSpin 80
- Anhydride acétique ($C_4H_6O_3$)
- Oxyde de deutérium
- Flacon de 1 ml avec bouchon PTFE
- Seringues de 1 ml en polypropylène
- Aiguilles à pointe ronde de jauge 22
- Progiciel NMR Mnova™
- Kit d'accessoires picoSpin
  - Ensemble de tubulures de vidange
  - Adaptateur de port de seringue
  - Bouchon de port

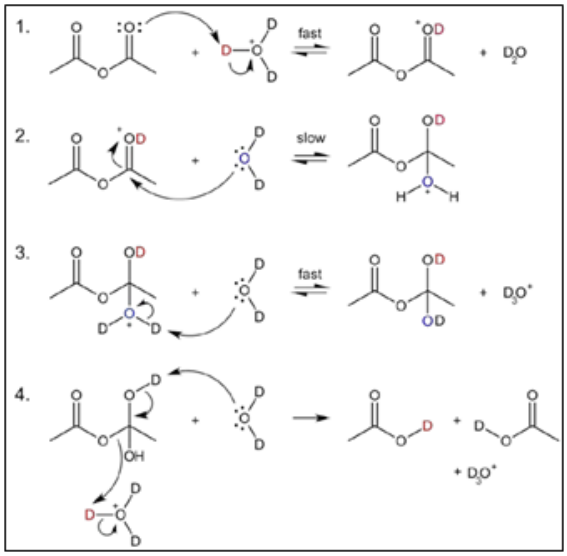
### Réaction




Anhydride acétique

Acide-d acétique

### Mécanisme

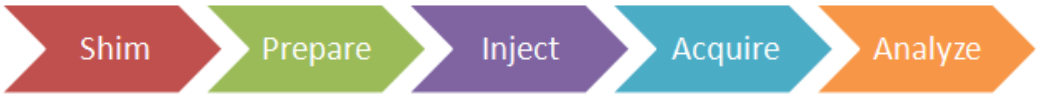



### Caractéristiques physiques

| Substance | FW (g/mol) | Quantité | MP (°C) | BP | Densité (g/ml) |
|---|---|---|---|---|---|
| Anhydride acétique | 102,09 | 10 µL | 73,1 | 139,8 | 1,08 |
| Oxyde de deutérium ($D_2O$) | 130,19 | 490 µL | 3,8 | 101 | 1,11 |
| Acide-d acétique | 61,06 | produit | 16 | 118 | 1,05 |

# Procédure expérimentale

La procédure générale d'analyse des échantillons au moyen d'un spectromètre RMN picoSpin est la suivante :




### Homogénéisation

Avant d'initier la réaction, assurez-vous que le spectromètre RMN est prêt à accepter des échantillons et que le champ est homogénéisé.

## Préparation de la pré-réaction

1. Déplacez le liquide d'homogénéisation de la cartouche capillaire picoSpin avec de l'air.
2. Rincez la cartouche avec 0,1 ml de chloroforme-d ou d'acétone-$d_6$, puis déplacez le solvant avec une poussée d'air.
3. Mettez en route le script OnePulse selon les paramètres indiqués dans le tableau Script d'impulsion.

## Préparation de la réaction

1. Dans un flacon de 2 ml contenant 0,5 ml de $D_2O$, versez 0,01 ml d'anhydride acétique.
2. Bouchez le flacon et agitez pendant quelques secondes (à défaut, utilisez un vortex).

   La réaction commence dès que les réactifs sont mélangés, aussi apprêtez-vous à injecter l'échantillon tout de suite après le mélange.

## Injection

1. À l'aide d'une seringue neuve jetable en polypropylène de 1 ml munie d'une aiguille à pointe ronde de jauge 22 de 1,5 pouces (3,8 cm), aspirez une aliquote de 0,2 ml de mélange réactionnel.
2. Injectez environ la moitié de l'échantillon.

   Vérifiez que toutes les bulles d'air ont été déplacées de la cartouche en examinant la tubulure de vidange.
3. Fermez les ports d'entrée et de sortie avec des bouchons en PEEK.

## Acquisition

1. Exécutez le script OnePulse en respectant les valeurs fournies dans le tableau de paramètres.
2. Une fois le script OnePulse terminé et la réaction achevée, préparez la cartouche pour le prochain utilisateur en déplaçant l'échantillon hors de la cartouche selon le protocole suivant : air, solvant, air.

## Script d'impulsion : OnePulse

| Paramètre | Valeur |
|---|---|
| fréquence tx (**tx**) | fréquence de Larmor des protons (MHz) |
| tx auto | ✓ |
| décalage tx auto (o1 | 0 Hz |
| balayages (**ns**) | 30 |
| durée de l'impulsion (**pl**) | durée de l'impulsion de 90° spécifique à l'instrument |
| temps d'acquisition (**aq**) | 750 ms |
| délai de récupération rx (r1) | 500 µs |
| délai (d1) de répétition de la séquence d'imp. T1 (**d1**) | 60 s |
| largeur de bande (**bw**) | 4 kHz |
| atténuation post-filtre (**pfa**) | 10 (11)[a] |
| correction de phase (**ph**) | 0 degré (ou n'importe quelle valeur) |
| filtre exponentiel (**LB**) | 0 Hz |
| points max. sur le graphique | 400 |
| durée max. sur le graphique | 250 ms |
| fréq. min. sur le graphique | -400 |
| fréq. max. sur le graphique | +800 Hz |
| remplissage zéro (**zf**) | 8192 |
| données align.-moy. | ✓ |
| graphique en temps réel | ✓ |
| moy. JCAMP | ✓ |
| ind. JCAMP | Non vérifiée |

[a] Choisissez les valeurs de **pfa** par défaut de l'instrument

# Traitement

Après l'acquisition des données, les spectres doivent être traités. Téléchargez et ouvrez le fichier du spectre expérimental JCAMP après importation dans Mnova. Le signal de précession libre (FID) fera l'objet d'une transformation automatique de Fourier ; un spectre sera affiché.

Pour chaque spectre, appliquez les étapes de traitement suivantes en utilisant les paramètres fournis :

| Fonction | Valeur |
|---|---|
| Remplissage zéro (zf) et prédiction linéaire (LP) | 16 k |
| Prédiction avant (FP) | À partir de : → 16 k |
| Prédiction arrière (BP) | À partir de -2 → 0 |
| **Correction de phase (PH)** | PH0 : Ajuster manuellement |
| | PH1 :0 |
| Apodisation | |
| Exponentielle (LB) | 0,6 Hz |
| Premier point | 0,5 |
| Référence de décalage (CS) | Référencer manuellement |
| Désignation pic (pp) | Sélectionner les pics manuellement |
| Intégration (I) | Sélection automatique |
| Analyse de multiplets (J) | - |

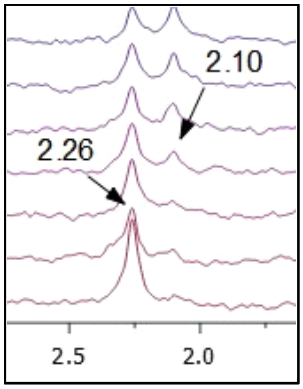
1. Importez chaque fichier de données dans le même espace de travail dans Mnova.

   30 spectres RMN doivent être normalement affichés dans la fenêtre **Pages** de Mnova.

2. Mettez en surbrillance tous les spectres et traitez-les simultanément – y compris la correction de phase ph0.

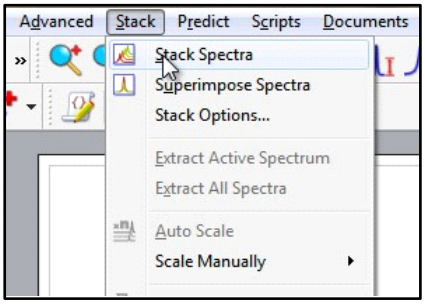
3. Changez manuellement de référence pour chaque spectre en utilisant l'outil TMS de Mnova en attribuant une valeur chimique de 2,10 ppm pour le signal le plus à droite, ou 2,26 ppm à la gauche immédiate de ce signal.

   Il est important que le spectre soit correctement référencé.




4. Lorsque tous les spectres sont mis en surbrillance, accédez à l'option de menu « /Pile/Pile Spectra » et sélectionnez-la (vous pouvez également cliquer sur l'icône représentant la pile de spectres sur la barre d'outils empilés RMN).

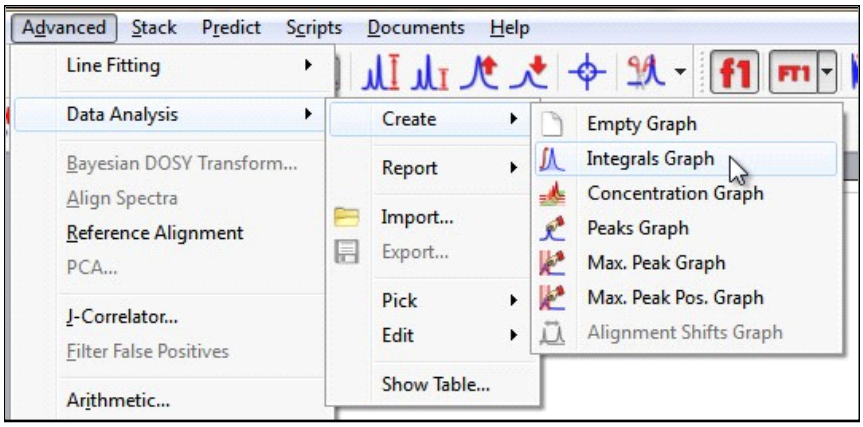
   Une nouvelle page de spectres empilés apparaît.




5. Effectuer un zoom sur les spectres empilés pour afficher une plage de déplacement chimique d'environ -0,5 à 6,0 ppm.

6. Sélectionnez /Advanced/Data Analysis/Create/Integrals (/Avancé/Analyse des données/Créer/Courbe intégrale).

   L'icône « Intégration » apparaît.



7. Mettez en surbrillance le signal à 2,26 ppm ; une courbe d'intégration comportant l'aire des pics et les données matricielles temporelles apparaît.
   a. Sélectionnez la région contenant le signal d'intégration $Ac_2O$ pour faire apparaître un petit graphique de données au-dessus des spectres empilés.
   b. Dans la colonne des données matricielles de temps de la fenêtre Data Analysis (Analyse des données), cliquez sur l'en-tête du « modèle » X(I) pour remplacer la fonction X(I) par **I-1** et choisissez les unités des **min** ; cliquez sur **OK**.
8. Rephasez les spectres et réitérez l'analyse des données pour le second pic à 2,26 ppm.
9. Sélectionnez le signal à 2,10 ppm ; une courbe d'intégration de la zone de pics par rapport à une matrice de données temporelles apparaît.
   a. Sélectionnez l'icône correspondant à l'option **Create Integrals** (Créer des intégrales) dans le coin supérieur gauche de la fenêtre d'analyse de données pour créer une deuxième courbe d'intégration.
   b. Sélectionnez la zone contenant le signal AcOD pour l'intégration ; une petite courbe de données apparaît au-dessus des spectres empilés.
   c. Dans la colonne des données matricielles de temps de la fenêtre Data Analysis (Analyse des données), cliquez sur l'en-tête du « modèle » X(I) pour remplacer la fonction X(I) par **I-1** et choisissez les unités des **min** ; cliquez sur **OK**.

      Les courbes peuvent être repositionnés de manière à ne pas se chevaucher. Les options de formatage sont disponibles en cliquant deux fois sur une courbe de données.

# Résultats

Le spectre RMN $^1H$ attendu pour les quantités équimolaires d'anhydride acétique réactif ($Ac_2O$) et du produit, l'acide-d acétique (AcOD), est présenté à la Figure 1a et la Figure 1b pour 45 MHz et 82 MHz respectivement. Le spectre contient seulement deux signaux : un pour chacun des protons de groupe acétyle [-C(=O)$CH_3$] résultant à la fois du réactif et du produit. Le passage de l'anhydride d'acide à l'acide carboxylique résulte en un petit déplacement du signal d'acétyle vers le haut champ – ce qui permet de résoudre aisément chaque groupe de signaux.

L'anhydride acétique est un anhydride d'acide. Le spectre RMN ($^1H$) des protons de $Ac_2O$ sans solvant est caractérisé par un seul déplacement chimique vers le haut champ (basse fréquence) des protons du groupe acétyle apparaissant à 2,26 ppm, et par une valeur d'intégration de 6, en raison de deux groupes -$CH_3$ qui contribuent au signal. Un singulet apparaît dans le spectre de protons en raison de l'absence de protons voisins.

## Figure 1a

Spectre RMN $^1H$ (45 MHz) attendu d'anhydride acétique et d'acide-d acétique

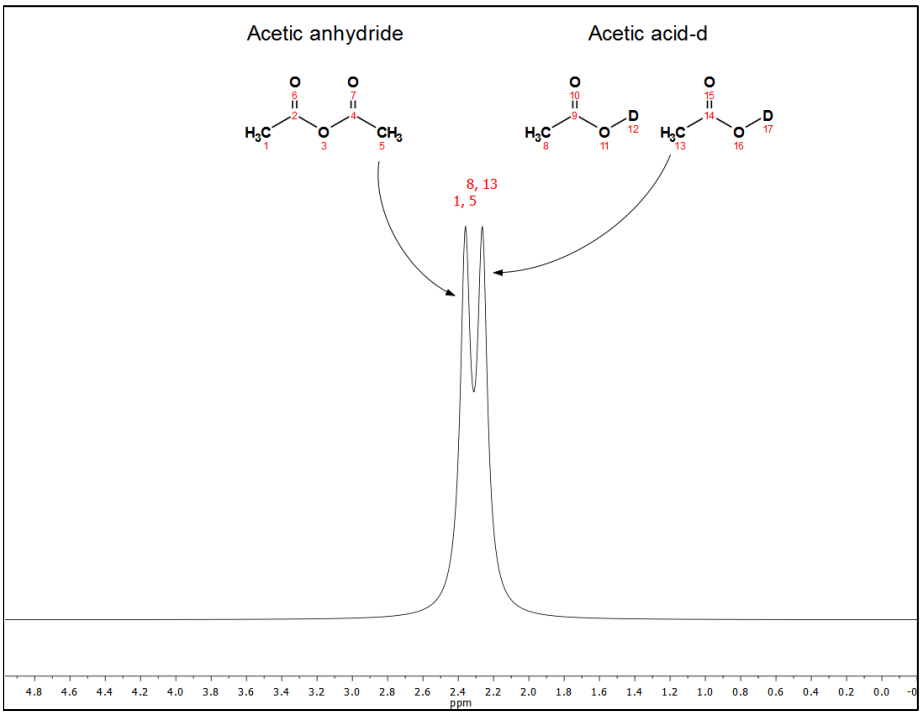
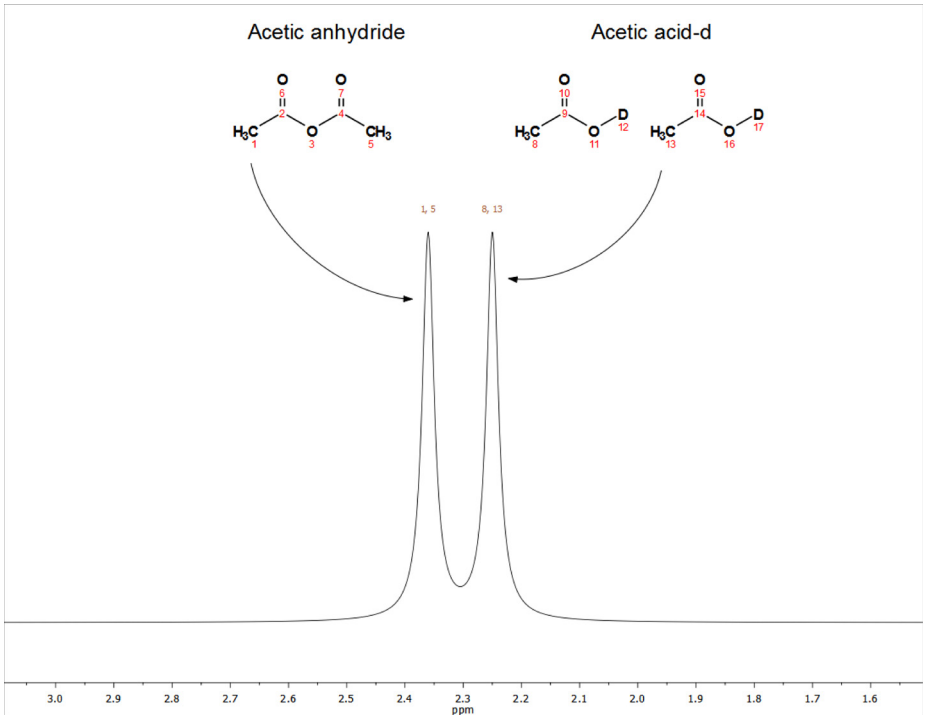


**Figure 1b**

Spectre RMN $^1H$ (82 MHz) attendu d'anhydride acétique et d'acide-d acétique

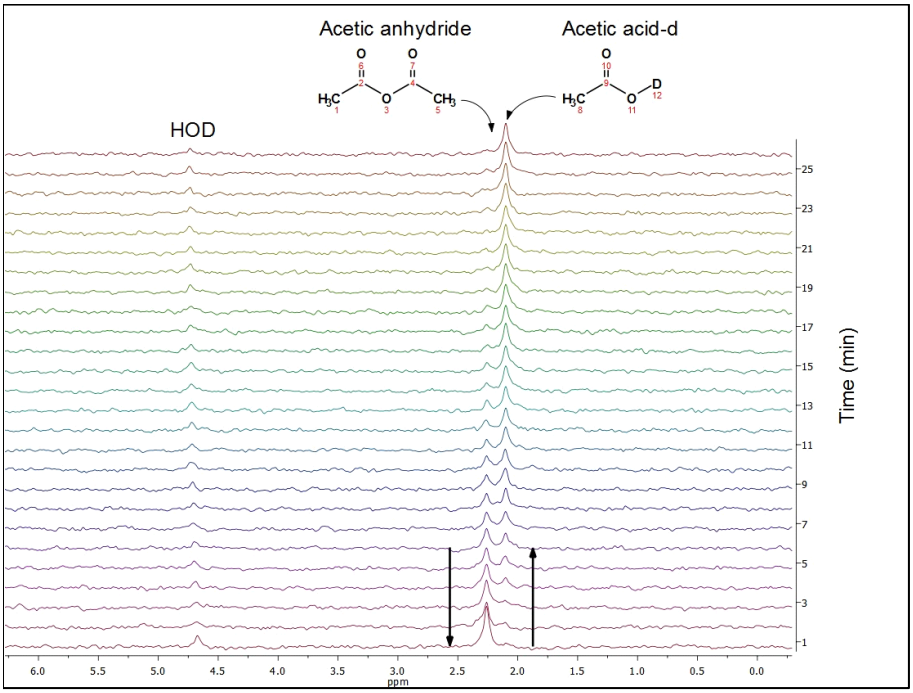



L'acide acétique contient un acide carboxylique. Les **spectres** RMN ($^1H$) de protons d'acides carboxyliques sans solvant sont identifiés par un déplacement chimique caractéristique des protons acides vers le bas champ (haute fréquence). La nature acide des protons d'acide carboxylique est responsable du fort déblindage des protons (les signaux apparaissant typiquement entre 11 et 2 ppm). Les protons acides ont également une liaison hydrogène intramoléculaire et un échange rapide – l'échange rapide de protons tendant à produire des signaux étroits. L'ajout d'une goutte de $D_2O$ (eau lourde) à l'échantillon provoque la disparition du pic ; ceci est la preuve de la présence d'un acide carboxylique, mais il faut savoir que les protons labiles des alcools, des amines, des thiols, des phénols et des énols ont un comportement d'échange identique. En outre, les protons acides ont un échange intermoléculaire avec des protons labiles d'autres composés, tels que l'eau, provoquant l'élargissement du signal et son décalage vers le haut champ (basse fréquence), plus proche du déplacement chimique du proton labile.

Dans cette réaction, nous hydrolysons $Ac_2O$ en présence de $D_2O$ ; pour cette raison, le spectre de protons du produit AcOD ne contiendra qu'un seul signal dû aux protons des groupes acétyle. Le signal apparaît légèrement vers le haut champ par rapport au signal $Ac_2O$ à 2,10 ppm et aura une valeur d'intégration de 6 – 2 moles d'AcOD étant produites à partir de 1 mole de $Ac_2O$.

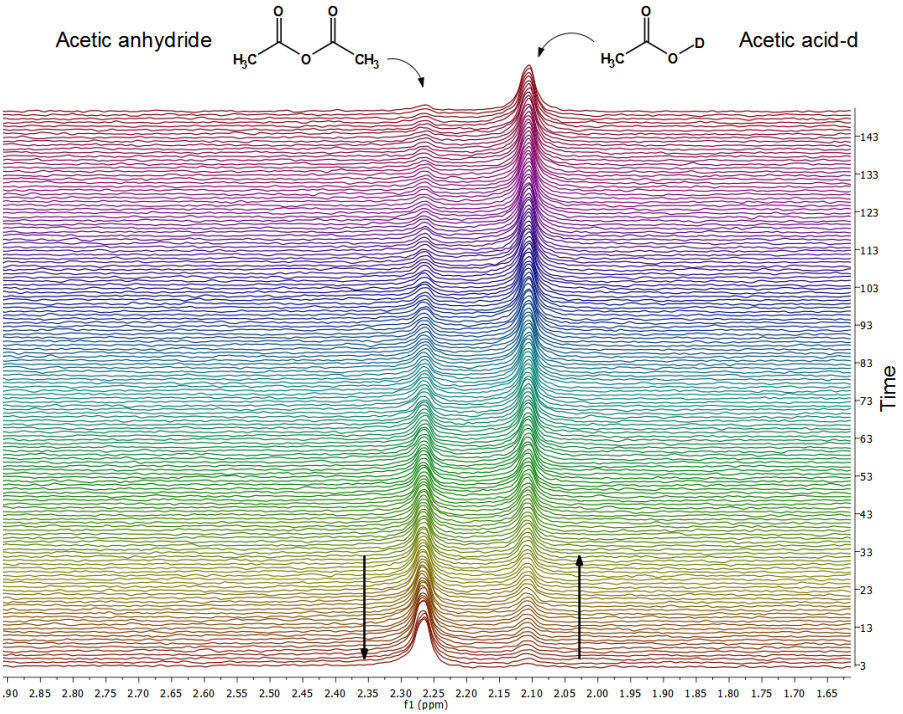
## Figure 2a

Courbes de spectres RMN $^1H$ (45 MHz) empilés du mélange réactionnel acquis à 1 minute d'intervalle




## Figure 2b

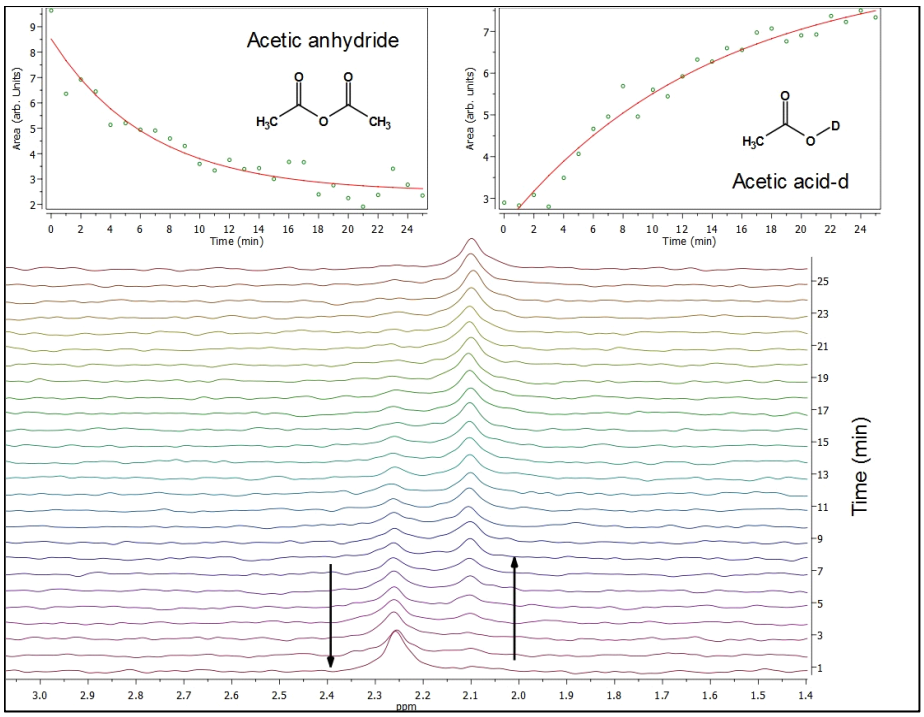
Courbes de spectres RMN $^1H$ (82 MHz) empilés du mélange réactionnel acquis à 15 secondes d'intervalle



Dans un premier temps, à $t$ = 0 min, le spectre RMN du mélange réactionnel (Figure 2a et Figure 2b) contient deux signaux, l'un à 4,6 ppm attribué à un signal résiduel d'eau, HOD, et l'autre provenant du $Ac_2O$ réactif apparaissant à 2,26 ppm. Au fur et à mesure de la réaction, le signal d'$Ac_2O$ diminue en intensité tandis qu'un second signal apparaissant à 2,10 ppm se développe. Le nouveau signal est dû au produit AcOD. À t ≈ 7 min, l'intensité des deux signaux d'acétyle est pratiquement identique ; comme le mélange continue de réagir, le signal réactif de $Ac_2O$ continue à diminuer tandis que le signal du produit augmente. À $t$ ≈ 30 min, la réaction est presque terminée et le spectre RMN est dominé par le signal du produit.

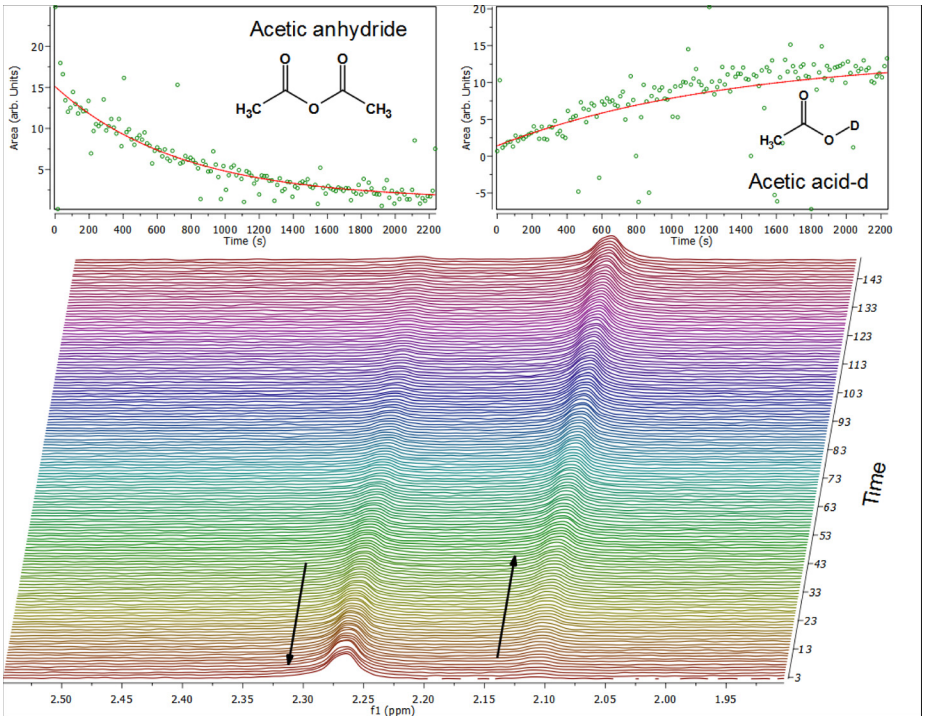
## Figure 3a

Courbes des spectres RMN $^1H$ (45 MHz) empilés du mélange réactionnel acquis à 1 minute d'intervalle. Courbes des aires de pics avec les données temporelles des signaux à 2,26 ppm et 2,10 ppm.



## Figure 3b

Courbes des spectres RMN $^1H$ (82 MHz) empilés du mélange réactionnel acquis à 15 secondes d'intervalle. Courbes des aires de pics avec les données temporelles des signaux à 2,26 ppm et 2,10 ppm.




L'intégration des aire des pics du réactif produit des courbes de vitesse de pseudo-premier ordre comme illustré à la Figure 3a et à la Figure 3b. Sur cette figure, les zones de pic intégrées des signaux $Ac_2O$ et AcOH représentent des fonctions temporelles. La procédure de création de ces courbes/graphiques de données à l'aide de Mnova est fournie à la section Traitement. Étant donné que la réaction commence quasiment à l'instant où les réactifs sont mélangés, le temps écoulé depuis le mélange des réactifs jusqu'à l'injection et l'acquisition des données doit être maintenu au minimum. En observant les courbes d'intensité des signaux dans le temps, nous voyons que le signal $Ac_2O$ diminue à peu près au même rythme que le signal AcOH augmente.

# Commentaires

L'anhydride acétique est initialement insoluble dans l'eau. Secouez le flacon de réaction pendant plusieurs secondes pour solubiliser le réactif, ou utilisez un vortex. L'anhydride acétique est soluble dans l'eau à raison de ~ 2,6 %, il est donc important de ne pas augmenter les volumes relatifs.

**Tableau 1.** Données spectrales RMN $^1H$

| Figure | Composé | Groupe de signaux | Déplacement chimique (ppm) | Nuclides | Multiplicité |
|---|---|---|---|---|---|
| 1-3 | Acide-d acétique | DO-C(=O)$CH_3$ | 2,10 | 3 H | Singulet |
| 1-3 | Anhydride acétique | $CO_2(CH_3)_2$ | 2,26 | 6 H | Singulet |
| 2,3 | Eau résiduelle | HOD | 4,65 | 1 H | Singulet |

# Observations personnelles

# Informations de commande

Pour commander un exemplaire de ce plan de leçon provenant de l'ensemble *Spectroscopie RMN picoSpin : plans de Travaux Pratiques*, référez-vous au document de commande : « **LP52590_E 05/14M** Plan de leçon n° 3 – Hydrolyse d'anhydride acétique »

Pour obtenir une assistance technique aux État-Unis, contactez :

Thermo Fisher Scientific
5225 Verona Road
Madison, WI 53711-4495 États-Unis
Téléphone : +1 800 532 4752
E-mail : us.techsupport.analyze@thermofisher.com

Pour obtenir une assistance technique internationale, contactez :

Thermo Fisher Scientific
Téléphone : +1 608 273 5017
E-mail : support.madison@thermofisher.com

**Remarque** Veuillez noter le numéro de série de votre instrument. Il vous sera demandé lorsque vous prendrez contact avec nous.