

Spectrométrie de masse

Pr. Franck DENAT
ICMUB UMR 5260
9, Av. Alain Savary
BP 47870 21078 Dijon
Franck.Denat@u-bourgogne.fr

Spectrométrie de masse

I. Généralités.

Technique analytique permettant de séparer les atomes ou les molécules sous forme d'ions suivant leur masse

Intérêts :

- détermination de la **masse moléculaire** (spectromètres haute résolution → masse exacte → formule brute)
- **identification** de structures (bibliothèques de spectres, fragmentation)
- **dosage** (ICP/MS)

Applications :

- chimie organique et pharmaceutique
- biochimie (peptides, protéines,...)
- médical : analyses, détection
- géologie, archéologie
- environnement : qualité de l'air, de l'eau,...

II. Principe.

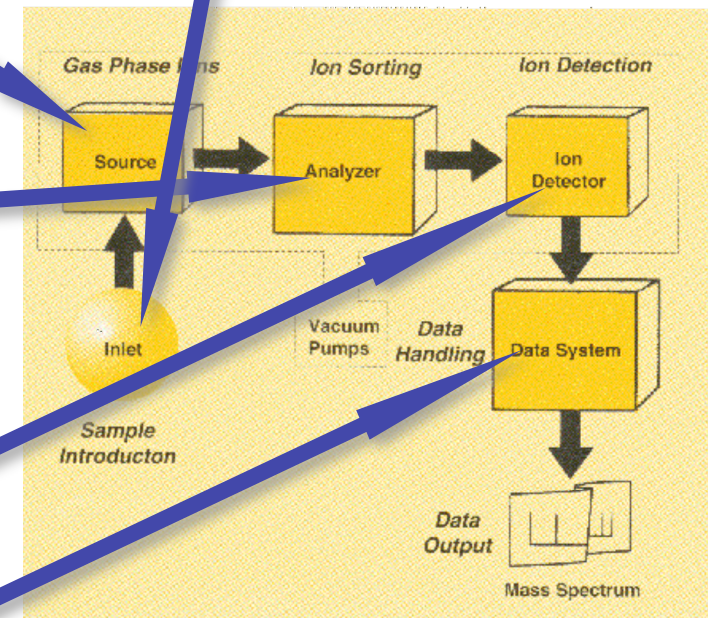
- **Ionisation** du composé sous forme gazeuse
(**source**)

- Accélération puis **séparation** des ions
(**analyseur**), étude des trajectoires des ions
sous l'action de \vec{E} et/ou \vec{B} , dépend de m/z
Sous vide poussé (10^{-4} Pa = 10^{-9} bar) : éviter
les collisions

- **Détecteur** : “comptage” des ions de $\neq m/z$

- Traitement informatique \rightarrow spectre de masse

- Introduction de l'échantillon : directe,
couplage chromato (GC/MS, HPLC/MS)



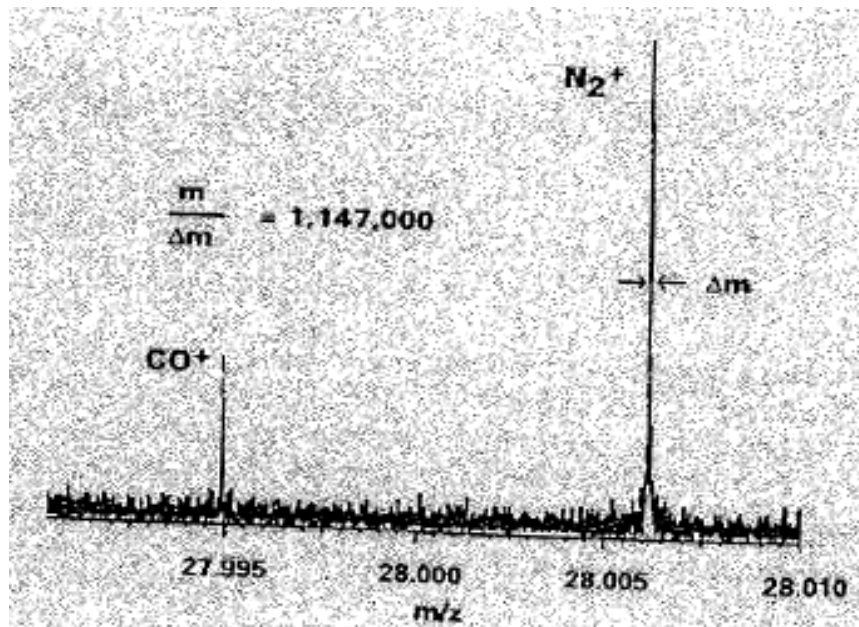
Les performances (**résolution, limite en masse, sensibilité**) de l'appareil dépendent :
du mode d'ionisation, de la nature de l'analyseur, du détecteur

III. Spectre de masse.

Spectre continu : pics plus ou moins larges selon la résolution de l'instrument :

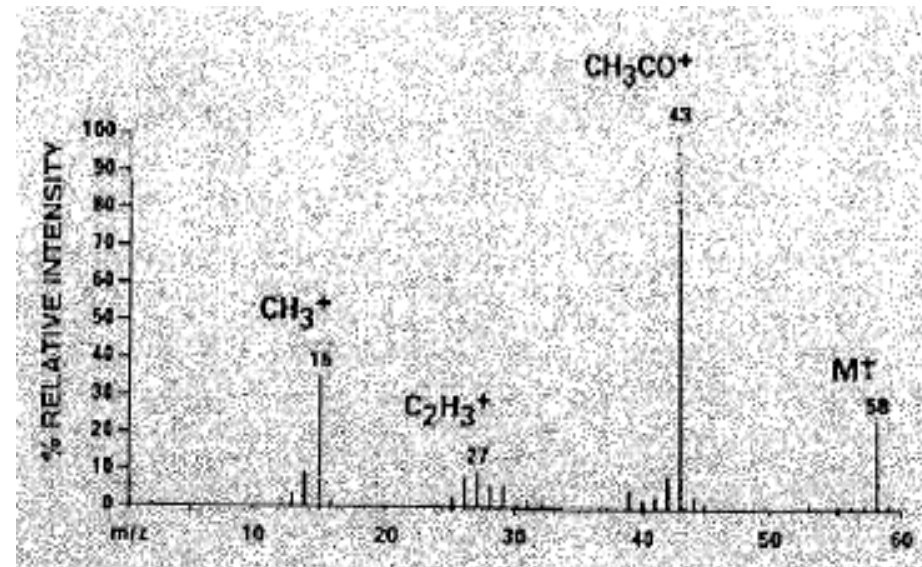
$R = m/\Delta m$ (haute résolution \rightarrow 10 000 000)

ex : spectre HR de CO et N₂ :



Spectre-barres (spectre de fragmentation)

ex : spectre de l'acétone (impact électronique IE)



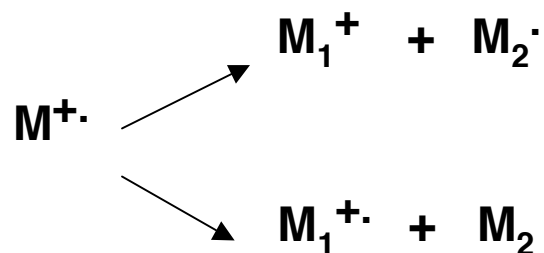
IV. Ionisation.

IV.1. Par impact électronique (IE)



e^- extrait préférentiellement : 1) e^- n (doublet sur O, N, S) 2) $e^- \pi$ 3) $e^- \sigma$

Si E suffisante (E standard = 70 eV) \rightarrow fragmentation de l'ion moléculaire $M^{+\cdot}$.



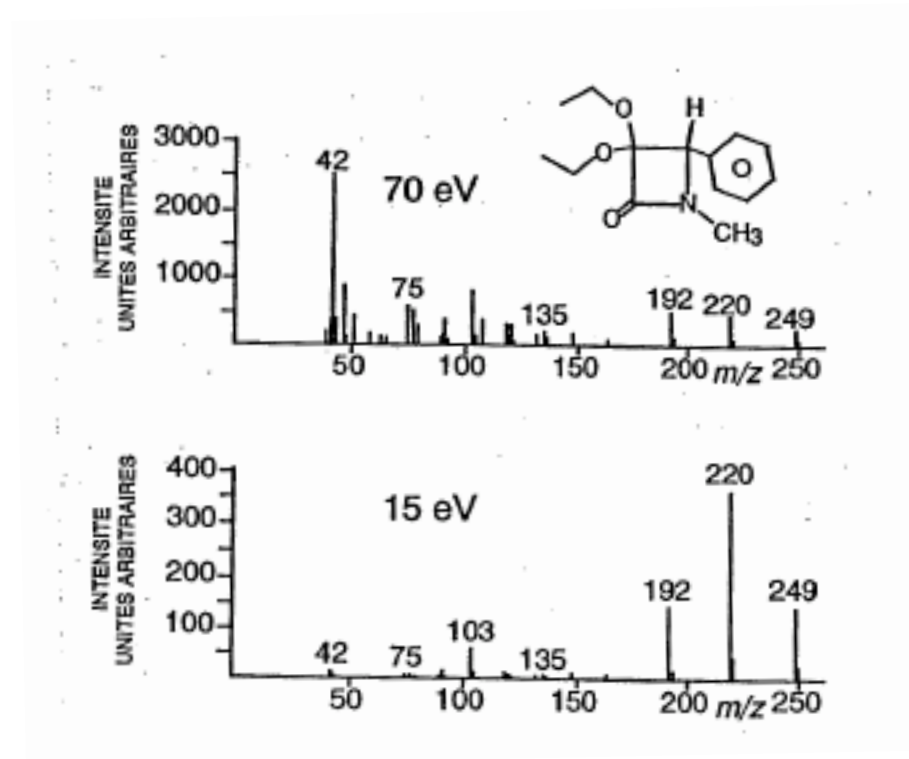
M_1^+ et $M_1^{+\cdot}$ (ions fragments) visibles sur le spectre,
 M_2 et M_2^\cdot : espèces non chargées, non détectées

Règle de l'azote :

ions contenant 0, 2,... atomes N : $M^{+\cdot}$, $M_1^{+\cdot}$ m/z pair, M_1^+ m/z impair

ions contenant 1, 3,... atomes N : $M^{+\cdot}$, $M_1^{+\cdot}$ m/z impair, M_1^+ m/z pair

- ☺ - Spectres reproductibles (E = 70 eV) : **identification / bibliothèque**
 - Fragmentation → informations structurales
- ☹ - Fragmentation → ion moléculaire M⁺ parfois non visible : possibilité d'enregistrer le spectre avec une E plus faible



IV.2. Par ionisation chimique (CI)

Gaz réactif G (CH_4 , NH_3 , isobutane,...) ionisé par IE $\rightarrow \text{G}^+$ puis réactions 2aires \rightarrow formation d'ions dont GH^+ qui vont entrer en collision avec M (ratio G/M \approx 100)

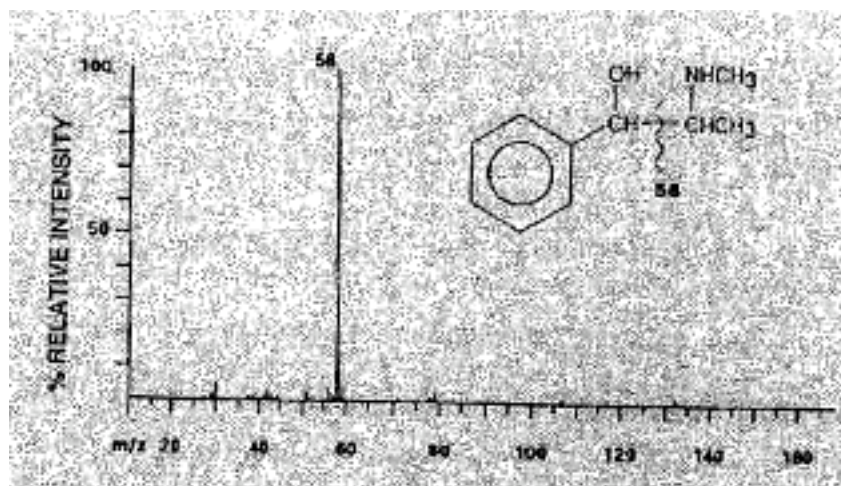


\rightarrow Formation de l'ion pseudomoléculaire MH^+ à $m/z = M + 1$

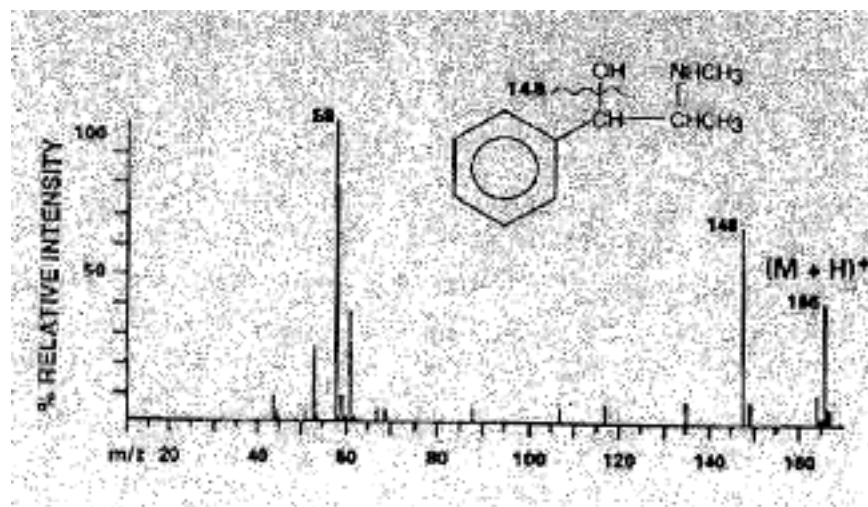
Possibilité d'adduits, ex MC_2H_5^+ (M + 29) ou MNH_4^+ (M + 18)

- ☺ - Peu de fragmentation \rightarrow masse moléculaire via ion pseudomoléculaire
- ☹ - Pas de comparaison / bibliothèques

Spectre de l'éphédrine : EI (70 eV)



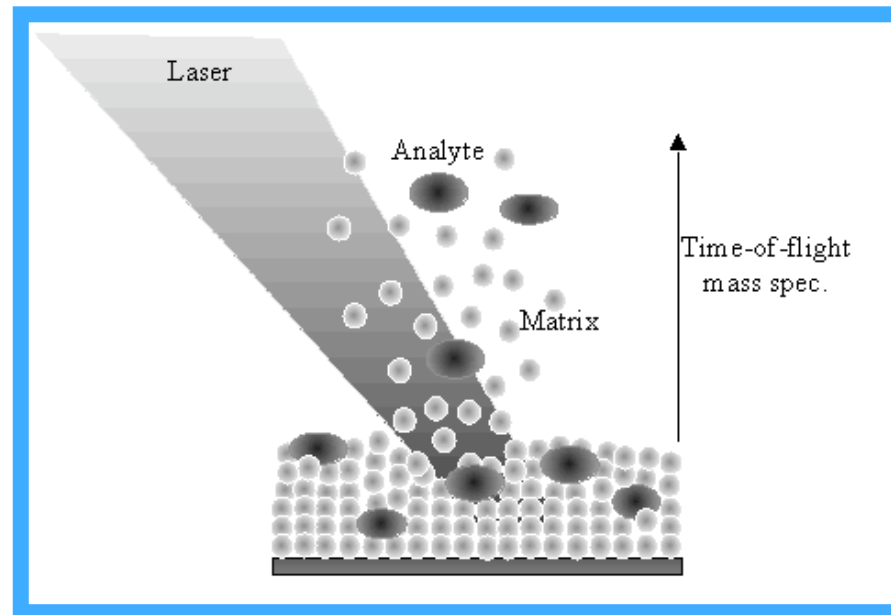
CI (CH_4)



IE et CI adaptées aux molécules organiques relativement volatiles → 1000 Da
Molécules de haut poids moléculaire (peptides, protéines,...) ???

IV.3. MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation)

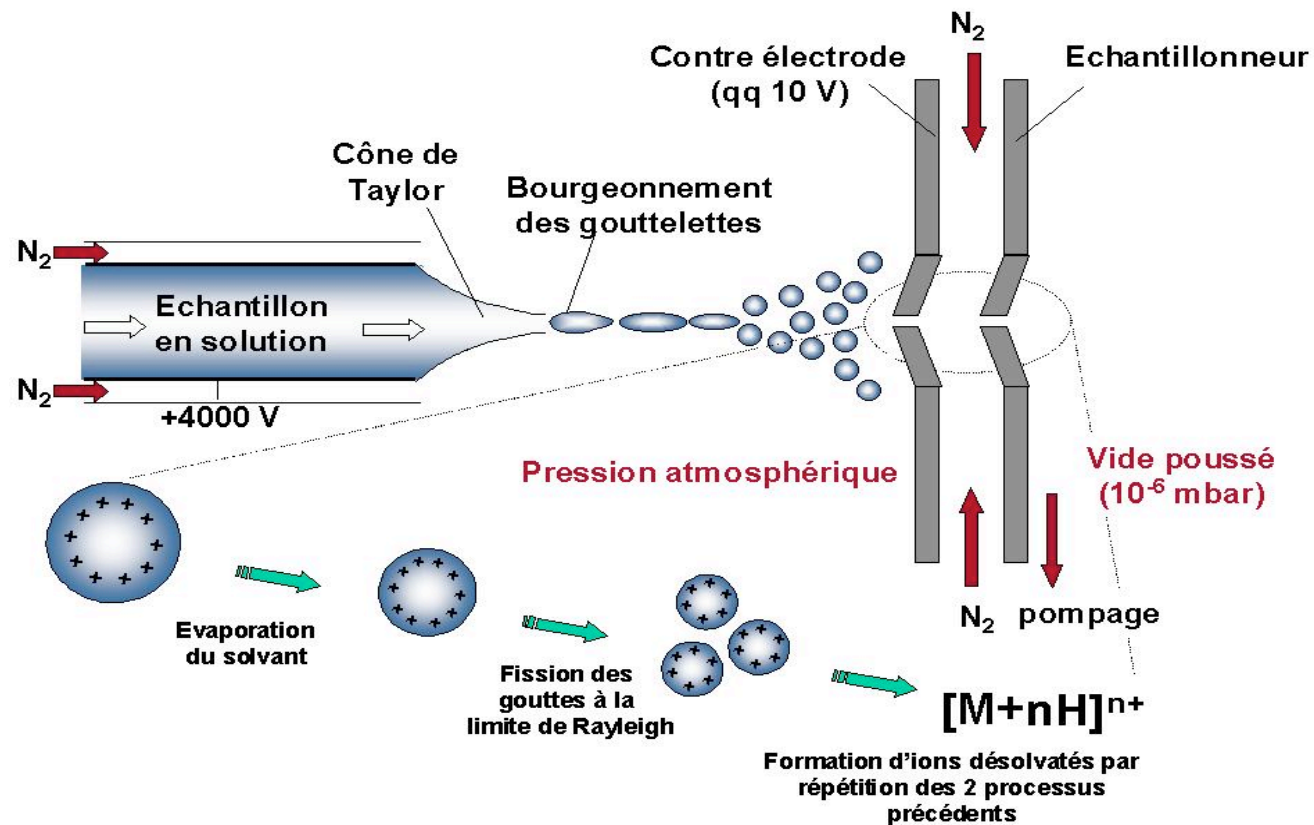
Échantillon mélangé à une matrice (ratio 1/50 000) absorbant à λ laser (337 nm pour N_2) → transfert de H^+ entre matrice photoexcitée et échantillon → désorption des ions.



- ☺ - Ionisation douce → pas de fragmentation
 - M très élevée (→ 500 000 Da)
- ☹ - Pas d'information structurale

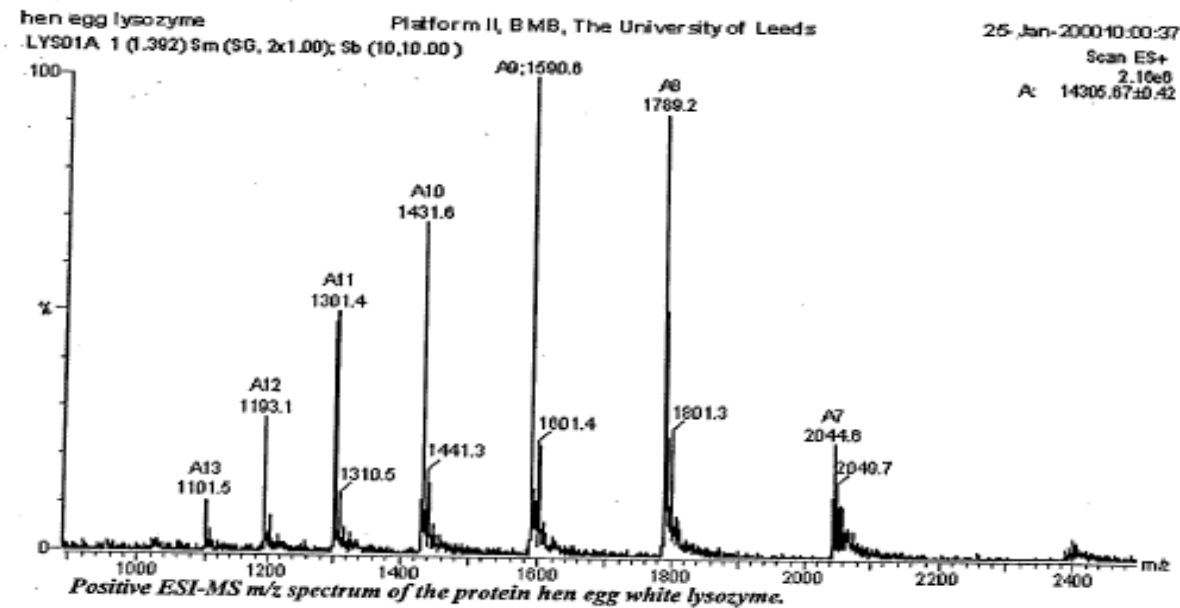
IV.4. Electrospray (ESI) (souvent couplé à HPLC)

Principe :



- Electrospray produit entre un capillaire métallique et contre-électrode → formation de gouttelettes chargées,
- Evaporation du solvant par N₂ chaud → diminution taille des gouttes → explosion Coulombienne → entrée dans le SM.

Exemple de spectre d'une protéine par électrospray : ions multichargés



- ☺ - ionisation douce → pas de fragmentation
- P atmosphérique → adaptée à **HPLC**
- M très élevé (→ 200 000 Da), molécules polaires, peu stables
- ☹ - Pas d'information structurale

IV.5. ICP (Inductively Coupled Plasma)

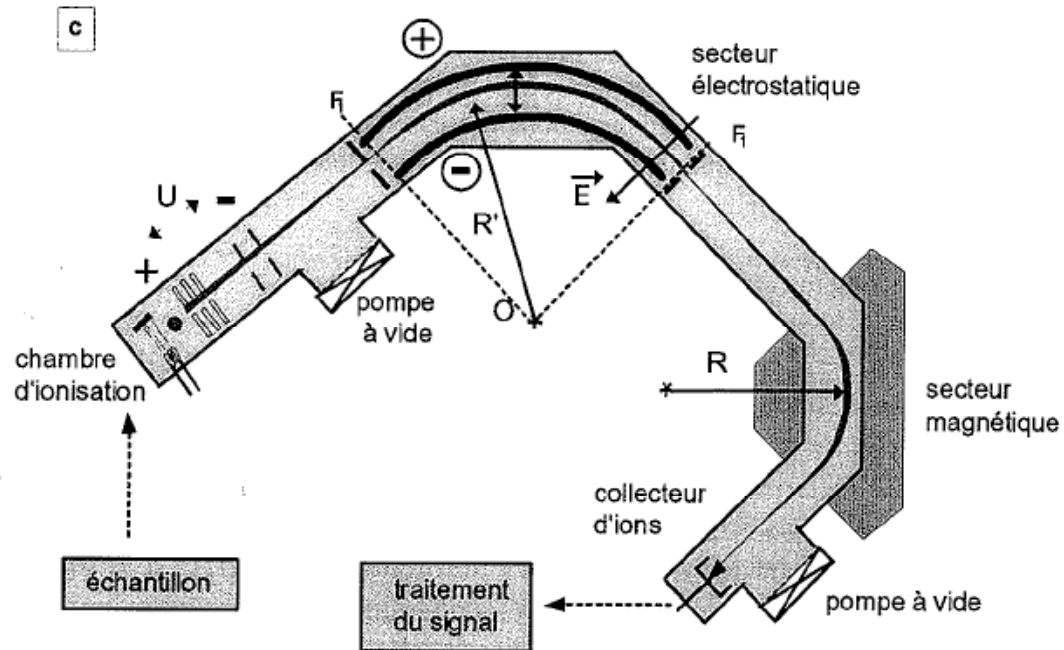
Ionisation dans une torche **plasma** (Ar) (T → 10000 K) : analyse des **éléments**

- ☺ - adaptée aux composés inorganiques, organométalliques
- très grande sensibilité : analyse ultratrace (ppt, ppq)
- ☹ - coût

V. Analyseurs

V.1. Electromagnétique (EB)

Analyseur à double focalisation (en direction et en énergie)

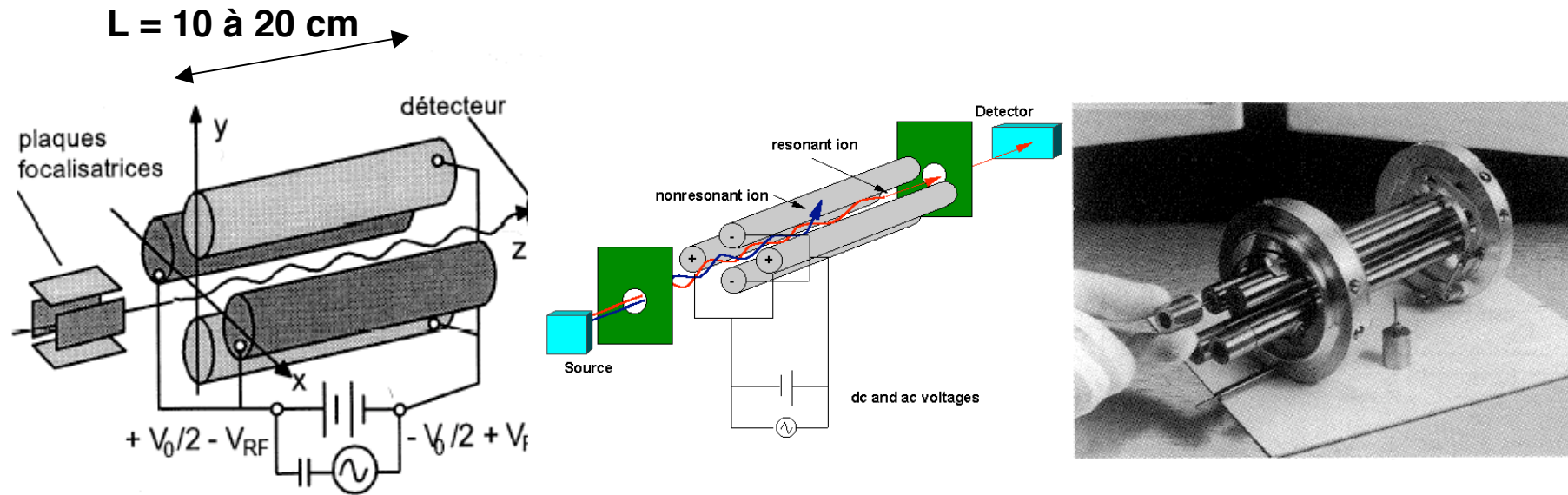


$$m/z = \frac{R^2 B^2}{2U}$$

En g^a , on maintient U constant et on fait varier B

- ☺ - haute résolution → masse exacte
- adapté à divers modes d'ionisation
- ☹ - coût, limité en masse

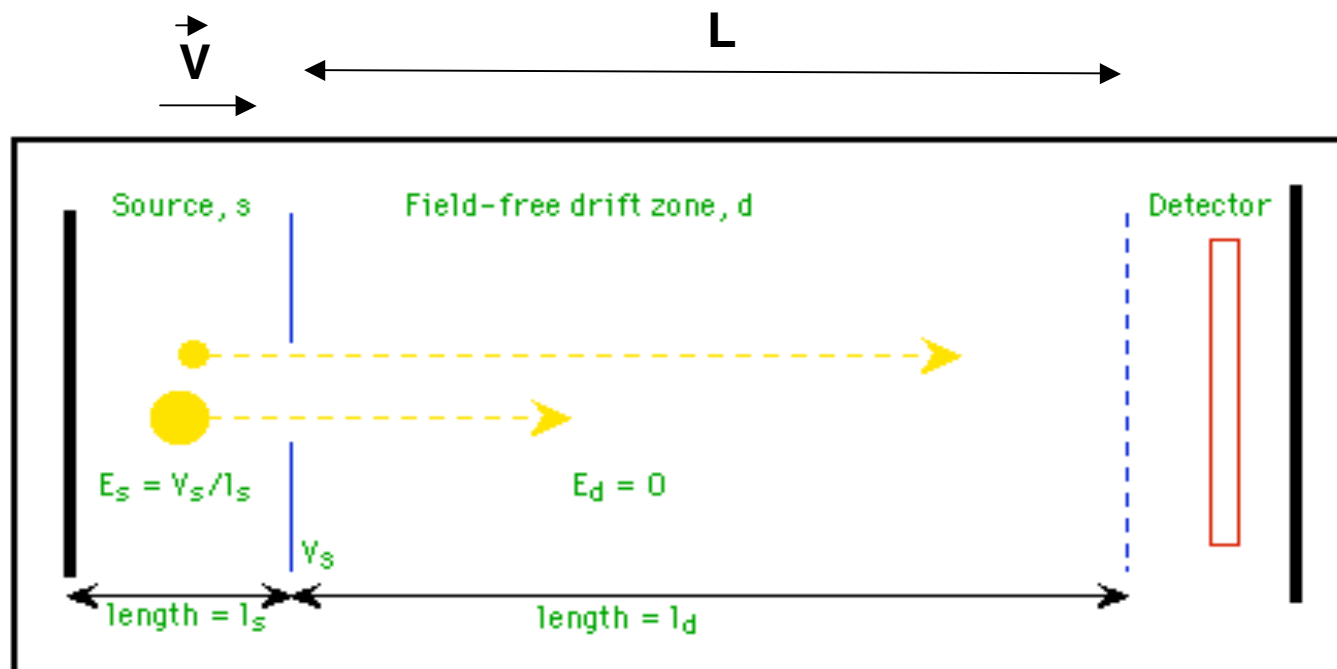
V.2. Quadripôle



En g^{al} , on maintient V_0 et V_{RF} constants et on fait varier v_{RF}

- ☺ - simple, peu coûteux, peu encombrant
- adapté au couplage GC → détecteur **GC/MS**
- ☹ - faible résolution (500)
- limité en masse (→ 2000)

V.3. Analyseur à temps de vol (TOF : Time of Flight)



$$m/z = \frac{2Vt^2}{L^2}$$

- ☺ - pas de limitation en masse en théorie (→ 300 000 Da)
- grande sensibilité
- ☹ - résolution moyenne (5000)

Différents isotopes des principaux éléments rencontrés en chimie

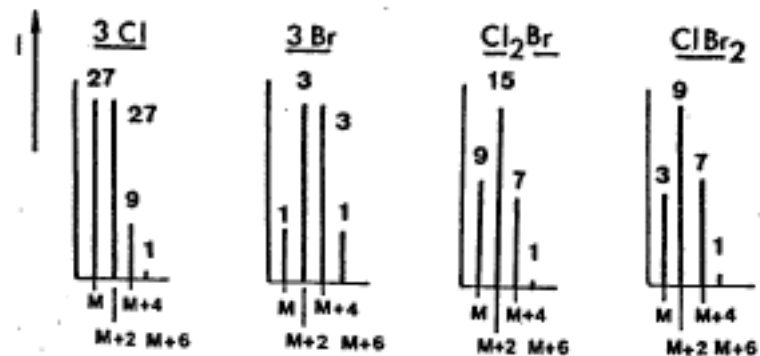
Elément	Masse molaire atomique (g.mol ⁻¹)	Nucléide (%)	Masse (Da)
Hydrogène	1,00794	¹ H (99,985)	1,007825
		² H (0,015)	2,014050
Carbone	12,01115	¹² C (98,90)	12,000000
		¹³ C (1,10)	13,003355
Azote	14,00674	¹⁴ N (99,63)	14,003074
		¹⁵ N (0,37)	15,000108
Oxygène	15,99940	¹⁶ O (99,76)	15,994915
		¹⁷ O (0,04)	16,999311
		¹⁸ O (0,20)	17,999160
Fluor	18,99840	¹⁹ F (100)	18,998403
Soufre	32,066	³² S (95,02)	31,972070
		³³ S (0,75)	32,971456
		³⁴ S (4,21)	33,967866
Chlore	35,45274	³⁵ Cl (75,77)	34,968852
		³⁷ Cl (24,23)	36,965903

<http://www.cchem.berkeley.edu/Table/>

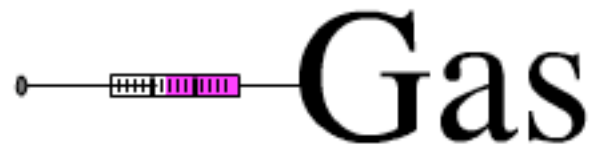
Molécules contenant C, H, N, O :

$$(M+1)/M = 1,1 \times n_C + 0,36 \times n_N$$

$$(M+2)/M = [1,12 \times n_C (n_C - 1)]/200 + 0,20 \times n_O$$



Exemples d'amas isotopiques



Gas Chromatography- Mass Spectrometry