

DEPARTEMENT DE PHARMACIE D'ANNABA  
LABORATOIRE DE CHIMIE ANALYTIQUE

# SPECTROMETRIE DE MASSE

Présenté par:  
Dr. HARZALLAH.L

# PLAN

1- Introduction

2- Principe

3 - Informations fournies par un spectre SM

4- Appareillage

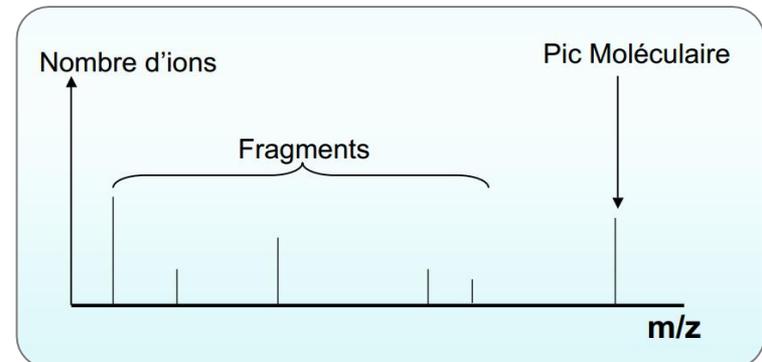
5 - Conclusion

# INTRODUCTION

La spectrométrie de masse est une technique analytique qui permet de mesurer les rapports masse/charge ( $m/z$ ) de molécules individuelles ou ionisées et de leurs produits de fragmentations.

Quelles sont les informations fournies  
par un spectromètre de masse ?

- La masse moléculaire d'un composé.
- La masse des fragments de ce composé.
- Une mesure de la quantité.



# PRINCIPE

La masse moléculaire est déduite du rapport  $m/z$  du pic moléculaire dans le spectre. Celui-ci correspond à un ion qui contient tous les atomes de la molécule étudiée, sans qu'il y ai rupture d'une liaison.

La molécule a été ionisée grâce à la perte ou au gain d'une charge électrique.

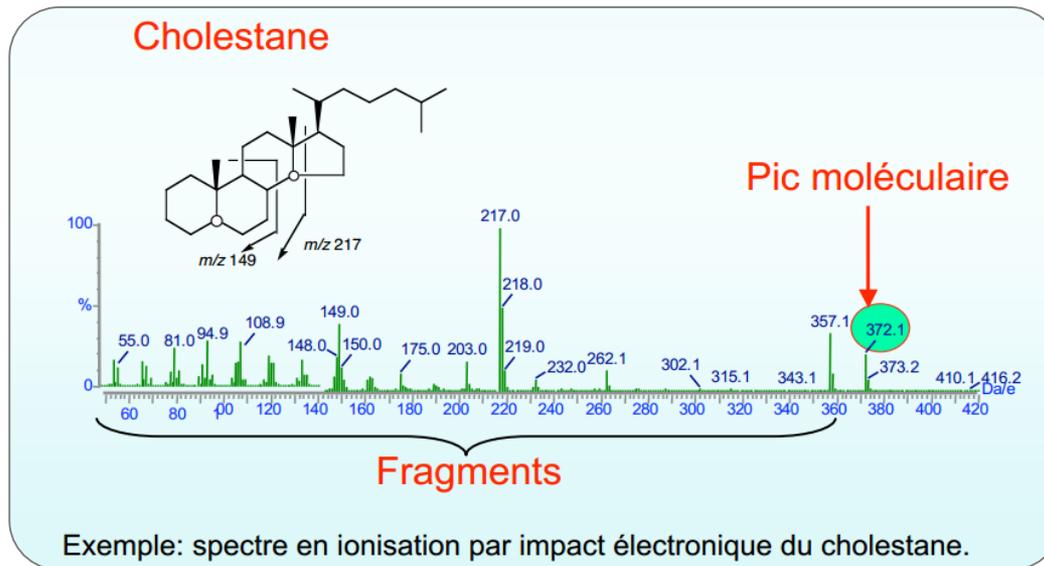
La masse moléculaire correspond à la composition élémentaire (formule brute) de l'ion moléculaire.

# INFORMATIONS FOURNIES PAR UN SPECTRE SM

La valeur  $m/z$  du pic moléculaire permet de calculer la masse moléculaire

Les pics de fragmentation permettent de reconstituer une partie de la structure

L'intensité des pics permet de faire une analyse quantitative



Exemple: spectre en ionisation par impact électronique du cholestane.

Fragments

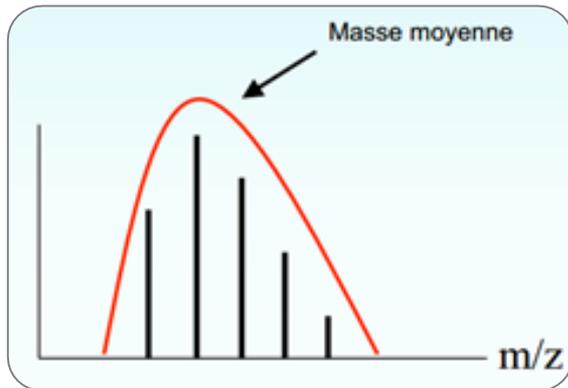
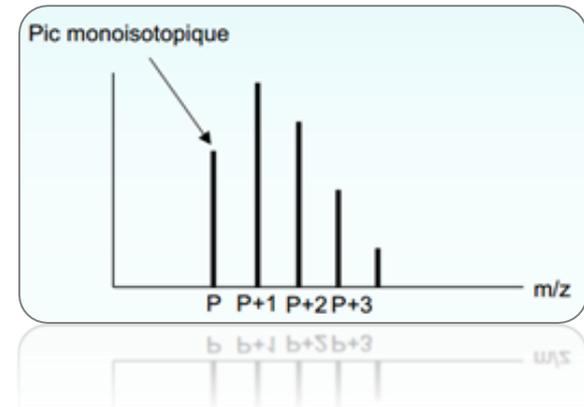
# INFORMATIONS FOURNIES PAR UN SPECTRE SM

## Quelle masse mesure-t-on ?

### 1/Masse monoisotopique:

Masse du premier pic du profil isotopique c'est-à-dire celle qui ne prend en compte que les masses des isotopes les plus stables ( $C^{12}$ ,  $H^1$ ,  $O^{16}$ ,  $S^{32}$ ,  $N^{14}$ ...).

Dans le massif isotopique, la masse monoisotopique est appelée le pic P.



Les autres pics du massif isotopique sont appelés les pics P+1, P+2, P+3,....

Il contiennent tous au moins 1 des isotopes lourds d'un élément.

### 2/Masse chimique ou moyenne:

Le barycentre (centroïde) des masses des pics constituant le profil isotopique c'est-à-dire la masse qui prend en compte la masse des éléments données par le tableau périodique ( $C=12.011$ ).

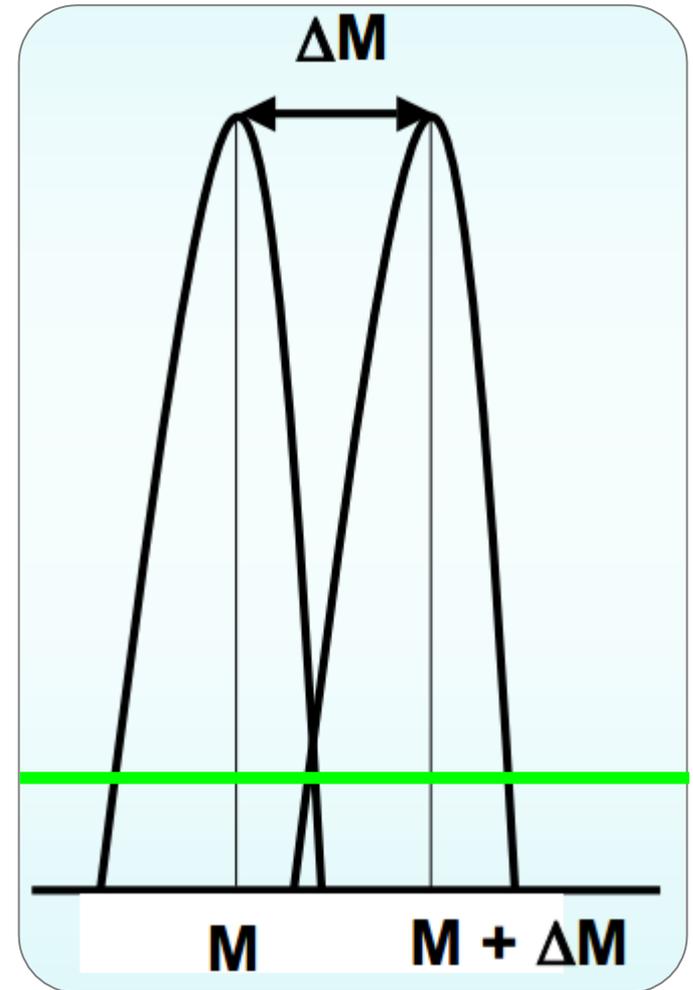
# INFORMATIONS FOURNIES PAR UN SPECTRE SM

De quoi dépend la masse mesurée ?

La résolution mesure l'aptitude d'un analyseur à séparer l'ion  $M$  de l'ion  $M + \Delta M$ .

$$R = M / \Delta M$$

Vallée à 10%



$M$

$M + \Delta M$

# INFORMATIONS FOURNIES PAR UN SPECTRE SM

Quelles sont les unités de mesure ?

La masse s'exprime en Dalton (Da)

$$1 \text{ Da} = 1/12 \cdot 12 \cdot 10^{-3} \text{ kgmole}^{-1} / N$$

$$1 \text{ Da} = 1,66 \cdot 10^{-27} \text{ kg}$$



APPAREILLAGE

# Un spectre SM mesure la masse de molécules isolées

## Un Spectromètre de masse doit assurer les opérations suivantes:

1. Volatiliser: séparer les molécules les unes des autres: on passe de l'état de matière condensée à un état gazeux.

2. ioniser: transformer les molécules en ions, car un spectromètre de masse fonctionne grâce à des champs électriques.

3. Mesurer le rapport  $m/z$ : la masse moléculaire est calculée à partir d'un rapport masse ( $m$ )/nb de charge ( $z$ ).

# De quoi est constitué un SM ?

Source

Obtention d'ions  
en phase gazeuse

Interface

Focalisation et  
transmission des  
ions

Analyseur

Séparation des  
ions en fonction  
de  $m/z$

# APPAREILLAGE

De quoi est constitué un SM ?

Source

Obtention d'ions  
en phase gazeuse

Interface

Focalisation et  
transmission des  
ions

Analyseur

Séparation des  
ions en fonction  
de  $m/z$

La source d'ions: pour volatiliser et ioniser

Ces opérations peuvent se faire simultanément ou successivement selon le type de source d'ions.

Leurs mécanisme intime est souvent mal connu.

# APPAREILLAGE

## De quoi est constitué un SM



L'analyseur: pour mesurer  $m/z$ .

Il mesure les valeurs du rapport: masse/nb de charge (appelé  $m/z$ ).

C'est une partie de l'appareil où règne un vide suffisant pour que le libre parcours moyen des ions soit supérieur à la distance parcourue dans l'appareil pour atteindre le détecteur.

# APPAREILLAGE

## De quoi est constitué un SM

Source

Obtention d'ions  
en phase gazeuse

Interface

Focalisation et  
transmission des  
ions

Analyseur

Séparation des  
ions en fonction  
de  $m/z$

Ceci implique:

- des champs électrostatiques très précis pour guider et déplacer les ions dans l'appareil (lentille électrostatique, optique ionique).
- un vide suffisant pour que les ions puissent se déplacer sans être détruits ou divisés par les molécules résiduelles (notion de libre parcours moyen).

# La Source d'ions

Son Rôle est de volatiliser et ioniser les analytes

Le principe qui permet de volatiliser et d'ioniser un type de composé est choisi par l'opérateur en fonction des caractéristiques de la molécule à analyser.

Les critères de choix principaux sont:

- La volatilité et la stabilité thermique du composé à analyser.
- Sa labilité chimique.
- Les fonctions chimiques présentes et leur aptitude à induire une ionisation
- la taille des molécules
- Les quantités de produits disponibles.
- Le type d'introduction souhaitée (directe ou en couplage chromatographique)

Les sources d'ions se classent  
en sources « dures » et en sources « douces »

Les sources dures

✘ Génèrent des ions moléculaires, à nombre impair d'électrons, qui se fragmentent beaucoup et parfois même totalement.

Les sources douces

✓ Génèrent des ions moléculaires, à nombre pair d'électrons relativement stables

# Quelles informations peuvent être rapportées par une source à ionisation ?

## Les sources dures

- ✓ La masse moléculaire du composé.
- ✓ La masse des fragments de ce composé.
- ✓ Une mesure de la quantité.

## Les sources douces

- ✓ La masse moléculaire du composé.
- ✓ Pas de fragmentation.
- ✓ Une mesure de la quantité.

# Sources d'ions

## Les sources d'ionisation les plus courantes

La source à plasma induit couplé (Induced Coupled Plasmas: ICP-MS)	Très dure
La source à impact électronique (EI)	Dure
La source à ionisation chimique (CI)	Assez douce
La source à ionisation chimique par désorption (DCI)	Assez douce
L'ionisation par thermo-spray (TSP)	Assez douce
La désorption par champs (FD)	Assez douce
L'ionisation par bombardement d'ions ou d'atomes rapides (LSIMS FA)La	Assez douce
désorption par plasma (PD)	Assez douce
La désorption laser (LD)	Assez douce
L'ionisation chimique à pression atmosphérique (API ou APCI)	Assez douce
La photoionisation (APPI)	Assez douce
L'ionisation laser assistée par matrice (MALDI)	Douce
L'électronebulisation (électro-spray: ES ou ESI)	Douce

# Analyseurs

## Pour mesurer le rapport $m/z$

C'est une partie de l'appareil où règne un vide suffisant pour que le libre parcours moyen des ions soit supérieur à la distance à parcourir dans l'appareil pour atteindre le détecteur.

B	Déflexion par un champ magnétique (c'est l'analyseur le plus ancien)
Q	Déflexion par un champ quadripolaire
IT	Confinement dans un piège à ion (Ion Trap)
TOF	Mesure d'un temps de vol (Time Of Flight)
FT-ICTR	Résonance Cyclotronique d'ions à Transformée de Fourier

Il est possible de coupler plusieurs analyseurs (MS-MS et MS<sub>n</sub>) en utilisant le pouvoir séparateur de chaque analyseurs.

Ceux-ci peuvent être identiques ou différents.

# Analyseurs

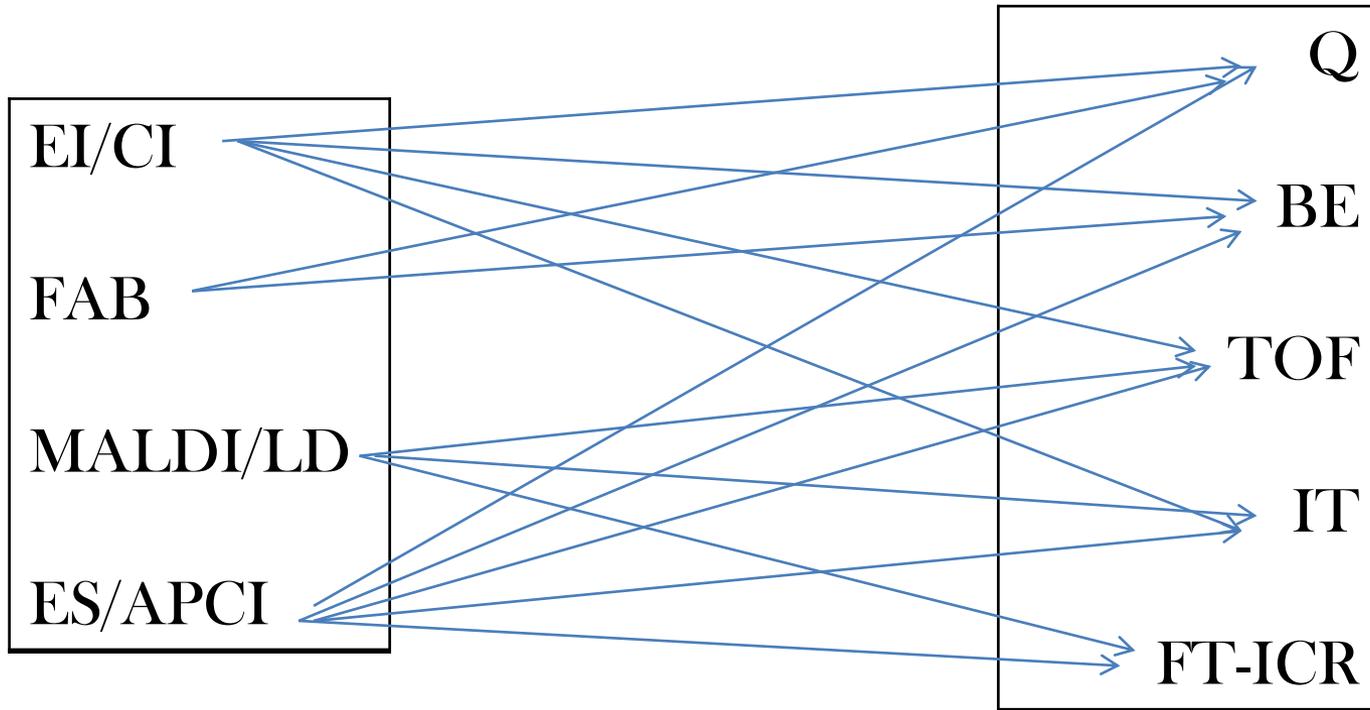
## Les caractéristiques principales

- La résolution R
- La gamme m/z qu'il peut analyser
- La rapidité de balayage en m/z
- La sensibilité
- La vitesse avec laquelle les ions le traversent

Analyseur	Résolution	Gamme m/z
Quadripôle (Q)	2 000	8 000
Magnétique (EB)	20 000	20 000
Temps de vol (TOF)	20 000	500 000
Trappe ionique	5 000	6 000
Cyclotron à résonance des ions (FT-ICR)	1 000 000	4 000

# Analyseurs

Couples source/analyseur disponible dans le commerce



# La spectrométrie de masse à plusieurs dimensions

## Plusieurs analyseurs se succèdent

Les analyseurs peuvent être couplés et agir de façon séquentielle. On parle alors de spectrométrie de masse à plusieurs dimensions.

- Un premier analyseur sélectionne les ions avec un certain  $m/z$ .
- On purifie donc un ion présent dans un mélange d'ion qui peut être très complexe.
- L'ion purifié est alors fragmenté dans une chambre de collision.
- Un deuxième analyseur mesure alors les  $m/z$  des fragments.

C'est de la MS-MS (spectrométrie de masse en tandem)

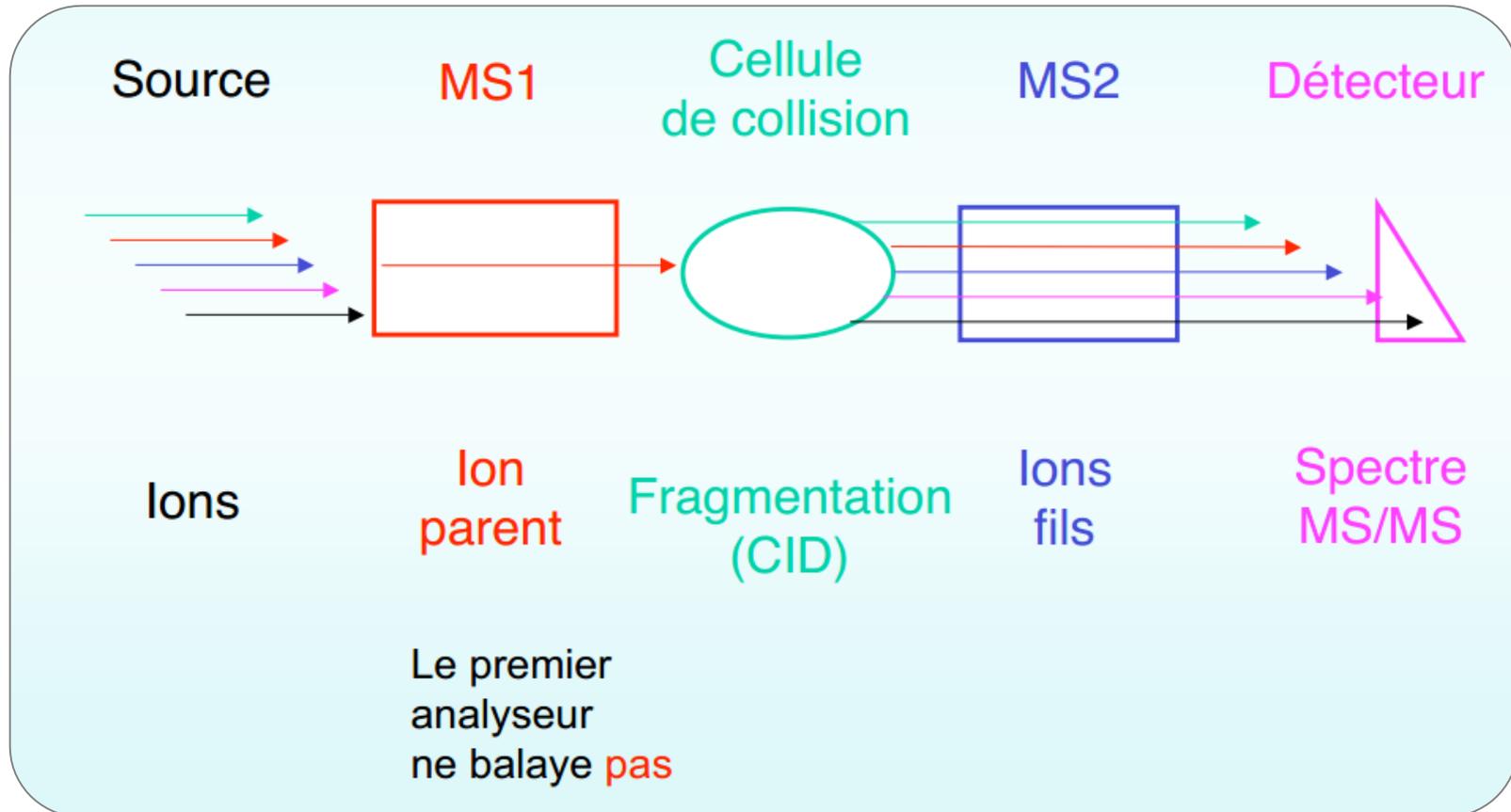
Si on répète l'opération, on fait de la MS-MS-MS ou MS<sup>3</sup>

Certains appareils permettent de faire de la MS<sup>10</sup>

La Ms est un puissant outil de détermination de structure

# La spectrométrie de masse à plusieurs dimensions

## Principe de la MS/MS -étude d'ions fils-



ne balaye pas  
analyseur  
le premier

# La spectrométrie de masse à plusieurs dimensions

## Les analyseurs MS<sub>n</sub>

---

### La MS-MS peut être réalisée par:

Deux quadripôles	Q-Q
Un quadripôle et un analyseur à temps de vol	Q-TOF
Deux analyseurs à temps de vol	TOF-TOF
Un piège à Ion (Ion Trapp)	IT
Une résonance cyclonique d'ion à transformée de Fourier	FT-ICR

---

### La MS<sub>n</sub> peut être réalisée par

Un piège à Ion (Ion Trapp)	IT
Une résonance cyclonique d'ion à transformée de Fourier	FT-ICR

---

# Conclusion

La spectrométrie de masse est le secteur le plus dynamique de l'industrie analytique.

Elle a de nombreuses applications sachant que les appareils peuvent être utilisés comme simples détecteurs en association avec les méthodes séparatives (chromatographie, électrophorèse), pour faire des analyses élémentaires, isotopiques, trouver les formules empiriques ou élucider les structures des composés organiques et même maintenant devenir indispensable dans les domaines de la génomique et de la protéomique.