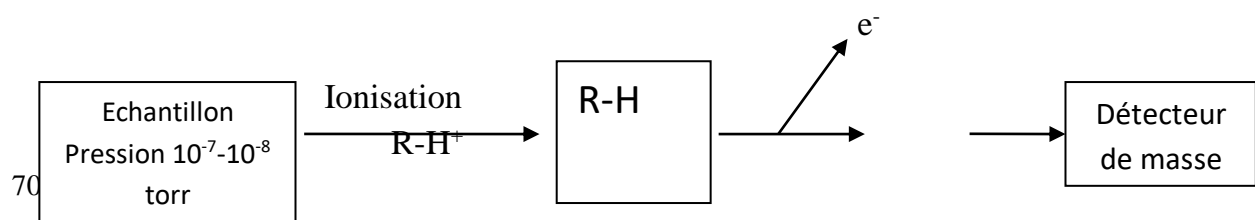


# La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse mesure avec précision la masse de différentes molécules dans un échantillon. Même les grandes biomolécules comme les protéines, ce qui signifie que les biologistes peuvent effectuer des expériences très intéressantes en utilisant la spectroscopie de masse,

La spectrométrie de masse est une technique en phase gazeuse - l'échantillon doit être «vaporisé». C'est une méthode qui donne le rapport masse / charge, des molécules ionisées dans l'échantillon étudiés.

## Principe :



Le principale Schéma d'un spectromètre de masse :

- 1- Une source d'ionisation des molécules dans l'échantillon.
- 2- Un système de dispersion, qui assure la séparation des ions par le rapport masse / charge
- 3- fragmentation des ions sélectionnés et analyse des fragments obtenus dans un deuxième analyseur.
- 4- Un détecteur mesurant l'abondance relative de chaque ion et qui transforme les ions en signaux.
- 5- Traitement des signaux du détecteur.

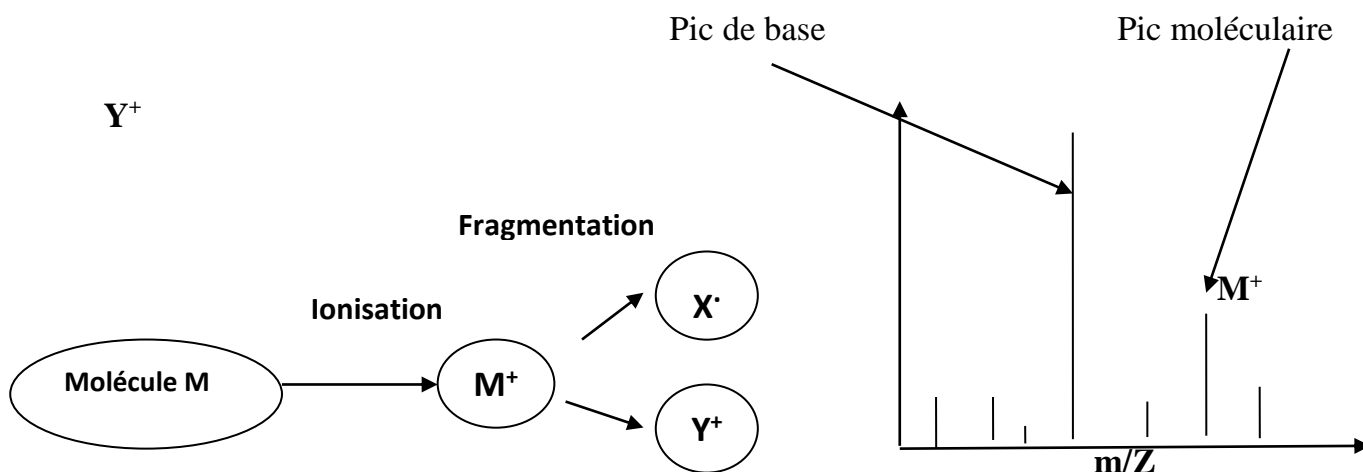
**Donc Le spectromètre de masse comporte trois étapes clés:** Ionisation, la dispersion et la détection

**1-Ionisation :** La spectrométrie de masse est une technique en phase gazeuse - l'échantillon doit être «vaporisé». Ensuite, un faisceau d'électrons convertit les vapeurs en ions. Parce que le spectromètre de masse donne le rapport masse / charge, donc l'échantillon doit être un ion. Et seuls les ions seront identifiés et les molécules neutres ne seront pas détectées.

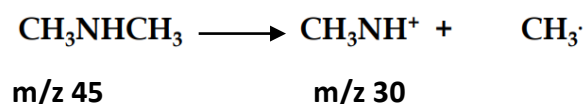
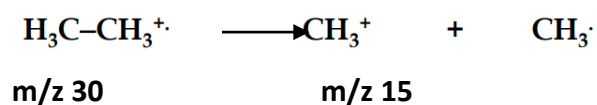


## 2-Fragmentation

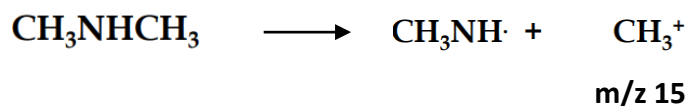
L'interaction avec les électrons à confère suffisamment d'énergie pour créer un cation et souvent d'énergie interne élevée. Cela conduit souvent à une fragmentation du cation.



### Exemples de fragmentation:



Ou



## 2-Dispersion

Les ions positifs créés dans la phase d'ionisation accélèrent vers les plaques négatives à une vitesse dépendant de leur masse. En d'autres termes, les molécules plus légères se déplacent plus rapidement que les plus lourdes. Les ions sont ensuite déviés par un champ magnétique, et traversent le spectromètre à différentes vitesses selon leurs valeurs de  $m/z$ .

## 3-Détection

Des ions de masse croissante finissent par atteindre le détecteur l'un après l'autre, puis sont transférés à l'ordinateur pour fournir un spectre.  $m/Z$  en abscisse et abondance relative sur l'axe des y

### Le spectre de masse

→ La hauteur des pics représente l'abondance relative en%

→  $m/Z$  représente la masse de l'ion fragmenté

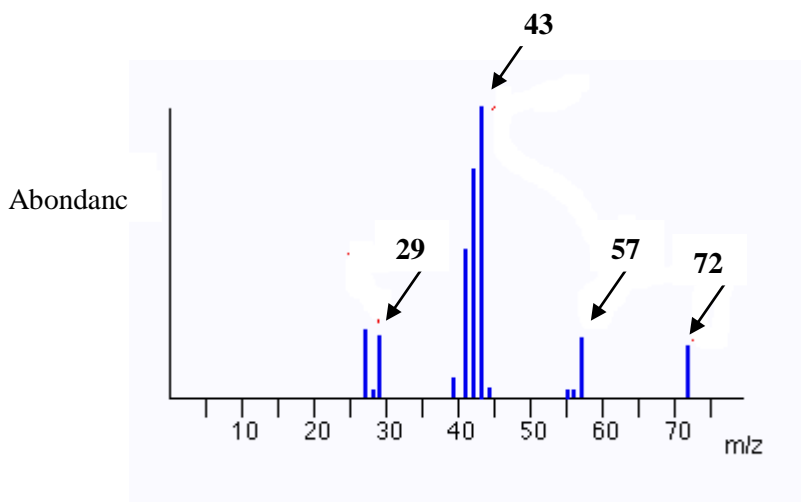
Le spectre de masse comporte 3 catégories de pics

- 1- Des pics correspondant aux Nombre d'ions fragmentés
- 2- Le pic le plus haut est le pic de base (100%)
- 3- Le pic qui correspond au cation radicalaire non fragmenté est le pic précurseur ou pic ou ion moléculaire ( $M + \cdot$ )

Les formules possibles peuvent être prédites à partir de  $m/z$  ( $M + \cdot$ )

Exemples :

Identifier les fragments (Pics) dans un spectre de masse d'un hydrocarbure saturé.



$m/Z = 57$  pour 5 carbones :  $5 \times 12 = 60$ ,  $60 > 57$

Pour 4 carbones :  $4 \times 12 = 48$ , il reste 9 pour un total de 57 donc c'est l'ion  $C_4H_9^+$



$m/Z = 43$

Pour 4 carbones :  $4 \times 12 = 48$   $48 > 43$

Pour 3 carbones :  $3 \times 12 = 36$  il reste 7 pour un total de 43 donc c'est l'ion  $C_3H_7^+$

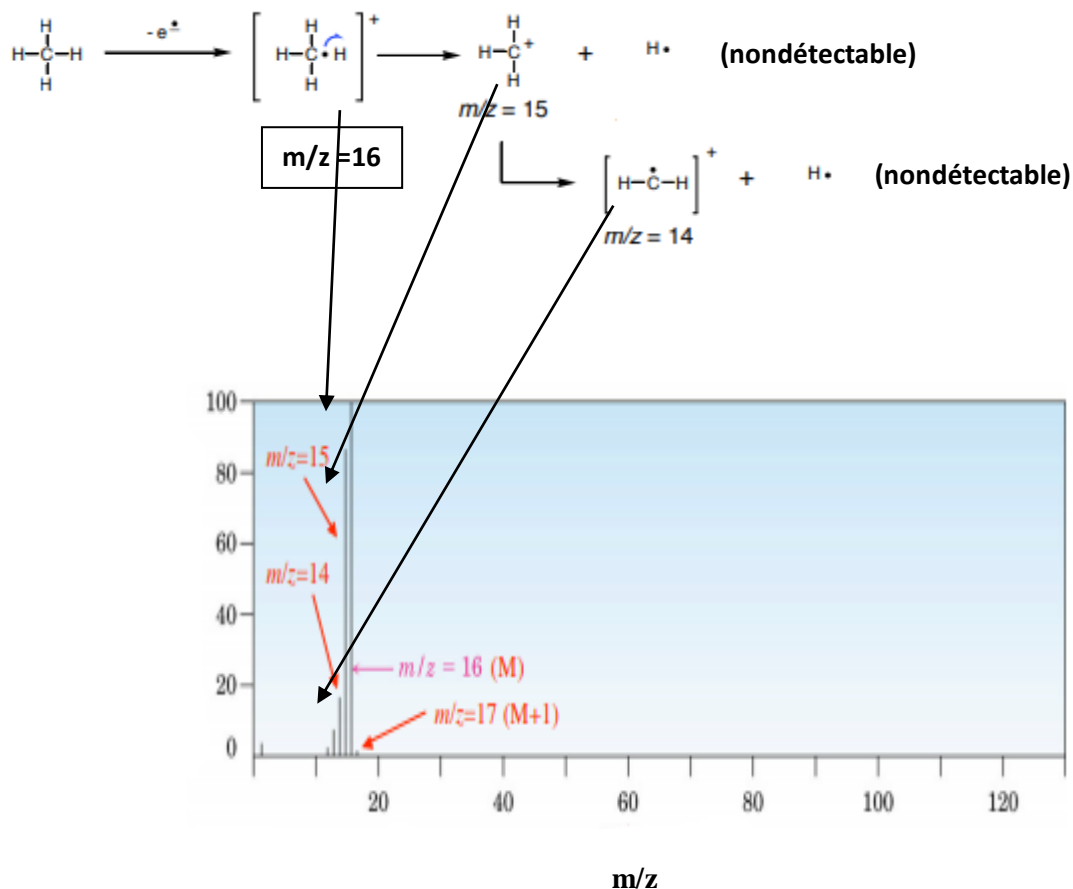


$m/Z = 29$  pour 2 carbones :  $2 \times 12 = 24$ , il reste 5 pour un total de 29 donc c'est l'ion  $C_2H_5^+$



$m/Z = 72$  correspond à  $5 \times 12 = 60$  qui correspond à :  $[CH_3CH_2CH_2CH_2CH_3]^{\ddagger}$

## Exemple 2.



### Remarque :

1-Certains molécule peuvent être prédites à partir de la valeur de  $m/z$  ( $M + \bullet$ )

Les formules moléculaires contenant C, H et O si: la valeur de  $M^+$  est

$m/z = 86$  ,  $m/z = 156$

2-pour les hydrocarbures contenant C et H.

Si l'ion moléculaire  $M^+$ .

-Divisez la Masse de l'ion  $M^+$  par 13, pour avoir le nombre de carbones

.-le reste de la division est un H supplémentaire

### Exemple :

$m/z = 78$

$78/13 = 6$  et  $6 \times 13 = 78 \longrightarrow n = 6$  la formule est  $C_6H_6$

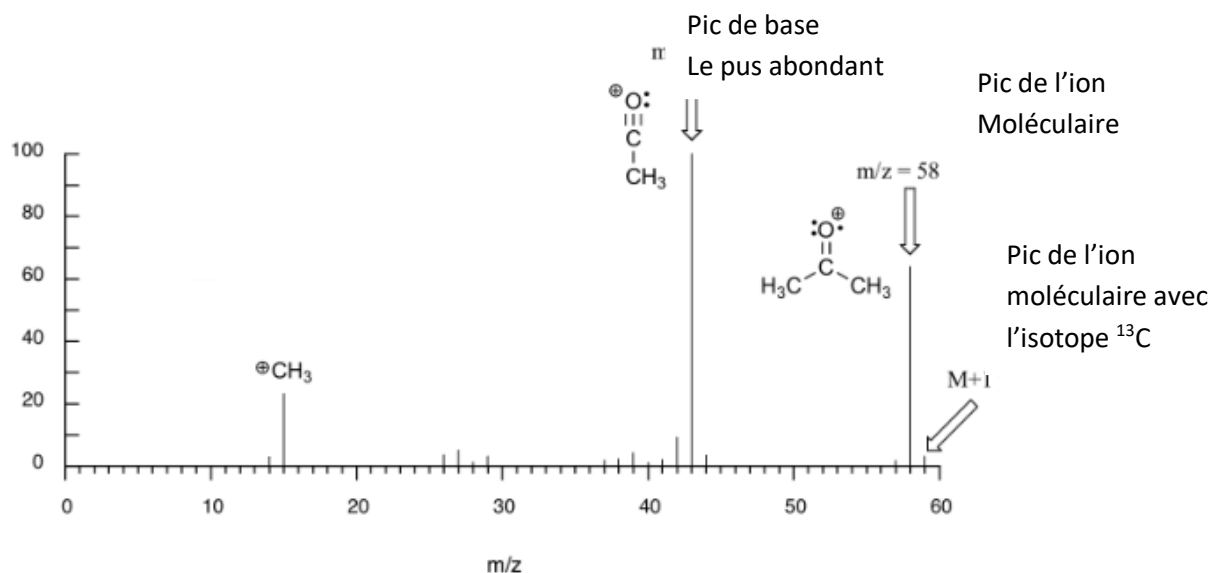
$m/z = 92$

$92/13 = 7.077 = 7$  et  $7 \times 13 = 91$ , 1 supplémentaire ~~la formule est  $C_7H_{7+1}$~~   $C_7H_8$

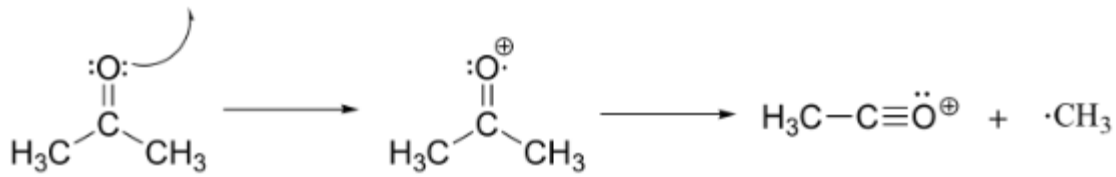
### Les isotopes :

Des pics au-dessus du poids de pic de l'ion moléculaire  $M^+$  apparaissent en raison des isotopes plus lourds.

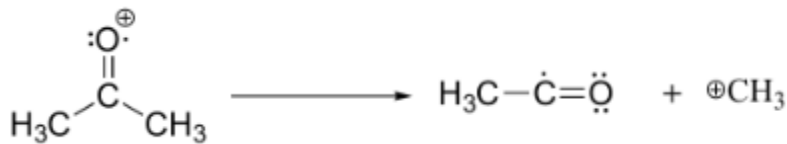
#### 1-Isotopes ( $M + 1$ )



Le masse moléculaire de ce composé (acétone) est de 58, donc le pic à  $m/z = 58$  correspondant au pic d'ions moléculaires, ou pic parent.



Ou



Notons l'apparition d'un pic de faible intensité environ à  $m/z = 59$ : c'est ce qu'on appelle le pic **M + 1**.

### Explication :

Le carbone existe sous forme de  $^{12}\text{C}$  et  $^{13}\text{C}$  appelé isotopes, l'isotope  $^{13}\text{C}$  est, bien sûr, plus lourd que  $^{12}\text{C}$  par 1 unité de masse (M+1). Le pic M + 1 représente donc les quelques molécules d'acétone dans l'échantillon qui contenaient le  $^{13}\text{C}$

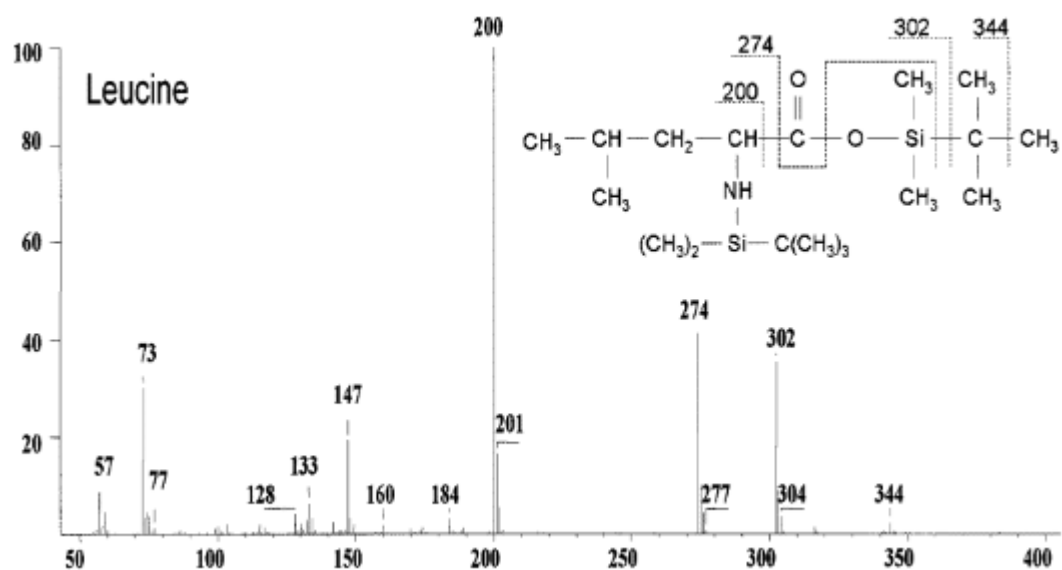
### 2-Isotopes (M + 2)

Le spectre peut avoir un autre pic M + 2 plus grand que le pic moléculaire, en raison de la présence d'une petite quantité de  $^{18}\text{O}$ , mais l'isotope d'oxygène le plus abondant est  $^{16}\text{O}$ , pour cela le pic M + 2 de l'isotope  $^{18}\text{O}$  n'apparaît pas dans le spectre de masse de la molécule d'acétone.

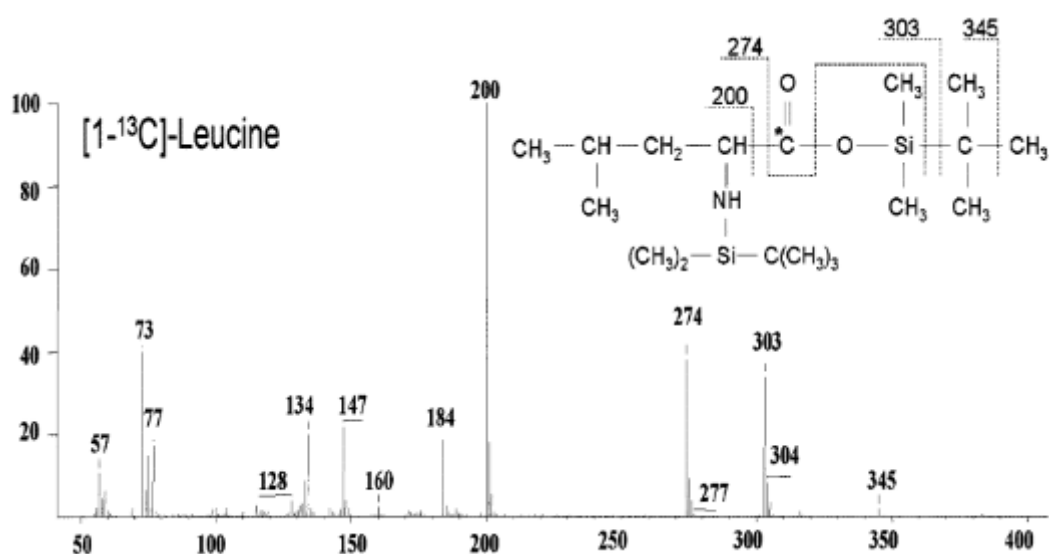
### Application de la spectrométrie de masse en biologie

Exemple.

Spectres de masse de la leucine et de la [1- $^{13}\text{C}$ ] leucine. Marzia Galli Kienle, Fulvio Magni, in *Methods in Enzymology*, 2000



Spectres de masse de la [ $^{13}\text{C}$ ] leucine

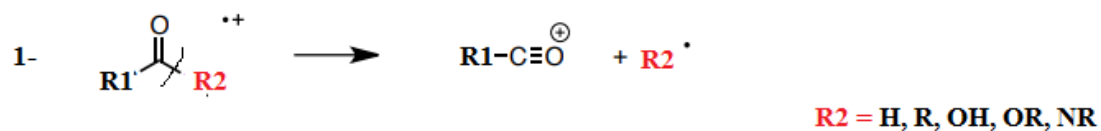


# Fragmentations des groupements fonctionnels

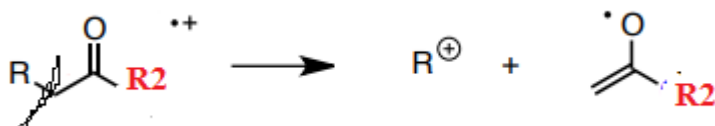
## Groupement carbonyle C=O

### Types de fragmentations

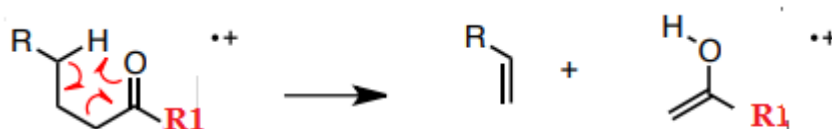
#### $\alpha$ -cleavage



#### $\beta$ -cleavage

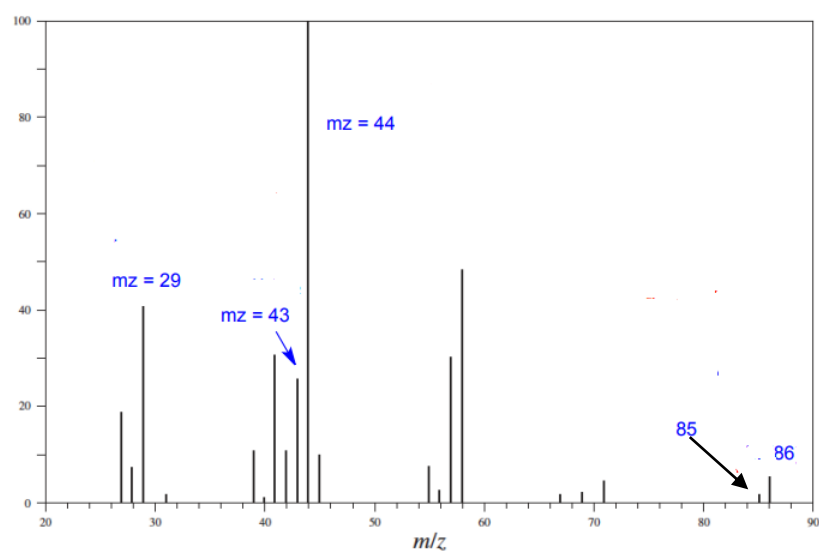


#### Rearrangement de McLafferty



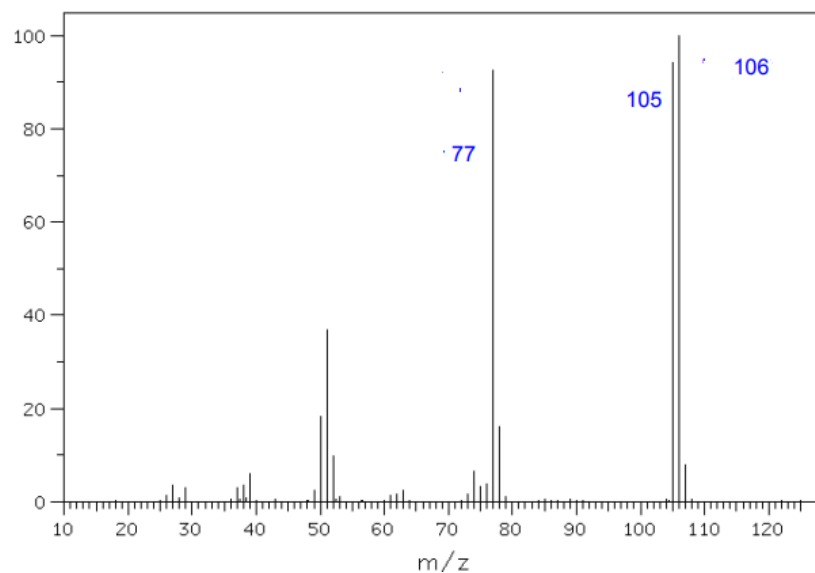
### Fragmentation des aldehydes

#### 1-Aldehydes aliphatiques



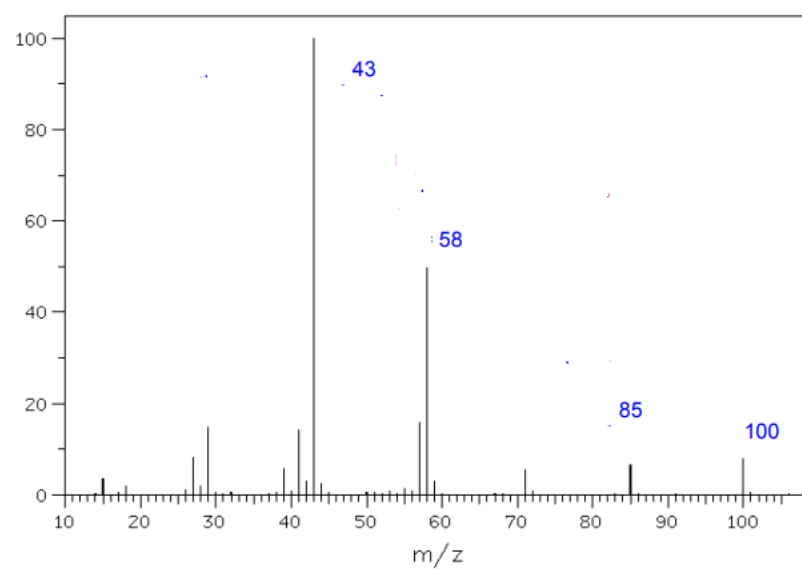


## 2-Aldehydes Aromatiques

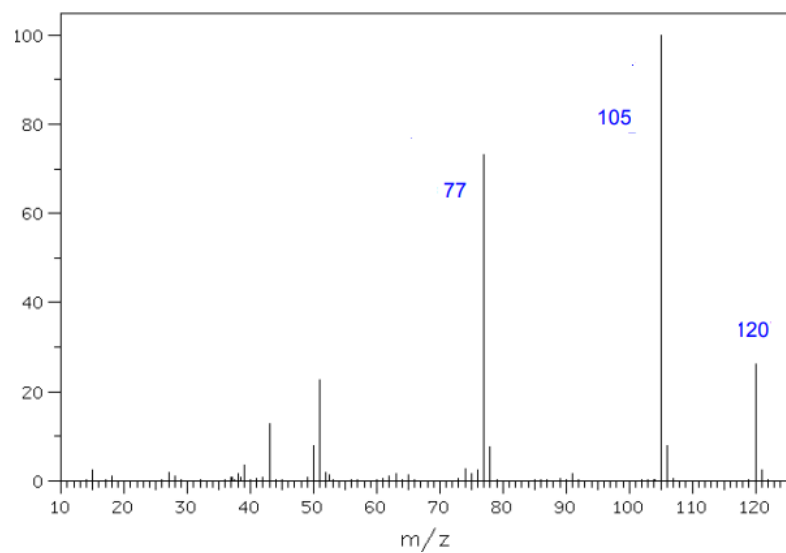


Fragmentation des Cétones.

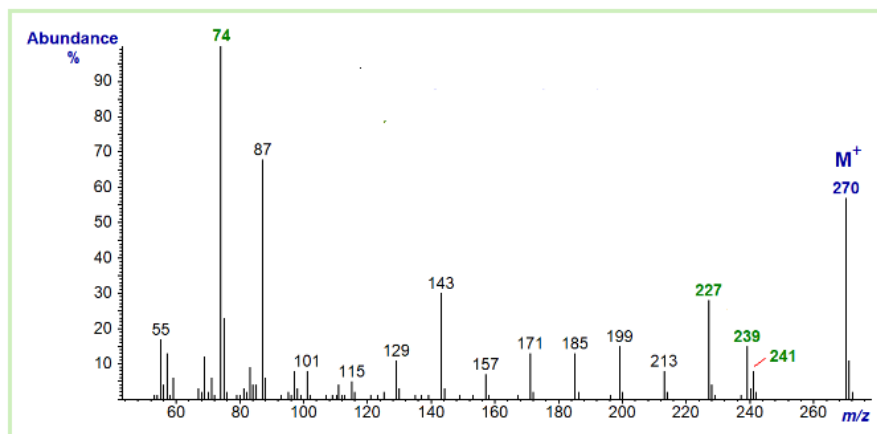
## 1-Cétones aliphatiques



## 1-Cétones Aromatiques



## Fragmentation des esters



$m/z = 241 : 270 - 241 = 29$ . Représente une perte de 29 unités de masse

$12 \times 2 = 24$  il reste 5 : soit un 5H donc  $\text{CH}_3\text{-CH}_2$  Donc :  $\text{M- CH}_3\text{-CH}_2\text{+}$

$m/z = 239 : 270 - 239 = 31$ . Représente une perte de 31 unités de masse

soit  $12 + 16 = 28$  il reste 3 soit un 3H donc  $\text{CH}_3\text{-O}$  Donc :  $\text{M- CH}_3\text{-O+}$

$m/z = 227 : 270 - 227 = 43$ . Représente une perte de 43 unités de masse

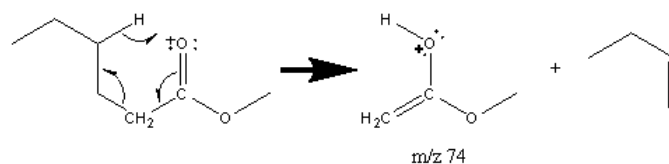
soit :  $12 \times 3 = 36$ , il reste 7 : soit 7H :  **$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{+}$**

Soit :  $12 \times 2 + 16 = 40$ , il reste 3H :  **$\text{CH}_3\text{-C=O}$**

**Le deuxième cas est à exclure, il ne confirme pas  $m/z = 239$**

$m/z = 73, 87, 101, 115, 129, 143, 157, 199, \dots$  correspond aux fragments :  $\text{CH}_3\text{OCO}(\text{CH}_2)_n$ , avec  $n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, \dots$

**$m/z = 74 : 15 + 16 + 12 + 16 + 14 = 73$ . Un réarrangement de 'McLafferty permet d'obtenir l'ion fragment  $m/z = 74$**



## Fragmentation des Esters

- Ion moléculaire  $M^+$  d'intensité faible ou moyenne ; forte pour les aromatiques.

► Perte de radical alcoxy ( $R-O\cdot$ ) plus importante des réactions de clivage

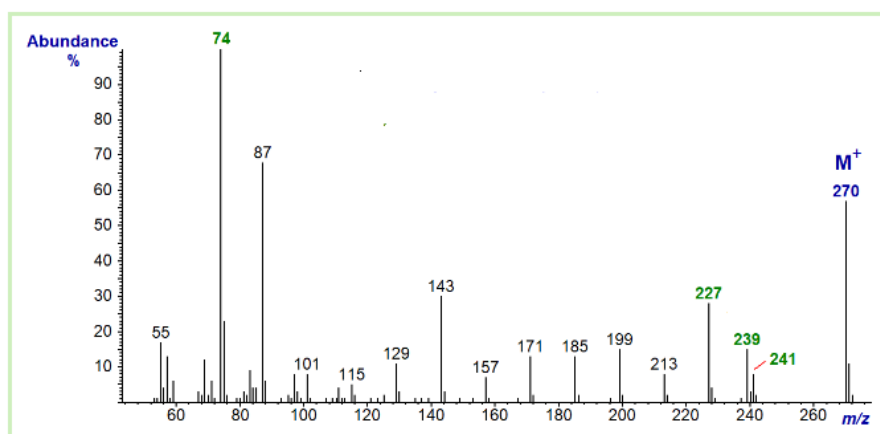
$\alpha$

► La perte d'un radical alkyle par clivage  $\alpha$  se produit principalement dans les esters méthyliques ( $m/z = 59$ )

► Les réarrangements de McLafferty sont possibles sur les côtés alkyle et alcoxy

► Les esters de benzyloxy et les benzoates d'o-alkyle se fragmentent pour perdre respectivement le cétène et l'alcool

**Exemple :**



$m/z = 241$  :  $270 - 241 = 29$ . Représente une perte de 29 unités de masse

$12 \times 2 = 24$  il reste 5 : soit un 5H donc  $CH_3-CH_2$  Donc :  $M - CH_3-CH_2 +$

$m/z = 239$  :  $270 - 239 = 31$ . Représente une perte de 31 unités de masse

soit  $12 + 16 = 28$  il reste 3 soit un 3H donc  $CH_3-O$  Donc :  $M - CH_3-O +$

$m/z = 227$  :  $270 - 227 = 43$ . Représente une perte de 43 unités de masse

soit :  $12 \times 3 = 36$ , il reste 7 : soit 7H :  $CH_3-CH_2-CH_2 +$

Soit :  $12 \times 2 + 16 = 40$ , il reste 3H :  $CH_3-C=O$

Le deuxième cas est à exclure, il ne confirme pas  $m/z = 239$

$m/z = 73, 87, 101, 115, 129, 143, 157, 199, \dots$  correspond aux fragments :  $CH_3OCO(CH_2)_n$ , avec  $n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, \dots$

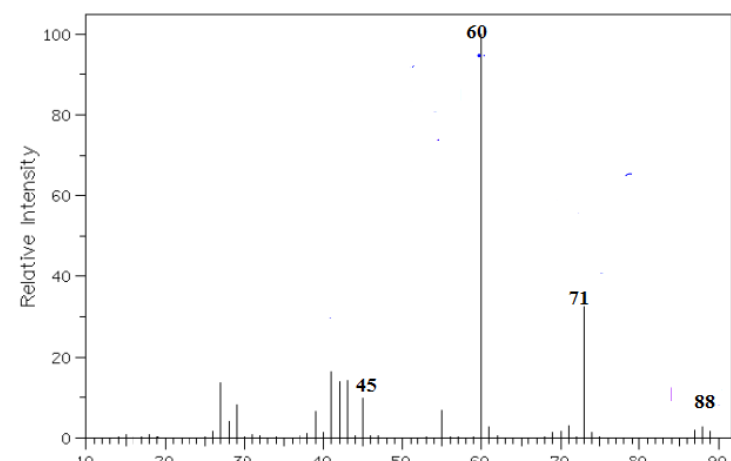
$m/z = 74 : 15+16+12+16+14 = 73$ . Un rearrangement de McLafferty permet d'obtenir l'ion fragment  $m/z = 74$

## Fragmentation des Acides Carboxyliques

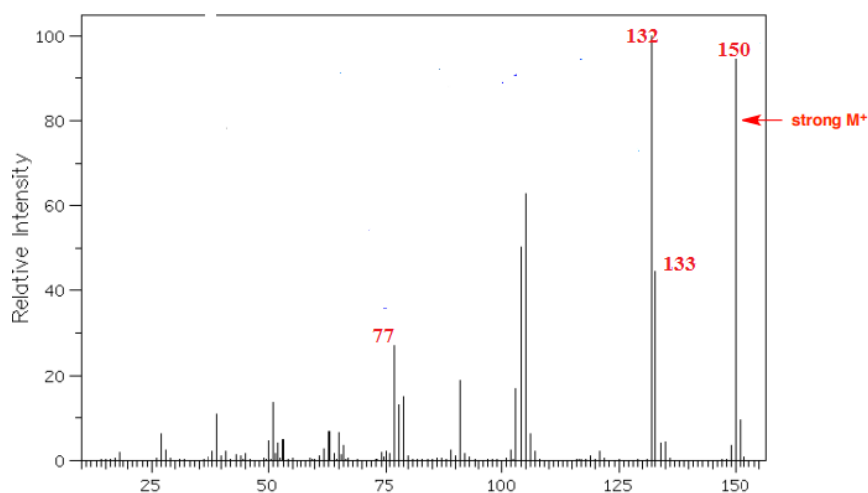
l'intensité de l'ion moléculaire  $M^+$  faible en acides aliphatiques ; plus fort en acides aromatiques

- Un clivage  $\alpha$  important entraine une perte du radical hydroxyle OH (M-17)
- Clivage  $\alpha$  avec perte de radical alkyle moins courant ( $m/z = 45$ )
- Réarrangement de McLafferty dans des systèmes convenablement substitués ( $m/z = 60$  ou plus)
- libération d'une molécule d'eau dans les acides o-alkylbenzoïques (M-18)

### Exemple-1- Acide Butanoïque



### Exemple-2- Acide 2,4 dimethyl benzoïque



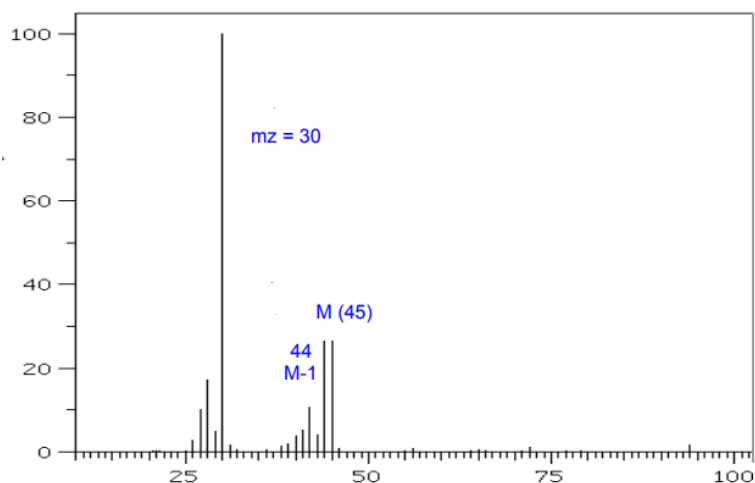
## Fragmentation des Amines

### Amines aliphatiques

- ▶  $M^+$  intensité faible
- ▶  $M-1$  commun
- ▶ Un clivage  $\alpha$  d'un radical alkyle
- ▶ la perte de  $NH_3$  ( $M-17$ ) Le réarrangement de McLafferty

#### Exemple1

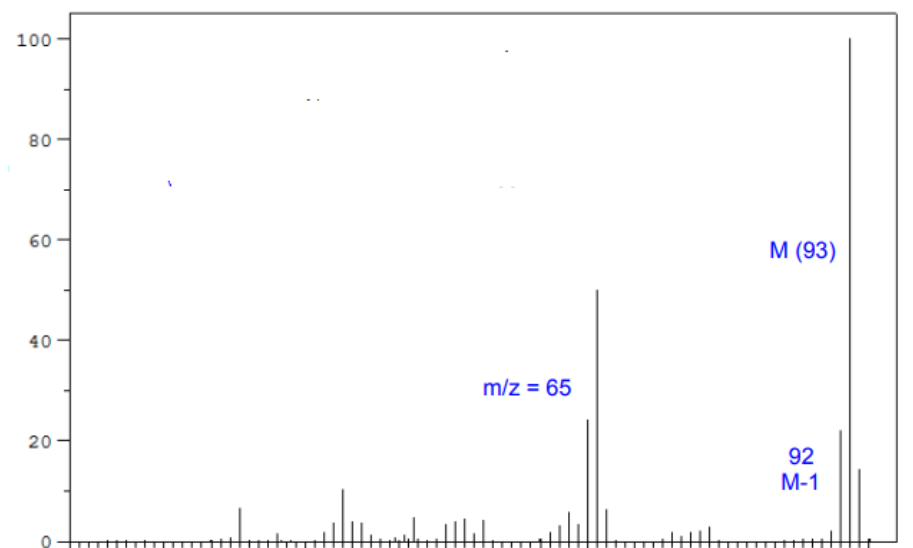
#### Ethylamine



### Amines aromatiques

- ▶  $M^+$  généralement fort
- ▶  $M-1$  commun
- ▶ la perte de  $HCN$  est courante dans les anilines

#### Exemple2



## Les fragments ioniques les plus importants En spectroscopie de Masse

<b>Fragments ioniques</b>	<b>m/z</b>
<b>CH<sub>3</sub></b>	<b>15</b>
<b>OH</b>	<b>17</b>
<b>CN</b>	<b>26</b>
<b>CO</b>	<b>28</b>
<b>CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub> and CHO (Aldehyde)</b>	<b>29</b>
<b>OCH<sub>3</sub></b>	<b>31</b>
<b>Cl</b>	<b>35, 37</b>
<b>CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> and CH<sub>3</sub>CO (Methyl ketone)</b>	<b>43</b>
<b>COOH (Carboxylic Acid)</b>	<b>45</b>
<b>C<sub>4</sub>H<sub>9</sub> (Butyl) and C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>CO (Ethyl ketone)</b>	<b>57</b>
<b>CH<sub>3</sub>OCO (Methyl Ester)</b>	<b>59</b>
<b>C<sub>5</sub>H<sub>10</sub> (Cyclopentane)</b>	<b>70</b>
<b>C<sub>5</sub>H<sub>11</sub> (Pentyl)</b>	<b>71</b>
<b>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> + H (Benzene)</b>	<b>77, 78</b>