

Partie V : Spectrométrie de masse

1. Introduction

La spectrométrie de masse est une technique analytique permettant de séparer les atomes ou les molécules sous forme d'ions suivant leur masse. Cette méthode est sensible, sélective et rapide. Elle est applicable pour les composés solides, liquides et gazeux. Elle permet :

- la détermination de la masse moléculaire (spectromètre haute résolution - masse exacte formule brute) ;
- l'identification de structures (bibliothèque des spectres, fragmentation) ;
- l'explication des mécanismes de rupture de liaison ;
- le dosage.

Elle est utilisée en chimie organique et pharmaceutique, biochimie (peptides, protéines, etc.), médical (analyses et détection), géologie et archéologie, environnement (qualité de l'eau).

2. Application

2.1. Solutions pures

Elle permet de connaître le poids moléculaire et la structure de la molécule (confirmation de l'identification d'un produit par rapport à la bibliographie).

2.2. Mélanges

Afin de déterminer la masse moléculaire d'une molécule donnée, le spectromètre de masse doit être impérativement couplé ou bien lié à un autre appareil permettant la séparation des différentes molécules du mélange, à savoir la CPG et la HPLC.

La CPG lié au spectromètre de masse (GC-MS) permet de séparer les différents composés du mélange, et on prend un spectre de masse dès leur sortie du premier appareil qui est la CPG. Ce qui permet d'identifier les différents éléments du mélange.

Le couplage entre la HPLC et le spectromètre de masse (LC-MS), permet de faire le même type d'étude qu'en GC-MS pour les composés non volatiles.

3. Principe de la technique

L'analyse par spectrométrie de masse fait intervenir l'ionisation d'une très petite quantité du composé à analyser afin de soumettre les espèces chargées à l'action du champ électrique ou magnétique (selon le type de l'appareil). L'étude des trajectoires suivies, dans une enceinte où règne un vide poussé (10^{-4} Pa) permet de déterminer le rapport masse/charge (m/z) des ions, donc éventuellement leur nature (figure 25).

En général, lorsqu'on soumet un échantillon à une telle analyse, on initie un processus en plusieurs étapes enchaînées.

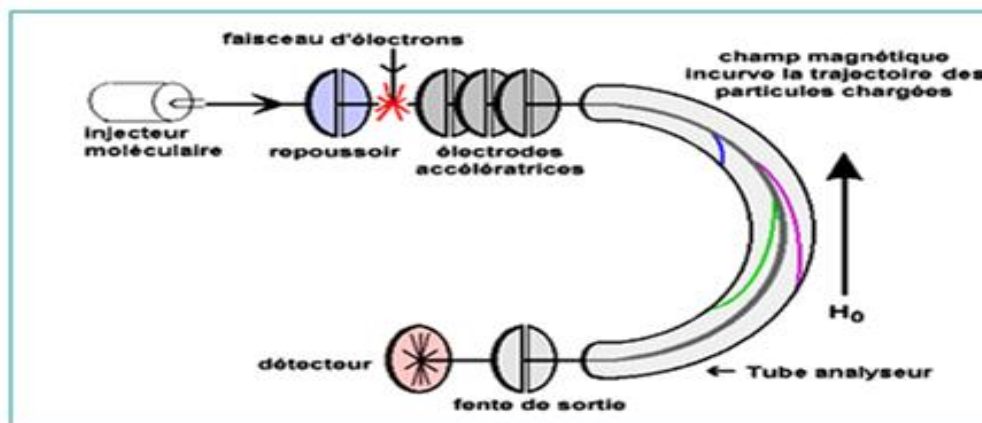


Figure 25 : Étapes d'une analyse spectrométrie de masse.

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

3.1. Ionisation

L'espèce étudiée est vaporisée et ionisée dans la source de l'appareil par l'un des procédés existants (section 5). Il s'agit d'un composé moléculaire, il apparaît un mélange d'ions issu de la fragmentation des molécules de départ qui s'appellent la molécule parent, et les molécules qui en résultent (fragments) sont appelées ions fille.

3.2. Accélération

Les ions formés dans la chambre d'ionisation sont extraits de cette chambre, focalisée et accélérée, ce qui augmente leur énergie cinétique. Parvenus dans l'accélérateur, les ions sont soumis à l'action d'un champ électrique. Soumis à une ddp, ils subissent une force constante en grandeur et en direction qui leur communique un mouvement uniformément accéléré.

L'énergie cinétique acquise en fin d'accélération est :

$$E_c = \frac{1}{2} mv^2 = zV$$

Ainsi, tous les ions de même charge ont tous la même énergie cinétique à la sortie de l'accélérateur. A ce niveau, les ions arrivent dans une région libre de champs où ils ne sont plus soumis à aucune force et sont animés d'un mouvement rectiligne uniforme. Ces ions possédant des masses différentes et une énergie cinétique identique ont donc des vitesses différentes.

3.3. Séparation

Les ions sont triés suivant le rapport m/z par l'analyseur, en général z est égal à 1. Il y a plusieurs types de séparateurs d'ions :

- Séparateur à champ magnétique (figure 26)
- Séparateur par champs électrique et magnétique
- Séparateur par des champs électriques (quadripôle)
- Séparateur par des champs électriques (trappe d'ions)
- Séparateur par la vitesse des ions (temps de vol)

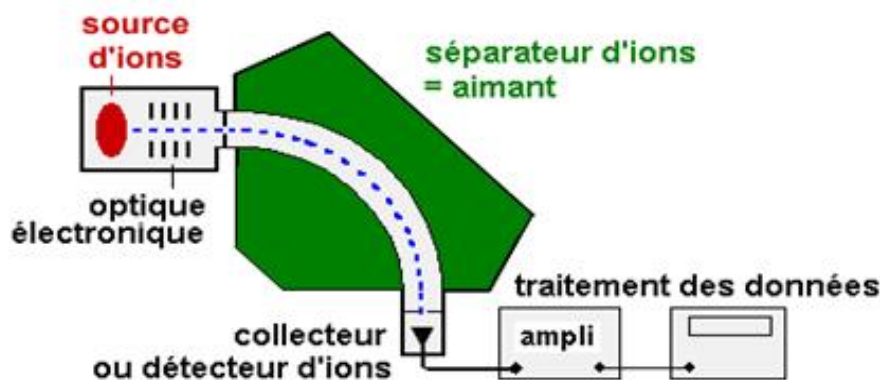


Figure 26 : Schéma illustrant un séparateur magnétique.

3.4. Détection

Un détecteur sensible à la quantité de charge électrique est soumis à l'impact des ions. Le détecteur du spectromètre de masse transforme un courant ionique très faible (de l'ordre de 10^{-13} à 10^{-17} A) arrivant du système dispersif, en un signal mesurable. Le courant ionique est donc amplifié par un multiplicateur d'électrons, constitués d'une série de plaques appelées dynodes. Le faisceau d'ions positifs atteint la dynode D_0 portée à un potentiel négatif par rapport à la dynode D_1 . Ces ions possèdent une énergie cinétique importante, ce qui provoque l'éjection d'électrons secondaires de la surface du métal. Ceux-ci sont accélérés vers la plaque

D_1 . Les e^- viennent de frapper la plaque D_1 , et d'autres e^- sont éjectés et ainsi de suite environ 15 fois (figure 27).

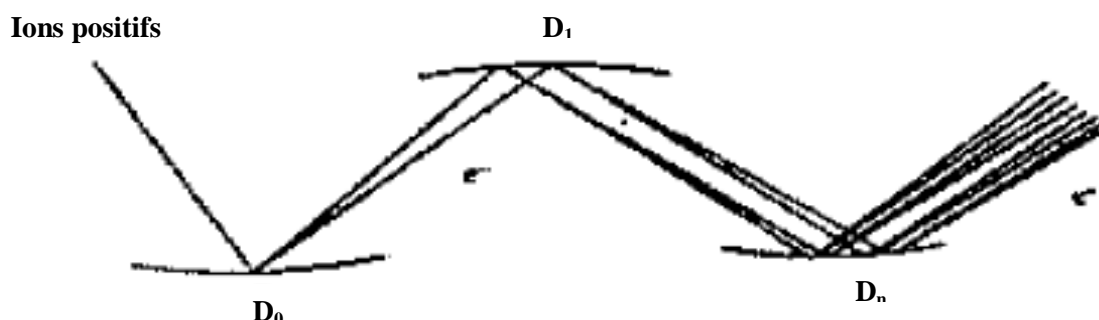


Figure 27: Schéma du multiplicateur d'électrons.

3.5. Traitement du signal

Le signal du détecteur est transmis à un enregistreur qui trace le spectre de masse. Les spectromètres sont pilotés par un ordinateur, les opérations effectuées sont : réglage et calibrage de l'appareil, acquisition et stockage des données, traitement et recherche dans les banques de spectres.

Les spectres de masse sont présentés par le pourcentage d'abondance relative en fonction de m/z (figure 28). L'intensité du pic le plus intense du spectre est fixée arbitrairement à 100.

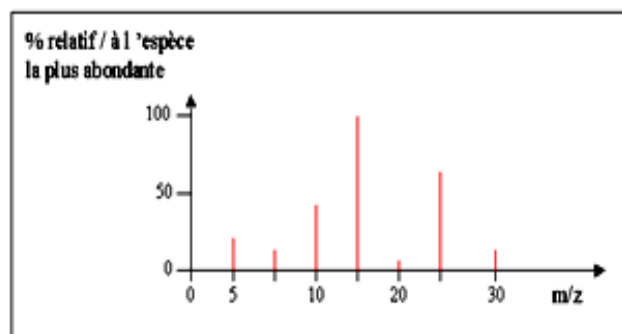
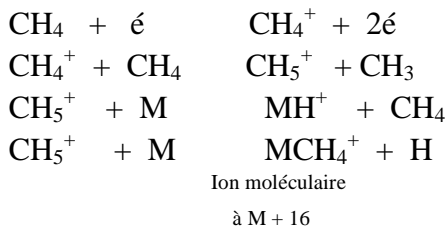


Figure 28 : Un spectre de masse.

5.2. Ionisation chimique (IC)

La substance à analyser est injectée dans la source avec un large excès de méthane ou bien un autre hydrocarbure à condition qu'il soit de faible masse molaire. L'hydrocarbure ionisé en premier, ionise la substance par transfert de charge.



5.3. Bombardement par désorption rapides (FAB)

Un faisceau, d'atome neutre comme le Xénon ou l'argon, dirigé sur un solide provoquant sa désorption, et son ionisation causant peu de fragmentation mais donne des ions moléculaires intense. Le FAB est surtout utilisé pour les grosses molécules. Cette méthode ne donne pas beaucoup de fragments.

5.4. Electrospray (ESI)

C'est une technique utilisée surtout pour mesurer la masse des protéines (figure 29). L'électrospray se produit entre un capillaire métallique et une contre électrode, ce qui conduit à la formation de gouttelettes chargées. Par effet d'un gaz chaud, les molécules du solvant s'évaporent progressivement. Leur densité de charge (z/m) devenant trop grande, les molécules à analyser s'explodent en libérant des ions non fragmentés et protonés (acquis un H) ou cationisé (perdu un é). Ce procédé d'ionisation est souvent couplé à l'HPLC.

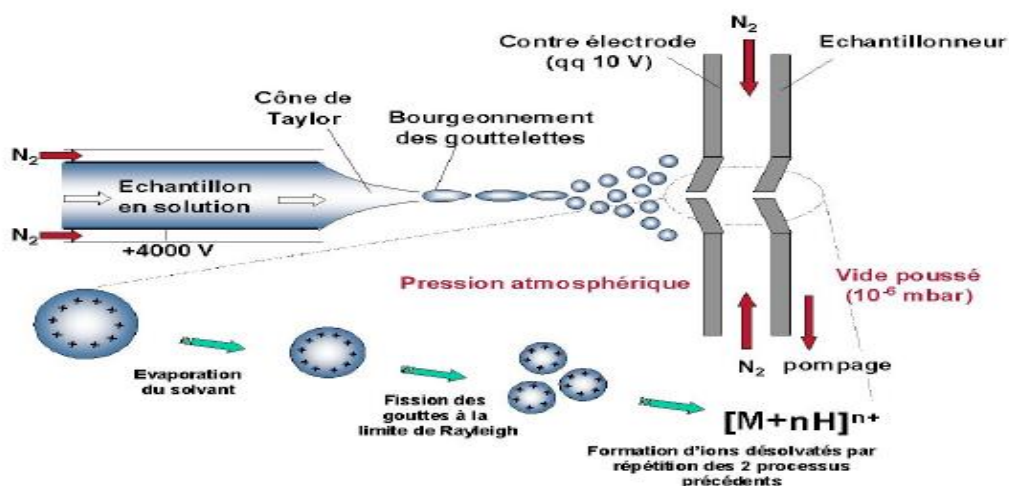


Figure 29 : Schéma illustrant le principe de l'ionisation par électrospray.

5.5. MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation)

Un faisceau laser pulsé est utilisé, généralement dans le domaine des ultraviolets, pour désorber et ioniser un mélange matrice/échantillon co-cristallisé sur une surface métallique. Les molécules de matrice absorbent l'énergie transmise par le laser sous forme de photons UV, s'excitent et s'ionisent. L'énergie absorbée par la matrice provoque sa dissociation et son passage en phase gazeuse. Les molécules de matrice ionisées transfèrent leur charge à l'échantillon. L'expansion de la matrice entraîne l'échantillon au sein de la phase gazeuse dense où il va finir de s'ioniser. L'ionisation de l'échantillon a donc lieu soit dans la phase solide avant la désorption, soit par transfert de charge lors de collisions avec la matrice excitée après désorption. Elle conduit à la formation d'ions monochargés et multichargés de type $[M+nH]^{n+}$, avec une nette prépondérance pour les monochargés (figure 30).

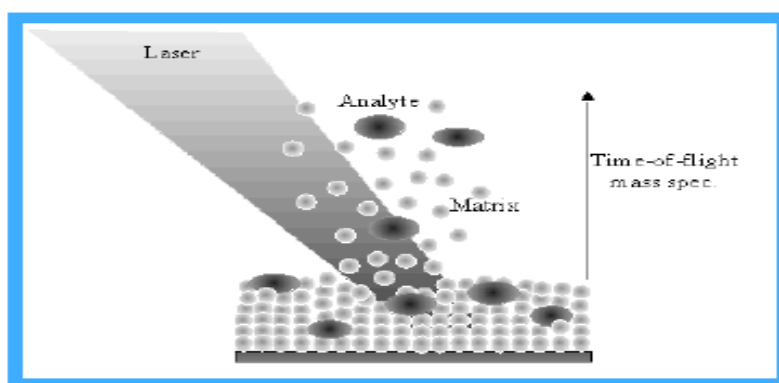


Figure 30 : Schéma illustrant le principe de l'ionisation MALDI.

6. Fragmentation des ions

L'interprétation d'un spectre de masse est un exercice difficile mais présente un grand intérêt. Trois facteurs favorisent le processus de fragmentation :

- Les liaisons faibles se coupent plus facilement ;
- Les fragments stables se forment préférentiellement ;
- Les fragmentations avec réarrangement sont favorisées par l'aptitude de certaines molécules ionisées à donner un état transitoire à 6 centres.

6.1. Fragmentation d'une liaison ionisée

A partir d'un hydrocarbure tel que le propane (C_3H_8), l'ionisation d'une liaison C-C conduira plutôt à la formation du cation éthyle et d'un radical méthyl (figure 31).

Propane: $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_3$

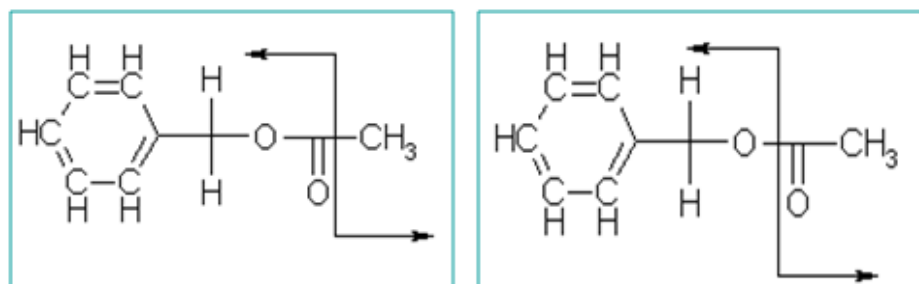
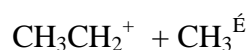
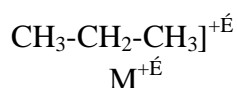
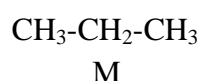
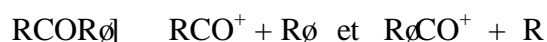


Figure 31: Mécanisme de fragmentation d'une liaison ionisée.

Avec une cétone (RCOR_0), l'ionisation produit dans un premier temps l'arrachement d'un électron d'un des doublets libres de l'oxygène O. Il y a ensuite, de façon prédominante, rupture de liaison (C-C) en position du site d'ionisation.

L'élimination de la plus grande chaîne alkyl est favorisée, mais on observera généralement les 4 ions fragments :



6.2. Fragmentation et réarrangement

Il existe d'autres transformations possibles dans lesquels les ions se réarrangent, quelque fois suivant des voies très complexes (figure 32).

La fragmentation avec réarrangement de McLafferty est une transformation classique qui apparaît de façon très générale pour les ions moléculaires possédant un carbonyle C=O ou une double liaison C=C, il s'explique par un mécanisme à 6 centres, au cours duquel il y a transfert d'un atome d'hydrogène sur le site ionisé en premier. Il est suivi de l'élimination d'une molécule neutre d'éthylène (C_2H_4), qui conduit à la formation d'un nouveau radical cation.

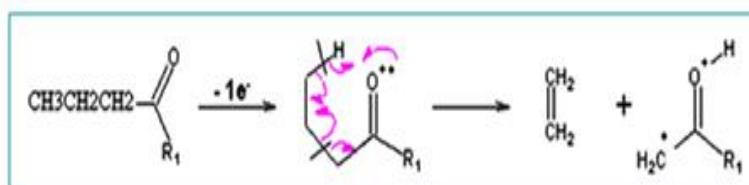


Figure 32: Mécanisme de fragmentation avec réarrangement de McLafferty.

7. Appareillage

L'idée d'accéder à la masse des ions en les soumettant à l'action d'un champ magnétique est à la base d'un montage ancien attribué à Binbridge en 1930 pour étudier les isotopes.

Dans ce montage, les ions positifs créés sont d'abord accélérés par une différence de potentiel (ddp). Ils prennent une vitesse qui dépend de leur masse. Ces ions sont soumis à un champ magnétique (dans le but de leur faire subir certaines trajectoires). Les ions sont soumis à deux forces opposées, l'une créée par le champ magnétique et l'autre par le champ électrique. Les ions qui restent au centre ne vont pas traverser le filtre, donc ils ne vont pas atteindre le détecteur contrairement aux ions déviés par le filtre.

Les différents éléments de l'appareil sont illustrés dans la figure 33.

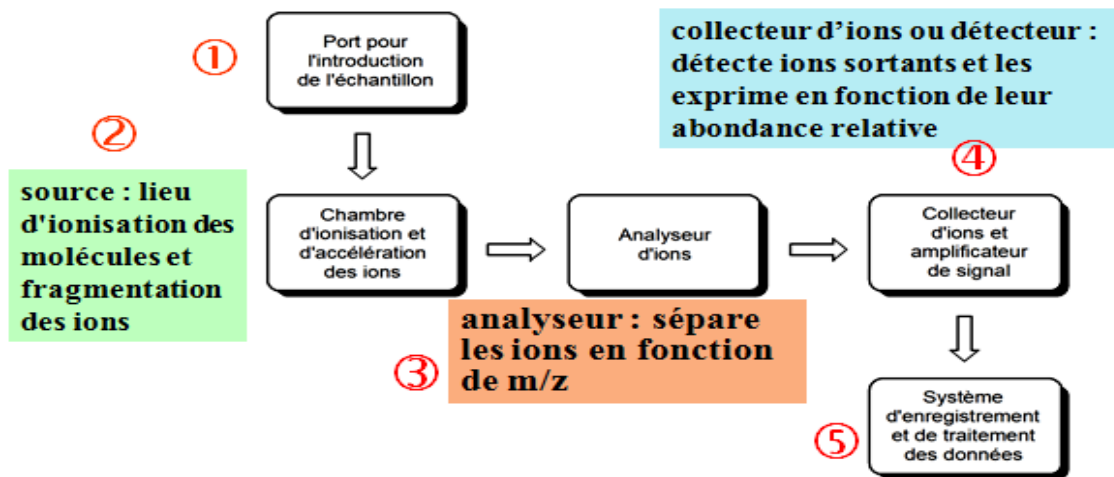


Figure 33 : Les principaux éléments constitutifs d'un spectromètre de masse.

7.1. Sources d'ionisation

Elles sont de différents types selon le mode d'ionisation. C'est généralement une chambre en acier inoxydable, sous vide (6.10^{-7} mm Hg). Les électrons dans la source sont émis par un filament en rhénium, accélérés sous tension de 70Volts. La collision en molécules se fait à 70 eV (très énergétique) (figure 34).

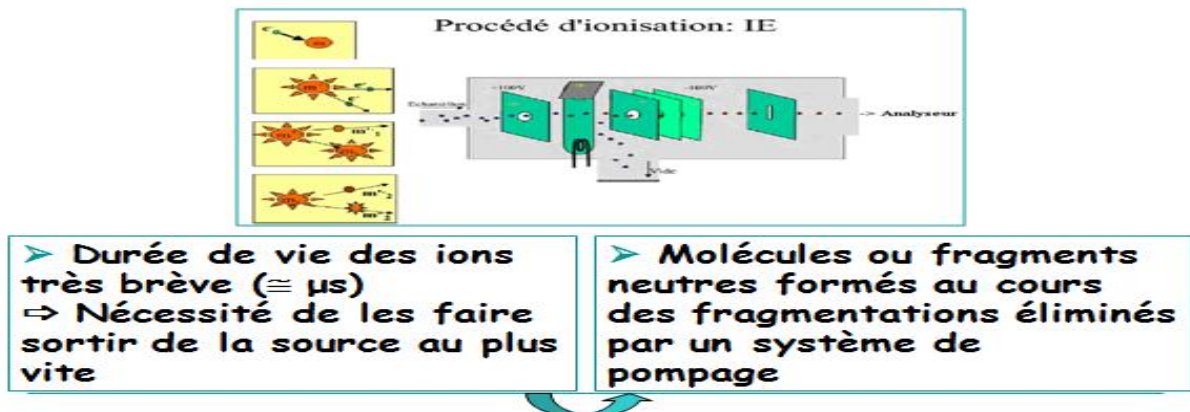


Figure 34: Schéma illustrant la chambre d'ionisation.

7.2. Analyseur

Ils sont de différents types.

7.2.1. Analyseurs magnétique de type B

Dans la configuration de l'appareil, on trouve à la sortie des secteurs électrostatiques un analyseur magnétique (figure 35). Il conduit à des rapports m/z très précis, mais il est assez vite limité pour les grandes masses. Soumis à un champ magnétique, les ions sont focalisés en direction. A chaque instant, seuls les ions ayant la même masse vont suivre la même trajectoire.

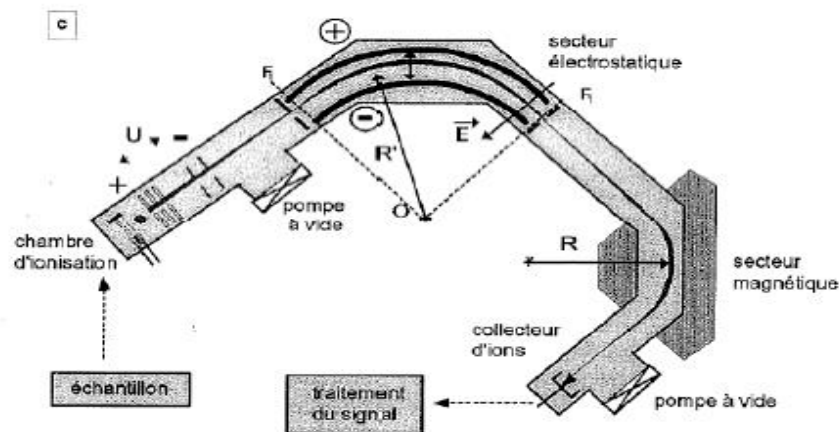


Figure 35 : Analyseur électromagnétique (EB).

7.2.2. Analyseur quadripôle

Un quadripôle est constitué de quatre électrodes parallèles de section hyperbolique ou cylindrique. Les électrodes opposées sont reliées entre elles et soumises au même potentiel (figure 36).

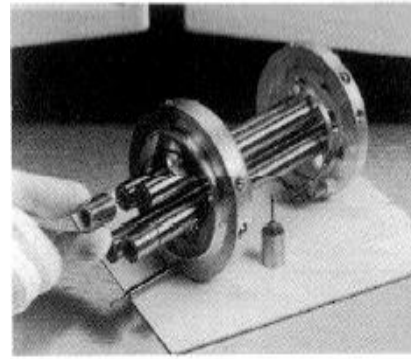
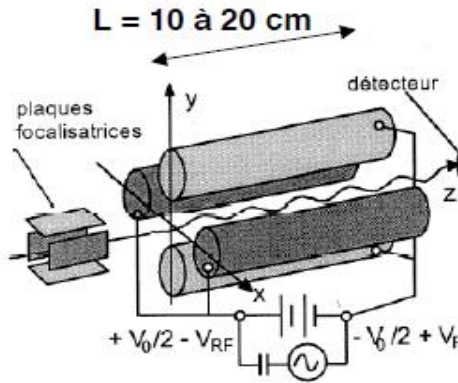


Figure 36 : Analyseur quadripôle.

7.2.3. Analyseur à temps de vol (TOF)

L'analyseur à temps de vol consiste à mesurer le temps que met un ion accéléré préalablement par une tension, à parcourir une distance donnée. Le rapport masse sur charge est directement mesurable à partir du temps de vol (figure 37).

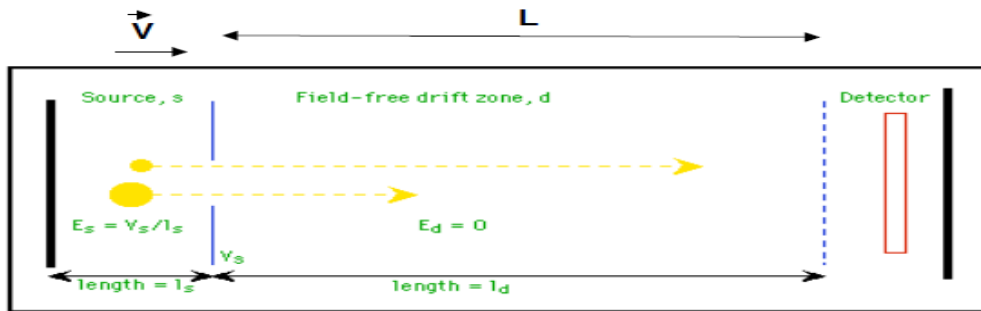


Figure 37 : Analyseur à temps de vol (TOF).

7.3. Accélérateur d'ions

Environ 5% des cations formés vont atteindre le détecteur. La première étape consiste à les accélérer au moyen de plusieurs plaques portées à des potentiels négatifs croissants. Le vide doit être excellent (soit 10^{-4} Pa).

Pour améliorer encore la précision du rapport m/z, on va faire passer les ions dans un secteur constitué par deux électrodes. Ce dispositif joue le rôle d'un filtre.

7.4. Détecteur

La détection en spectrométrie de masse est basée sur la mesure des charges transportées par les ions. On distingue :

- Les multiplicateurs d'électrons à dynodes séparées
- Les multiplicateurs à dynodes séparées
- Détecteurs à microcanaux.

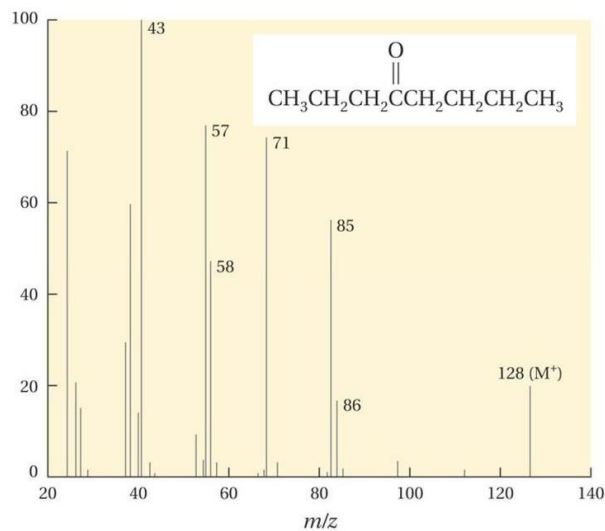
Remarque

Pour obtenir des informations plus précises sur la structure des ions fragments issue de la fragmentation des composés moléculaires introduit, on fait appel à des spectromètres de masse comportant au minimum deux analyseurs en parallèle (classé en série).

Donc c'est un appareil hybride dans lequel on trouve un secteur magnétique suivie d'un quadripôle.

Exercice

Le signal le plus intense (appelé pic de base) de la figure suivante apparaît à $m/z = 43$. Expliquez sa provenance.



Spectre de masse de l'octan-4-one.

Solution

La formule de l'octan-4-one peut être écrite de manière abrégé : $\text{C}_3\text{H}_7\text{COC}_4\text{H}_9$

Le signal le plus intense qui apparaît à $m/z = 43$ correspond au fragment C_3H_7^+ , ce qui suggère que l'ion fille $\text{C}_3\text{H}_7\text{CO}^+$ perd un monoxyde de carbone pour donner C_3H_7^+ . Cette explication est encore plus plausible en constatant que le spectre contient aussi un signal intense à $m/z = 57$ qui correspond à la structure dérivée d'un processus analogue appliqué à $\text{C}_4\text{H}_9\text{CO}^+$. Ces conclusions sont résumées dans le schéma suivant illustrant « l'arbre généalogique » des ions.

