

# Chapitre IV

## Spectrométrie de masse

## Spectrométrie de masse

### I. Introduction

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui permet l'identification de composés organiques. Soit de composés connus par comparaison du spectre de masse obtenu avec une bibliothèque de spectres. Soit de composés complètement inconnus.

Son concept est simple, il consiste à bombarder le composé par un faisceau d'électrons, le composé est ionisé et les ions résultants sont séparés selon leur rapport masse/charge. Le nombre d'ions de chaque unité  $m/z$  est enregistré sous forme de pic.

Un spectre de masse représente l'intensité des pics en fonction de  $m/z$ .

### II. Techniques d'ionisation

1) **Technique d'ionisation en phase gazeuse** : ce sont les techniques les plus utilisées :

#### a) Ionisation par impact électronique IE

Les molécules de l'échantillon en phase vapeur sont bombardées par des électrons très énergétiques (70 eV), ils éjectent un électron d'une molécule de l'échantillon en produisant un radical cation (ion moléculaire) :



L'énergie d'ionisation des composés organiques étant en général  $< 15$  eV, l'excédant d'énergie reçue par la molécule (50 – 15) eV est dissipé par rupture de liaisons covalentes ( $E = 3$  à 10 eV) : c'est la fragmentation.

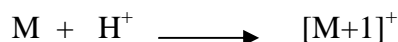
L'étude des différents fragments obtenus nous permet l'élucidation de la structure du composé étudié.

Cette technique reste la plus utilisée, son seul inconvénient est que l'impact électronique est si puissant qu'il provoque une fragmentation si importante qu'il est parfois impossible d'observer le pic moléculaire, dans ce cas, on a recours à une technique d'ionisation plus douce.

#### b) Ionisation chimique

C'est une technique plus douce que l'IE. Un gaz réactif (méthane, isobutane, ammoniac) est introduit dans la source et il est ionisé.

Les molécules de l'échantillon entrent en collision avec les molécules ionisées du gaz ( $\text{CH}_5^+$ ,  $\text{C}_4\text{H}_9^+$ ....), cela conduit à une ionisation secondaire par transfert de proton en produisant un ion  $[\text{M}+1]^+$  :

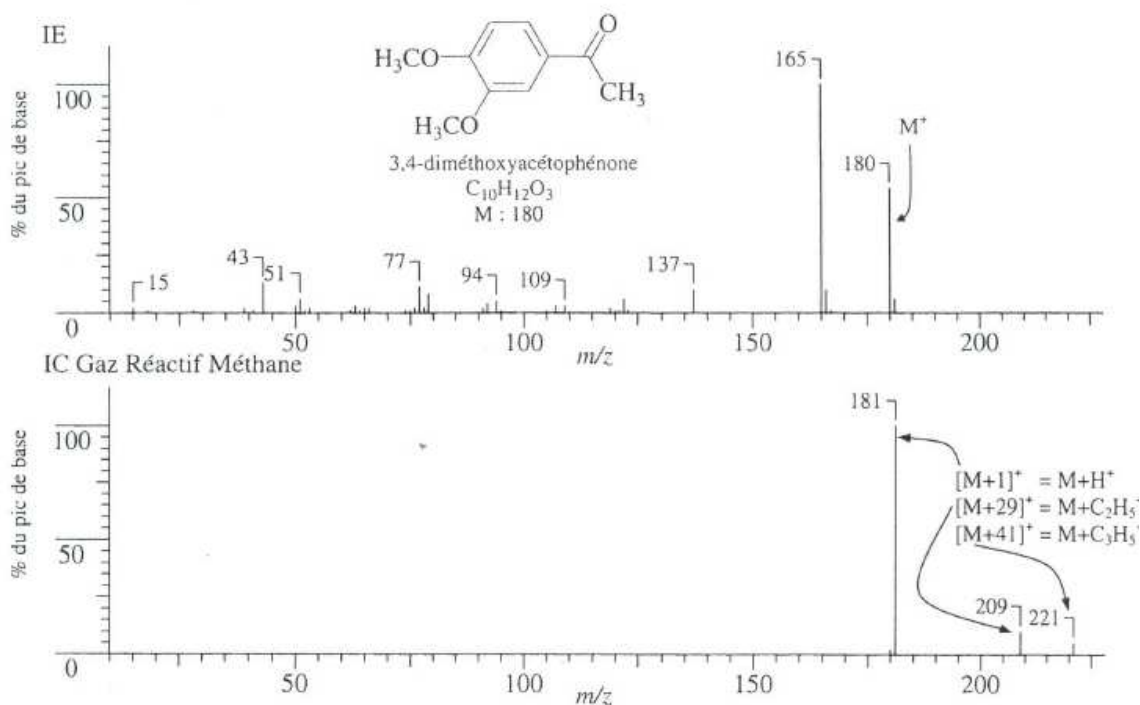


Ou par addition électrophile en produisant :  $[\text{M}+15]^+$ ,  $[\text{M}+24]^+$ ,  $[\text{M}+43]^+$ ,  $[\text{M}+18]^+$ ... ..

L'excédent d'énergie est en général  $< 5 \text{ eV}$ , trop faible pour produire la fragmentation. Ceci implique une forte abondance d'ions moléculaires qui sont ainsi facilement détectés.

Par contre, on a moins d'informations structurales à cause de l'absence ou de la très faible fragmentation.

Exemple 01: Comparer le spectre IE et IC de la 3,4-diméthoxyacétophénone.



**Figure IV.1** : Spectre IE et IC de la 3,4-diméthoxyacétophénone.

(source : spectrometric identification of organic compounds, Ed De Boeck, R.M. Silverstein)

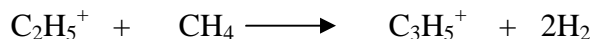
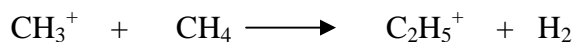
Sur le spectre IE, on retrouve le pic moléculaire à  $m/z$  180 et plusieurs pics de fragments entre 15-167, le pic de base est à  $m/z$  165.

Sur le spectre IC (gaz réactif :  $\text{CH}_4$ ), le pic de base est l'ion quasi-moléculaire  $[\text{M}+1]^+$  à  $m/z$  181. D'autres pics de faible intensité :

[M+29] ou  $M+C_2H_5^+$  à m/z 209

[M+41] ou  $M+C_3H_5^+$  à m/z 221

Le  $CH_4$  est ionisé pour former  $CH_4^+$  ou  $CH_3^+$  qui réagissent avec  $CH_4$  en excès :



La spectrométrie de masse par IC est intéressante uniquement pour l'identification du pic de base donc la masse moléculaire, mais elle ne fournit pas d'informations sur la structure du fait de l'absence de fragments.

## 2) Techniques d'ionisation par désorption

Ces techniques sont utilisées dans le cas de composés lourds non volatils, ces derniers passent directement d'une phase condensée à la phase vapeur sous forme d'ions.

### a) Ionisation par désorption de champ FD

Un électron arraché à l'échantillon et un cation est formé dont l'énergie excédentaire est faible pour produire une fragmentation. On observe principalement le pic de l'ion moléculaire.

Pour les stéroïdes, c'est une bonne technique qui permet la détermination de leur masse molaire, car en IE et IC aucun pic moléculaire n'est observé pour ces composés.

Exemple 02: Spectre du cholest-5-ène-3,16,22,26-tétrol.

### b) Ionisation par bombardement d'atomes rapides FAB

Les échantillons sont bombardés par des atomes de Xe ou Ar très énergétiques, ce qui permet de produire des ions positifs  $[M+1]^+$  ou négatifs  $[M-1]^-$  par déprotonation.

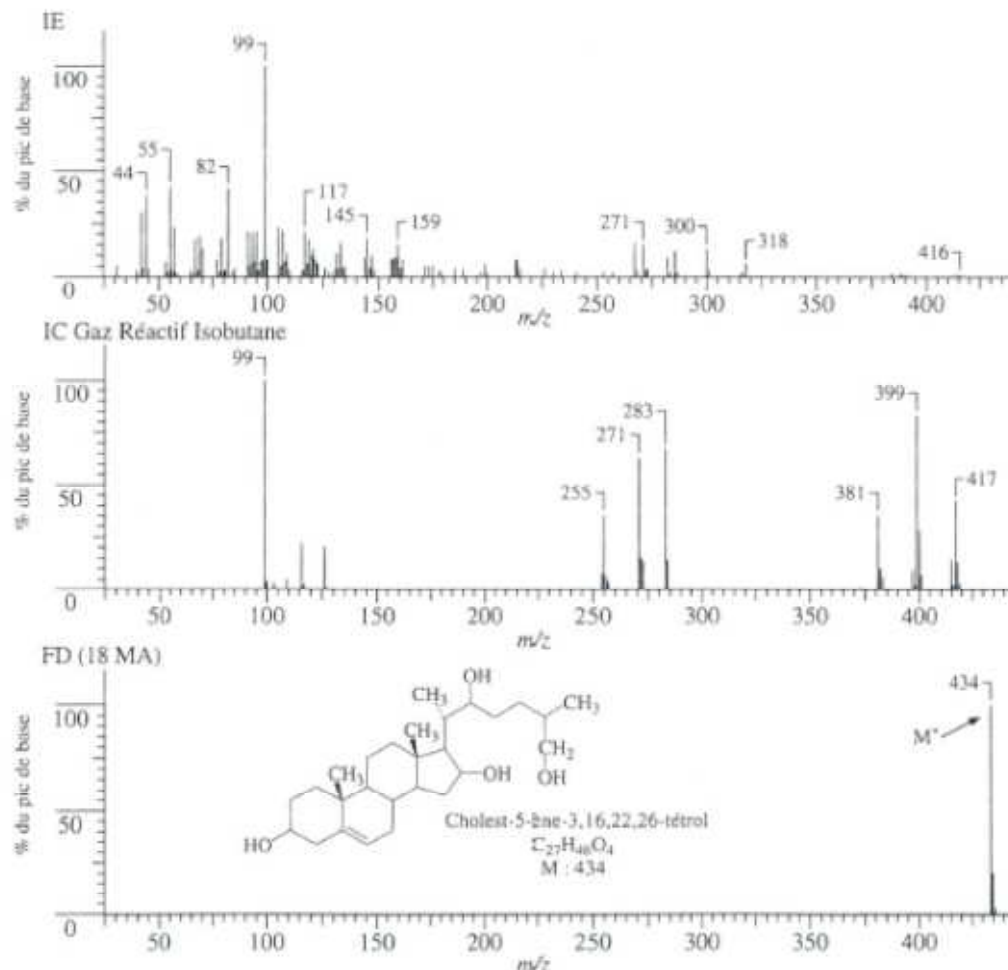
Cette technique est utilisée pour la détermination de M, le reste du spectre est moins utile à cause de la présence d'ions générés par la matrice et qui masquent certains fragments.

La FAB peut être intéressante pour les polysaccharides et les peptides, car les fragmentations se produisent au niveau des liaisons glycosidiques et peptidiques, offrant ainsi une méthode de séquençage de ces composés.

### c) Ionisation-désorption par plasma

C'est une technique très spécialisée et presque exclusivement employée avec un spectromètre à temps de vol.

Les ions formés sont simplement, doublement ou triplement chargés, ils sont en général d'énergie faible pour produire une fragmentation, ils ne sont pas riches en information structurales.



**Figure VI.2 :** Spectre de masse IE, IC et FD du cholest-5-ène-3,16,22,26-térol.

(source : spectrometric identification of organic compounds, Ed De Boeck, R.M. Silverstein)

#### d) Désorption-ionisation laser

Cette méthode est utilisée avec un spectromètre à temps de vol (TOF) ou bien à transformée de Fourier (FT).

Un faisceau laser pulsé est utilisé pour l'ionisation de l'échantillon. Deux types de lasers sont employés : un laser à CO<sub>2</sub> qui émet dans l'IR lointain et un laser néodyme/yttrium-aluminium-grenat (Nd/YAG) quadruplet en fréquence qui émet dans l'UV à 266 nm.

La technique est bien plus puissante assistée d'une matrice, l'inconvénient est l'interférence de cette matrice avec les échantillons, ce qui rend l'attribution de l'ion moléculaire d'un composé aléatoire.

### 3) Techniques d'ionisation par évaporation

Les ions ou les composés neutres en solution sont isolés et simultanément ionisé par évaporation du solvant, en libérant les ions pour l'analyse de masse.

#### a) Spectrométrie de masse thermospray

L'échantillon est introduit en solution dans le spectromètre de masse, le solvant est ensuite évaporé et les ions sont analysés. Cette méthode fut une des premières à être couplée à la chromatographie liquide en phase gazeuse. Cette technique a été largement dépassée par l'électrospray.

#### b) Spectrométrie de masse par électrospray (ES)

L'échantillon en solution pénètre la source d'ions via un capillaire, un aérosol de gouttelettes chargées se forme, la taille de ces dernières diminue avec l'évaporation du solvant, en conséquence la concentration en ions augmente.

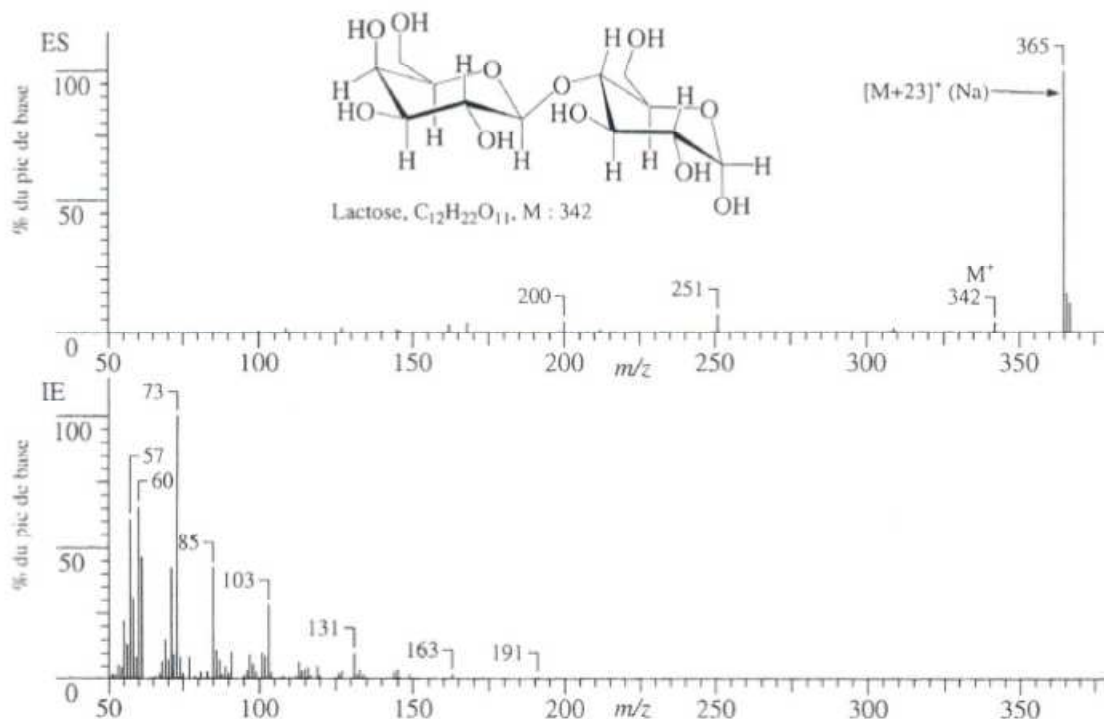
Lorsque la répulsion électrostatique entre les ions atteint un point critique, les gouttelettes subissent une « explosion coulombique » qui libère les ions dans la phase vapeur, ils sont ensuite dirigés vers l'analyseur.

La technique est très utilisée pour les composés ayant plusieurs sites chargés comme les protéines.

Exemple 03: Comparer le spectre de masse IE et ES du lactose.

Le spectre IE est inexploitable car le lactose est peu volatil, le spectre ne montre aucun pic caractéristique.

Le spectre ES montre un pic moléculaire  $m/z$  342 et un pic à  $[M+23]^+$  qui correspond à  $M+Na$ .

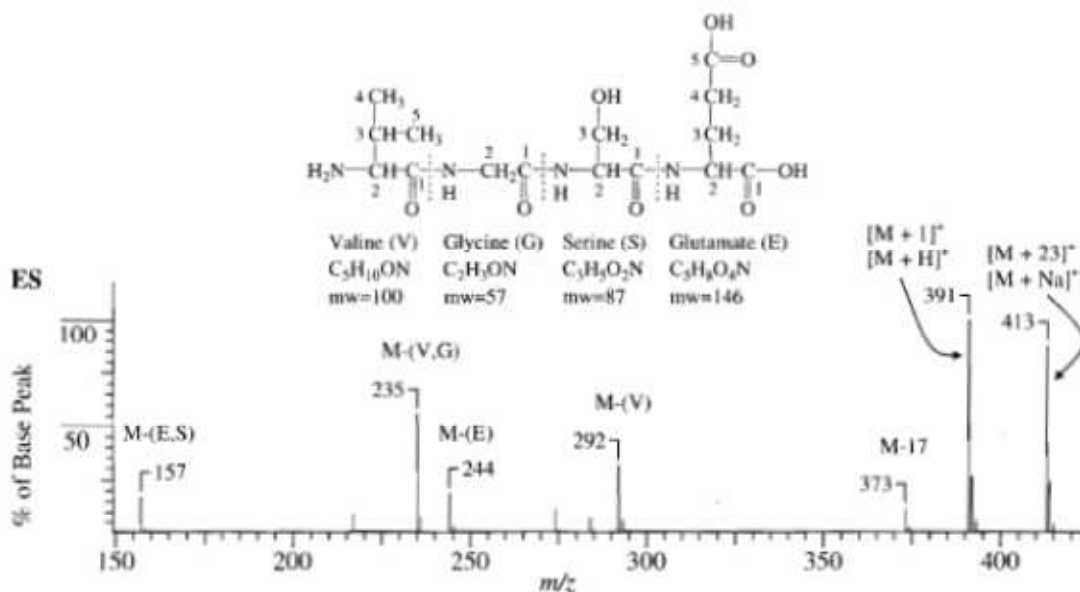


**Figure IV.3 :** Spectre de masse IE et ES du lactose.

(source : spectrometric identification of organic compounds, Ed De Boeck, R.M. Silverstein)

#### Exemple 04 : Spectre ES d'un tétrapeptide

Le spectre fait apparaître le pic moléculaire (et de base) à  $m/z$  391 et un pic à  $[M+23]^+$  à 413. Ainsi que plusieurs pics qui nous renseignent sur les différents acides aminés.



**Figure VI.5 :** Spectre de masse ES du tétrapeptide VGSE.

(source : spectrometric identification of organic compounds, Ed De Boeck, R.M. Silverstein)

**Tableau 01 : Résumé des techniques d'ionisations.**

Technique d'ionisation	Ions formés	Avantages	Inconvénients
Impact Electronique IE	$M^+$	Possibilité de recherche dans les bases de données. Informations structurales	$M^+$ parfois absent
Ionisation chimique IC	$M+1$ , $M+18\dots$	$M^+$ en général présent	Peu d'informations structurales
Désorption de champ FD	$M^+$	Composés non volatils	Equipement spécialisé
Bombardement d'atomes rapides FAB	$M+1$ , $M+cation$ $M+matrice$	Composés non volatils Informations sur le séquençage	Interférences avec la matrice Difficulté d'interprétation
Désorption plasma	$M^+$	Composés non volatils	Interférences avec la matrice
Désorption laser	$M+1$ , $M+matrice$	Composés non volatils	Interférences avec la matrice
Thermospray	$M^+$	Composés non volatils	Dépassée
Electrospray	$M^+$ $M^{++}$ $M^{+++}$	Composés non volatils Couplage possible avec la chromatographie Forme des ions Poly-chargés	Classes de composés limitées Peu d'informations structurales.

### III. Interprétation d'un spectre de masse IE

#### 1) Identification du pic de l'ion moléculaire

L'intensité du pic moléculaire dépend de la stabilité de l'ion moléculaire, les ions les plus stables sont ceux des systèmes aromatiques.

Parfois ce pic est très faible ou même inexistant, dans ce cas on a recours à l'ionisation chimique pour déterminer  $M$ .

Les composés suivants donnent en général des pics de l'ion moléculaire avec une facilité décroissante dans l'ordre :



Composés aromatiques > alcènes conjugués > composés cycliques > sulfures organiques > alcanes linéaires courts.

Cétones > amines > esters > éthers > acides carboxyliques > aldéhydes > amides > halogénures.

L'ion moléculaire est souvent indétectable pour les alcools aliphatiques, les nitrites, les nitrates et les dérivés nitrés.

## 2) Détermination d'une formule moléculaire

### Ion moléculaire et pics isotopiques :

La masse de l'ion moléculaire correspond à la somme des masses entières des isotopes les plus abondants.

Exemple 07:  $C_7H_7NO$  : pic moléculaire à  $m/z$  121.

$$121 = 7(12) + 7(1) + 14(1) + 16(1)$$

Ce pic est parfois entouré de pics à  $M+1$  ou  $M+2$  de faibles intensités, ils correspondent aux contributions isotopiques.

On distingue trois catégories d'éléments :

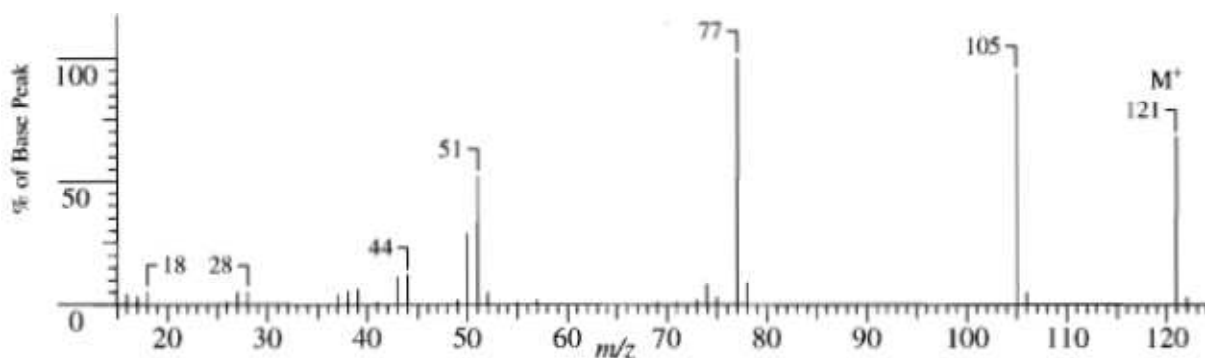
Les éléments mono isotopiques F, P, I.....

Les éléments ayant un isotope très abondant (> 98%) H, C, N, O

Les éléments possédants deux isotopes abondants S, Cl, Br

**Tableau 02: Abondances relatives des isotopes des éléments courants.**

Elément	Isotope	Abondance relative	Isotope	Abondance relative	Isotope	Abondance relative
Carbone	$^{12}C$	100	$^{13}C$	1,11		
Hydrogène	$^1H$	100	$^2H$	0,016		
Azote	$^{14}N$	100	$^{15}N$	0,38		
Oxygène	$^{16}O$	100	$^{17}O$	0,04	$^{18}O$	0,2
Fluor	$^{19}F$	100				
Silicium	$^{28}Si$	100	$^{29}Si$	5,1	$^{30}Si$	3,35
Phosphore	$^{31}P$	100				
Soufre	$^{32}S$	100	$^{33}S$	0,78	$^{34}S$	4,4
Chlore	$^{35}Cl$	100			$^{37}Cl$	32,5
Brome	$^{79}Br$	100			$^{81}Br$	98
Iode	$^{127}I$	100				



**Figure IV.6** Spectre de masse IE de la benzamide.

(source : spectrometric identification of organic compounds, Ed De Boeck, R.M. Silverstein)

On constate la présence d'un pic à M+1 avec une intensité de 8% de l'intensité du pic moléculaire.

Ce pic est dû aux isotopes :  $^{13}\text{C}$ ,  $^2\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$ .

$$\% (M+1) = 7(1,11) + 7(0,016) + 0,38 + 0,04 = 8,302.$$

Le seul contributeur au pic M+2 est  $^{18}\text{O}$ , l'abondance relative étant très faible le pic n'est pas détecté.

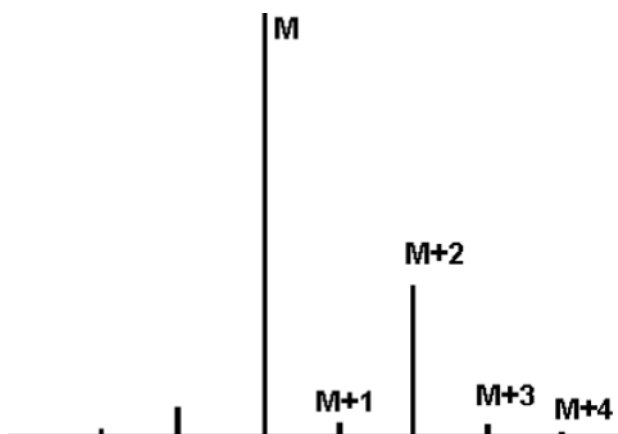
Si le soufre ou le silicium étaient présents, le pic M+2 sera plus intense :

Le  $^{34}\text{S}$  contribue de 4,4 % au pic M+2. Et le  $^{30}\text{Si}$  contribue de 3,35% au pic M+2.

Les atomes F, P et I sont mono isotopiques, donc difficilement détectables sur un spectre de masse.

Le chlore et le brome ont des isotopes dont l'abondance est non négligeable, leur présence est facilement détectable en spectrométrie de masse.

### Cas d'une molécule contenant un atome de chlore



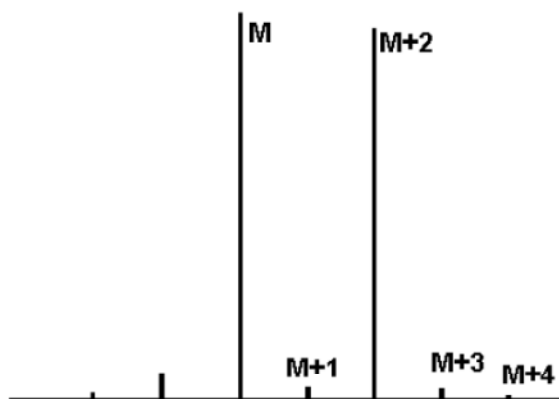
Le pic à M correspond à une molécule qui contient  $^{35}\text{Cl}$  et celui à M+2 à une molécule qui contient  $^{37}\text{Cl}$ , leurs intensités relatives correspondent à 75 et 25 respectivement.

Le pic à M+1 correspond à une molécule qui contient le  $^{35}\text{Cl}$  et un  $^{13}\text{C}$  (ou un  $^2\text{H}$ ).

Le pic à M+3 correspond à une molécule qui contient le  $^{37}\text{Cl}$  et un  $^{13}\text{C}$  (ou un  $^2\text{H}$ ).

Le pic à M+4 correspond à une molécule qui contient le  $^{37}\text{Cl}$  et un  $^{18}\text{O}$  (ou deux  $^{13}\text{C}$  ou un  $^{13}\text{C}$  et un  $^2\text{H}$ ).

#### Cas d'une molécule contenant un atome de brome



Le pic à M correspond à une molécule contenant du  $^{79}\text{Br}$ , celui à M+2 à une molécule contenant du  $^{81}\text{Br}$ .

Le pic à M+1 correspond à une molécule contenant un  $^{79}\text{Br}$  et un  $^{13}\text{C}$  (ou un  $^2\text{H}$ ).

Le pic à M+3 correspond à une molécule contenant un  $^{81}\text{Br}$  et un  $^{13}\text{C}$  (ou un  $^2\text{H}$ ).

Le pic à M+4 correspond à une molécule contenant un  $^{81}\text{Br}$  et un  $^{18}\text{O}$  (ou deux  $^{13}\text{C}$  ou un  $^{13}\text{C}$  et un  $^2\text{H}$ ).

#### IV. Spectres de masse de quelques classes chimiques

##### 1) Les hydrocarbures

###### Les hydrocarbures saturés

Le pic moléculaire est toujours présent, de faible intensité pour les chaînes longues, ainsi que plusieurs pics fragments séparés par 14 unités de masse ( $\text{CH}_2$ )

La présence du pic  $\text{M}-\text{CH}_3$  indique une ramification méthyle, ce pic est inexistant pour les chaînes linéaires.

Pour les hydrocarbures ramifiés, la fragmentation se fait aux points de ramification.

###### Les alcènes

Le pic de l'ion moléculaire est visible. La localisation des liaisons  $\text{C}=\text{C}$  est difficile à cause de la conjugaison.

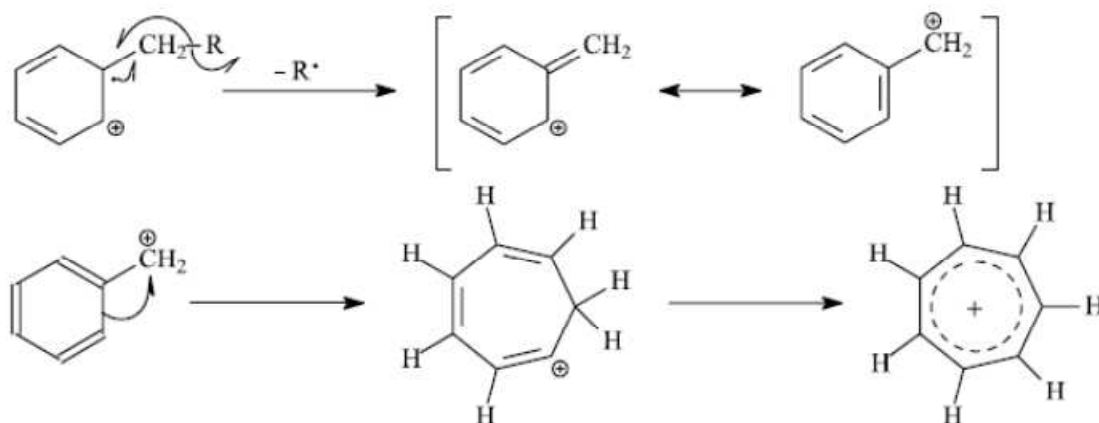
Les pics sont séparés de 14 unités de masse.

Les cycles insaturés peuvent subir une réaction rétro-Diels-Alder :



###### Les hydrocarbures aromatiques

Dans le cas des composés aromatiques substitués par une chaîne alkyle, la fragmentation se fait de sorte à obtenir un ion stabilisé par résonance.



## 2) Composés hydroxylés

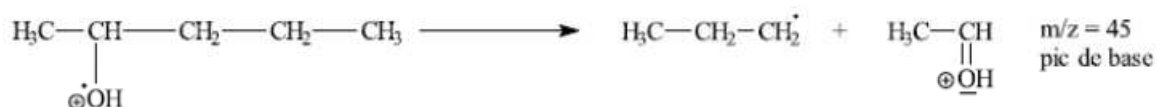
### Les alcools

Le pic moléculaire est en général faible, même indétectable pour un alcool tertiaire.

En général, il y a clivage de la liaison C-C voisine du groupement OH, les alcools primaires montrent un pic à  $m/z$  31 dû à  $^+CH_2-OH$ . Ce pic est un indicateur d'un alcool primaire.

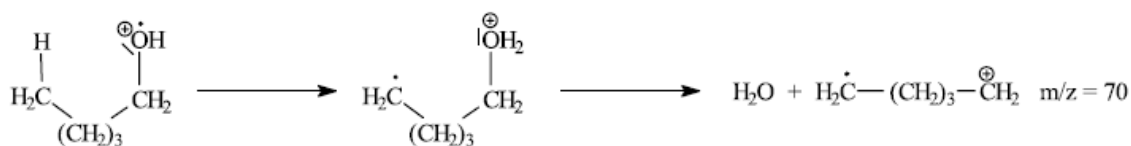


De la même manière, les alcools secondaires et tertiaires donnent respectivement des pics du à  $^+CHR-OH$  ( $m/z$  45, 59, 73 ...) et à  $^+CRR'-OH$  ( $m/z$  59, 73...).



Plus rarement la liaison C-H en  $\alpha$  est rompue, ça donne un pic à  $M-1$ .

Un pic à  $M-18$  est en général observé, il résulte de la perte d'une molécule de  $H_2O$ .



Les alcools cycliques donnent en général un pic à  $M-1$  dû à la perte du H en  $\alpha$ .

### Les phénols

Le pic moléculaire est très visible, ce qui facilite l'identification des phénols.

## 3) Les éthers

### Les éthers aliphatiques

Le pic de l'ion moléculaire est visible mais petit.

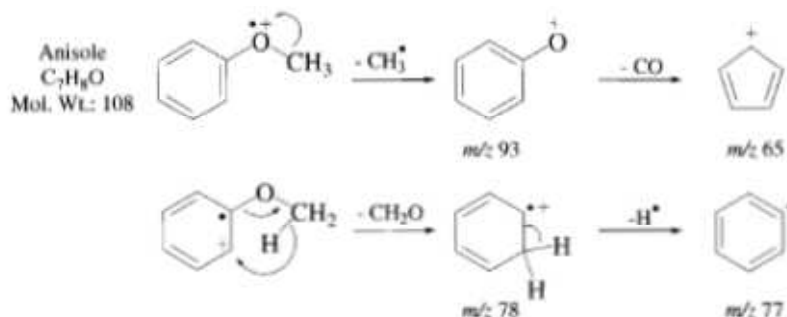
Des pics plus intenses à  $m/z$  31, 45, 59, 73... dû aux fragments  $RO^+$ ,  $ROCH_2^+$ .

On peut avoir rupture de la liaison C-C voisine de l'oxygène ou bien celle de la liaison C-O.

### Les éthers aromatiques

Le pic de l'ion moléculaire prédomine.

Un clivage a lieu au niveau de la liaison C-O en  $\beta$  par rapport au cycle, et l'ion formé peut se décomposer :

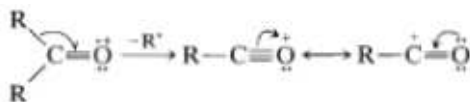


#### 4) Les cétones

##### Les cétones aliphatiques

Le pic de l'ion moléculaire est présent et assez important.

Le clivage principal a lieu sur la liaison C-C adjacente à la fonction C=O, car l'ion formé est stabilisé par résonance :



Les clivages donnent naissance à des pics à  $m/z$  43, 57, 71....

##### Les cétones cycliques

Le pic de l'ion moléculaire est assez prononcé.

Le clivage a également lieu sur la liaison C-C adjacente à la fonction C=O, mais l'ion formé subit d'autres clivages pour produire un fragment.

##### Les cétones aromatiques

Le pic de l'ion moléculaire est présent.

Le clivage se produit au niveau de la liaison en  $\beta$  par rapport au cycle produisant le fragment  $\text{ArC}\equiv\text{O}^+$ , qui correspond généralement au pic de base. Ce dernier peut perdre un CO et donner l'ion  $\text{Ar}^+$ .

#### 5) Les aldéhydes

##### Les aldéhydes aliphatiques

Le pic de l'ion moléculaire est en général présent.

Le clivage a lieu sur les liaisons C-H et C-C adjacentes à l'atome d'oxygène, ce qui donne des pics à  $M-1$  et à  $M-R$ .

D'autres pics caractéristiques apparaissent à  $M-18$ ,  $M-43$  et  $M-44$  résultant respectivement de la perte de  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_2=\text{CH-O}\cdot$  et  $\text{CH}_2=\text{CH-OH}$ .

Les aldéhydes aromatiques

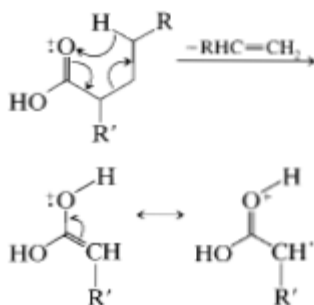
Le pic de l'ion moléculaire est très intense. Le pic à M-1 ( $\text{Ar-C}\equiv\text{O}^+$ ) est intense, parfois même plus important que celui de l'ion moléculaire.

L'ion  $\text{Ar-C}\equiv\text{O}^+$  perd un CO pour donner l'ion  $\text{Ar}^+$  qui élimine un acétylène pour donner l'ion  $\text{C}_4\text{H}_3^+$ .

**6) Les acides carboxyliques**Les acides aliphatiques

Le pic de l'ion moléculaire est présent mais il est de faible intensité.

Le pic le plus important résulte d'un réarrangement de McLafferty :



D'autres clivages ont lieu sur les liaisons voisines du  $\text{C}=\text{O}$  pour donner des pics à M-OH et à M- $\text{CO}_2\text{H}$ .

Les acides à longue chaîne donnent aussi lieu à des ruptures sur les liaisons C-C de la chaîne carbonée donnant ainsi des pics séparés par 14 unités comme dans le cas des hydrocarbures.

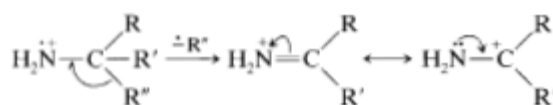
Les acides aromatiques

Le pic de l'ion moléculaire est prédominant. D'autres pics sont principalement présents à M-OH et à M- $\text{CO}_2\text{H}$ .

**7) Les amines**Les amines aliphatiques

Le pic de l'ion moléculaire est faible et parfois indetectable.

Le clivage a souvent lieu sur la liaison C-C en  $\alpha$  ou en  $\beta$  de l'atome d'azote :



Les amines primaires à chaîne linéaire donnent plusieurs pics résultant de la rupture des liaisons C-C, ces pics apparaissent à m/z 30, 44, 58....ils sont séparés de 14 unités.

### Les amines cycliques

Le pic de l'ion moléculaire est en général intense.

Le clivage a lieu sur les liaisons voisines de l'atome d'azote, ce qui conduit à des pics à M-1 ou même à l'ouverture du cycle.

### Les amines aromatiques

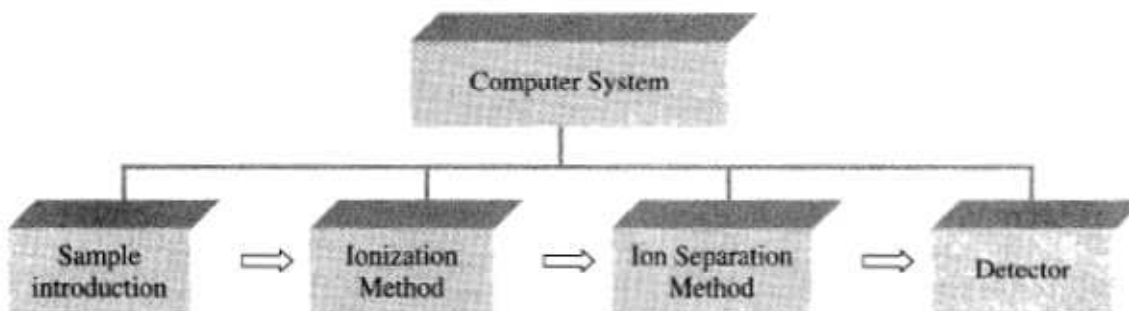
Le pic de l'ion moléculaire est important.

Des pics apparaissent à M-1 résultant de la perte d'un H sur l'azote. D'autres pics sont également observés à m/z 66 et 65, ils correspondent à la perte d'une molécule de HCN suivi de la perte d'un H.

## V. Instrumentation

Il existe actuellement de très nombreux modèles de spectromètres de masse, et l'instrumentation ne cesse de se développer.

En général, chaque instrument comporte une technique d'ionisation et une technique de séparation.



**Figure IV.7** Schéma d'un spectromètre de masse type.

Il existe des instruments à haute résolution et d'autres à basse résolution.

### **Analyseurs :**

L'analyseur est une partie très importante d'un spectromètre de masse, il permet de séparer les ions générés à l'étape d'ionisation par ordre de m/z.

Il existe différents types aux caractéristiques différentes.



### 1) Spectromètre de masse à secteur magnétique SM-SM

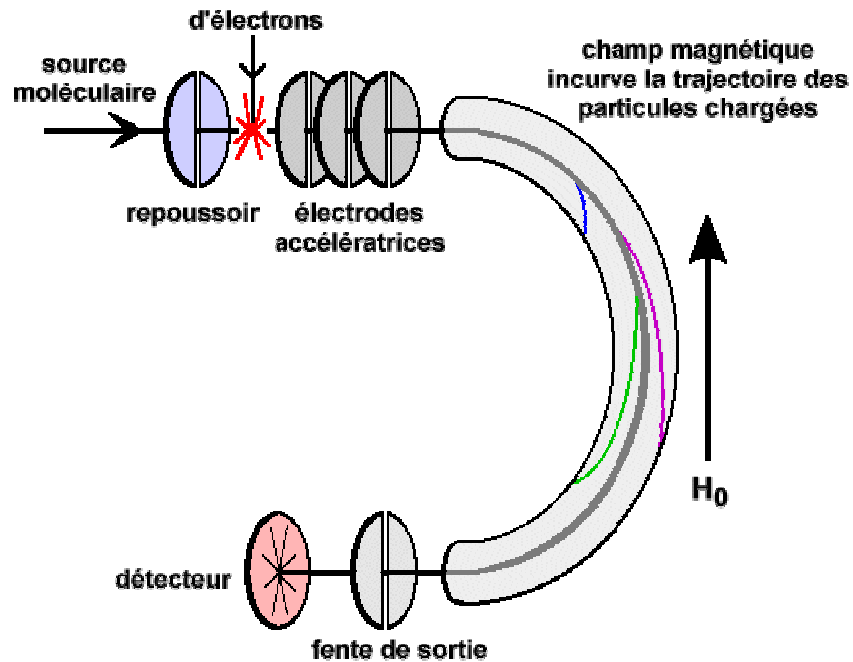


Figure IV.8 Schéma d'un analyseur à secteur magnétique simple.

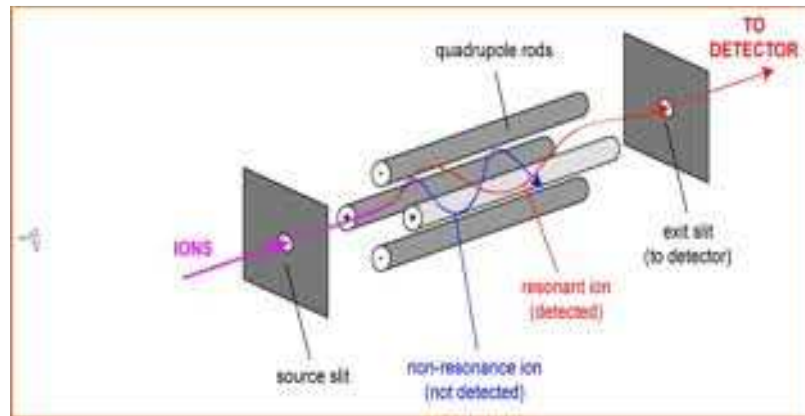
Dans ce spectromètre, un champ magnétique dévie circulairement la trajectoire des ions. La séparation des ions est basée sur le rapport  $m/z$ , les ions les plus légers sont les plus déviés. Le champ magnétique est balayé pour focaliser successivement les différents ions.

### 2) Spectromètre de masse quadripole

Le quadripole est composé de quatre barreaux cylindriques parallèles entre eux, placés aux sommets d'un carré. Une tension continue est appliquée aux barreaux, celle-ci peut être réglée en fonction de  $m/z$ .

Les ions sont introduits à une extrémité du tunnel formé par les barreaux, seuls les ions d'un  $m/z$  donné pourront traverser le tunnel pour atteindre le détecteur, on peut considérer le quadripole comme un filtre de masse réglable.

En pratique, le réglage est très rapide, on peut balayer l'intégralité de la gamme de masse en moins d'une seconde.



**Figure IV.9** Schéma d'un spectromètre de masse à quadripôle.

### 3) Spectromètre de masse à trappe ionique

La trappe ionique peut être considérée comme une variante du quadripôle. En plus de filtrer les ions par masse, ces derniers sont piégés ensuite éjectés successivement vers un détecteur pour produire un spectre de masse conventionnel.

### 4) Spectromètre de masse à temps de vol (TOF)

Les ions sont accélérés par un potentiel  $V$ , on les laisse ensuite dériver le long d'un tube jusqu'à un détecteur.

Le temps de vol d'un ion est donné par :  $t = (L^2 m / 2zeV)^{1/2}$ ,  $L$  est la longueur du tube.

A partir de  $t$ , on peut facilement remonter à  $m$ .

Cette technique est adaptée aux grosses biomolécules.

**Référence :** Polycopie de cours : *Méthodes spectroscopiques d'analyse physico-chimique*, BELAID Sabrina.