

Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse permet de mesurer la masse des molécules, ou du moins leurs fragments. Elle n'étudie que les ions.

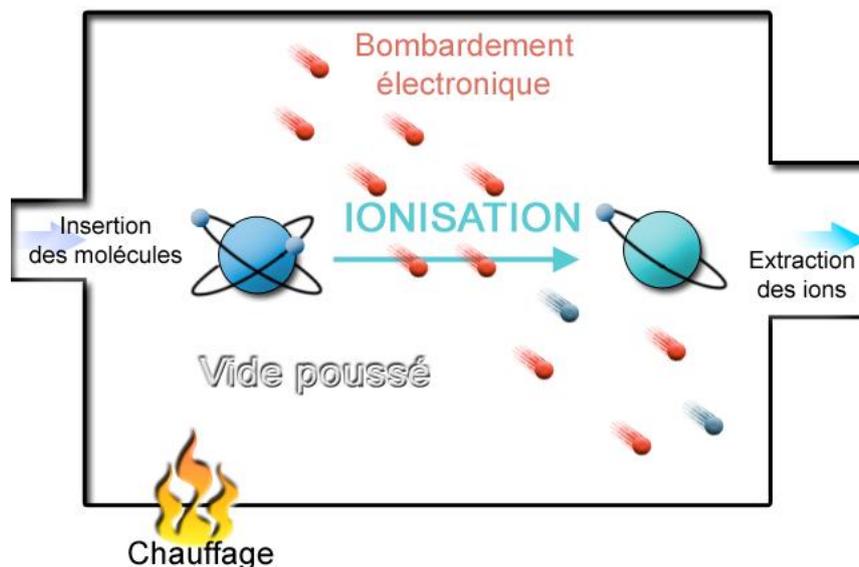
Cette méthode est très sensible.

I Principe et instrumentation

A. Ionisation

La première étape de la spectrométrie de masse est de ioniser les molécules introduites à l'intérieur du spectromètre. La technique la plus utilisée pour ioniser les molécules est l'impact électronique.

Les molécules sont chauffées dans un vide poussé afin d'obtenir un gaz des molécules pures. On bombarde ensuite ce gaz par des électrons. Les ions ainsi obtenus sont ensuite attirés grâce à une différence de potentiel.



Les électrons bombardés à grande vitesse vont entrer en collision avec les molécules introduites, leur arrachant au passage un électron. Généralement, les électrons ont une énergie de 70 eV , énergie nécessaire pour casser les liaisons moléculaires.



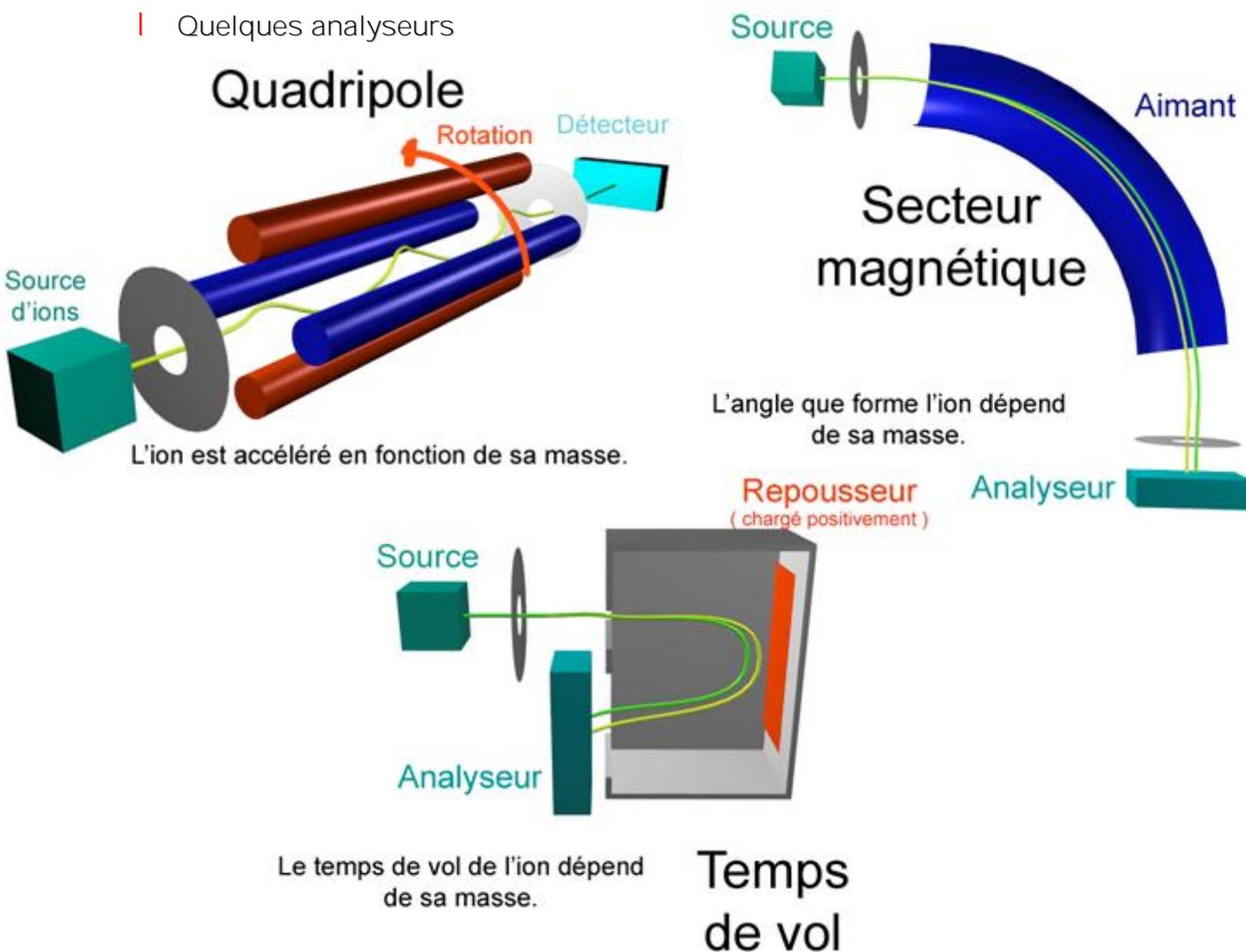
Molécule possédant un défaut d'électron, et donc possédant une charge

D'autres techniques plus douces existent pour ioniser les biomolécules sans les casser, telles que MALDI (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation*) ou ESI. Les ions produits sont presque tous quasi moléculaires.

B. Séparation des ions

Les ions obtenus vont alors être séparés en fonction de leur masse et de leur charge. Plusieurs type d'analyseurs existent. Ils peuvent être utilisés l'un après l'autre pour améliorer la qualité de la séparation des ions.

I Quelques analyseurs

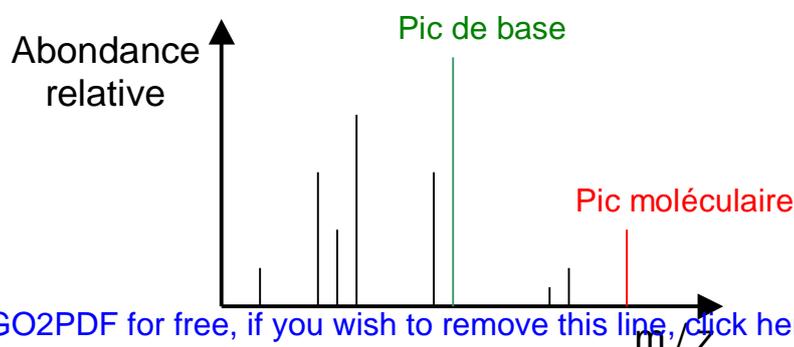


C. Comptage des ions puis observation du spectre

Une fois les ions séparés, il suffit de les compter. On mesure alors une abondance relative. Chaque ion va former un courant électrique qui va être amplifié.

On observe alors le spectre de masse de la molécule. À chaque ion (ou chaque fragment) correspond un pic, dont la hauteur donne son abondance relative, et sa position son **rapport masse/charge**.

Sur ce spectre, on peut identifier le pic de base, correspondant au **fragment le plus important** (ramené à 100%) et le pic moléculaire, généralement **l'ion le plus lourd**.



II Influence isotopique

La spectroscopie de masse est (malheureusement ?) tellement précise qu'elle arrive à mesurer les différents isotopes des atomes présents dans la molécule. En effet, ceux-ci ont un poids différent, ils vont donc donner lieu à une raie différente.

A. Abondance des isotopes

De manière naturelle, les atomes présents dans toutes les molécules présentent, dans une proportion bien précise, des isotopes. La tableau suivant donne l'abondance relative des isotopes en fonction de l'atome.

Abondance relative (%) M	Abondance relative (%) M + 1	Abondance relative (%) M + 2
¹² C : 100	¹³ C : 1,11	
¹ H : 100	² H : 0,016 (négligeable)	
¹⁴ N : 100	¹⁵ N : 0,38	
¹⁶ O : 100	¹⁷ O : 0,04 (négligeable)	¹⁸ O : 0,2
³⁵ Cl : 100		³⁷ Cl : 32,5
⁷⁹ Br : 100		⁸¹ Br : 98

Ainsi pour chaque fragment, on observera plusieurs pics, chacun correspondant à une distribution isotopique différente, et donc de masse différente. La valeur de ce pic correspondra à la probabilité de posséder tel ou tel isotope.

Exemple : CH₄

Formule	m / z (Da ou g.mol ⁻¹)	Abondance relative (%)
¹² C ¹ H ₄	16 (pic monoisotopique)	100
¹³ C ¹ H ₄ ou ¹² C ¹ H ₃ ² H	17	1*1,11 + 4*0,016 = 1,17
¹² C ¹ H ₂ ² H ₂ ou ¹³ C ¹ H ₃ ² H	18	6*0,016*0,016 + 4*1,11*0,016 = 0,0007
¹² C ¹ H ² H ₃ ou ¹³ C ¹ H ₂ ² H ₂	19	Infime
¹² C ² H ₄ ou ¹³ C ¹ H ₂ ² H ₃	20	Infime
¹³ C ¹² H ₄	21	Infime

On remarque qu'à un même pic peuvent correspondre plusieurs distributions isotopiques différentes. On appelle le pic contenant les isotopes les plus abondants le pic monoisotopique.

B. Pics isotopiques

Les isotopes des atomes C, H, O et N ont une abondance relative beaucoup plus faible que celle du plus abondant ; le pic isotopique le plus grand (qui est aussi le plus faible) est donc le pic monoisotopique.

Par contre, les isotopes de Cl et Br ont une abondance non négligeable.

1) Cas du brome

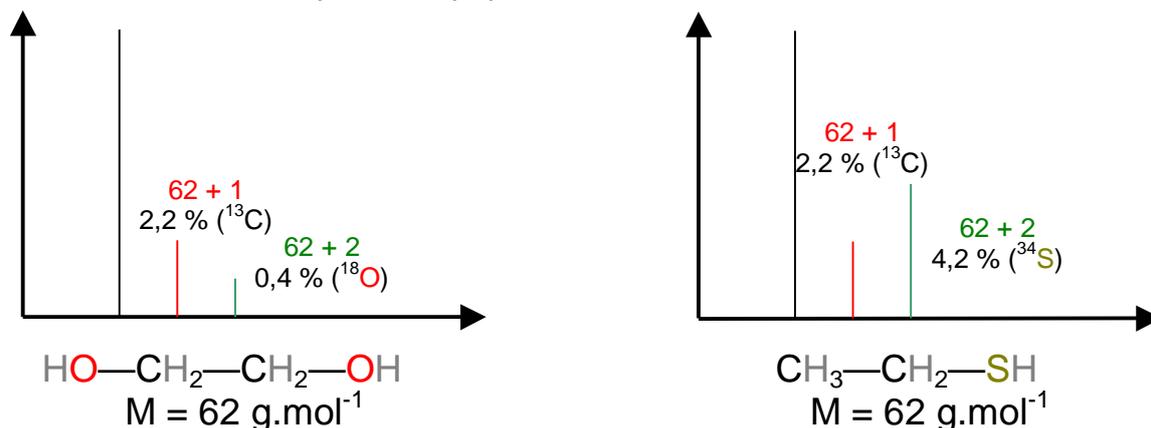
L'abondance entre le ⁷⁹Br et le ⁸¹Br est presque la même. On peut alors considérer que leur abondance relative est de 100%-100%, et les pics isotopiques du brome suivront alors le triangle de Pascal, de A en A+2.

2) Cas du chlore

L'abondance entre le ^{35}Cl et le ^{37}Cl est différente et les deux ne peuvent être négligés. L'abondance des pics A+2 voire A+4 est de plus en plus importante selon le nombre de Cl présents dans la molécule.

C. Détermination des espèces présentes

Imaginons deux molécules dont le poids moléculaire est le même mais qui possèdent des atomes différents. Même si les pics isotopiques sont les mêmes (ici A+2 puis A+4), on peut différencier les atomes d'oxygène et de soufre par l'abondance relative des pics isotopiques.



III. Fragmentation

Lorsque la molécule est bombardée d'électrons, des liaisons peuvent se casser et ainsi former de nouveaux fragments.

A. Règles de fragmentation

q Fragmentation facilitée :

- q Liaisons d'énergie plus faible
- q Potentiel d'ionisation bas

Ex : l'ion Na^+ se formera préférentiellement

- q Réarrangements

q Formation de l'ion le plus stable :

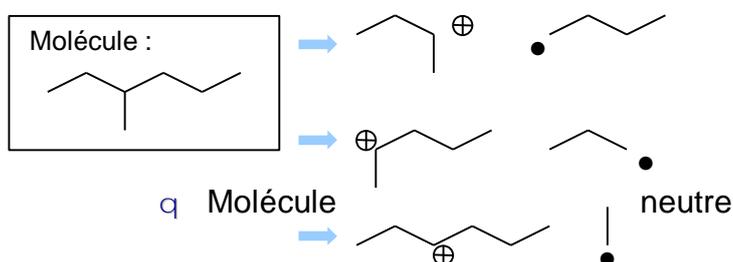
- q Le plus substitué
- q Stabilisation

Ex : CH_2^+ - à Stabilisé par résonance

q Formation du radical le plus favorable :

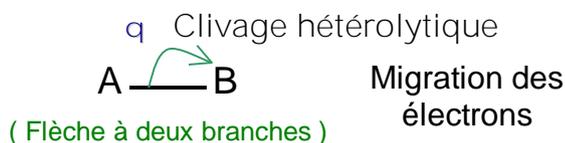
- q Le plus grand

Ex : du + au - favorisé



Ex : H₂O, NO, CO, CO₂, C₂H₂, etc ...

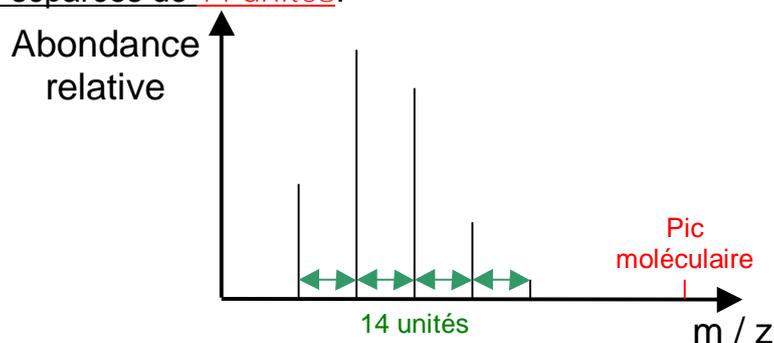
q Modes de fragmentation :



B. Cas des alcanes

Dans un alcane, toutes les liaisons sont à peu près équivalentes ; la fragmentation peut donc survenir sur toute la longueur de l'alcane.

Les fragments ainsi formés diffèrent d'un ou de plusieurs groupements -CH₂. Le poids moléculaire de ces groupements étant de 14 Da, on observe sur le spectre des raies séparées de 14 unités.



On observe que le pic moléculaire est souvent très faible. On remarque aussi que le pic correspondant au retrait d'un seul méthyle par rapport au pic moléculaire est souvent absent.

Dans le cas des *alcanes ramifiés*, le pic le plus élevé correspondra au carbocation le plus ramifié, puisqu'il est plus stable.

C. Cas des alcènes

Dans le cas des *alcènes*, les pics observés seront toujours séparés de 14 unités, mais on observera une deuxième série de pics qui correspondra aux fragments contenant l'insaturation.

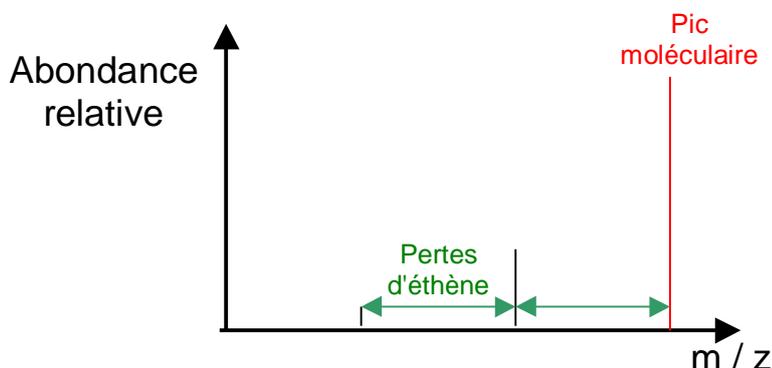
On observe aussi un pic caractéristique à 41 Da qui correspond au carbocation allylique.



Carbocation allylique

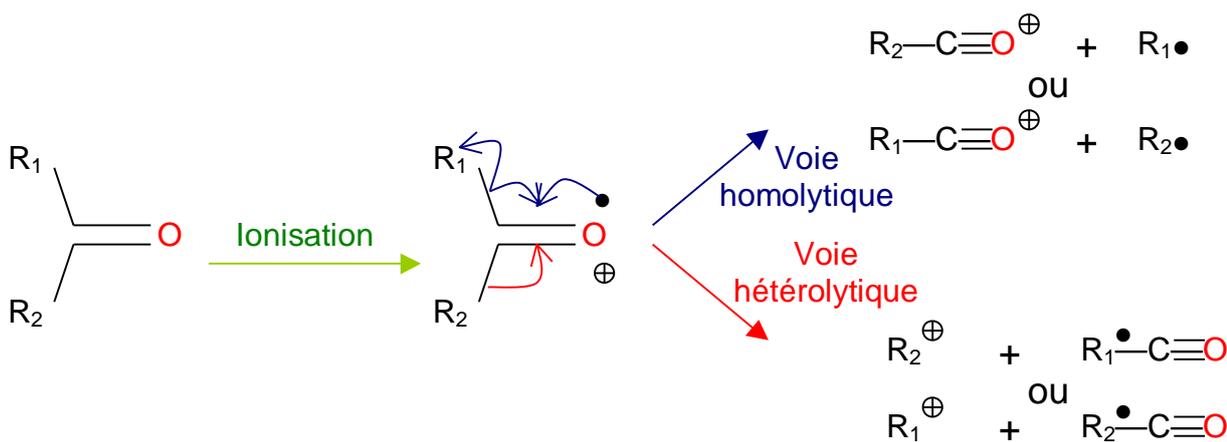
D. Cas des composés aromatiques

Ces molécules d'une grande stabilité s'ionisent difficilement, et on observe souvent un grand pic moléculaire. On peut aussi remarquer que si le cycle présente un nombre impair de carbones, celui-ci se réorganise pour perdre petit à petit des molécules d'éthène très stables.

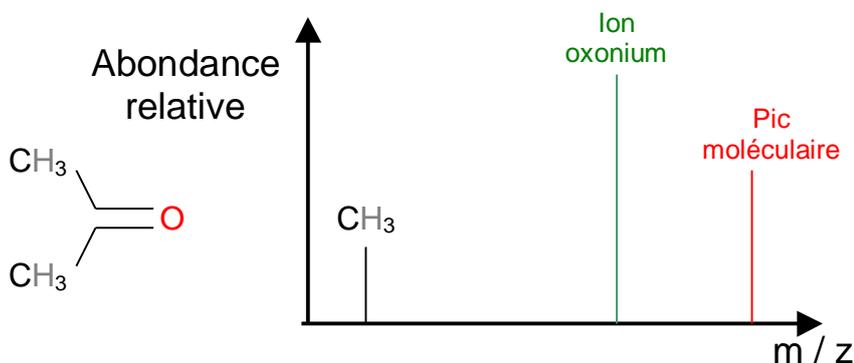


E. Cas des composés carbonylés

L'atome d'oxygène est assez massif, c'est souvent lui qui va perdre un électron. Les fragments le plus souvent observés sont ceux qui conduisent à un ion oxonium (un atome d'oxygène lié trois fois de manière covalente). Ainsi on observe les mécanismes suivants :



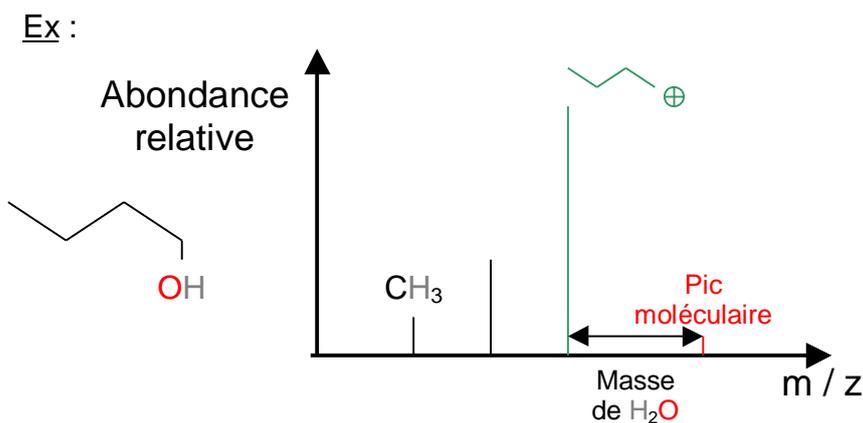
Ex : l'acétone



Chez les *esters*, les *acides* et les *amides*, on observe le même phénomène.

F. Cas des alcools

Chez les alcools, la formation d'eau est thermodynamiquement très favorable. Le groupe $-OH$ prend un atome d'hydrogène sur le carbone en α , voire en β .



VI Réarrangements

Les réarrangements pouvant se produire sont très nombreux et compliquent souvent l'interprétation des spectres de masse. Cependant certains sont très spécifiques et plus fréquents.

Nous n'étudierons ici qu'un seul type de réarrangement ...

Réarrangement de McLafferty

Pour que ce type de réarrangement ait lieu, il faut une molécule comportant six atomes d'affilés, dont le premier est un atome d'hydrogène, et le dernier un atome électronégatif lié de manière à former une double ou triple liaison.

On observe alors un ou départ d'éthène, réaction thermodynamiquement très favorable.

Ex :

