

La spectrométrie de masse

1. Introduction

La spectrométrie de masse (SM) est une technique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules par mesure de leur masse. De plus, elle permet de caractériser la structure chimique des molécules en les fragmentant et de réaliser des analyses quantitatives. Des limites de détection inférieures au nano gramme (10^{-9} g) et même au pico gramme (10^{-12} g) sont souvent atteintes. La spectrométrie de masse est une méthode destructive, qui permet à la fois d'accéder à la mesure de la masse moléculaire d'une substance ainsi que d'obtenir des données structurales.

2. Principe

La spectrométrie de masse désigne une méthode de caractérisation de la matière qui repose sur la détermination des masses atomiques ou moléculaires des espèces individuelles présentes dans l'échantillon. Le principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport (masse /charge).

Son concept pour l'analyse d'un composé est simple, consiste à:

- a) L'ionisation de ce composé grâce aux techniques d'ionisation.
- b) La séparation des ions selon leur rapport: masse/charge (m/z); c'est une technique de séparation.
- c) L'enregistrement de chaque ion séparé sous la forme d'un spectre.

Remarque:

Il est courant de coupler une spectroscopie de masse et un appareil de chromatographie pour l'analyse des composés.

Exemple: (GGP-SM) en phase gazeuse.

(GL-SM) en phase liquide.

3. Appareillage

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.

Une spectroscopie de masse comprend les éléments suivants (**Figure 1**):

- 1) Un système d'introduction de la substance a analysé.
- 2) Une source pour ioniser et produire les ions.
- 3) Un ou plusieurs analyseurs pour séparer les différents produits puis analyser les fragments.

- 4) Un détecteur pour compter les ions sortant de l'analyseur et fournir la masse.
- 5) Un système de traitement des données.

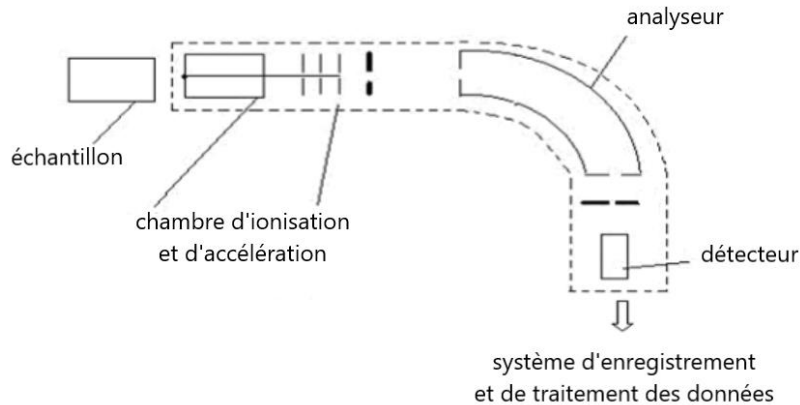


Figure 1: Structure d'un spectromètre de masse

Le système d'introduction qui fait pénétrer l'échantillon dans le spectromètre.

La source d'ions dans laquelle les molécules sont ionisées. Il existe plusieurs méthodes d'ionisation. La plus répandue est l'impact électronique.

L'analyseur qui sépare les ions en fonction du rapport (m/z) par application d'un champ magnétique et/ou électrique.

Le détecteur qui collecte les ions sortants de l'analyseur et les exprime en fonction de leur abondance relative.

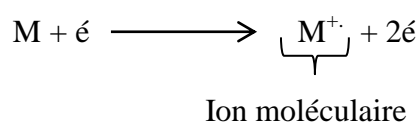
Un ensemble informatique de traitement des données qui permet de transformer les informations reçues par le détecteur en spectre de masse.

4. Ionisation par impact électronique

Le type d'ionisation étudié dans ce cours est l'impact électronique (I.E), qui est la technique la plus répandue en spectroscopie de masse.

La spectroscopie de masse bombarde les molécules en phase gazeuse avec un faisceau d'électron de haute énergie, puis enregistre le résultat se forme d'un spectre d'ions positif ayant été séparés selon le rapport m/z (masse/charge).

Cette ionisation consiste à obtenir, sous vide, l'interaction d'une molécule M et d'un électron accéléré à quelques dizaines de volts (généralement 70 eV).



Cet ion moléculaire va se fragmenter:

- Soit en un radical et un ion avec un nombre pair d'électron;
- Soit en une molécule neutre et un nouveau radical cation avec un nombre impair d'électron.

Ces deux catégories d'ions ont des propriétés chimiques différentes, chacun des ions primaires obtenus directement à partir de l'ion moléculaire peut à son tour se fragmenter et ainsi de suite.

Les ions obtenus sont ensuite séparés d'après leurs masses, et détectés en proportions de leur nombre.

On obtient ainsi le spectre de masse de l'échantillon introduit se forme de tableau ou sa forme graphique.

5. Spectre de masse

Le spectre de masse est un diagramme qui représente:

- Selon l'axe des abscisses: les rapports m/z des ions détectés (en impact électronique, $z = 1$; m/z s'exprime alors en Dalton).
- Selon l'axe de ordonnées: l'abondance relative de ces ions. Celle du pic le plus intense est fixé arbitrairement à 100.

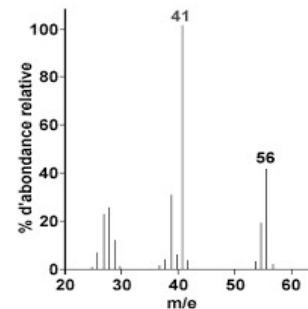


Figure 2: Allure spectre de masse

6. Interprétation des spectres de masse

L'interprétation d'un spectre de masse peut se décomposer en deux étapes :

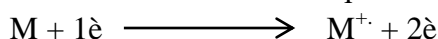
- Exploitation de l'ion moléculaire (les masses moléculaire, la parité, les isotopes, la formule brute....).
- Exploitation des ions frayements qui dépendent de la nature et de la structure de la molécule.

Les différents types de pics observés dans un spectre de masse sont (Figure 3):

Pic de base: C'est le plus grand pic (intensité plus grande) du spectre. On lui attribue en général la valeur de 100% et la hauteur des autres pics et calculée par rapport à cette valeur. Il correspond à l'ion le plus abondant donc le plus stable.

Remarque: L'intensité des pic= hauteur \times facteur de sensibilité.

Pic moléculaire: Il correspond à l'ionisation simple de la molécule.



Exemple: La molécule de C_7H_7NO , son pic moléculaire est à $m/z=121$.

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

Pic de fragmentation: Les ions moléculaires se désintègre pour donner des fragments par rupture de liaisons ou par réarrangements. Ces pics donnent des renseignements précieux sur la structure de la molécule.

Pic isotopique: Sachant que les éléments gazeux sont souvent constitué d'un mélange isotopes donc le pic moléculaire sera la plus part du temps suivi par un ou plusieurs pics correspondant aux isotopes lourds.

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.

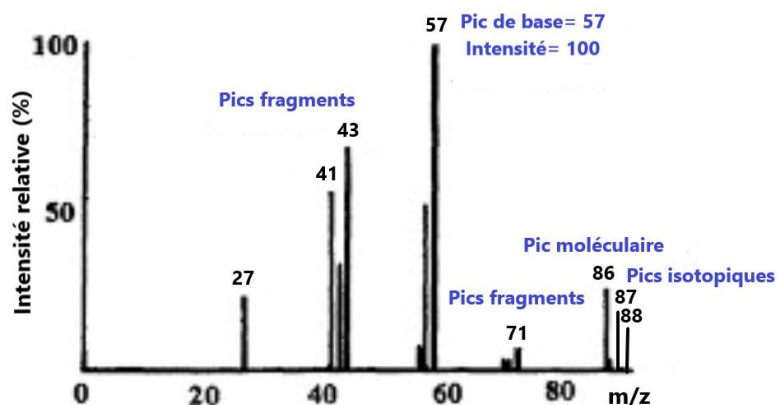


Figure 3: Spectre de masse

Remarque:

Les pics isotopiques ont une grande importance en spectroscopie de masse. Dans le cas des composés organiques les plus courants les isotopes ^{13}C , ^2H , ^{15}N , ^{17}O , ^{33}S contribuent à l'intensité des pics $M^+ + 1$ et les isotopes ^{18}O , ^{34}S , ^{37}Cl , ^{81}Br contribuent à celle du pic $M^+ + 2$.

Tableau 1: Abondances relatives des isotopes des éléments courants

Isotopes	% par rapport à l'isotope léger
^{13}C	1,11
^2H	0,015
^{17}O	0,04
^{18}O	0,20
^{15}N	0,37
^{33}S	0,78
^{34}S	4,40
^{37}Cl	32,5

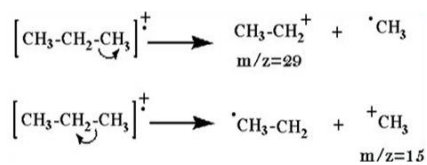
7. Mécanismes de fragmentations

1- La rupture simple: Elle s'effectue aux endroits fragiles de la molécule, selon deux ruptures:

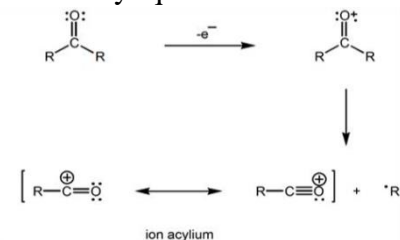
a- Rupture homolytique: C'est une rupture symétrique de la liaison covalente, entre deux atomes de même électronégativité ou d'électronégativité voisine. Chacun des deux atomes conserve un électron du doublet liant et on obtient deux radicaux libres.

b- Rupture hétérolytique: C'est une rupture dissymétrique de la liaison. Le doublet liant reste sur l'atome le plus électronégatif.

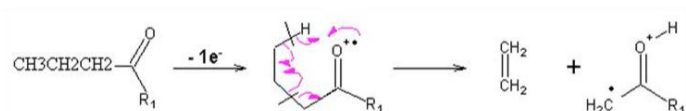
a-rupture homolytique.



b-rupture hétérolytique.



2- Le réarrangement: Le réarrangement de McLafferty est la migration d'un atome d'hydrogène γ vers une liaison multiple (lié à un hétéroatome) via un état de transition à six cycles suivi du clivage (rupture) de la liaison β et de l'élimination simultanée d'une molécule neutre contenant les atomes β et γ . Ce type de fragmentation donne des molécules neutres et un cation.



8. Détermination des formules moléculaires à l'aide des pics isotopiques

Il est possible de déterminer la formule moléculaire d'une molécule simple à l'aide des pics isotopiques de l'ion moléculaire (M^+) pour cela il suffit de suivre les étapes suivantes:

1. Si le pic moléculaire M^+ n'est pas le pic de base, il faut recalculer l'intensité des pics ; la valeur de 100% du pic moléculaire.
2. Si l'ion moléculaire (M^+) a une masse paire le composé comporte un nombre nul ou pair d'azote.

Nombre d'azote	0 ou un nombre pair d'N	Nombre impaire d'N
M^+	$m/z = \text{paire}$	$m/z = \text{impaire}$

3. L'intensité du pic isotopique $M^+ + 1$ nous permet de calculer le nombre d'atome du carbone à l'aide de la relation suivante:

Nombre de carbone = intensité du pic $M^+ + 1/1,1$

4. L'intensité du pic $M^{+}+2$ nous permet de confirmer la présence ou l'absence des atomes ^{37}S , ^{18}O , ^{37}Cl , ^{81}Br .
5. La formule moléculaire peut être établie en réduisant le nombre d'atome d'hydrogène et d'oxygène requis pour arriver à la masse moléculaire de la molécule.

9. Conclusion

La spectrométrie de masse représente une avancée majeure dans le domaine de la microbiologie, offrant des outils puissants pour l'identification des microorganismes, l'analyse des métabolites et l'étude des mécanismes de résistance. En intégrant ces technologies dans leurs recherches, les microbiologistes peuvent approfondir leur compréhension des systèmes biologiques complexes, orienter le développement de nouvelles thérapies et renforcer leur capacité à répondre aux défis de santé publique et environnementaux. La spectrométrie de masse ne se limite pas à une méthode d'analyse; elle constitue un véritable catalyseur pour l'innovation et l'avancement dans le domaine de la microbiologie.