

Spectrométrie de masse Principes de base - Théorie

DÉVELOPPER
UNE SCIENCE TOUJOURS
MEILLEURE
AGILENT ET VOUS



Agilent Technologies s'engage
auprès du monde de
l'enseignement et donne accès
à ses propres ressources.

Ce diaporama a été créé par Agilent à des fins
pédagogiques uniquement.

Contacter Agilent Technologies au préalable pour toute
autre utilisation des images, schémas ou dessins.



Introduction

La **spectrométrie de masse (MS)** est une technique de chimie analytique qui permet d'identifier la quantité et le type de composés chimiques présents dans un échantillon en mesurant le ratio masse/charge et l'abondance d'ions de la phase gazeuse.

Un spectre de masse est un graphique représentant le signal d'ions en fonction du rapport masse/charge. À partir du spectre, les masses d'ions moléculaires et de fragments d'ions permettent de définir la composition élémentaire ou la signature isotopique d'un composé. Ces informations sont utilisées pour élucider la structure chimique de molécules telles que des pesticides ou des peptides.

La spectrométrie de masse repose sur l'ionisation de composés chimiques ayant pour but de générer des molécules chargées ou des fragments de molécules et de mesurer ainsi leur rapport masse/charge.

Source : Wikipédia

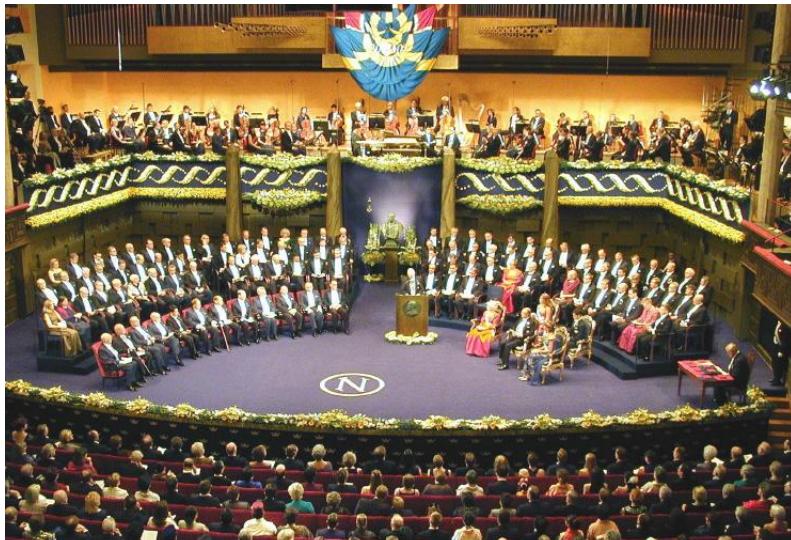


Introduction

Une technologie qui a obtenu le Prix Nobel

John Fenn et **Koichi Tanaka** ont reçu le Prix Nobel de chimie en 2002 pour le développement de deux techniques d'ionisation douce :

- Technique d'ionisation électrospray, Dr Fenn
- Désorption douce par laser, Dr Tanaka



Salle de concert, Stockholm, Suède, décembre 2002



Le Roi de Suède remet le Prix Nobel au Dr Fenn

Table des matières

Introduction

- [Considérations de base](#)
- [Les masses en spectrométrie de masse](#)
- [Étapes fondamentales](#)

Fonctionnement

- [Ionisation](#)
 - [Impact d'électrons](#)
 - [Ionisation chimique](#)
 - [Considérations concernant les échantillons \(LC-MS\)](#)
 - [Ionisation électrospray \(ESI\)](#)
 - [Ionisation chimique à pression atmosphérique \(APCI\)](#)
 - [Photo-ionisation à pression atmosphérique \(APPI\)](#)
 - [Ionisation multimode](#)
 - [MALDI](#)
 - [ICP](#)

Fonctionnement

- [Analyseur de masse](#)
 - [Simple quadripôle](#)
 - [Triple quadripôle](#)
 - [Piège à ions](#)
 - [Temps de vol](#)

Résultats

- [Spectre de masse](#)
- [Simple Quad vs. TOF](#)
- [Ions à charges multiples et déconvolution](#)

Informations complémentaires

- [Page Internet Agilent Academia](#)
- [Publications](#)



Introduction

Considérations de base

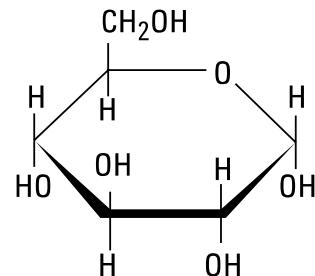
Les éléments peuvent être identifiés de manière unique par leur masse. La spectrométrie de masse est une méthode analytique permettant de mesurer le poids moléculaire ou atomique.

The Periodic Table of Elements is a tabular arrangement of all known chemical elements. It consists of 18 groups and 7 periods. Each element is represented by a square containing its symbol, name, atomic number, atomic weight, and other properties such as melting point and boiling point. The table is color-coded to categorize elements: Alkali metals (light green), Alkaline earth metals (medium green), Transition metals (yellow), Post-transition metals (blue), Actinides (dark green), Metalloids (grey), Nonmetals (pink), Halogens (orange), Noble gases (red), and Lanthanides (purple).

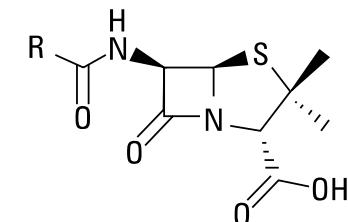
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
1 H	2 He	3 Li	4 Be	5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne	11 Na	12 Mg	13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar	
1.008	4.003	6.941	9.012	10.81	12.01	14.01	16.00	19.00	20.18	22.99	24.31	26.98	28.09	30.97	32.07	35.45	39.95	
1.008	4.003	6.941	9.012	10.81	12.01	14.01	16.00	19.00	20.18	22.99	24.31	26.98	28.09	30.97	32.07	35.45	39.95	
3 Li	4 Be	5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne	11 Na	12 Mg	13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar	19 K	20 Ca	
6.941	9.012	10.81	12.01	14.01	16.00	19.00	20.18	22.99	24.31	26.98	28.09	30.97	32.07	35.45	39.95	39.95	40.08	40.08
6.941	9.012	10.81	12.01	14.01	16.00	19.00	20.18	22.99	24.31	26.98	28.09	30.97	32.07	35.45	39.95	39.95	40.08	40.08
11 Na	12 Mg	13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar	19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	
22.99	24.31	26.98	28.09	30.97	32.07	35.45	39.95	39.95	40.08	44.96	45.96	50.94	54.94	55.94	55.94	55.94	55.94	55.94
22.99	24.31	26.98	28.09	30.97	32.07	35.45	39.95	39.95	40.08	44.96	45.96	50.94	54.94	55.94	55.94	55.94	55.94	55.94
37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Ag	47 Cd	48 In	49 Sn	50 Ge	51 As	52 Sb	53 Te	54 I	55 Cs
39.95	40.08	88.907	91.224	92.907	95.94	98.907	101.907	104.907	106.907	113.907	114.907	118.907	120.907	122.907	124.907	126.907	128.907	132.907
39.95	40.08	88.907	91.224	92.907	95.94	98.907	101.907	104.907	106.907	113.907	114.907	118.907	120.907	122.907	124.907	126.907	128.907	132.907
55 Cs	56 Ba	57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu	72 Fr	
132.907	136.907	138.907	140.907	141.907	142.907	144.907	146.907	148.907	150.907	152.907	154.907	156.907	158.907	160.907	162.907	164.907	166.907	
132.907	136.907	138.907	140.907	141.907	142.907	144.907	146.907	148.907	150.907	152.907	154.907	156.907	158.907	160.907	162.907	164.907	166.907	
87 Fr	88 Ra	89 Ac	90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr	104 Rn	
223.023	226.023	229.023	229.023	232.023	232.023	233.023	233.023	234.023	235.023	236.023	237.023	238.023	239.023	240.023	241.023	242.023	243.023	
223.023	226.023	229.023	229.023	232.023	232.023	233.023	233.023	234.023	235.023	236.023	237.023	238.023	239.023	240.023	241.023	242.023	243.023	

Source : Tableau périodique, poster SI-0186

Les composés, constitués de différents éléments peuvent être différenciés par leur masse :



Glucose $C_6H_{12}O_6$
MM : 180,1559 g/mole



Pénicilline $C_{16}H_{18}N_2O_4S$
MM : 334,39 g/mole

Table des matières

À des fins pédagogiques uniquement

5 avril 2016

6

Introduction

Les masses en spectrométrie de masse

La **masse moyenne** d'une molécule est obtenue en additionnant les masses atomiques moyennes de ses éléments constituants.

Masse moyenne de l'eau (H_2O) : $1,00794 + 1,00794 + 15,9994 = 18,01528 \text{ Da}$

La **masse monoisotopique** est la somme des masses des atomes d'une molécule en utilisant la masse non liée, à l'état fondamental, au repos du principal (c.-à-d. du plus abondant) isotope de chaque élément au lieu de la masse isotopique moyenne. La masse monoisotopique est généralement exprimée en unités de masse atomique unifiée.

La **masse exacte** (ou plus exactement, la masse exacte mesurée) est une masse mesurée de manière expérimentale qui permet de déterminer la composition élémentaire. Pour les molécules dont la masse est inférieure à 200 u, une précision de 5 ppm est souvent suffisante pour déterminer de manière univoque la composition élémentaire.

Source : Wikipédia

Table des matières

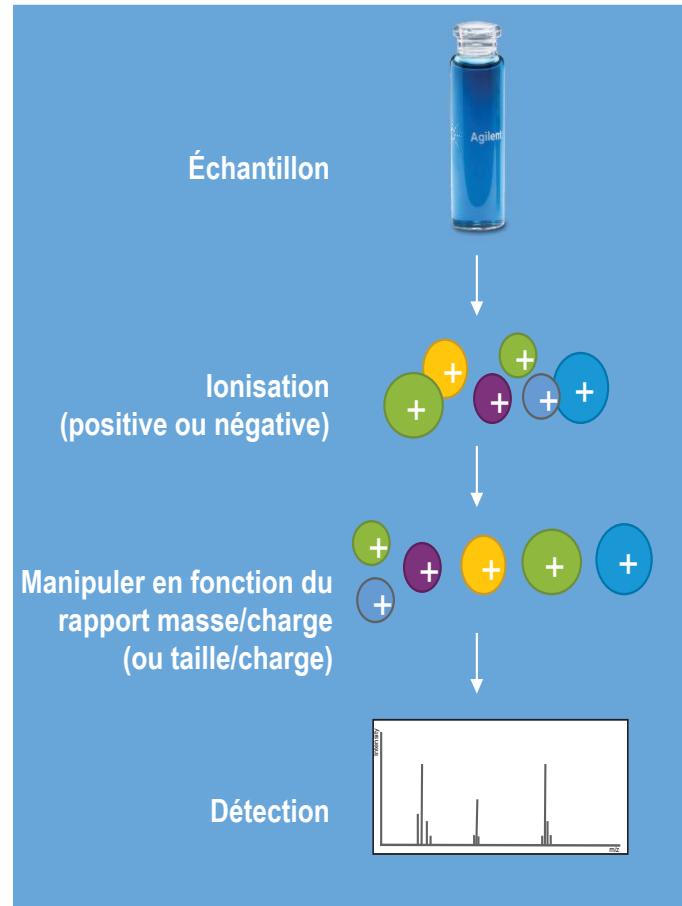


Introduction

Étapes fondamentales

Procédure de MS type :

- L'échantillon (solide, liquide ou gazeux) est ionisé
- Les molécules de l'échantillon peuvent se dissocier en fragments chargés pendant l'ionisation
- Les ions sont séparés en fonction de leur ratio masse/charge (m/z)
- Les ions sont détectés par un dispositif capable de détecter des particules chargées (par ex. un multiplicateur d'électrons)
- Les résultats sont affichés sous la forme d'un spectre représentant l'abondance relative en fonction du rapport m/z
- L'identification se fait en corrélant les masses connues avec les masses identifiées ou par référence au profil caractéristique de fragmentation



Fonctionnement Ionisation

Avant de pouvoir analyser l'échantillon en termes de masses, celui-ci doit être ionisé dans la source d'ions.

Introduction des échantillons gazeux :

- Ionisation d'électrons (EI)
- Ionisation chimique (CI)

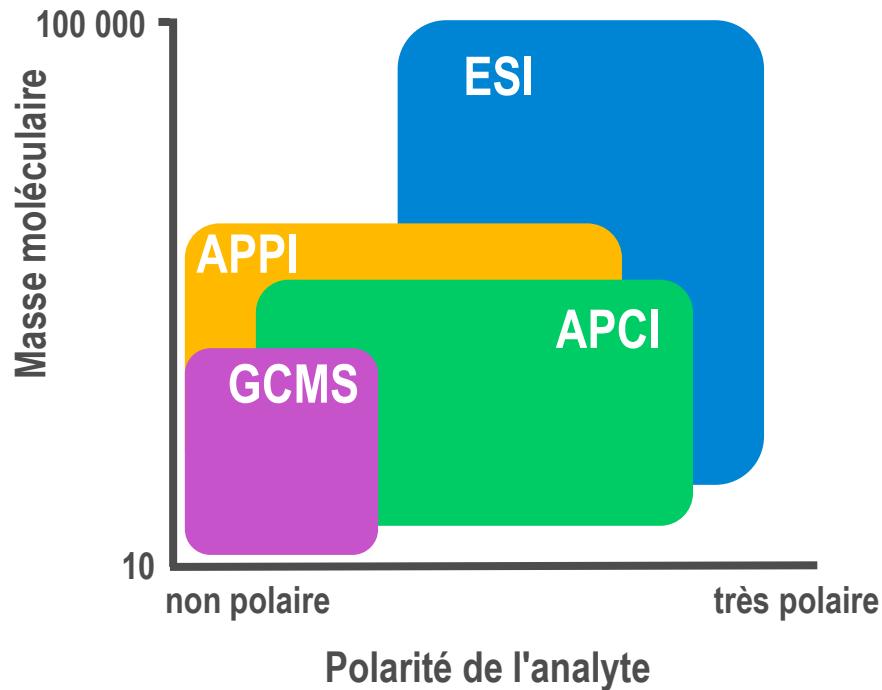
Introduction des échantillons liquides :

- Ionisation électrospray (ESI)
- Ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI)
- Photo-ionisation à pression atmosphérique (APPI)
- Ionisation multimode (MMI)
- Désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI)
- Plasma couplé par induction (ICP)



Fonctionnement Ionisation

La polarité des analytes détermine la source d'ionisation.



ESI	Ionisation électrospray
APPI	Photo-ionisation à pression atmosphérique
APCI	Ionisation chimique à pression atmosphérique
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse



Fonctionnement

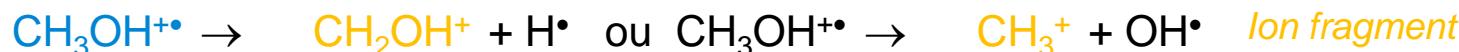
Ionisation – Impact d'électrons (EI)

L'impact d'électrons (EI), une méthode bien établie, est la plus couramment utilisée pour l'ionisation en chromatographie en phase gazeuse (GC).

Les molécules qui sortent du chromatographe en phase gazeuse sont bombardées par un faisceau d'électrons (70 eV) qui retire un électron de la molécule et la transforme ainsi en ion chargé.



L'EI produit généralement des ions moléculaires et des ions de fragmentation (des fragments de la molécule originelle) à charge unique qui sont utilisés pour élucider la structure.



Un électron ou un photomultiplicateur détecte les ions séparés.

Le spectre de masse obtenu est un graphique représentant l'intensité du signal pour un rapport m/z donné.

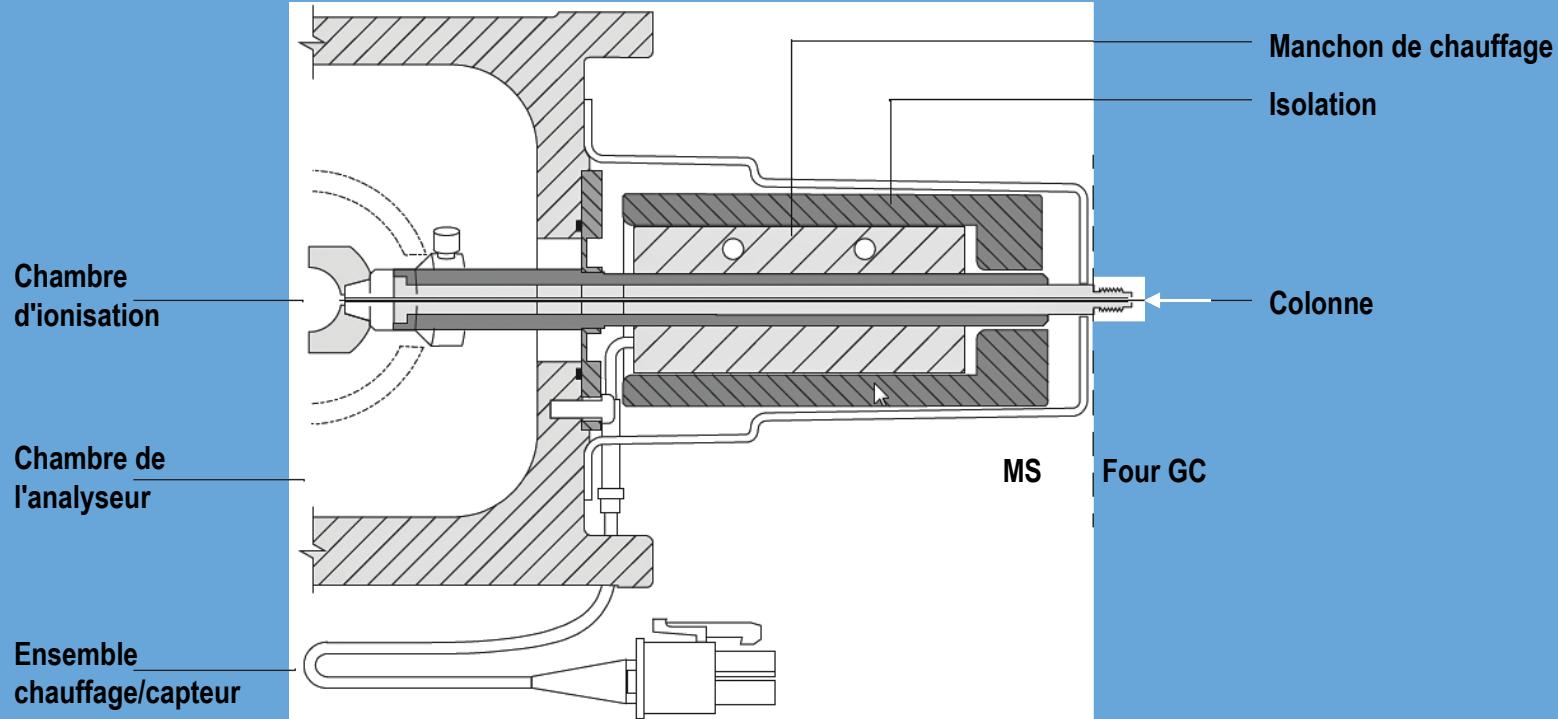
Table des matières



Fonctionnement

Ionisation – Impact d'électrons (EI)

L'interface GC/MS fonctionne à température élevée.



L'interface EI GC/MS. Source : [Manuel d'utilisation du système Agilent 7000 Series Triple Quad GC/MS \(p. 46\)](#)

Table des matières

Fonctionnement

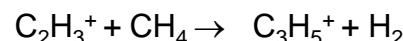
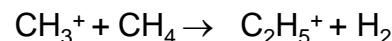
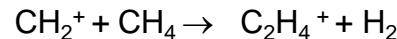
Ionisation – Ionisation chimique (CI)

L'EI est un processus de transfert direct d'énergie où l'énergie cinétique des électrons est déposée directement dans une molécule d'analyte.

La CI est un processus indirect impliquant un agent chimique intermédiaire. Ceci est particulièrement vrai pour l'ionisation chimique positive (PCI). Dans la PCI, la source d'ions est remplie d'un gaz réactif qui est ionisé pour créer des ions réactifs qui réagissent avec l'analyte.

Les gaz réactifs les plus souvent utilisés sont : **Le méthane, l'iso-butane et l'ammoniac.**
Le gaz réactif utilisé détermine le comportement d'ionisation et de fragmentation de l'analyte.

Les principales réactions du méthane sont :



Fonctionnement

Ionisation – considérations concernant l'échantillon (LC/MS)

ESI



Volatilité non requise

Technique privilégiée pour les analytes thermolabiles

Ions formés en solution

Peut former des ions à charges multiples

APCI



Une certaine volatilité requise

L'analyte doit être thermiquement stable

Ions formés dans la phase gazeuse

Forme des ions à charge unique seulement

APPI



Une certaine volatilité requise

L'analyte doit être thermiquement stable

Ions formés dans la phase gazeuse

Forme des ions à charge unique seulement

De nombreux composés sont bien ionisés par ces trois sources. L'APCI / APPI peut ioniser des molécules trop non-polaires pour être ionisées par ESI.

Table des matières



Fonctionnement

Ionisation – Considérations concernant l'échantillon (LC/MS)

ESI



Ions en solution par ex.
 catécholamine, sulfates
conjugués, amines
quaternaires



Composés contenant des hétéroatomes par ex.
carbamates, benzodiazépines



Composés multipliant la charge en solution par ex.
protéines, peptides,
oligonucléotides

APCI



Composés de MM et de polarité intermédiaires par ex. PAH, PCB, acides gras, phtalates, alcools



Composés contenant des hétéroatomes par ex.
carbamates, benzodiazépines



Composés trop non-polaires pour avoir une réponse par ESI

APPI



Composés de MM intermédiaire et de polarité intermédiaire à faible par ex.
PAH, PCB, acides gras, phtalates, alcools



Composés contenant des hétéroatomes par ex.
carbamates, benzodiazépines



Composés trop non-polaires pour avoir une réponse par ESI



Fonctionnement Ionisation – Électrospray (ESI)

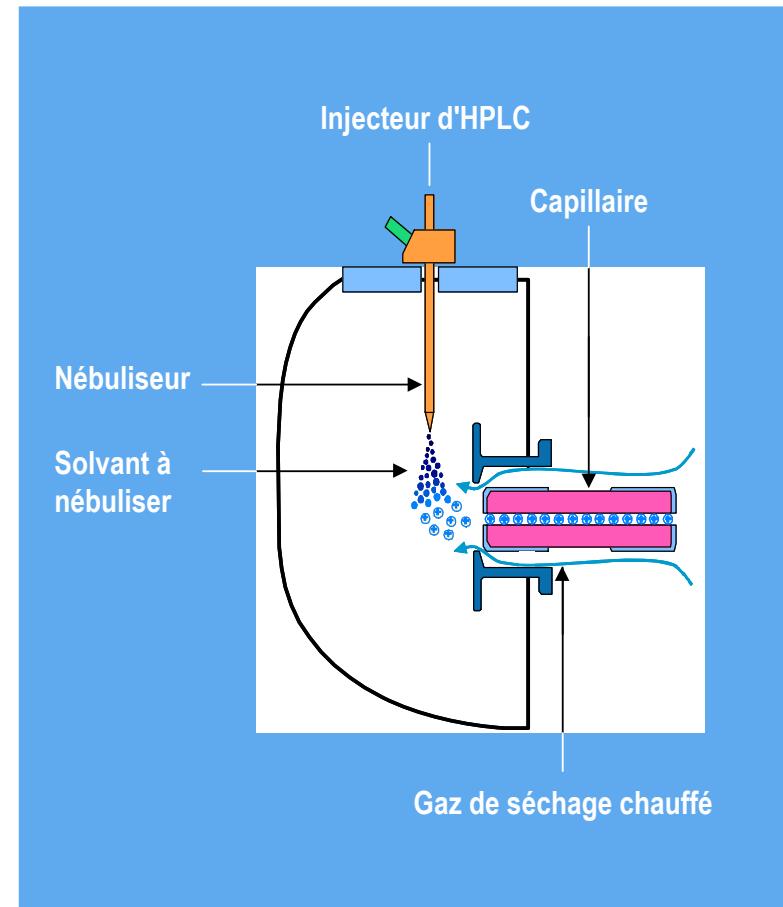
Ionisation électrospray (ou par électronébulisation) (ESI) est une technique d'ionisation douce.

Le solvant LC est nébulisé dans une chambre de nébulisation à pression atmosphérique en présence d'un champ électrostatique puissant et d'un gaz de séchage chauffé. Le champ électrostatique se forme entre le nébuliseur, qui est à la terre dans ce dispositif, et le capillaire, qui est sous haute tension.

Molécules appropriées :

- Les petites molécules (glucose) et les grosses biomolécules (protéines, oligonucléotides)

C'est grâce à la formation de charges multiples que l'ESI permet d'analyser des molécules plus grosses (-> [Déconvolution](#))



Source d'ions de l'électrospray

Source : [Guides des concepts LC/MS](#) (p. 22)



Fonctionnement Ionisation – Processus ESI

Des gouttelettes chargées aux ions d'analyte

Le nébuliseur produit des gouttelettes de taille uniforme.

Les gouttelettes chargées sont attirées vers le capillaire diélectrique. Le flux d'azote chauffé entourant le capillaire rétrécit les gouttelettes. Ce processus s'appelle la **désolvation**.

Les gouttelettes continuent à rétrécir jusqu'à ce que les forces électrostatiques (coulombiques) répulsives soient supérieures aux forces de cohésion des gouttelettes, ce qui entraîne leur explosion.

Ce processus est répété jusqu'à ce que les ions de l'analyte finissent par être désorbés dans la phase gazeuse, du fait de la présence de champs électriques puissants à la surface des micro-gouttelettes. Ce processus s'appelle **évaporation des ions**.

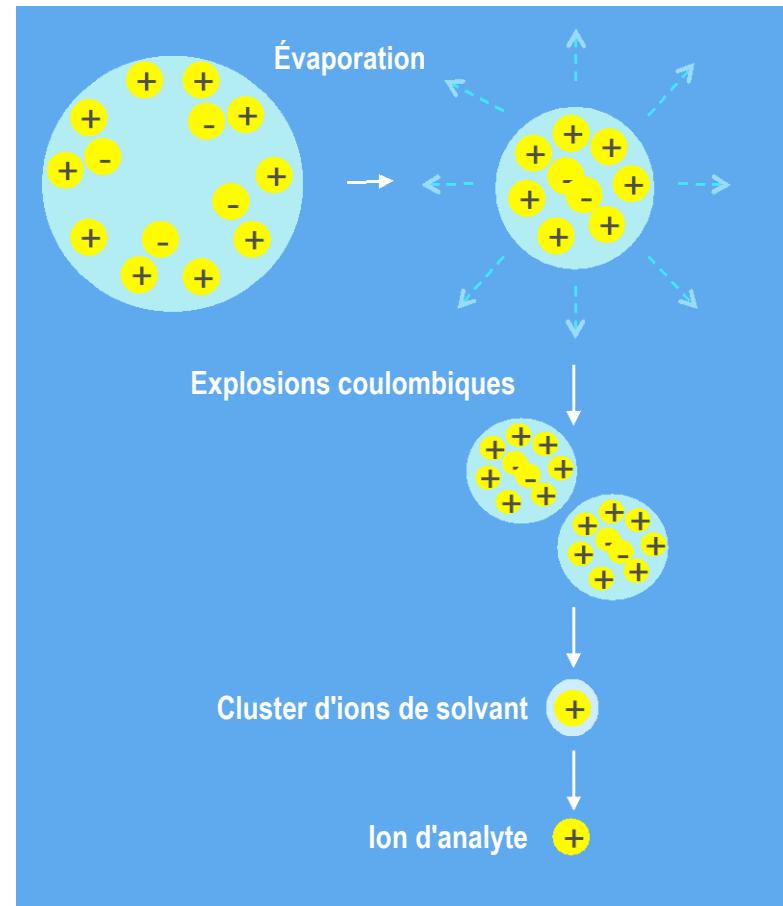


Table des matières



Fonctionnement

Ionisation – Ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI)

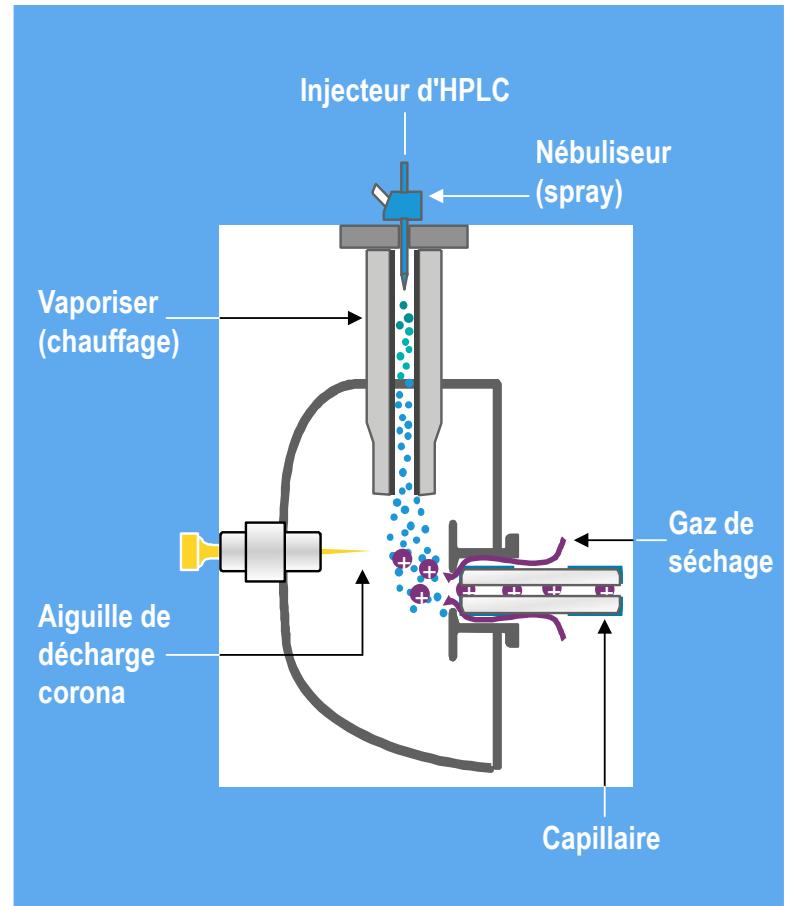
L'APCI est un processus d'ionisation chimique en phase gazeuse. Par conséquent, l'analyte doit être dans la phase gazeuse pour l'ionisation.

Le solvant LC passe par l'aiguille du nébuliseur, ce qui crée un fin brouillard.

Les gouttelettes sont complètement vaporisées dans un tube en céramique chauffé (~ 400 à 500°C).

Molécules appropriées :

- Molécules < 1 500 u
- Les composés polaires et non-polaires (typiquement analysés par chromatographie en phase normale)



Source d'ionisation chimique à pression atmosphérique
Source : [Guides des concepts LC/MS](#) (p. 27)

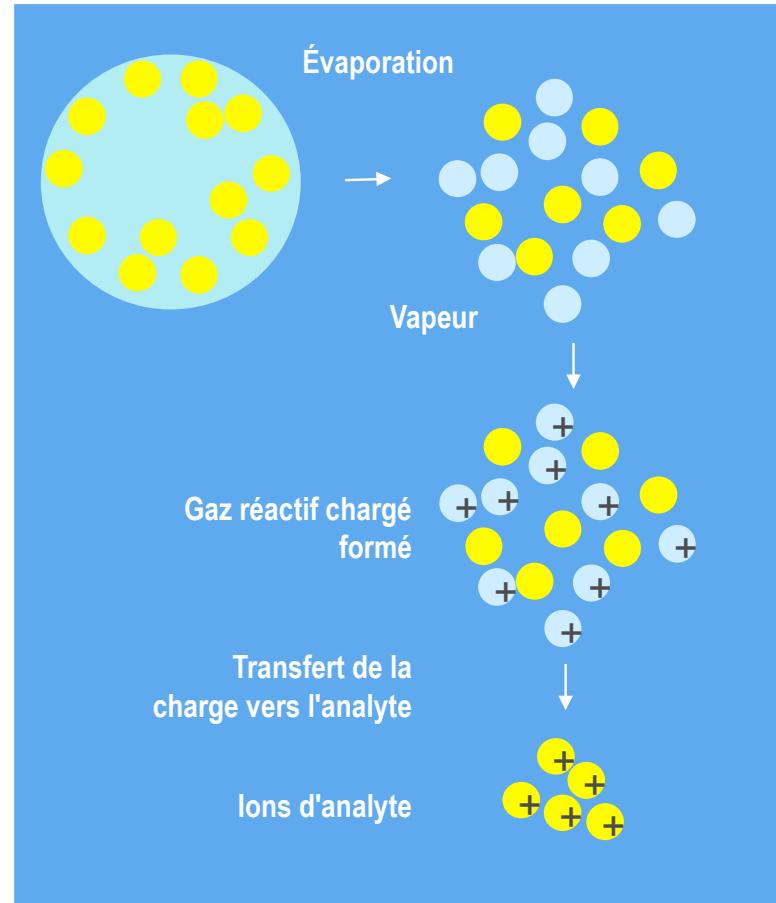
Fonctionnement Ionisation – Processus APCI

Ceci illustre les processus d'évaporation et d'ionisation de l'APCI.

Il faut noter que l'analyte est ionisé uniquement après l'évaporation et après l'ionisation du gaz réactif.

Le gaz réactif transfère alors une charge vers l'analyte.

Généralement, l'APCI génère uniquement des ions à charge unique. Cependant, il est possible d'obtenir des ions à double charge si les sites des charges sont maintenus éloignés (généralement par une région hydrophobe).



Fonctionnement

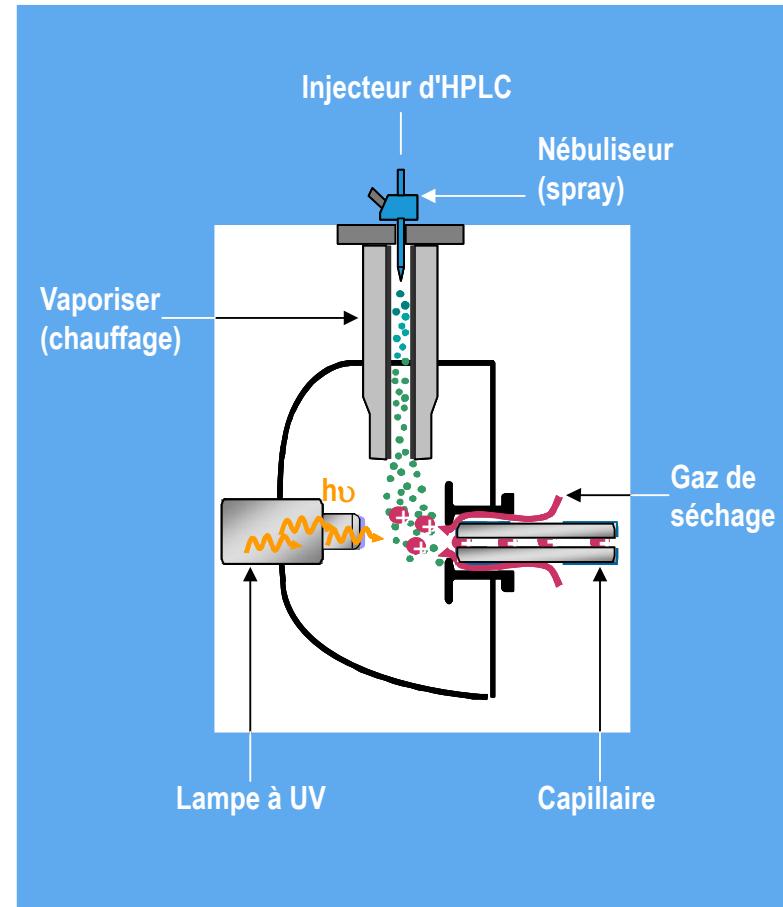
Ionisation – Photo-ionisation à pression atmosphérique (APPI)

Avec la technique de l'APPI, le solvant LC passe par une aiguille de nébulisation pour générer un fin brouillard.

Les gouttelettes sont complètement vaporisées dans un tube en céramique chauffé.

Le mélange gaz/vapeur passe à travers la lumière ultraviolette d'une lampe à Krypton pour ioniser les molécules de l'échantillon. Les ions de l'échantillon sont ensuite introduits dans le capillaire.

L'APPI est applicable à un grand nombre des composés typiquement analysés par APCI. L'APPI s'est révélée particulièrement utile pour l'analyse de composés aromatiques non-polaires.



Source de la photo-ionisation à pression atmosphérique
Source : [Guides des concepts LC/MS \(p. 29\)](#)

Table des matières

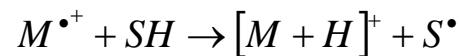


Fonctionnement Ionisation – Processus APPI

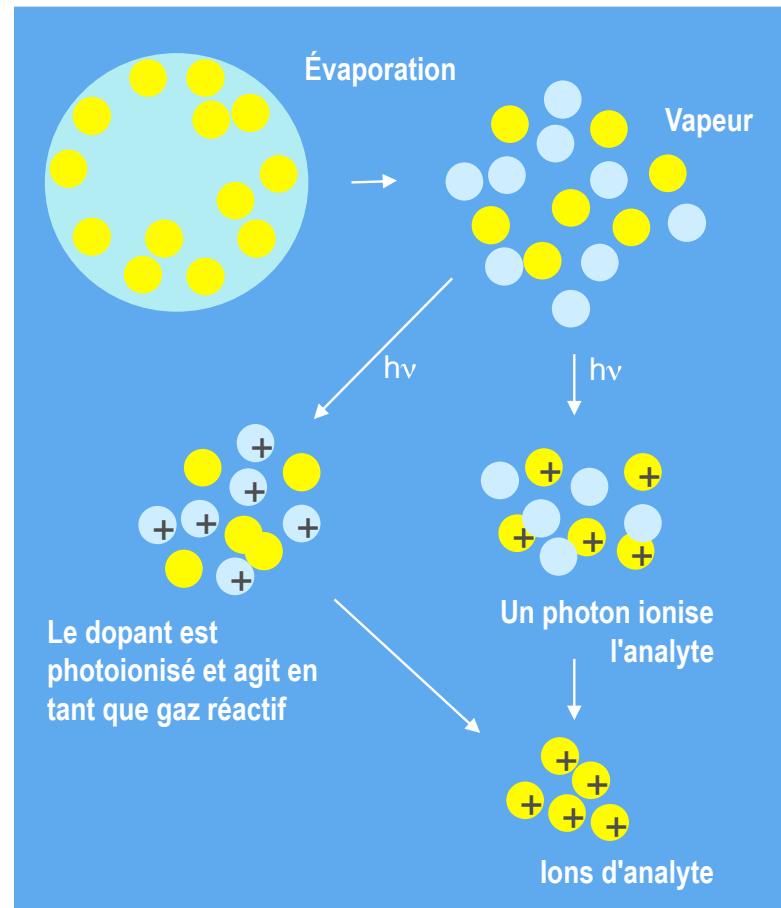
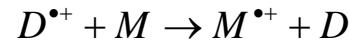
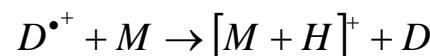
Ceci illustre les processus d'évaporation et d'ionisation de la photo-ionisation.

L'APPI et l'APCI sont semblables, mais l'APPI utilise une lampe au lieu d'une aiguille corona pour l'ionisation. Souvent, l'APPI repose aussi sur un solvant supplémentaire ou un modificateur de phase mobile, ou « dopant » (D), pour faciliter le processus de photo-ionisation.

APPI directe : $M + h\nu \rightarrow M^{\bullet+} + e^-$



Dopant APPI : $D + h\nu \rightarrow D^{\bullet+} + e^-$



Fonctionnement

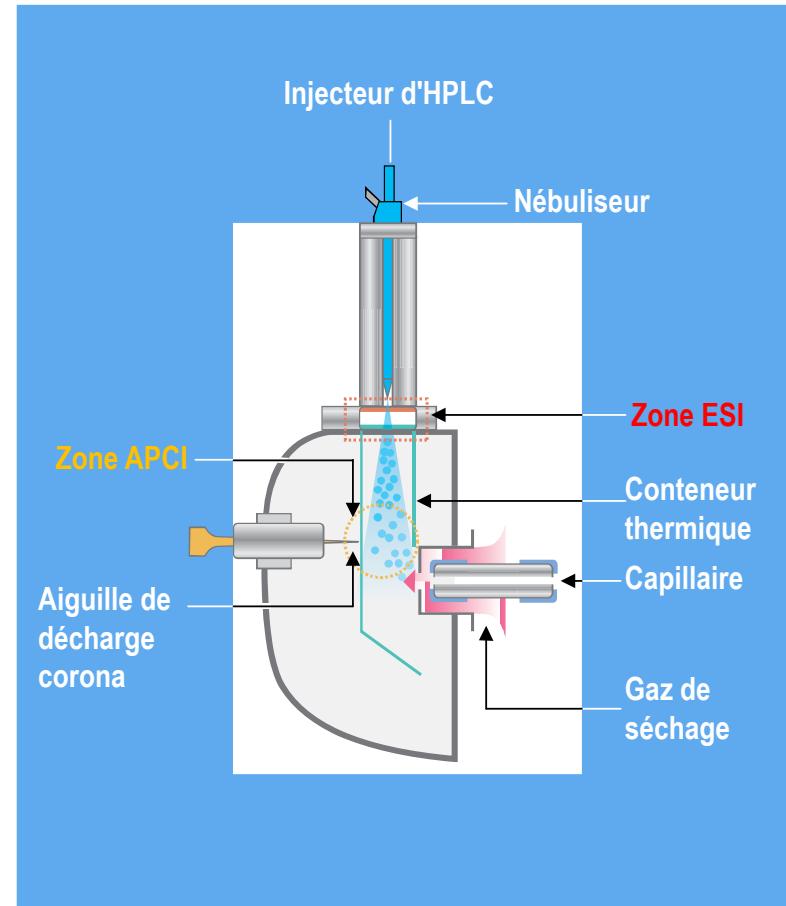
Ionisation – Ionisation multimode (MMI)

La source multimodale est une source d'ions pouvant fonctionner en plusieurs modes :

- APCI
- ESI
- APCI/ESI simultanées

Elle intègre deux zones optimisées, séparées électriquement - l'une pour l'ESI et l'autre pour l'APCI. Pendant l'APCI/ESI simultanées, les ions des deux modes d'ionisation entrent dans le capillaire et sont analysés simultanément par le spectromètre de masse.

La MMI est utilisée pour dépister des composés inconnus ou lorsque les échantillons contiennent un mélange de composés dont certains répondent à l'ESI et d'autres à l'APCI.



Multimode source

Source: [Guides des concepts LC/MS](#) (p 30)



Fonctionnement

Désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI)

La désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI) est une technique d'ionisation douce.

L'échantillon est mélangé avec une matrice et appliqué à un plateau de métal.

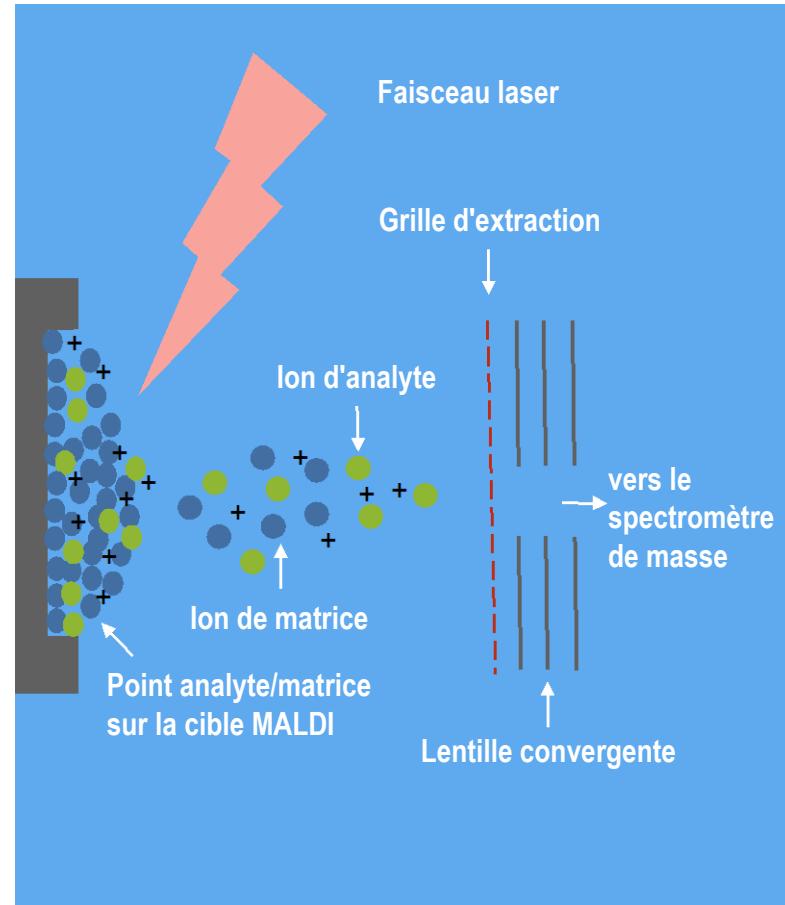
L'échantillon est irradié avec un laser pulsé, ce qui déclenche son ablation et sa désorption.

Les molécules d'analyte sont ionisées dans le courant chaud des gaz ablatés.

Les ions sont accélérés pour être introduits dans le spectromètre de masse.

Molécules appropriées :

- Biomolécules (ADN, protéines, sucres)
- Grosses molécules organiques (polymères)



Fonctionnement

Ionisation – Plasma couplé par induction (ICP)

Un instrument à plasma couplé par induction (ICP) utilise une source de plasma où l'énergie est fournie par des courants électriques produits par induction électromagnétique, c'est-à-dire en faisant varier des champs magnétiques dans le temps. Le plasma a tellement d'énergie qu'il réduit les molécules à des éléments ionisés.

Il existe différents types de géométries ICP qui peuvent être couplées à plusieurs technologies :

- ICP-AES Spectroscopie d'émission atomique
- ICP-OES Spectroscopie d'émission optique
- ICP-MS Spectrométrie de masse
- ICP-RIE Gravure ionique réactive

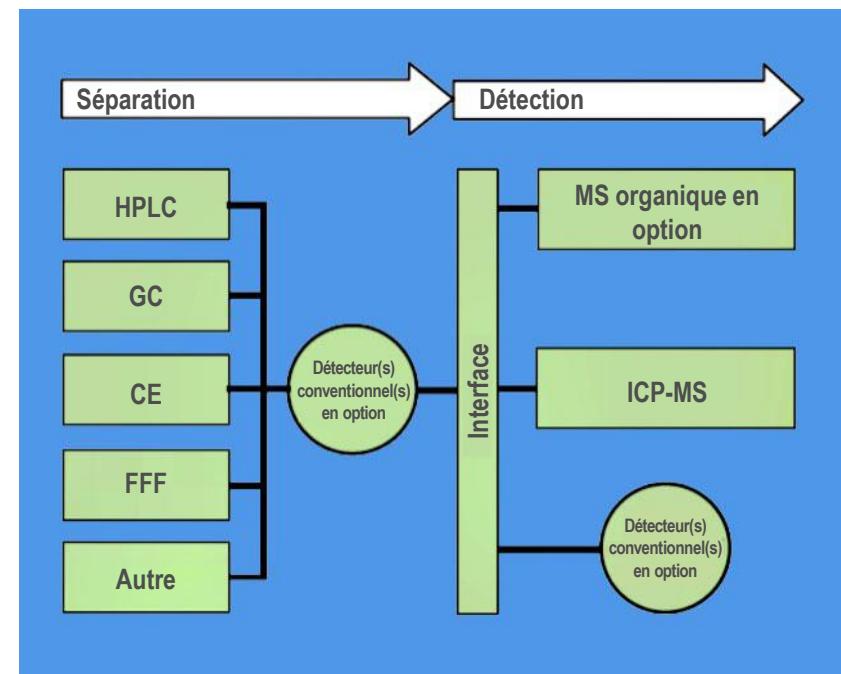


Schéma expliquant les relations entre les diverses composantes du système couplé ICP-MS



Fonctionnement

Analyseur de masse

Après l'ionisation et le transport des ions, les analytes sont introduits dans l'analyseur de masse.

Le spectromètre de masse mesure les signaux d'ions pour donner un spectre de masse qui peut fournir des informations utiles sur le poids moléculaire, la structure, l'identité et la quantité d'un composé.

Il existe différents types d'analyseurs de masse :

- Simple quadripôle (SQ)
- Triple quadripôle (QQQ)
- Temps de vol (TOF)
- Piège à ions (IT)



Fonctionnement

Analyseur de masse – Simple quadripôle (SQ)

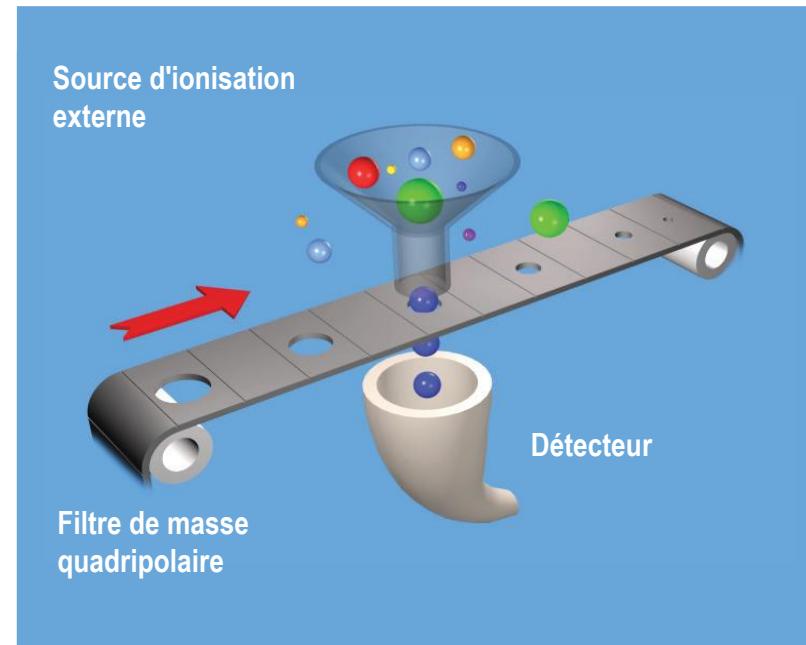
Les ions chargés générés dans la source d'ionisation sont introduits dans l'analyseur de masse.

L'analyseur de masse quadripôle est scanné de manière séquentielle pour qu'un seul rapport d'ion m/z puisse passer à un moment donné. Tous les autres ions sont perdus.

m/z - rapport masse/charge :

Masse d'un ion (en Daltons ou en u) par le nombre de charges sur l'ion

Informations reçues : **MS uniquement**

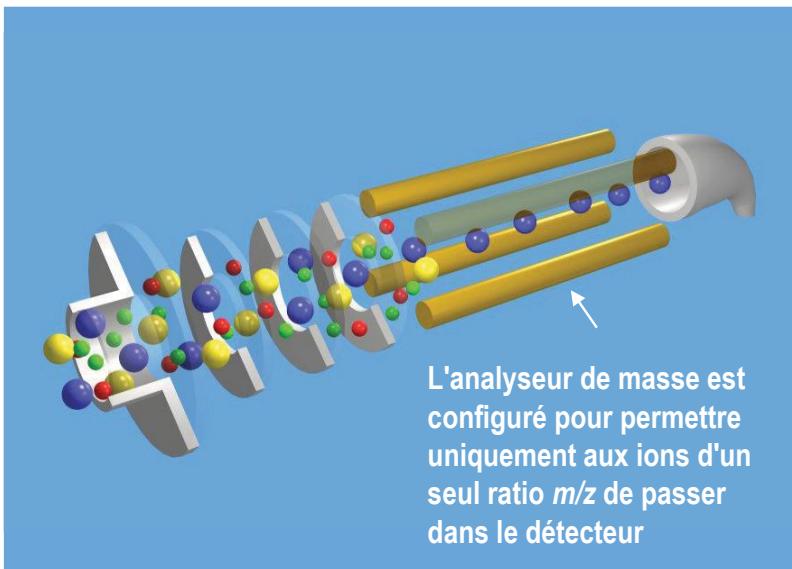


Modèle conceptuel - Simple quadripôle

Fonctionnement

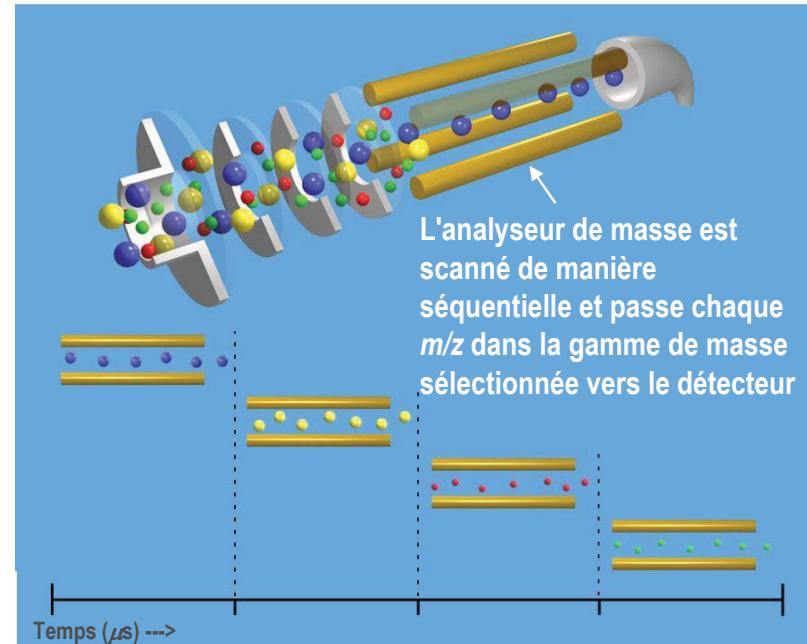
Analyseur de masse – Simple quadripôle (SQ)

Monitoring d'ions uniques (selective ion monitoring ou SIM)



Un ion cible de m/z donné est recherché. Le SIM sur un simple quadripôle permet d'obtenir la meilleure sensibilité pour la quantification mais perd en spécificité.

Mode balayage



En mode balayage MS, l'analyseur de masse quadripôle est scanné de manière séquentielle pour que 1 seul rapport d'ion m/z à la fois puisse passer vers le détecteur.

Table des matières



Fonctionnement

Analyseur de masse – Triple quadripôle (QQQ)

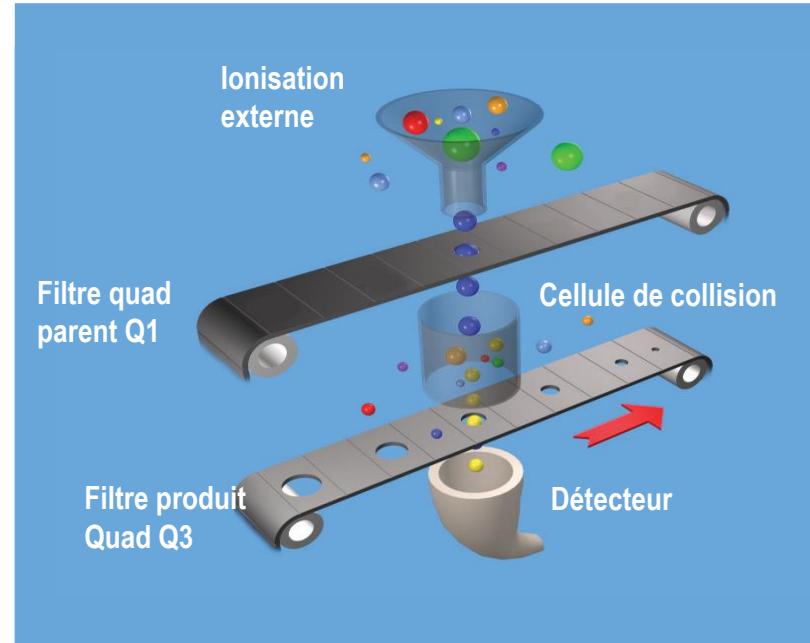
Les ions chargés générés dans la source d'ions sont introduits dans l'analyseur de masse.

L'analyseur comporte trois quadripôles (Q1-Q3) et donc plusieurs modes de fonctionnement, ce qui permet d'obtenir des informations différentes.

Voici trois configurations possibles :

- Q1 : utilisé en tant que filtre de m/z donné (ion précurseur)
- Q2 : utilisé en tant que cellule de collision pour fragmenter l'ion précurseur et générer des ions produits
- Q3 : configuré pour un m/z donné (SRM ou MRM) ou en mode balayage (balayage d'ion produit)

Informations reçues : **MS** et **MS/MS**



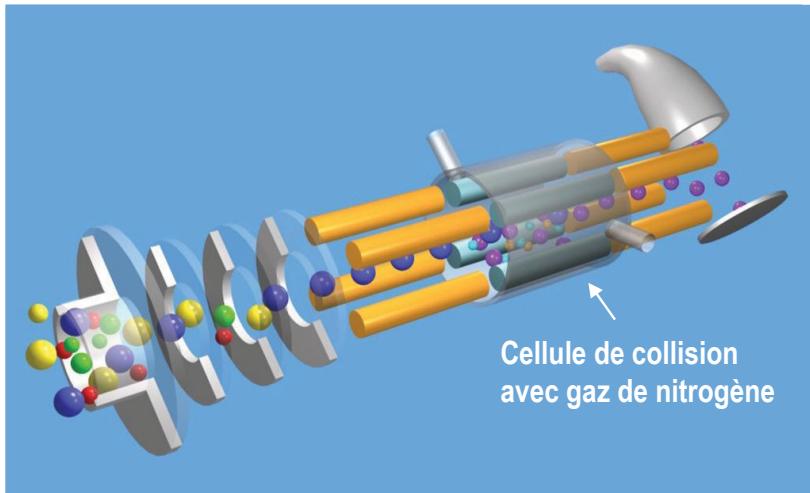
Modèle conceptuel - Triple quadripôle
Le schéma illustre le mode SRM



Fonctionnement

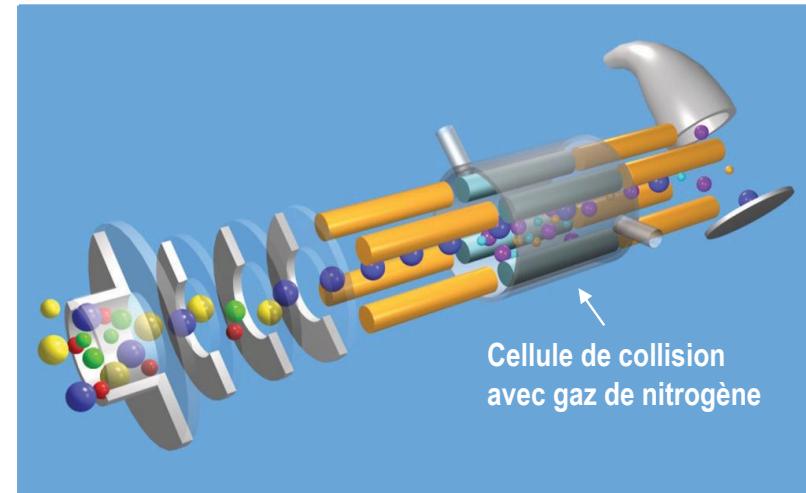
Analyseur de masse – Triple quadripôle (QQQ)

Surveillance de réactions multiples (MRM)



Les ions précurseurs à m/z unique passent vers la cellule de collision. Des ions fragments sont générés par collision avec les molécules de nitrogène. Le Q3 est configuré pour un seul m/z d'ion fragment en particulier. Il s'agit d'une méthode très sensible utilisée pour la quantification.

Mode balayage complet MS/MS



La différence entre le mode balayage complet et la SRM/MRM est la fonction de balayage. Le Q3 est scanné de manière séquentielle pour que 1 seul m/z à la fois puisse passer vers le détecteur. Un spectre d'ion produit est obtenu. Ce mode de fonctionnement est moins sensible que la SRM/MRM.

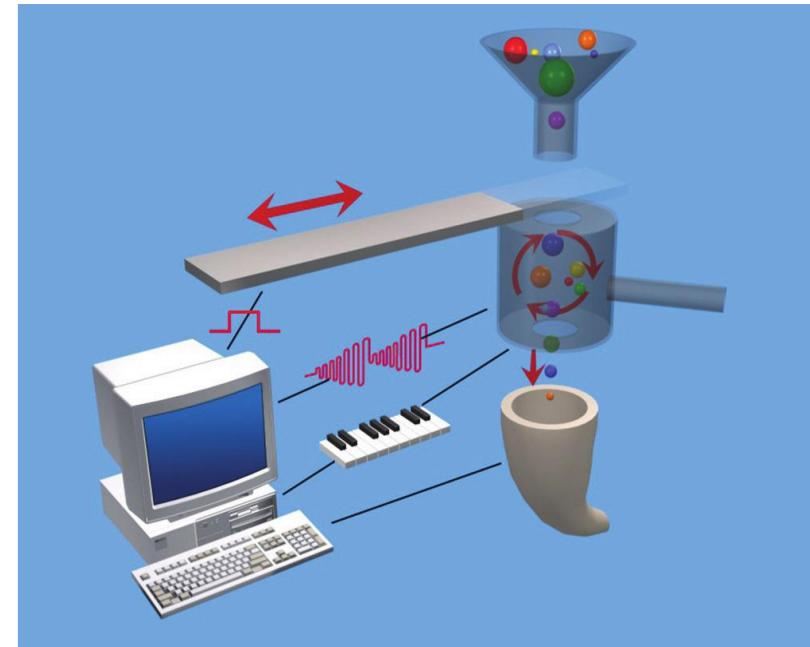
Fonctionnement

Analyseur de masse – Piège à ions (IT)

Les ions chargés générés dans la source d'ionisation sont introduits dans l'analyseur de masse. Tous les ions de la même polarité que celle sélectionnée pour la gamme de masse choisie peuvent être conservés immédiatement dans le piège. Les ions peuvent être manipulés dans l'analyseur de masse du piège à ions - en passant par plusieurs étapes d'isolement et de fragmentation - jusqu'au moment de la détection.

Au lieu de quatre baguettes parallèles, le piège à ions comporte une électrode en forme d'anneau circulaire avec deux embouts qui forment un « piège ».

Informations reçues : **MS** et **MS/MS**

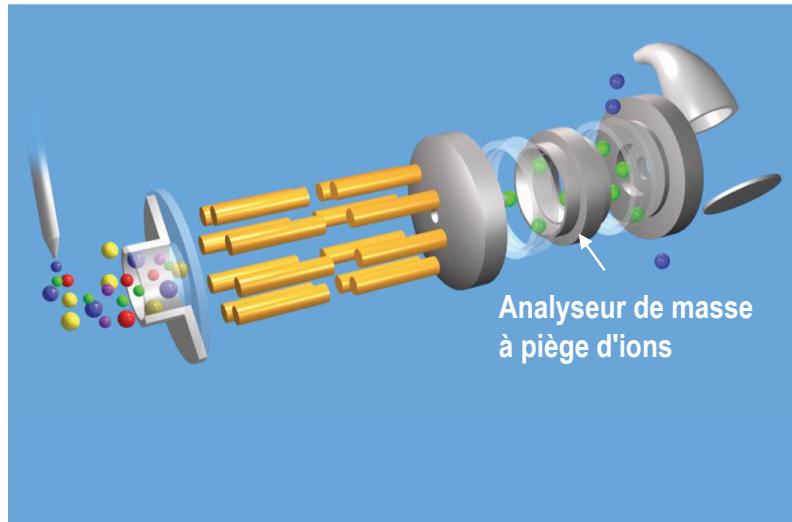


Modèle conceptuel - Piège à ions

Fonctionnement

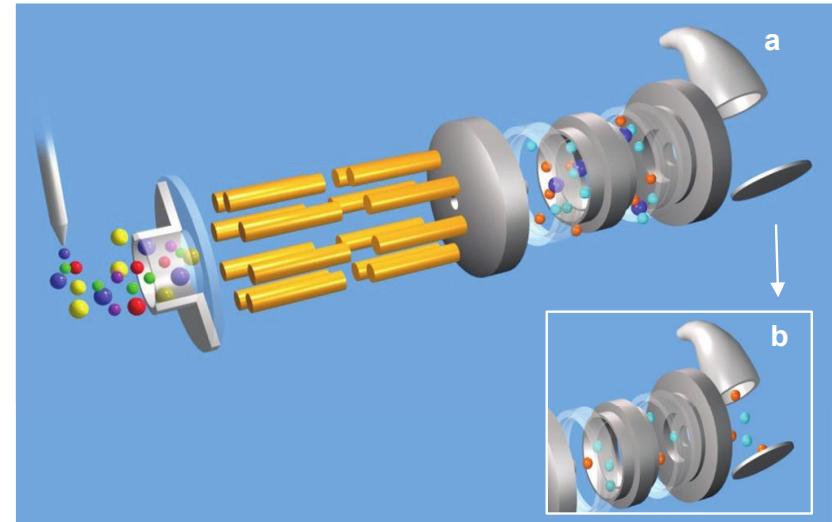
Analyseur de masse – Piège à ions (IT)

Étape 1 : Isolement de l'ion précurseur



Une fois l'injection et l'accumulation d'ions terminées, le portillon d'ions se ferme et les ions ne sont plus injectés dans l'analyseur de masse. Des ondes sont appliquées pour éjecter les masses supérieures et inférieures à l'ion précurseur.

Étape 2 : Fragmentation de l'ion précurseur



L'excitation par résonance de l'ion précurseur provoque une dissociation induite par collision (CID) entraînant la production d'ions produit (a). Les ions produit du balayage complet sont éjectés vers le détecteur (b).

Fonctionnement

Analyseur de masse – Temps de vol (TOF)

Les ions chargés générés dans la source d'ionisation sont introduits dans l'analyseur de masse.

Composantes de l'analyseur :

- Filtre de masse (Q1), en option
- Tube de vol
- Cellule de collision (Q-TOF)

Une fois que les ions ont dépassé le quadripôle ou la cellule de collision, ils arrivent au pulseur d'ions. Une pulsation haute tension est appliquée pour accélérer les ions et les introduire dans le tube de vol. Un miroir d'ions au bout du tube reflète les ions et les envoie vers le détecteur qui enregistre leur heure d'arrivée.

Informations reçues :

TOF : **MS uniquement**

Q-TOF : **MS et MS/MS**

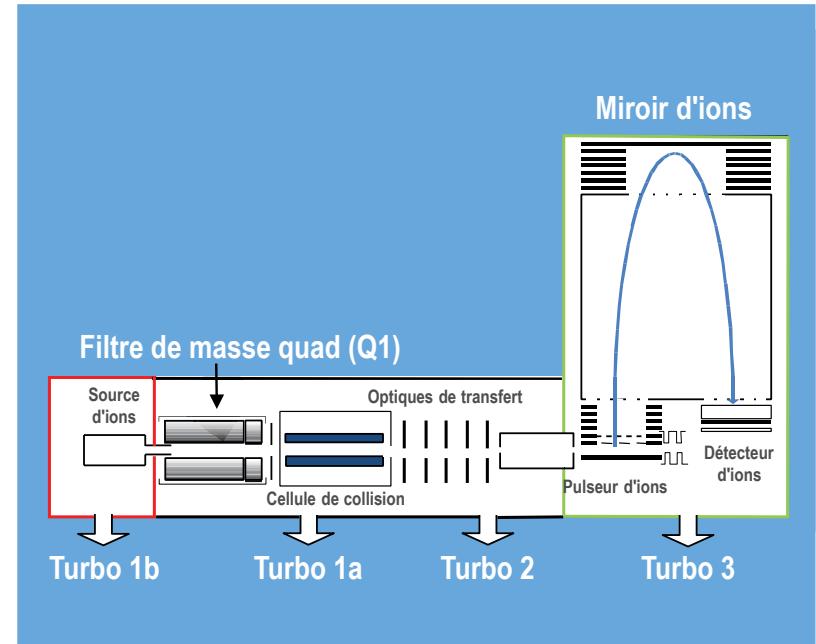


Schéma du spectromètre de masse à temps de vol.

Source : [Spectrométrie de masse du temps de vol](#)

Le graphique représente un Q-TOF

Fonctionnement

Analyseur de masse – Temps de vol (TOF)

Le temps de vol (t) pour chaque masse est unique et dépend de l'énergie (E) atteinte par l'ion accéléré, de la distance (d) qu'il doit parcourir et du rapport m/z .

$$E = 1/2mv^2$$

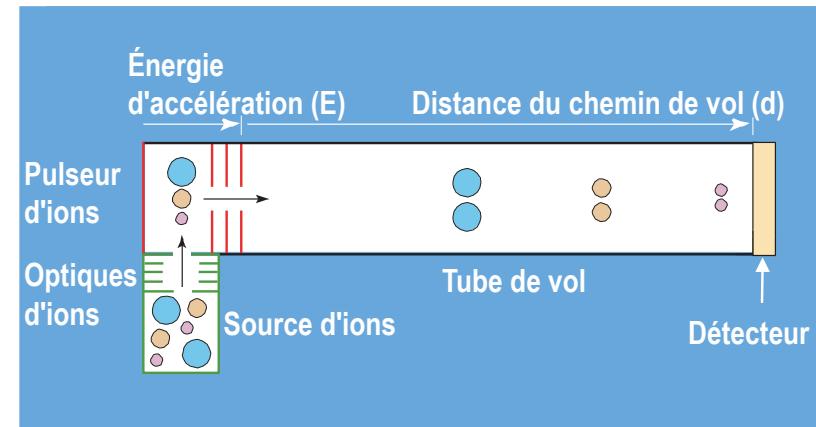
ce qui après résolution pour m donne :

$$m = 2E / v^2$$

et après résolution pour v donne :

$$v = \sqrt{(2E / m)}$$

équation 1



D'après l'équation, pour une énergie cinétique donnée, E , les masses plus petites auront une plus grande vitesse que les masses plus importantes. Les ions de masse plus petite arrivent donc au détecteur plus tôt.

La vitesse (et donc la masse) est définie en mesurant le temps que prend l'ion pour atteindre le détecteur.

Table des matières

Fonctionnement

Analyseur de masse – Temps de vol (TOF)

La deuxième équation est l'équation bien connue où la vitesse (v) est égale à la distance (d) divisée par le temps (t) : $v = d / t$

Si l'on combine les équations 1 et 2, on obtient : $m = (2E / d^2)t^2$

Pour une énergie (E) et une distance données, la masse est proportionnelle au carré du temps de vol de l'ion. E et d sont gardés constants et résumés en une variable A qui permet de simplifier l'équation : $m = A \cdot t^2$

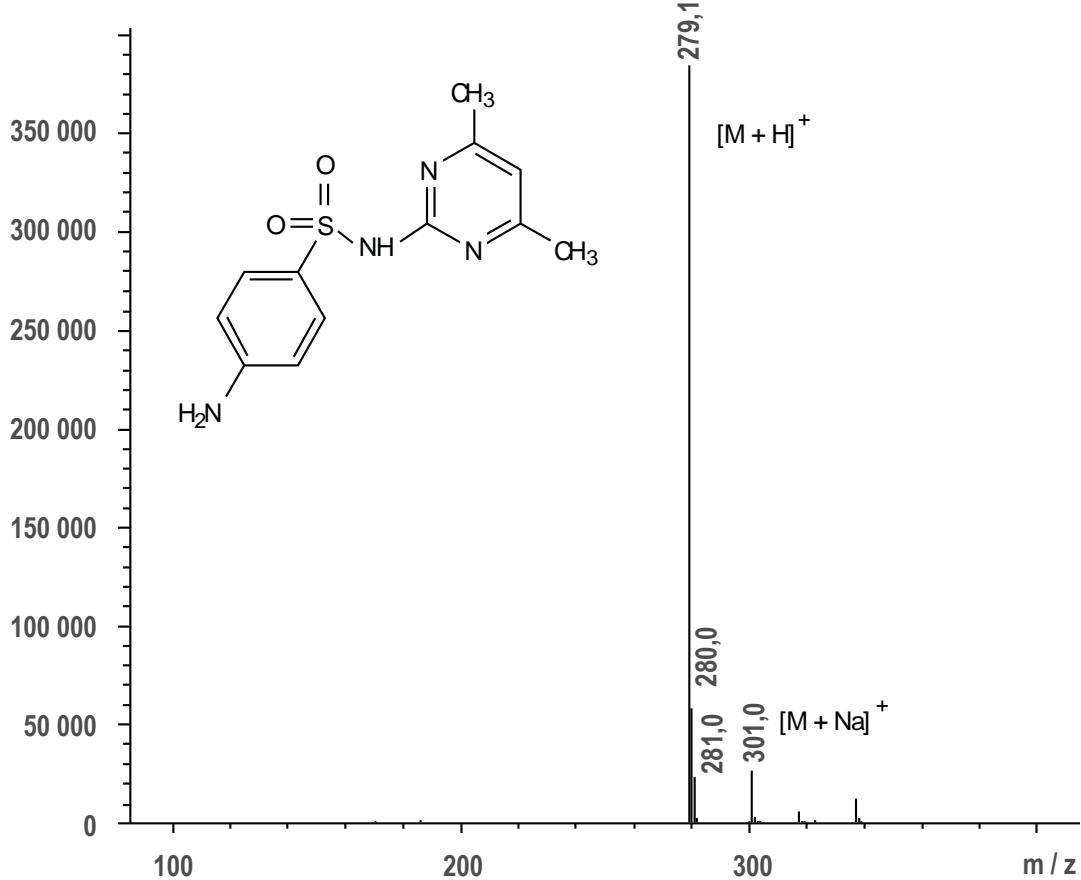
Pour être vraiment précis, il faut également prendre en compte le retard d'application de la haute tension : $t = t_m - t_0$

Ce qui donne l'équation finale : $m = A(t_m - t_0)^2$



Résultats

Exemple 1



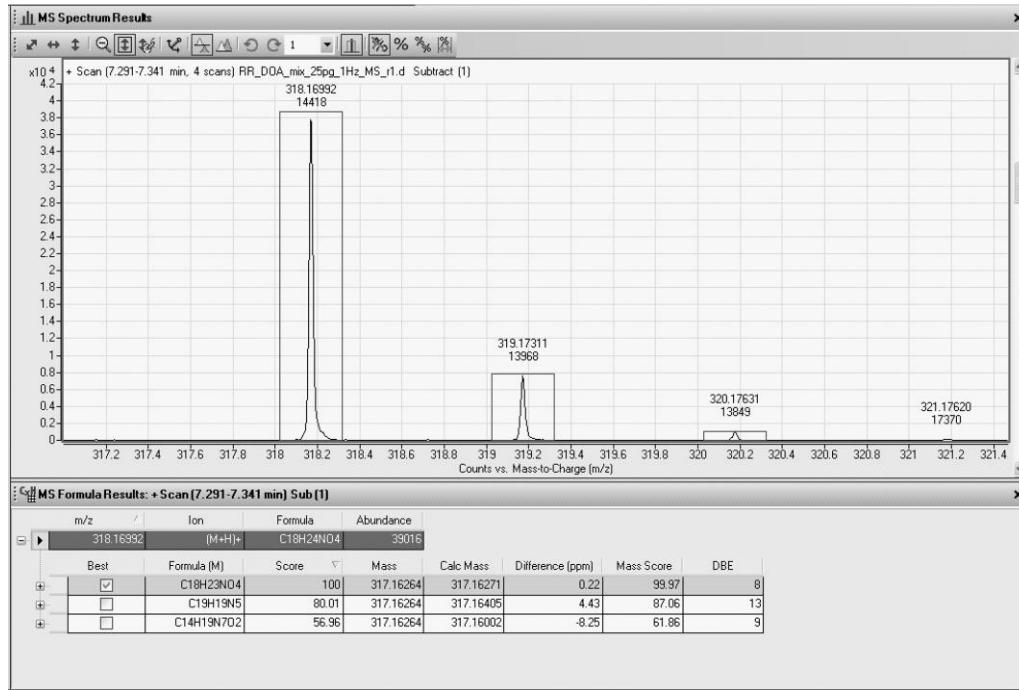
Spectre de masse de la [sulfméthazine](#) analysée avec un analyseur de masse simple quadripôle

Formule moléculaire : $C_{12}H_{14}N_4O_2S$
 $[M+H]^+$: 279,33

Spectre de masse de la sulfméthazine
Source : [G1960-90083 \(p 17\)](#)

Résultats

Exemple 2



Spectre de masse du [cocaéthylène](#) analysé avec un analyseur de masse Q-TOF

Formule moléculaire : **C₁₈H₂₃NO₄**
[M+H]⁺ : 318,387

Spectre de masse du cocaéthylène
Source : [Comparaison de plusieurs techniques LC/MS utilisées en toxicologie \(Fig 36, p 37\)](#)

Table des matières

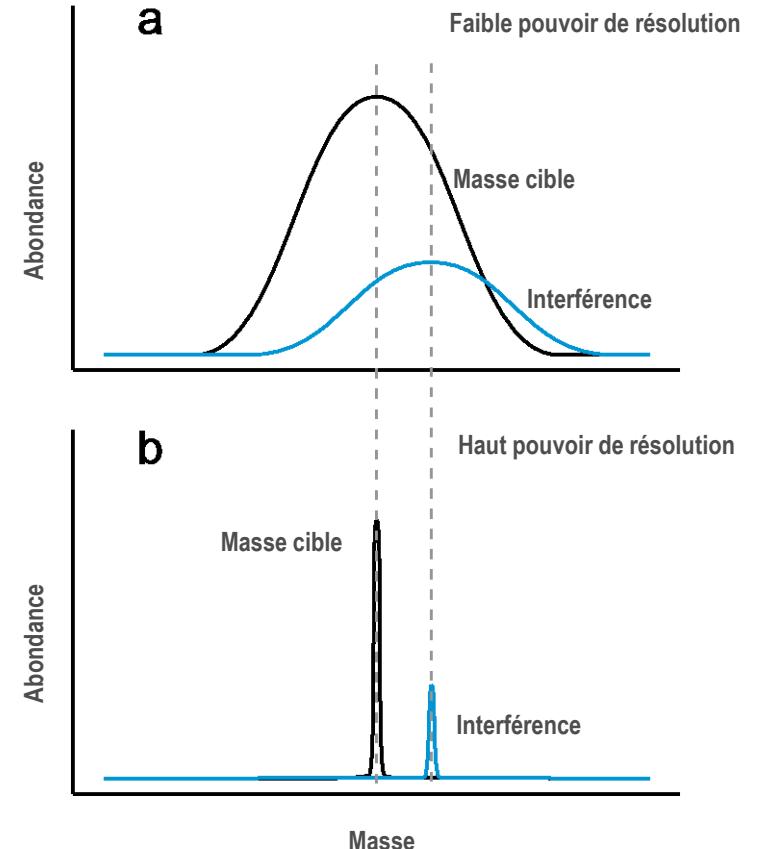
Résultats

Simple Quad vs. TOF haute résolution

L'analyse avec un système simple (triple) quadripôle permet d'obtenir des informations de masse nominale (basse résolution) alors que les instruments à temps de vol permettent d'obtenir des informations de masse exacte (haut pouvoir de résolution).

L'étalonnage continu d'un système TOF est nécessaire pour l'analyse à temps de vol afin de pouvoir obtenir une précision de masse optimale. Les mesures dévient généralement de quelques parties par million (ppm).

Ayant une résolution et une précision de masse suffisantes, un spectromètre de masse TOF peut véritablement confirmer la composition élémentaire.

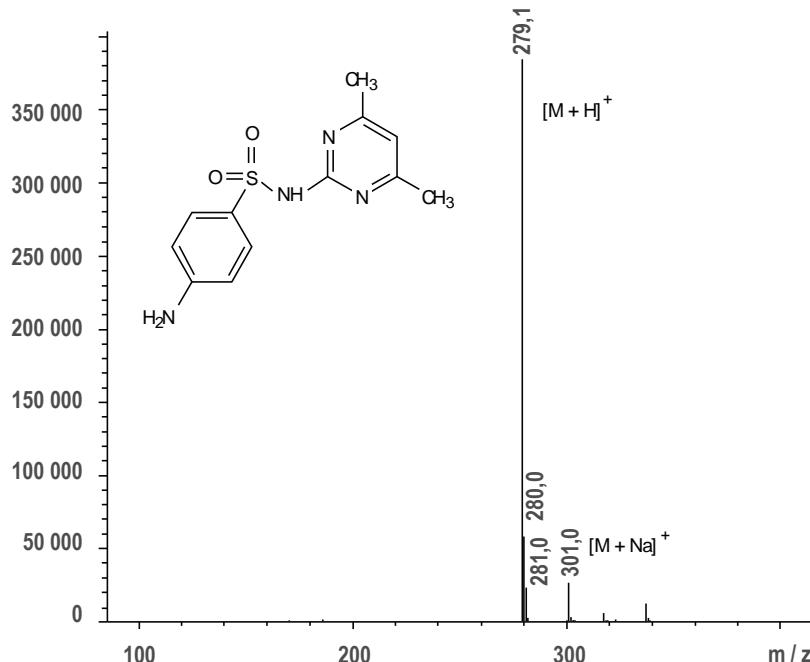


Pouvoir de résolution d'un simple quadripôle (a) versus une source à temps de vol (b) : [5989-2549EN](#) (p 14)

Résultats

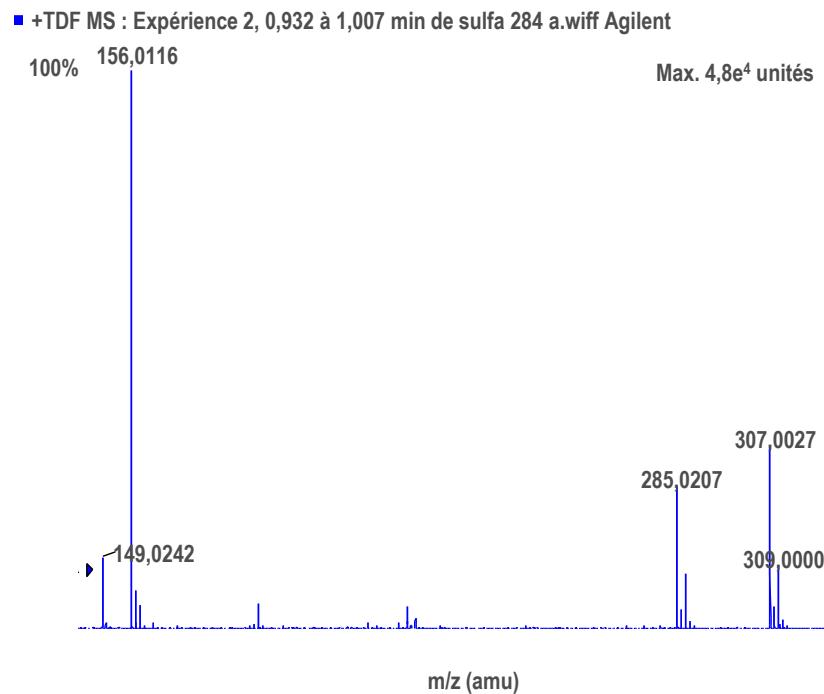
Simple Quad vs. TOF

Spectre de masse typique d'un simple quadripôle



Spectre de masse de la sulfaméthazine
Source : [G1960-90083](#) (p 17)

Spectre de masse TOF typique



Spectre de masse de la sulfachloropyridazine avec ions adduits et ions fragments. Source : [5989-2549EN](#) (p 25)



Résultats

Ions à charges multiples et déconvolution

Selon la molécule analysée et la technique d'ionisation, des ions à charges multiples peuvent être obtenus.

Les petites molécules et l'APCI donnent des molécules à charge unique :

Le rapport m/z mesuré correspond au poids moléculaire après soustraction (ion positif) ou addition (ion négatif) du porteur de charge.

Pour les grosses molécules (peptides, protéines) ionisées par ESI, il y a plus d'un site de charge possible (de protonation ou de déprotonation), ce qui entraîne la formation d'ions à charges multiples :

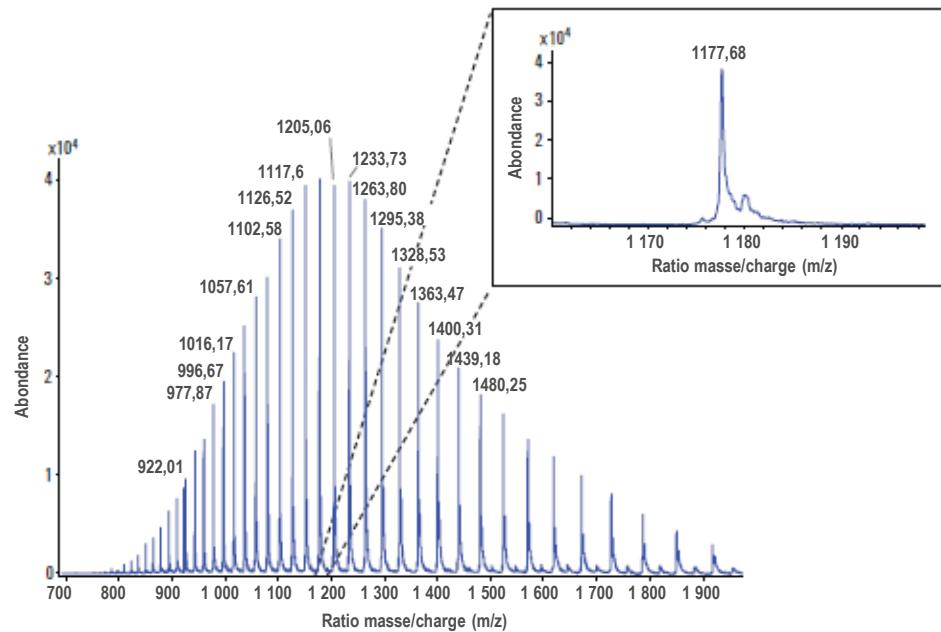
Ceci rend les grosses molécules telles que les anticorps (> 1 Mio Da) accessibles à la spectrométrie de masse puisque les ions mesurés sont décalés vers une plage de m/z plus facile à mesurer.

Un algorithme mathématique est nécessaire pour déterminer le poids moléculaire réel à partir du rapport m/z mesuré. Ce processus est connu sous le nom de **déconvolution**.



Résultats

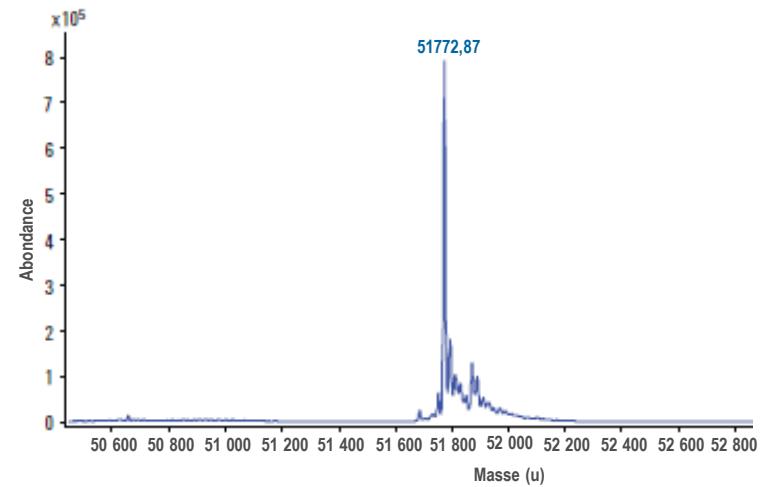
Ions à charges multiples et déconvolution - Exemple



Spectre de masse de la glutamine synthétase exprimée

Source : [LC/TOF-MS de masse exacte pour la confirmation de la masse moléculaire de protéines intactes \(Fig. 1, p. 4\)](#)

Masse attendue pour la glutamine synthétase non modifiée
51 772,7 u



Spectre de masse déconvolué de la glutamine synthétase exprimée

Abréviations

Abréviation	Définition
APCI	Ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI)
APPI	Photo-ionisation à pression atmosphérique
CI	Ionisation chimique
CID	Dissociation induite par collision
D	Dopant (APPI)
Da	Dalton
EI	Impact d'électrons
ESI	Ionisation électrospray
GC	Chromatographie en phase gazeuse
CPG/SM	Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse
ICP	Plasma couplé par induction
IT	Piège à ions

Abréviation	Définition
LC/MS	Chromatographie en phase liquide/spectrométrie de masse
<i>M</i>	Ion moléculaire
MALDI	Désorption-ionisation laser assistée par matrice
MMI	Ionisation multimode
MRM	Surveillance de réactions multiples
MS	Spectrométrie de masse
m/z	Rapport masse/charge
QQQ	Triple quadripôle
SIM	Surveillance d'ions uniques (single ion monitoring ou SIM)
SH	Molécules de solvant
SQ	Simple quadripôle
Q-TOF	Temps de vol

Table des matières

À des fins pédagogiques uniquement

5 avril 2016

41



Agilent Technologies

ACADEMIC
& INSTITUTIONAL
RESEARCH

Informations complémentaires

Pour des informations complémentaires sur les produits Agilent, consultez www.agilent.com ou www.agilent.com/chem/academia

Pour toute question ou suggestion concernant cette présentation, veuillez contacter academia.team@agilent.com

Publication	Titre	N° de Pub.
Manuel	Manuel d'utilisation du système Agilent 7000 Series Triple Quad GC/MS (Agilent 7000 Series Triple Quad GC/MS Operation Manual)	G7000-90044
Guide	Système Agilent 6100 Series Quadripôle LC/MS - Guide des concepts (Agilent 6100 Series Quadrupole LC/MS system – Concepts Guide)	G1960-90083
Brochure Applications compendium	Time-of-Flight Solutions in Pharmaceutical Development – the Power of Accurate Mass	5989-2549EN
Documentation technique	Time-of-Flight Mass Spectrometry	5990-9207EN
Application	Accurate-Mass LC/TOF-MS for Molecular Weight Confirmation of Intact Proteins	5989-7406EN
Application	A Comparison of Several LC/MS Techniques for Use in Toxicology	5990-3450EN
Vidéos	www.agilent.com/chem/teachingresources	
Images	www.agilent.com/chem/teachingresources	

Table des matières



MERCI

Numéro de publication 5991-5857FR

