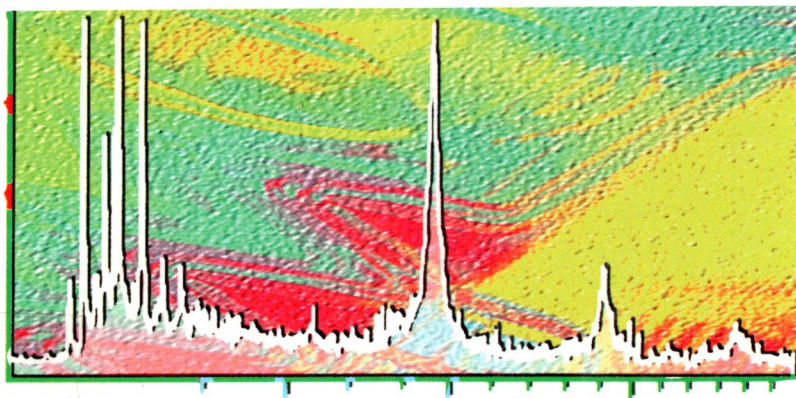


De Hoffmann • Charette • Stroobant

2^e CYCLE • ÉCOLES D'INGÉNIEURS

Spectrométrie de masse

Cours et exercices corrigés



2^e édition

DUNOD

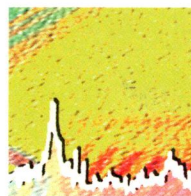
SPECTROMÉTRIE DE MASSE

Cours et exercices corrigés

Ce livre présente tous les aspects de la spectrométrie de masse moderne. Loin de se limiter aux techniques classiques d'ionisation, il fournit les principes des nouvelles techniques plus élaborées et examine les méthodes d'ionisation par électrospray ou par laser assisté par une matrice (MALDI), le couplage à la chromatographie liquide, la spectrométrie de masse en tandem, etc.

L'ouvrage traite d'abord des principes de base, décrit les instruments actuellement utilisés et explique leurs caractéristiques. Il montre ensuite comment interpréter des spectres et illustre par de nombreux exemples les applications de la spectrométrie de masse.

L'exposé est complété par des exercices corrigés permettant aux étudiants de s'entraîner à la résolution des problèmes pouvant survenir dans la prise et l'interprétation des spectres. Les chercheurs en pharmacie, médecine, agronomie, chimie ... généralement peu familiarisés avec la spectrométrie de masse, pourront également consulter avec profit cette synthèse.



2^e édition

EDMOND DE
HOFFMANN
est professeur à l'université
catholique de Louvain.

JEAN CHARETTE
était professeur émérite à
l'université catholique
de Louvain.

VINCENT STROOBANT
est chercheur à l'Institut
Ludwig, branche de
Bruxelles.

MATHÉMATIQUES

PHYSIQUE

CHIMIE

PHYSIQUE APPLIQUÉE

INFORMATIQUE

SCIENCES DE LA NATURE
ET DE LA VIE



9 782100 043101

ISBN 2 10 004310 2
Code 044310

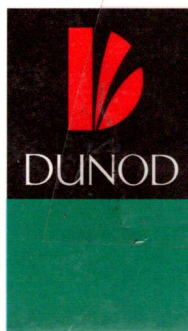


Table des matières

Avant-propos	IX
Introduction	1
1 Principes	1
2 Historique	4
3 Libre parcours des ions	7
4 Schéma du spectromètre de masse	8
CHAPITRE 1 • Les sources d'ions	11
1.1 La source à impact électronique	11
1.2 La source par ionisation chimique	14
Le méthane comme gaz ionisant	16
L'isobutane comme gaz ionisant	17
L'ammoniac comme gaz ionisant	18
Ionisation chimique par échange de charge	19
Formation d'ions négatifs	19
Formation d'adduits	20
L'ionisation chimique par désorption (DCI)	21
1.3 L'ionisation par bombardement d'ions ou d'atomes rapides	22
1.4 La désorption de champs	25
1.5 La désorption laser	25
1.6 La désorption par plasma (PD)	27
1.7 Le thermospray (TSP)	27
1.8 L'électrospray (ES ou ESI)	28
1.9 L'ionisation à pression atmosphérique (API)	32
1.10 Le plasma couplé inductivement (ICP)	32
1.11 Introduction par membrane (MI-MS)	33
1.12 Réactions ion-molécule en phase gazeuse	35
1.13 Méthode cinétique	39
CHAPITRE 2 • Les analyseurs	41
2.1 Analyseurs quadripolaires	42
Description	43
Équations du mouvement	44
Spectromètres à plusieurs quadripôles	49
Principes de base de la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)	49
2.2 Le quadripôle ion trap ou quistor	52
Principe général	52
Le détecteur à ion trap	53
Développement de l'ion trap à hautes masses et haute résolution	55
Spectrométrie de masse « en tandem » dans l'ion trap	59
Analyse plus détaillée du fonctionnement d'un spectromètre à trappe à ions moderne (1998)	61
2.3 Analyseurs à temps de vol	67

2.4	Analyseurs magnétiques et magnéto-électrostatiques	75
	Action du champ magnétique	75
	Champ électrostatique	76
	Dispersion et résolution	77
	Considérations pratiques	80
	Spectrométrie de masse en tandem dans les analyseurs électriques et magnétiques	81
2.5	Résonance d'ions en cyclotron et spectrométrie de masse à transformée de Fourier	90
	Principe général	90
	Résonance d'ions en cyclotron	92
	Spectrométrie de masse à transformée de Fourier	92
2.6	Les détecteurs et les ordinateurs	98
	Les détecteurs	98
	Les ordinateurs	101
CHAPITRE 3 • Le couplage chromatographie – spectrométrie de masse		105
3.1	Techniques de couplage de chromatographies d'élution	107
	Couplage chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS)	108
	Couplage chromatographie liquide-spectrométrie de masse (HPLC-MS)	110
3.2	Modes d'acquisition de données chromatographiques	119
3.3	Enregistrement et exploitation des résultats	121
	Enregistrement des mesures	121
	Contrôle de l'instrument et exploitation des résultats	124
CHAPITRE 4 • Spectrométrie de masse en tandem ou MS/MS		135
4.1	Introduction	135
4.2	Régions de réaction	139
4.3	Décomposition d'ions activés par collision (CAD ou CID)	140
	Collision à haute énergie (keV)	141
	Collision à basse énergie (entre 1 et 100 eV)	143
4.4	Réactions étudiées en MS/MS	144
4.5	Applications de la MS/MS	145
CHAPITRE 5 • Informations analytiques		151
5.1	Haute résolution	152
5.2	Abondances isotopiques	153
5.3	Fragments et neutres de faibles masses	159
5.4	Nombres de cycles ou insaturations	159
5.5	Parités en masses et en électrons	
	Ions closed shell et radicaux – ions open shell	160
	Parité en électrons	160
	Parité en masse	160
	Lien entre parité en masses et en électrons	161
5.6	Informations quantitatives	162
	Spécificité	163
	Sensibilité et limite de détection	164
	Méthode par étalonnage externe (external standard)	166
	Sources d'erreurs	167
	Méthode de l'étalon interne (internal standard)	169
	Méthode de dilution isotopique	170
CHAPITRE 6 • Réactions de fragmentation		175
6.1	Théorie QET et RRKM	177
6.2	Potentiels d'ionisation et d'apparition	181

6.3 Les réactions de fragmentation des ions positifs	181
Fragmentation des cations impairs ou radicaux-cations	181
Fragmentation des cations à nombre pair d'électrons (EE^+)	187
Fragmentations conformes à la règle de parité	188
Quelques fragmentations d'acides conjugués	189
Fragmentation des ions négatifs	195
Fragmentation en un site éloigné de la charge (CRF pour Charge Remote Fragmentation)	199
6.4 Interprétations de spectres	199
Ions caractéristiques	200
Présence de l'ion moléculaire	201
Neutres caractéristiques	201
Quelques exemples d'interprétation de spectres de masse	203
CHAPITRE 7 • Analyse de biomolécules	209
7.1 Biomolécules et spectrométrie de masse	209
7.2 Protéines et peptides	210
Ionisations FAB, ESI et MALDI	210
Détermination de structure et séquence des peptides par fragmentation	215
Applications	229
7.3 Oligonucléotides	252
Spectres de masse des oligonucléotides	255
Applications de la spectrométrie de masse aux oligonucléotides	260
Fragmentation des oligonucléotides	265
Caractérisations des oligonucléotides modifiés	270
7.4 Oligosaccharides	273
Spectres de masse des oligosaccharides	274
Fragmentation des oligosaccharides	278
Méthodes combinant la spectrométrie de masse et une dégradation préalable des oligosaccharides	286
7.5 Lipides	292
Acides gras	293
Acylglycérols	298
Les acides biliaires	303
Glycophospholipides	308
CHAPITRE 8 • Exercices	311
Appendices	339
1. Nomenclature	339
2. Sigles et acronymes	344
3. Constantes physiques fondamentales	348
4 A. Table des isotopes dans l'ordre des masses croissantes	349
4 B. Table des isotopes classés par ordre alphabétique	356
5. Abondances isotopiques en % pour différentes compositions élémentaires CHON ($M = 100\%$)	363
6. Énergie d'ionisation verticale et affinité protonique de molécules en eV	377
7. Énergie d'ionisation de radicaux (en eV)	379
8. Acidités en phase gazeuse	380
9. Basicités en phase gazeuse	381
10. Quelques livres utiles	383
11. Liste des revues	390
12. Spectrométrie de masse sur internet	391
Index	393