https://ms.epfl.ch/teaching/

# Lire un spectre MS

Les essentiels avant toute interprétation

**Axes**

Abscisse : m/z

Ordonnée : intensité relative

Pic de base : intensité fixée à 100 %

**Vocabulaire**

Ion moléculaire : $M^{+\bullet}$ (EI)

Ion pseudo-moléculaire : $[M+H]^+$, $[M-H]^-$ (ESI)

Adduit : $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$…

**Règle d'or**

Toujours noter le mode d'ionisation, la polarité et la résolution avant de conclure.

### 1 · Trouver M

Repérer l'ion moléculaire (EI) ou l'ion pseudo-moléculaire (ESI).

Attention : le pic le plus lourd n'est pas toujours M.

### 2 · Lire les isotopes

Le motif M / M+2 signe Cl, Br, S.

L'intensité de M+1 donne le nombre de carbones.

### 3 · Calculer les pertes

Faire les différences M – fragment/adduits.

Chaque perte neutre est un indice de fonction.

### 4 · Attribuer

Identifier les fragments stables : acylium, tropylium, oxonium…

Attribuer les adduits, états de charges…



Règle d'or : ne jamais conclure sur un seul pic. Une structure n'est validée que si elle explique l'ensemble du spectre — et la MS ne distingue pas les isomères de position.

# EI : ionisation électronique

Une ionisation énergique, informative sur la fragmentation

- À 70 eV, M forme souvent un radical-cation : $M^{+}\bullet$.
- De nombreux ions fragments sont produits ; le pic de base n'est pas nécessairement $M^{+}\bullet$.
- L'ion moléculaire peut être faible, voire absent.
- Les fragments favorisent des cations stables : tertiaires, allyliques, benzyliques, acylium.

### Pertes neutres fréquentes

15 $\bullet CH_3$ 17 $\bullet OH$

18 $H_2O$ 28 CO ou $C_2H_4$

29 $\bullet CHO$ ou $\bullet C_2H_5$ 31 $\bullet OCH_3$

43 $\bullet C_3H_7$ ou $\bullet COCH_3$ 45 $\bullet OC_2H_5$

### Séries d'ions caractéristiques

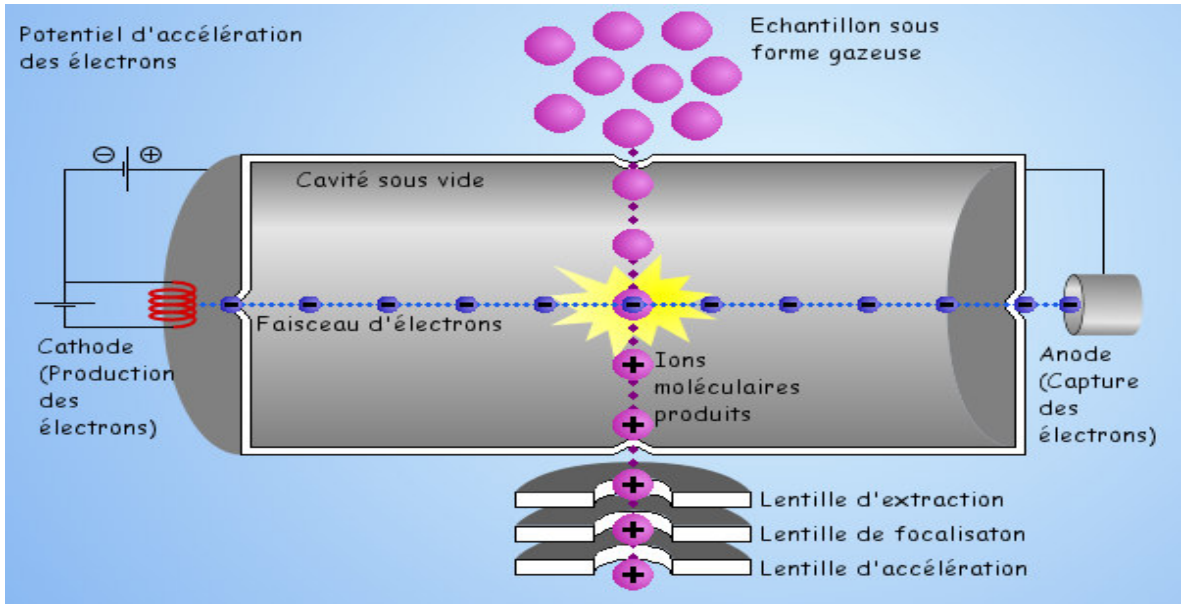
29 / 43 / 57 / 71 $C_nH_{2n+1}^{+}$ (chaîne alkyle)

31 / 45 / 59 $C_nH_{2n+1}O^{+}$ (alcool, éther)

77 / 91 / 105 aromatiques, tropylium

105 benzoyle $C_6H_5CO^{+}$

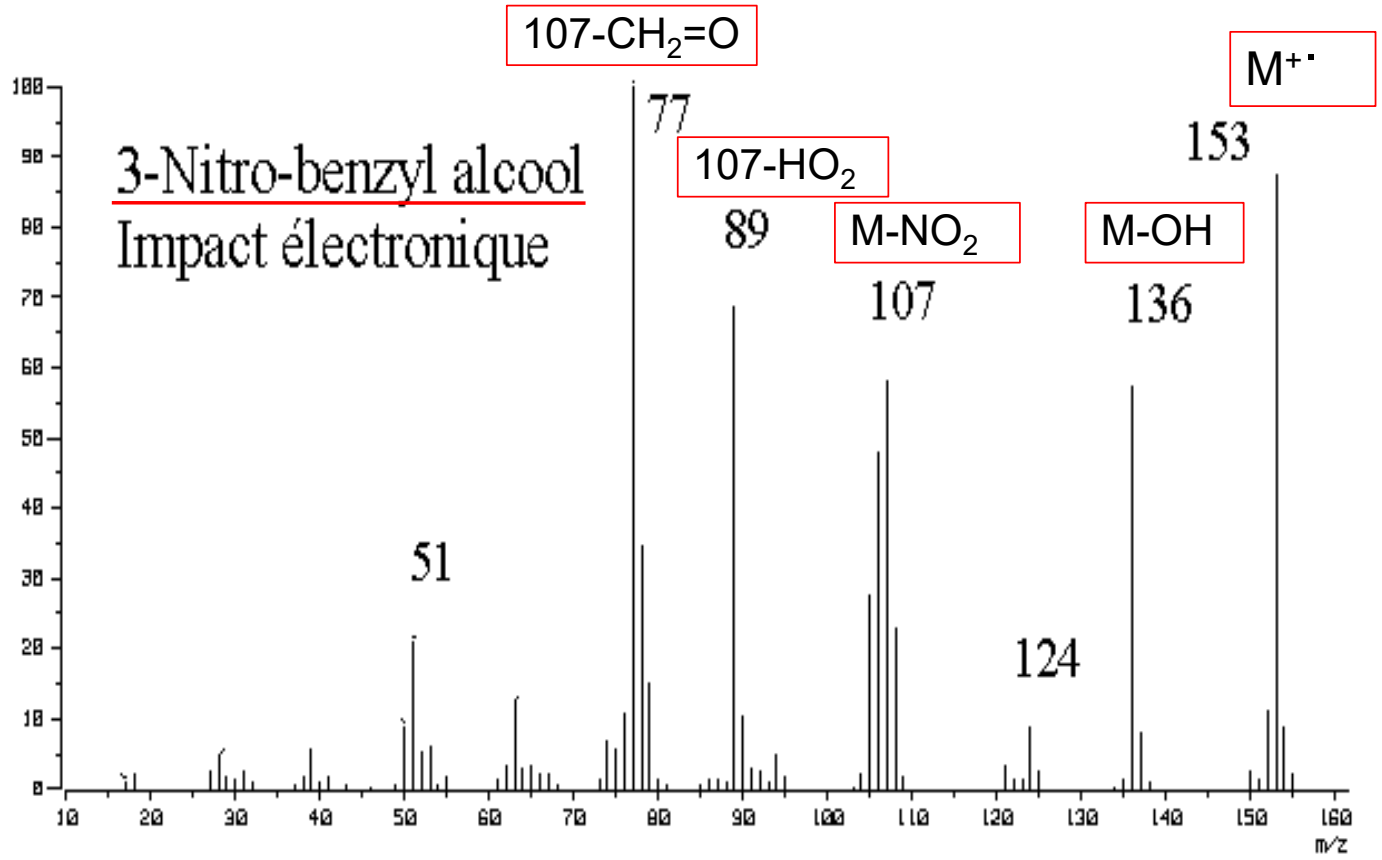
# L'impact électronique (EI)




- un filament porté à haute T°C par passage d'un courant émet des $e^-$ qui peuvent être accélérés par une certaine ΔV.

- $E_{cin}$ des $e^-$ influe sur le rendement d'ionisation et sur l'énergie d'excitation des ions formés. Rendement optimal : faisceau d'$e^-$ accéléré à 70eV

# L'impact électronique (EI)



# Regles de l'azote

Applicable a la masse nominale de M+ en EI

- Masse nominale impaire : nombre impair d'atomes d'azote.
- Masse nominale paire : zero ou un nombre pair d'atomes d'azote.
- Ne pas l'appliquer directement a [M+H]+ sans corriger l'ajout du proton.
- C'est un controle de coherence, pas une identification complete.

# Methode EI : checklist

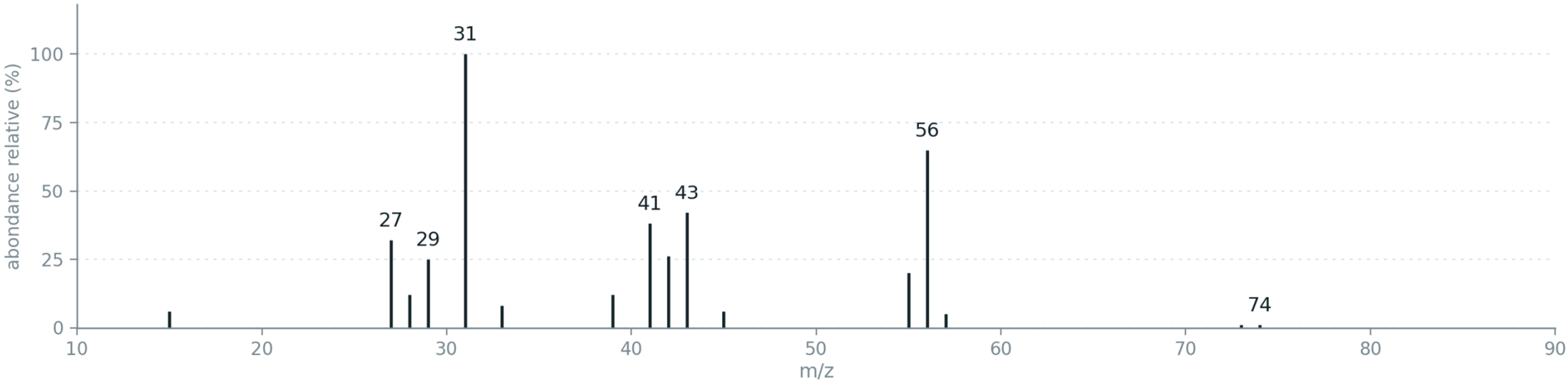
Proceder dans cet ordre

- Reperer un candidat pour M+ et noter sa masse nominale.
- Chercher une signature isotopique : Cl, Br, eventuellement S.
- Appliquer la regle de l'azote a M+.
- Calculer des ecarts : M-15, M-18, M-28, M-29, M-43...
- Attribuer les fragments les plus intenses en privilegiant les cations stables.
- Verifier que la structure proposee explique plusieurs pics.

# 1 Butan-1-ol — lire un spectre EI

ÉNONCÉ

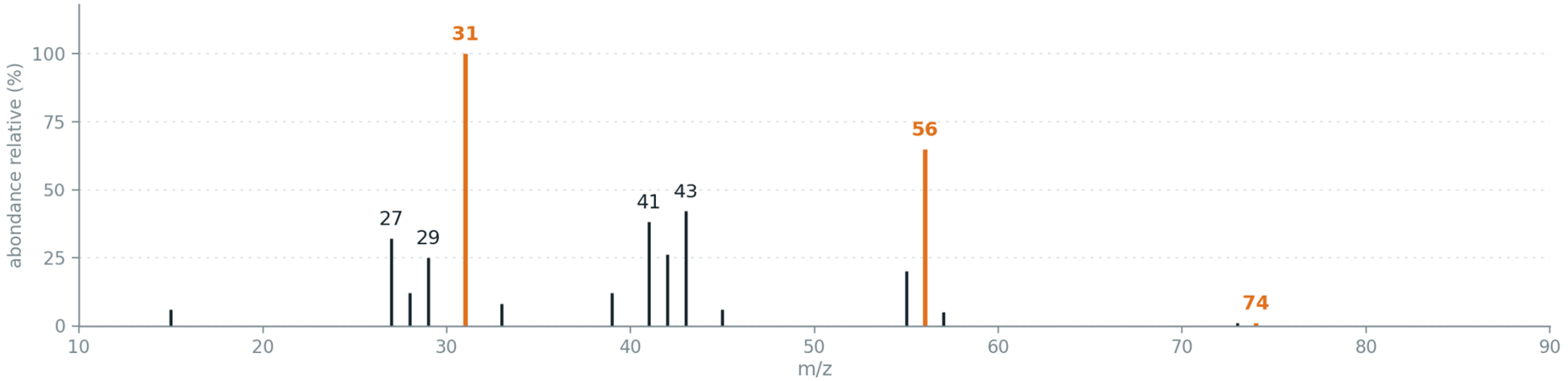
*$C_4H_{10}O$, $M = 74\ g \cdot mol^{-1}$, impact électronique 70 eV*




- 1.1 Où attend-on $M^{+\bullet}$ ? Que constate-t-on ? Expliquer.
- 1.2 Attribuer m/z 56. Quel neutre a été perdu ?
- 1.3 Le pic de base est à m/z 31 : formule, et pourquoi cet ion est-il si stable ?
- 1.4 Attribuer m/z 43, 41, 29 et 27.
- 1.5 Sans calcul : comment distinguer ce spectre de celui du diethyl-ether, de même masse M = 74 ?

# 1 Butan-1-ol — corrigé

CORRIGÉ

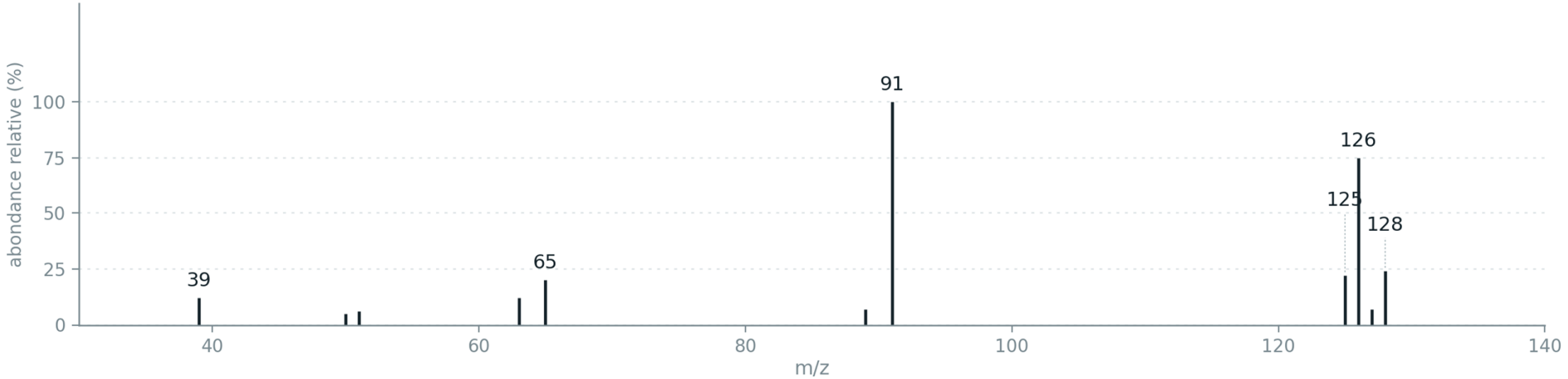



- 1.1 $M^{+}\bullet$ = 74, quasi invisible (< 1 %) : l'ion moléculaire des alcools primaires est très instable. Conséquence : en EI, l'absence de $M^{+}\bullet$ ne permet pas de conclure — il faut une source douce.
- 1.2 56 = 74 − 18 : déshydratation. D'où le « faux $M^{+}\bullet$ » à M−18 typique des alcools.
- 1.3 31 = $CH_2{=}OH^{+}$, clivage α avec départ de $\bullet C_3H_7$ ; stabilisé par le doublet de l'oxygène. Base à 31 ⇒ alcool primaire (45 ⇒ secondaire, 59 ⇒ tertiaire).
- 1.4 43 = $C_3H_7^{+}$ · 41 = $C_3H_5^{+}$ (allyle) · 29 = $C_2H_5^{+}$ · 27 = $C_2H_3^{+}$.
- 1.5 L'éther donne 59 intense (perte de $\bullet CH_3$) et 45, mais aucun M−18. Critère : 56 présent + 59 absent ⇒ alcool.

## 2 Composé X — motifs isotopiques

ÉNONCÉ

*Liquide inconnu, impact électronique 70 eV*

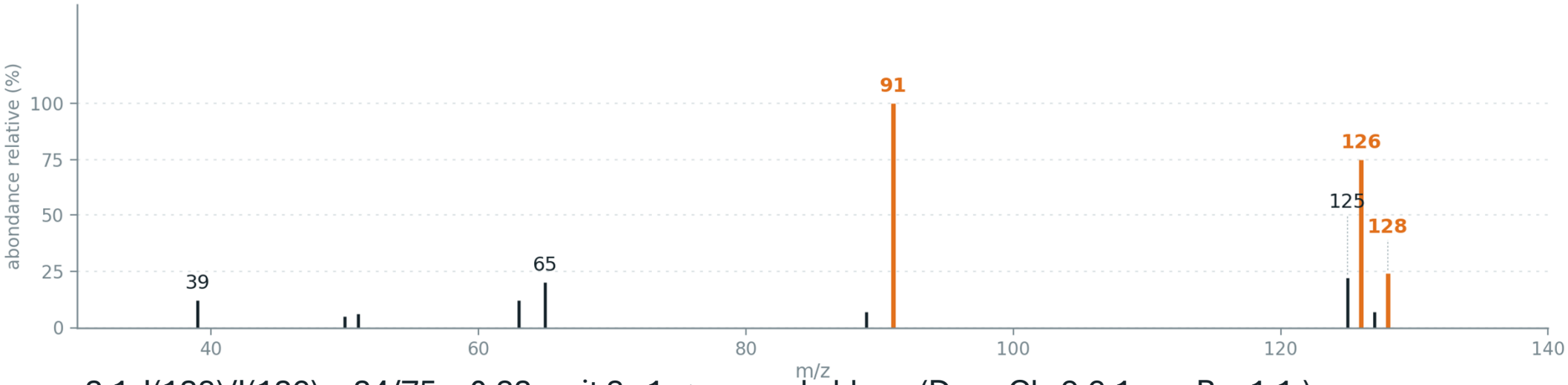



- 2.1 Mesurer le rapport d'intensité m/z 126 / 128. Que révèle-t-il ?
- 2.2 Quelle est la masse de $M^{+\bullet}$ ? Proposer une formule brute et calculer son DBE.
- 2.3 Le pic à m/z 91 n'a pas de compagnon à 93. Qu'en déduire ? Attribuer cet ion.
- 2.4 Attribuer m/z 65 et m/z 125.
- 2.5 Proposer une structure pour X. La MS permet-elle de trancher entre les isomères de position ?

## 2 Composé X — corrigé

CORRIGÉ

*4-chlorotoluène, $C_7H_7Cl$*




- 2.1 I(128)/I(126) ≈ 24/75 ≈ 0,32, soit 3 : 1 ⇒ un seul chlore. (Deux Cl : 9:6:1 ; un Br : 1:1.)
- 2.2 M = 126 — le pic M+2 n'est pas l'ion moléculaire ! M − 35 = 91 ⇒ $C_7H_7Cl$. DBE = 7 − 7/2 − 1/2 + 1 = 4 ⇒ un cycle aromatique.
- 2.3 Un fragment gardant Cl porterait le motif 3:1. 91 est « propre » ⇒ le chlore est parti : 91 = $C_7H_7^+$, benzyle réarrangé en tropylium, très stable.
- 2.4 65 = 91 − $C_2H_2$ ⇒ $C_5H_5^+$ (cyclopentadiényle) · 125 = M − H, avec son propre M+2 à 127.
- 2.5 Chlorotoluène — mais ortho, méta et para donnent des spectres superposables : la MS ne distingue pas les isomères de position. RMN ou temps de rétention.

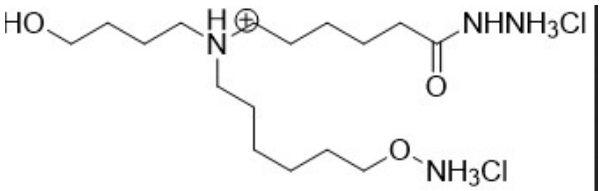
# ESI : electrospray

Une ionisation douce : l'information moleculaire est souvent conservée

- En ESI+, rechercher d'abord [M+H]+ ; des adduits alcalins sont frequents : [M+Na]+, [M+K]+.
- En ESI-, rechercher [M-H]- pour les especes acides ou deprotonables.
- La fragmentation est limitée en MS simple ; elle peut etre provoquee en MS/MS.
- Une molecule peut donner plusieurs valeurs de m/z si elle porte plusieurs charges.

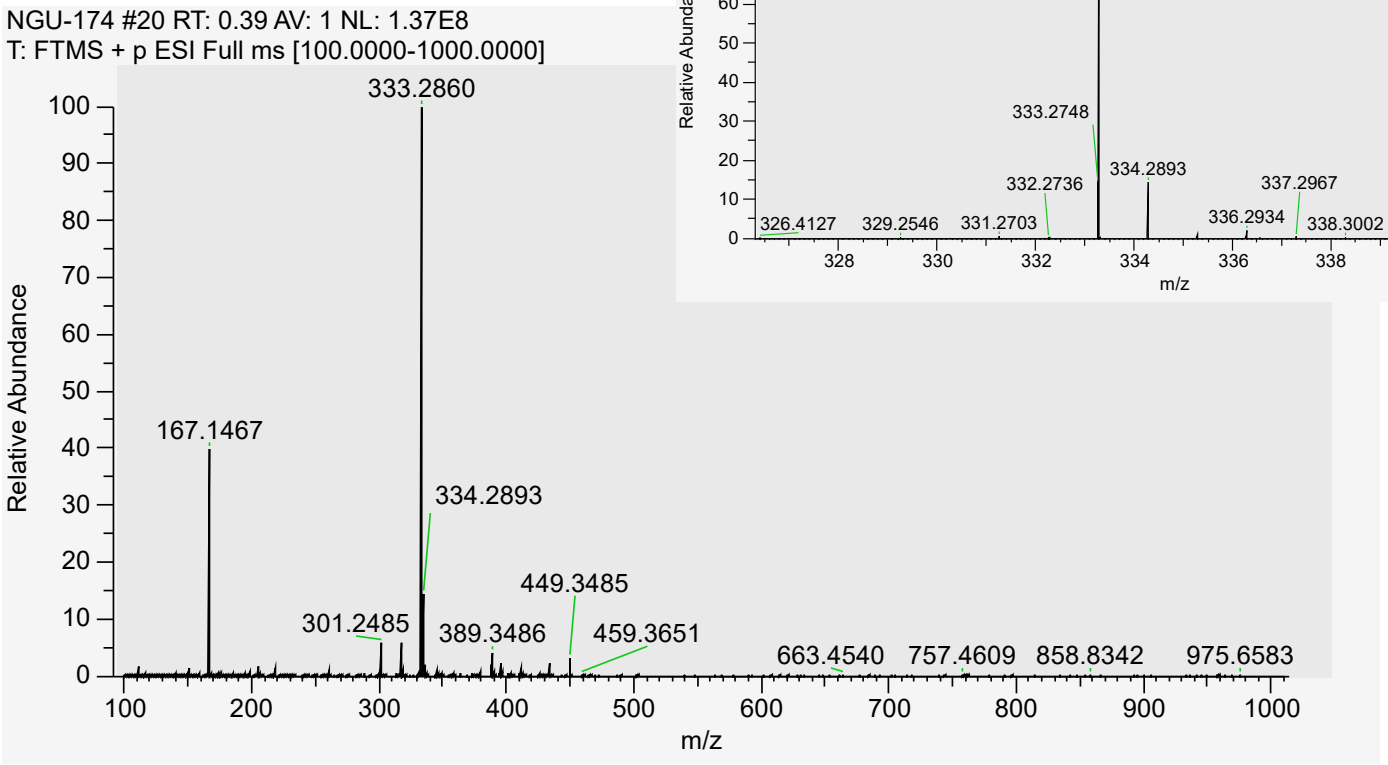
**Exemples**

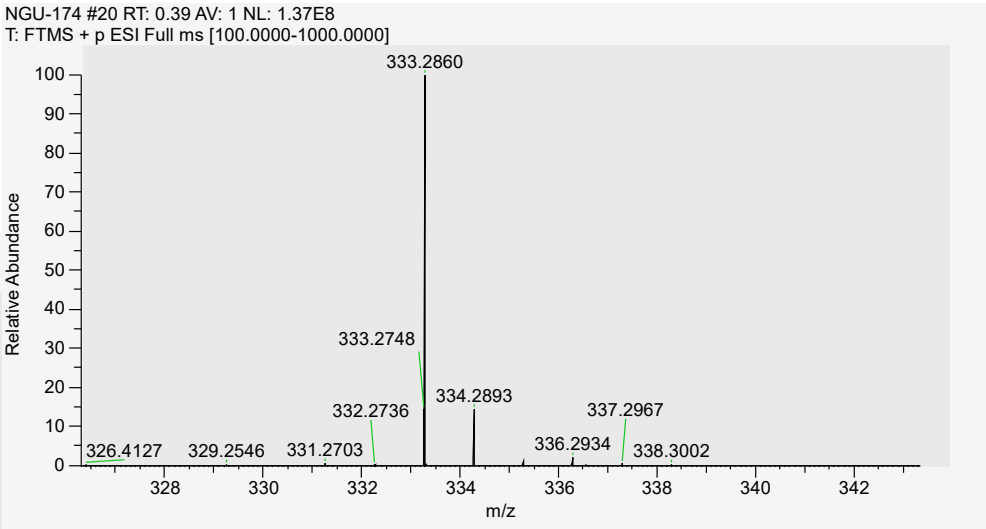
m/z([M+H]+) = M + 1,0073 ; m/z([M+Na]+) = M + 22,9892

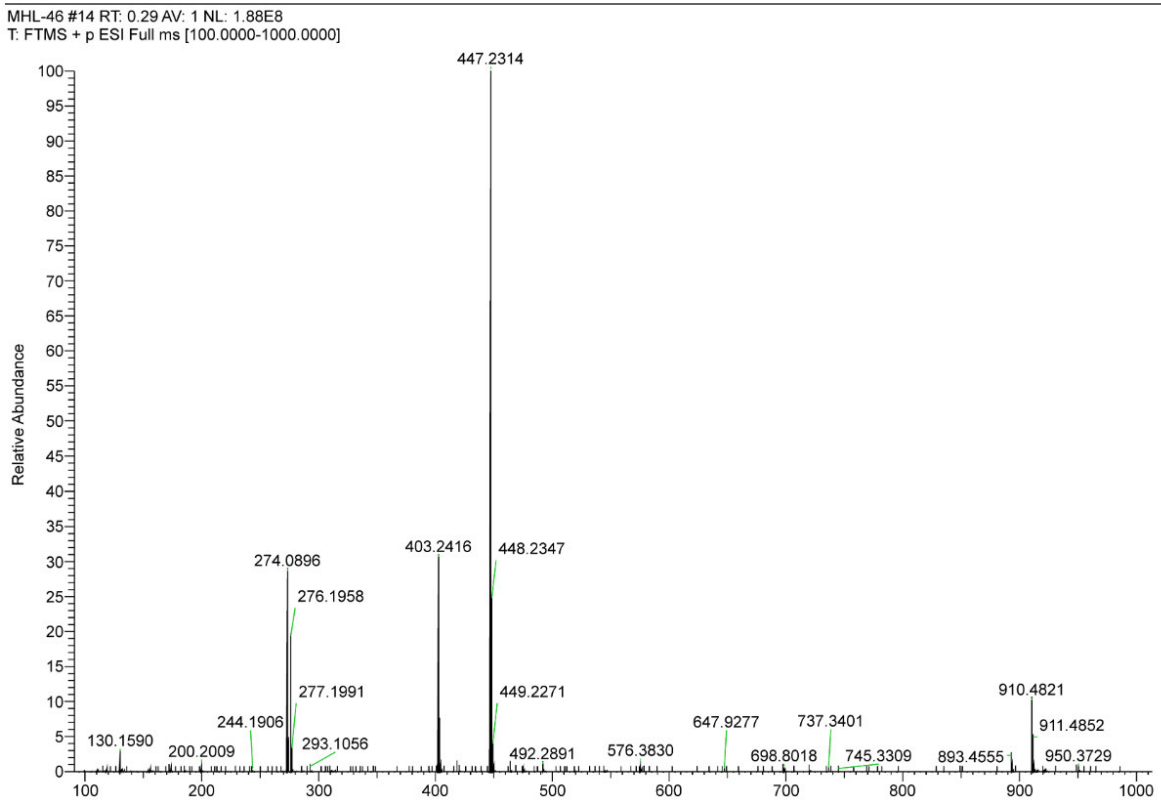



Chemical Formula: $C_{16}H_{38}Cl_2N_4O_3^+$

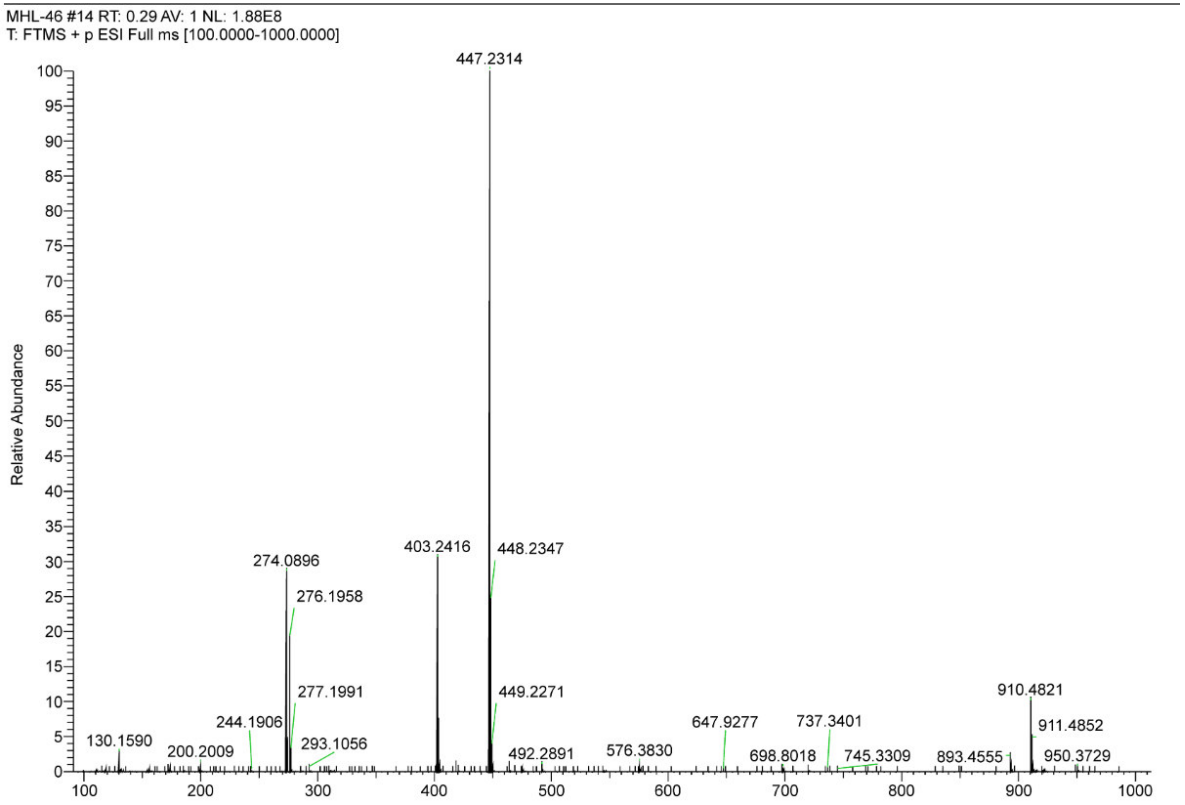
Molecular Weight: 405.4045

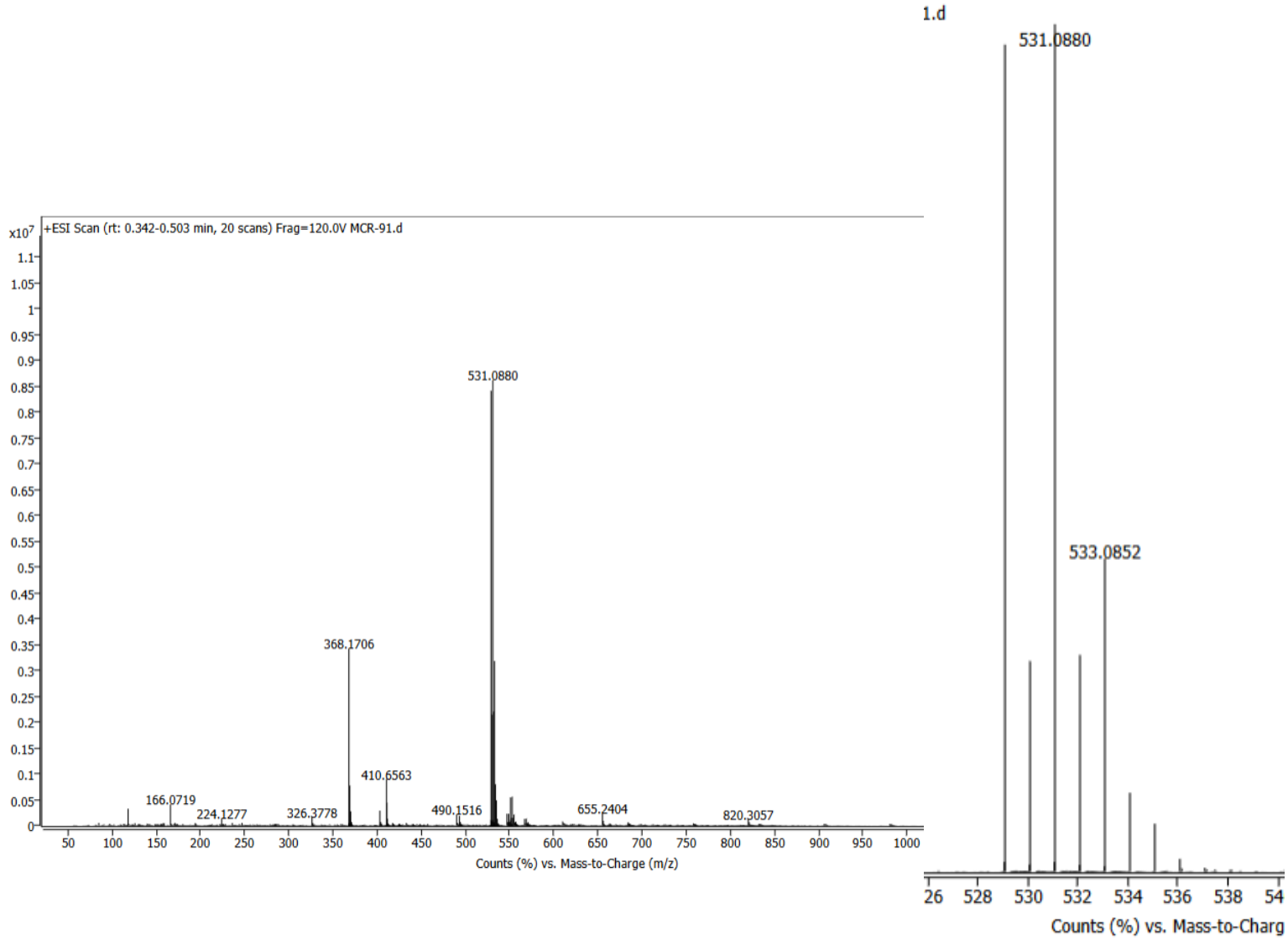


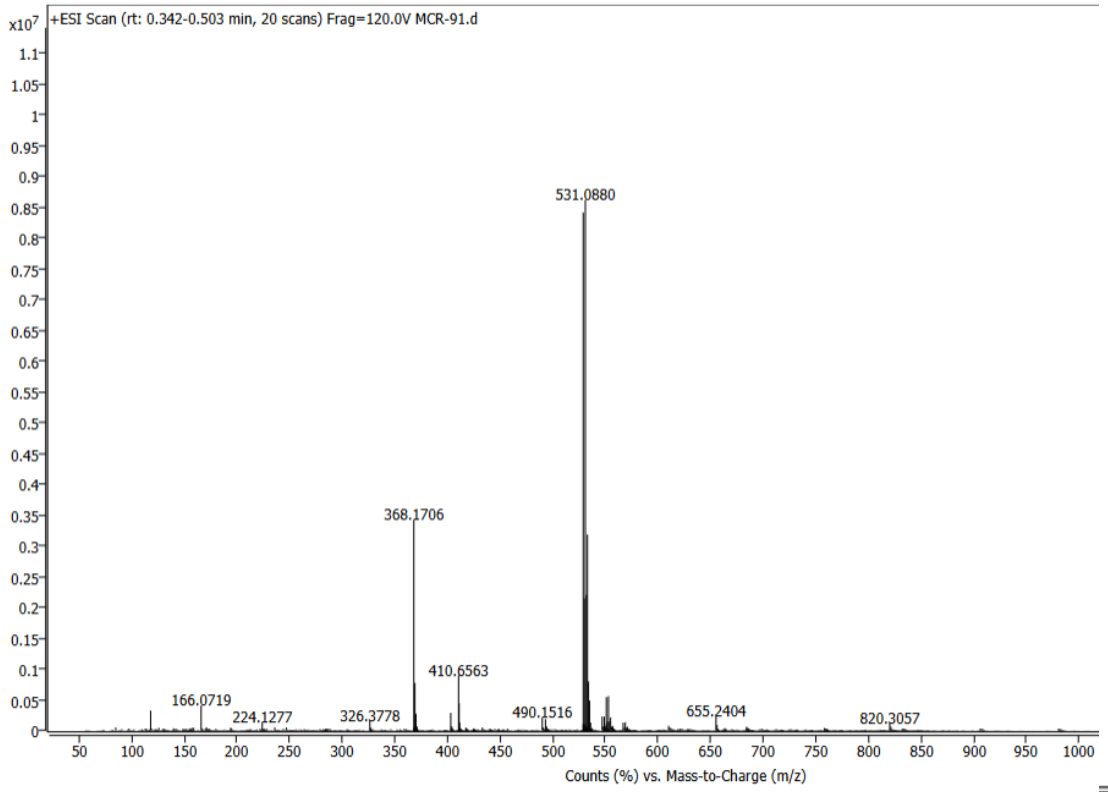

MHL-46 #14 RT: 0.29 AV: 1 NL: 1.88E8
T: FTMS + p ESI Full ms [100.0000-1000.0000]
Relative Abundance
447.2314
403.2416
448.2347
274.0896
276.1958
277.1991
449.2271
244.1906
293.1056
130.1590
200.2009
492.2891
576.3830
647.9277
737.3401
698.8018
745.3309
893.4555
910.4821
911.4852
950.3729

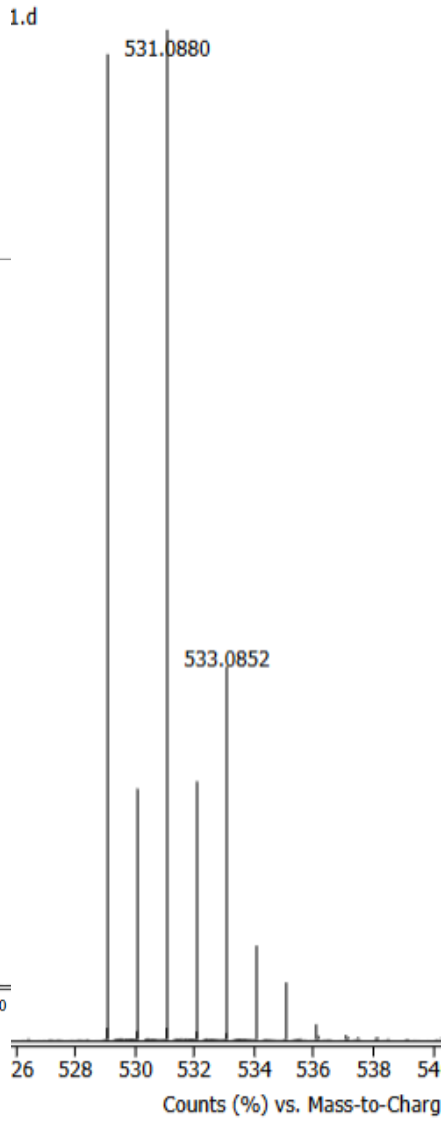
# MW=446g/mol


MHL-46 #14 RT: 0.29 AV: 1 NL: 1.88E8
T: FTMS + p ESI Full ms [100.0000-1000.0000]
Relative Abundance
447.2314
403.2416
448.2347
274.0896
276.1958
277.1991
449.2271
244.1906
293.1056
130.1590
200.2009
492.2891
576.3830
647.9277
737.3401
698.8018
745.3309
893.4555
910.4821
911.4852
950.3729


1.d
531.0880
533.0852
+ESI Scan (rt: 0.342-0.503 min, 20 scans) Frag=120.0V MCR-91.d
x10^7
531.0880
368.1706
410.6563
166.0719
224.1277
326.3778
490.1516
655.2404
820.3057
Counts (%) vs. Mass-to-Charge (m/z)
Counts (%) vs. Mass-to-Charg

# C20H57BrN2O4SSi
# C20H31Cl3N2O4SSi



## Exercice 1

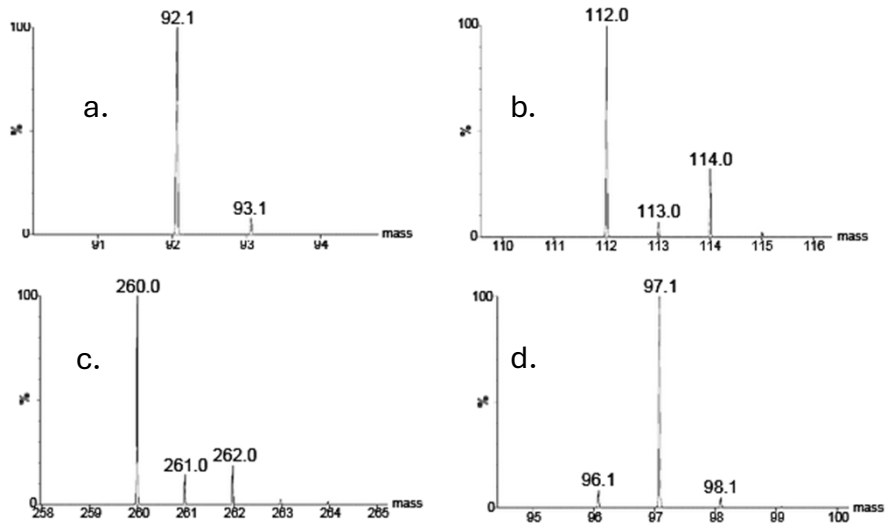
Dessinez le massif isotopique théorique de $Cl^-$

$^{35}Cl$ : 75,77%

$^{37}Cl$ : 24,23%

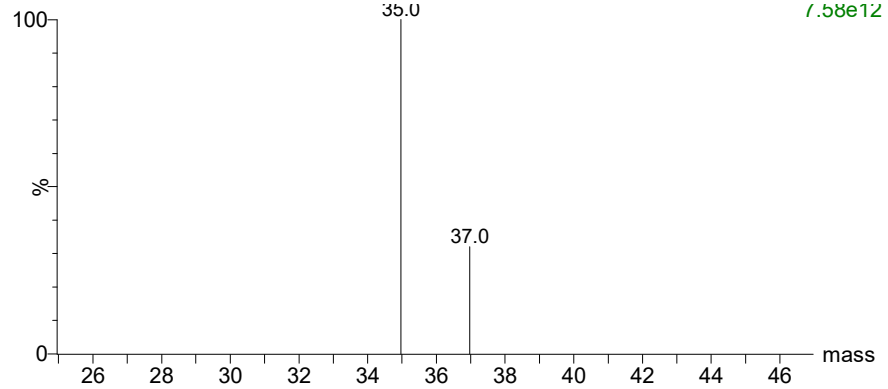
## Exercice 2

Quelles informations pouvez vous déduire de ces amas isotopiques ?



## Exercice 1  correction

Dessinez le massif isotopique théorique de Cl




## Exercice 2

a. : molécule organique de composition CHNO

b. Molécule portant 1 chlore

c. Molécule organique portant au moins un S

d. Molécule comportant un atome avec un isotope de plus faible masse (Bore dans ce cas précis)

Exercice 3

Considérons un mélange de deux composés : le 1,2-éthanediol ($C_2H_6O_2$) et l'éthanethiol ($C_2H_6S$).

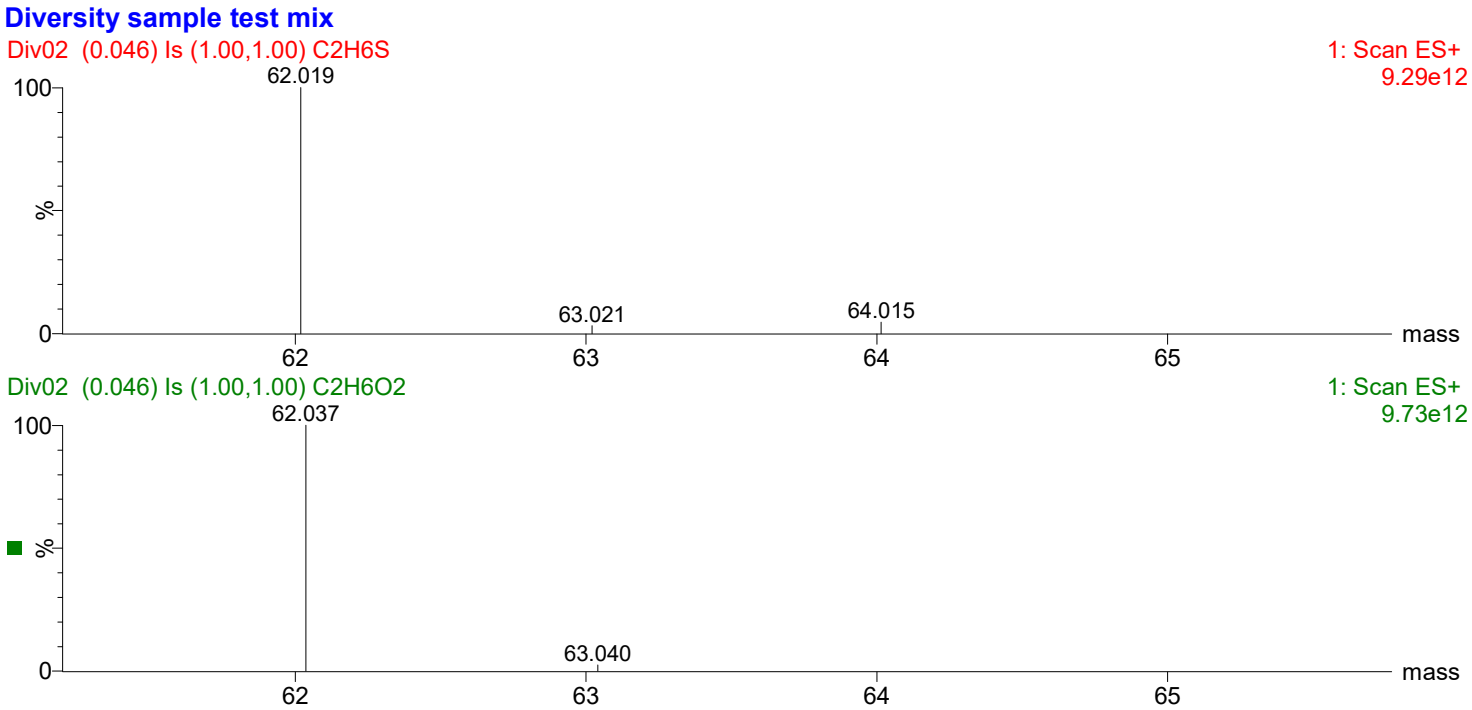
1. Est-il possible de détecter et d'identifier ces deux composés par spectrométrie de masse (MS) ? Expliquer ?

| M | | | M+1 | | M+2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $^{1}H$ | 1,008 | 99,9% | $^{2}H$ | 0,01 | | |
| $^{12}C$ | 12,000 | 98,9% | $^{13}C$ | 1,1% | | |
| $^{16}O$ | 15,995 | 99,8% | $^{17}O$ | ε | $^{18}O$ | 0,2% |
| $^{32}S$ | 31,972 | 95,02% | $^{33}S$ | 0,75% | $^{34}S$ | 4,21% |

2. Quelle est la précision de mesure nécessaire (en ppm et en mDa) pour séparer ces deux composés


20

## Exercice 3 : correction




*Masse moléculaire pour C2H6S : 62,019Da*

*Masse moléculaire pour C2H6O3 : 62,037Da*

*Séparable par MS*

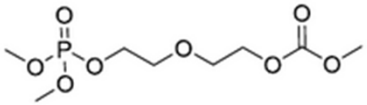
Exercice 3 : correction

$$(62{,}037 - 62{,}019) * 1000 = 18mDa$$

$$\frac{62{,}037-62{,}019}{62{,}019}\text{x10e6} = 290\text{ppm}$$

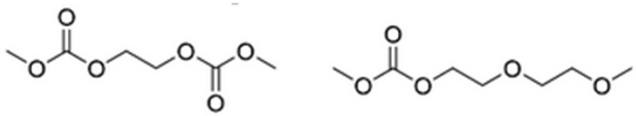
## Exercice 4 :

Donnez la formule brute, la masse moyenne et la masse mono-isotopique de ce composé :



| Mmono Da | | Masse Moyenne g/mol | |
|---|---|---|---|
| $^{1}H$ | 1,0078 | H | 1.0079 |
| $^{12}C$ | 12,0000 | C | 12.0110 |
| $^{16}O$ | 15,9949 | O | 15.9994 |
| $^{32}S$ | 31,972 | S | 32.0655 |
| $^{31}P$ | 30,9738 | P | 30.9738 |

## Exercice 5 :



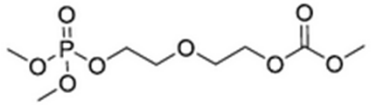
1-Donnez les formules brutes de ces composés :

2-Caculez leurs masses monoisotopiques exactes (4 décimales).

3-Quelle est la précision de mesure à atteindre pour séparer ces deux composés ?

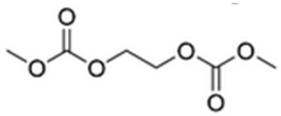
## Exercice 4 correction:

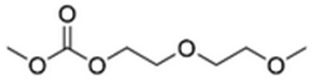
Donnez la formule brute, la masse entière, la masse chimique et la masse mono-isotopique de ce composé :



*Formule : C8H17O8P*
*MW : 272,189 g/mol*
*$M_{mono}$ : 272,066 Da*

## Exercice 5 :





*Formule : C6H10O6*
*$M_{mono}$ : 178,0477 Da*

*Formule : C7H14O5*
*$M_{mono}$ : 178,0841 Da*

*Différence de masse : 0,0364 Da (36,4mDa)*

*Précision de mesure = 0,0364/178,0477*10^e6 = 204ppm*

## Exercice 6 :

Le composé dont la formule est $((C_2H_5)_3O)^+ Cl^-$ présente un spectre de masse ESI(+) comportant deux ions : m/z 103,1123 et m/z 241,1934. Interpréter le spectre de masse

## Exercice 7 :

Un spectre de masse ESI(+) présente des ions aux masses m/z 219.0647 ; 235.0386 et 415.1396. Interpréter ce spectre de masse.

## Exercice 8 :

Le spectre de masse ESI (electrospray ionization) des ions positifs d'une protéine comporte les ions suivants :

m/z 848,56 ; 893,17 ; 942,73 ; 998,13 et 1060,45. Calculer la masse de cette protéine et expliquer la formation des ions de la série. Quel sera l'écart en masse entre les pics de l'amas isotopique de l'ion m/z 942.73 ?

## Exercice 6 correction :

Le composé dont la formule est $((C_2H_5)_3O)^+$ $Cl^-$ présente un spectre de masse ESI(+) comportant deux ions : m/z 103,1123 et m/z 241,1934. Interpréter le spectre de masse

*103,1123 correspond à l'ion $((C_2H_5)_3O)^+$*

*241,1934 correspond au cluster $[((C_2H_5)_3O)_2^{2+}Cl^-]^+$*

## Exercice 7 correction :

Un spectre de masse ESI(+) présente des ions aux masses m/z 219.0647 ; 235.0386 et 415.1396. Interpréter ce spectre de masse.

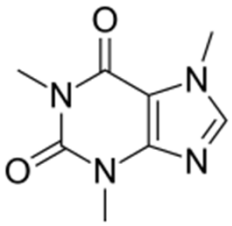
*L'ion 219 correspond à l'adduit $[M+Na]^+$*

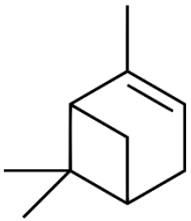
*L'ion 235 correspond à l'adduit $[M+K]^+$*

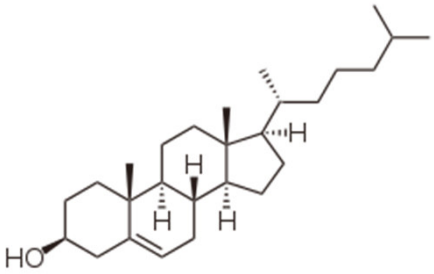
*L'ion 415 correspond au cluster $[2M+Na]^+$*

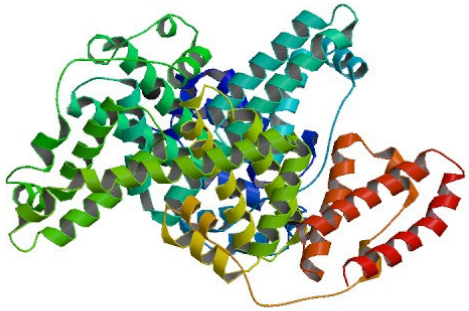
Exercice 10 :

Quel mode d'ionisation utiliseriez-vous pour analyser ces composés ?

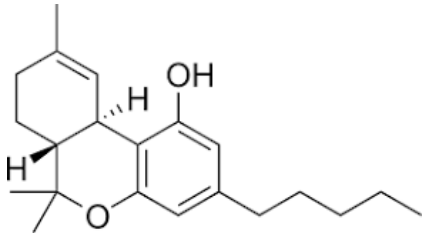


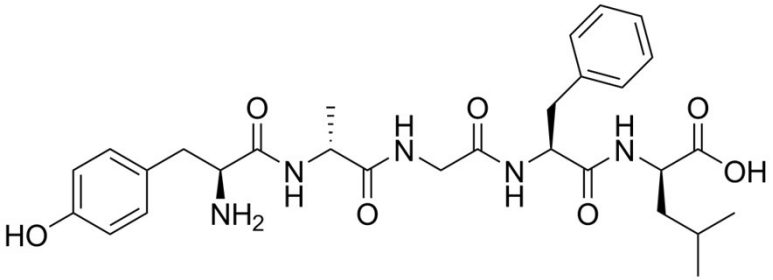



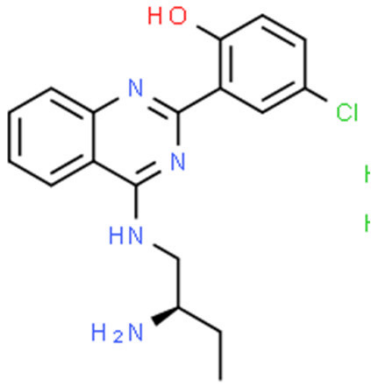


BSA MW 66kDa

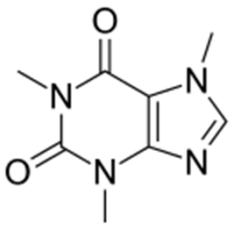


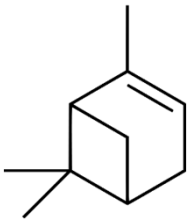



Exercice 10 correction:

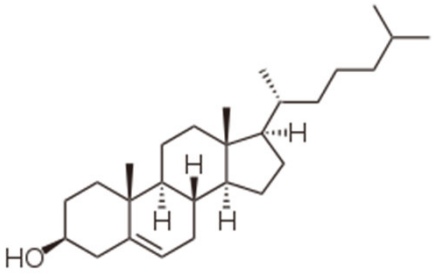
Quel mode d'ionisation utiliseriez-vous pour analyser ces composés ?



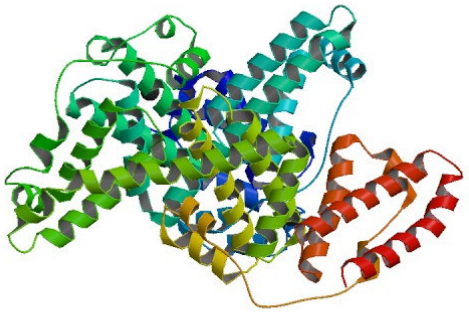

*ESI +*



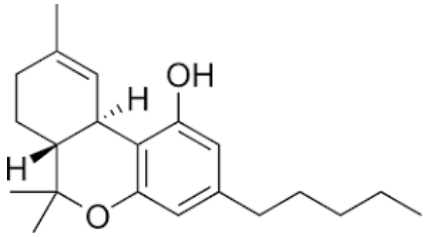
*EI*



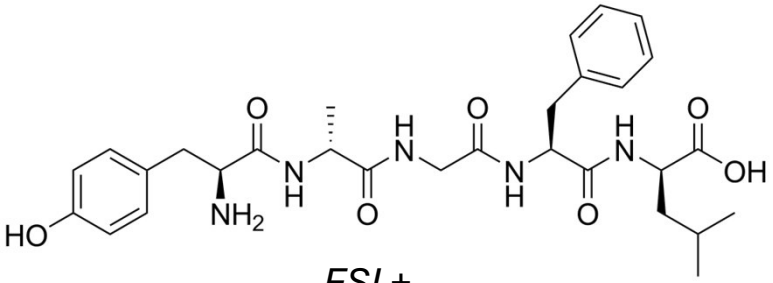

*APCI-*



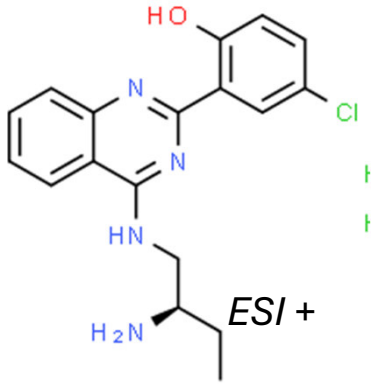
BSA MW 66kDa
*MALDI+*




*ESI -*

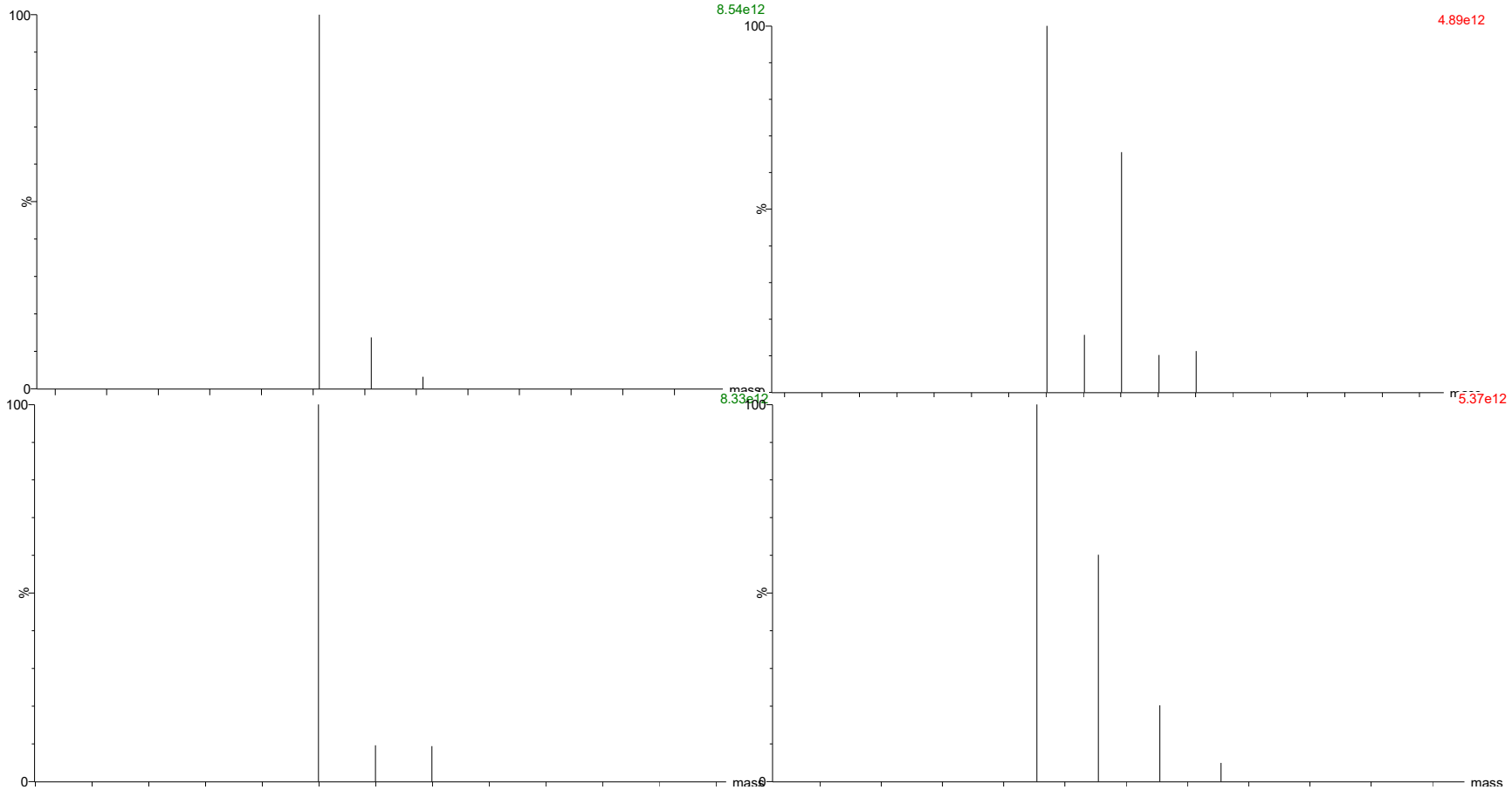



*ESI +*



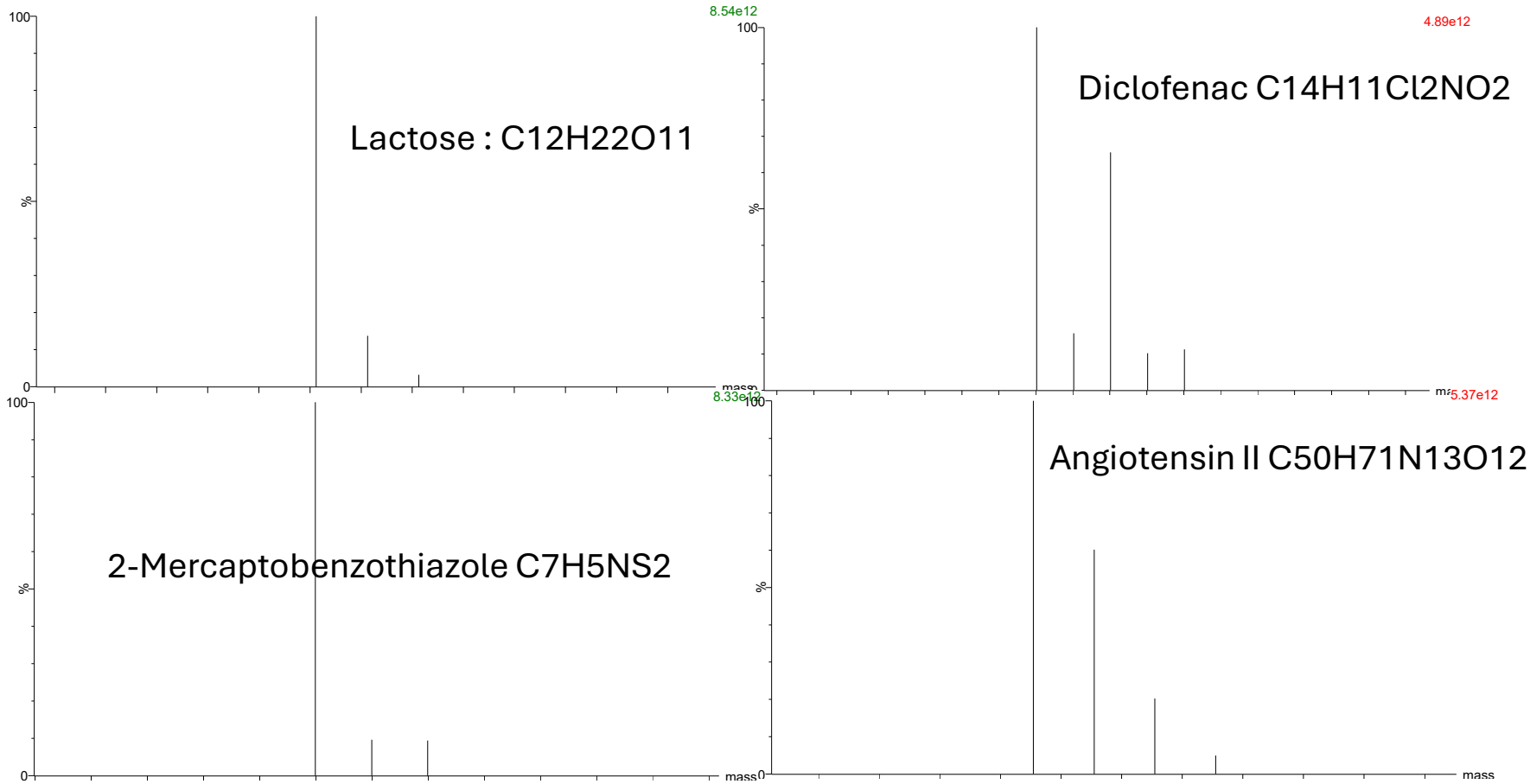

*ESI +*

Exercice 12 : retrouver les massifs isotopiques correspondants aux molécules ci-desssous




Lactose : C12H22O11, Angiotensin II C50H71N13O12, 2-Mercaptobenzothiazole C7H5NS2, Diclofenac C14H11Cl2NO2

Exercice 12 : retrouver les massifs isotopiques correspondants aux molécules ci-desssous




Lactose : C12H22O11, Angiotensin II C50H71N13O12, 2-Mercaptobenzothiazole C7H5NS2, Diclofenac C14H11Cl2NO2