

FICHE TECHNIQUE 27 : Spectrométrie de masse (MS et MS/MS)

- À la fin de la lecture de ce document vous devez :
- Comprendre l'utilité de la spectrométrie de masse
 - Décrire un spectromètre de masse et un spectre
 - Savoir différencier un MS d'un MS/MS
 - Connaître les principaux modes de fonctionnement d'un spectromètre de masse

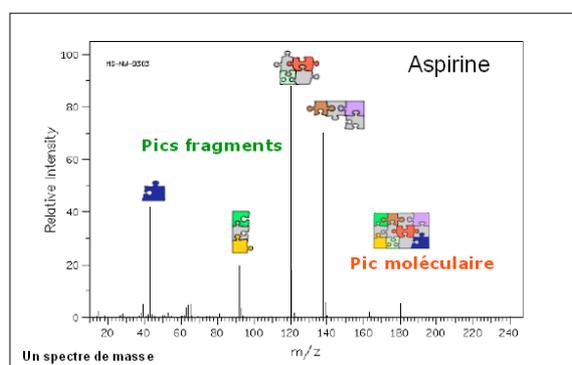
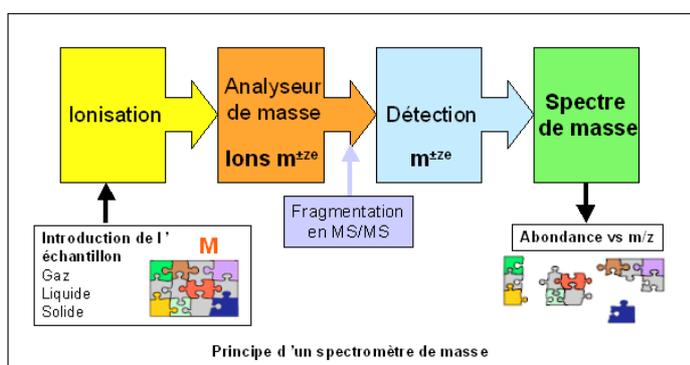
Cette fiche technique fait partie de la culture générale. Même, et surtout, si vous ne faites pas de spectrométrie de masse, nous vous encourageons à vous y plonger.

Dans un laboratoire d'analyses médicales, la spectrométrie de masse est un outil puissant permettant d'améliorer l'identification des molécules à analyser (ex. recherche médicamenteuses dans le cas de comas par intoxications). Grâce à son fort pouvoir d'identification et sa sensibilité de mesure, cette méthode est un outil complémentaire aux systèmes d'analyses d'identification et de séparation telles que les chromatographies gazeuses et liquides, ou les immunoessais. Dû au coût de ces appareils, les spectromètres de masse sont souvent localisés dans de grandes structures.

1. Définition de la spectrométrie de masse :

La spectrométrie de masse a pour vocation de permettre l'identification et la séparation de molécules à analyser (petites molécules, volatils, protéines, drogues...) avec une très bonne résolution et sensibilité. Le mode de fonctionnement d'un spectromètre de masse (MS) est de produire des ions ($m^{\pm ze}$) à partir de notre échantillon (M) et de les séparer en fonction de leur rapport masse / charge (m/z) et de leur abondance. Il est composé sous sa forme

- simple MS : d'un ionisateur, d'un analyseur et d'un détecteur ;
- tandem MS/MS : d'un collecteur d'ions et d'un deuxième analyseur en plus de la partie simple MS.



La tandem MS/MS se différencie de la MS par une fragmentation des ions pour permettre une meilleure identification. Les ions séparés lors d'un simple MS sont sélectionnés dans un collecteur et sont fragmentés. Les fragments sont analysés dans un deuxième analyseur (fragments MS). L'identification obtenue est plus fine et plus exacte. La spectrométrie de masse permet une analyse qualitative et quantitative.

2. Les applications :

Les domaines d'application de la spectrométrie de masse au laboratoire médical en mode simple ou en mode tandem sont multiples. Les analyses peuvent être :

- **Recherche biomédicale :** Recherche de biomarqueurs et identification de protéines
- **Chimie clinique :**
 - Dosage de l'homocystéine plasmatique totale
 - Dépistage néonatal de maladies métaboliques (ex. cycle urée)
 - Analyse quantitative des stéroïdes
- **Toxicologie :**
 - Dosage des drogues et alcool
 - Suivi thérapeutique des médicaments (immunosuppresseurs, antirétroviraux, antidépresseurs)
 - Recherche des intoxications médicamenteuses
- **Médecine Légale :** Identification des drogues et toxiques.
- **Pharmacie** Pureté des produits pharmaceutiques et étude de leurs métabolites

Cette méthode s'applique dans beaucoup d'autres domaines non médicaux comme l'analyse écotoxicologique, l'agroalimentaire, les parfums ou l'alimentation (liste est non exhaustive).

3. Les modes de fonctionnement du spectromètre de masse :

Les spectromètres de masse utilisés dans les laboratoires ont des combinaisons diverses entre un ionisateur et un analyseur de masse. Les plus connus sont les ESI-MS, ESI-MS/MS, MALDI-TOF/TOF, ESI-Q/Trap et Orbitrap. Ils sont choisis en fonction de leurs performances et de leur coût d'installation. Pour améliorer les performances d'un MS ou MS/MS, le spectromètre de masse est souvent couplé avec une méthode de séparation telle que la chromatographie gazeuse (GC) ou liquide (LC) pour une meilleure séparation des composés avant la MS.

Les performances d'un spectromètre de masse MS et MS/MS sont déterminées par :

- Sa résolution : son pouvoir à séparer des ions de masses voisines
- Son exactitude : son pouvoir à mesurer la masse exacte d'un ion
- Sa sensibilité : son pouvoir à mesurer les petites quantités
- Son domaine de masse : son échelle de mesure de masse

Un spectromètre de masse est composé principalement de :

un ionisateur, un détecteur, un analyseur de masse puis un spectre de masse.

Une brève description de ces parties permet de comprendre leur mécanisme de fonctionnement.

a. L'ionisateur sert à produire des ions positifs ou négatifs. Les principales sources ioniques dépendent de l'échantillon à analyser :

Echantillons à analyser (M)	Ionisateur	Types d'ions ($m^{z\text{e}}$)	Processus d'ionisation	Molécules	Type de MS
Gaz (GC), Liquide (LC)	Ionisation à impact d'électron (IE)	Mono-chargés	Arrachement d'un électron par collision	Petites	EI-MS Electron Impact Ionization
Liquide (LC)	Ionisation chimique (IC)	Mono-chargés	Bombardement électronique et transfert de charge	Petites	Chemical Ionization
Gaz (GC)	Ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI)	Mono-chargés	Dissociation induite par collision (CID)	Petites, Thermolabiles, Macro	APCI-MS
Liquide (LC)	Electro-nebulisation (ESI, IS)	Multi-chargés (2 ou +)	Désolvatation des ions	Petites, Macro, Protéines	ESI-MS Electron Spray Ionization IS-MS Ionization Spray
Solide	Désorption-ionisation (DI)	Multi-chargés (2 ou +)	Transfert de charge d'une matrice	Macro, Peptides, Protéines	MALDI-MS Matrix Assisted Laser Desorption Ionization

b. L'analyseur de masse sert à séparer les ions collectés soit sous l'action d'un champ électrique, soit sous l'action d'un champ magnétique. Il peut être couplé avec presque tous les ionisateurs. Les analyseurs de masse se différencient par leur résolution et leur domaine de masse d'analyse.

Analyseur de masse	Type d'analyseurs	Combinaisons de MS répandues
Orbitrap	Résonance cyclotronique	Orbitrap-MS
TOF (time-of flight)	Temps de vol	MALDI-TOF
Q (ou QqQ)	Quadripôle (ou triple Q)	ISE-QqQ
Trap	Piège ionique	APCI-QTrap

c. Le détecteur sert à mesurer le nombre d'électrons et à amplifier le signal pour atteindre une bonne sensibilité. Le plus utilisé est un multiplicateur d'électrons. Ensuite le signal est enregistré et un spectre de masse est produit.

d. Le spectre de masse représente en ordonnée l'abondance des pics (en %) et en abscisse les rapports masse sur charge (m/z) (cf. spectre)

e. L'identification de nos molécules est possible par interrogation et comparaison de nos données (provenant du spectre de masse) sur une base de données contenant une banque de spectre. Le résultat obtenu sera un résultat statistique de probabilité (en %) d'identification de notre molécule.