



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THESE

présentée
pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE METZ

Spécialité : **CHIMIE PHYSIQUE**

par

Christophe MASSELON

Etude des mécanismes
d'ablation/ionisation laser de
pesticides adsorbés sur membranes
par spectrométrie de masse à
transformée de Fourier

Soutenue le 15 janvier 1997 devant la commission d'examen :

- Président :* M. J.-F. Muller, Professeur à l'Université de Metz -
Directeur de thèse.
- Rapporteurs :* M. J. Einhorn, Directeur de Recherche à l'INRA - Versailles.
M. J.-F. Gal, Professeur à l'Université de Nice.
- Examineur :* M. G. Ohanessian, Chargé de Recherche à l'Ecole

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE DE METZ



022 420638 5

6113399

À mes parents, Danusia et Bruno

À ma petite soeur, Emmanuelle

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	19970265
Cote	S/M3 97/12
Loc	Magasin

Merci à Manuel, Régine et Franck.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Spectrométrie de Masse et de Chimie Laser de l'Université de Metz.

J'aimerais exprimer toute ma gratitude au Professeur Jean-François Muller pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, pour avoir placé sa confiance en moi en me confiant cette recherche, et pour ses précieux conseils. Je lui adresse également mes remerciements pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Je remercie également M. Jacques Einhorn, Directeur de Recherche à l'INRA de Versailles, avec qui nous avons étroitement collaboré, pour ses encouragements et ses conseils. Je lui sais gré d'avoir accepté de juger mon travail et d'en être rapporteur.

Au Professeur Jean-François Gal de l'Université de Nice, j'exprime ma gratitude pour avoir accepté de juger ce travail et d'en être le rapporteur. Merci aussi pour les informations sur l'histoire de la FTMS.

Tous mes remerciements vont au Docteur Gabriel Krier, Ingénieur de Recherche hors pair, pour son implication dans ce sujet, pour avoir guidé mes premiers pas en FTMS et pour son assistance technique de tous les instants.

Un grand merci aux personnes qui, grâce à leur aide scientifique et technique, m'ont permis de mener ce travail à son terme : Sylvie Nélieu et Lucien Kerhoas de l'INRA.

Je tiens à exprimer mes remerciements à M. Gilles Ohanessian, Chargé de Recherche à l'Ecole Polytechnique de Palaiseau qui a accepté de siéger à ce jury.

Une mention toute particulière pour le Professeur Eric Millon afin de lui exprimer ma sincère gratitude pour m'avoir aidé à maintenir, par son tutorat, le cap dans mes enseignements mais aussi et surtout pour ses encouragements et les discussions que nous avons eues ensemble.

Merci à Martine, la secrétaire la plus dévouée du monde, pour son aide administrative et aussi pour tous les petits riens qui mettent du baume au coeur les jours où ça va moins bien.

Merci aussi à tous ceux qui ont contribué, à leur manière, à faire de ces trois années un sacré bon moment : Philou, Nouari, Lio, Jean-Jacques, Pierre, Sandrine, Anne, Céline, Benmoun, Pierre-Jean, Adam, Polo, Abdel, Fred, Polo-Luxo, Benouze, Le Zim, Nadine,... et j'en oublie certainement... J'espère qu'ils ne m'en voudront pas.

Enfin, et du fond du coeur, merci à toi Suzi pour chaque jour passé ensemble, pour ta bonne humeur, ton indulgence, ta patience ... Merci d'être là...

Sommaire

Introduction Générale	1
Chapitre I. Contexte de l'étude	4
I. Les pesticides	4
II. L'analyse des pesticides	6
III. Les méthodes d'extraction	7
A. L'extraction en phase liquide.....	8
B. L'extraction en phase solide.....	8
1. Généralités.....	8
2. Principes de l'extraction solide/liquide en phase inverse.....	9
IV. Les méthodes chromatographiques	10
A. La chromatographie en phase gazeuse.....	11
B. La chromatographie liquide haute performance.....	12
C. La chromatographie sur couche mince.....	13
V. La désorption laser dans le contexte de l'analyse des pesticides	14
A. Principes de la désorption laser.....	14
1. Les concepts généraux de la désorption/ionisation laser.....	14
2. Effet thermique et génération de neutres par désorption laser.....	15
3. Création d'une zone "frontière", réaction ion/molécule en phase gazeuse.....	16
4. Processus d'onde de choc.....	17
5. Phénomène de désorption/ionisation résonante.....	18
6. Les processus de formation des ions.....	20
B. Exemples d'application de la désorption laser à l'analyse des pesticides.....	21
VI. Spectrométrie de masse pour l'analyse des pesticides	22
VII. Conclusion	24
Bibliographie	25
Chapitre II. Matériels et méthodes	28
I. Introduction	28
II. Molécules et solvants	29
A. Pesticides étudiés.....	30
1. L'atrazine.....	30
2. L'hydroxyatrazine.....	31
3. La fluméquine.....	32
4. L'isoproturon.....	32
5. Le flutriafol.....	33
B. Les solvants.....	33
III. Extraction en phase solide et estimation des rendements de rétention	34
A. Extraction en phase solide.....	34
1. Choix de la phase greffée.....	34
2. Protocole d'extraction.....	34
B. Estimation des rendements d'extraction.....	36
IV. Méthodes de caractérisation	37
A. Spectrophotométrie dans l'ultra-violet.....	37
B. Microscopie électronique à balayage.....	38

C.	Spectrométrie de masse à ionisation par faisceau d'électrons et ionisation chimique.....	39
V.	La microsonde laser FTMS 2000.....	42
A.	La double - cellule.....	42
B.	Le système d'introduction et de manipulation de l'échantillon....	43
C.	Le cryoaimant.....	44
D.	Le pompage.....	44
E.	L'interface d'ionisation laser.....	45
F.	Les systèmes électroniques de la microsonde.....	47
G.	Préparation des échantillons pour analyse par FTMS.....	47
1.	<i>Les standards</i>	48
2.	<i>Les membranes</i>	48
3.	<i>Autres échantillons</i>	49
VI.	Conclusion.....	49
	Bibliographie.....	50

Chapitre III. Désorption laser et spectrométrie de masse de la résonance cyclotronique à transformée de Fourier.....		51
Introduction.....		51
Partie 1. Principes de la spectrométrie de masse à transformée de Fourier.....		53
I.	Une expérience type en FTMS.....	53
II.	Piégeage par des champs statiques.....	57
A.	Le champ magnétique.....	57
B.	Le champ électrique de piégeage.....	59
C.	Mouvements des ions et interactions avec le champ électrique de piégeage.....	63
D.	Effet de charge d'espace.....	65
Partie 2. Implications pratiques en ionisation laser / FTMS.....		67
I.	L'étape d'ionisation.....	68
A.	Généralités.....	68
B.	L'ionisation laser couplée à la FTMS.....	68
1.	<i>Le laser</i>	69
2.	<i>Le substrat</i>	70
3.	<i>La cible</i>	70
4.	<i>Le délai d'ionisation</i>	73
II.	Les paramètres du piégeage.....	73
A.	Le champ magnétique.....	74
B.	Le potentiel de piégeage.....	74
C.	La géométrie de la cellule.....	75
D.	La pression résiduelle.....	76
III.	L'excitation des ions.....	76
A.	L'excitation pulsée.....	77
B.	L'excitation par balayage de radiofréquences.....	78
C.	L'excitation SWIFT (Stored Waveform Inverse Fourier Transform).....	79
IV.	Acquisition du signal et opérations mathématiques.....	80
A.	Courant image.....	81

B.	Paramètres de la détection	82
C.	Transformée de Fourier, Apodisation, Zero-filling	83
D.	Le mode hétérodyne	84
V.	<i>Différentes manipulations des populations d'ions</i>	86
A.	Déterminations de structures : les techniques de dissociation des ions	87
B.	Détermination de réactivité : réaction ion/molécule.....	88
C.	Amélioration des caractéristiques spectrales : résolution, sensibilité	90
1.	<i>Transfert vers la cellule analyse</i>	90
2.	<i>Éjection sélective</i>	90
3.	<i>Piégeage suspendu</i>	90
4.	<i>"Refroidissement" des ions</i>	93
5.	<i>Axialisation des ions par refroidissement et excitation quadripolaire azimutale</i>	94
VI.	<i>Exemples suivis d'optimisation de spectres</i>	95
A.	Exemple du dicoronène	95
B.	Exemple de l'hydroxyatrazine	100
Partie 3. Améliorations de notre instrument		105
I.	<i>Le système "OdysseyTM"</i>	105
A.	Vue générale du système Odyssey TM	106
1.	<i>Les fonctions de l'informatique d'un système FTMS</i>	106
2.	<i>Que faisait le système NICOLET 1280 ?</i>	106
3.	<i>Que fait le système OdysseyTM ?</i>	107
B.	Les logiciels de la station Odyssey.....	109
1.	<i>Le logiciel de programmation de séquences et d'acquisition : "controller"</i>	109
2.	<i>Le logiciel d'édition de formes d'ondes SWIFT : "swe"</i>	110
3.	<i>Le logiciel d'analyse des spectres : "analyze"</i>	110
4.	<i>Le logiciel d'aide à l'interprétation des spectres : "spectral interpreter"</i>	110
5.	<i>Les logiciels de conversion de fichiers</i>	110
6.	<i>Le logiciel de contrôle de l'intégrité de l'instrument "vac"</i>	111
C.	La maintenance du système UNIX.....	111
II.	<i>La configuration géométrique de la cellule source</i>	111
Conclusion		114
<i>Bibliographie</i>		115
Chapitre IV. Application à l'étude de pesticides adsorbés sur supports d'extraction en phase solide		
		117
Introduction		117
Partie 1. Base de l'étude : l'atrazine et l'hydroxyatrazine		118
I.	<i>Travaux préliminaires</i>	118
A.	Rétention sur support d'extraction	118
B.	Spectres de masse des standards en ionisation par faisceau d'électrons	119
1.	<i>Atrazine</i>	119
2.	<i>Hydroxyatrazine</i>	120

C.	Détermination de l'absorption dans l'UV.....	122
D.	Empreintes spectrales des composés par désorption laser à 248 nm.....	123
1.	<i>FTMS à 248 nm - Atrazine</i>	124
2.	<i>FTMS à 248 nm - Hydroxyatrazine</i>	125
II.	<i>Etude de la désorption laser FTMS sur support d'extraction</i>	128
A.	Désorption laser FTMS sur disque d'extraction	128
1.	<i>Estimation des interférences possibles dues à la membrane</i>	128
2.	<i>Microscopie électronique à balayage de membranes après ablation laser</i>	130
3.	<i>Désorption laser des composés adsorbés</i>	131
B.	Mise en évidence de deux mécanismes d'ionisation.....	133
1.	<i>Etude du paramètre irradiance</i>	133
2.	<i>Etude du délai d'ionisation</i>	134
3.	<i>Confirmation des mécanismes d'ionisation</i>	135
III.	<i>Détection de l'hydroxyatrazine sur membrane : les problèmes posés par la limite de solubilité</i>	136
A.	Solutions non filtrées	136
B.	Solutions filtrées et filtres de nitrocellulose	139
Partie 2. Extension de l'étude à d'autres composés		140
I.	<i>Données préliminaires</i>	140
A.	Spectres UV des composés.....	140
B.	Rendements de rétention sur membranes	141
II.	<i>Réponse comparée des standards en spectrométrie de masse par différentes techniques d'ionisation</i>	142
A.	La fluméquine.....	142
1.	<i>Ionisation par faisceau d'électrons (EI)</i>	142
2.	<i>Ionisation chimique</i>	143
3.	<i>Désorption laser à 248 nm</i>	144
B.	L'isoproturon.....	146
1.	<i>Ionisation par faisceau d'électrons (EI)</i>	146
2.	<i>Ionisation chimique</i>	148
3.	<i>Désorption laser à 248 nm</i>	148
C.	Le flutriafol.....	150
1.	<i>Ionisation par faisceau d'électrons (EI)</i>	150
2.	<i>Ionisation chimique</i>	152
3.	<i>Désorption laser à 248 nm</i>	152
III.	<i>Désorption laser directe des membranes imprégnées</i>	154
A.	Désorption laser à 248 nm.....	154
B.	Etude des paramètres de désorption	155
1.	<i>Absorption UV</i>	155
2.	<i>Partage entre phase mobile et phase stationnaire</i>	156
C.	Désorption laser à 355 nm.....	159
1.	<i>Ablation de la membrane à 355 nm</i>	160
2.	<i>Désorption laser à 355 nm des pesticides adsorbés</i>	161
Conclusion		164
<i>Bibliographie</i>		165
Conclusion Générale		166

Introduction générale

La spectrométrie de masse par résonance cyclotronique à transformée de Fourier (FT-ICR-MS¹ ou plus simplement FTMS) est une technique d'analyse des ions en pleine expansion. Son couplage avec l'ionisation laser (LD/FTMS²) date d'à peine plus d'une décennie, mais les applications en sont très prometteuses.

Le laboratoire LSMCL fait partie des pionniers de la LD/FTMS et il a largement contribué à la fin des années 1980 à la mise au point du premier prototype de microsonde laser - FTMS en collaboration avec la société Nicolet (de nos jours Finnigan FTMS). Depuis, cet instrument a permis de développer des applications multiples et variées dans des domaines tels que la métallurgie, la chimie des matériaux ou encore la chimie de l'environnement. On peut citer entre autres la détection d'huiles de laminage sur des tôles d'acier, la caractérisation de surfaces de silices ou encore la désorption laser assistée par matrice de produits biologiques.

Il s'agit cependant d'une méthode extrêmement sensible aux conditions opératoires. Les nombreux paramètres qui caractérisent une séquence d'analyse rendent sa mise en oeuvre ardue au premier abord. Néanmoins, la compréhension des phénomènes physiques mis en oeuvre lors d'une analyse permet de faire les choix judicieux pour obtenir les informations recherchées. Ceci ne s'apprend pas en un jour, et de nombreux essais et échecs sont souvent nécessaires. L'un des objectifs de ce travail est d'éclaircir la manière d'aborder les problèmes posés lors d'une analyse.

La présence de pesticides dans l'eau, les sols et les produits alimentaires, et leurs effets potentiels sur la santé des personnes, sont des problèmes qui attirent de plus en plus l'attention des consommateurs et des pouvoirs publics. De ce fait, la législation est devenue plus exigeante au fil des ans, nécessitant la réalisation de tests de plus en plus sensibles et nombreux.

Mais si les lois définissent les concentrations maximales admissibles pour les pesticides dans les eaux par exemple, elles ne recommandent aucune méthode de détection particulière. C'est la raison pour laquelle de nombreuses pistes sont explorées à l'heure actuelle pour tenter de répondre le plus précisément possible aux problèmes posés par la contamination des eaux par certains pesticides.

¹FT-ICR-MS : Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Fourier Transform Mass Spectrometry

²LD/FTMS : Laser Desorption - Fourier Transform Mass Spectrometry

La désorption/ionisation laser n'a pas à notre connaissance fait l'objet d'une étude systématique quant à ses capacités dans ce domaine. Pourtant, ses applications en analyse organique se développent rapidement et sa sensibilité est tout à fait compatible avec les concentrations recherchées.

Ce travail a été initié dans le cadre d'un projet en collaboration avec l'INRA de Versailles dont le but était d'étudier les produits de dégradation de l'atrazine dans les eaux. Dans ce contexte, la désorption laser couplée à la spectrométrie de masse à transformée de Fourier a été testée pour l'analyse de l'atrazine et l'un de ses métabolites, l'hydroxyatrazine, adsorbés sur support d'extraction en phase solide. La désorption laser directe des espèces présente en effet l'avantage d'éviter l'étape d'élution qui est connue pour être une source d'erreur.

Pour répondre à notre double objectif, nous avons scindé notre exposé en quatre chapitres :

Dans le premier chapitre, nous situerons cette étude dans le cadre de l'analyse des pesticides. Nous évoquerons les problèmes posés par les pesticides dans l'environnement et nous passerons en revue les méthodes éprouvées qui permettent leur dosage dans les eaux. Nous décrirons ensuite les phénomènes mis en jeu lors de l'interaction laser-matière et citerons les quelques tentatives d'études de pesticides par désorption laser. Nous expliquerons enfin pourquoi la spectrométrie de masse est un outil très bien adapté à ce type d'études.

Le deuxième chapitre est consacré au matériels et aux méthodes utilisés. Nous y décrirons les composés étudiés ainsi que les diverses méthodes de caractérisation qui ont été mises à contribution pour évaluer l'intérêt de la LD/FTMS pour l'analyse des pesticides adsorbés sur supports d'extraction. Notre microsonde laser FTMS sera également décrite d'un point de vue purement technique.

Le troisième chapitre est plus axé sur la compréhension des mécanismes mis en oeuvre lors d'une analyse FTMS. Nous y verrons brièvement les bases théoriques (Partie 1) puis nous nous attacherons plus précisément à décrire l'aspect pratique d'une analyse à travers la définition des paramètres et de leur influence sur les résultats obtenus (Partie 2). Plusieurs exemples tirés de l'analyse des pesticides par désorption laser ou d'autres applications serviront à illustrer notre propos. Dans la troisième partie de ce chapitre,

nous évoquerons les différentes améliorations dont notre instrument a été doté durant ces trois années de thèse.

Le quatrième chapitre enfin concernera l'évaluation de notre méthode d'analyse pour la désorption laser directe de composés adsorbés sur membranes d'extraction. Dans une première partie de celui-ci nous verrons, à travers l'étude de l'atrazine et de son métabolite, l'hydroxyatrazine, quelles sont les difficultés auxquelles il faut faire face pour mettre au point un protocole d'analyse fiable. Nous évoquerons les limitations inhérentes à la technique et évaluerons son seuil de détection. Dans une deuxième partie, nous tenterons d'étendre le protocole à trois autres composés de structures très différentes. Nous constaterons que les différences de comportement des molécules analysées sont mieux expliquées par leur coefficient de partage octanol/eau respectifs que par leur absorption à la longueur d'onde du laser d'ionisation. Nous verrons que ces différences sont probablement dues à une profondeur différentielle d'adsorption et que l'utilisation d'un laser à 355 nm permet de désorber les produits enfouis plus profondément en augmentant l'ablation de la membrane.

Chapitre I : Contexte de l'étude

I. Les pesticides

Les pesticides sont des substances ou préparations d'origine anthropique destinées à lutter contre les êtres vivants nuisibles à l'homme de façon directe ou indirecte. Selon la nature des cibles auxquelles ils sont destinés, les pesticides sont dénommés insecticides, acaricides, nématocides, fongicides, rodenticides ou herbicides [1]. Tous ces composés sont des poisons destinés à altérer certains organismes avec comme résultat final des incapacités, des maladies ou la mort [2].

Les pesticides sont largement utilisés dans l'agriculture moderne. Le principal argument en leur faveur est un accroissement important des rendements de production dû à une diminution des pertes imputables aux nuisibles [1]. Certains experts affirment que les pesticides ont été les responsables directs du doublement de la productivité mondiale de denrées alimentaires durant la première moitié du vingtième siècle [1, 2]. En second lieu, des considérations de santé publique peuvent expliquer l'utilisation des pesticides. En effet, certains nuisibles sont directement préjudiciables à la santé humaine [1]. Un autre aspect, plus culturel, mais qu'il ne faut pas négliger, est l'amélioration des qualités esthétiques des produits destinés à être vendus sans transformation (fruits et légumes frais).

Mais l'utilisation de pesticides n'est pas sans inconvénient. De nombreuses études insistent sur le fait que notre environnement est indéniablement contaminé par de multiples produits chimiques d'origine humaine et que ceux-ci ont un impact négatif sur l'écosystème [2]. Les pesticides représentent la plus grande part des composés de synthèse délibérément répandus dans l'environnement.

Le premier problème évoqué est lié à la persistance des pesticides. En effet, comme ces produits ne sont pas issus de processus naturels, les systèmes biologiques n'ont pas pu développer les enzymes capables de les dégrader (sauf par coïncidence). Leur dégradation dépend donc de processus physico-chimiques qui peuvent nécessiter beaucoup de temps. La persistance de certains composés augmente donc leurs chances d'entrer par mégarde dans des organismes autres que leur cible par l'intermédiaire de la nourriture, par l'eau ou les échanges gazeux avec l'atmosphère [2]. La figure I.1 représente les voies de transport des pesticides au sein de l'écosystème.

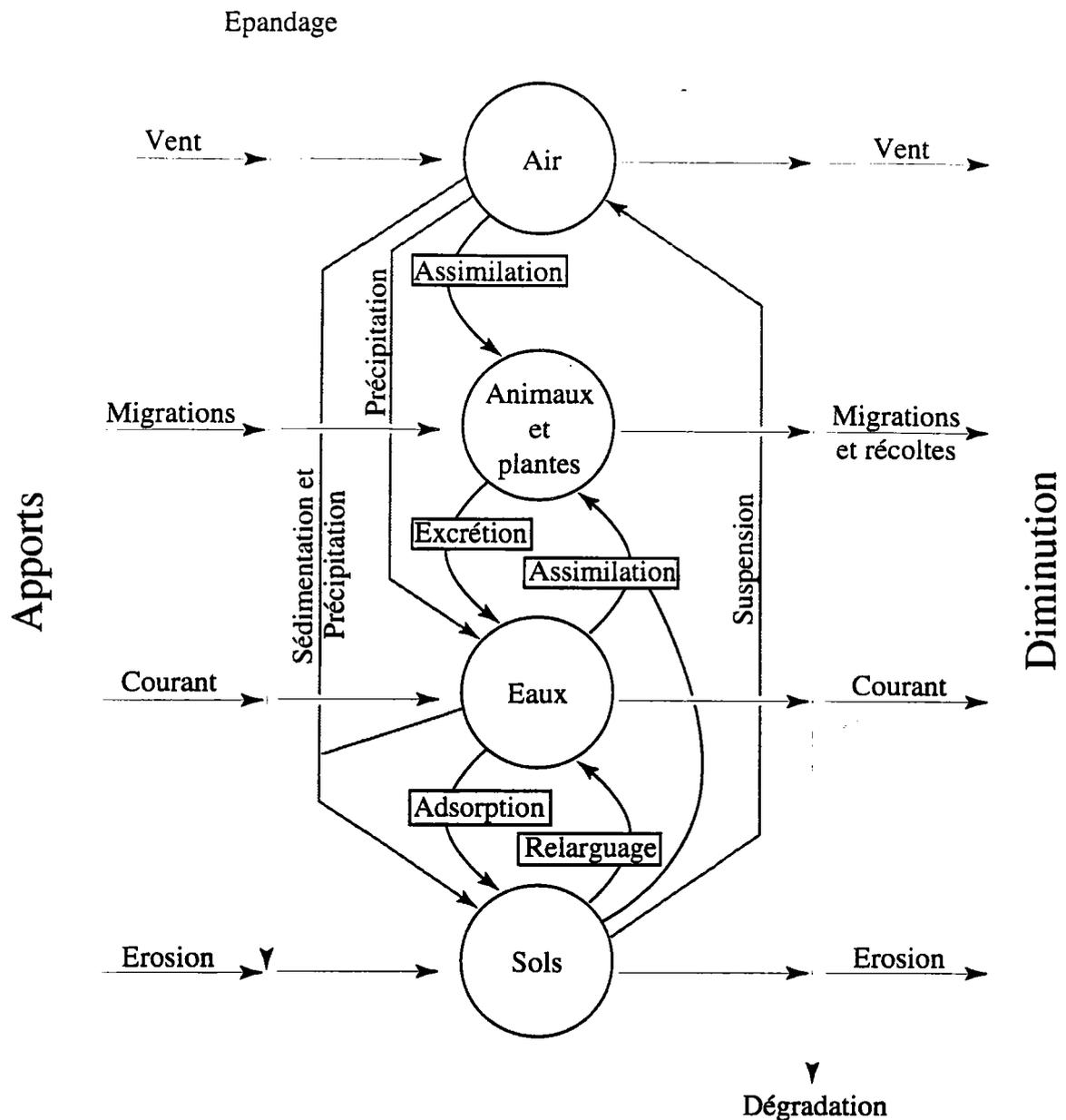


Figure I.1 : Devenir des pesticides dans l'environnement. Adapté d'après [2].

Le second aspect, moins prévisible, des dangers liés à l'utilisation de pesticides est la bio-accumulation. Lorsque les êtres vivants dégradent leur nourriture, ils assimilent certains composés et en éliminent d'autres. D'autres encore sont accumulés dans certains tissus tels que les graisses ou les os. Les produits chimiques stockés de cette manière s'accumulent sur de longues périodes et sont passés le long de la chaîne alimentaire en concentrations de plus en plus élevées. A chaque maillon de cette chaîne, les quantités passées à un organisme individuel augmentent [2]. Par exemple, un ver de terre peut ingérer un pesticide en mangeant de la matière organique contaminée. Un seul ver consommera plusieurs fois son poids en matière organique et

accumulera la majeure partie du pesticide qu'elle contient. Au niveau suivant de la chaîne alimentaire, un rouge-gorge mange de nombreux vers. Le pesticide stocké dans les tissus des vers ingérés peut atteindre un niveau néfaste ou même fatal pour le rouge-gorge. Ceci s'est produit en 1963 à Hanover dans le New-Hampshire. La population de rouges-gorges a été décimée suite à l'épandage de DDT destiné à lutter contre la maladie des ormes [2].

La présence de pesticides dans les eaux, les sols et les produits alimentaires, et leurs effets potentiels sur la santé des personnes, sont des problèmes qui attirent de plus en plus l'attention des consommateurs et des pouvoirs publics. De ce fait, la législation concernant les pesticides est devenue plus exigeante au fil des ans, nécessitant la réalisation de tests de plus en plus sensibles et de plus en plus nombreux. Par exemple, le contrôle des eaux de boisson est régie par la directive 80/778 CEE de la Communauté Européenne. Cette directive, retranscrite en droit français par le décret n°89-3 du 3 janvier 1989, porte sur 62 points différents dont le plus important fixe la concentration maximale admissible (CMA) en pesticides et produits apparentés à :

- 0,1 µg/l (0,1 ppb) pour les substances individuelles [sauf l'aldrine et la dieldrine (0,03 ppb) et l'hexachlorobenzène (0,01 ppb)].
- 0,5 µg/l (0,5 ppb) pour le total des substances présentes.

II. L'analyse des pesticides

Malgré les limitations imposées par les instances gouvernementales, l'utilisation de pesticides reste une nécessité dans l'agriculture moderne. De ce fait, le risque de pollution des eaux souterraines ou de surface n'est pas négligeable. De fait, il est prouvé que des résidus de pesticides sont présents à l'état de traces dans l'atmosphère, dans l'eau et les sols, même dans des zones non traitées ou longtemps après leur application. De plus, certains pesticides utilisés peuvent se retrouver dans l'alimentation [3]. Dans la grande majorité des cas, ces composés sont présents à des concentrations infimes (ng/l au µg/l) et leur détection est souvent ardue. Pour les déceler, les chimistes ont donc recours à des techniques d'extraction et de concentration préalables à l'analyse elle-même [4].

Il n'existe ni une méthode ni une technique d'analyse pour doser tous les pesticides connus (plus de 600 matières actives répertoriées) [4]. Toutefois, le développement des moyens analytiques permet d'en détecter un plus grand nombre et d'augmenter la fréquence des déterminations dans l'environnement [5]. La plupart des méthodes ont

été ciblées sur un seul composé ou type de composé. Leur avantage est un seuil de détection très faible et une grande spécificité. Les méthodes prévues pour l'analyse de plusieurs pesticides (dites multirésidus) présentent également un grand intérêt, mais servent essentiellement de méthode de criblage afin d'éliminer les échantillons non contaminés. Cependant, leurs limites de détection sont, en général plus élevées. En Europe, nous sommes contraints d'utiliser des techniques ayant des sensibilités compatibles avec les normes européennes en qualité d'eau potable.

L'analyse de résidus de pesticides comporte en règle générale 4 étapes qui sont :

1. extraction et concentration du pesticide ;
2. purification (si nécessaire) ;
3. analyse qualitative et quantitative ;
4. confirmation de la présence du pesticide.

La plupart des méthodes d'analyse sont basées sur les techniques chromatographiques car elles sont par excellence adaptées à la séparation et au dosage d'un produit dans un milieu complexe. Couplées à divers détecteurs, ces techniques sont les plus utilisées et les plus fiables. Néanmoins, une activité intense dans le domaine des tests immuno-enzymatiques a permis de développer des tests de criblage simples et fiables [6, 7].

III. Les méthodes d'extraction des pesticides dans les eaux

Les échantillons provenant de l'environnement, ne contiennent qu'une très faible proportion de pesticides. Il convient donc d'extraire ceux-ci de la matrice (eau ou boues par exemple) dans laquelle ils sont inclus. Les deux principales méthodes utilisées sont l'extraction liquide/liquide et l'extraction liquide/solide. La première est basée sur la différence de solubilité du composé à analyser dans l'eau et dans un solvant organique (dichlorométhane par exemple). La deuxième méthode consiste en l'adsorption du composé sur une surface active et son élution par un faible volume de solvant adéquat. Parmi les méthodes d'extraction en phase solide, on trouve l'extraction en phase inverse, l'échange d'ions ou encore l'échange de ligands.

Une méthode en pleine expansion est celle de l'extraction sur immuno-sorbants [8] Elle est basée sur l'affinité entre un anticorps spécifique immobilisé sur une surface et les molécules recherchées en solution.

Au cours de cette étude, c'est l'extraction liquide/solide en phase inverse qui a été privilégiée, nous allons donc nous en préoccuper plus en détail.

A. L'extraction en phase liquide

L'extraction liquide/liquide est la méthode la plus couramment utilisée. Elle est basée sur le partage du soluté entre l'eau et un solvant organique non miscible à l'eau. Son efficacité pour un composé donné dépend du solvant utilisé, de la composition de la solution aqueuse (phénomènes de compétition) ainsi que du nombre d'extractions successives. D'autres paramètres, tels que le pH, la force ionique, le rapport eau/solvant ainsi que les propriétés physico-chimiques et la concentration du soluté doivent également être considérés [9].

Le problème rencontré le plus souvent en extraction liquide/liquide est la formation d'émulsions rendant les extractions difficiles ou tout simplement infaisables. De plus, de grands volumes de solvants (souvent inflammables et toxiques) sont parfois nécessaires pour obtenir de bons rendements. En outre, même si ce type d'extraction est applicable à une large gamme de pesticides, elle est moins efficace pour bon nombre de leurs métabolites qui sont plus hydrophiles [10].

Les problèmes posés par l'extraction liquide/liquide ont conduit au développement d'autres techniques de préparation des échantillons. En particulier, l'extraction sur phase solide qui constitue une approche intéressante. On peut également citer l'extraction liquide/liquide assistée par micro-ondes [11] ou l'extraction en phase supercritique [12, 13], bien que ces approches restent encore marginales et peu utilisées en routine.

B. L'extraction en phase solide

1. Généralités

La méthode d'extraction liquide/solide est apparue vers la fin des années 1970 comme une alternative commode à l'extraction liquide/liquide pour l'isolation des composés organiques présents à l'état de traces dans les eaux. Elle est devenue depuis une méthode très utilisée en chimie de l'environnement, on peut citer son utilisation pour l'extraction de chlorophénols [14], de nombreux pesticides [15, 16, 17], d'hydrocarbures aromatiques polycycliques [17] et de PCB¹ [18]. La méthode consiste

¹ PCB : Polychlorobiphényles

à piéger les composés présents en solution sur un support puis les éluer par un faible volume de solvant adéquat.

Ses avantages sur l'extraction liquide/liquide sont :

- une diminution substantielle des quantités de solvants utilisés;
- une économie de temps non négligeable ;
- pas de risque de formation d'émulsion ;
- sa facilité d'automatisation.

Cependant, des problèmes annexes peuvent se poser :

- problèmes de reproductibilité entre les différents fabricants, et parfois entre les différents lots d'un même producteur ;
- réversibilité incomplète du processus de rétention pour certains composés;
- contamination des fractions extraites par des impuretés provenant du processus de fabrication ou de l'emballage.

Les premiers supports d'extraction se présentaient sous forme de cartouches où l'adsorbant était disposé entre deux frittés. Ces dernières années, cependant, de nouveaux types de supports sous forme de membranes chargées de particules adsorbantes sont apparus [19]. Ces membranes permettent un temps d'extraction plus court (flux de percolation plus élevé et perte de pression plus faible), ainsi qu'une moindre tendance à l'obturation (section efficace plus importante) [20, 21]. Un autre avantage de ce type de support est la flexibilité, tant au niveau de l'échantillonnage (qui peut être fait directement sur le site de prélèvement) que du stockage et du transport des échantillons (les membranes peuvent être tout simplement glissées dans une enveloppe) [22].

Diverses phases greffées sont disponibles dans le commerce. Nous avons sélectionné la phase C₁₈ car elle permet d'extraire une grande gamme de composés. De plus, elle est la plus utilisée en routine et des études précédentes ont montré [23] qu'elle est particulièrement adaptée aux composés que nous nous étions proposés d'analyser.

2. Principes de l'extraction liquide/solide en phase inverse

Sur membrane de silicé greffée C₁₈ le mécanisme invoqué est celui du partage en phase inverse. Pour réaliser l'extraction de pesticides en solution dans l'eau, il est nécessaire que la rétention sur la phase greffée soit maximale dans ce solvant très polaire, ce qui n'est réalisé qu'en phase inverse. En effet, contrairement au processus

de phase normale, où le mécanisme est basé sur la compétition entre l'affinité des greffons pour le solvant et pour le soluté (phase stationnaire polaire, phase mobile apolaire), l'extraction en phase inverse utilise le partage du soluté entre le solvant le moins polaire (MeOH) adsorbé à la surface des greffons pendant le conditionnement et la phase mobile (H₂O), et ceci grâce à des interactions de type Van der Waals et liaison hydrogène.

Les détails du mécanisme d'extraction en phase inverse sur silice greffée suscitent encore des controverses. S'il est clair que la rétention est gouvernée par des processus de partage, c'est à dire par un englobement complet du soluté entre les chaînes de la phase stationnaire (voir figure I.2), plutôt que par adsorption, les effets d'hydrophobicité ne peuvent être complètement négligés, notamment lorsque le solvant est l'eau pure. En fait, la thermodynamique du transfert du soluté de la phase mobile vers la phase stationnaire est beaucoup plus compliquée qu'on le pensait de prime abord [24].

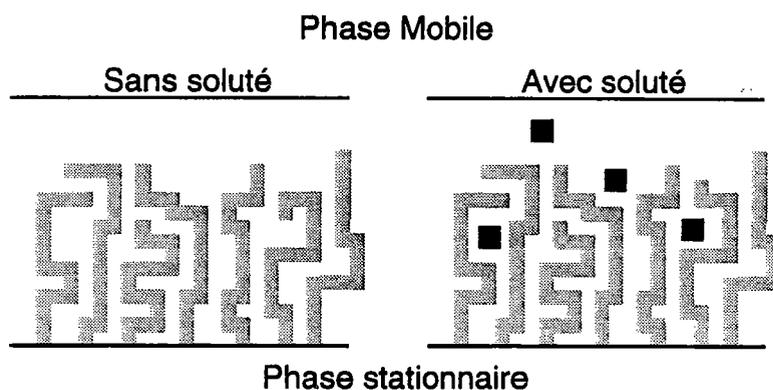


Figure I.2 : Modèle interphase de l'arrangement des chaînes de la phase greffée à haute densité (adapté d'après [24]).

IV. Les méthodes chromatographiques

Les échantillons à analyser sont susceptibles de contenir une grande variété de composés chimiques, il est donc nécessaire de disposer de méthodes permettant de séparer les produits intéressants de la grande majorité des autres afin d'éviter les interférences. Pour ce faire, les méthodes chromatographiques sont particulièrement bien adaptées. Ces méthodes sont basées sur les équilibres de concentration des composés présents entre deux phases dont l'une est dite stationnaire, emprisonnée dans une colonne ou fixée sur une plaque, et l'autre, dite mobile, qui se déplace au contact de la phase fixe.

Les deux méthodes chromatographiques les plus utilisées pour l'analyse des pesticides sont la chromatographie en phase gazeuse (GPC² ou GC) et la chromatographie liquide haute performance (HPLC³). Couplées à différents systèmes de détection, ces méthodes permettent d'analyser la quasi-totalité des composés existants. La chromatographie sur couche mince suscite un regain d'intérêt depuis plusieurs années, mais elle est majoritairement utilisée pour le criblage bien que des méthodes fiables d'analyse de nombreux pesticides aient été décrites. En fait, c'est l'automatisation de ces techniques qui semble le facteur déterminant pour leur utilisation intensive [25].

A. La chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse permet de séparer les composés thermostables et relativement volatils (température de vaporisation ≤ 300 °C). La technique utilise des colonnes capillaires et des détecteurs spécifiques très sensibles. Les détecteurs utilisés sont le catharomètre (détecteur à conductibilité thermique), le détecteur à ionisation de flamme (FID⁴), le détecteur thermoionique (sensible à l'azote et au phosphore : NPD⁵), le détecteur à capture d'électron (particulièrement adapté à la détection de composés halogénés : ECD⁶), le détecteur à photométrie de flamme ainsi que bien sûr la spectrométrie de masse (MS⁷). La combinaison de plusieurs détecteurs est souvent nécessaire pour analyser un grand nombre de composés et ceci oblige à effectuer plusieurs injections pour un même échantillon [26].

La spectrométrie de masse est une technique de plus en plus utilisée pour le couplage avec la GPC grâce à son excellente sensibilité [27] mais également en raison de la possibilité qu'elle offre d'obtenir des informations structurales sur les composés analysés. Son utilisation intensive en analyse des eaux est due à de multiples facteurs. En particulier, cela est lié à l'existence de nombreuses méthodes détaillées, bien décrites, relativement robustes et à large spectre d'action [26, 28, 29, 30].

Par méthode à large spectre d'action, on entend une méthode pour laquelle les étapes d'extraction, de concentration, de séparation et d'analyse, ont été conçues pour englober un grand nombre de composés ciblés ou non qui présentent une grande

² GPC : Gas Phase Chromatography ou Gas Chromatography (GC)

³ HPLC : High Performance Liquid Chromatography

⁴ FID : Flame Ionization Detector

⁵ NPD : Nitrogen Phosphorus Detector

⁶ ECD : Electron Capture Detector

⁷ MS : Mass Spectrometry

variété de structures chimiques. Les méthodes GC/MS permettent en effet l'identification et le dosage de centaines de composés dans des échantillons d'eaux d'origines variées grâce à un nombre restreint de protocoles standardisés d'extraction, de concentration et d'analyse [31]. De plus, les instruments commerciaux possèdent bien souvent des passeurs automatiques d'échantillons et des banques bien fournies de spectres par ionisation par faisceau d'électrons.

Cependant, dès le début du développement de la technique, il a été clair que d'autres méthodes à large spectre d'action sont nécessaires pour identifier en particulier les composés peu volatils [32]. En effet, la technique de dérivation qui consiste à convertir un composé peu volatil en son analogue stable et volatil pouvant être analysé par GC/MS est limitée du fait que, pour de nombreux composés, il n'existe pas de procédé de dérivation standardisé. La recherche de nouvelles méthodes de dérivation est fastidieuse et présente peu d'intérêt en raison de variations qualitatives des composés obtenus et des produits secondaires souvent rencontrés.

L'alternative la plus simple consiste à travailler en phase liquide au moyen de la chromatographie liquide haute performance.

B. La chromatographie liquide haute performance

La chromatographie liquide haute performance constitue une technique séparative très générale d'emploi où la seule restriction est que le composé à analyser soit soluble dans la phase mobile. Son vaste champ d'application recouvre la plus grande partie de la GPC [16] et permet également l'analyse de molécules thermosensibles, de masses moléculaires élevées et très polaires [15, 32]. L'utilisation de l'HPLC a ainsi permis la détection de nombreux composés importants en chimie de l'environnement [33].

Son principe repose sur le phénomène d'échange basé sur les coefficients d'adsorption et de partage entre la phase mobile et la phase stationnaire.

La détection s'effectue communément par mesure de l'absorbance (dans l'ultra-violet proche ou le visible) de la phase mobile à longueur d'onde fixée (détection monochromatique) [21] ou simultanément à plusieurs longueurs d'onde (barrette de diodes) [34]. D'autres types de détecteurs ont également été couplés à l'HPLC. On peut citer les détecteurs spectrofluorométriques ou réfractométriques, ou encore la détection

électrochimique [35]. Le couplage qui connaît à l'heure actuelle le plus fort développement est le couplage avec la spectrométrie de masse [36].

En effet, toujours pour des raisons de sensibilité et pour obtenir des informations structurales sur les composés détectés, de nombreuses interfaces HPLC/MS ont été développées [37]. Ces interfaces sont connues sous les appellations "APCI"⁸ [38], "thermospray", "moving belt", "FAB"⁹ à flux continu, "particle beam", "ionspray" et "électrospray" [33]. Elles permettent l'analyse d'échantillons en solution et se caractérisent par des taux de fragmentation limités [39]. C'est pourquoi elles sont souvent utilisées en conjonction avec la spectrométrie de masse en tandem [40, 41].

C. La chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (TLC¹⁰) est basée, tout comme l'HPLC sur la distribution des composés analysés entre une phase stationnaire et une phase liquide mobile. Là cependant s'arrête la similitude, car la TLC utilise d'autres phases et un contrôle cinétique différent du processus de séparation. De plus, alors que l'éluion est le mode de séparation de l'HPLC, la TLC utilise le développement. La TLC permet la séparation d'échantillons en parallèle, l'utilisation de phases stationnaires à usage unique, et la conservation de l'intégralité de l'échantillon (tout l'échantillon, et non pas seulement la portion éluee, se retrouve sur le chromatogramme). La TLC n'est pourtant pas applicable pour des échantillons volatils ou sensibles à l'air ou à la lumière [42].

La chromatographie sur couche mince peut sembler peu adaptée à l'analyse des pesticides (séparation moins efficace, dilution des composés sur des bandes larges). L'utilisation de phases micellaires permet néanmoins d'améliorer la réponse [43]. Mais ce n'est que depuis l'avènement des méthodes de gradients d'éluion automatisés qu'elle est devenue réellement compétitive avec les autres techniques. Cette méthode permet la refocalisation des bandes sur la plaque et donc une meilleure séparation avec des bandes plus concentrées permettant une meilleure sensibilité. Une méthode de criblage concernant plus de 260 pesticides couramment rencontrés dans les eaux a ainsi pu être développée [44]. Les auteurs de cet article ont utilisé une méthode de détection par scanner UV¹¹ à longueur d'onde variable mais ont évoqué la possibilité de détection par désorption laser couplée à la spectrométrie de masse.

⁸ APCI : Atmospheric Pressure Chemical Ionization

⁹ FAB : Fast Atom Bombardment

¹⁰ TLC : Thin Layer Chromatography

¹¹ UV : Ultra Violet

V. La désorption laser dans le contexte de l'analyse des pesticides

A. Principes de la désorption laser

La désorption / ionisation laser des molécules organiques a suscité un vif intérêt dans la communauté scientifique dès son apparition au début des années 70 [45]. Cet enthousiasme s'explique par les caractéristiques suivantes :

- possibilité d'analyser des échantillons non volatils ou thermolabiles ;
- possibilité d'analyse d'échantillons isolants ;
- grande liberté de choix dans les paramètres expérimentaux en raison de la diversité des sources laser disponibles ;
- possibilité de focalisation sur des surfaces très faibles, ce qui permet la microanalyse.

En dépit des progrès substantiels dans le domaine ces dernières années; aucune description unifiée de la nature et des caractéristiques du processus de désorption/ionisation laser n'a vu le jour. On en est réduit à une approche empirique du phénomène et la comparaison des différentes expériences est compliquée par la grande variété des dispositifs expérimentaux [46].

1. Les concepts généraux de la désorption/ionisation laser

De nombreux laboratoires se sont intéressés au processus de désorption / ionisation laser, mais souvent, des expériences différentes ont conduit à des explications variées des phénomènes observés. Ceci s'explique par la grande diversité des paramètres influants, ceux-ci étant au moins au nombre de 8 (voir tableau I.1)

Il a été fréquemment observé que les spectres de masse obtenus par désorption / ionisation laser présentent des similitudes avec ceux obtenus par d'autres techniques de bombardement telles que la spectrométrie de masse d'ions secondaires (SIMS¹²) ou le bombardement par des atomes rapides (FAB) [46, 47]. Cependant, même si le rayonnement photonique est énergétique, il n'exerce aucun effet mécanique direct sur la cible. Le processus primaire d'excitation est donc différent de celui des autres techniques de bombardement.

¹² SIMS : Secondary Ions Mass Spectrometry

Tableau I.1 : Paramètres influençant le processus de désorption/ionisation laser.

Paramètres du laser	Paramètres de la cible
Irradiance (densité de puissance)	Substrat
Longueur d'onde	Matrice
Durée de l'impulsion	Epaisseur
Angle d'incidence	Coefficient d'absorption

Le transfert ultra-rapide d'énergie (comme c'est le cas lors d'un impact laser) génère des populations de niveaux d'énergies fortement hétérogènes dans le solide. Il existe de nombreux régimes différents de relaxation et de redistribution de cette énergie excédentaire [47]

En règle générale, les observations concourent à proposer 4 grands types de phénomènes pour expliquer la désorption / ionisation laser :

1. les mécanismes thermiques ;
2. les phénomènes dits de "frontière" ;
3. les mécanismes d'onde de choc ;
4. les processus résonants.

Dans l'étude que nous avons menée, nous verrons qu'en fonction des échantillons, des longueurs d'onde et des régimes d'irradiance utilisés, l'un ou l'autre de ces phénomènes pourra être invoqué pour expliquer les caractéristiques des spectres obtenus.

2. Effet thermique et génération de neutres par désorption laser

D'après Van Vaeck et coll [46] l'effet thermique prédomine à faible irradiance lorsque la désorption est fonction de la température du substrat. Des expériences ont montré l'influence de la conductibilité thermique du substrat et de l'absorption de la cible dans l'ultraviolet. Il faut en effet moins d'énergie pour former des ions à partir d'un produit non absorbant déposé sur une cible métallique que pour le même produit sur un substrat de faible conductibilité thermique [48].

D'autres groupes ont montré que l'émission de neutres et d'ions se poursuit parfois pendant plusieurs millisecondes après l'impact laser, indiquant un processus plus

probablement thermique de redistribution de l'énergie absorbée [49, 50, 51]. D'autres phénomènes ne peuvent pour autant pas être complètement écartés comme nous le verrons par la suite.

Il est à noter que la libération de produits thermolabiles intacts à partir d'un solide n'est pas entièrement incompatible avec les hautes températures atteintes par le support lors de l'irradiation. En premier lieu, le profil spatial et temporel du laser engendre la création de points chauds et d'autres qui le sont moins. Mais c'est surtout le processus de chauffage extrêmement rapide qui favorise l'éjection de molécules intactes.

En effet, dire qu'un produit est thermolabile signifie que l'énergie d'activation du processus de désorption est supérieure à celle du processus de fragmentation : $E_a(\text{dés}) > E_a(\text{frag})$. Cependant la désorption peut être favorisée cinétiquement par rapport à la fragmentation à haute température. S'il existe une température à partir de laquelle :

$$k_{\text{dés}} e^{-\frac{E_a(\text{dés})}{RT}} > k_{\text{frag}} e^{-\frac{E_a(\text{frag})}{RT}} \quad (\text{avec } k_{\text{dés}} \text{ et } k_{\text{frag}} \text{ les constantes de vitesses})$$

alors la désorption de molécules intactes est favorisée à condition que cette température soit atteinte suffisamment rapidement [52].

Certains auteurs ont souligné les limitations du modèle de l'effet thermique car il est impuissant à rendre compte de bon nombre d'expériences [53, 54, 55].

3. Création d'une zone "frontière", réactions ion/molécule en phase gazeuse

Ce second modèle postule l'existence d'une zone "frontière" de très haute densité, proche de la surface de l'échantillon, où des interactions ont lieu entre les neutres et les ions codésorbés. Il est très probable que cette zone soit en non-équilibre thermodynamique c'est à dire qu'on ne peut en quantifier la température ou la pression à un instant donné [53].

En désorption / ionisation laser de molécules organiques, des ions de type $[M+X]^+$ (où X est un alcalin) sont souvent observés [48, 53]. Leur apparition peut être expliquée par ce modèle comme le montre la figure suivante. Au point le plus chaud, des ions

élémentaires sont produits (par exemple Na^+ et K^+). Il réagissent avec les molécules organiques désorbées à la couronne du point chaud par diffusion thermique et on observe la formation d'ions pseudo-moléculaires soit protonés $[\text{M}+\text{H}]^+$ soit cationisés $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ou $[\text{M}+\text{K}]^+$ [53]

En séparant la source d'ions alcalins de la source de neutres désorbés, on a pu observer que le processus décrit est possible. D'autres processus peuvent cependant se dérouler de façon concomitante.

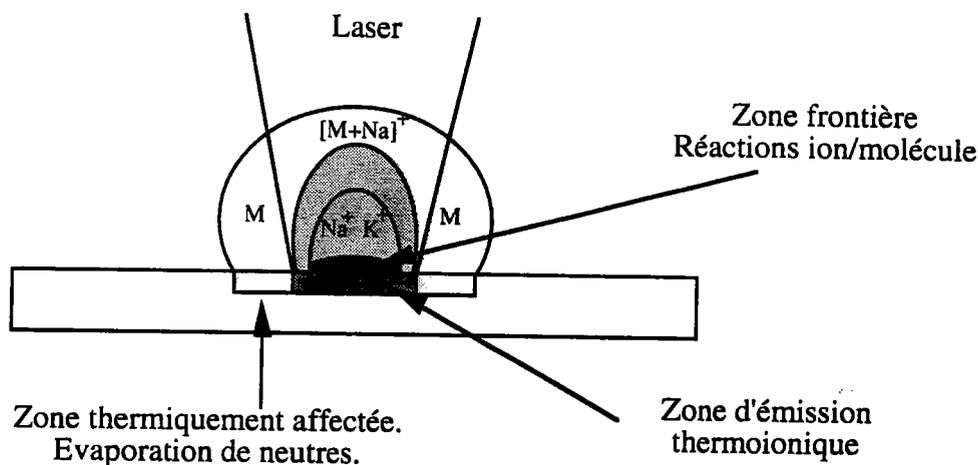


Figure I.3: Représentation schématique de la création d'une zone frontière.

Il existe des controverses concernant les ions primaires responsables de la cationisation. En effet, Hogan et coll [56] ont montré par désorption laser couplé à la spectrométrie de masse à transformée de Fourier que la formation de l'ion $[\text{M}+\text{K}]^+$ est favorisée par la présence d'ions $[\text{K}_2\text{Br}]^+$.

Dans la zone frontière, une chimie plus active que les simples cationisations peut se produire et différentes sortes d'agrégats ionisés peuvent être observés [46, 57].

4. *Processus d'onde de choc*

Ce modèle se caractérise par une ablation explosive de différentes espèces provenant de zones n'ayant pas subi l'impact laser. Ce phénomène se produit en un temps très court. C'est le cas notamment à haute densité de puissance ($> 10^{10} \text{ W cm}^{-2}$) lorsque la vitesse de chauffe excède 10^9 K.s^{-1} , température à laquelle on observe une "explosion de phase". Cette explosion génère une onde de choc qui parcourt le solide et éjecte de la matière particulaire de zones n'ayant pas subi l'irradiation. Ces particules n'étant

plus couplées au réseau, elles ne sont pas affectées par l'augmentation de température et peuvent être ionisées par différents processus (par exemple par collision avec des cations alcalins) [54].

Il est bien connu en thermodynamique que les phases condensées ne peuvent être chauffées que jusqu'à un point où la nucléation en vapeur homogène devient dominante par rapport à la nucléation hétérogène (évaporation) et où la phase dans son ensemble est transformée soudainement en vapeur [58]. Une estimation brute de cette température est $0,9 T_c$ où T_c est la température critique du matériau considéré. Ce phénomène appelé "explosion de phase" ou "décomposition spinodale" a été notamment invoqué pour expliquer l'ionisation par FAB [59]. Plus récemment, des simulations en dynamique moléculaire ont montré que ce processus est théoriquement possible lors de la désorption laser [60].

5. Phénomène de désorption/ionisation résonante

Le fait que la longueur d'onde d'irradiation est un paramètre déterminant en désorption / ionisation laser ne fait aucun doute [53, 61]. A deux longueurs d'onde, les caractéristiques du spectre de masse d'un composé sont différentes. Ainsi, Southon et coll. [62] ont montré que la désorption/ionisation laser de composés organiques à 532 nm génère des produits de dégradation semblables à ceux obtenus par pyrolyse. A 266 nm par contre, les spectres présentaient des informations structurales des molécules étudiées.

Lorsque la longueur d'onde du laser coïncide avec celle d'une transition électronique de la molécule cible, on observe [46] :

- une modification du rapport d'intensité entre les ions issus de la molécule intacte et les fragments, ces derniers devenant plus abondants ;
- une diminution de l'irradiance seuil nécessaire à l'ablation ;
- une augmentation de l'influence du paramètre irradiance.

Partant de ces constatations, Heinen [63] a proposé un mécanisme résonant par excitation électronique : Hors résonance, au dessus du seuil d'ablation, l'énergie du faisceau incident est essentiellement absorbée via des processus non linéaires, c'est à dire que le transfert d'énergie aux molécules cibles n'est pas proportionnel au flux incident. En mode résonant, au contraire, on peut avoir un transfert direct de l'énergie

photonique à la cible, bien que ce ne soit pas le processus prédominant. En fait, la plus grande partie de l'énergie est transférée au réseau par interactions excitons/phonons.

Une autre approche consiste à considérer le fait que les photons UV peuvent exciter les complexes (adsorbant)-(molécule adsorbée) vers des états antiliants [47]. Un mécanisme possible de relaxation est alors le départ du composé adsorbé. Cette approche a été appliquée avec succès dans le cadre du décapage de polymères organiques par des radiation UV [55, 64]. Dans le cadre de ce modèle, il est en effet possible d'expliquer l'ablation de polymères sans fusion ni effet thermique d'aucune sorte. Dans le volume irradié, les unités monomères sont supposées excitées instantanément vers un état antiliant et quitter le solide dans un ensemble cohérent. Les particules désorbées ont des distributions de vitesses orientées vers la normale à la surface.

L'investigation du processus de désorption par des électrons de basse énergie a permis de développer l'idée de la participation d'un état répulsif pour expliquer le mécanisme de désorption [65]. Si par interaction avec des électrons ou par absorption UV, la molécule adsorbée subit une transition électronique, l'état résultant peut être un état excité antiliant voire un état ionisé. D'après le principe de Frank-Condon, ces états ne sont pas dans leur configuration géométrique d'équilibre. Les composés adsorbés dans de telles configurations sont souvent dans une gamme répulsive du potentiel d'interaction avec la surface.

Dans la figure I.4, nous décrivons schématiquement le comportement du système suite à une excitation électronique. Si l'état antiliant est atteint, la particule adsorbée A subira un champ répulsif et s'éloignera de la surface M avec une énergie cinétique égale à $(E_x - E_a)$ où E_x et E_a sont respectivement les énergies d'excitation et d'adsorption. Si la surface d'énergie potentielle de l'état excité antiliant comporte une intersection avec la surface équipotentielle d'un état liant, des interactions croisées peuvent se produire et le départ du composé adsorbé peut être retardé (voir figure I.4). La désorption d'ions peut être observée dans le cas de l'excitation à des niveaux électroniques d'énergie encore supérieure généralement atteints par des processus multi-photoniques.

La particularité de ce modèle, qui ne fait pas intervenir d'effet thermique, est qu'il rend compte de la conversion de l'énergie électronique en énergie cinétique pour permettre le départ des composés adsorbés. Le résultat concernant les polymères est que l'on

n'observe aucune fusion de la cible et que des cratères très purs sont produits. Des calculs en simulation de dynamique moléculaire confirment la faisabilité de ce mécanisme lors de l'interaction laser-matière [64].

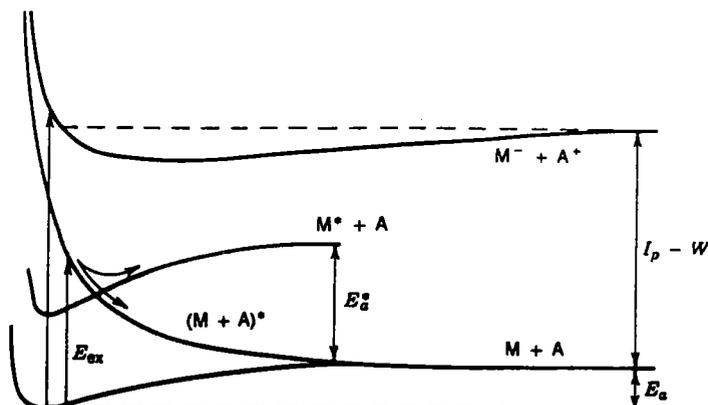


Figure I.4 : Représentation schématisée de la désorption induite par transition électronique lors de l'impact laser. Le composé A adsorbé sur une surface métallique M peut être excité vers un état répulsif. La relaxation vers l'état désorbé M+A peut être observée. Il peut néanmoins exister des configurations d'interactions entre des hypersurfaces du système $M^* + A$ qui retardent ou empêchent la désorption. Des niveaux excités supérieurs ou des processus à deux photons peuvent procurer assez d'énergie pour la désorption directe d'ions $(M+A^+)$. D'après [47].

D'autres phénomènes résonant peuvent également avoir lieu, par exemple la photoionisation ou l'excitation des neutres après désorption, ce qui peut éventuellement conduire à des réactions chimiques en phase gazeuse, ou encore à la photofragmentation directe des molécules cibles [47].

6. Les processus de formation des ions

L'origine des ions lors de l'interaction laser matière est le sujet d'un débat continu au sein de la communauté scientifique. D'après les expériences réalisées en post-ionisation, il est clair cependant que le degré d'ionisation dans le panache formé suite à l'impact laser est très faible [66]. Les calculs de température montrent également l'impossibilité d'une ionisation purement thermique car les températures requises conduiraient à la fragmentation des ions des composés organiques [47]. La protonation et la formation d'autres adduits doivent plutôt être considérées comme les principales sources d'ions [56]. Ces processus peuvent être considérés en termes de volatilisation

d'ions préformés ou de formation des ions en phase gazeuse. Les particules qui sont déjà dans leur forme ionisée en phase solide (ions préformés) sont susceptibles de donner plus facilement des ions en phase gazeuse.

Les mécanismes de formation des ions peuvent être classés suivant le site de formation de l'ion et le processus invoqué. Certains solides moléculaires sont en effet constitués d'ions associés. L'acide nicotinique par exemple se présente en phase solide comme un assemblage de dimères dont la cohésion est maintenue par des charges partielles opposées [47]. Les défauts et les impuretés sont également des sources de particules ionisées. L'état de surface et l'adsorption elle-même peuvent favoriser l'ionisation en procurant des ions préformés.

Cependant, les processus en phase gazeuse peuvent également être efficaces pour produire des espèces ionisées : Les interactions avec des électrons et les réactions ion-molécule sont envisageables. Les processus photoniques peuvent également se produire avec les lasers UV. En effet, deux photons de longueur d'onde 266 nm (laser Nd YAG¹³ quadruplé) procurent assez d'énergie pour ioniser la plupart des molécules organiques.

Muller et coll. [67] ont observé une diminution importante de l'irradiance seuil de production des ions moléculaires de certains hydrocarbures aromatiques polycycliques lorsque la longueur d'onde du laser d'ionisation passe de 286,5 nm à 225,7 nm. Ils invoquent un processus biphotonique en phase solide pour expliquer ce phénomène. D'autre part, une augmentation de la sensibilité pour un composé donné dans une matrice complexe a été observée lors de l'utilisation d'une longueur d'onde accordée à une bande d'absorption du composé à analyser. Des accroissements intenses des taux d'ionisation sont ainsi constatés [68, 69].

Il est clair que de nombreux travaux sont encore nécessaires pour comprendre les mécanismes de formation des ions de molécules organiques.

B. Exemples d'application de la désorption laser à l'analyse des pesticides

Contrairement à bon nombre de techniques, la désorption laser n'a pas fait l'objet d'une large évaluation quand à ses capacités de répondre aux critères de l'analyse des

¹³ Nd-YAG : Neodymium-Yttrium Aluminium Garnet

pesticides. Pourtant, les applications dans le domaine de l'analyse organique se développent rapidement, et les quantités mises en jeu sont parfaitement compatibles avec l'analyse de traces.

On peut citer quelques tentatives d'analyse "in situ" de pesticides sur des tissus végétaux par désorption laser directe des résidus de pesticides nébulisés sur des feuilles [70, 71]. D'autres expériences ont été effectuées pour déterminer la réponse de certains pesticides à l'irradiation laser, notamment les ions fragments et les agrégats observés pour les chlorodiaminotriazines ont été répertoriés [72]. Dans tous ces travaux, c'est la microsonde laser couplée à la spectrométrie de masse à temps de vol qui a été utilisée. La longueur d'onde du laser Nd-YAG quadruplé (266 nm) a été préférée dans les trois cas pour des raisons d'ordre pratique.

Des tentatives originales de couplage entre la chromatographie sur plaque et la chromatographie en phase gazeuse par désorption laser ont été proposées. Par exemple, dans des travaux de Zhu et coll [73], des plaques de chromatographies ont été soumises à des impacts laser (1000 impacts, longueur d'onde 308 nm) suivis par un entraînement des composés désorbés vers un GC à détecteur ECD. Les pesticides lindane, dieldrin, DDT¹⁴ et metoxychlor ont été séparés et détectés avec succès.

VI. Spectrométrie de masse pour l'analyse des pesticides

La spectrométrie de masse a pris depuis quelques années une place croissante parmi les techniques d'analyse des pesticides. Utilisée à l'origine comme méthode de validation, elle devient une méthode de dosage à part entière depuis l'avènement des couplages avec les méthodes chromatographiques et l'utilisation de méthodes d'ionisation douce. Ceci fait dire à certains auteurs que le couplage GC/MS est le meilleur outil analytique pour l'identification et le dosage de traces dans des matrices complexes [74].

La spectrométrie de masse est bien adaptée à ce type d'analyses car elle permet d'obtenir des informations structurales sur les molécules détectées ce qui n'est pas possible avec les autres détecteurs. De plus, elle est très sensible et sa reproductibilité est excellente [75]. Ces avantages ont suscité de nombreux travaux afin de pouvoir la

¹⁴ DDT : Dichloro Diphenyl Trichlorethan

coupler avec les méthodes de séparations chromatographiques. Si le couplage avec la GPC s'avère relativement aisé, il n'en est pas de même en ce qui concerne l'HPLC. Il suffit de voir le nombre d'interfaces qui ont été mises au point pour avoir une idée de l'intérêt que suscite la spectrométrie de masse dans le contexte de l'analyse des résidus de pesticides [37].

En effet, le spectre de masse (en ionisation par faisceau d'électrons) complet d'une substance en constitue une empreinte facilement identifiable et quasiment unique. Ainsi, par comparaison des spectres de masse avec ceux d'un standard connu, il est possible d'identifier un composé donné avec une faible incertitude. On considère en principe avoir détecté le composé si les intensités relatives varient de moins de 5% par rapport au standard [3].

En analyse de traces, cependant, l'utilisation des spectres complets s'avère parfois impossible en raison de la présence d'un grand nombre de composés indésirables qui produisent un bruit de fond important. Pour remédier à ce problème, on travaille le plus souvent en se focalisant sur un petit nombre d'ions appartenant au composé que l'on recherche [30]. Il est apparu que le nombre d'ions minimal nécessaire à une identification doit être d'au moins trois. De plus, leurs intensités relatives doivent différer de moins de 5% de celles obtenues à partir d'un standard analysé dans les mêmes conditions. La comparaison des temps de rétention constitue une confirmation supplémentaire de l'identité du composé [3].

Pour le dosage, par contre, il est préférable de ne considérer qu'un seul ion caractéristique et d'en mesurer les variations d'intensité. En règle générale, on choisit le pic moléculaire afin d'éviter au maximum les interférences que l'on retrouve principalement dans la gamme des faibles masses. Ceci explique l'intérêt pour les méthodes d'ionisation douce (ionisation chimique, FAB, ESI¹⁵, PDMS¹⁶) qui engendrent une faible fragmentation et permettent ainsi une meilleure sensibilité [76, 77]. Cet avantage peut devenir un inconvénient pour l'identification des substances. C'est pourquoi, depuis quelques années, on s'intéresse tout particulièrement à la spectrométrie de masse en tandem qui permet de combiner la sensibilité des méthodes d'ionisation douces, et la possibilité d'avoir des informations structurales [41, 78]. Dans ce contexte, les méthodes dites "en tandem dans le temps" [Spectrométrie de masse par résonance cyclotronique à transformée de Fourier (FT-ICR-MS) , Piège quadripolaire]

¹⁵ ESI : Electrospray Ionization

¹⁶ PDMS : Plasma Desorption Mass Spectrometry

sont actuellement évaluées [75, 79]. En effet, ces méthodes permettent de réaliser l'analyse de plusieurs générations d'ions successivement.

La FTMS a été peu utilisée dans le domaine de l'analyse des pesticides, néanmoins on peut citer une application originale d'un couplage GC/IR¹⁷/FTMS [80]. Dans ce travail, les auteurs ont mis à contribution la grande précision en masse de l'appareil afin d'identifier des composés à partir de leur masse monoisotopique. En effet, contrairement à d'autres spectromètres de masse, la FTMS donne des masses précises à quelques ppm¹⁸ près, et des algorithmes de calculs de formule moléculaire trouvent toute leur utilité pour reconnaître les ions détectés.

VII. Conclusion

Les pesticides sont présents à l'état de trace dans l'environnement. Pour les analyser, la législation réclame des méthodes de plus en plus sensibles et de plus en plus fiables.

L'analyse des pesticides nécessite en amont une étape de préconcentration. L'extraction liquide/solide est une méthode qui a gagné une reconnaissance accrue ces dernières années et qui est proposée par les instances gouvernementales comme alternative à l'extraction liquide/liquide.

L'analyse des pesticides repose principalement sur les méthodes chromatographiques. Le couplage de ces méthodes avec la spectrométrie de masse est très prisé en raison de sa sensibilité et des informations structurales qui sont ainsi disponibles. Dans une optique d'amélioration de la sensibilité, les techniques d'ionisation douce sont actuellement testées pour ces couplages. Ces techniques nécessitent souvent d'avoir recours à la spectrométrie de masse en tandem pour obtenir des informations structurales.

Dans ce contexte, nous avons testé la faisabilité de la désorption laser couplée à la spectrométrie de masse pour l'étude de pesticides adsorbés sur membranes d'extraction. La microsonde laser spectromètre de masse à transformée de Fourier dont est équipé le laboratoire répond en effet aux objectifs de sensibilité et sa précision en masse permet d'identifier les ions détectés même avec le minimum de fragmentation.

¹⁷ IR : Infrared

¹⁸ ppm : partie par million

Bibliographie

- [1] extrait de The New Encyclopaedia Britannica, Encyclopaedia Britannica, Inc., London, 1973-1974, p.139-149
- [2] Kupchella, C.E. et Hyland, M.C. extrait de "Environmental Science - Living within the System of nature", Allyn and Bacon, Inc., Boston **1986** p.402-426.
- [3] Cairns, T. et Baldwin, R. A. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 552A-557A.
- [4] Carbonnier, F.; Prados, M. et Scanlan, F.P. *Communications personnelles*
- [5] Sherma, J. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 118R-130R.
- [6] Brewster, J.D. et Lightfield, A.R. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 2415-2419.
- [7] Pilette, J.F. et Pease, C. *Biofutur* **1993**, *Decembre*, 59-64.
- [8] Pichon, V.; Chen, L.; Hennion, M.C.; Daniel, R.; Martel, A.; Le Goffic, F.; Abian, J. et D. Barcelo *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 2451-2460.
- [9] Onuska, F.J. *J. High Resol. Chromatogr.* **1989**, *12*, 4-11.
- [10] Durand, G. et Barcelo, D. *Toxicol. Environ. Chem.* **1989**, *25*, 1-11.
- [11] Majors, R.J. *LC•GC Int.* **1995**, *8*, 128-133.
- [12] Carisano, A. et Rovida, C. *LC•GC Int.* **1995**, *8*, 334-337.
- [13] Caractérisation des s-triazines résiduelles dans les sols *HP.PIC* **1990**, *été*, 4-5.
- [14] Rostad, C.E.; Periera, W.E. et Ratcliff, S.M. *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 2856-2860.
- [15] Capiello, A.; Famiglini, G. et Bruner, F. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1416-1423.
- [16] Molina, C.; Honing, M. et Barcelo, D. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 4444-4449.
- [17] Junk, G.A. et Richard, J.J. *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 451-454.
- [18] Godwin, S.; Brighton, M. et Watson, J. *Analysis Europa* **1995**, *Feb.*, 40.
- [19] "New **Empore**TM Extraction Disks with BAKERBOND bonded phase". 3M Document commercial.
- [20] Larrivee, M.L. et Poole, C.F. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 139-146.
- [21] Caire, J.C.; Nore, C.; Lagain, D. et Chevalier, R. extrait de "*Methodological aspects of the study of pesticide behaviour in soil*"; Versailles, **1988**;
- [22] Senseman, S.A.; Lavy, T.L. et Mattice, J.D. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 3064-3068.
- [23] Néliou, S. Thèse de l'INP de Toulouse, 14 juin **1994**.
- [24] Dorsey, J.G.; et Cooper, W.T. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 857A-867A.
- [25] Marvin, C.H.; Brindle, I. D.; Hall, C.D. et Chiba, M. *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 1495-1498.
- [26] Lepper, H. *International Laboratory News* **1996**, *October*, 18E.
- [27] Cai, Z.; Ramanujam, V.M. S.; Giblin, D.E.; Gross, M.L. et Spalding, R.F. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 21-26.
- [28] Lopez-Avila, V.; Hirata, P.; Kraska, S.; Flanagan, M.; Taylor, J.H. Jr. et Hern, S.C. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 2797-2801.
- [29] Blomkvist, G. "GC/MS in the Swedish Pesticide Monitoring Programme". Poster présenté au 13th IMSC, Budapest, **1994**

- [30] Fillion, J. *HP. PIC* **1996**, *1*, 2-3.
- [31] Dreyfuss, M.F.; Lotfi, H.; Marquet, P.; Debord, J.; Daguer, J.L. et Lachâtre. G. *Analisis* **1994**, *22*, 273-280.
- [32] Bellar, T.A. et Budde, W.L. *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 2076-2083.
- [33] Lin, H.Y. et Voyksner, R. D. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 451-456.
- [34] Lagana, A.; Marino, A.; Fago, G. et Martinez, B.P. *Analisis* **1994**, *22*, 63-69.
- [35] Anderson, J. L.; Whiten, K. K.; Brewster, J.D.; Ou, T.Y. et Nonidez, W.K. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 1366-1373.
- [36] Barcelo, D.; Durand, G.; Vreeken, R.J.; de Jong, G.J. et Brinkman, U.A.Th. *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 1696-1700.
- [37] Covey, T.R.; Lee, E.D.; Bruins, A. P. et Henion, J.D. *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1451A-1461A.
- [38] Duffin, K.L.; Wachs, T. et Henion, J.D. *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 61-68.
- [39] Barnes, K.A.; Fussell, R. J.; Startin, J.R.; Thorpe, S.A. et Reynolds, S.L. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 1441-1445.
- [40] Arnold, S. M.; Talaat, R. E.; Hickey, W. J. et Harris, R.F. *J. Mass Spectrom.* **1995**, *30*, 452-460.
- [41] Nelieu, S.; Stobiecki, M.; Kerhoas L. et Einhorn, J. *Rapid Comm. Mass Spectrom* **1994**, *8*, 945-952.
- [42] Poole, C.F. et Poole, S. K. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 27A-37A.
- [43] Armstrong, D.W. et Terrill, R. Q. *Anal. Chem.* **1979**, *51*, 2160-2163.
- [44] Butz, S. et Stan, H. J. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 620-630.
- [45] Vastola, F. J. ; Mumma, R.O. et Pirone, A.J. *Org. Mass. Spectrom.* **1970**, *3*, 101-104.
- [46] Van Vaeck, L.; Van Roy, W.; Gijbels, R. et Adams, F. extrait de "*Laser Ionization Mass Analysis*" Chemical Analysis Series, Ed. Vertes, A.; Gijbels, R. et Adams, F.; Vol. 124, John Wiley & Sons, Inc., New York, **1993** p.177-319.
- [47] Vertes, A. et Gijbels, R. extrait de "*Laser Ionization Mass Analysis*" Chemical Analysis Series, Ed. Vertes, A.; Gijbels, R. et Adams, F.; Vol. 124, John Wiley & Sons, Inc., New York, **1993** p.127-175.
- [48] Van der Peyl, G. J. Q. ; Haverkamp, J. et Kistmaker, P.G. *Int. J. Mass Spectrom. Ion. Phys.* **1982**, *47*, 125-141.
- [49] Tabet, J. C. et Cotter, R.J. *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 1662-1667.
- [50] Zakett, D. ; Schoen, A.E.; Cooks, R.G. et Hemberger, P.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 1295-1297.
- [51] Van Breemen, R. S.; Snow, M.; Cotter, R.J. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* **1973**, *49*, 35-50.
- [52] Daves, G. D. *Acc. Chem. Res.* **1979**, *12*, 359-365.
- [53] Muller, J.F. *Spectra 2000* **1987**, *15*, 23-30.
- [54] Linder B.; et Seydel, U. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 895-899.
- [55] Garrison, B. J. et Srinivasan, R. *Appl. Phys. Lett.* **1984**, *44*, 849-851.
- [56] Hogan, J.D.; et Laude, D.A.Jr. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 2105-2109.

- [57] Cromwell, E.F.; Reihs, K.; de Vries, M.S.; Ghaderi, S.; Wendt, H.R. et Hunziker, H.E. *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 4720-4728.
- [58] Von Allmen, M. extrait de "Laser-ablation of Electronic Materials, Basic Mechanisms and Applications" Ed. Fogarassy, E. et Lazare, S. , Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, **1992** p.55-59.
- [59] Vestal, M. *Mass Spectrom. Rev.* **1983**, *2*, 447-480.
- [60] Shiea, J. et Sunner, J. *Proc. 38th ASMS Conf. Mass Spectrom. Applied Top.* Tuscon, Arizona **1990**, 166-167.
- [61] Karas, M.; Bachmann, D. et Hillenkamp, F. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 2935-2939.
- [62] Southon, M. J. ; With, M.C.; Harris, A.; Wallach, E.R. et Myatt, J. *Vacuum* **1984**, *34*, 903-909.
- [63] Heinen, H. J. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1981**, *38*, 309-322.
- [64] Garrison, B. J. et Srinivasan, R. *J. Appl. Phys.* **1985**, *57*, 2909-2914.
- [65] Antoniewicz, P. K. *Phys. Rev. B* **1980**, *21*, 3811-3815.
- [66] Amster, I.J. ; Land, D.P. ; Hemminger, J.C. et McIver, R.T.Jr. *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 184-186.
- [67] Muller, J.F. ; Krier, G. ; Verdun, F. ; Lamboule, M. et Muller, D. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1985**, *64*, 127-138.
- [68] Verdun, F.R ; Krier, G. et Muller, J.F. *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 1383-1387
- [69] Maunit, B. ; Hachimi, A. ; Manuelli, P. ; Calba, P.J. et Muller, J.F. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes.* sous presse.
- [70] Brinen, J.S.; Los, M.; Kelland,D. et Wallach, E.R. *Surface and Interface Analysis* **1988**, *11*, 559-562.
- [71] Morelli, J.J. et Hercules, D. M. *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1294-1298.
- [72] Giardini-Guidoni, A.; Mele, A.; Pizzella, G. et Teghil, A.R. *Org. Mass Spectrom.* **1991**, *26*, 779-785.
- [73] Zhu, J. et Yeung, E. S. *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1906-1910.
- [74] Poole, C.F. ; *LC•GC Int.***1995**, *9*, 274-276.
- [75] Cairns, T.; Luke, M.A.; Chiu, K.S.; Navarro,D. et Siegmund, E.G. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1993**, *7*, 1070-1076.
- [76] Bourcier, S.; Hoppilliard, Y. et Kargar, T. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 1213-1223.
- [77] Caldwell, K.A.; Ramanujam, V.M.S.; Cai, Z.; Spalding, R.F. et Gross, M.L. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 2372-2379.
- [78] Yinon, J. *Rapid Comm. Mass Spectrom.***1995**, *9*, 532-536.
- [79] Cairns, T.; Chiu, K. S.; Navarro, D. et Siegmund, E.G. *Rapid Comm. Mass Spectrom* **1993**, *7*, 971-988.
- [80] Laude, D.A. Jr.; Johlman, C. L.; Cooper, J.R. et Wilkins, C.L. *Anal.Chem.* **1985**, *57*, 1044-1049.

Chapitre II : Matériels et méthodes

I. Introduction

Le but de ce travail est d'étudier la faisabilité du couplage d'un procédé de préconcentration des pesticides (l'extraction en phase solide) avec la désorption laser directe des composés extraits suivie de leur analyse par spectrométrie de masse à transformée de Fourier (LD/FTMS). Cette nouvelle approche a été abordée car il s'avère que, dans certains cas, la rétention des pesticides sur membranes est irréversible. Nous allons exposer ici les matériaux étudiés et les différentes techniques qui ont été mises en oeuvre dans le cadre de ce projet. Les principales étapes sont résumées dans le diagramme suivant :

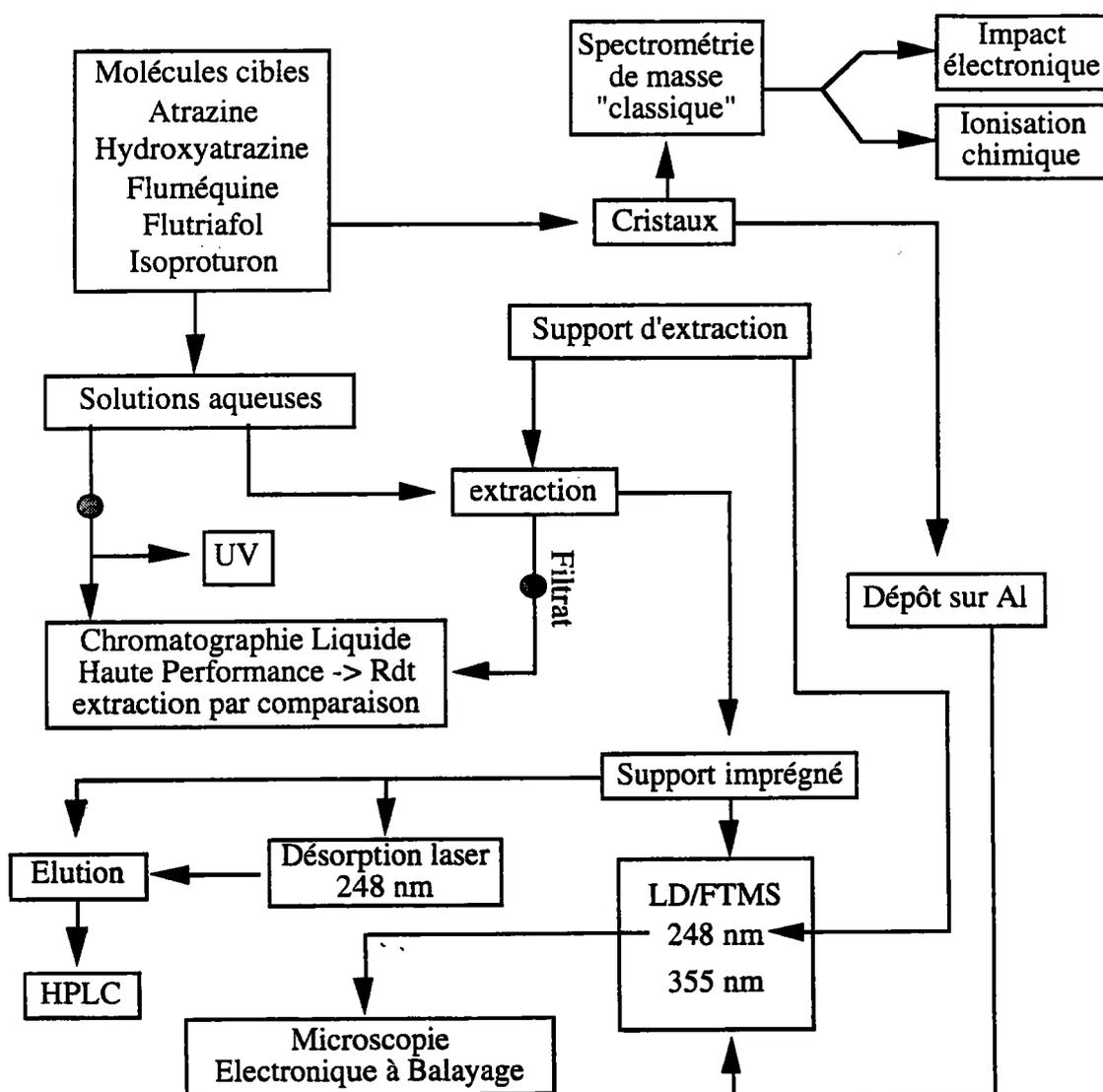


Figure II.1 : Diagramme expérimental de l'étude de la désorption laser FTMS sur membranes d'extraction.

Les molécules ont tout d'abord été étudiées sous forme de standards. Pour ce faire, des cristaux ont été analysés par spectrométrie de masse classique (ionisation par faisceau d'électrons, ionisation chimique) afin de déterminer leur fragmentation. De même, l'étude de ces composés standard par désorption laser FTMS a été entreprise pour évaluer leur réponse ainsi que les paramètres optimaux nécessaires à leur détection. Les rendements de rétention sur supports d'extraction en phase solide ont été évalués par chromatographie liquide haute performance (détecteur à barrette de diodes) par comparaison des chromatogrammes des solutions mères et des filtrats obtenus après leur passage sur support d'extraction. Les spectres d'absorption UV ont été acquis pour une meilleure compréhension des spectres de masse par désorption laser. Les interférences possibles dues aux membranes d'extraction par désorption laser ont également été évaluées. De plus, l'observation de membranes au microscope électronique à balayage (MEB) a permis d'avoir un aperçu de la profondeur d'ablation en fonction de l'irradiance utilisée. Enfin, les supports d'extraction chargés de pesticides ont été analysés par désorption laser couplée à la FTMS pour évaluer la faisabilité de la méthode.

Dans un premier temps, nous évoquerons les différents pesticides auxquels nous nous sommes attachés. Nous verrons ensuite en détail la procédure d'extraction et la détermination des rendements de rétention par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Nous aborderons alors les techniques d'analyse qui ont servi à la caractérisation du processus de désorption laser : la microscopie électronique à balayage, la spectrométrie de masse par désorption thermique / ionisation par faisceau d'électrons ou ionisation chimique ainsi que la microsonde laser FTMS. Cette dernière technique sera développée en détail dans le chapitre suivant consacré au couplage de la désorption laser et de la FTMS.

II. Molécules et solvants

Ce travail a été initié dans le cadre d'une collaboration avec l'INRA de Versailles portant sur les composés de dégradation de l'atrazine par ozonation. Les premiers essais ont été effectués sur l'atrazine et l'un de ses métabolites l'hydroxyatrazine. Les résultats obtenus nous ont amenés à tester la réponse d'un ensemble d'autres composés très différents sélectionnés suivant plusieurs critères de caractéristiques physico-chimiques : la fluméquine, le flutriafol et l'isoproturon.

A. Pesticides étudiés

Les pesticides étudiés et leurs caractéristiques physico-chimiques sont regroupés dans le tableau suivant.

Tableau II.1 : Caractéristiques des composés étudiés.

Nom d'usage	Atrazine	Hydroxy-atrazine	Fluméquine	Isoproturon	Flutriafol
Masse molaire (g/mol)	215,69	197,24	261,25	206,29	301,3
Solubilité dans H ₂ O (µg/ml)	28 *	5,9 (pH 7) [†] 226 (pH 3) [†]	14‡	55 *	130 *
Température de fusion (°C)	173-175 †	>310 [†]	N.D. ^a	155-156 *	130 *
Pression de vapeur saturante (Pa)	4 10 ⁻⁵ † (20°C)	N.D.	N.D.	3,3 10 ⁻⁶ * (25°C)	4 10 ⁻⁷ * (20°C)
log P _{oct} ^b	2,21-2,75 [†]	1,41-1,75 [†]	1,47	2,25 *	2,3

a. N.D. non disponible. b. P_{oct} : coefficient de partage octanol-eau.

* Source The pesticide manual, Ed. Worthing, British crop protection council, Croydon, GB, 6^{ème} édition, 1979

† Source S. Nélieu, Thèse de l'INP Toulouse, 14/06/1994.

‡ Source J.C. Thoisy-Dur et coll. Methodological aspects of the study of pesticides behavior in soil, INRA Versailles, June 16-17 1988

1. *L'atrazine*

L'atrazine (2-chloro-4-(éthylamino)-6-(isopropylamino)-s-triazine) représentée figure II.2 est un herbicide largement utilisé tant aux USA qu'en Europe. Ce composé est apparu comme l'un des principaux polluants trouvés dans les eaux souterraines et de surface et l'on tend à en limiter l'emploi depuis 1992. Étant donné que l'atrazine est un composé éventuellement cancérigène [1], la décontamination des sols et des eaux souillés est une priorité pour les instances gouvernementales.

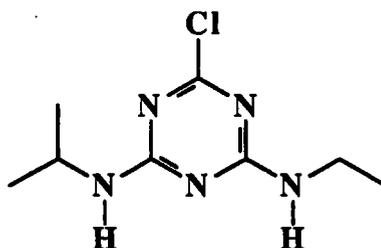


Figure II.2 : Atrazine (2-chloro-4-(éthylamino)-6-(isopropylamino)-s-triazine). Masse molaire : 215,69 g/mol.

De nombreux procédés chimiques ou biologiques ont été examinés pour le traitement des sols et des eaux contaminés. Parmi ces méthodes, les méthodes chimiques basées sur l'oxydation par des radicaux ($\cdot\text{OH}$) sont les plus rapides. Cependant, cette approche ne permet pas la minéralisation totale des composés mais engendre l'accumulation de produits de dégradation dont la toxicité peut être similaire à celle du composé de départ [1]. C'est pourquoi, l'identification de ces composés est essentielle pour évaluer les performances des traitements de décontamination.

L'atrazine (pureté > 98%) que nous avons utilisée provient de chez Promochem (Strasbourg, France). Elle a été employée sans purification préalable.

2. L'hydroxyatrazine

L'hydroxyatrazine (pureté 99,9%) a été obtenue chez Promochem (Strasbourg, France) et a été utilisée sans purification préalable. La figure suivante représente sa formule développée :

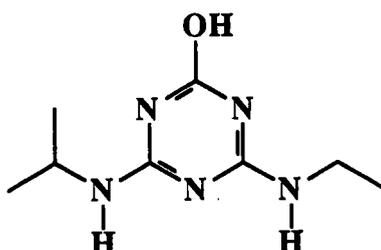


Figure II.3 : Hydroxyatrazine (2-(éthylamino)-4-hydroxy-6-(isopropylamino)-s-triazine).
Masse molaire : 197,24 g/mol.

L'hydroxyatrazine (2-(éthylamino)-4-hydroxy-6-(isopropylamino)-s-triazine) est un des produits de dégradation de l'atrazine (voir figure II.4).

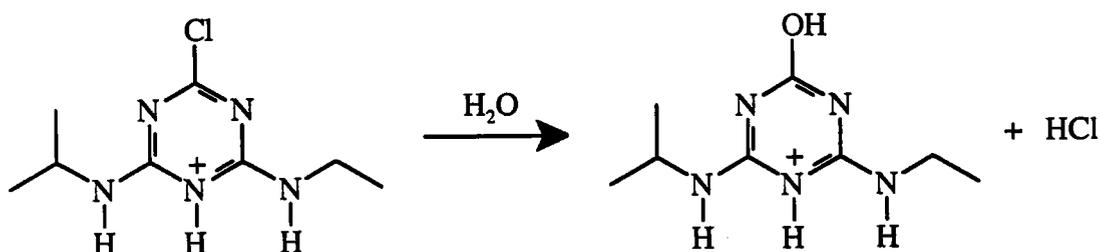


Figure II.4 : Mécanisme de dégradation de l'atrazine en hydroxyatrazine.

Cette dégradation est catalysée par l'acidité des sols. En effet, l'établissement d'une liaison hydrogène avec un azote du cycle augmente la déficience en électron du carbone portant le chlore, ce qui favorise l'attaque nucléophile de H₂O.

3. La fluméquine

La fluméquine (pureté 99.85%), {[1*H*,5*H*] - (6, 7- dihydro -9- fluoro -5- methyl -1- oxo) benzo[*i,j*]-quinolizine -2- carboxylic acid} a été fournie par Cluzeau (Ste Foy la Grande, France) et a été utilisée telle quelle.

La fluméquine est un antibiotique utilisée contre le "feu bactérien" causé par la bactérie *Erwinia Amylovora*. Cette bactérie cause un dessèchement des fleurs des pomoïdae fruitières (poirier, pommier, cognassier...) et ornementales (aubépine, pyracantha, ..). Le dépérissement s'étend rapidement et conduit à la destruction partielle ou totale de l'arbre [2]. La fluméquine est utilisée de façon préventive sur les arbres susceptibles d'être contaminés. Elle présente la particularité d'être très fortement fixée dans les sols [3]. La figure suivante représente sa formule développée.

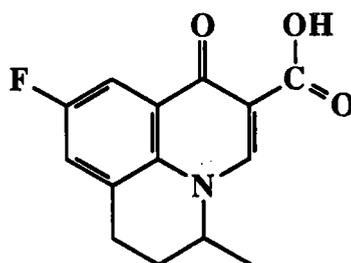


Figure II.5 : Fluméquine {[1*H*,5*H*] - (6, 7- dihydro -9- fluoro -5- methyl -1- oxo) benzo[*i,j*]-quinolizine -2- acide carboxylique} Masse molaire : 261,25 g/mol.

4. L'isoproturon

L'isoproturon (99.9%), [3-(4-isopropylphenyl)-1, 1-diméthylurée] a été fourni par Riker/3M (Pithiviers, France). Il s'agit d'un herbicide très employé dérivé de la phénylurée. Utilisé en pré- ou post-émergence, il permet le contrôle des herbes annuelles (*Alopecurus myosuroides*, *Apera spica-venti*, *Avena fatua* et *Poa annua*) ainsi que les mauvaises herbes à feuilles larges dans les cultures d'orge, de froment et de seigle [4]. Il pénètre dans la plante par les racines et, véhiculé par la sève, s'accumule dans les feuilles où il inhibe la photosynthèse. L'isoproturon a été utilisé sans purification préalable. Sa formule développée est représentée figure II.6.

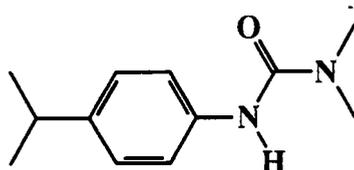


Figure II.6 : Isoproturon [3-(4-isopropylphenyl)-1, 1-diméthylurée]. Masse molaire : 206,29 g/mol.

5. *Le flutriafol*

Le flutriafol (92.8%), [(RS) -2,4'- difluoro - α - (1H-1,2,4-triazole-1-ylmethyl) alcool benzhydryl] a été obtenu chez Promochem (Strasbourg, France) et a été utilisé tel quel. Il s'agit d'un fongicide dérivé du conazole, inhibiteur de la déméthylation des stéroïdes [4]. Sa formule est la suivante :

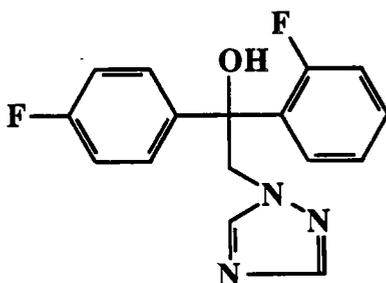


Figure II.7 : Flutriafol [(RS)-2,4'-difluoro- α -(1H-1,2,4-triazole-1-ylmethyl)]. Masse molaire : 301,30 g/mol.

B. Les solvants

Toutes les solutions aqueuses ont été préparées à partir d'eau "ultra-pure" (résistivité environ 16 M Ω /cm) obtenue par un système Elgagast UHP (Elga, Angleterre). L'eau, au préalable osmosée, y est purifiée par échange d'ions (anions et cations) puis passage sur charbon actif, et conservée sous UV. Pour comparaison, l'eau distillée classique a une résistivité de l'ordre de 0,3 M Ω /cm et l'eau déminéralisée de 1 à 10 M Ω /cm.

Le méthanol (Prolabo, Paris, France) utilisé pour le conditionnement des phases C₁₈ était de qualité pour analyse (pureté > 99,8%).

III. Extraction en phase solide et estimation des rendements de rétention

A. Extraction en phase solide

En règle général, on entend par extraction, la séparation d'un produit physi- ou chimi-sorbé sur un support à l'aide d'un éluant (liquide ou gazeux). Dans notre cas, puisque l'analyse par désorption laser se fait directement sur des produits adsorbés, nous parlerons indifféremment d'extraction ou de rétention pour décrire l'étape d'isolement du composé sur la phase greffée.

1. Choix de la phase greffée

Les extractions de pesticides ont été réalisées à l'INRA de Versailles. Diverses phases greffées sont disponibles dans le commerce. Dans des travaux antérieurs, S. Néliu [5] a comparé les rendements de rétention de l'atrazine et de certains de ses métabolites sur des phases greffées C₁₈, C₈, C₂, cyclohexyle, cyanopropyle et phényle. Elle a ainsi pu établir que la phase C₁₈ est la mieux adaptée au type d'étude que nous nous proposons de mener, cette phase a donc été sélectionnée dès le départ. Deux types de supports ont été testés, des cartouches et des disques d'extraction. Il s'est avéré que les disques sont les mieux adaptés pour l'usage que nous en faisons.

2. Protocole d'extraction

Les solutions mères pour extraction sont préparées en dissolvant sous ultrasons 10 mg de chaque composé dans 1 litre d'eau "ultra-pure". Ces solutions sont ensuite filtrées sur filtre de nitrocellulose (Millipore) avant d'être diluées pour obtenir les concentrations désirées dans la gamme 1 mg/100 ml à 0,1 µg/100 ml. Environ 1 ml de chaque dilution est prélevé pour analyse HPLC. Les extractions sont réalisées à partir de 100 ml de solution diluée. Après extraction, le filtrat est analysé par HPLC pour contrôler le taux de rétention par comparaison avec la solution initiale. Une série d'expérience sur l'hydroxyatrazine a été effectuée sans filtration préalable de la solution mère et a révélé l'importance de cette étape.

Les membranes utilisées sont des disques "Empore" commercialisés par la société 3M (St Paul, MN, USA). Elles se présentent comme des disques flexibles de diamètre variable (25 mm ou 50 mm), de 500 µm d'épaisseur, constitués de particules

adsorbantes de 8 μm de diamètre immobilisées dans un réseau très dense de microfibrilles de poly-tetra-fluoro-éthylène (Téflon). Le rapport phase/Téflon est typiquement de 90% en poids [6].

Le protocole d'extraction basé sur les recommandations du fabricant [6] est décrit ci-après (voir figure II.8) :

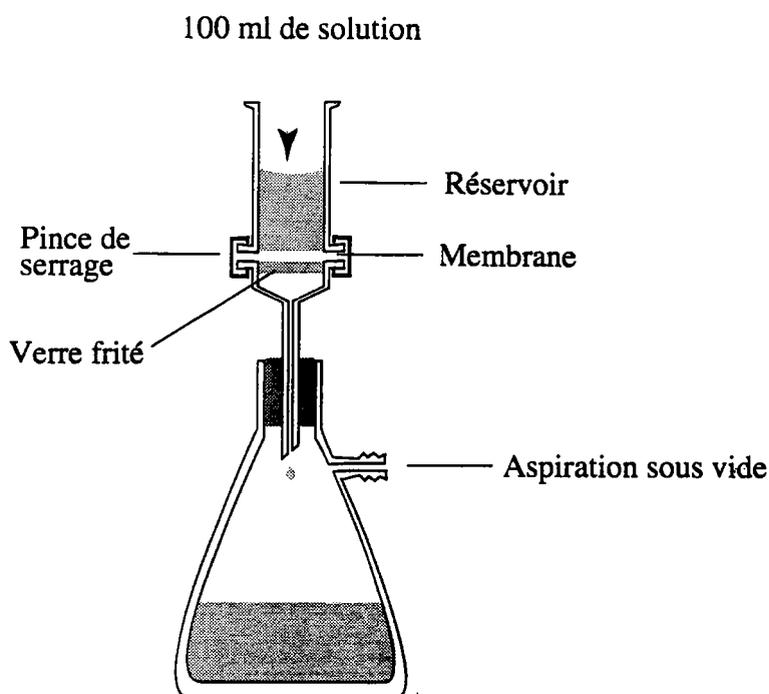


Figure II.8 : Dispositif d'extraction sur membrane.

1. On place la membrane sur un système de filtration en Pyrex Millipore (St.-Quentin en Yvelines, France) dont la fiole à vide est connectée à une pompe à vide via deux systèmes de contrôle de pression (une vanne pointeau et un robinet 3 voies, la troisième voie étant à pression atmosphérique)
2. Le disque est conditionné par percolation de 10 ml de méthanol pendant 5 minutes.
3. La phase est rincée à l'aide de 10 ml d'eau pour éliminer le méthanol en excès.
4. 100 ml de solution à extraire sont percolés à travers la membrane en environ 15 minutes.
5. La membrane est séchée en aspirant de l'air au travers pendant un quinzaine de minutes.

Note : Il est important de ne pas laisser sécher la phase avant la fin de l'extraction.

B. Estimation des rendements d'extraction.

Les analyses par chromatographie liquide haute performance pour la détermination des rendements de rétention des pesticides étudiés ont été effectuées à l'INRA. La chaîne d'analyse de marque Waters (Bedford, MA, USA) est constituée d'un injecteur automatique (modèle 317), d'une pompe à piston (600-MS), et d'un détecteur à barrette de diodes (991-MS) doté d'une cellule optique de 1 cm. L'appareil est interfacé à un ordinateur NEC 386/25 pour le contrôle des éléments, l'acquisition et le traitement des données.

Les analyses de l'atrazine, l'hydroxyatrazine, l'isoproturon, et du flutriafol sont effectuées sur colonne LiChroCart (Merk, Nogent sur Marne, France), de phase Purospher RP-18, de granulométrie 5 μm et de porosité 80 Å. Les dimensions de la colonne sont 250 mm de long sur 4 mm de diamètre interne.

En raison du pH acide requis, les analyses de fluméquine ont nécessité l'utilisation d'une colonne Brownlee Labs (Perkin Elmer, Foster City, CA, USA) de dimension 250 mm sur 4,6 mm (diamètre interne) sur phase PRP-1 de granulométrie 10 μm . Les conditions de solvant, de débit, les temps de rétention et les longueurs d'onde de détection sont regroupées dans le tableau II.2.

Tableau II.2 : Conditions d'analyse HPLC des pesticides étudiés.

Pesticide	Volume injecté	Solvant	Débit (ml/min)	Temps de rétention	Détection
Atrazine	20 μl	Eau/acétonitrile (60/40)	1	13,3 min	220 nm
Hydroxyatrazine	20 μl	Eau/acétonitrile (80/20)	1	10,2 min	220 nm
Fluméquine	40 μl	pH2/acétonitrile/THF (70/23/7) ^a	1,8	11,6 min	255 nm
Isoproturon	20 μl	Eau/acétonitrile (60/40)	1	12,2 min	242 nm
Flutriafol	20 μl	Eau/acétonitrile (60/40)	1	10,1 min	200 nm

3.1.21. La solution à pH 2 a été obtenu à partir d'un mélange de 700 ml d'eau "ultra-pure", 1 g de KH_2PO_4 et 2,5 ml d'acide phosphorique concentré.

Les solutions HPLC et l'acétonitrile utilisés (Spectrosol, SDS, Peypin, France) sont dégazés 30 minutes sous ultrasons avant utilisation, puis sous flux d'azote pendant les analyses.

On remarque que les conditions d'analyse HPLC sont peu différentes pour la plupart des composés. Seule la fluméquine a nécessité des efforts particuliers pour optimiser un procédé d'analyse. C'est pourquoi les conditions utilisées pour cette molécule sont très différentes des autres.

Les rendements de rétention (Rdt) des pesticides sont obtenus par comparaison de l'aire du pic (S) obtenu à temps de rétention et longueur d'onde donnée entre un échantillon prélevé dans la solution à extraire et un échantillon prélevé dans le filtrat obtenu après extraction.

$$\text{Rdt} = 100 (1 - S_1/S_0)$$

Avec S_0 et S_1 l'aire du pic avant et après extraction respectivement.

Les rendements obtenus sont donnés au chapitre IV (Application de la LD-FTMS à l'étude de pesticides adsorbés sur supports d'extraction) pour chaque composé étudié.

Une droite de régression est calculée en injectant des quantités connues de pesticides. Des témoins d'eau non additionnée de pesticides sont analysés régulièrement pour s'assurer qu'une pollution de l'eau de départ ne risque pas de fausser les analyses.

IV. Méthodes de caractérisation

A. Spectrophotométrie dans l'ultra-violet

Les spectres d'absorption dans l'ultra-violet ont été obtenus sur un spectrophotomètre UV/visible Lambda 14 (Perkin Elmer, Vandoeuvre les Nancy, France).

Les solutions dans l'éthanol (Normapur, Prolabo, Paris, France) ont été préparées à environ 10^{-4} M puis ajustées par dilution pour obtenir une absorbance de 1 environ en pleine échelle. Les concentrations des solutions analysées sont répertoriées dans le tableau II.3 :

Les absorbances ont été mesurées à longueur d'onde fixée. Les mesures ont été effectuées à 248 nm, 266 nm et 355 nm correspondant aux longueurs d'onde des lasers d'ionisation. Les mesures à 193 nm n'ont pas été possibles en raison de fluctuations importantes de la lecture en dessous de 200 nm.

Tableau II.3 : Concentrations des solutions dans l'éthanol pour analyse UV.

Composé	Concentration
Atrazine	2,55 10 ⁻⁵ M
Hydroxyatrazine	9,99 10 ⁻⁵ M
Fluméquine	4,04 10 ⁻⁵ M
Isoproturon	3,41 10 ⁻⁵ M
Flutriafol	1,00 10 ⁻⁴ M

Les paramètres d'acquisition des spectres sont les suivants :

Tableau II.4 : Paramètres d'acquisition des spectres d'absorption UV.

Gamme de longueur d'onde	190 à 400 nm
Vitesse de balayage	120 nm/min
Intervalle d'échantillonnage	0,5 nm
Bande passante	0,5 nm
Largeur de bande de lissage	3 nm

Les spectres de réflectance UV des membranes ont été obtenus sur le même appareil en utilisant une sphère d'intégration RSA-PE-20 (Labsphere, North Sutton, Angleterre). Le blanc a été effectué à l'aide du standard "Spectralon" fourni par le constructeur.

B. Microscopie électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage est utilisée afin d'obtenir des données topographiques de la surface d'une membrane qui a été soumise à des irradiations laser dans diverses conditions d'analyse par ablation laser.

Une membrane vierge est montée sur le porte-échantillon de la microsonde laser FTMS et une grille de 200 mesh est fixée à sa surface afin de permettre le repérage des différents points d'impact. L'échantillon est ensuite analysé par ionisation laser FTMS dans des conditions d'irradiance variées puis retiré de son support en veillant à ne pas déplacer la grille repère. Il est alors envoyé à l'INRA pour l'étude par microscopie électronique à balayage de la surface irradiée.

Les membranes entières ou des sections de 5 mm x 5 mm sont montées sur des substrats d'aluminium et recouvertes d'une couche d'or/palladium sur sous-couche de carbone. Cette procédure vise à obtenir des images de meilleure qualité car ainsi la couche Au/Pd est plus régulière. Ces échantillons sont ensuite examinés dans un microscope électronique à balayage Philips 525 M avec une tension d'accélération de 15 ou 20 kV. Les images sont obtenues en mode d'électrons secondaires ce qui permet de mieux visualiser la morphologie des échantillons.

C. Spectrométrie de masse à ionisation par faisceau d'électrons et ionisation chimique

Les spectres de masse conventionnels par désorption-ionisation par faisceau d'électrons et par désorption-ionisation chimique ont été obtenus à l'INRA de Versailles sur un spectromètre de masse Nermag R-30-10 (Quad Service, Nanterre, France) à triple quadripôle.

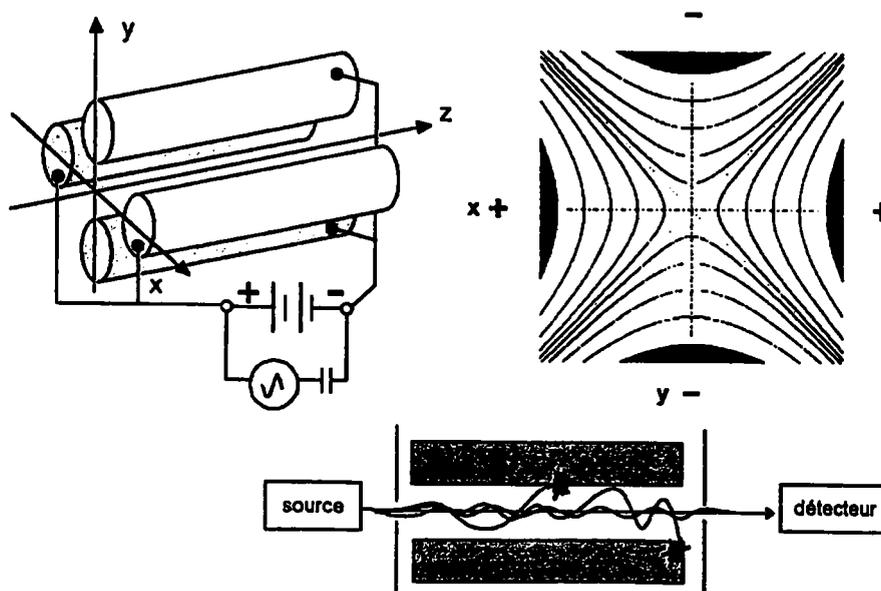


Figure II.9 : Représentation schématique d'un filtre quadripolaire. (D'après [7]).

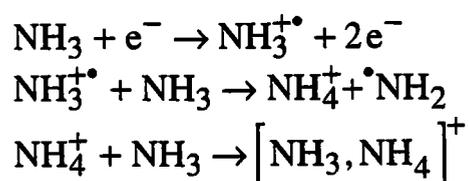
Dans un filtre quadripolaire, les ions sont séparés par l'application d'un potentiel alternatif superposé à une tension continue sur quatre barres parallèles de section hyperbolique ou plus généralement cylindriques. Les lignes équipotentielles ainsi définies sont des hyperboles équilatères dans le plan perpendiculaire aux électrodes. Suivant les valeurs de la tension continue, de l'amplitude et de la fréquence du potentiel alternatif, certains ions adopteront une trajectoire stable alors que d'autres seront éjectés. La trajectoire des ions dépendant en particulier de leur rapport m/z (masse sur charge), seul un certain type d'ion peut atteindre le détecteur pour des valeurs fixées des tensions appliquées. En effectuant un balayage des tensions, des ions de masses différentes auront une trajectoire stable et pourront atteindre le détecteur [7].

Les spectres sont réalisés sur les produits purs (cristaux) pour le contrôle et l'attribution des principaux fragments ionisés. Les conditions de source sont résumées dans le tableau suivant :

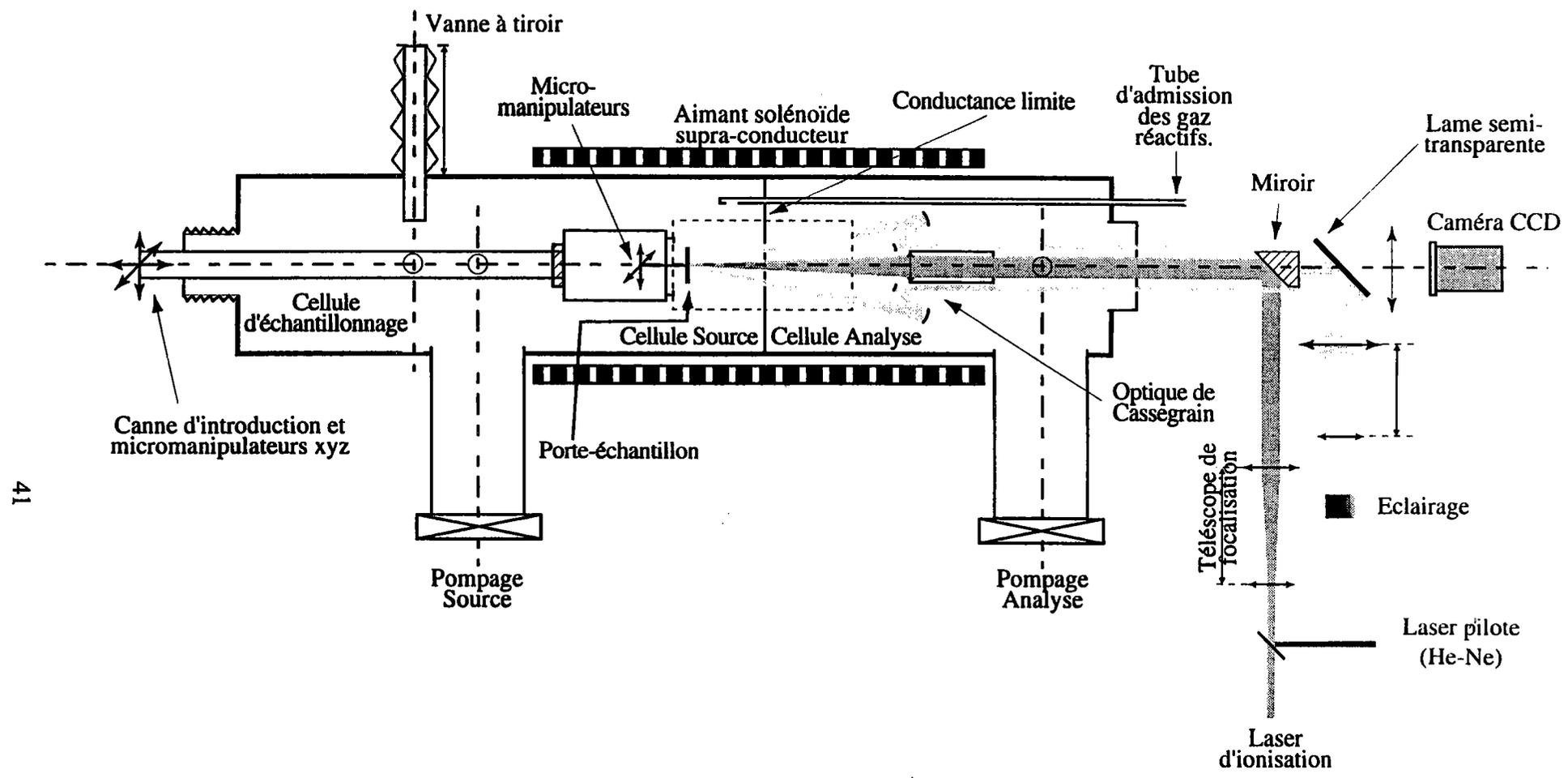
Tableau II.5 : Conditions d'analyses par D-EI et D-CI.

	D-EI	DCI-NH ₃
Température de source (°C)	190	140
Courant du filament (mA)	0,2	0,2
Energie des électrons (eV)	70	95
Pression (Pa)	1,32 10 ⁻⁴	1,32 10 ⁻²

L'introduction des échantillons est réalisée par désorption thermique. Les composés en solution sont déposés sur un filament en tungstène. Après évaporation du solvant, ils sont introduits dans l'instrument. La désorption est obtenue par chauffage rapide du filament. Les spectres par ionisation par faisceau d'électrons ont été obtenus à 70 eV. Pour l'ionisation chimique, le gaz employé est l'ammoniac. Les ions primaires (NH₄⁺ et [NH₃,NH₄]⁺) sont obtenus selon les mécanismes suivants :



L'affinité protonique de NH₃ est de 854 kJ/mol. Les ions résultant de l'ionisation chimique sont en général [M+H]⁺, [M+NH₄]⁺ et [M+(NH₃,NH₄)]⁺.



41

Figure II.10. Microsonde laser spectromètre de masse à transformée de Fourier. Schémas général.

V. La microsonde laser FTMS 2000

La microsonde laser FTMS du laboratoire est un prototype unique basé sur un système FTMS 2000 commercialisé par la société Nicolet (de nos jours Finnigan, Madison, WI, USA). A l'origine, cet appareil était dédié à l'ionisation par faisceau d'électrons ou à l'ionisation chimique. De nombreuses transformations ont été nécessaires pour aboutir au couplage avec l'ionisation laser [8-15]. Celles-ci ont été faites selon un cahier des charges très précis de 1986 à 1989. Elles ont été effectuées avec une grande précaution afin de permettre l'évolution de l'appareil avec les innovations technologiques à venir. En particulier, de nombreux ports tant au niveau des entrées de vide que des déclencheurs, avaient été laissés vacants. Ceci nous a permis, au cours de ces trois années de thèse de mener à bien diverses améliorations sur la configuration informatique et sur la position de l'échantillon par rapport à la cellule source. Nous présenterons ces aspects au chapitre suivant.

Cet instrument se compose d'une double cellule (cellule source et cellule analyse) logée dans une chambre sous ultravide centrée dans un champ magnétique élevé (3 tesla) et très homogène (voir figure II.10).

A. La double - cellule

Il s'agit de deux cellules cubiques constituées de plaques en acier inoxydable amagnétique à structure à nid d'abeille (voir figure II.11). Les deux cellules partagent une plaque commune, la conductance limite, qui n'est pas grillagée et possède un orifice en son milieu pour permettre le passage du faisceau laser d'ionisation et des ions d'une cellule à l'autre. Cette plaque permet un pompage différentiel entre les deux cellules. Une partie de la conductance limite est constituée d'une couronne de quartz recouverte d'un treillis métallique très fin [15]. Cette couronne sert à laisser passer la lumière de l'éclairage et permet la visualisation de l'échantillon. Chaque cellule possède une plaque de piégeage perpendiculaire au champ magnétique appliqué ainsi que deux plaques d'excitation, et deux de réception opposées. La conductance limite joue le rôle de plaque de piégeage pour les deux cellules. La plaque de piégeage de la cellule analyse est également percée en son centre pour laisser passer le faisceau laser. La plaque de piégeage source est amovible et percée pour permettre d'insérer l'échantillon.

Les dimensions d'une cellule sont : 5 cm x 5 cm x 5 cm. La double - cellule est fixée sur un support fait de barres métalliques qui soutiennent le câblage nécessaire à l'application de divers potentiels sur les plaques.

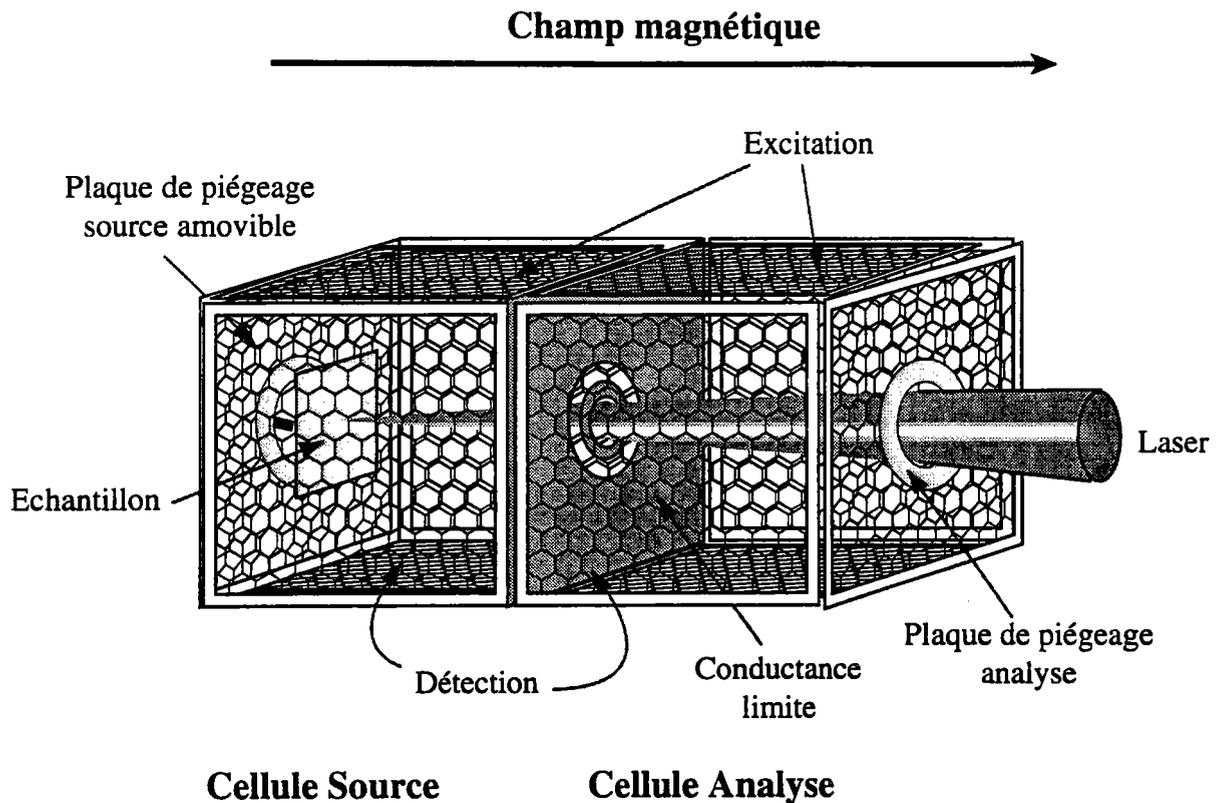


Figure II.11 : La double - cellule de la microsonde laser du laboratoire.

B. Le système d'introduction et de manipulation de l'échantillon

L'échantillon est déposé sur un porte - substrat métallique non ferromagnétique carré plat de 2 cm de côté et d'environ 3 mm d'épaisseur. Celui-ci est muni d'une tige qui permet sa fixation dans un support à l'aide d'une vis. Le support est situé à l'extrémité d'une canne de transfert qui coulisse de la cellule d'échantillonnage à la chambre d'analyse. La plaque de piégeage de la source est solidaire du support et est retirée en même temps que l'échantillon. Le voltage est appliqué sur la plaque de piégeage et sur le porte - substrat par un câble contenu dans la canne de transfert.

Cette configuration avec échantillon interne porté au potentiel de piégeage est en cours de modification car il s'est avéré qu'elle provoquait, malgré une bonne sensibilité de

détection, une perturbation du champ électrique de piégeage, néfaste pour les mesures en haute résolution. Nous en parlerons en détail dans la Partie 3 du Chapitre III.

Le support de l'échantillon est équipé d'un système de micromanipulateurs pilotables à distance le long des axes x et y [14]. Ce système est constitué de deux lames d'un alliage à mémoire de forme. Une alimentation extérieure permet d'envoyer un courant dans ces lames et ainsi de modifier la position de l'échantillon sur quelques mm avec une précision supérieure à $100\ \mu\text{m}$. La canne en elle-même est montée sur une platine dotée de micromanipulateurs selon les trois axes, permettant un réglage plus grossier de la position de l'échantillon.

C. Le cryoaimant

L'appareil est équipé d'un aimant solénoïde supraconducteur constitué d'un bobinage en alliage niobium/titane plongé dans un bain d'hélium liquide. Une enveloppe contenant de l'azote liquide permet de maintenir un gradient de température entre l'extérieur et le dewar d'hélium liquide. Une électronique de contrôle est associée à des jauges pour mesurer en permanence le niveau d'azote et quotidiennement le niveau d'hélium. Notre aimant délivre un champ très homogène de 3.04 tesla au centre de la chambre d'analyse. Les cellules "source" et "analyse" sont situées dans le tore de l'aimant et sont centrées sur l'axe du champ magnétique.

D. Le pompage

Comme nous allons le voir dans le chapitre suivant, les performances de la FTMS sont très dépendantes de la qualité du vide à l'intérieur de la chambre d'analyse. Le pompage est assuré aux différents étages de l'instrument.

En premier lieu, la chambre d'échantillonnage, qui est soumise à des remises à l'air fréquentes, est pompée à l'aide d'une pompe primaire Alcatel à haut débit ($35\ \text{m}^3\ \text{h}^{-1}$) et d'une pompe turbo-moléculaire (Débit $400\ \text{l}\ \text{s}^{-1}$). Ce dispositif permet d'atteindre un vide de l'ordre de 10^{-6} Torr en quelques minutes. Une jauge Pirani à cathode froide (Compact FullRange™, Balzer) permet la mesure du vide dans ce compartiment. En pratique, la pompe turbo moléculaire est mise en marche lorsque la pression dans la chambre est descendue en deçà de 10^{-1} Torr. La chambre d'échantillonnage est isolée du reste de l'instrument par une vanne à tiroir fabriquée par la société Méca 2000 (Vernouillet, France).

La chambre du spectromètre, quant à elle, est pompée différemment du côté source et du côté analyse au moyen de deux pompes primaires (Alcatel 2012A, débit $16 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) et deux pompes à diffusion de débit 650 l s^{-1} . Lorsque la vanne d'isolement de la chambre d'échantillonnage est fermée, la pression dans l'instrument est typiquement de 10^{-9} Torr. La vanne étant ouverte pour l'analyse, la pression augmente jusqu'à $5 \cdot 10^{-8}$ à 10^{-7} Torr en source et reste inférieure à $2 \cdot 10^{-8}$ Torr en analyse. Ces pressions peuvent augmenter temporairement lors de l'introduction de gaz. La mesure du vide se fait séparément pour chaque cellule au moyen de deux jauges ioniques.

E. L'interface d'ionisation laser

La pièce maîtresse de l'interface d'ionisation laser est une optique de Cassegrain inversée [15] qui permet la focalisation du laser sur la cible, l'éclairage et la visualisation de l'échantillon. Cette optique est située à l'intérieur de la chambre du spectromètre. La position des lentilles centrales est réglable de l'extérieur afin d'ajuster le point focal sur l'échantillon en fonction de la longueur d'onde utilisée (de 190 à 360 nm)

Deux lasers sont couplés à la microsonde. Il s'agit d'un laser excimère LPX 200 commercialisé par la société Lambda Physic (Goettingen, Allemagne) et d'un laser à verre d'yttrium et d'aluminium dopé au Néodyme (Nd-YAG), Brilliant de chez Quantel (Le Ulis, France).

Tableau II.6 : Caractéristiques des faisceaux délivrés par les lasers couplés à la microsonde laser FTMS.

Longueur d'onde	Energie maximale de sortie	Energie sur l'échantillon	Temps d'impulsion
193 nm	200 mJ	82 μJ	23 ns
248 nm	200 mJ	140 μJ	34 ns
266 nm	63 mJ	188 μJ	4,3 ns
355 nm	63 mJ	188 μJ	4,3 ns

L'excimère permet l'accès aux longueurs d'onde 248 nm et 193 nm respectivement avec les mélanges krypton/fluor et argon/ fluor. Le Nd-YAG délivre les longueurs d'onde 355 nm et 266 nm en mode triplé et quadruplé. Il n'est malheureusement pas possible d'utiliser les première et seconde harmonique de ce laser (1064 nm et 532 nm)

car les optiques ont été conçues pour l'utilisation de longueurs d'onde dans l'ultra violet (de 190 à 360 nm). Les caractéristiques des faisceaux délivrés par nos lasers sont résumées dans le tableau II.6.

Le faisceau utilisé est amené à l'entrée d'un télescope situé à l'extérieur de la microsonde au moyen d'un jeu de prismes. Le télescope est ajustable pour permettre de faire varier le diamètre de l'impact laser sur l'échantillon et donc l'irradiance. Le tableau II.7 présente les irradiances que l'on peut atteindre aux différentes longueurs d'onde. Les valeurs minimales présentées correspondent à la défocalisation maximale du télescope et à une énergie minimale de sortie du laser permettant la production d'un faisceau reproductible. En effet, il serait possible d'atteindre des irradiances plus faibles, mais la fluctuation de l'énergie du laser à faible énergie ne permettrait pas de connaître précisément l'irradiance.

La mesure de l'énergie est faite à l'entrée du hublot de la chambre à l'aide d'une cellule photosensible connectée à un oscilloscope numérique Hewlett Packard. L'irradiance est ensuite calculée connaissant l'absorption des optiques et le diamètre de l'impact pour une position donnée du télescope.

Tableau II.7 : Gammes d'irradiance accessibles à l'aide des différents lasers.

Longueur d'onde	Irradiance maximale (W cm⁻²)	Irradiance minimale (W cm⁻²)
193 nm	2,00 10 ⁹	3,00 10 ⁵
248 nm	2,00 10 ⁹	3,50 10 ⁵
266 nm	3,00 10 ¹⁰	7,00 10 ⁶
355 nm	3,00 10 ¹⁰	9,00 10 ⁶

A la sortie du télescope, le faisceau est renvoyé par un miroir à travers le hublot d'entrée vers les lentilles centrales de l'optique de Cassegrain inversée située dans la chambre d'analyse. Il est ensuite focalisé vers l'échantillon à travers les deux orifices qui percent la plaque de piégeage de la cellule analyse et la conductance limite.

Parallèlement au faisceau laser, la partie extérieure de l'optique de Cassegrain transmet la lumière d'une source située à l'extérieur sur l'échantillon et renvoie l'image vers une caméra CCD. Un téléobjectif équipe cette caméra ce qui offre une visualisation avec un grossissement de 300 x sur le moniteur vidéo.

F. Les systèmes électroniques de la microsonde

L'appareil est équipé d'un ensemble de systèmes informatiques et électroniques qui assurent son intégrité et permettent la programmation et l'exécution des séquences d'analyse. Nous avons été amenés à changer une partie importante de l'informatique durant ces trois années, nous aborderons ce sujet dans le Chapitre III.

Brièvement, l'électronique de contrôle de l'instrument est basée sur un ordinateur micromac 5000 qui est connecté à une série de capteurs et de vannes dans l'instrument. Cet ordinateur recueille les pressions et les températures dans l'appareil ainsi que le niveau des fluides cryogéniques et les transmet à l'utilisateur. Il peut également intervenir (en cas de fuite par exemple) pour fermer les vannes de la chambre d'analyse afin de préserver l'intégrité de l'instrument. Il est couplé à un système de mesure du vide par des jauges ioniques et plusieurs jauges Pirani réparties le long des lignes de pompage.

La partie concernant la programmation des séquences et l'acquisition de données est basée sur une informatique à mémoire à accès rapide et divers périphériques dont le plus important est le contrôleur de cellule. Ce dernier génère les tensions qui sont appliquées sur les plaques de la cellule. Le contrôleur de cellule est connecté aux plaques d'excitation par l'intermédiaire d'un amplificateur de puissance et collecte le signal détecté sur les plaques réceptrices à travers un préamplificateur.

Le micro-ordinateur qui équipait l'appareil à l'origine est un système Nicolet 1280. Il a été changé durant ces travaux pour un système basé sur une station de travail Sun LX couplée à une électronique d'acquisition Odyssey™ que nous décrivons en détail dans le chapitre suivant.

G. Préparation des échantillons pour analyse par FTMS

Deux types de porte - substrat sont utilisables avec notre instrument. Le premier, en aluminium (voir figure II.12.a), possède une légère cavité centrale qui permet de déposer des échantillons en solution et de sécher le dépôt. Le second, en acier inoxydable (voir figure II.12.b), est prévu pour y fixer des échantillons solides à l'aide d'un adhésif aluminisé.

Après préparation, l'échantillon est inséré dans la chambre d'échantillonnage de l'appareil et le pompage mis en route. Après environ 30 minutes, lorsque le vide atteint 10^{-6} Torr, la vanne d'isolement est ouverte et l'échantillon transféré vers la chambre d'analyse.

Le nettoyage des porte-échantillons est effectué selon le protocole suivant :

1. Rinçage à l'éthanol et essuyage à l'aide d'un chiffon en papier.
2. Passage aux ultrasons pendant 15 minutes dans 100 ml d'un mélange eau, éthanol, acide acétique (1:1:1)
3. Rinçage à l'éthanol et séchage à l'air.

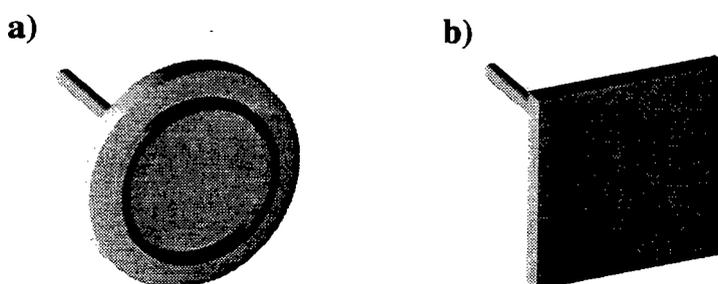


Figure II.12 : Porte - substrats de la microsonde FTMS.

1. Les standards

Quelques cristaux de pesticides (environ $1 \mu\text{g}$) sont prélevés à l'aide d'une spatule et déposés sur le porte-échantillon en aluminium prévu pour les dépôts de produits en solution. $20 \mu\text{l}$ de méthanol normapur (Prolabo, Strasbourg, France) sont alors ajoutés pour disperser les cristaux sur la surface du porte-substrat et les y faire adhérer. L'échantillon est ensuite laissé à sécher à l'air avant d'être introduit dans la chambre d'échantillonnage de l'instrument.

2. Les membranes

Environ $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ de membrane sont découpés au scalpel et fixés sur un porte - substrat métallique carré (2 cm de côté) au moyen d'un adhésif aluminisé. Dans certains cas, une grille en cuivre de microscopie électronique à transmission (50 mesh) a été fixée sur la membrane afin de pouvoir repérer les différents impacts laser à la surface.

3. *Autres échantillons*

Tous les échantillons solides ont simplement été fixés sur le porte-substrat carré au moyen de l'adhésif aluminisé sauf mention contraire dans le texte.

VI. Conclusion

Dans le cadre de cette étude, la faisabilité de l'analyse de membranes d'extractions imprégnées de pesticides par désorption laser couplée à la spectrométrie de masse à transformée de Fourier a été évaluée. Pour ce faire, nous avons en premier lieu estimé les rendements de rétention des cinq composés étudiés (atrazine, hydroxyatrazine, fluméquine, isoproturon et flutriafol) sur le support d'extraction sélectionné. Pour ces estimations, la technique HPLC a été mise à contribution. Les interférences possibles de la membrane ont été déterminées par ionisation laser FTMS. Les membranes soumises à différents traitement laser ont été observées par microscopie électronique à balayage pour déterminer la profondeur d'ablation. L'absorbance dans l'ultra-violet des molécules cibles a été mesurée ainsi que leur réponse en spectrométrie de masse par ionisation par faisceau d'électrons, ionisation chimique et désorption laser. Enfin, nous avons procédé à un examen des conditions qui permettent l'analyse directe des pesticides étudiés adsorbés sur des membranes par désorption laser couplée à la FTMS.

Bibliographie

- [1] Arnold, S.M. ; Talaat, R.E. ; Hickey, W.J. et Harris, R.F. *J. Mass Spectrom.* **1995**, *30*, 452-460.
- [2] "Firestop", document commercial Laboratoires Sandoz
- [3] Kerhoas, L. et Thoisy-Dur, J.C. extrait de "Methodological aspects of the study of pesticide behaviour in soil", INRA Versailles, **1988** p.195-200.
- [4] The pesticide manual, Ed. Worthing, British crop protection council, Croydon, (GB), 6^{ème} édition, **1979**
- [5] Nélieu, S. Thèse de l' INP de Toulouse, 14 juin 1994
- [6] "New **Empore**TM Extraction Disks with BAKERBOND bonded phase". 3M Document commercial.
- [7] Rouessac, F. et Rouessac, A. "Analyse Chimique, Méthodes et Techniques Instrumentales Modernes", Masson, Paris, **1994**, p. 259-261.
- [8] Muller, J.F. ; Pelletier, M. ; Krier, G. ; Weil, D. et Campana, J. Proceedings of the 24th Conference of the Microbeam Analysis Society-Ashville, San Francisco press, **1989** p.311.
- [9] Pelletier, M. ; Krier, G. ; Muller, J.F. ; Weil, D. et Campana, J. Proceedings of the 24th Conference of the Microbeam Analysis Society-Ashville, San Francisco press, **1989** p.339.
- [10] Muller, J.F. ; Tolitte, F.; Krier, G. ; Pelletier, M. ; Weil, D. et Johnston, M. "Advances in Mass Spectrometry" - Heyden and Sons Ltd - Ed Longevialle, vol 11, **1989**, p. 1736.
- [11] Pelletier, M. ; Krier, G. ; Tolitte, F.; Muller, J.F. ; Weil, D. et Johnston, M. "Advances in Mass Spectrometry" - Heyden and Sons Ltd - Ed Longevialle, vol 11, **1989**, p. 496.
- [12] Muller, J.F. ; Pelletier, M. ; Krier, G. ; Weil, D. et Campana, J. Pittsburg Conference, Atlanta, Proceedings, **1989**
- [13] Pelletier, M. ; Krier, G. ; Muller, J.F. ; Weil, D. et Campana, J. Proceedings of the 37th ASMS Conference on Mass Spectrometry - Miami, **1989**, p. 1506
- [14] Muller, J.F. ; Tolitte, F.; Krier, G. ; Berveiller, M. ; Eberhardt, A. et Dominiak, S. Brevet n° 86-18244 publié le 24 juin 1988 sous le n°608 837
- [15] Muller, J.F. ; Tolitte, F.; Krier, G. et Pelletier, M. Brevet n° 88-09438 Protection France, Suisse, Allemagne, Japon, Grande Bretagne

Chapitre III : Désorption laser et spectrométrie de masse par résonance cyclotronique à transformée de Fourier

Introduction

Le principe fondamental de la résonance cyclotronique des ions (ICR) a été décrit pour la première fois [1] en 1930 par Ernest O. Lawrence, l'inventeur de l'accélérateur de particule (le cyclotron). Il était bien connu à l'époque que les particules chargées sont contraintes à opérer un mouvement de rotation à période de révolution fixe lorsqu'elles sont soumises à un champ magnétique. Partant de ce fait, Lawrence émit l'idée que les particules chargées en question pouvaient être accélérées en étant exposées à un champ électrique oscillant à leur fréquence cyclotronique.

C'est en 1949 que ce principe a été appliqué pour la première fois à la spectrométrie de masse par Hipple, Sommer et Thomas [2]. Leur instrument, appelé l'oméga-tron, était basé sur un piégeage par un champ magnétique et l'excitation des ions par une fréquence variable, les ions dont la fréquence correspondait à la fréquence excitatrice voyaient leur rayon augmenter et entraient en collision avec un collecteur. Cet appareil était destiné à répondre à des objectifs de sensibilité (possibilité de détecter un très faible nombre d'ions) et de résolution (possibilité de séparer des ions de masses très proches) élevées. L'oméga-tron est encore utilisé actuellement en analyse de gaz résiduels

Après bien d'autres changements de configuration et de méthode de détection des ions [3-8], ce n'est qu'en 1970 que Mc Iver propose une cellule d'analyse ICR semblable à celles que nous connaissons actuellement mais dont le principe de détection est encore "monocanal". [9]. Le pas décisif est franchi en 1974 par Comisarow et Marshall [10, 11]. Partant d'un principe déjà appliqué à d'autres techniques, dont la résonance magnétique nucléaire, ils réalisent les premières expériences de spectrométrie de masse de résonance cyclotronique des ions à transformée de Fourier (FT-ICR-MS ou plus simplement FTMS) grâce à une méthode d'excitation large bande et une détection multiplexe c'est à dire que toutes les fréquences sont détectées simultanément.

L'essor considérable de cette technique depuis deux décennies est dû à ses très grandes capacités de sensibilité et de résolution, mais son handicap principal est son coût très élevé comparé à d'autres types de spectromètre de masse (voir tableau III.1). Il s'agit néanmoins d'une des rares techniques qui combine la haute résolution avec la possibilité d'étudier différentes générations d'ions générés par des fragmentations successives (méthode dite spectrométrie de masse de la spectrométrie de masse ou

MS/MS). Elle est à l'heure actuelle un outil analytique sans égal pour les mesures précises de masses, et ses capacités de manipulations des ions en font une technique particulièrement adaptée à l'étude des structures ioniques.

Tableau III.1 : Comparaison des différents analyseurs de masses^a (adapté d'après [12]).

Analyseurs	Coût	Limitation en masse (m/z).	Résolution	Possibilité MS/MS
Quadripôle	Faible	< 2000 ^b	Faible	Non
Temps de vol	Faible	>> 100000	Faible	Non
Triple-quad	Modéré	< 2000 ^b	Faible	Oui
Double secteur	Modéré	< 3000 ^c	Haute	Non
Secteur multiple	Élevé	< 3000 ^c	Haute	Oui
Trappe ionique	Faible à modéré	1000 ^d	Faible ^d	Oui
FTMS	Élevé	> 20000 ^e	Haute ^f	Oui

a Les données présentées ici se rapportent aux instruments disponibles sur le marché et non aux instruments de recherche. **b** Des quadripôles optimisés pouvant atteindre des masses de l'ordre de 4000 sont disponibles depuis peu. **c** Cette valeur est obtenue avec un potentiel d'accélération maximal. La résolution peut être augmentée d'un facteur trois environ en réduisant ce potentiel, mais cela a pour effet de diminuer la sensibilité de façon notable. **d** Des valeurs plus élevées ont été obtenues à l'aide d'instruments de recherche. **e** La valeur donnée ici correspond à ce que l'on peut attendre d'un instrument équipé d'un aimant de 7 tesla. La gamme de masse augmente avec le champ magnétique. **f** La résolution est inversement proportionnelle à la masse; l'ultra haute résolution (de l'ordre du million) est possible pour des masses faibles et la haute résolution (plusieurs milliers) pour des masses de l'ordre de plusieurs milliers de daltons.

La FTMS n'est pas une technique employée en routine. Son utilisation nécessite de connaître et de maîtriser de nombreux paramètres. Nous nous attacherons à travers ce chapitre à énumérer de façon la plus exhaustive possible la liste de ces paramètres, et d'en évaluer l'influence sur les résultats obtenus à travers des exemples d'applications. Loin de dresser un simple inventaire des caractéristiques de la FTMS, nous désirons à travers ce chapitre expliquer de manière objective quels sont les écueils qui se dressent devant le chercheur qui désire obtenir des résultats par cette technique aux performances exceptionnelles.

Partant des définitions de base de la FTMS, et du formalisme mathématique minimal, nous dégagerons les implications pratiques qui en résultent pour son utilisation en conjonction avec l'ionisation laser. Des exemples pratiques illustreront les conclusions émises. Nous présenterons enfin les différentes améliorations dont notre instrument a fait l'objet au cours de ces trois années de thèse.

Partie 1. Principes de la spectrométrie de masse à transformée de Fourier

Les principes d'une expérience FTMS sont décrits afin de poser les bases de nos travaux sur le couplage avec l'ionisation laser. Notre objectif n'est aucunement d'entrer dans les détails du formalisme mathématique du problème, mais d'exprimer en langage clair les différents phénomènes qui interviennent lors d'une analyse par FTMS. Pour plus de précisions, on pourra se référer au livre de A.G. Marshall et F.R. Verdun [13] ou aux nombreuses revues qui traitent des aspects fondamentaux de la FTMS [12,14-18].

I. Une expérience type en FTMS

La spectrométrie de masse à transformée de Fourier est une méthode dite en tandem dans le temps, ce qui signifie que toutes les manipulations des ions ont lieu à l'intérieur d'un espace confiné (la cellule ou double-cellule), mais sont séparées dans le temps (voir figure III.1). Le piège à ions, ou cellule, est en général de géométrie cubique ou cylindrique. Il est inséré au centre d'un champ magnétique homogène généré de préférence par un aimant supraconducteur (voir figure III.2). Les ions sont soit directement formés à l'intérieur de la cellule, soit injectés depuis une source d'ionisation externe.

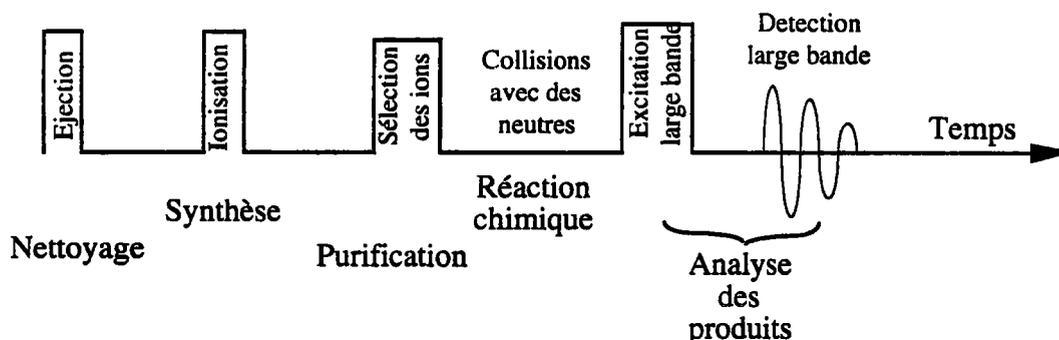


Figure III.1 : Séquence temporelle d'analyse en FTMS. Les étapes de purification et de réaction sont optionnelles.

Un ion soumis à un champ magnétique adoptera un mouvement circulaire (mouvement cyclotron) dans le plan perpendiculaire au champ, à une fréquence caractéristique de

son rapport masse sur charge (m/z). Le confinement parallèlement aux lignes de champ est obtenu par l'application d'un potentiel continu sur les deux plaques dites plaques de piégeage (voir figure III.2) perpendiculaires à la direction du champ magnétique. Les interactions de l'ion avec les champs magnétique et électrique permettent de le maintenir piégé, de le manipuler pour finalement le détecter.

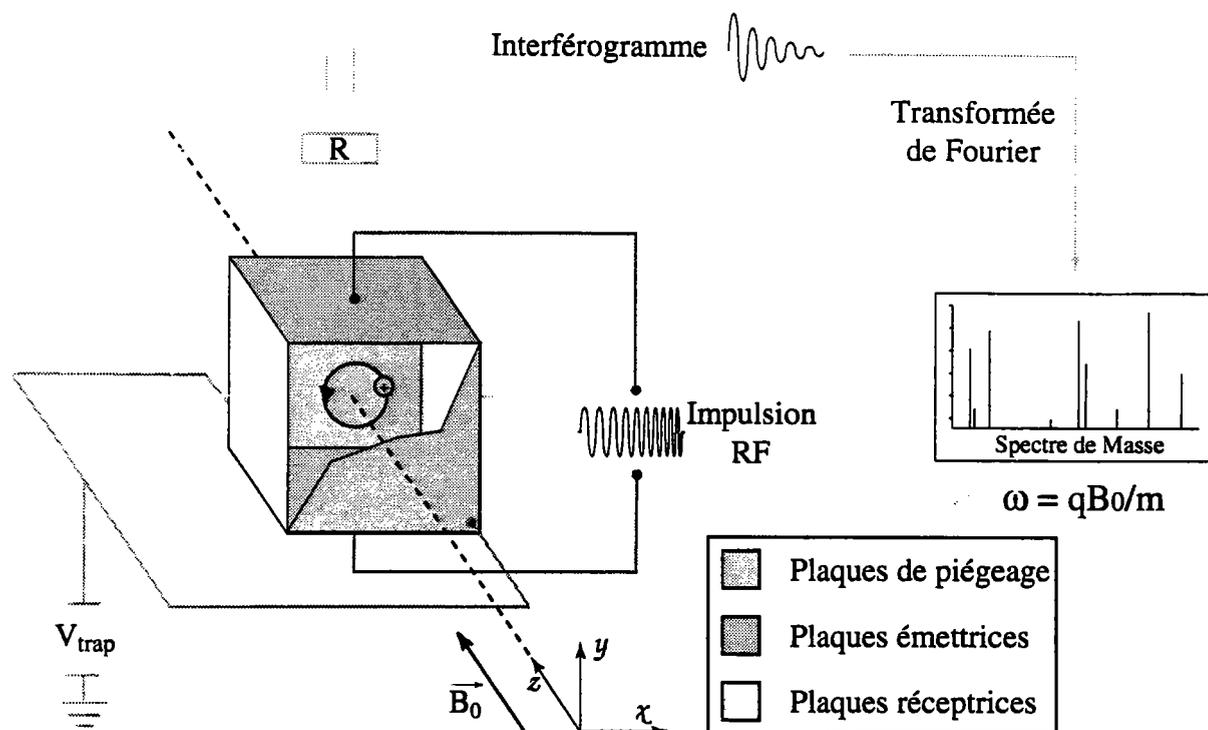


Figure III.2 : Schémas de principe d'un spectromètre de masse à résonance cyclotronique à transformée de Fourier.

Une des manipulations nécessaire pendant une expérience FTMS est l'excitation des ions. Elle peut servir soit à éjecter les ions inintéressants, soit à organiser des collisions entre les ions et des molécules neutres, mais elle permet surtout la détection de ces ions. En pratique, on envoie une impulsion de radiofréquence sur les plaques émettrices (voir figure III.2) perpendiculaires aux plaques de piégeage. Quand la fréquence de l'impulsion est proche de la fréquence de précession de l'ion (excitation résonante), celui-ci absorbe l'énergie du champ appliqué, ce qui a pour effet d'augmenter son énergie de translation, donc son rayon de giration puisque, sa fréquence est fixée. L'excitation peut se réaliser par un balayage de radiofréquence,

¹ En spectrométrie de masse, il est d'usage de représenter le rapport des quantités physiques masse (m) et charge (q) par le rapport de deux nombres sans dimension m et z définis par $m = m/u$ (avec u l'unité de masse atomique) et $z = q/e$ (avec e la charge élémentaire)

une simple différence de potentiel temporaire entre les plaques d'excitation ou encore au moyen d'une forme d'onde prédéfinie par le calcul.

Une caractéristique unique propre à la FTMS est le caractère non destructif de son procédé de détection. Plutôt que d'entrer en collision avec la dynode de conversion d'un multiplicateur d'électrons, une galette de microcanaux ou un détecteur de type "Faraday cup", les ions sont détectés par l'intermédiaire de la charge différentielle qu'ils induisent sur deux plaques dites réceptrices (voir figure III.2).

Après leur formation ou leur introduction dans la cellule, les ions de même rapport m/z tournent à la même fréquence mais ont des phases aléatoires, ce qui ne produit globalement aucun signal sur les plaques réceptrices. En effet, pour un ion qui induit un signal sur la plaque de gauche, un autre induit un signal égal sur la plaque opposée (voir figure III.3).

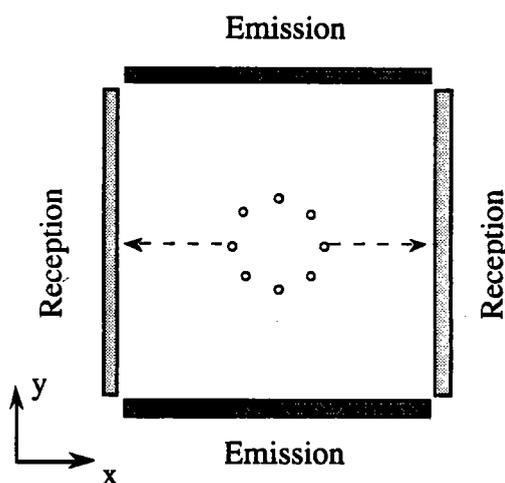


Figure III.3 : Courant image globalement nul généré par un ensemble d'ions de phase aléatoire avant excitation. Le rayon initial a été volontairement exagéré pour une meilleure vision.

L'excitation résonante crée une différence alternative de charge sur les plaques émettrices (voir figure III.4a), ce qui a pour effet de déplacer les ions de l'axe de la cellule (jusqu'à environ 50% du rayon de la cellule) en un paquet d'ions en cohérence de phase [19]. Le mouvement de ce paquet d'ions en cohérence de phase induit un courant image dont la fréquence est égale à la fréquence cyclotronique des ions et dont l'amplitude est proportionnelle au nombre d'ions présents (voir figure III.4b).

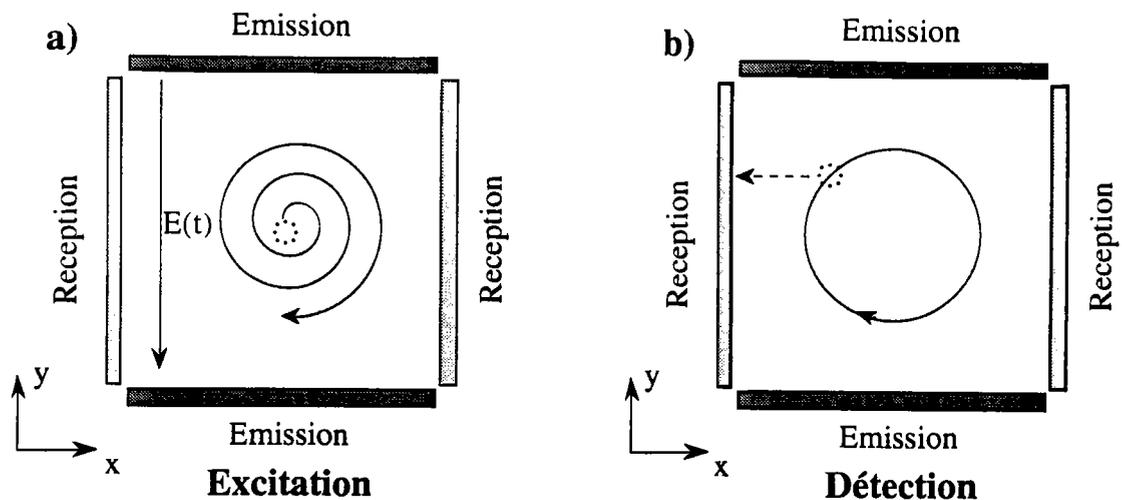


Figure III.4 : Schémas de principe de l'excitation (a) et de la détection (b) des ions par FTMS. L'impulsion de radiofréquence (a) provoque un rassemblement des ions en un paquet en cohérence de phase et une augmentation du rayon de giration des ions qui peuvent ensuite être détectés par la charge qu'ils induisent sur les plaques de détection (b).

Le courant image global est la superposition des influences de tous les ions excités dans la cellule. Il est collecté en tant que courant transitoire (ou interférogramme), converti en différence de potentiel et numérisé par un ordinateur. L'interférogramme est déconvolué par transformée de Fourier en ses composantes de fréquences qui révèlent les informations de masses et d'abondances des ions.

Les performances exceptionnelles de la FTMS sont liées à la méthode de détection non destructive par courant image qui avait été décrite par Comisarow et Marshall en 1974 [10]. Un courant détectable peut être produit par seulement une centaine d'ions et la détection est multiplexe c'est à dire que tous les ions sont détectés simultanément par un seul récepteur. Les performances de détection augmentent avec le temps de cohérence du mouvement des ions, et des résultats totalement impossibles à envisager par d'autres techniques sont obtenus lorsque l'on parvient à modérer les processus de déphasage des ions. Par exemple, Marshall et coll. [14] ont obtenu le pic de l'ion ${}^4\text{He}^+$ avec une résolution supérieure à 200 000 000.

D'autre part, la méthode possède un potentiel remarquable de précision en masse pour peu qu'une loi d'étalonnage convenable puisse être déduite, car les fréquences sont mesurées avec neuf chiffres significatifs.

II. Piégeage par des champs statiques

A. Le champ magnétique

Une particule de charge q dans un champ magnétique (\mathbf{B}_0) adopte un mouvement circulaire de période fixée dont le rayon dépend de sa vitesse initiale (\mathbf{v}) sous l'action de la force de Lorentz (\mathbf{F}) :

$$\vec{F} = q(\vec{v} \times \vec{B}_0) \quad (1)$$

L'accélération angulaire est définie par :

$$(2) \quad \frac{d\vec{v}}{dt} = \frac{(v_{xy})^2}{r} = r\omega^2 \quad \text{avec} \quad v_{xy} = \sqrt{v_x^2 + v_y^2}$$

Le champ magnétique étant dirigé suivant l'axe z , la force de Lorentz est dans le plan xy , on peut définir la condition d'équilibre :

$$(3) \quad \frac{m \cdot v_{xy}^2}{r} = q \cdot v_{xy} \cdot B_0 \quad \text{avec } r \text{ le rayon de l' orbite}$$

La vitesse angulaire et la fréquence cyclotronique sont donc données par les relations suivantes :

$$\boxed{\omega_c = \frac{q \cdot B_0}{m} \quad (\text{rad} \cdot \text{s}^{-1})} \quad (4)$$

$$\boxed{\nu_c = \frac{q \cdot B_0}{2\pi \cdot m} \quad (\text{Hz})} \quad (5)$$

Il est possible de calculer le rayon d'équilibre dans le cas d'une particule de masse m , de charge q et d'énergie cinétique dans le plan xy $E_c = \frac{1}{2} m v_{xy}^2$

$$\boxed{r = \frac{\sqrt{2m \cdot E_c}}{q \cdot B_0}} \quad (6)$$

Comme toute technique, la FTMS comporte des limitations intrinsèques à ses performances de détection. En premier lieu, le rayon du mouvement cyclotron détermine la limitation en masse. En effet, un ion dont le rayon de giration est supérieur aux dimensions de la cellule ne peut être piégé. D'autres part, comme on peut le constater dans l'équation 5, la fréquence cyclotronique est inversement proportionnelle à la masse. Ceci signifie que la résolution diminue lorsque la masse augmente. Pour une différence de masse Δm donnée, $\Delta \nu_c$ diminue lorsque m augmente, donc les pics se rapprochent.

La sensibilité est également dépendante de la masse ou plutôt du rayon cyclotron initial. Le signal maximal accessible avec une population d'ions donnée diminue lorsque la masse augmente.

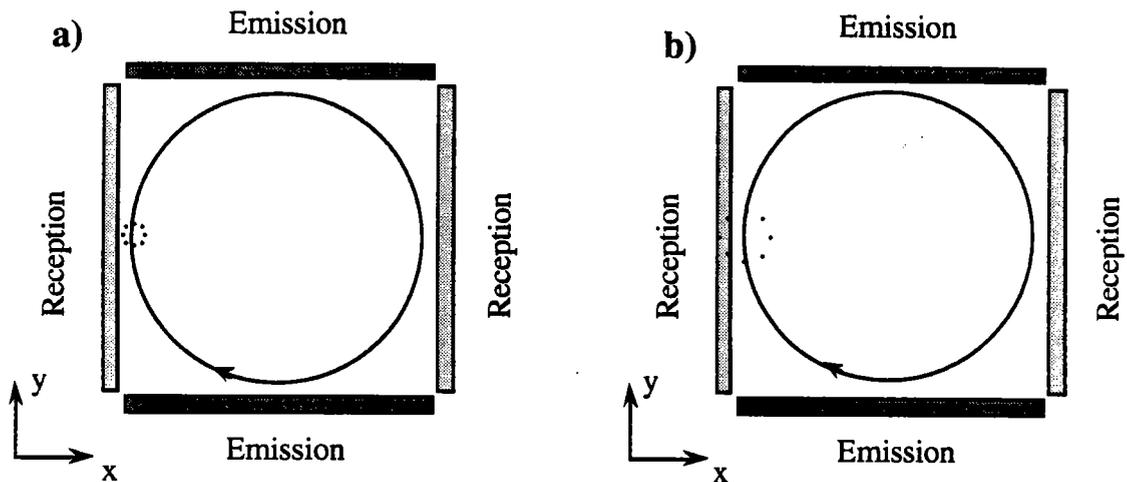


Figure III.5 : Comparaison des trajectoires de deux nuages d'ions après la même excitation. Le nuage qui présente une plus grande distribution de rayons initiaux (b) génère un signal plus faible dû à une perte d'ions.

Dans le modèle de Comisarow du monopole électrique rotatif [20], l'amplitude du signal induit sur les plaques réceptrices est proportionnelle au nombre d'ions en cohérence de phase et à la distance du barycentre du nuage d'ions au centre de la cellule. D'après ce modèle, le signal le plus intense est obtenu lorsqu'un nuage d'ions de faible rayon initial est excité jusqu'à une orbite à laquelle l'ion le plus extérieur décrit une trajectoire de rayon tout juste inférieur à la dimension de la cellule (voir figure III.5.a). Pour obtenir le même signal en partant d'un nuage de rayon plus dispersé comportant le même nombre d'ions, il faudrait que le barycentre de ce nuage décrive la même orbite que le précédent. Cependant un rayon d'orbite équivalent dans

ce cas aurait pour effet que les ions les plus à l'extérieur du nuage entreraient en collision avec les plaques de la cellule, diminuant ainsi le signal résultant par décroissance de la population d'ions (voir figure III.5.b). Rappelons que pour des ions de même énergie translationnelle, le rayon du mouvement cyclotron augmente comme la racine carrée de la masse (équation 6), ainsi, le rayon maximal d'excitation sans perte d'ions, donc le signal maximal que l'on peut obtenir, décroît avec l'augmentation du rapport m/z . Il en est de même lorsqu'une large distribution d'énergie cinétique initiale crée un nuage d'ions plus dispersé. C'est notamment le cas pour la désorption/ionisation laser que nous traiterons dans la partie suivante.

B. Le champ électrique de piégeage

L'application d'un potentiel sur les plaques de piégeage a pour premier effet de confiner les ions le long de l'axe du champ magnétique par la création d'un puits de potentiel (voir figure III.6).

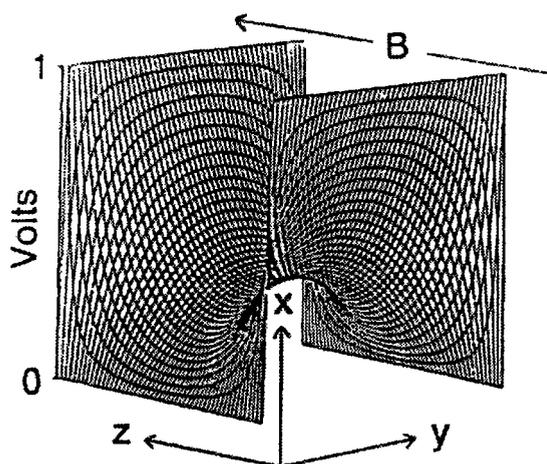


Figure III.6 : Équipotentiels du champ électrique entre deux plaques de piégeage portées au potentiel 1 V. Les ions sont confinés dans le plan xy par la force magnétique.

Cependant, d'après la loi de Gauss, le champ axial dirigé vers l'intérieur de la cellule doit également avoir une composante radiale dirigée vers l'extérieur, il s'agit donc d'un champ quadripolaire. En d'autres termes, le champ "coule" des plaques de piégeage chargées vers les plaques d'excitation et de détection au potentiel 0V (voir figure III.7). Ce fait augmente considérablement la complexité des expériences FTMS.

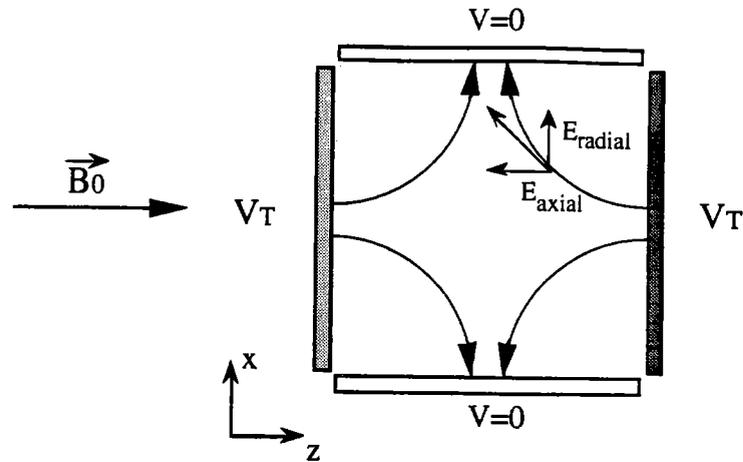


Figure III.7 : Représentation schématique du champ électrique dû au potentiel de piégeage dans le cas d'une cellule cubique (adapté d'après [21]).

La composante radiale du champ de piégeage crée une force qui s'oppose à la force magnétique réduisant ainsi la force effective du champ magnétique et la gamme dynamique de la cellule (voir figure III.8).

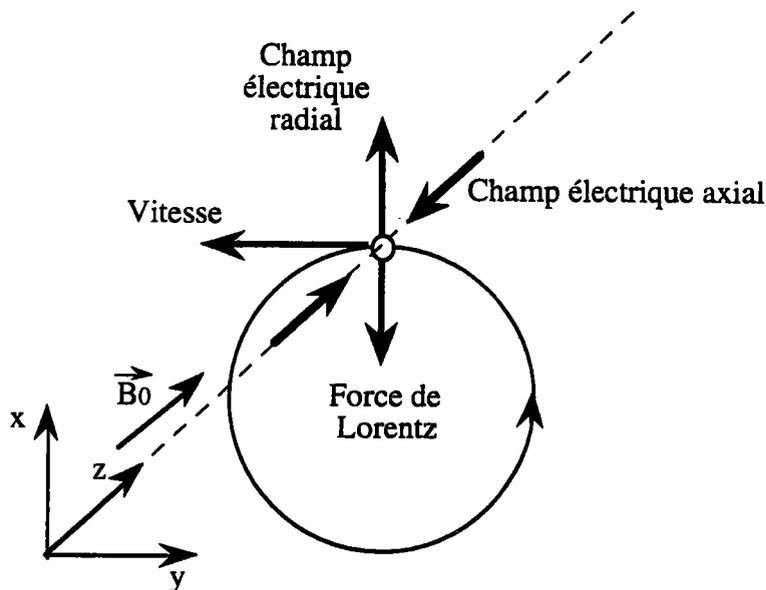


Figure III.8 : Bilan des forces qui s'exercent sur l'ion soumis aux deux champs de piégeage (adapté d'après [15]).

Supposons que le champ soit parfaitement quadripolaire [22], c'est à dire qu'il varie linéairement lorsque l'on s'éloigne de l'axe de la cellule. On peut alors calculer les différentes forces qui s'exercent sur l'ion ainsi que la masse limite pour laquelle un ion peut avoir une trajectoire stable. Cette masse est appelée masse critique de la cellule et est donnée par l'équation suivante :

$$m_c = \frac{q \cdot B_0^2 \cdot a^2}{8 \cdot \alpha \cdot V_T} \quad (7)$$

où a est la longueur de la cellule en mètres, α est un facteur de géométrie ($\alpha=1,3869$ pour une cellule cubique) et V_T est le potentiel de piégeage. Pour un système tel que le nôtre comportant un aimant de 3 tesla, une cellule cubique de 5 cm de côté, la masse critique serait d'environ 195 000 u pour un potentiel de piégeage de 1 volt. Il est important de noter que la masse critique ne découle pas d'une condition de limitation spatiale : les ions de masse supérieure à m_c n'entreront pas en collision avec les parois de la cellule, mais la force due au champ électrique sera supérieure à la force magnétique et l'ion ne sera pas piégé quelle que soit son énergie thermique. La gamme de masse accessible en pratique est limitée à environ 10% de la masse critique. Ceci provient en partie de la distribution d'énergie cinétique initiale des ions. Le fait que le potentiel de piégeage ne soit jamais purement quadripolaire a également une influence.

Le champ électrique de piégeage a un effet conséquent sur le mouvement des ions, donc sur leur capacité à être détectés. La force centrifuge additionnelle diminue la fréquence cyclotronique ν_c en une fréquence cyclotronique réduite ν_+ . De plus, le champ électrique appliqué est à l'origine de deux mouvements supplémentaires :

- le mouvement magnétron qui est une lente précession à la fréquence ν_- du nuage d'ions dans le plan xy le long d'une équipotentielle du champ électrique.
- les oscillations entre les deux plaques à la fréquence ν_z .

On peut calculer ces fréquences en partant de l'équation générale du mouvement sous l'effet des champs magnétique (\mathbf{B}_0) et électrique (\mathbf{E}_0) combinés. Si l'on se place dans l'approximation du champ électrique quadripolaire [22] (condition relativement proche du champ réel au centre d'une cellule cubique), on peut écrire l'équation d'équilibre des forces :

$$\Sigma \vec{F} = q(\vec{E}_0 + \vec{v} \times \vec{B}_0) = m \cdot \frac{d\vec{v}}{dt} \quad (8)$$

Ainsi, dans le plan radial (xy):

$$m \cdot \omega^2 \cdot r = q \cdot B_0 \cdot \omega \cdot r - \frac{q \cdot E_0 \cdot r}{a} \quad (9)$$

La résolution de cette équation mène aux pulsations du cyclotron réduit ω_+ et du magnétron ω_- :

$$\omega_+ = \frac{q \cdot B_0 + \sqrt{q^2 \cdot B_0^2 - \frac{4m \cdot q \cdot E_0}{a}}}{2m} \quad (10)$$

$$\omega_- = \frac{q \cdot B_0 - \sqrt{q^2 \cdot B_0^2 - \frac{4m \cdot q \cdot E_0}{a}}}{2m} \quad (11)$$

On obtient les fréquences correspondantes :

$$v_+ = \frac{q \cdot B_0 + \sqrt{q^2 \cdot B_0^2 - \frac{4m \cdot q \cdot E_0}{a}}}{4\pi m} \quad (12)$$

$$v_- = \frac{q \cdot B_0 - \sqrt{q^2 \cdot B_0^2 - \frac{4m \cdot q \cdot E_0}{a}}}{4\pi m} \quad (13)$$

Le long de l'axe de la cellule, le champ électrique crée une force qui empêche les ions de s'échapper le long du champ magnétique. La composante axiale du champ électrique de piégeage est donnée par :

$$E(z) = -\frac{dV(z)}{dz} = -\frac{4V_T}{a^2} \cdot z \quad (14)$$

L'équation du mouvement sur l'axe z est alors :

$$q \cdot E(z) = -\frac{4V_T}{a^2} \cdot z \cdot q = m \cdot \frac{d\bar{v}_z}{dt} \quad (15)$$

La présence des deux plaques au potentiel V_T induit un mouvement d'oscillation le long de l'axe de la cellule dont la pulsation et la fréquence sont :

$$\omega_z = \frac{2}{a} \sqrt{\frac{q \cdot V_T}{m}} \quad (16)$$

$$v_z = \frac{1}{\pi a} \sqrt{\frac{q \cdot V_T}{m}} \quad (17)$$

La combinaison des trois mouvements que nous venons de décrire génère une trajectoire compliquée des ions dans la cellule (voir figure III.9)

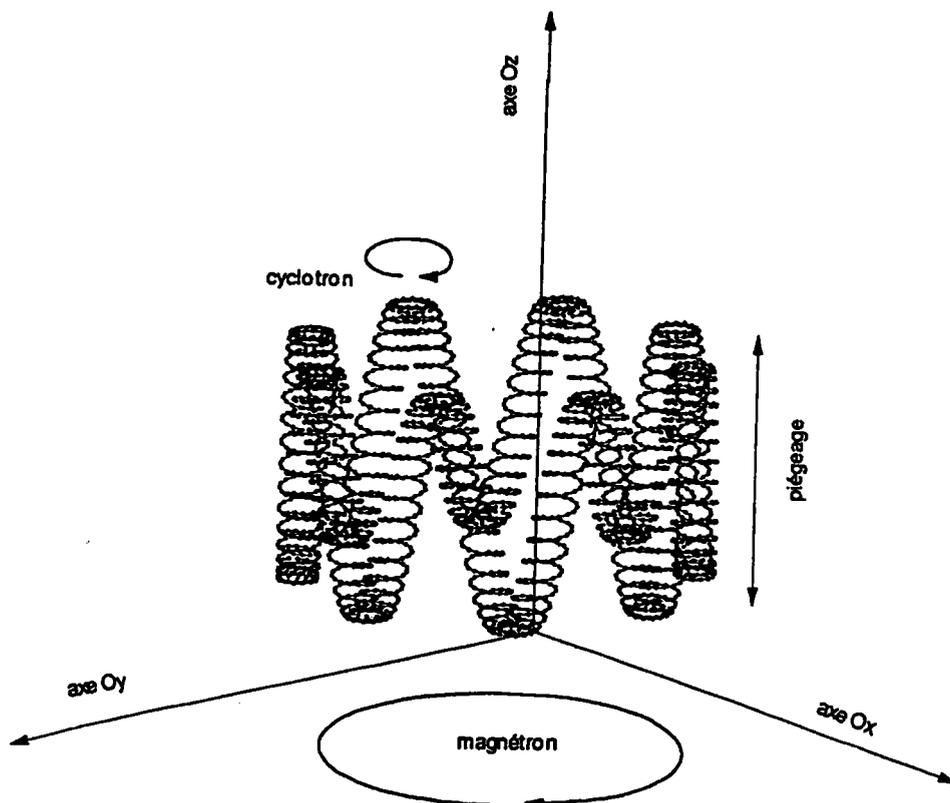


Figure III.9 : Combinaison des trois mouvements naturels d'un ion dans la cellule FTMS : cyclotron, magnétron et oscillations de piégeage.

C. Mouvements des ions et interactions avec le champ électrique de piégeage

Pour obtenir des temps de cohérence maximum du mouvement des ions et ainsi augmenter les capacités de détection d'un ensemble d'ions, il est nécessaire que tous les ions de m/z donné gardent exactement la même fréquence cyclotronique réduite pendant toute la durée de la détection. Dans un champ parfaitement quadripolaire,

l'amplitude de la composante radiale du champ électrique de piégeage varie linéairement avec le rayon de la trajectoire de l'ion. Donc, toutes les fréquences des ions de même rapport m/z excités au même rayon sont constantes quelle que soit la position des ions sur l'axe de la cellule. Les pièges à ions de géométrie simple ont prouvé leur utilité pour le piégeage et les manipulations des ions ; ils approximent un potentiel quadripolaire de façon satisfaisante en leur centre [14]. Le potentiel de piégeage de ces cellules s'écarte cependant de plus en plus du potentiel idéal ou devient anharmonique quand l'ion passe de la région axiale vers les régions de détection. La force du champ radial sur les ions ne varie donc pas de façon linéaire avec le rayon de l'orbite et les décalages de fréquence observés dépendent de la position de l'ion [23].

Pour que des ions de m/z donné aient des fréquences identiques, il faut qu'ils soient excités jusqu'au même rayon et qu'ils aient la même position le long de l'axe de la cellule. Si ceci n'est pas réalisé, comme c'est le cas en réalité, l'ensemble des ions excités présentera une distribution de fréquences. Les faibles différences de fréquences observées causent l'élargissement des pics observés et même leur dédoublement dans certains cas. Ces effets augmentent à la même vitesse que les ions se déphasent pendant le processus de détection [23]. Wang et Marshall ont calculé que les distances relatives des ions sont maintenues pendant et après l'excitation vers l'orbite de détection [24]. Les nuages comportant de larges distributions de rayons initiaux sont supposés faire l'expérience d'une plus large portion du champ électrique inhomogène pendant la détection et donc de se déphaser plus rapidement. Les signaux détectés sont donc plus courts et la qualité des résultats obtenus moins bonne que pour des nuages plus homogènes.

La haute résolution est relativement aisée à obtenir en FTMS pour des ions de faible masse générés par un faisceau d'électrons. Les ions de hautes masses, ou ceux générés par les techniques de désorption/ionisation qui sont en général dotés d'une plus grande énergie translationnelle, présentent des distributions de rayons nettement plus larges [15]. Ceci nuit à la gamme dynamique comme nous l'avons vu précédemment. On peut envisager de "refroidir" ces ions en organisant des collisions avec des molécules neutres. Cependant, les efforts pour récupérer l'énergie excédentaire sont compliqués par le comportement du mouvement magnétron. En effet, le mouvement magnétron est métastable, il a un spectre d'énergie inversé qui est la conséquence du potentiel de piégeage. Quand on récupère de l'énergie du magnétron, son rayon augmente et l'on perd finalement les ions lorsque celui-ci dépasse les dimensions de la cellule, les ions

"tombent" du point selle du puits de potentiel. Cette expansion du nuage d'ion a pour effet de dégrader les performances de la méthode.

Bien que la détection s'effectue sensiblement à la même orbite pour tous les ions, les trajectoires suivies par les ions dépendent des rapports m/z . Des ions de rapports m/z différents subissent donc différentes régions du champ électrique. Étant donné que l'intensité et la direction de la force électrique sur l'ion détermine l'évolution du nuage d'ions, des champs acceptables pour des rapports m/z relativement modestes ne conviennent pas à des ions de m/z élevé. Pour les ions de masse faible, en effet, on a $v_+ \gg v_z \gg v_-$. mais, quand m/z augmente, la fréquence cyclotron réduite (ν_+) diminue ainsi que la fréquence des oscillations de piégeage tandis que la fréquence magnétron augmente. Si les inhomogénéités de champ qui influencent le mouvement magnétron jouent un rôle minime dans le cas des ions de masses faibles, car le magnétron contribue peu à leur mouvement comparé au cyclotron, ce n'est pas le cas pour les ions de masses élevées. La convergence des fréquences cyclotron et magnétron comporte une autre implication au niveau de l'excitation des ions de hautes masses : D'après Grosshans et coll [25], lorsque des temps d'excitations courts sont utilisés, il peut arriver que l'on excite le mouvement magnétron, le résultat étant la perte d'ions par collision avec les parois de la cellule. Il vaut donc mieux travailler avec une excitation de faible amplitude pendant plusieurs périodes du mouvement cyclotron. De plus, les auteurs suggèrent qu'il est préférable de limiter le balayage des fréquences d'excitation à une valeur basse $qB/2m_c$ toujours pour éviter l'excitation du mouvement magnétron.

D. Effet de charge d'espace

Jusqu'ici, nous avons considéré que les forces agissant sur l'ion résultent uniquement de ses interactions avec les champs magnétique et électrique de piégeage. Ceci est vrai seulement quand un seul ion est piégé dans la cellule. Dès qu'un deuxième ion est piégé, il faut considérer les phénomènes de répulsion coulombienne. Pour de grandes populations d'ions, ces répulsions sont connues sous l'appellation "effet de charge d'espace" (voir figure III.10).

L'effet de charge d'espace se traduit par l'existence d'une force supplémentaire dirigée vers l'extérieur de la cellule dépendante du nombre d'ions présents. Le premier effet notable est la perte de précision en masse. En effet, la présence d'un grand nombre de charges à l'intérieur de la cellule génère une force de répulsion qui modifie l'équation du mouvement des ions [26]. Les fréquences mesurées ne dépendent donc plus

uniquement des champs extérieurs appliqués mais aussi de la densité de charges qui est difficile à évaluer précisément. On peut partiellement compenser cet effet lors de l'étalonnage en faisant intervenir un terme d'intensité totale du signal [14] (voir tableau III.2)

Tableau III.2 : Lois d'étalonnage utilisées en FTMS. Dans le cas le plus simple, la masse est reliée directement à la fréquence. Dans les autres cas, il est nécessaire d'évaluer mathématiquement les paramètres a, b et c à partir d'au moins trois couples de valeurs (m/z et v) connus.

Champ d'application	Loi d'étalonnage
Limite du champ électrique nul ($V_T=0$)	$v_c = \frac{qB}{2\pi m}$
Limite du champ purement quadripolaire	$v_+ = \frac{a}{m} + \frac{b}{m^2}$
Limite du champ quadripolaire tenant compte de l'effet de charge d'espace [14]	$v_+ = \frac{a}{m} + \frac{b}{m^2} + \frac{c[I]^a}{m^2}$

a : [I] représente les quantités relatives de tous les ions présents excepté ceux ayant pour m/z la valeur à calculer.

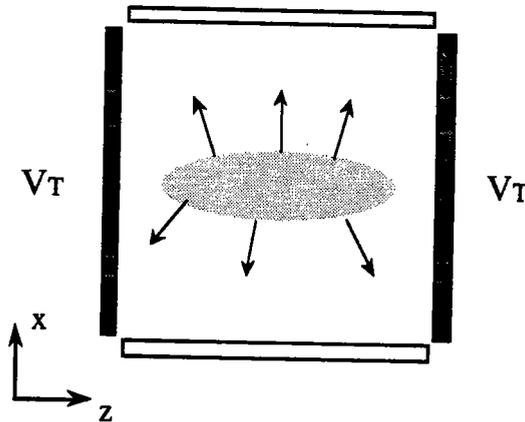


Figure III.10 : Représentation schématique de l'effet de charge d'espace. (Adapté d'après [21]).

On peut également diminuer le nombre d'ions présents par des séquences appropriées [27] mais on perd alors une information : les quantités relatives d'ions produites lors de l'ionisation. L'effet de charge d'espace conduit à une diminution des fréquences cyclotroniques, cet effet est comparable à ce qui se produit lors de l'augmentation du potentiel de piégeage. Il a été suggéré qu'un des effets bénéfiques de l'effet de charges d'espace serait d'atténuer les inhomogénéités de champ électrique dans la cellule [28].

Partie 2. Implications pratiques en ionisation laser / FTMS

Les bases de la FTMS étant posées, nous allons nous intéresser aux problèmes particuliers qui sont rencontrés lorsque l'on travaille en couplage avec l'ionisation laser.

Ainsi que nous l'avons vu précédemment, l'ionisation laser présente bien des avantages, comme la possibilité d'analyser des composés très peu volatils, ou encore la production de faibles quantités de neutres, ce qui permet de garder une pression résiduelle faible dans la cellule. Cependant, son couplage avec la FTMS n'est pas sans poser quelques problèmes. En premier lieu, l'ionisation laser génère des populations d'ions fluctuantes d'un impact à l'autre, ce qui rend difficile l'optimisation des paramètres de la séquence d'analyse ainsi que l'accumulation de spectres. Elle a aussi comme caractéristique de donner une énergie cinétique excédentaire aux ions, ce qui rend le piégeage et l'excitation plus délicats à optimiser. Les taux de fragmentation des ions peuvent être relativement élevés suivant les conditions, et cela peut nuire à la sensibilité dans certains cas.

Nous allons, dans cette partie, suivre les différentes étapes de la séquence d'analyse par ionisation laser/FTMS afin de dégager les moyens à mettre en oeuvre pour obtenir le spectre optimal d'un composé.

Mais commençons par essayer de définir le "meilleur" spectre. En effet, selon l'application que l'on aborde, les critères seront différents. Est-il nécessaire d'assigner une masse exacte ? Avec quelle précision les quantités relatives d'ions doivent-elles être déterminées ? Est-il souhaitable d'avoir une excellente résolution, ou alors préférera-t-on privilégier la sensibilité ? Suivant que l'on recherche un produit inconnu (masse exacte et sensibilité), que l'on veut déterminer la composition d'un mélange (précision des rapports d'intensités) ou encore que l'on désire trouver des traces d'un produit de masse connue (sensibilité maximale), les paramètres de la séquence ne seront pas choisis de la même manière. Il est à noter que dans de nombreux cas des compromis seront nécessaires, il faut parfois choisir entre sensibilité et résolution. Dans de nombreux cas, un examen approfondi du spectre et de l'interférogramme permet de juger si un changement de séquence est judicieux. Mais parfois, il faut

savoir perdre un peu de temps à changer certains paramètres juste "pour voir". En effet, les phénomènes sous-jacent à l'analyse elle-même sont complexes et on ne comprend qu'après les avoir observées certaines améliorations spectrales en fonction des paramètres appliqués.

I. L'étape d'ionisation

A. Généralités

L'ionisation est une étape primordiale en spectrométrie de masse. C'est elle qui détermine le nombre d'ions présents et leur répartition géométrique. Elle définit également leur distribution d'énergie cinétique donc leur rayon de giration initial et leur répartition d'énergie interne c'est à dire leur capacité à fragmenter. Les phénomènes se produisant pendant l'ionisation dépendent de la technique utilisée, certains sont bien connus, d'autres restent très obscurs.

De nombreuses méthodes d'ionisation peuvent être utilisées en conjonction avec la FTMS. Puisque c'est une technique basée sur le piégeage des ions et non sur leur accélération, elle peut-être couplée à des ionisations pulsées ou continues. Le vide poussé qui règne à l'intérieur de l'appareil pose cependant un problème pour le couplage avec des techniques d'ionisation dites à "haute pression" (thermospray, APCI, électrospray). Ce problème a été résolu dans bien des cas en utilisant des sources d'ionisation externes avec pompage différentiel.

B. L'ionisation laser couplée à la FTMS

L'instrument dont est doté le laboratoire LSMCL est couplé comme nous l'avons vu à une source d'ionisation laser. Cette méthode permet l'analyse d'échantillons solides massifs ou sous forme de dépôts.

Nous avons pu constater au Chapitre I que de nombreux paramètres influent sur les mécanismes de désorption/ionisation laser. Nous allons les considérer ici d'un point de vue plus appliqué en montrant en quoi ces paramètres ont un effet global sur l'analyse en FTMS.

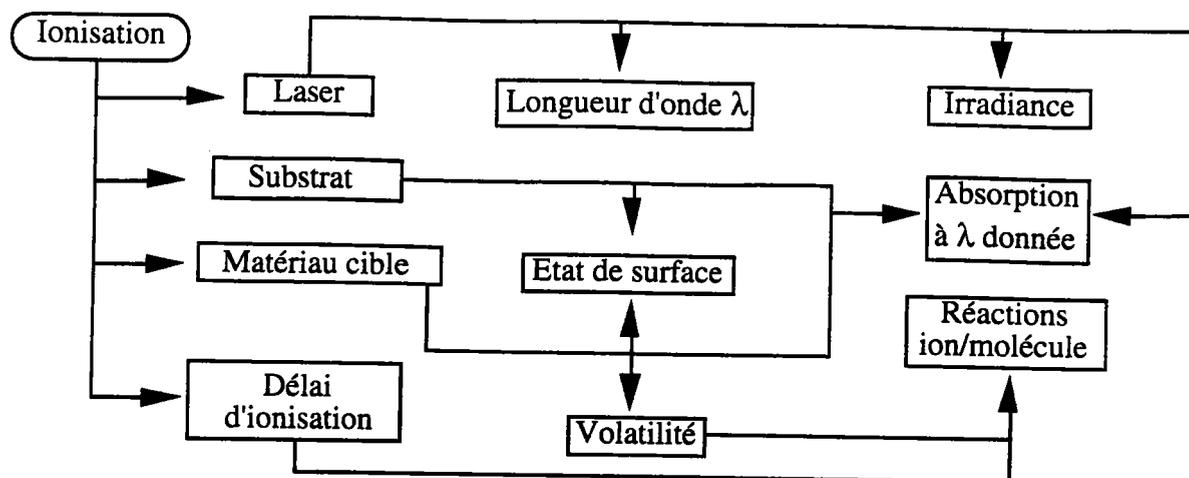


Figure III.11 : Diagramme schématique des différents facteurs qui influencent l'étape d'ionisation.

1. Le laser

Le premier paramètre dont l'influence est évidente est le type de laser utilisé. Nous disposons au laboratoire de plusieurs sources laser pulsées : un laser excimère permettant l'accès aux longueurs d'onde 248 nm (mélange Krypton / Fluor) et 193 nm (mélange Argon / Fluor) ainsi qu'un laser Nd-YAG utilisable en fréquence triplée (355 nm) ou quadruplée (266 nm). Pour des raisons de géométrie des optiques de focalisation, il n'est pas possible de coupler à la source d'ionisation des lasers de longueur d'onde supérieure à 355 nm.

Le choix du laser détermine le temps d'impulsion, la longueur d'onde ainsi que l'énergie disponible. Le temps d'impulsion n'est pas contrôlable, c'est une donnée propre au laser utilisé. Des études ont prouvé que l'absorption des derniers photons de l'impulsion laser peut jouer un rôle important dans le processus d'ionisation [29].

L'irradiance (ou densité de puissance) est une caractéristique importante dans le processus d'ionisation laser, elle dépend de l'énergie disponible sur l'échantillon, donc du laser utilisé et de l'absorption du système optique, de la surface irradiée et du temps d'impulsion, elle s'exprime en watt par centimètre carré. Un télescope permet d'ajuster le diamètre du faisceau sur l'échantillon d'une dizaine de micromètres jusqu'à un millimètre. Selon les longueurs d'ondes et les irradiances choisies, les spectres de masse, notamment des produits organiques, présentent d'importantes différences.

Il convient cependant d'être très prudent dans l'interprétation de l'influence de l'irradiance. En effet, comme l'irradiance varie de façon inversement proportionnelle au carré du rayon du faisceau sur l'échantillon (de 10 μm à environ 1 mm) , on peut confondre une irradiance optimale avec un rayon optimal . Une augmentation de signal peut être le résultat d'une meilleure irradiance, mais aussi provenir du fait que, comme la surface de l'impact est plus grande, un plus grand nombre de molécules se trouve engagé dans l'interaction.

Il faut également tenir compte de la dérive de l'énergie de sortie du laser avec le temps. En effet, le laser Nd-YAG présente une énergie qui diminue lors de la chauffe. En ce qui concerne le laser excimère, le vieillissement du mélange gazeux cause également une diminution d'énergie.

2. *Le substrat*

L'ionisation laser dépend également, dans une certaine mesure, du substrat sur lequel est déposée la cible. C'est le cas notamment en analyse organique, lorsque la quantité de cible est faible, ou lorsque la molécule est très transparente à la longueur d'onde utilisée. Le substrat qui peut être massif ou divisé, présentant plus ou moins de défauts de surface, et le matériau cible déterminent l'état de la surface qui interagira avec le rayonnement incident. Des variations infimes de l'état de surface causent de grands changements lors de l'ionisation. L'échantillon doit être le plus homogène possible (au moins à l'échelle du microscope optique) afin d'obtenir une répétabilité acceptable, ceci constitue une des principales limitations de l'ionisation laser.

3. *La cible*

La cible (molécule, polymère, matériau composite, etc...) en elle-même est bien entendu un facteur prépondérant. Les quantités déposées sur le substrat peuvent être très faibles (de l'ordre de quelques microgrammes) mais en général tout l'échantillon n'est pas consommé par l'analyse.

Les molécules qui présentent une absorption intense à la longueur d'onde utilisée ont en général tendance à fragmenter même à faible irradiance, et leur seuil de désorption / ionisation est plus faible que pour celles qui absorbent peu. A titre d'exemple, nous présentons ici les spectres de la fluméquine par désorption/ionisation laser à 248 nm à différentes irradiances (voir figure III.12).

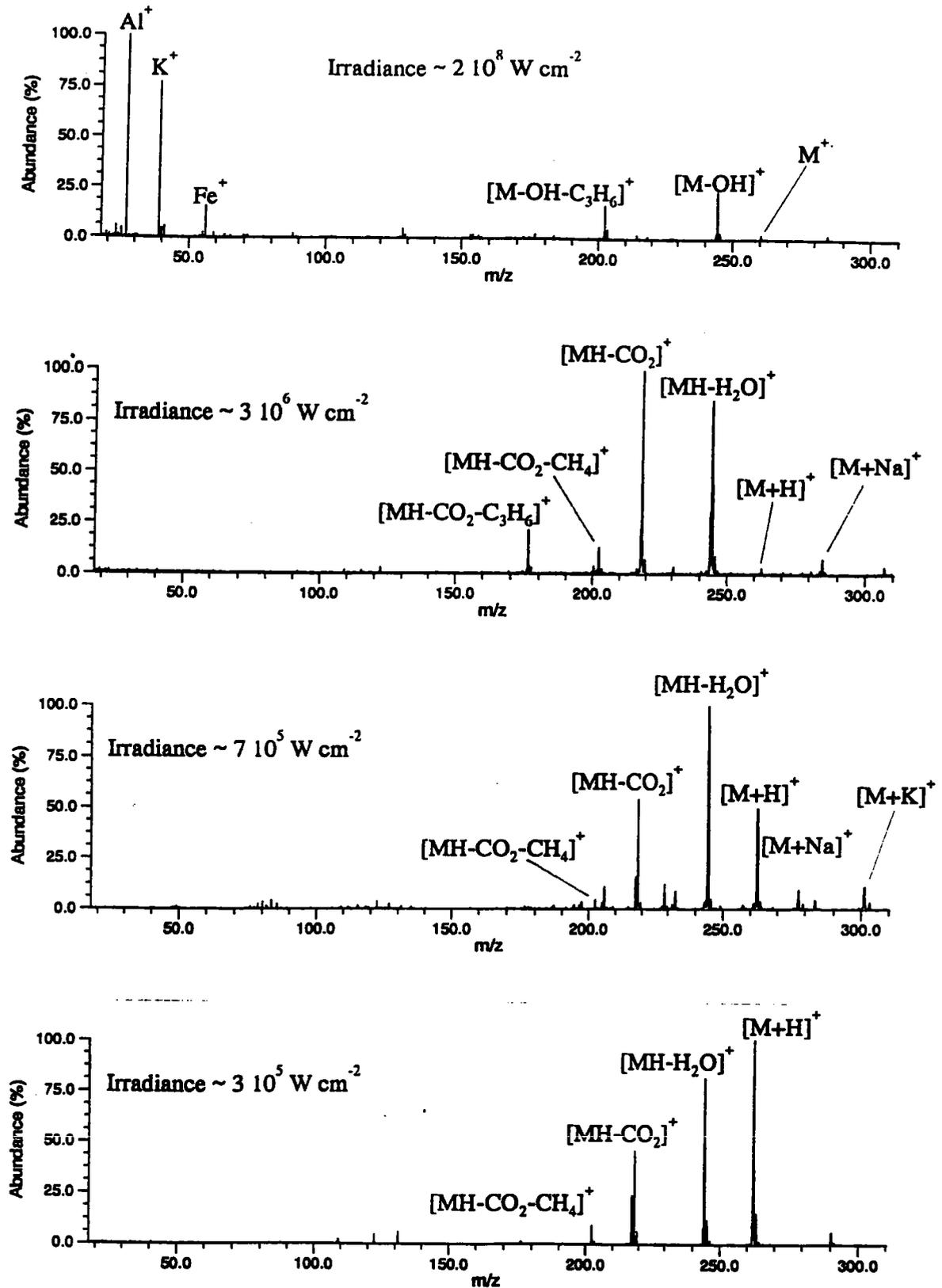


Figure III.12 : Spectres en désorption/ionisation laser à 248 nm de la fluméquine déposée sur support d'aluminium. La fragmentation dépend de l'irradiance utilisée.

Les paramètres de la séquence utilisée sont regroupés en annexe A (Tableau A.1). Un potentiel de piégeage de 0,75 volt a été utilisé, ce qui est généralement suffisant dans le cas de la configuration avec porte-échantillon interne. Les autres paramètres sont maintenus à des valeurs standard sauf le nombre de points qui est de 64K au lieu de 32K utilisés habituellement. Les données présentées ont subi une apodisation "Blackman Harris 3 termes" ainsi qu'un remplissage par des zéros avant transformée de Fourier.

L'échantillon est constitué de quelques cristaux de fluméquine déposés sur un porte-échantillon d'aluminium. Ce composé présente une bande intense autour de 260 nm et son coefficient d'absorption molaire à 248 nm est de $18\,733\text{ l mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$. On note que les intensités relatives des fragments de la fluméquine dépendent fortement de l'irradiance utilisée. Des fragments sont observés même à l'irradiance la plus faible que l'on peut atteindre avec notre instrument en raison de l'absorption intense de la molécule. Les fragmentations de la fluméquine à cette longueur d'onde seront explicitées dans la partie 2 du chapitre suivant.

D'autre part, suivant la longueur d'onde, il peut se produire des phénomènes d'ionisation résonante de certaines impuretés présentes dans l'échantillon. Le taux d'ionisation de ces composés étant très élevé dans les conditions résonantes, ceux-ci peuvent gêner l'analyse de la molécule cible.

Un des facteurs qui passe souvent inaperçu lors d'une analyse est la modification de l'échantillon pendant l'interaction avec le laser. Il est possible, par exemple que les premiers impacts sur la surface de l'échantillon donnent un signal très différents des impacts suivants. Le laser modifie la surface, et si une accumulation de signal est utilisée, le signal global obtenu ne reflétera pas cette modification. Au contraire, si un seul impact est utilisé en changeant de place à chaque essai, on peut ne pas détecter certains ions caractéristiques de l'échantillon.

Comme nous l'avons vu au paragraphe précédent, la nature de la cible détermine l'état de surface. Dans le cas de solides divisés ou répartis dans une matrice, les phénomènes de "points préférentiels" peuvent se manifester et il est très difficile de faire la sélection des spectres représentatifs de l'échantillon.

Il faut également tenir compte de la pression de vapeur saturante de la molécule cible utilisée. En effet, une vaporisation de la molécule cible dans la cellule a pour effet de permettre différents processus d'ionisation, en particulier l'ionisation en phase gazeuse par réaction ion/molécule.

4. Le délai d'ionisation

Il s'agit du temps entre l'ionisation et l'excitation des ions. On peut le faire varier à son gré entre 2 microsecondes et plusieurs minutes. C'est ce délai qui permet des réactions entre les espèces désorbées. Si le signal maximal est obtenu pour un délai d'ionisation supérieur à plusieurs secondes, il est fort probable que l'ionisation se fasse en phase gazeuse comme c'est le cas pour l'atrazine que nous verrons au chapitre suivant.

II. Les paramètres du piégeage

L'étape d'ionisation fournit une certaine population d'ions de masses différentes, présentant des caractéristiques énergétiques variables. Les ions doivent ensuite être piégés dans la cellule pour pouvoir être analysés.

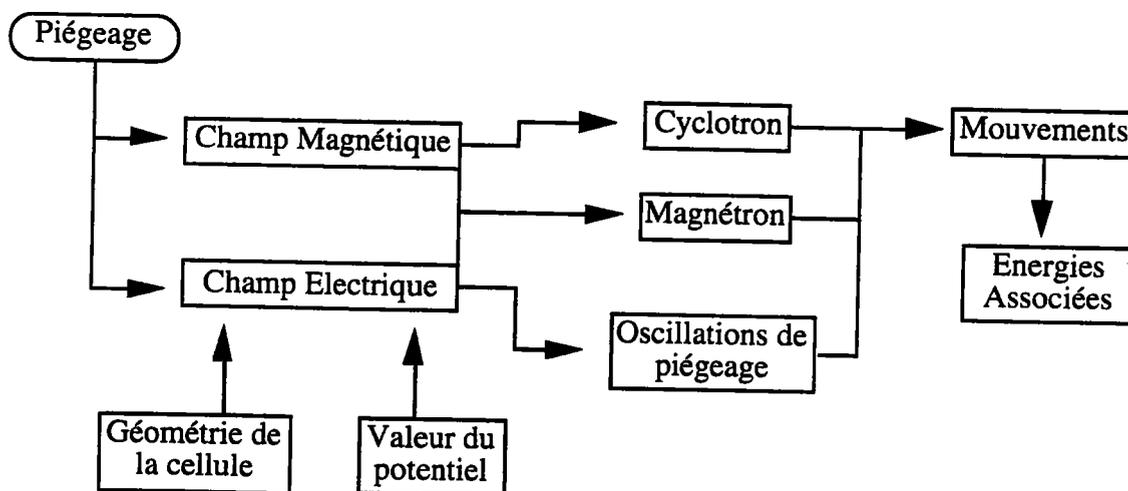


Figure III.13 : Diagramme schématisant les facteurs qui caractérisent le piégeage des ions.

Le piégeage s'effectue comme nous l'avons vu grâce à l'action combinée du champ magnétique statique et du champ électrique appliqué sur les plaques de piégeage. Un des facteurs qui joue un très grand rôle ici est la géométrie de la cellule [16].

A. Le champ magnétique

Comme nous l'avons déjà précisé, le champ magnétique est en général créé par un aimant supraconducteur, il ne s'agit donc pas d'un paramètre que l'on peut faire varier à son gré. Tout au plus peut on envisager un changement de l'aimant mais cette procédure est coûteuse et fastidieuse.

Dans l'équation qui donne la fréquence cyclotronique (équation 4), on voit que les ions de m/z différents ont chacun leur fréquence de précession propre. De plus on constate que l'utilisation d'un champ magnétique plus intense permet une augmentation de la fréquence cyclotronique, ce qui facilite la détection des ions de hautes masses au dessus du bruit de fond environnant dans la gammes des quelques kHz. L'augmentation du champ permet également d'améliorer l'efficacité de piégeage donc la sensibilité et d'élargir la gamme de masse accessible. En effet, la force magnétique étant augmentée, les ions de plus haute énergie cinétique peuvent être piégés.

Une caractéristique intéressante de la FTMS est illustrée par le calcul suivant ; en dérivant la pulsation cyclotronique par la masse, on obtient :

$$\boxed{\frac{d\omega_c}{dm} = -\frac{q \cdot B_0}{m^2} = -\frac{\omega_c}{m} \Leftrightarrow \frac{\omega_c}{d\omega_c} = -\frac{m}{dm}}$$

On voit que la résolution en masse est égale à la résolution en fréquence (au signe près) ; plus la fréquence cyclotronique d'un ion est élevée, plus sa masse pourra être mesurée avec précision. Rappelons que la fréquence cyclotronique d'un ion de masse donnée est proportionnelle au champ magnétique. C'est encore une raison d'utiliser un champ magnétique plus intense.

B. Le potentiel de piégeage

C'est un paramètre qu'il faut contrôler très attentivement. En effet, s'il est trop faible, les ions de grande énergie cinétique seront perdus, mais s'il est trop fort, l'énergie potentielle des ions dans le champ de piégeage sera trop élevée et il se produira une perte d'ions due à une diffusion intense du mouvement magnétron.

En raison de sa composante radiale, le potentiel de piégeage entraîne une perturbation des fréquences cyclotroniques détectées, il s'agira d'en tenir compte lors de

l'étalonnage des spectres à travers le terme de champ électrique comme nous l'avons vu dans la partie précédente. Une table d'étalonnage est constituée de couples masse/fréquence connus qui servent à calculer les coefficients a , b et éventuellement c de l'équation qui relie la fréquence mesurée à la masse (voir tableau III.2). A chaque table est associé le potentiel de piégeage qui a été utilisé lors de la mesure du standard. En pratique, l'utilisation d'une table d'étalonnage avec un potentiel différent de quelques dixièmes de volts seulement entraîne un décalage en masse pouvant aller jusqu'à plusieurs unités dans les gammes de hautes masses (> 1000).

La variation du potentiel de piégeage est également un moyen de discerner la présence de pics dus au bruit de fond électronique. En effet, ces pics ne présentent pas de décalage de fréquence lorsque l'on change le potentiel de piégeage.

C. La géométrie de la cellule

Suivant la géométrie de la cellule, le champ électrique de piégeage prendra diverses formes et l'efficacité du piégeage sera différente. De plus, l'influence de ce champ sur les fréquences cyclotroniques sera modifiée. L'appareil dont nous sommes équipés a été conçu avec un porte-échantillon situé à l'intérieur de la cellule et qui est porté au potentiel de piégeage. Cette géométrie présente l'avantage de permettre l'analyse d'échantillons massifs et elle permet une excellente sensibilité. Cependant, la présence du porte-échantillon perturbe les lignes équipotentiels du champ électrique dans la cellule et l'analyse d'échantillons isolants entraîne des inhomogénéités de champ non quantifiables. La figure III.14 représente les lignes équipotentiels du champ de piégeage dans notre configuration.

Un autre fait que nous devons mentionner est que le porte-échantillon et la plaque de piégeage de la source sont amovibles, pour permettre le changement d'échantillon. Le problème qui se pose alors est celui de la reproductibilité du positionnement de la plaque de piégeage, ce qui peut nuire à la reproductibilité des expériences.

Pour remédier à ces problèmes, il a été décidé de changer de configuration en plaçant le porte-échantillon juste à l'extérieur de la plaque de piégeage de la source. Une étude est en cours pour déterminer l'impact de ce changement sur les résultats obtenus. Nous en reparlerons plus en détail dans la troisième partie de ce chapitre consacrée aux améliorations de l'instrument.

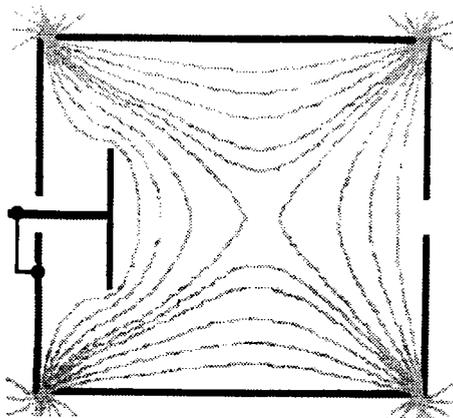


Figure III.14 : Equipotentiels du champ électrique de piégeage dans la cellule avec porte-échantillon interne. Le porte-échantillon est porté au même potentiel que les plaques de piégeage.

D. La pression résiduelle

La pression résiduelle influe sur l'analyse à plusieurs niveaux. Les collisions des ions avec les molécules de gaz présentes ont pour premier effet la relaxation des différents modes d'oscillation. Comme nous l'avons vu, l'amplitude du mouvement cyclotron a tendance à diminuer, tout comme celle des oscillations de piégeage. Le magnétron se comporte différemment et conduit à une éjection des ions à la suite de trop nombreuses collisions. La pression résiduelle limite donc le temps pendant lequel on peut espérer conserver des ions dans la cellule. D'autre part, après la phase d'excitation, les collisions ont pour effet d'accélérer le déphasage des ions, donc de nuire aux capacités de détection.

III. L'excitation des ions

A l'issue de l'ionisation, les ions de même m/z ont une fréquence cyclotronique donnée mais des positions aléatoires dans la cellule ainsi qu'un rayon de giration très faible et une phase quelconque, ce qui ne génère aucun signal sur les plaques de détection (voir figure III.3).

Pour détecter les ions, il faut appliquer un potentiel électrique variable de forme d'onde donnée aux plaques d'excitation afin de provoquer le rassemblement des ions en un paquet qui adopte alors un mouvement cohérent, et d'augmenter leur rayon de giration, les rapprochant ainsi des plaques de détection.

Des formes d'onde variées peuvent être utilisées pour l'excitation [17]. On peut appliquer une différence de potentiel transitoire entre les plaques excitatrices, ou envoyer sur ces mêmes plaques un courant alternatif de fréquence variable dans le temps. On peut enfin employer la méthode SWIFT¹ qui consiste à envoyer sur les plaques un signal résultant de la transformée de Fourier inverse d'une forme d'onde prédéfinie dans le domaine des fréquences.

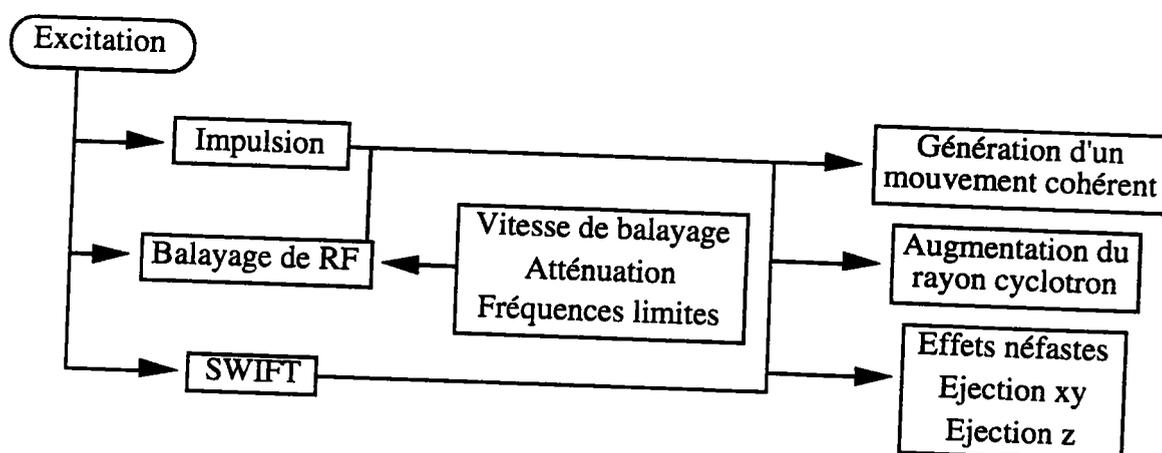


Figure III.15 : Diagramme schématisé de l'excitation.

A. L'excitation par impulsion

C'est la méthode d'excitation la plus simple qui soit, elle est utilisée en général sur des systèmes à champs magnétiques faibles et de dimensions réduites. Elle consiste à envoyer sur les plaques excitatrices un signal rectangulaire pendant un temps très bref [30]. La figure III.16 montre la forme temporelle d'une excitation par impulsion et sa transformée de Fourier.

On se rend aisément compte que le spectre de fréquence excité ne peut être considéré comme "plat" que sur une très faible largeur (environ 10% de sa largeur). Pour exciter de cette manière des gammes de fréquences telles que celles utilisées en FTMS (typiquement 2 MHz) avec une amplitude relativement constante, il faudrait générer une impulsion extrêmement courte (environ 1 μ s) ayant une amplitude déraisonnablement élevée (environ 10 000 volts).

¹ SWIFT : Stored Waveform Inverse Fourier Transform

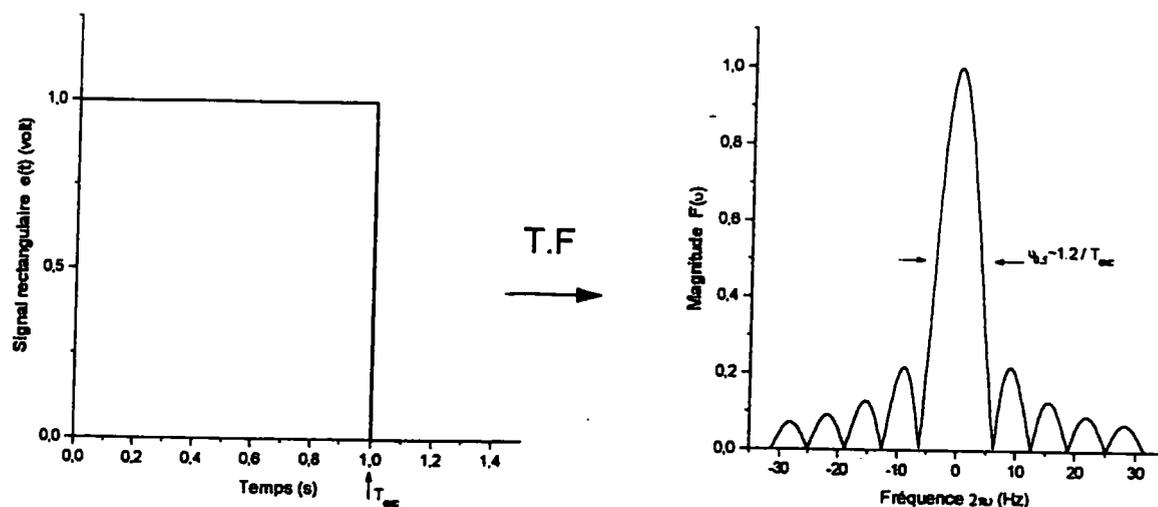


Figure III.16 : Forme d'onde temporelle pour une excitation par impulsion et sa transformée de Fourier.

L'excitation par impulsion n'étant réalisable que sur des plages de fréquences relativement étroites, on a recours à d'autres formes d'ondes d'excitation telles que l'excitation par balayage de fréquence proposée par Comisarow [20] pour l'excitation large bande.

B. L'excitation par balayage de radiofréquences

C'est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle, car elle permet d'exciter de larges gammes de fréquences avec un pouvoir d'excitation peu dépendant de la fréquence cyclotronique. Elle consiste en l'application sur les plaques excitatrices d'une fonction sinusoïdale d'amplitude constante et de fréquence instantanée variant linéairement avec le temps [20] (voir figure III.17).

Un balayage de radiofréquences se caractérise par son amplitude, ses fréquences limites haute et basse et sa vitesse de balayage. Ce sont des paramètres qui ont une influence très forte sur le résultat de l'analyse, il faut donc les régler précisément afin d'obtenir des résultats optimaux. En effet, en fonction de la population d'ions initiale, de leur répartition d'énergie cinétique, ces ions seront plus ou moins susceptibles d'être excités jusqu'à de grands rayons de giration sans pour autant entraîner leur collision avec les plaques. Si le nuage est plus large, l'excitation doit être moins intense comme nous l'avons vu précédemment (voir figure III.5). La désorption laser génère rarement des populations d'ions exactement semblables d'un tir à l'autre. A cause de cela, le signal présente de nombreuses fluctuations et il est difficile d'optimiser les paramètres d'excitation dans ces conditions.

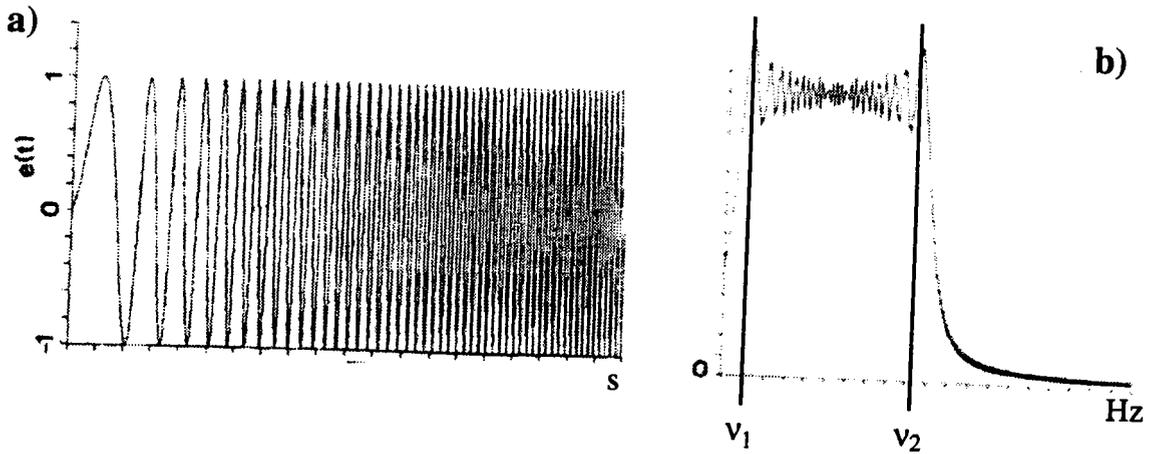


Figure III.17: Signal d'excitation par balayage de fréquences (a) et sa transformée de Fourier (b).

Les limitations de l'excitation par balayage de fréquence sont les suivantes :

- La non-uniformité du spectre de fréquences d'excitation. Bien que l'amplitude du courant d'excitation soit constante, tous les ions ne reçoivent pas exactement le même pouvoir d'excitation (voir figure III.17.b).
- L'éjection suivant la direction z . Comme la période d'excitation est relativement longue comparée à celle des oscillations de piégeage, la composant z du champ d'excitation peut engendrer une éjection de certains ions hors du puits de potentiel de piégeage.

Pour palier à ces problèmes, une nouvelle méthode d'excitation a vu le jour, il s'agit de l'excitation par transformée de Fourier inverse d'une forme d'onde prédéfinie (SWIFT).

C. L'excitation SWIFT (Stored Waveform Inverse Fourier Transform)

La transformée de Fourier est habituellement utilisée pour calculer le spectre dans le domaine des fréquences à partir de la forme d'onde dans le domaine temporel. Cependant, afin d'obtenir une forme d'onde d'excitation optimale dans le domaine temporel il est judicieux de procéder en sens inverse : c'est à dire, définir le spectre discret optimal des fréquences à exciter et d'opérer une transformée de Fourier inverse pour générer la forme d'onde (discrète) correspondante dans le domaine temporel. Cette forme d'onde étant stockée dans la mémoire de l'ordinateur, il est possible de la

passer à un convertisseur numérique-analogique et de l'envoyer sur les plaques émettrices pour l'utiliser comme source d'excitation [31]. La figure III.18 illustre le potentiel de la méthode SWIFT.

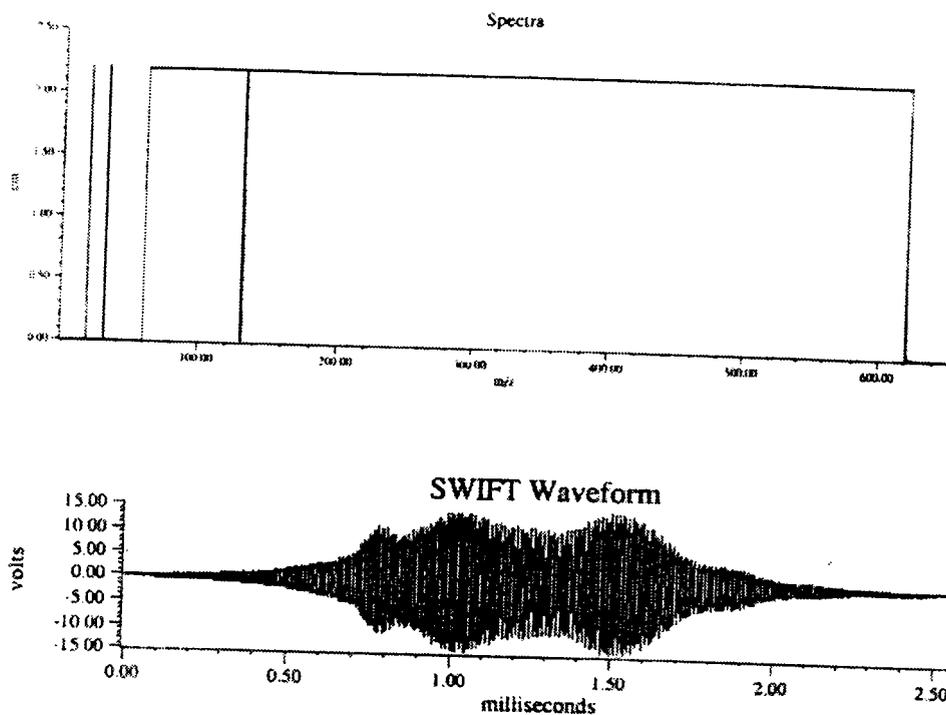


Figure III.18 : Exemple d'application de la méthode SWIFT. Le spectre de fréquences (en haut) indique l'éjection des masses 18, 31 et de tous les ions de masse comprise entre 60 et 620 excepté $132 \pm 0,5$. La transformée de Fourier inverse donne le signal dans le domaine temporel (en bas) à appliquer sur les plaques émettrices.

Le grand avantage de la méthode SWIFT est qu'elle permet d'obtenir des spectres d'excitation de pratiquement n'importe quelle forme, ce qui peut être très utile pour faire des éjections sélectives comme nous le verrons par la suite. Cependant, pour des gammes d'excitation supérieures à quelques dizaines de kilohertz, on arrive rapidement à saturation de la mémoire de l'ordinateur.

IV. Acquisition du signal et opérations mathématiques

L'acquisition et le traitement des données sont les dernières étapes de la séquence d'analyse, la figure III.19 en illustre les paramètres.

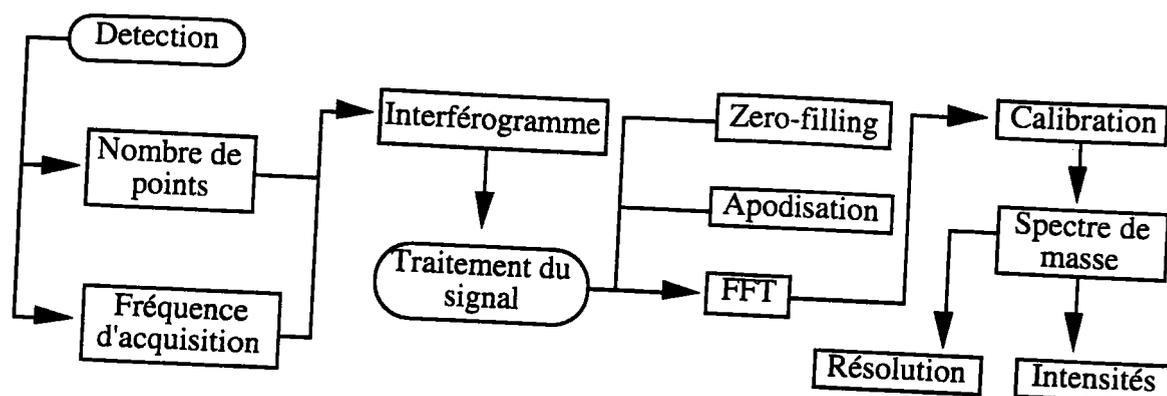


Figure III.19 : Diagramme schématisique présentant les paramètres de la détection et du traitement du signal.

A. Courant image

Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, le signal obtenu est la résultante de l'influence de tous les ions présents dans la cellule sur les plaques de détection. Cette influence dépend essentiellement du nombre d'ions présents ainsi que des rayons de giration des paquets d'ions. Le signal détecté dépendra donc de toutes les étapes préalables à la détection. Il faudra s'en souvenir pour optimiser les paramètres de détection car un signal faible résulte très souvent de l'utilisation de paramètres peu adéquats en amont dans la séquence, et l'augmentation du nombre de points de détection ou la diminution de la fréquence d'acquisition ne pourront à elles seules rattraper les effets néfastes d'autres paramètres. En fait, les paramètres de détection que nous décrirons au paragraphe suivant ne doivent être modifiés que pour améliorer un spectre jugé convenable au préalable.

Il est parfois difficile en FTMS de détecter deux pics de fréquences voisines. C'est le cas entre autres des pics caractérisant le massif isotopique d'un composé organique. Ce fait provient d'un couplage entre les nuages d'ions tournant à des fréquences proches [32]. C'est comme si l'un des nuages poussait l'autre plus rapidement et l'on ne détecte qu'un seul pic mal résolu. Cet effet se fait surtout sentir lorsque les populations ioniques sont importantes et le temps de détection est long. Lorsque tel est le cas, il faut tenter de diminuer les populations d'ions (moins d'énergie d'ionisation, diminution du potentiel de piégeage) et limiter le temps d'excitation autant que possible.

B. Paramètres de la détection

La détection du signal à proprement parler se caractérise par trois paramètres principaux. Le nombre de points de données et la fréquence d'acquisition qui définiront la durée pendant laquelle s'effectuera la détection. Et l'atténuation du signal détecté qui définira le seuil de détection.

Le nombre de points : c'est nécessairement une puissance de 2 en raison de critères spécifiques à l'algorithme FFT (Fast Fourier Transform) utilisé pour traiter les données. Plus le nombre de points de données sera grand, plus la résolution théorique sera élevée pour une fréquence d'acquisition donnée. Mais il est important de noter que pour un signal fortement amorti, l'augmentation du nombre de points aura tendance à diminuer de façon significative le rapport signal sur bruit sans pour autant donner lieu à l'amélioration de résolution escomptée

La fréquence d'acquisition : c'est un paramètre qui peut prendre certaines valeurs bien définies caractérisant l'intervalle entre les points échantillonnés par le convertisseur analogique-numérique. Cette fréquence, d'après le critère de Nyquist, devra être égale au minimum au double de la fréquence la plus haute à détecter [13]. Si ce n'est pas le cas, des pics apparaîtront à des fréquences (donc des masses) qui ne leur correspondent pas dans la réalité (effet de "sous-échantillonnage"). Il est possible néanmoins de remonter à leur fréquence vraie connaissant la fréquence d'acquisition. Si l'on est obligé, pour augmenter la résolution en haute masse, de diminuer la fréquence d'acquisition, il faut s'assurer qu'il n'y a pas d'ions de fréquence supérieure à la moitié cette fréquence ou tout au moins ne pas exciter ces ions afin qu'ils ne gênent pas l'interprétation des spectres.

La détection de fréquences supérieures à la moitié de la fréquence d'acquisition peut néanmoins se révéler très utile. En effet, on peut par ce biais détecter des ions dont le rapport m/z est situé très en deçà des capacités de détection classiques de l'appareil.

L'exemple suivant tiré de la thèse de N. Lobstein [33] illustre cette possibilité. L'échantillon est constitué d'une pastille de nitrure de bore. L'ionisation est réalisée à 248 nm avec une irradiance de $3 \cdot 10^9 \text{ W cm}^{-2}$. Le spectre de la figure III.20 a été réalisé à l'aide de la microsonde laser FTMS 2000 du laboratoire et l'informatique d'acquisition NICOLET 1280.

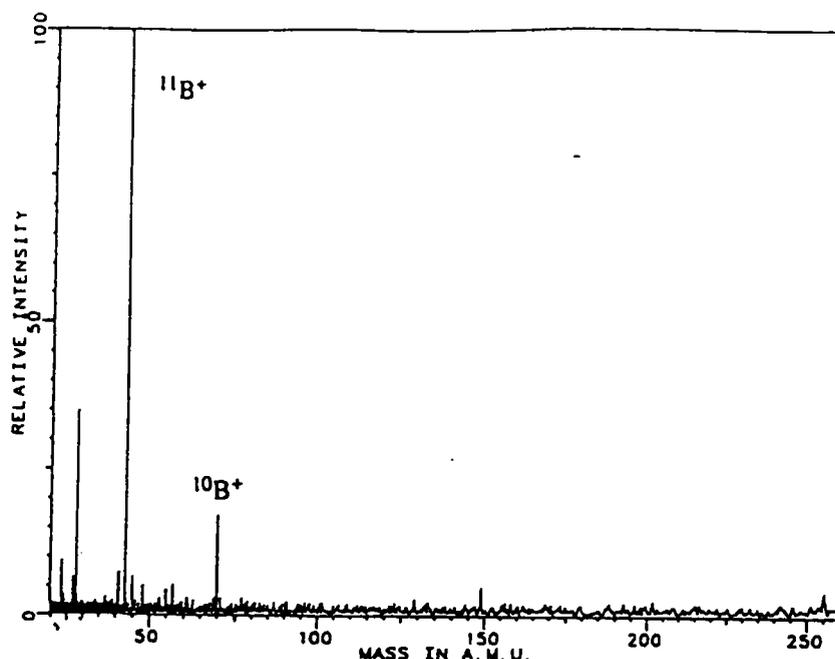


Figure III.20 : Spectre LD/FTMS à 248 nm d'un échantillon de nitrure de bore. D'après [33]

Dans cette configuration, la fréquence d'acquisition maximale est de 5333 kHz, ce qui correspond à une fréquence limite détectable de 2666 kHz ($m/z = 17,6$ à 3,04 tesla). La détection des deux isotopes du bore (^{10}B et ^{11}B) n'est donc pas directement réalisable. Cependant, il est possible d'exciter ces deux ions et de détecter leurs signaux aux masses 43 ($^{11}\text{B}^+$) et 70 ($^{10}\text{B}^+$) par effet de "sous-échantillonnage". Nous ne disposons malheureusement pas de tous les paramètres de la séquence utilisée.

L'atténuation du signal : il s'agit d'un paramètre qui permet de réduire la détection de bruit et d'éviter la saturation du détecteur. En pratique, il faut augmenter ce paramètre lorsque l'intensité du signal détecté dépasse la gamme dynamique du convertisseur analogique-numérique. L'atténuation du signal s'exprime en décibel.

C. Transformée de Fourier, Apodisation, Zero filling

Une fois le signal détecté et stocké dans la mémoire de l'ordinateur, il faut lui appliquer diverses opérations mathématiques afin d'obtenir un spectre de masse. L'opération la plus importante étant la transformée de Fourier qui est réalisée grâce à un algorithme FFT (Fast Fourier Transform).

Avant de réaliser la transformée de Fourier, on peut employer diverses artifices pour améliorer les spectres obtenus. Il s'agit de l'apodisation et du "remplissage" de la mémoire par des zéros (zero filling).

L'apodisation consiste à combiner le signal temporel obtenu à une fonction définie. Le but de l'apodisation est de réduire les oscillations de la ligne de base du spectre à proximité des pics. Ces oscillations sont une conséquence du caractère discret du signal enregistré [13] et peuvent gêner la détection d'un pic de faible intensité à proximité d'un pic intense. Cependant, le spectre résultant après apodisation est différent de sa forme initiale. En général, l'apodisation permet d'améliorer l'aspect visuel des spectres mais il y a souvent une perte d'information. Les résultats obtenus à partir d'un interférogramme soumis à différentes fonctions d'apodisation sont regroupés en annexe D.

Le "remplissage" de zéros a une autre fonction, et bien qu'il s'agisse d'une méthode fort simple, il permet d'obtenir plus d'informations à partir d'un interférogramme donné. En effet, la transformée de Fourier se fait dans le corps des complexes et génère des fréquences positives et négatives. Le nombre de points du spectre réel dans le domaine des fréquences est donc la moitié du nombre de points détectés (c'est pourquoi le nombre de points détecté est nécessairement une puissance de 2). En ajoutant en mémoire à la suite du signal détecté un certain nombre de fois autant de zéros qu'il y a de points de mesure, on augmente artificiellement le nombre de points du spectre dans le domaine des fréquences. Ceci est important notamment pour la précision en masse et en intensité car un pic étant constitué d'un plus grand nombre de points, son maximum sera mieux déterminé [34]. L'influence du nombre de zéros ajoutés sur les spectres obtenus est montré en annexe D.

D. Le mode hétérodyne

C'est le meilleur moyen d'augmenter la résolution sur une plage étroite de fréquences (quelques milliers de Hz). Il faut néanmoins passer par une phase relativement ardue de préparation.

Le mode hétérodyne consiste à mélanger aux fréquences détectées une fréquence de référence et à enregistrer le phénomène de battements obtenu [13]. Le signal est ensuite passé par un filtre passe bas pour détecter uniquement les pics résultant de la combinaison $\omega_+ - \omega_{ref}$ (voir figure III.21).

Cette méthode permet de détecter pendant un temps beaucoup plus long car on s'intéresse à des basses fréquences et on peut échantillonner avec une période

nettement plus longue. Elle permet d'obtenir de très hautes résolutions avec une mémoire minimale. Il faut cependant garder à l'esprit que cette méthode ne fonctionne bien que sur des gammes de fréquences relativement étroites et que les paramètres de piégeage et d'excitation doivent être optimisés au préalable pour obtenir un signal très faiblement amorti.

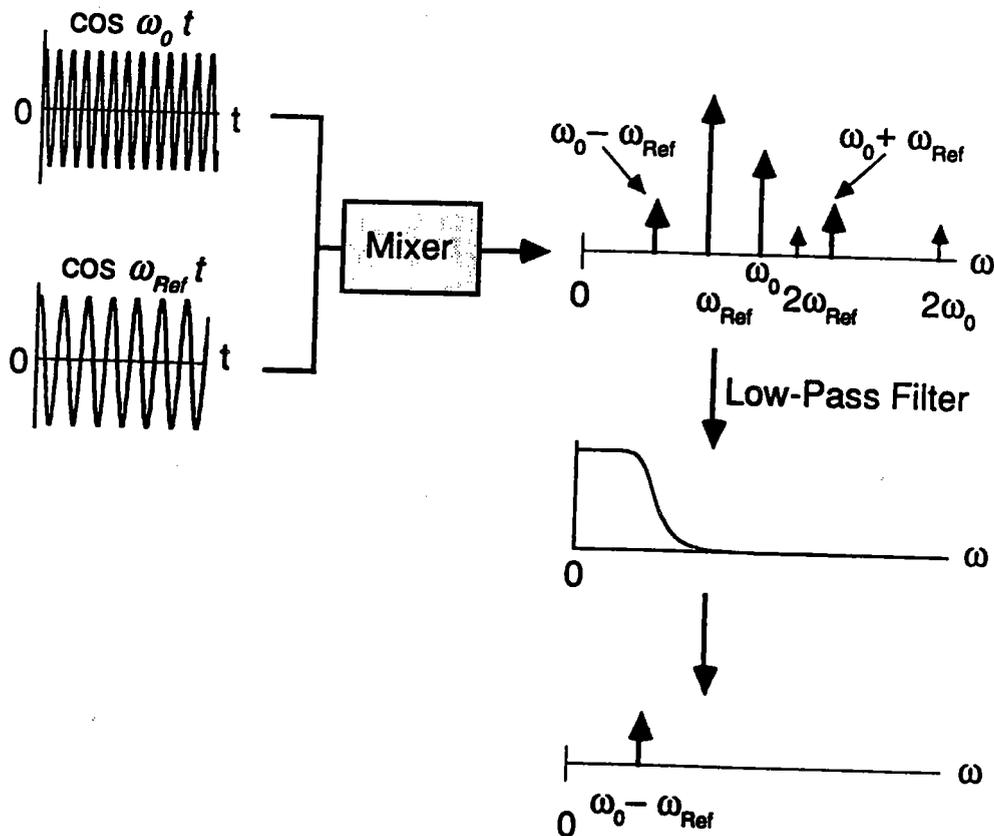


Figure III.21 : Schémas de fonctionnement du mode hétérodyne (d'après [13]).

L'exemple suivant démontre les capacités particulières du mode hétérodyne. Un échantillon de dicoronène obtenu par pyrolyse à 650°C du coronène a été analysé à 266 nm avec une irradiance d'environ 10^6 W.cm^{-2} .

L'excitation et le piégeage ont tout d'abord été optimisés en mode direct. Nous avons rencontré un problème de couplage de nuages d'ions dû à une densité ionique importante avec cet échantillon. Nous reviendrons sur ce problème ultérieurement (voir le paragraphe VI). Le piégeage et l'excitation ont été optimisés en mode direct. Il est apparu que le fait de porter la plaque de piégeage source à 3 volt pendant l'ionisation permet de diminuer la densité ionique et de diminuer ainsi les couplages. De plus une excitation très courte est favorable. En second lieu, nous avons réduit la

gamme de fréquences en mode hétérodyne pour finir par détecter seulement la gamme correspondant aux masses 585 uma à 605 uma. La liste complète des paramètres de la séquence utilisée est donnée en annexe A (tableau A.2)

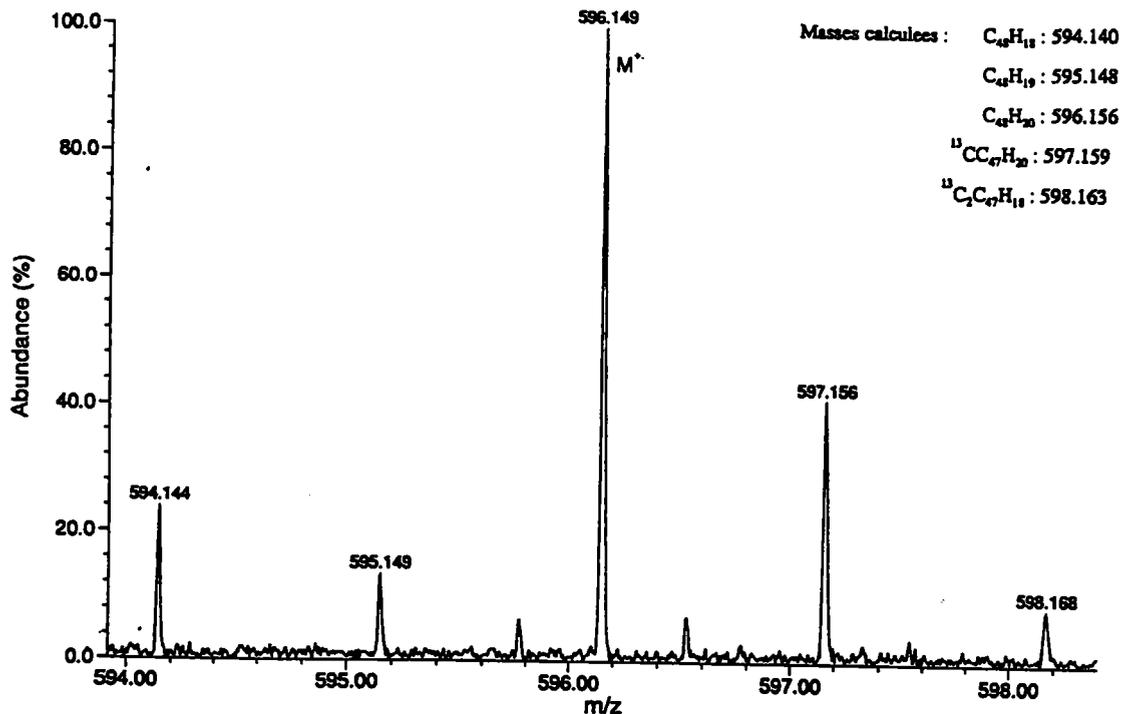


Figure III.22 : Spectre en mode hétérodyne du dicoronène.

La détection en mode hétérodyne nous a permis d'accumuler le signal sur une durée totale de plus d'une seconde et demie et d'obtenir ainsi une résolution de l'ordre de 50000 à la masse 596 avec seulement 8 Koctets de mémoire utile. On distingue sur le spectre le massif isotopique du dicoronène ainsi que les fragment provenant de la perte d'un ou plusieurs protons (voir figure III.22).

V. Différentes manipulations des populations d'ions

Après l'étape d'ionisation, lorsque les ions sont piégés au sein de la cellule, il est possible de leur faire subir différents traitements qui vont pouvoir améliorer la qualité des spectres obtenus, ou encore augmenter l'information apportée par ces spectres. Il est également possible de faire réagir ces ions avec des molécules neutres en phase gazeuse. La figure suivante illustre les différentes possibilités de manipulation qui sont disponibles sur l'instrument dont nous disposons.

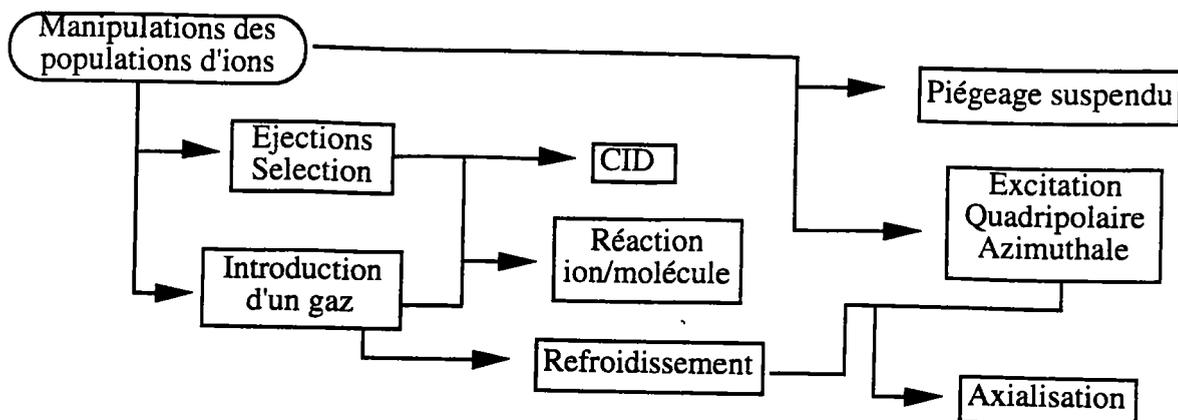


Figure III.23 : Diagramme des manipulations des populations d'ions.

Ces manipulations peuvent servir différents objectifs que nous répertorions ci-après :

A. Déterminations de structures :
les techniques de dissociation des ions

Cela consiste à sélectionner un type d'ions dits "ions parents", puis à leur donner une énergie suffisante pour fragmenter [35]. La sélection s'opère en excitant tous les ions sauf l'ion intéressant jusqu'à un rayon qui excède les dimensions de la cellule (cf. le paragraphe C). Le problème qui se pose ici est celui de la sélectivité de l'excitation. Pour éjecter des ions de rapports m/z très différents de l'ion intéressant, une excitation par balayage de fréquence est suffisante. Lorsque l'éjection doit se faire à des masses proches, il vaut mieux utiliser une excitation SWIFT pour une sélectivité optimale [36]. Dans tous les cas, il vaut mieux utiliser une impulsion d'éjection la plus courte possible pour éviter l'expulsion des ions intéressants par la composante en z du champ d'excitation.

Après avoir sélectionné les ions parents, diverses méthodes sont envisageables pour les fragmenter : la dissociation induite par collision (CID), la dissociation par impact sur une surface (SID) ou encore la photofragmentation. Dans le cas de la CID, les ions sélectionnés doivent ensuite être accélérés en présence du gaz de collision, et leur degré de fragmentation dépendra de leur énergie cinétique. On obtient ensuite un spectre "d'ions fils", mais si on le désire, un type "d'ion fils" peut être sélectionné à son tour pour être le "parent" d'une génération suivante. La FTMS est une des rares techniques qui permet cette méthode dite de spectrométrie de masse à plusieurs étages.

B. Détermination de réactivité : réaction ion / molécule

Pour effectuer des réactions entre les ions et des molécules neutres, il faut tout d'abord sélectionner l'ion réactif comme précédemment. Ensuite, la molécule réactive est introduite dans la cellule en phase gazeuse. Il peut s'agir soit d'un solide qui sublime dans la cellule, soit d'un gaz ou d'une vapeur introduits au moyen de vannes de fuite ou de vannes pulsées. Les réactions peuvent alors être étudiées sur des temps variant de quelques microsecondes à plusieurs dizaines de secondes. C'est ainsi que l'on peut déterminer par exemple des échelles d'affinités protoniques [37], des constantes de vitesses de réactions ou d'équilibre [13]. Les ions réactifs peuvent également être excités afin d'obtenir des énergies cinétiques permettant aux réactions de s'effectuer. On parle alors d'ionisation interne par impact d'ions (III ou I4) [38].

Nous présentons ici un exemple tiré d'une étude portant sur les produits de réactions entre l'acétophénone en phase gazeuse et divers cations métalliques [39]. Il s'agit de la réaction entre des ions Mg^+ produits par désorption laser et des molécules neutres d'acétophénone (L). La séquence utilisée est représentée figure III.24.

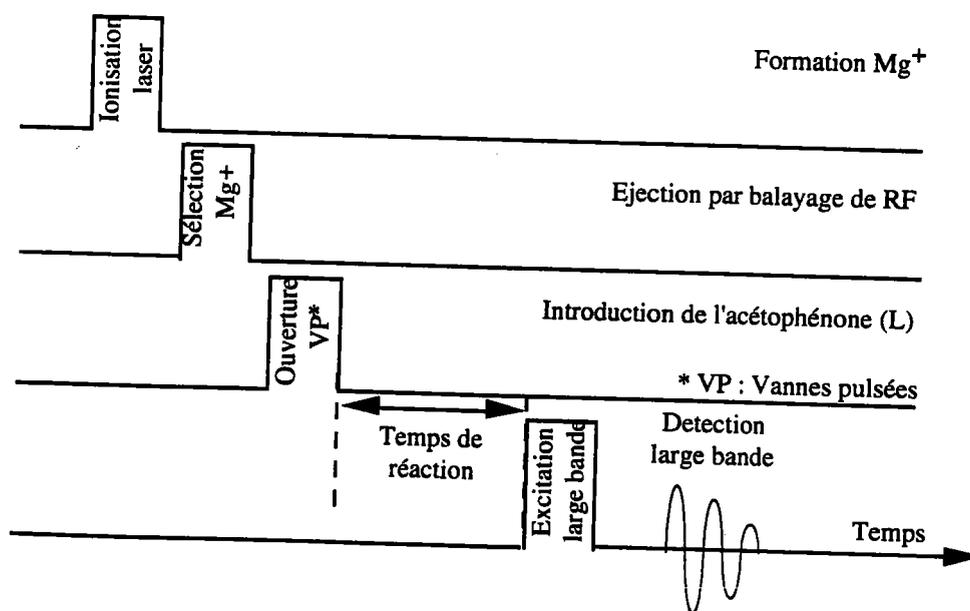


Figure III.24 : Séquence utilisée pour étudier la réactivité de l'acétophénone (L) vis à vis du cation Mg^+ .

Les ions Mg^+ ont été créés par ionisation laser d'une cible de grains de magnésium. L'acétophénone (L) a été introduite dans la cellule après l'impulsion laser d'ionisation et un délai de quelques millisecondes à plusieurs secondes a été appliqué pour

permettre à la réaction d'avoir lieu avant l'excitation et la détection des produits formés. Les paramètres de la séquence sont regroupés en annexe A (Tableau A.3).

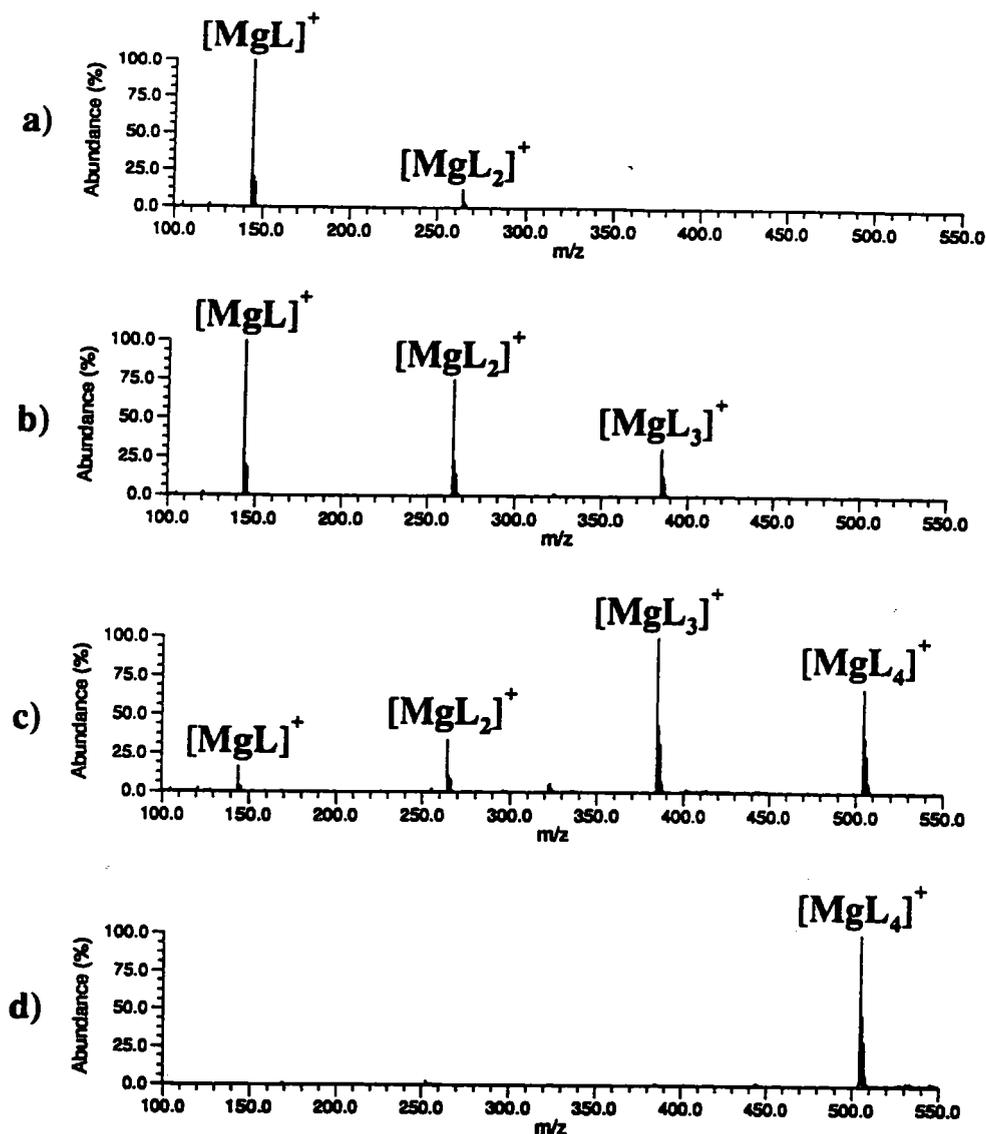


Figure III.25 : Spectres obtenus après réaction entre les ions Mg^+ formés par ionisation laser et des molécules neutres d'acétophénone (L). D'après [39]. Les temps de réaction sont de 1s (a) ; 2,5 s (b) ; 5 s (c) et 10 s (d)

Le spectre de la figure III.25 illustre les résultats obtenus pour divers temps de réaction. On distingue clairement la cationisation d'une molécule d'acétophénone $[\text{LMg}]^+$ et la formation de complexes de plus hauts rangs : $[\text{L}_x\text{Mg}]^+$ avec $x=2$ à 4. Les abondances relatives de ces complexes varient avec le temps de réaction : A partir de 100 ms, le complexe $[\text{LMg}]^+$ est détecté et au bout de 10 secondes, seul le complexe le plus stable $[\text{L}_4\text{Mg}]^+$ est observé.

C. Amélioration des caractéristiques spectrales : résolution, sensibilité

1. Transfert vers la cellule analyse

Comme nous l'avons déjà noté, la désorption laser génère des ions dotés d'une certaine énergie cinétique qui adoptent une distribution de rayons relativement large. Ceci nuit à la sensibilité et à la résolution. L'instrument dont nous disposons comporte une double cellule. Il est possible de transférer une partie des ions formés de la cellule source vers la cellule analyse en mettant à la masse la conductance limite pendant un bref instant [40]. Seuls les ions de rayon inférieur à celui de l'orifice de la conductance limite passeront en cellule analyse, il est possible d'avoir alors une moins grande distribution de rayons et d'améliorer ainsi la résolution. En ce qui concerne la sensibilité, elle sera en général réduite car, au maximum, la moitié des ions présents en source passeront en analyse. Cependant, lorsque des populations importantes d'ions sont présentes en source, le transfert en analyse peut s'avérer un bon moyen de diminuer l'effet de charge d'espace améliorant ainsi la précision des mesures de fréquences.

2. Éjection sélective

Il est possible d'éjecter sélectivement un ou plusieurs types d'ions dont l'abondance gêne les observations afin de détecter les composants minoritaires d'un mélange [36]. La présence des ions majoritaires, en plus de gêner l'observation des ions intéressants, crée une charge d'espace importante dans la cellule, ce qui a pour effet de décaler les fréquences cyclotroniques, leur éjection comporte donc un double avantage.

Cette éjection se fait comme précédemment par excitation jusqu'à un rayon excédant les dimensions de la cellule par l'une ou l'autre des méthodes d'excitation décrite dans la partie "Excitation des ions" (paragraphe C.).

3. Piégeage suspendu

Nous avons vu que la qualité des spectres obtenus en FTMS pour des populations d'ions importantes était détériorée par les effets d'espace de charges. Ces effets sont, entre autres, la diminution de la résolution, les complications au niveau de l'étalonnage et une diminution de la gamme dynamique de l'instrument. Comme les performances

du système FTMS dépendant fortement des populations ioniques initiales, il est souvent perçu comme une méthode difficile et peu fiable comparé à d'autres analyseurs pour de nombreuses techniques d'ionisation. C'est le cas notamment pour les méthodes de désorption/ionisation de solides qui génèrent des populations d'ion variables.

En 1989, Laude et coll ont proposé une méthode très simple de diminuer la charge d'espace par une autorégulation des populations d'ions [26]. Il s'agit de suspendre le potentiel de piégeage pendant un court instant (< 1 ms) afin que les ions excédentaires soient évacués de la cellule par effets de répulsions coulombiennes. Ceci était déjà utilisé auparavant dans les spectromètres à source externe pour admettre les ions dans la cellule [41]. Une séquence typique de piégeage suspendu est représentée figure suivante.

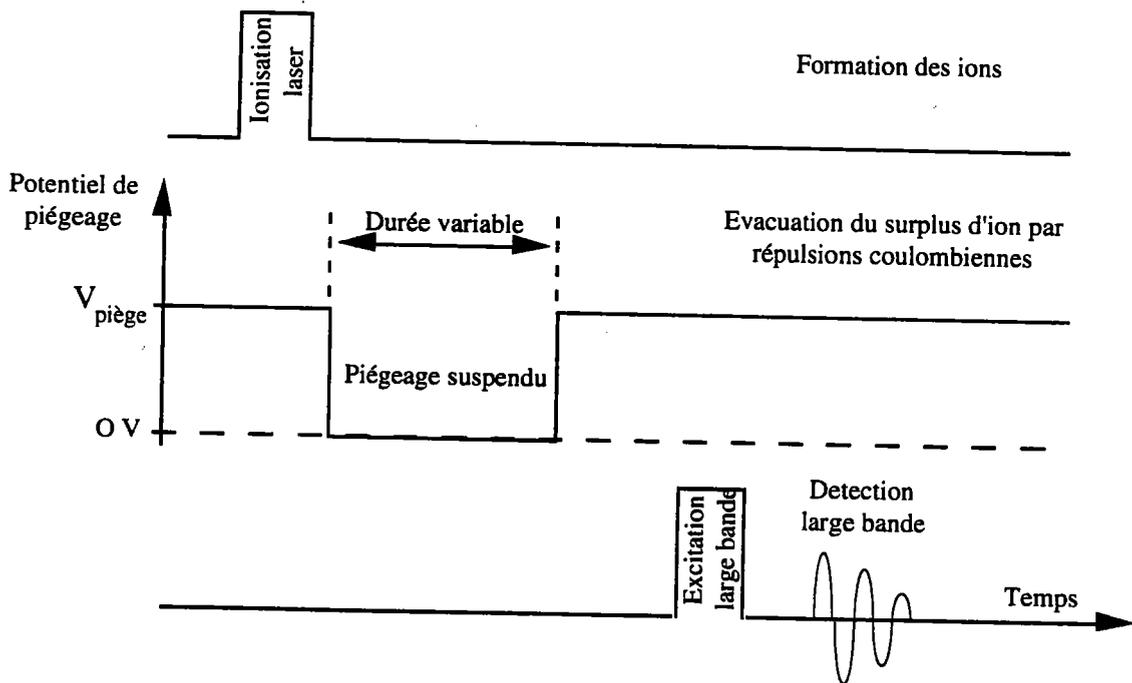


Figure III.26 : Séquence type de piégeage suspendu. Le délai durant lequel le piégeage est suspendu doit être optimisé en fonction des populations ioniques.

Cette méthode présente l'avantage de simplifier grandement la calibration des spectres en minimisant la contribution du terme associé à la densité ionique dans l'expression mathématique reliant la fréquence à la masse. L'inconvénient est que les populations d'ions échantillonnées ne sont pas nécessairement proportionnelles au populations initiales, une information est donc perdue.

La technique du piégeage suspendu ne doit donc être utilisée que lorsque l'on a un indice important d'un effet d'espace de charge (décalage en masse, difficulté d'étalonnage) ou à titre de confirmation pour déceler des composants mineurs d'un mélange. De plus, il faut toujours veiller à garder pour référence un spectre acquis sans suspension de piégeage.

La figure III.27 illustre le potentiel de la méthode du piégeage suspendu en ce qui concerne la détection de magnésium à très faible teneur (12 ppm) dans un alliage de zinc. Cet alliage contient divers éléments dans les proportions suivantes : Mg : 12 ppm (plutôt en surface), Al : 150 ppm, Cu : 1700 ppm, Ti : 750 ppm. Les ions Mg^+ n'étaient pas détectés dans les conditions standard d'analyse, même après éjections des ions du zinc. La méthode nous a permis de déceler la présence de magnésium dans l'échantillon. Les conditions optimisées pour ce spectre étaient : laser 266 nm focalisé ($\sim 10^9 \text{ W cm}^{-2}$) ; potentiel de piégeage 2V ; suspension du piégeage pendant 10 μs ; éjection des ions dans la gamme de m/z 31,5 à 68,5 par balayage de fréquences ; excitation et détection large bande ; 8 kilo-octets de points pour la détection ; accumulation de 30 interférogrammes. Tous les paramètres de la séquence utilisée sont regroupés en annexe A (Tableau A.4).

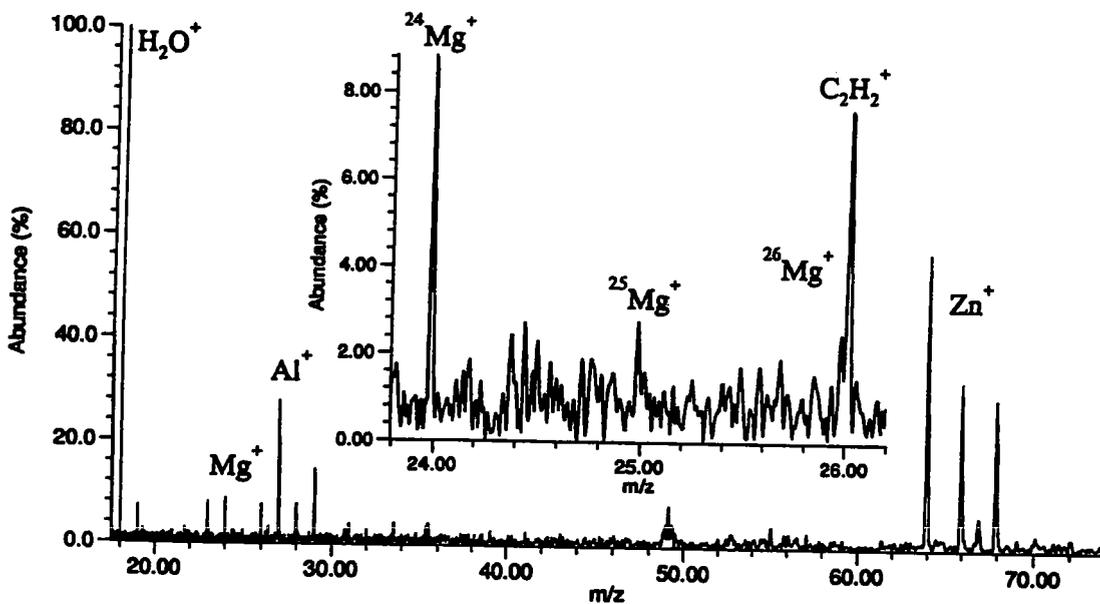


Figure III.27 : Spectre de masse en désorption laser d'un échantillon de zinc contenant 12 ppm de magnésium obtenu par la méthode de piégeage suspendu avec éjection des ions dans la gamme de m/z 31,5 à 68,5. Laser 266 nm (irradiance 10^9 W.cm^{-2}). Piégeage suspendu pendant 10 μs .

On détecte encore les ions du zinc malgré l'éjection appliquée. En raison de la grande abondance de ces ions, une éjection complète nécessite un balayage de radiofréquence encore plus lent, ce qui a pour effet d'exciter les oscillations de piégeage des ions intéressants et les signaux du magnésium ne sont plus détectés.

Le spectre obtenu montre l'ion Al^+ et les ions correspondant à Mg^+ avec des abondances relatives de 27,8 % et 8,83% (^{24}Mg). Ces abondances ne sont pas en accord avec la composition de l'alliage. Pour expliquer cette différence, on peut invoquer une différence de répartition des composés (le magnésium est plus en surface) ou encore une influence plus grande de l'éjection sur les ions Al^+ .

4. "Refroidissement" des ions

Pour que l'étape d'excitation soit efficace, il faut que les ions de même masse réagissent au champ d'excitation de la façon la plus homogène possible. Pour cela, il est nécessaire d'avoir des distributions de rayons initiaux les plus resserrées possibles donc des énergie cinétiques minimales.

Nous avons vu que l'étape d'ionisation présente l'inconvénient, notamment pour l'ionisation laser de créer de larges distributions d'énergies cinétiques. Il est possible de diminuer ces écarts en utilisant la relaxation par frottements. Il s'agit d'introduire un gaz de collision qui va entraîner une relaxation des ions vers le centre de la cellule. Cependant, comme nous l'avons vu dans l'effet de la pression résiduelle sur le piégeage, de telles collisions vont également générer une diffusion du mouvement magnétron et entraîner la perte d'ions, ce qui ruine l'intérêt d'une telle méthode.

Certaines études montrent que pour des ions beaucoup plus massifs que les neutres, si le temps d'interaction entre les ions et les molécules neutres est suffisamment court, une amélioration des spectres est possible par cette méthode. Il est même possible par ce biais de procéder à plusieurs mesures sur la même population d'ions [42] .

Néanmoins, l'introduction d'un gaz de refroidissement permet d'atteindre le but recherché lorsqu'il est couplé à l'utilisation de l'excitation quadripolaire azimutale comme nous allons le voir.

5. Axialisation des ions par refroidissement et excitation quadripolaire azimutale

L'axialisation par refroidissement et excitation quadripolaire azimutale est considéré à juste titre comme la plus grande innovation en FTMS de ces 10 dernières années. Cette méthode permet en effet des gains de sensibilité et de résolution inespérés en réduisant de façon sensible les distributions de rayons initiaux des ions.

L'excitation quadripolaire azimutale est réalisée dans la cellule cubique en branchant le signal d'excitation à une paire d'électrodes opposées et un signal identique mais déphasé d'un angle π à l'autre paire d'électrodes [43]. Les quatre électrodes parallèles au champ sont donc utilisées dans ce mode d'excitation (les deux plaques émettrices et les deux plaques réceptrices).

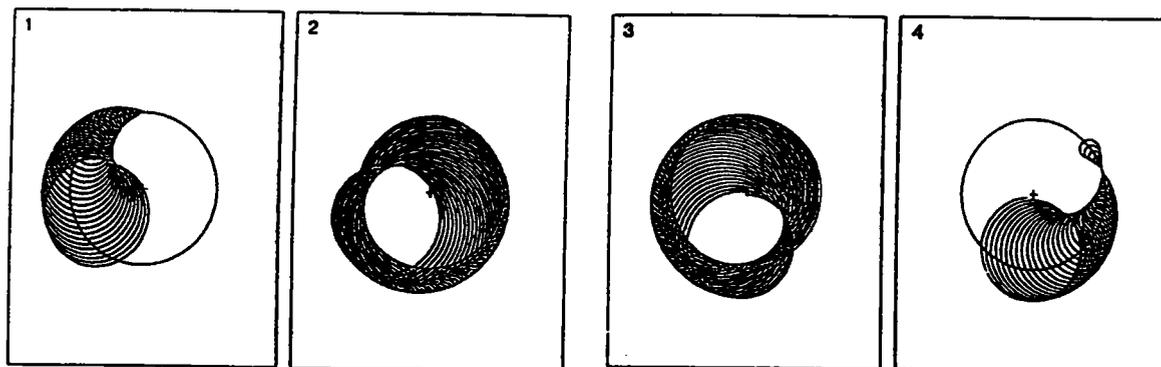


Figure III.28 : Représentation de la conversion entre les mouvements cyclotron et magnétron lors d'une excitation quadripolaire azimutale à la fréquence ω_c . D'après [44].

On peut montrer que dans ces conditions il existe trois fréquences d'excitation qui provoquent un effet à long terme sur le mouvement des ions [43] : $2\omega_+$, $2\omega_-$ et $\omega_c = \omega_+ + \omega_-$. Cette dernière fréquence a une influence tout particulière, en effet une excitation quadripolaire à la fréquence ω_c entraîne une perpétuelle conversion entre les modes d'oscillation cyclotron et magnétron. C'est à dire que, tant que l'excitation est appliquée sur les quatre plaques, le mouvement cyclotron des ions va augmenter tandis que le magnétron diminue et vice et versa (voir figure III.28).

Le grand intérêt de cette conversion est que contrairement au mouvement magnétron dont l'amplitude augmente à la suite de collisions avec des neutres, l'amplitude du mouvement cyclotron, quant à elle, diminue (voir Chapitre III partie I). Comme il a été montré que le mouvement cyclotron décroît plus rapidement que ne croît le

magnétron, lors des collisions, on a globalement un regroupement des ions excités autour de l'axe de la cellule. Cette méthode est actuellement en cours d'implantation sur notre instrument.

VI. Exemples suivis d'optimisation de spectre

Afin de mieux cerner les problèmes qui peuvent se poser lors de l'analyse par LD-FTMS, nous proposons ici deux exemples suivis. Nous verrons comment, suivant les cas, on peut améliorer la réponse en faisant varier certains paramètres de façon judicieuse.

A. Exemple du dicoronène

Des échantillons de dicoronène synthétisé par pyrolyse de coronène nous ont été fournis par Mme Christine Joblin du CESR de Toulouse afin de les caractériser par désorption laser. Ces échantillons se présentent sous forme d'aiguilles rouges mélangées à des suies (voir figure III.29).

Ces aiguilles adhèrent très peu au porte-échantillon et nous avons donc choisi de les fixer en les pressant sur une feuille d'indium. L'indium étant malléable, les aiguilles s'enfoncent dans la surface. La feuille d'indium ainsi préparée a été traitée comme les autres échantillons.

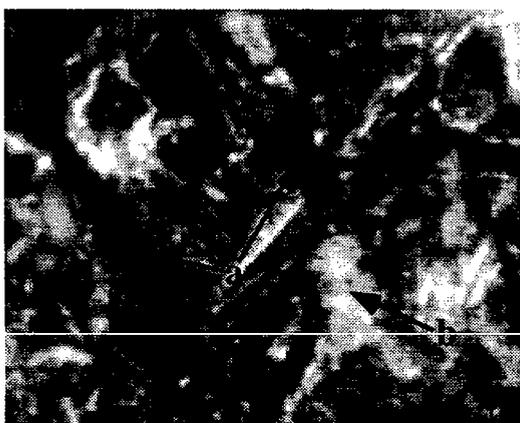


Figure III.29 : Photo à la binoculaire (grossissement 119x : 1 cm=151 μ m) de l'échantillon de dicoronène sur indium. On distingue des amas d'aiguilles de dicoronène (a). Les résidus jaunes (b) sont des restes de coronène non pyrolysé.

Les paramètres de la séquence employée tout au long de cet exemple sont regroupés dans le tableau III.3. L'étude a été réalisée en configuration échantillon externe (voir partie III du présent chapitre) et le laser excimère à 248 nm a été utilisé pour l'ionisation.

Dans un premier temps, il est nécessaire de trouver l'irradiance optimale pour désorber et ioniser le composé. L'indium est tout d'abord détecté et domine le spectre jusqu'à des irradiances proches de $8 \cdot 10^6 \text{ W cm}^{-2}$. En dessous de ce seuil, c'est le pic m/z 596 correspondant au dicoronène qui prédomine. L'optimisation du paramètre irradiance n'est pas aisée en raison des très grandes disparités que l'on observe entre différentes zones de l'échantillon. Comme il s'agit d'aiguilles de faibles dimensions, on ne peut pas définir avec précision l'irradiance efficace. Nous parlerons donc de l'irradiance rapportée à la surface (supposée plane) de l'impact.

Tableau III.3 : Liste des paramètres utilisés pour l'optimisation de la séquence d'analyse. Les lettres se rapportent aux spectre de la figure III.30

Paramètre	Std (a)	b	c	d	e	f
$V_{\text{piège}} \text{ (V)}^1$	2	2	2	2	2	2
$V_{\text{srce}} \text{ (V)}^2$	2	2	3	3	3	3
$DLi \text{ (ms)}^3$	100	100	100	100	100	100
$SWR \text{ (Hz/}\mu\text{s)}^4$	2500	2500	2200	2500	3000	2500
$AT_{\text{exc}} \text{ (dB)}^5$	0	0	0	0	0	0
Basse fréq (Hz) ⁶	2076	4000	4000	4000	4000	9270
Haute fréq (kHz) ⁷	2666	2666	467	400	200	200
$T_{\text{exc}} \text{ (}\mu\text{s)}^8$	1219	1219	211	159	85	76
$V_{\text{acq}} \text{ (kHz)}^9$	5333	5333	941,2	800	410,3	202,5
$AT_{\text{rec}} \text{ (dB)}^{10}$	5	5	6	18	18	12
NDP (Koctet) ¹¹	32	64	16	64	64	64
$T_{\text{det}} \text{ (ms)}^{12}$	6,15	12,29	17,41	81,92	159,74	323,58
ZFL ¹³	1x	1x	1x	1x	1x	1x

1 Potentiel de piégeage. 2. Potentiel de la plaque source pendant l'ionisation (1 ms). 3. Délai après l'impact laser. 4. Vitesse de balayage de RF (Sweep Rate). 5 Atténuation du signal d'excitation. 6. Fréquence limite basse d'excitation. 7. Fréquence limite haute d'excitation. 8 Durée totale d'excitation. 9. Fréquence d'acquisition. 10. Atténuation de réception du signal. 11. Nombre de point d'acquisition. 12. Durée d'acquisition. 13. Nombre de remplissage de zéros.

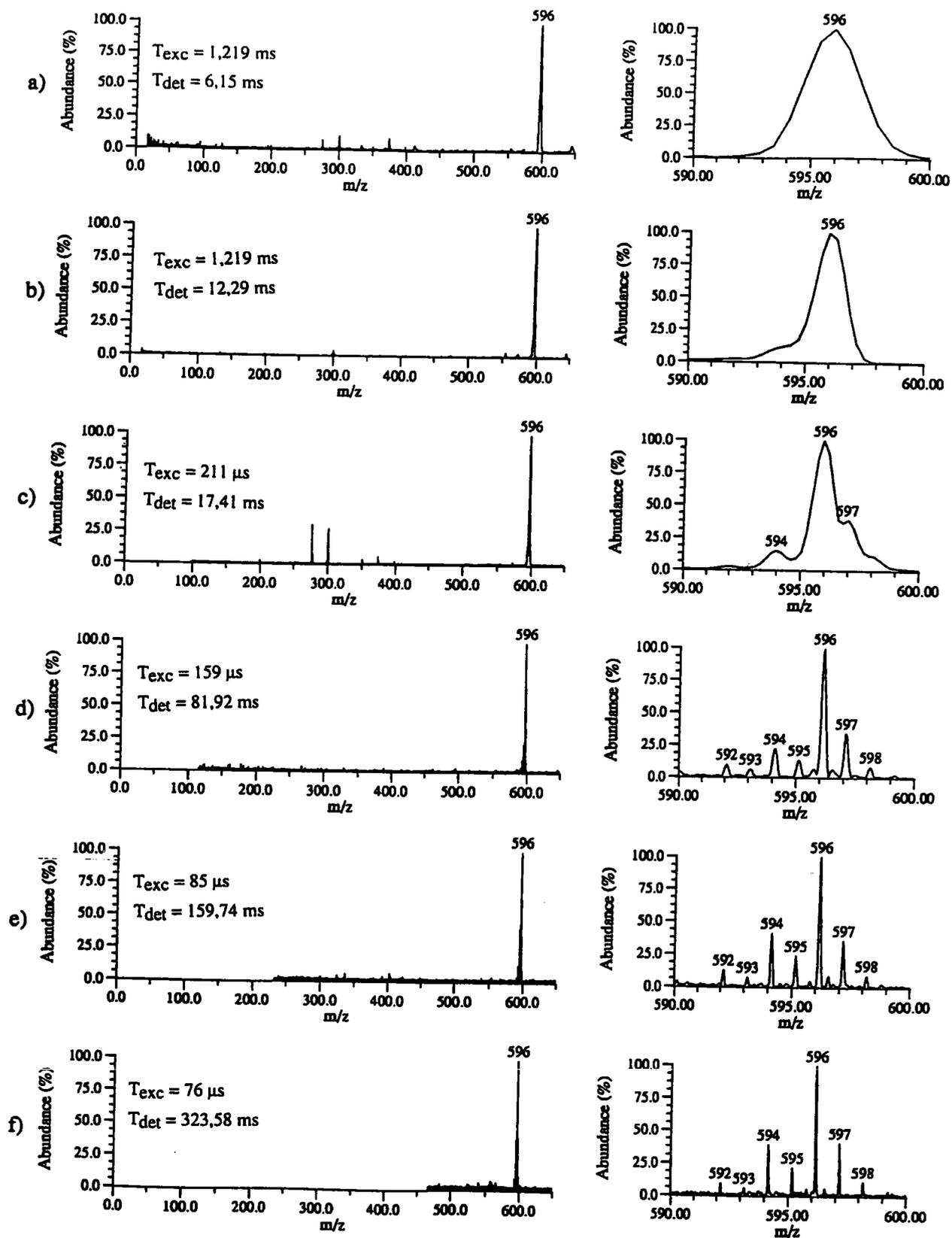


Figure III.30 : Evolution des spectres en désorption/ionisation laser à 248 nm de dicorone pyrolytique lors de la recherche des paramètres optimaux.

Dans les conditions standard, c'est entre 3 et 5 10^6 W cm^{-2} que l'on note un signal maximal du dicoronène. Nous avons choisi de nous placer à environ $4,6 \cdot 10^6 \text{ W cm}^{-2}$ pour des raisons pratiques. A cette irradiance, les aiguilles sont peu affectées par le laser et de nombreux impacts peuvent être effectués au même endroit avec une variation d'intensité acceptable (environ 20 %). Ceci nous évite de rechercher constamment des zones optimales. Un seul impact est suffisant pour obtenir un signal intense et il n'est donc pas nécessaire d'avoir recours à des accumulations.

Évaluons à présent la qualité des spectres obtenus dans les conditions standard (voir tableau III.3. colonne a). Dans ces conditions, on note que les pics correspondant au massif isotopique du composé ne sont pas résolus (voir figure III.30.a). En fait, dans ces conditions, la détection est très brève (6,15 ms) et la résolution est limitée par le nombre de points d'acquisition (résolution théorique à la masse 600 : environ 400). Le fait d'augmenter le nombre de points d'acquisition a pour effet d'augmenter le temps de détection et donc la résolution. Nous passons à 65536 points de détection. Avec ces paramètres, il devrait être possible de discerner les pics du massif isotopique (résolution théorique supérieure à 800 à la masse 600). Cependant, il n'est toujours pas possible de les séparer (voir figure III.30.b).

Nous nous apercevons que sur un exemple très simple (le composé s'ionise et est détecté très facilement) des problèmes de détection peuvent survenir. Nous allons donc examiner le signal plus en détail afin de déterminer les causes de cette perte de résolution.

Tout d'abord, en observant un interférogramme typique obtenu dans les conditions standard (voir figure III.31), on note un fait singulier : au lieu de diminuer pendant la détection, le signal augmente vers 5 ms. Il pourrait s'agir du mouvement magnétron que l'on observe parfois, mais le fait qu'il soit systématiquement maximal à la fin de l'interférogramme permet d'en douter. Il semble plus probable que le signal augmente après quelques millisecondes en raison du couplage entre deux nuages d'ions qui se mettent à tourner à la même fréquence.

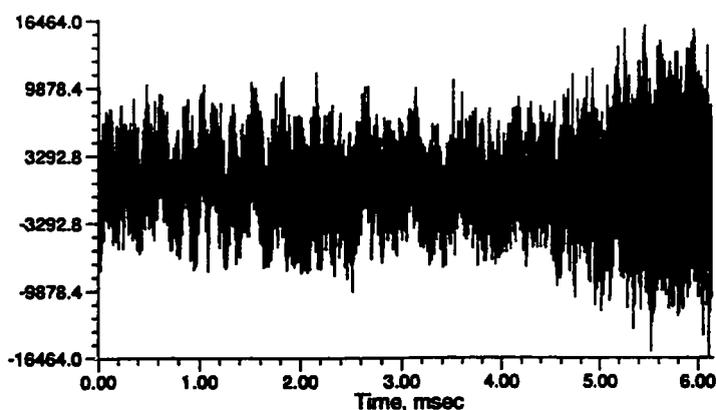


Figure III.31 : Interférogramme obtenu dans les conditions standard lors de l'analyse du dicoronène.

Comme nous l'avons noté précédemment, plusieurs phénomènes peuvent nuire à la résolution :

- en premier lieu la relaxation inhomogène qui consiste en un déphasage progressif du paquet d'ions. Cette relaxation est plus prononcée lorsque la pression résiduelle augmente ou lorsque de nombreux ions sont présents (phénomènes de répulsion). C'est peut être notre cas car le composé s'ionise facilement.
- deuxièmement, des phénomènes de couplage de nuages ioniques peuvent se produire lorsque plusieurs nuages d'ions de fréquences très proches sont présents simultanément dans la cellule. Nous nous trouvons dans ce cas à présent : on cherche à détecter les ions de masse 597 et 598 correspondant au massif isotopique du dicoronène en présence de l'ion 596 majoritaire. Les abondances théoriques de ces deux ions dûs à la présence de ^{13}C dans la molécule sont respectivement de 53% et 14%.

Pour modérer la relaxation inhomogène, il convient de limiter la densité ionique. Pour ce faire, on peut par exemple diminuer le potentiel de piégeage. Cette approche n'a pas porté ses fruits dans notre cas. En effet, pour des potentiels de piégeage plus faibles, le signal diminue brusquement. Ceci est sans doute dû à une trop grande énergie cinétique des ions formés par le laser. Un autre moyen consiste à porter la plaque de piégeage source à un potentiel plus élevé pendant l'ionisation, ce qui a pour effet d'empêcher une partie des ions d'entrer dans la cellule (porte-échantillon externe). Cette méthode, utilisée seule, n'est pas assez efficace pour résoudre le problème. Néanmoins, le signal résultant est plus faible, et nous allons maintenir ce paramètre à 3 volts pour les essais suivants.

Notons que les phénomènes que nous avons invoqués pour expliquer notre perte de résolution se produisent après excitation et nécessitent un certain temps avant que leur effet ne prédomine. Nous avons donc la possibilité de réduire le temps de détection et/ou d'excitation. Réduire le temps de détection n'est pas une alternative judicieuse car cela signifie également réduire la résolution et ceci nous éloignerait de notre but. Etant donné que l'on n'observe aucun ion dans la gamme des hautes fréquences, nous allons réduire la bande passante pour diminuer ainsi le temps d'excitation et augmenter la résolution. En effet, détecter avec une fréquence d'acquisition plus basse permet d'augmenter le temps de détection pour un nombre de points donnés.

La figure III.30 (c,d et e) montre l'évolution du spectre pour différents temps d'excitation et différentes bandes passantes de détection. Parallèlement à une amélioration de la résolution, on constate une diminution du rapport signal sur bruit pour des bandes passantes de plus en plus réduites. En fait, la détection s'effectuant sur un temps plus long, on détecte davantage de bruit et le signal est perdu petit à petit. Les spectres c, d et e correspondent à des temps d'excitation de 211 μ s, 159 μ s, et 85 μ s et des durées de détection de 17,4 ms, 82 ms et 160 ms respectivement.

Nous avons finalement obtenu, le spectre de la figure III.30.f en mode direct avec une excitation de 76 μ s et une détection pendant 324 ms. Sur ce spectre, les pics du massif isotopique du dicoronène sont bien séparés (résolution environ 10000) et les intensités relatives des pics sont proches des intensités théoriques.

B. Exemple de l'hydroxyatrazine

Nous allons nous intéresser maintenant à un des composés qui a été étudié dans le cadre de l'évaluation de la LD-FTMS pour l'analyse de pesticides adsorbés sur membrane d'extraction. Il s'agit d'un échantillon d'hydroxyatrazine en solution dans l'éthanol déposé sur un support en acier inoxydable. Ce composé pose peu de problèmes lors de l'analyse mais nous le proposons pour décrire une expérience typique de LD-FTMS. Nous ne chercherons pas ici à obtenir une résolution élevée mais nous verrons comment la présence de certains ions majoritaires peut gêner fortement l'observation des ions intéressants et comment y remédier.

La séquence par laquelle nous avons commencé est une séquence standard : ionisation laser, délai variable, excitation et détection large bande. Les variations des paramètres pour l'optimisation des conditions sont regroupées dans le tableau III.4.

Tableau III.4 : Liste des paramètres utilisés pour l'optimisation de la séquence d'analyse. Les lettres se rapportent aux spectre de la figure III.32.

Paramètre	a	b	c	d	e	f
$V_{\text{piège}} \text{ (V)}^1$	3	2	2	2	2	2
$V_{\text{srce}} \text{ (V)}^2$	3	2	2	3	2	4
$DLi \text{ (ms)}^3$	100	100	100	100	100	100
$Susp.Trap \text{ (}\mu\text{s)}^4$	0	0	0	0	25	0
$SWR \text{ (Hz/}\mu\text{s)}^5$	3200	3200	2600	2600	2600	2600
$AT_{\text{exc}} \text{ (dB)}^6$	0	0	0	0	0	0
Basse fréq (Hz) ⁷	2076	2076	2076	2076	2076	2076
Haute fréq (kHz) ⁸	2666	2666	2666	2666	2666	2666
$T_{\text{exc}} \text{ (}\mu\text{s)}^9$	1219	1219	1219	1219	1219	1219
$V_{\text{acq}} \text{ (kHz)}^{10}$	5333	5333	5333	5333	5333	5333
$AT_{\text{rec}} \text{ (dB)}^{11}$	5	5	6	18	18	12
NDP (Koctet) ¹²	32	32	32	32	32	32
$T_{\text{det}} \text{ (ms)}^{13}$	6,15	6,15	6,15	6,15	6,15	6,15
ZFL ¹⁴	1x	1x	1x	1x	1x	1x

1 Potentiel de piégeage. 2. Potentiel de la plaque source pendant l'ionisation. 3. Délai après l'impact laser. 4. Durée de la suspension du potentiel de piégeage. 5. Vitesse de balayage de RF (Sweep Rate). 6 Atténuation du signal d'excitation. 7. Fréquence limite basse d'excitation. 8. Fréquence limite haute d'excitation. 9 Durée totale d'excitation. 10. Fréquence d'acquisition. 11. Atténuation de réception du signal. 12. Nombre de point d'acquisition. 13. Durée d'acquisition. 14. Nombre de remplissage de zéros.

La première étape de l'analyse consiste à optimiser le paramètre irradiance pour détecter les ions qui nous intéressent. A très forte irradiance (10^8 à 10^9 W·cm⁻²) très peu d'ions sont détectés. il s'agit principalement d'ion élémentaires provenant du support (Fe⁺) ou d'impuretés (Na⁺, K⁺). Sur l'écran de contrôle, on observe une importante ablation de l'échantillon à chaque impact laser. Pour détecter les ions émis, une augmentation du potentiel de piégeage par rapport aux conditions standard est nécessaire (énergie cinétique des ions importante). De plus, le balayage de radiofréquences doit être effectué plus rapidement (large distributions de rayons initiaux). Nous nous plaçons donc à un potentiel de piégeage de 3V et à une vitesse de balayage de radiofréquence de 3200 Hz/ μ s.

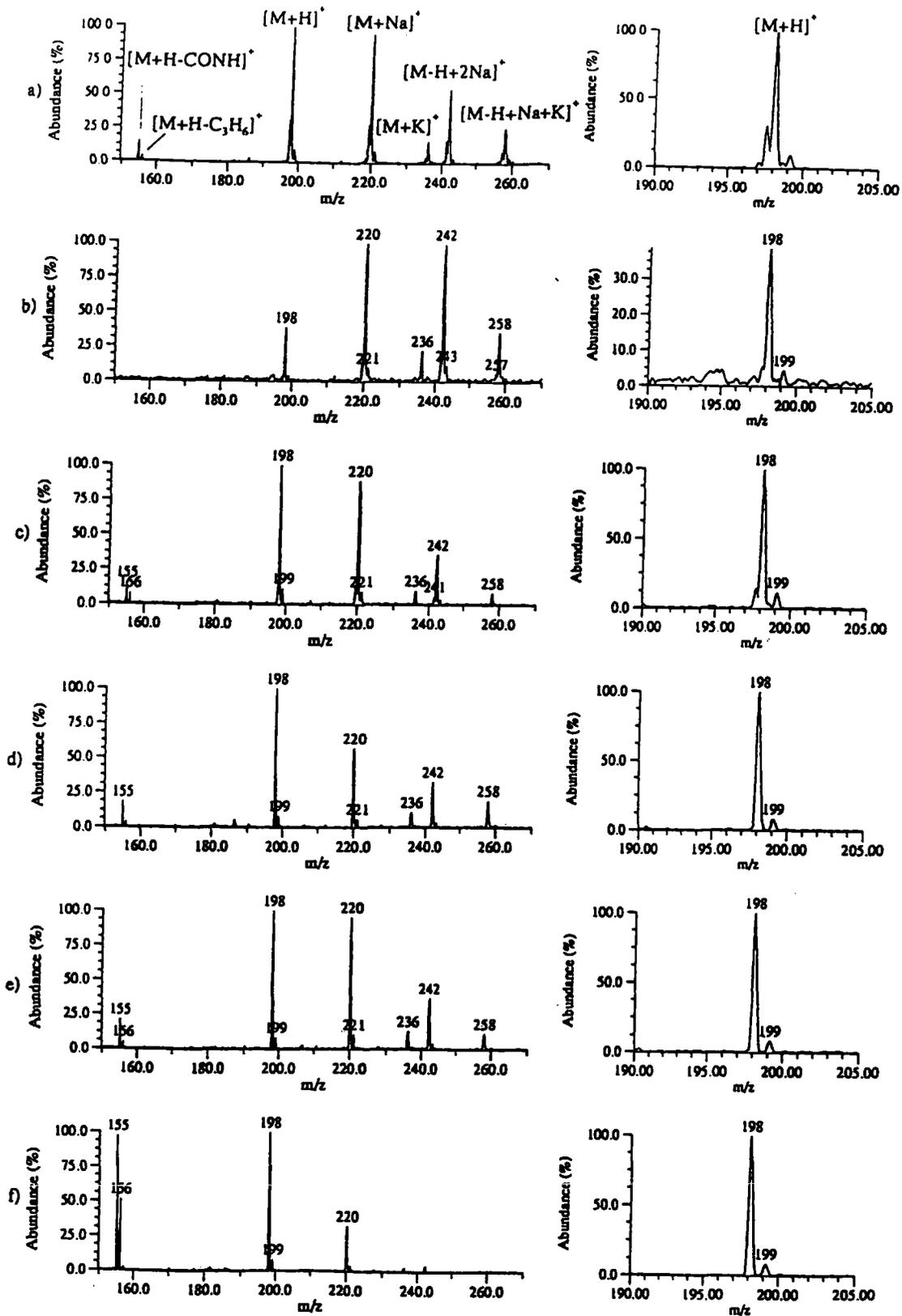


Figure III.32 : Spectres de masse en désorption/ionisation laser à 248 nm de l'hydroxyatrazine déposée sur acier inoxydable avec différents paramètres d'acquisition (voir texte). Tous les spectre ont été acquis en bande large avec 32768 points de données. Seule la portion de m/z 150 à 270 est montrée ici pour des raisons de lisibilité.

Dans ces nouvelles conditions, l'hydroxyatrazine est détectée vers 10^6 W cm⁻². A cette irradiance, l'ablation n'est plus visible à l'écran. La fragmentation semble très faible et de nombreux adduits se manifestent (voir figure III.32.a). On distingue notamment les ions $[M+Na]^+$ (m/z 220), $[M+K]^+$ (m/z 236) ainsi que d'autres adduits $[M-H+2Na]^+$ (m/z 242) et $[M-H+Na+K]^+$ (m/z 258) où un sodium s'est substitué à un hydrogène (probablement celui de la fonction hydroxyle). Sur le spectre correspondant, on note un dédoublement des pics. Ceci est dû à des inhomogénéités de champ électrique de piégeage. Ces inhomogénéités peuvent avoir deux origines : un potentiel de piégeage trop élevé ou une densité ionique trop importante.

La diminution du potentiel de piégeage permet de réduire cet effet néfaste mais au prix d'une diminution de moitié du rapport signal sur bruit. Le spectre représenté figure III.32.b a été acquis avec un potentiel de piégeage de 2 volts. On distingue toujours des adduits fortement majoritaires et le dédoublement des pics n'est pas entièrement éliminé.

Pour tenter d'augmenter le rapport signal sur bruit, nous allons augmenter la puissance de l'excitation en diminuant la vitesse de balayage de radiofréquences. A 2600 Hz/μs, le rapport signal sur bruit est comparable à celui que l'on avait à 3 V et 3200 Hz/μs (voir figure III.32.c). On observe malheureusement toujours le dédoublement des pics et les adduits sont encore intenses. Réduire encore le potentiel de piégeage n'est pas une solution à ce problème car cela mène à une diminution irrémédiable du signal.

Le dédoublement des pics observé provient probablement d'une saturation de la cellule par les adduits qui se forment lors de l'interaction entre le laser et la cible. Nous allons donc tenter de limiter la densité ionique dans la cellule en augmentant temporairement le potentiel de piégeage située devant le porte-échantillon lors de l'ionisation.

Lorsque la plaque de piégeage est portée à 3 volts pendant l'ionisation (durant 1 ms), la forme des pics est grandement améliorée (voir figure III.32.d). En fait, ce potentiel empêche une partie des ions formés d'entrer dans la cellule. Les ions qui ont une énergie cinétique trop basse pour passer la barrière de potentiel sont perdus.

Une autre méthode à notre disposition pour diminuer la densité ionique dans la cellule est celle du piégeage suspendu (voir Partie 2.V.C.3 du présent chapitre). En effectuant une suspension du piégeage pendant 25 μs, on obtient un spectre où le dédoublement

de pics n'est plus observé (voir figure III.32.e). On remarque que ce spectre ressemble beaucoup à celui obtenu par augmentation temporaire du potentiel de piégeage devant l'échantillon (voir figure III.32.d). Pourtant, dans un cas, les ions sont empêchés d'entrer et dans l'autre on en laisse échapper une partie après piégeage.

En augmentant encore le potentiel pendant l'ionisation (4 volts), il est possible de diminuer fortement la densité des ions adduits dans la cellule et de détecter de façon plus sensible les fragments de la molécule cible (voir figure III.32.f).

La question qui se pose maintenant est de savoir lequel de ces six spectres rend le mieux compte de l'analyse. En fait, tous ou aucun selon ce que l'on recherche. Si le but de l'analyse était de déterminer de façon exacte la quantité d'hydroxyatrazine se trouvant sous forme cationisée par la sodium en surface de l'échantillon, la réponse est : aucun spectre ne permet de se prononcer. Par contre, si l'on cherche à trouver les voies de fragmentation de cette molécule, tous les spectres en rendent bien compte (sauf le second). Le spectre f permet de mieux distinguer que le pic à m/z 156 ne correspond pas au massif isotopique (dû au ^{13}C) du fragment 155. Néanmoins, sur tous ces spectres, la mesure de masse exacte permet de leur assigner les formules respectives $[\text{MH}-\text{C}_3\text{H}_6]^+$ et $[\text{MH}-\text{CNOH}]^+$ avec une erreur en masse inférieure à 2 millièmes d'unité de masse. Nous reparlerons plus en détail de ce mécanisme de fragmentation dans le chapitre IV consacré à l'étude de la désorption laser des pesticides sur membranes d'extraction.

Partie 3. Améliorations de notre instrument

La microsonde laser FTMS du laboratoire est un prototype qui avait été conçu pour l'analyse de matériaux. L'orientation récente vers des problèmes d'analyse organique, notamment en ce qui concerne les molécules biologiques par Désorption Laser Assistée par Matrice (MALDI), ont rendu nécessaires certaines modifications de l'instrument. Les deux principales améliorations qui ont été apportées à l'appareil pendant ces trois années sont le changement de l'informatique d'acquisition et la modification de la configuration de la source d'ions.

I. Le système "Odyssey™"

Depuis quelques années, la société Finnigan FTMS qui commercialise des spectromètres de masse à transformée de Fourier, a développé une informatique de contrôle de l'instrument, d'acquisition et de traitement des données basée sur un système UNIX. Cette nouvelle installation permet l'utilisation de l'excitation SWIFT. Elle offre également une interface graphique plus aisée à utiliser, notamment en ce qui concerne la programmation des séquences. En effet, l'ancien système nécessitait une programmation en langage FORTRAN. De plus, la gamme dynamique de l'instrument est élargie vers les fréquences plus élevées et la vitesse d'exécution est largement augmentée par l'utilisation de processeurs massivement parallèles à accès ultra-rapide.

Etant basée sur une architecture de type UNIX, la nouvelle station de travail nécessite une administration du système beaucoup plus subtile. Néanmoins, l'utilisateur de base n'a aucun besoin d'avoir des connaissances d'UNIX car l'environnement de travail, basé sur le système OPENWINDOWS™ est très simple d'utilisation, la majorité des opérations se faisant à la souris. Le but de cette partie n'est pas de résumer le guide de l'utilisateur d'Odyssey mais de donner un aperçu du fonctionnement et des potentialités de ce système. Nous allons dans un premier temps donner une vue générale du système informatique en le comparant au système NICOLET 1280 qui était en service auparavant. Nous verrons ensuite les différents logiciels de contrôle de l'instrument, d'acquisition et de traitement des données avant de nous intéresser à la maintenance du système.

A. Vue générale du système OdysseyTM

1. Les fonctions de l'informatique d'un système FTMS

La vocation essentielle du système informatique est de fournir une interface entre l'opérateur et l'instrument. Il doit permettre à l'utilisateur de visualiser et contrôler les paramètres de la séquence d'analyse ainsi que le résultat de l'acquisition des données. La seconde tâche du système est de contrôler l'intégrité du système grâce à une série de capteurs (jauges de pressions, thermocouples) et de systèmes asservis (vannes, résistances d'étuvage). L'ensemble de ces fonctions est assuré par différents modules interconnectés. L'architecture du système Odyssey est différente de celle de l'ancien système NICOLET 1280 comme nous allons le voir par la suite. Elle intègre de nouvelles fonctions qui augmentent les possibilités de l'appareil.

2. Que faisait le système NICOLET 1280 ?

Le système 1280 est constitué d'une unité centrale couplée à un générateur de fréquences. Des interfaces avec le "Vacuum Computer" et le "Cell Controller" permettent le contrôle de l'instrument. Toutes les opérations mathématiques ainsi que l'affichage et le traitement des données sont effectués par l'unité centrale. L'architecture monotâche et monoutilisateurs de cette unité constitue une limitation non négligeable. De plus, l'excitation SWIFT n'est pas disponible sur la version dont nous disposons. La figure III.33 illustre les fonctions du système 1280 et de ses modules.

L'unité centrale constitue l'interface entre l'utilisateur et l'instrument au moyen d'un clavier et d'un écran. Un générateur de fréquence analogique est utilisé pour produire la tension d'excitation requise par la séquence programmée sur l'unité centrale. Cette tension est ensuite passée au contrôleur de cellule qui la transmet à la cellule par l'intermédiaire de l'amplificateur d'excitation. Le courant image reçu est passé par le préamplificateur d'excitation, amplifié par le contrôleur de cellule et passé au convertisseur analogique numérique (fréquence maximale d'acquisition 5,333 MHz) de l'unité centrale. Cette dernière accumule le signal dans une mémoire à accès rapide d'une capacité de 256 kilo-octets. C'est également l'unité centrale qui exécute la transformée de Fourier et les différentes opérations mathématiques sur le signal résultant avant d'afficher le résultat. L'ordinateur de contrôle du vide permet le maintien de l'intégrité du système en relation avec le programme VAC de l'unité centrale.

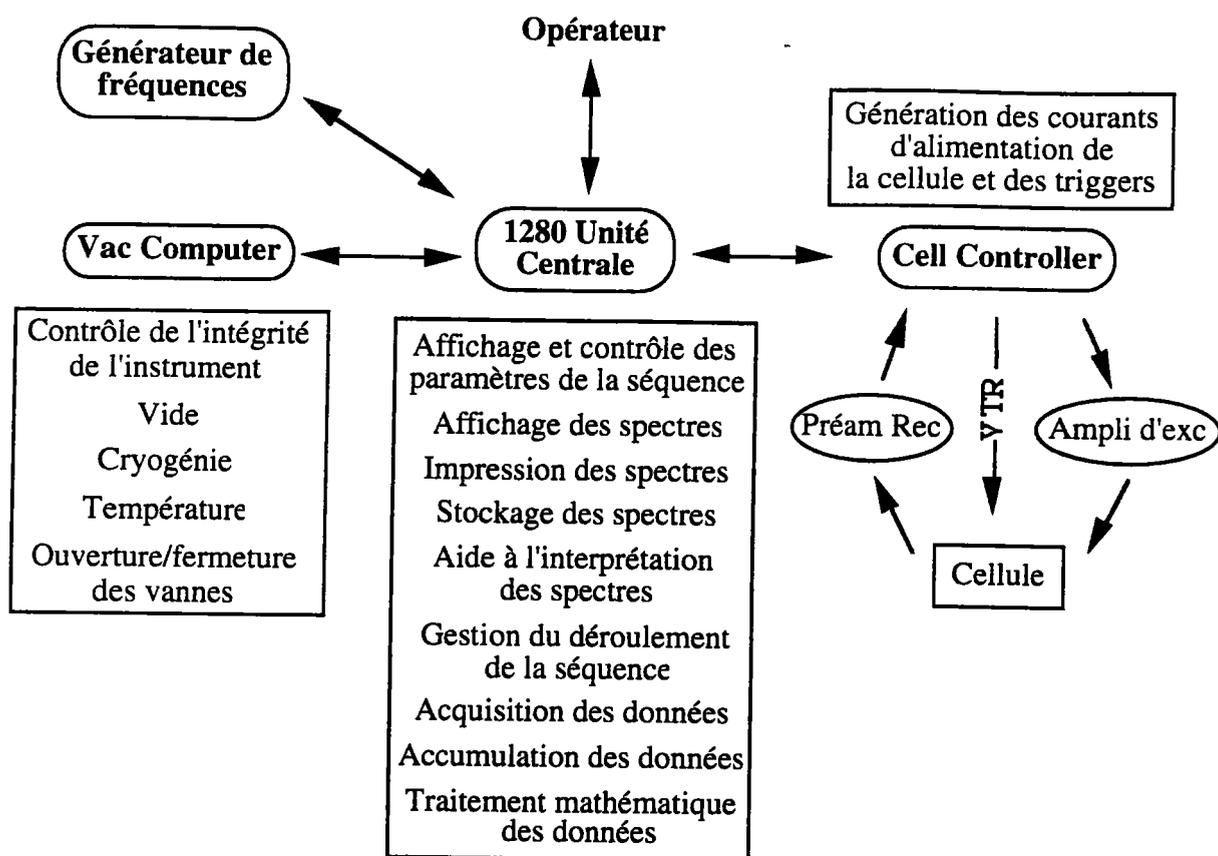


Figure III.33 : Diagramme des fonctions du système NICOLET 1280 et de ses modules.

3. Que fait le système Odyssey™ ?

Le système Odyssey est basé sur une autre répartition des tâches entre les modules le composant (voir figure III.34). L'accent a été mis sur l'interface machine-utilisateur qui se compose d'une station de travail basée sur une architecture UNIX. Ceci permet un contrôle beaucoup plus aisé de la séquence par un système d'interface graphique pilotable à la souris. De plus, des logiciels de mise en page et d'aide à l'interprétation de spectres sont disponibles sur la station. Le système Odyssey est multitâche et multi-utilisateurs. Il devient donc possible par exemple d'imprimer des spectres tout en continuant d'effectuer des acquisitions, ou encore d'utiliser l'aide à l'interprétation de spectres tout en éditant un fichier de données. Nous verrons ultérieurement les différents programmes que l'utilisateur a à sa disposition pour programmer les séquences, les exécuter et interpréter les données résultantes.

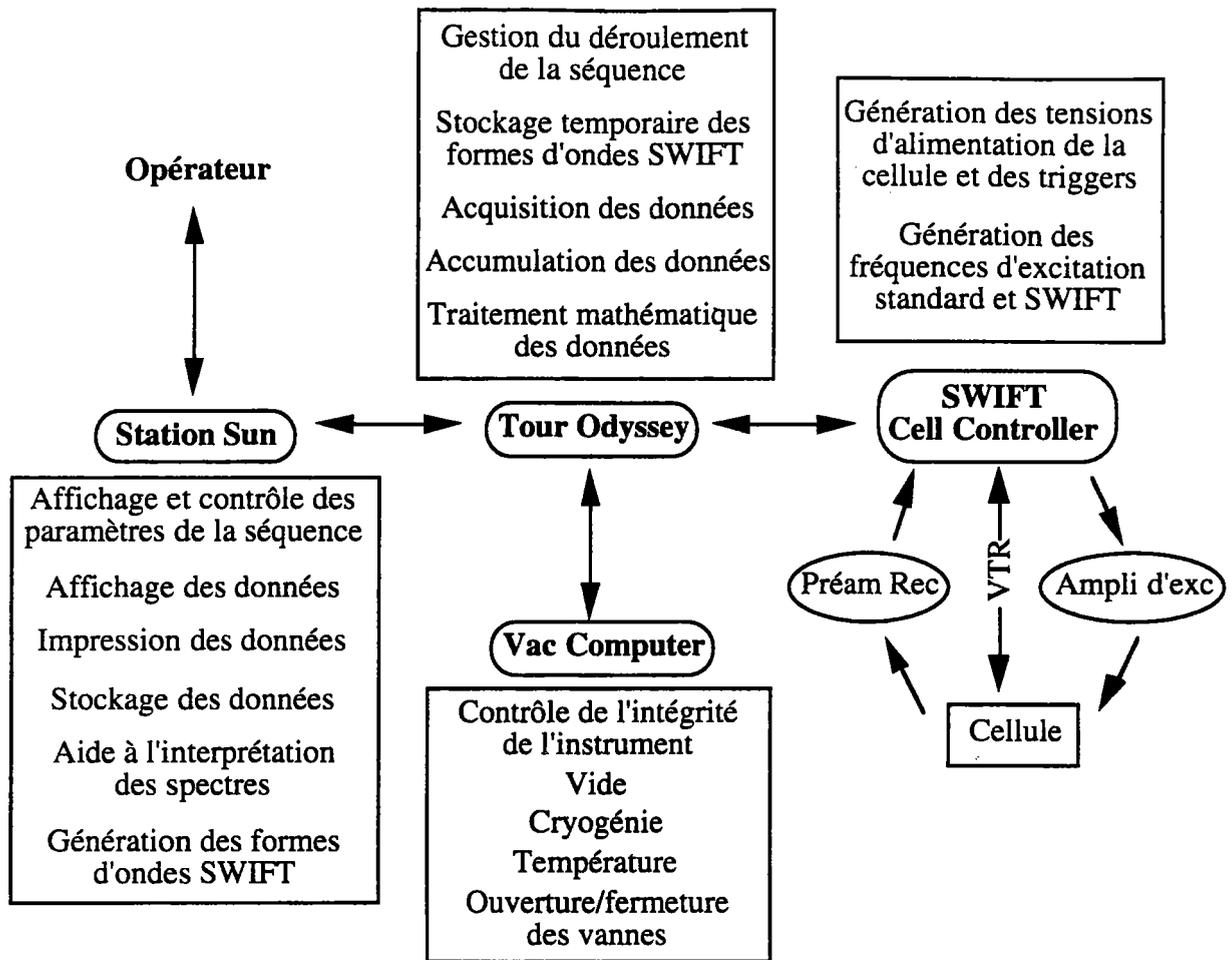


Figure III.34 : Diagramme des fonctions du système Odyssey et de ses modules.

Les paramètres de la séquence programmée sur la station de travail sont passés à l'électronique d'acquisition de la "Tour" Odyssey qui gère le déroulement de l'expérience. La "Tour" se compose d'une unité centrale qui peut être considérée comme une station de travail autonome, d'un système de processeurs massivement parallèles ultra-rapides et d'un convertisseur analogique numérique (CAN) capable d'opérer à une fréquence de 8,000 MHz. C'est dans cet appareil que se situe la grande innovation par rapport au système 1280. En effet, ce n'est plus le même ordinateur qui va gérer la séquence et servir d'interface avec l'utilisateur ; le "dialogue" avec l'opérateur n'est plus limité par l'acquisition des données. La "Tour" est connectée au "Vacuum computer" qui comme précédemment contrôle l'intégrité de l'instrument. Une connexion avec le "SWIFT cell Controller" permet de générer les tensions d'excitation et de recevoir le signal qui est ensuite converti par le CAN. Le processeur de la "Tour" est capable de stocker l'interférogramme tout en calculant sa transformée de Fourier et de passer les deux types de données à la station de travail pour affichage. L'opérateur n'a

donc plus besoin d'attendre la fin d'une séquence d'acquisition et le calcul de transformée de Fourier pour avoir l'information sur les pics présents et leurs intensités.

B. Les logiciels de la station Odyssey

La station de travail Odyssey est équipée de plusieurs logiciels qui remplissent diverses tâches. Ces logiciels sont stockés dans l'arborescence UNIX dans le dossier */usr/share/ftms/lib/sun4*. Ils ne doivent bien entendu pas être modifiés par les utilisateurs. Il est possible de personnaliser ces logiciels au moyen de fichiers de préférences. Les logiciels du système Odyssey sont conçus pour manipuler des fichiers d'instructions en langage TCL. Pour plus de précisions sur le langage TCL, le lecteur pourra se reporter à la notice d'utilisation du système Odyssey.

1. Le logiciel de programmation de séquences et d'acquisition : "controller"

Ce logiciel est le lien essentiel entre l'utilisateur et l'instrument. Il permet de programmer tous les paramètres d'une expérience grâce à une interface graphique pilotable à la souris et de déclencher l'acquisition. Il permet en outre la visualisation et le stockage des données sous formes de spectres ou d'interférogrammes. Il utilise quatre routines : *commander* qui est un interpréteur de commandes ; *dfs* qui permet l'échange des données entre la station et la "Tour" ; *tower_rpc_in* et *tower_rpc_out* qui reçoivent et émettent les informations de ou vers la "Tour". Ces trois dernières routines étant lancées en arrière plan, elles n'apparaissent pas à l'écran. Il est clair que le logiciel "controller" coopère largement avec le programme de la "Tour" pour accomplir l'acquisition de données sur l'instrument.

L'unité de base manipulée par le logiciel pour une acquisition est le "segment de temps" (time slice). Chaque "segment de temps" décrit l'état du spectromètre pendant un temps donné. Durant un "segment", l'appareil est configuré pour remplir une tâche particulière comme l'ionisation, l'excitation ou la détection des ions. Une séquence est définie par un certain nombre de "segments de temps" mis bout à bout. Elle peut être répétée plusieurs fois pour augmenter le rapport signal sur bruit. Un scénario (script) est l'ensemble des séquences utilisées pour contrôler l'instrument lors d'une expérience donnée.

On définit par "événement" (event) le temps pendant lequel un paramètre individuel reste constant. Par exemple, si la plaque de piégeage source reste au même potentiel pendant toute une séquence, il y a un seul événement pour cette plaque. Chaque itération d'une séquence s'appelle un passage (scan). Le nombre de passages est toujours spécifié pour chaque séquence. Si un scénario est constitué de plusieurs séquences, plusieurs passages seront décomptés pour le balayage complet du scénario. Un tour (run) est l'exécution d'un scénario (contenant une ou plusieurs séquences) un nombre quelconque de fois pour acquérir les données.

2. Le logiciel d'édition de formes d'ondes SWIFT : "swe"

Ce programme permet l'édition et la sauvegarde de formes d'ondes SWIFT (voir Partie 2.III.C. du présent chapitre) qui seront utilisées par le logiciel "*controller*" pendant une séquence d'analyse. En pratique, on charge un spectre obtenu au préalable en mode d'excitation classique dans la fenêtre du "*swe*". Ce spectre de référence permet d'identifier les fréquences des ions à exciter ou éjecter. Une interface graphique permet de définir les zones d'excitation ou d'éjection à la souris.

3. Le logiciel d'analyse des spectres : "analyze"

Les fonctions de ce logiciel sont la mise en page et l'impression de spectres suivant différents formats définis par l'utilisateur. Il permet également de calibrer l'instrument, c'est à dire de calculer et stocker les paramètres de la loi d'étalonnage qu'utilise le logiciel "*controller*" pour effectuer la conversion fréquence/masse.

4. Le logiciel d'aide à l'interprétation des spectres : "spectral interpreter"

Ce logiciel procure une aide à l'interprétation à travers différents modules qui permettent de calculer les masses monoisotopiques des composés, de définir leur distribution isotopique ou encore de calculer les formules probables d'un ion donné connaissant sa masse et les atomes le composant.

5. Les logiciels de conversion de fichiers

Ces logiciels permettent de modifier des fichiers de façon à les rendre compatibles avec différents logiciels. Le logiciel le plus utilisé est le convertisseur 1280-Odyssey qui

permet de convertir un spectre acquis sur le système 1280 en un spectre Odyssey qui pourra être traité par le programme "analyzer".

6. *Le logiciel de contrôle de l'intégrité de l'instrument "vac"*

Ce logiciel est le seul qui, malheureusement, n'est pas basé sur une interface graphique. Il permet l'affichage et la modification des paramètres physiques de l'instrument. Il est utilisé pour déclencher des séquences de pompage, pour ventiler l'appareil ou encore pour opérer un étuvage afin d'éliminer les contaminations dans l'appareil.

C. La maintenance du système UNIX

Comme nous l'avons précisé, le système Odyssey est basé sur une architecture de type UNIX : système d'exploitation SUN OS 4.1.2. C'est grâce à ce système d'exploitation que la machine est aussi performante. Cependant, comme tout se paye, le système nécessite une maintenance très soignée pour en optimiser le fonctionnement. Les tâches de l'administrateur système sont nombreuses et ne pourront être détaillées ici. Il s'agit en premier lieu d'un travail de surveillance du système pour en assurer la sécurité, d'installation des ressources et d'archivage des modifications effectuées. L'administrateur doit veiller au bon usage du système en usant des commandes de contrôle et des restrictions d'accès dont il a la maîtrise totale, c'est lui et lui seul qui a la possibilité de créer des comptes utilisateurs (et de les annuler). Il doit veiller également à l'utilisation de la mémoire permanente et aux sauvegardes sur supports amovibles ; cette tâche est essentielle notamment dans le cas qui nous intéresse car les fichiers de spectres sont volumineux et les disques sont très rapidement saturés. L'administrateur a la permission d'accès à toutes les zones du système et à toutes les commandes UNIX. Il convient néanmoins d'en user avec précaution, car certaines de ces commandes ne demandent pas de confirmation et ont un effet immédiat et irrécupérable sur les fichiers qui en font l'objet. Nous avons regroupé en annexe B une liste (non exhaustive) des commandes nécessaires à l'administrateur système.

II. La configuration géométrique de la cellule source

La cellule initiale qui équipait l'instrument acquis par le laboratoire était prévue pour une ionisation par faisceau d'électrons. Le couplage de l'instrument avec des lasers a rendu nécessaire de concevoir un nouveau type de source dans laquelle un échantillon

solide pouvait être inséré. Cette source avait la particularité de contenir le porte-échantillon comme le montre la figure III 35.a. Le grand avantage d'un tel système était de permettre l'analyse d'échantillons massifs, ce qui était le but recherché dans le cadre de l'analyse des matériaux. Les récents progrès en matière de désorption laser, notamment la désorption laser assistée par matrice, couplée à la FTMS ont permis de dégager qu'un des facteurs limitant la sensibilité et la résolution est l'inhomogénéité du champ électrique dans la cellule. La configuration adoptée lors de la conception de la microsonde générait un potentiel fortement assymétrique dans la cellule comme le montre la figure III.35.a. De plus, la plaque de piégeage de la source devait être retirée en même temps que l'échantillon, et son placement était donc sujet à des variations qui rendaient le champ dans la cellule peu reproductible. Il a donc été décidé très récemment de changer la configuration de la source en installant une nouvelle plaque de piégeage fixe et en plaçant le porte-échantillon juste derrière cette plaque. Cette disposition permet d'obtenir un potentiel plus symétrique dans la cellule comme le montre la figure III.35.b.

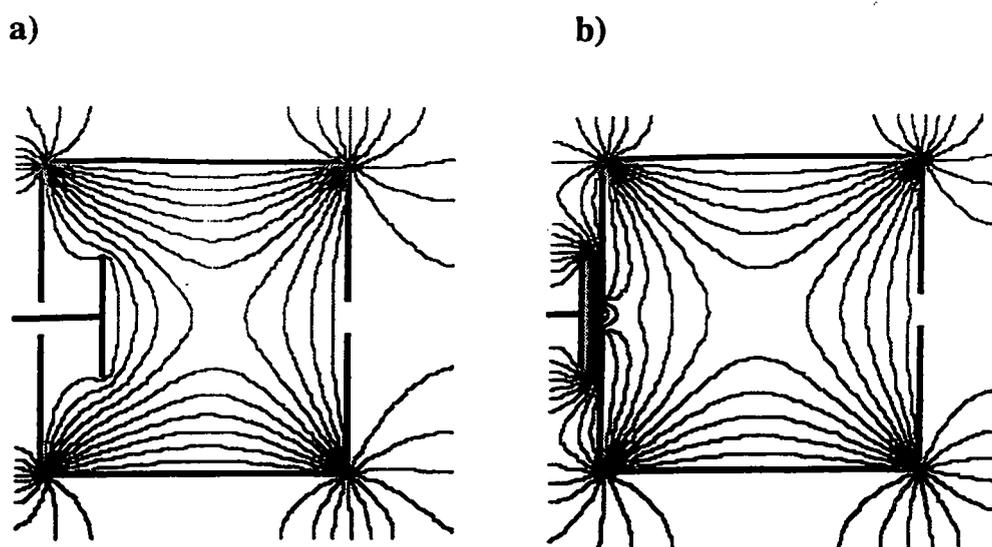


Figure III.35 : Lignes équipotentielles du champ électrique de piégeage dans la configuration avec échantillon interne porté au potentiel de piégeage (a) et avec l'échantillon externe au potentiel 0 V(b).

Une étude pour évaluer l'impact du changement de configuration est en cours. Nous pouvons cependant déjà émettre quelques premières observations. La sensibilité semble être amoindrie au premier abord lorsque l'on travaille à l'aide des séquences optimisées pour l'ancienne configuration. En effet, il est désormais nécessaire d'utiliser

des potentiels de piégeage et des intensités d'excitation plus élevées. Les études en cours nous indiqueront si la sensibilité a réellement souffert du changement.

D'autre part, à présent que l'échantillon n'est plus porté au potentiel de piégeage, la question de la valeur du potentiel de la plaque source pendant l'ionisation se pose. En effet, ne vaut-il pas mieux garder un potentiel nul pour permettre aux ions d'entrer dans la cellule ? Il semblerait que le problème ne doive pas réellement être posé en ces termes. En effet, l'étude des pyrolysats de Coronène a laissé entrevoir une amélioration des spectres lorsque la plaque de piégeage source était placée à un potentiel supérieur aux autres plaques pendant l'ionisation. Deux phénomènes peuvent être invoqués pour expliquer ce comportement : en premier lieu, le passage des ions au travers de l'orifice de la plaque portée à un potentiel élevé entraîne la refocalisation des ions vers l'axe de la cellule, permettant ainsi d'avoir une meilleure réponse à l'impulsion d'excitation. Deuxièmement, la plaque de piégeage située devant l'échantillon peut empêcher une partie des ions d'entrer dans la cellule et éviter ainsi la saturation par les ions abondants. Cet effet peut être comparé à celui du piégeage suspendu et l'exemple de l'hydroxyatrazine traité dans la partie précédente l'illustre clairement.

Conclusion

La spectrométrie de masse à transformée de Fourier connaît à l'heure actuelle un intense développement. Ceci est dû principalement à ses capacités de très haute résolution en masse et la possibilité qu'elle offre d'étudier plusieurs générations d'ions successives (MS^n). Le couplage de cette technique d'analyse avec l'ionisation laser date d'à peine plus d'une décennie mais les applications sont déjà nombreuses et variées. De l'analyse de surface à l'analyse de produits biologiques par MALDI, la LD/FTMS n'a plus à prouver ses qualités. Cependant, on a trop souvent tendance à faire une confiance aveugle dans les résultats donnés par un instrument doté d'une telle puissance informatique. Il faut garder à l'esprit que de nombreux facteurs influent sur les spectres obtenus et être extrêmement prudent dans l'analyse des résultats.

Tout au long de ce chapitre, nous avons tenté de donner au lecteur un large aperçu sur cette technique afin de mieux cerner les problèmes susceptibles de se poser lors d'une analyse et de pouvoir trouver la solution adaptée à chaque échantillon. Car chaque analyse en LD/FTMS est différente et il n'est pas, à l'heure actuelle, envisageable d'automatiser l'optimisation des paramètres.

Les développements récents de la technique nous ont amenés à effectuer différentes modifications sur notre microsonde. Nous avons présenté ici le changement de l'informatique d'acquisition et la modification de la configuration de la cellule source. Ce dernier point a soulevé le problème du potentiel de piégeage de la plaque de piégeage de la cellule source lors de l'étape d'ionisation. Certains des exemples évoqués ont montré que ce paramètre a une influence considérable sur les résultats obtenus.

Nous allons à présent évaluer les performances de la LD/FTMS dans un nouveau contexte. En effet, nous allons tester la réponse en désorption laser de pesticides adsorbés sur supports d'extraction en phase solide. A notre connaissance cette approche n'avait pas encore été tentée.

Bibliographie

- [1] Lawrence, E.O. et Edlefsen, N.E. *Science* **1930**, 72, 376-377
- [2] Hipple, J.A. ; Sommer, H. et Thomas H.A. *Phys. Rev.* **1949**, 76, 1877-1878
- [3] Wobschall, D. ; Graham, J.R. Jr. et Malone, D. *Phys. Rev* **1963**, 131, 1565-1571
- [4] Gal, J.-F. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1996** Sous presse
- [5] Wobschall, D. ; Flugge, R.A. et Graham, J.R. Jr. *J. Chem. Phys.* **1967**, 47, 4091
- [6] Beauchamp, J.L. ; Anders, L.R. et Baldeschwieler, J.D. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 4569
- [7] Bowers, M.T. ; Elleman, D.D. et Beauchamp, J.L. *J. Phys. Chem.* **1968**, 72, 3599
- [8] Futrell, J.H. extrait de "Gaseous ion Chemistry and Mass Spectrometry" Ed. J.H. Futrell, John Wiley & Sons, New-York, **1986**, 127-138
- [9] McIver, R.T. Jr. *Rev. Sci. Instrum.* **1970**, 41, 555
- [10] Comisarow, M.B. et Marshall, A.G. *Chem. Phys. Lett.* **1974**, 25, 282-283
- [11] Comisarow, M.B. et Marshall, A.G. *J. Mass Spectrom.* **1996**, 31, 581-585
- [12] Buchanan, M.V. et Hettich, R.L. *Anal. Chem.* **1993**, 65, 245A-259A
- [13] Marshall, A.G. et Verdun, F.R. "Fourier Transform in NMR, Optical and Mass Spectrometry", Elsevier Scientific. Amsterdam **1990**
- [14] Marshall, A.G. et Schweikhard, L. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1992**, 118/119, 37-70
- [15] Holliman, C.L. ; Rempel, D.L. et Gross, M.L. *Mass Spectrom. Rev.* **1994**, 13, 105-132
- [16] Guan, S. et Marshall, A.G. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1995**, 146, 261-296.
- [17] Schweikhard, L. et Marshall, A.G. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1993**, 4, 433-452.
- [18] Marshall, A.G. et Grosshans, P.B. *Anal. Chem.* **1991**, 63, 215A-229A
- [19] Hanson, C.D. ; Kerley, D.L. ; Castro, M.E. et Russel, D.A. *Anal. Chem.* **1989**, 61, 2040-2046
- [20] Comisarow, M.B. *J. Chem. Phys.* **1978**, 69, 4097-4104
- [21] Ledford, E.B. Jr.; Ghaderi, S. ; White, R.L. ; Spencer, R.B. ; Kulkarni, P.S. ; Wilkins C.L. et Gross, M.L. *Anal. Chem.* **1980**, 52, 463-468
- [22] Guan, S. et Marshall, A.G. *J. Chem. Phys.* **1993**, 6, 4486-4493
- [23] Nikolaev, E.N ; Miluchihin, N.V. et Inoue, M. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1995**, 148, 145-157
- [24] Wang, M. et Marshall, A.G. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1990**, 100, 323-346
- [25] Grosshans, P.B. et Marshall, A.G. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1990**, 100, 347-379
- [26] Wang, T.C.L. et Marshall, A.G. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1986**, 68, 287-301
- [27] Laude, D.A et Beu, S.C. *Anal. Chem.* **1989**, 61, 2422-2427
- [28] Rempel, D.L. ; Grese, R.P. et Gross, M.L. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1990**, 100, 381
- [29] Muller, J.F. *Spectra 2000* **1987**, 15, 23-30.

- [30] McIver, R.T.Jr.; Hunter, R.L. et Baykut, G. *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 489-491.
- [31] Marshall, A.G. ; Wang, T.C.L. et Ricca, T.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7893-7897.
- [32] Huang, J.; Tiedemann, P.W.; Land, D.P.; McIver, R.T. et Hemminger, J.C. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1994**, *134*, 11-21.
- [33] Lobstein, N., Thèse de l'Université de Metz, 30 mars 1995.
- [34] Comisarow, M.B. et Melka, J.D. *Anal. Chem.* **1979**, *51*, 2198-2203.
- [35] Guan, S ; Marshall, A.G. et Wahl, M.C. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1363-1367
- [36] Wang, T.C.L. ; Ricca, T.L. et Marshall, A.G. *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 2935-2938
- [37] Decouzon, M. ; Gal, J.-F. ; Herreros, M. ; Maria, P.-C. ; Murrell, J. et Todd, J.F.J. *Rapid Comm Mass Spectrom.* **1996**,*10*, 242-245
- [38] Wood, T.D.; Marshall, A.G. et Schweikhard, L. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1994**, *8*, 14-21.
- [39] Martinovic, S.; Masselon, C. et Muller, J.F. En préparation
- [40] Giancaspro, C.; Verdun, F.R. et Muller, J.F. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1986**, *72*, 63-71.
- [41] Hunt, D.F. ; Shabanowitz, J. ; McIver, R.T.Jr ; Hunter, R.L. et Syka, J.E.P. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 765-768
- [42] Williams, E.R. ; Henry, K.D. et McLafferty, F.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6157-6162.
- [43] Schweikhard, L.; Guan, S. et Marshall, A.G. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1992**, *120*, 71-83.
- [44] Becker, S.; Bolen, G.; Kern, F.; Kluge, H.J.; Moore, R.B.; Savard, G.; Schweikhard, L. et Stolzenberg, H. *Int J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1990**, *99*, 53-77.

Chapitre IV : Application à l'étude de pesticides adsorbés sur supports d'extraction en phase solide

Introduction

L'analyse de résidus de pesticides dans les eaux s'effectue classiquement par chromatographie en phase gazeuse ou liquide couplée à des détecteurs spécifiques. Ceci implique en amont une phase de séparation et de préconcentration des espèces à analyser.

L'extraction en phase solide est couramment utilisée pour isoler les pesticides présents dans les eaux. Les taux de rétention sur les membranes d'extraction sont élevés pour de nombreux composés mais des difficultés d'élution peuvent se produire [1]. Ces problèmes peuvent nuire gravement à la sensibilité des analyses.

La désorption laser couplée à la spectrométrie de masse est particulièrement bien adaptée à l'étude de molécules organiques adsorbées. On peut citer l'analyse de protéines sur des membranes de polyéthylène [2], d'ADN sur film de nitrocellulose [3], de monocouches d'alcanes thiols sur film d'or [4] ou de biomolécules sur gel d'agarose [5]. Dans le domaine de l'analyse de pesticides, elle a été utilisée pour l'analyse de l'imazaquin sur des feuilles de soja [6] ou encore de pesticides organophosphates sur de l'herbe [7].

Dans ce contexte, nous allons à présent évaluer la possibilité de désorber à l'aide d'un faisceau laser des pesticides adsorbés sur support d'extraction liquide/solide et de les analyser par FTMS.

Dans un premier temps, nous nous intéresserons plus particulièrement à l'atrazine et son métabolite hydroxylé afin de dégager les conditions requises pour ce type d'analyse. Nous élargirons ensuite nos investigations à d'autres types de pesticides de caractéristiques variées.

Partie 1. Base de l'étude : l'atrazine et l'hydroxyatrazine

Ce travail a débuté par l'étude de l'atrazine et son métabolite hydroxylé, l'hydroxyatrazine. Dans ce contexte, nous avons défini les objectifs et les moyens à mettre en oeuvre pour évaluer les possibilités d'analyse directe par désorption laser sur support d'extraction.

En premier lieu, il a été nécessaire d'évaluer la rétention des deux composés sur les supports sélectionnés, puis de tester leur réponse en désorption laser directe des standards déposés sur le porte-échantillon. Des tests de faisabilité de la désorption sur membranes de silice greffée C₁₈ ont ensuite été réalisés.

I. Travaux préliminaires

A. Rétention sur support d'extraction

Le rendement de rétention est une mesure du pourcentage de composé retenu sur la phase et le rendement d'élution correspond au pourcentage de produit récupéré dans l'éluat.

Les taux de rétention et d'élution de l'atrazine et de son métabolites sur silice greffée C₁₈ sont regroupés dans le tableau IV.1 Les conditions opératoires sont les suivantes : extraction sur cartouche de 250 ml de solution (à 5 µg/ml), et élution par 4 ml de méthanol.

Tableau IV.1 : Rendements de rétention et d'élution des deux composés étudiés (concentration 5 µg/ml, élution par le méthanol).

Composé	% rétention	% élution	Rdt global
Atrazine	100	100	100
Hydroxyatrazine	100	49	49

On remarque que toute l'hydroxyatrazine n'est pas complètement éluee à l'aide de 4 ml de méthanol. Il est néanmoins possible d'augmenter le pourcentage élué en augmentant le volume utilisé.

D'après les travaux de S. Néliou [1], ce phénomène pourrait être lié à la faible solubilité de l'hydroxyatrazine dans le méthanol : quand une quantité élevée de composé est retenue ou lorsque le volume d'éluant est faible, le facteur déterminant l'éluion n'est plus la rupture des interactions avec la phase mais la solubilité dans l'éluant. Ceci constitue une des justifications à l'utilisation de méthodes comme la désorption laser qui permettent d'éviter l'éluion des composés.

B. Spectres de masse des standards en ionisation par faisceau d'électrons

Les spectres en ionisation par faisceau d'électrons (EI) ont été effectués pour comparer les mécanismes de fragmentation à ceux obtenus par ionisation laser.

1. Atrazine

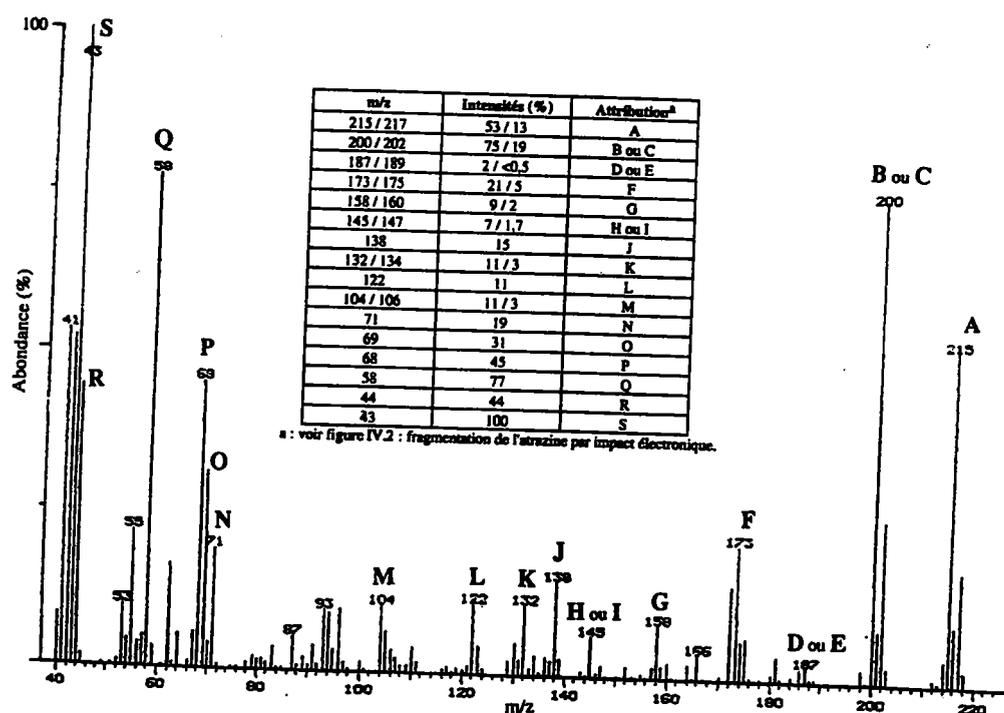


Figure IV.1 : Spectre de masse de l'atrazine par EI.

Le spectre EI de l'atrazine est bien connu et la dissociation induite par collision a permis à certains auteurs d'attribuer tous les fragments observés [8]. Cependant, dans cet article, aucune structure n'est proposée pour ces ions. De même, les auteurs ne proposent aucun mécanisme de fragmentation.

La figure IV.1 représente le spectre de masse de l'atrazine par EI. En raison de la présence d'un atome de chlore dans la molécule, certains pics sont présents sous forme de doublets d'intensités relatives 3:1.

En nous basant sur la filiation des fragments rapportée par ailleurs [8], nous proposons figure IV.2 un schéma des voies de fragmentation de l'ion moléculaire $M^{+\bullet}$, les mécanismes correspondant sont regroupés en annexe.

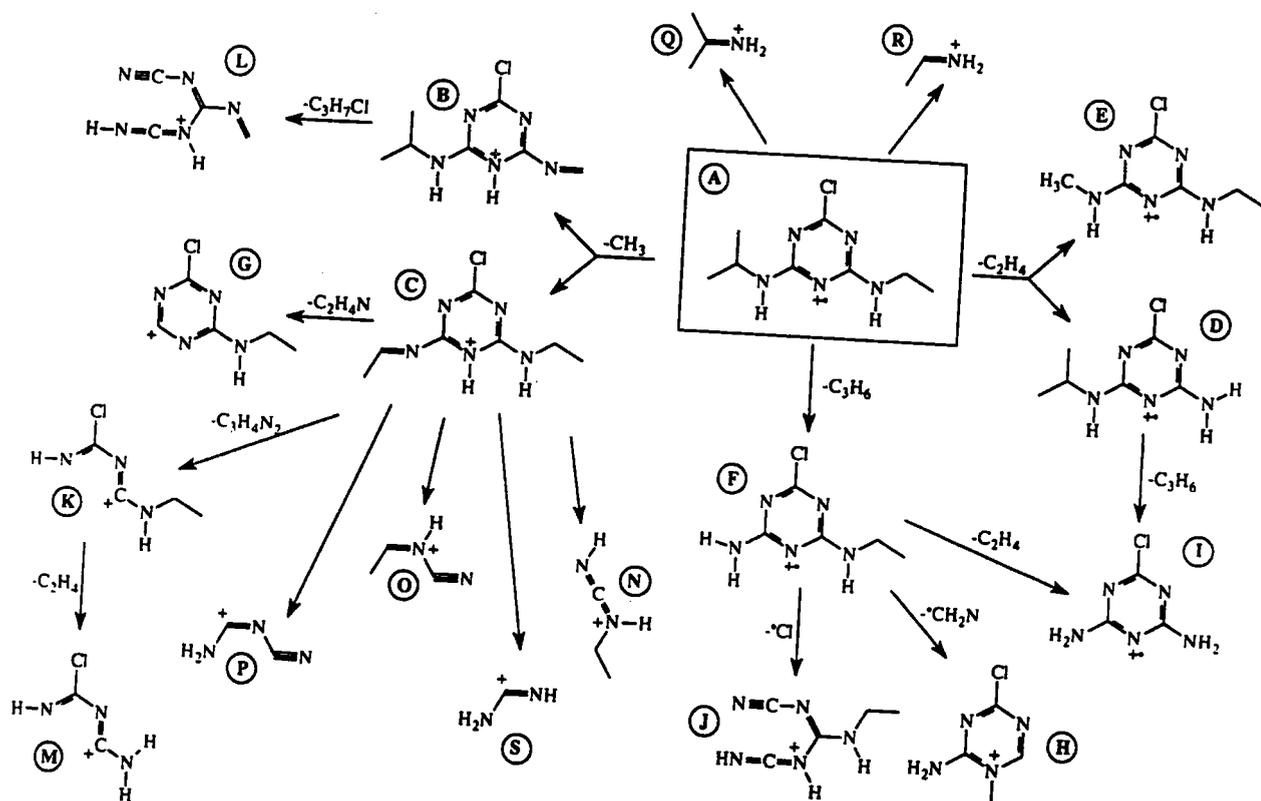


Figure IV.2 Fragmentation de l'atrazine par EI.

2. Hydroxyatrazine

Le spectre de l'hydroxyatrazine (voir figure IV.3) en EI présente des ions résultant de fragmentations similaires à celles évoquées dans le cas de l'atrazine. La différence notable entre les deux composés est que l'on n'observe jamais de perte du groupement fonctionnel OH porté par le cycle triazine alors que la perte de Cl est constatée dans le cas de l'atrazine.

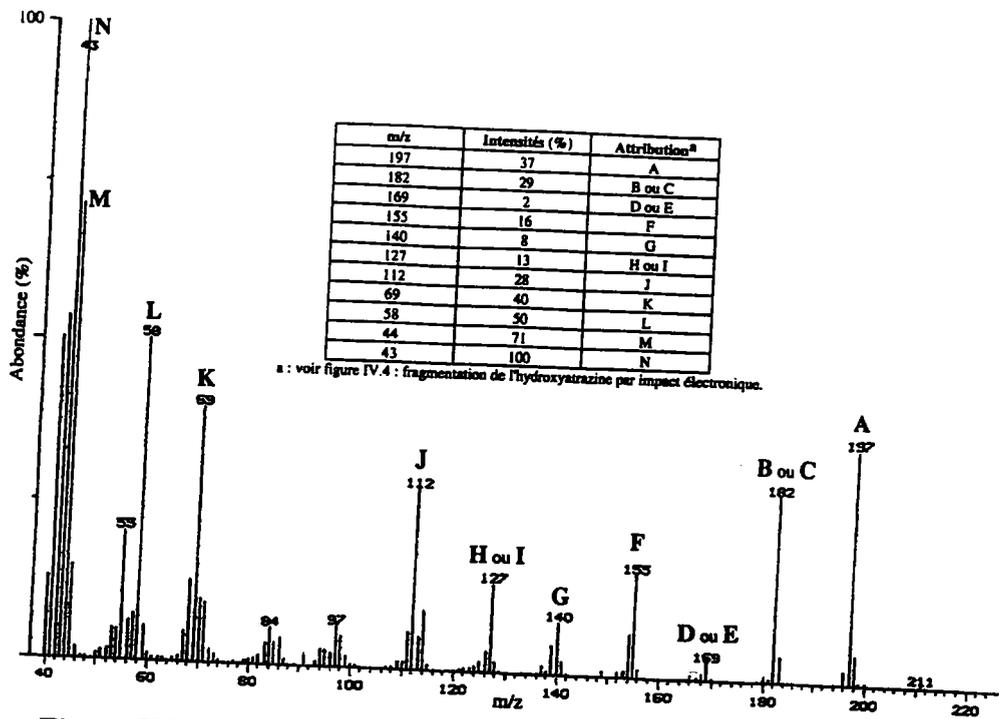


Figure IV.3 : Spectre de masse de l'hydroxyatrazine par EI.

Les voies de décomposition que nous proposons pour l'hydroxyatrazine sont représentées figure IV.4. Les mécanismes correspondant sont regroupés en annexe.

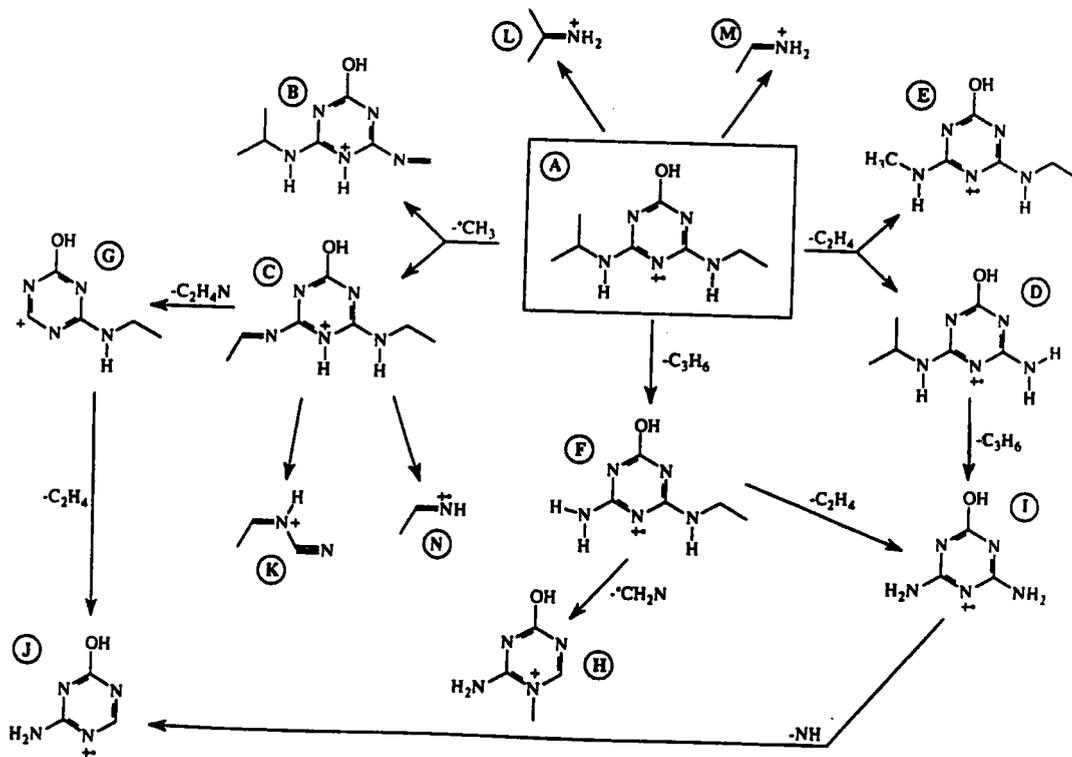


Figure IV.4 : Fragmentation de l'hydroxyatrazine par EI.

C. Détermination de l'absorption dans l'UV

La désorption/ionisation laser fait intervenir une étape d'absorption du rayonnement incident par l'échantillon. Afin de mieux appréhender les spectres de masse obtenus par cette technique, il est donc souhaitable de disposer des spectres d'absorption des composés analysés. Etant donné que notre instrument est couplé à des lasers émettant dans l'ultra-violet, les spectres d'absorption UV des deux composés ont été réalisés dans l'éthanol (voir figure IV.5).

En ce qui concerne l'atrazine, on note deux transitions principales aux longueurs d'onde 221.8 et 264.4 nm, correspondant aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ des liaisons C=N non équivalentes du cycle.

Pour l'hydroxyatrazine, plusieurs transitions non résolues sont visibles autour de 220 nm. Leurs intensités sont environ 4 fois plus faibles que pour l'atrazine.

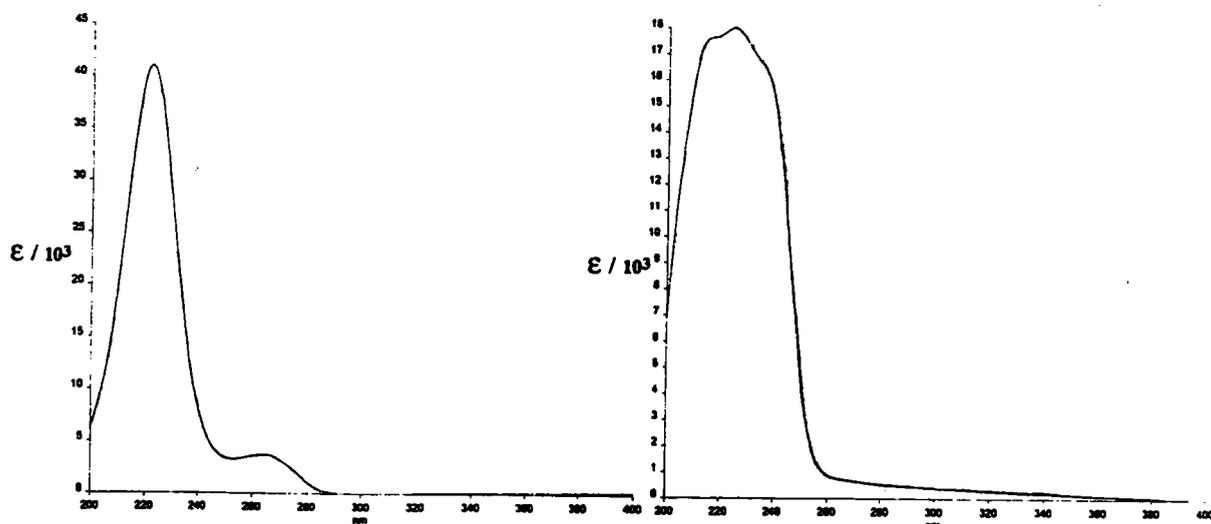


Figure IV.5 : Spectres d'absorption UV de l'atrazine et de l'hydroxyatrazine.

Le tableau IV.2 résume les coefficients d'absorption molaire, obtenus par mesure de l'absorbance à longueur d'onde fixée, des deux composés aux différentes longueurs d'ondes disponibles pour l'ionisation laser. En raison de l'instabilité des lectures d'absorbance en-dessous de 200 nm, nous ne pouvons pas déterminer le coefficient d'absorption molaire à 193 nm.

Tableau IV.2 : Coefficients d'absorption molaire ($\text{l. mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) de l'atrazine et de son métabolite dans l'éthanol à différentes longueurs d'ondes.

	$\epsilon_{248 \text{ nm}}$	$\epsilon_{266 \text{ nm}}$	$\epsilon_{355 \text{ nm}}$
Atrazine ($2,55 \cdot 10^{-5} \text{ M}$)	3678	3678	0
Hydroxyatrazine (10^{-4} M)	6227	1245	0

On note que les deux composés présentent une absorption non négligeable à 248 nm, on peut donc envisager d'utiliser le laser excimère pour leur ionisation.

D. Empreintes spectrales des composés par désorption laser à 248 nm

Les expériences sont conduites sur des échantillons de poudres déposées sur porte-échantillon en aluminium à l'aide de la microsonde laser FTMS à géométrie en réflexion.

Le porte-échantillon présente un aspect rugueux avec en particulier la présence de stries d'usinage. Ces défauts ont un effet bénéfique pour l'accrochage des composés en surface mais sont plutôt gênant pour la désorption laser car l'irradiance est moins bien contrôlée. La longueur d'onde utilisée est 248 nm.

Il s'agit de déterminer les conditions optimales d'analyse pour chacun des composés afin de disposer d'une séquence fiable pour les détecter sur les supports d'extraction.

Les spectres présentés ont été acquis en mode d'ionisation positive car les taux d'ionisation sont en général inférieurs en mode négatif. Ceci impose l'utilisation de potentiels de piégeage plus élevés (en valeur absolue) ce qui nuit à la précision en masse des mesures.

En raison de la pression de vapeur saturante relativement élevée de l'atrazine ($4 \cdot 10^{-5} \text{ Pa}$ à 20°C [9] comparé à la pression de la chambre d'analyse : $6,7 \cdot 10^{-6} \text{ Pa}$), le risque d'évaporation de l'échantillon n'est pas impossible. On peut donc envisager des problèmes de détection pour ce composé. Toutefois, en ce qui concerne la désorption sur membrane, il est possible que cet effet soit moins marquant en raison de l'adsorption du produit sur les sites de la silice greffée.

1. FTMS à 248 nm - Atrazine

En règle générale, les produits organiques sont détectés à des irradiances moyennes ($< 10^7 \text{ W cm}^{-2}$) alors que les spectres en ionisation laser à 248 nm de l'atrazine se caractérisent par la présence du pic pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ (m/z 216 et 218) dès les irradiances élevées ($2 \cdot 10^9 \text{ W cm}^{-2}$). Ce pic est accompagné d'un fragment fortement majoritaire à m/z 180 ainsi que d'adduits d'intensités faibles. Le fragment m/z 180 est attribué à la perte de HCl par la molécule protonée. On note que la perte de Cl^{\bullet} n'est pas observée à partir de l'ion moléculaire en ionisation électronique.

Lorsque l'irradiance diminue, le pic pseudo-moléculaire devient majoritaire et les pics d'adduits se manifestent plus fortement. Ces adduits sont issus de recombinaisons entre des molécules neutres et les ions issus de la surface. Ce phénomène s'accroît particulièrement à irradiance moyenne (entre 10^6 et 10^7 W cm^{-2}), lorsque le délai entre l'ionisation laser et l'excitation des ions augmente.

Une autre particularité des spectres obtenus est que l'intensité du pic pseudo-moléculaire s'accroît même à haute irradiance ($2 \cdot 10^9 \text{ W.cm}^{-2}$) lorsque le délai après l'ionisation laser est de quelques secondes au lieu des quelques millisecondes utilisées habituellement.

Le spectre en désorption laser à 248 nm de l'atrazine de la figure IV.6 a été obtenu dans des conditions d'irradiances fortes ($>5 \cdot 10^8 \text{ W cm}^{-2}$, diamètre d'impact environ $15 \mu\text{m}$) et avec un délai avant excitation inhabituellement long (4 secondes).

Ce spectre montre un pic pseudo-moléculaire majoritaire, quelques adduits et très peu de fragmentation. On distingue en faibles proportions l'adduit $[2M+H]^+$ et ses fragments $[2M+H-HCl]^+$, $[2M+H-2HCl]^+$ à m/z 431, 395, et 360.

Les seuls ions observés de masse inférieure à $[M+H]^+$ sont m/z 180 et 198. Ce dernier correspondant à la substitution du chlore par un hydroxyle sur la molécule protonée qui conduit à l'hydroxyatrazine protonée. Cette substitution, sans doute due à la présence d'eau résiduelle dans le spectromètre, se produit par réaction ion/molécule. Ceci est favorisé par le délai important entre l'impact laser et l'excitation des ions. L'hydroxyatrazine protonée peut également réagir avec l'atrazine pour former l'ion $[(2M+H)-Cl+OH]^+$ parfois détecté à m/z 413.

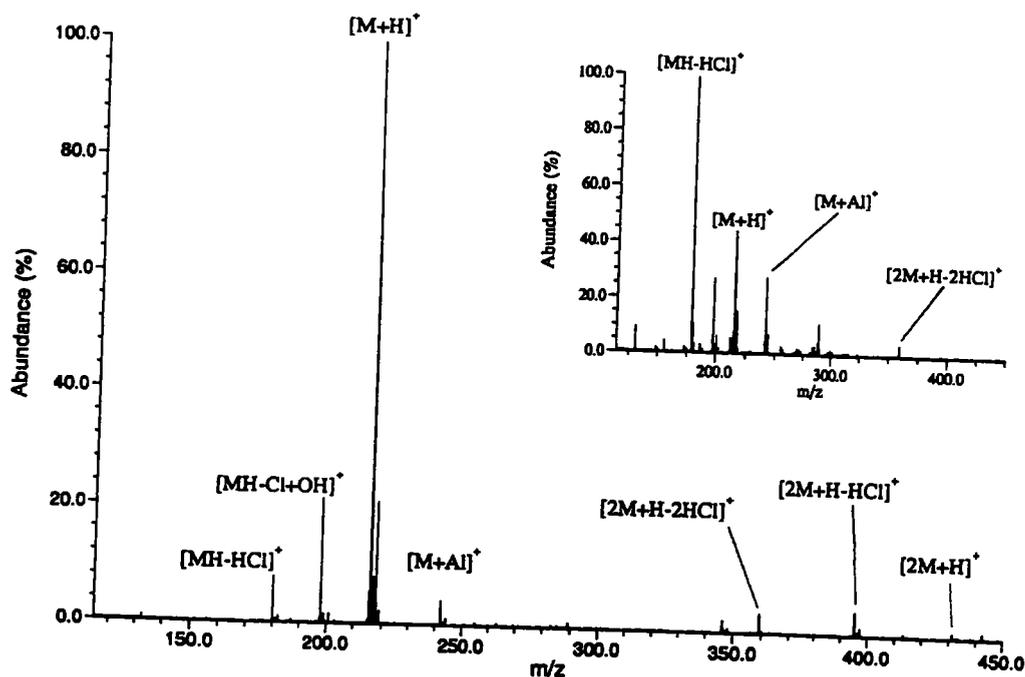


Figure IV.6 : Spectre de masse de l'atrazine par désorption laser à 248 nm. Irradiance 7.10^8 W.cm^{-2} . Délai de 4 secondes avant excitation. L'insert montre un spectre acquis dans les mêmes conditions avec un délai de 100 ms

A des irradiances faibles ($< 10^6 \text{ W cm}^{-2}$), aucun signal de l'atrazine n'est détecté même lorsqu'un long délai avant excitation est employé. Ceci sera expliqué de façon détaillé par la suite dans le paragraphe consacré à l'étude de la désorption laser des pesticides à partir des supports d'extraction.

Par rapport à l'ionisation par faisceau d'électrons, l'ionisation laser procure des spectres où la fragmentation est très réduite mais qui sont compliqués par la présence d'adduits et de leurs fragments.

2. FTMS à 248 nm - Hydroxyatrazine

Le composé n'est pas détecté à haute irradiance ce qui est classique en désorption laser de composés organiques.

A irradiance moyenne (vers $2 \cdot 10^7 \text{ W cm}^{-2}$), les spectres sont dominés par de nombreux fragments. On observe les pics suivants : m/z 156, 155, 133, 127, 113. On détecte également avec des intensités très faibles les ions m/z 97, 86, 73, 71, 69, 58, 44 et 43.

Les fragments principaux (m/z 155, 127 et 113) sont attribués à une perte de NCOH et à la perte conjuguée de ce fragment et d'éthène ou de propène. Ceci est confirmé par la mesure de masse exacte. Il est à noter que ces ruptures sont très minoritaires en EI alors que les ions correspondant sont systématiquement les plus intenses dans les spectres par désorption laser. Nous proposons figure IV.8 un mécanisme pour ces fragmentations :

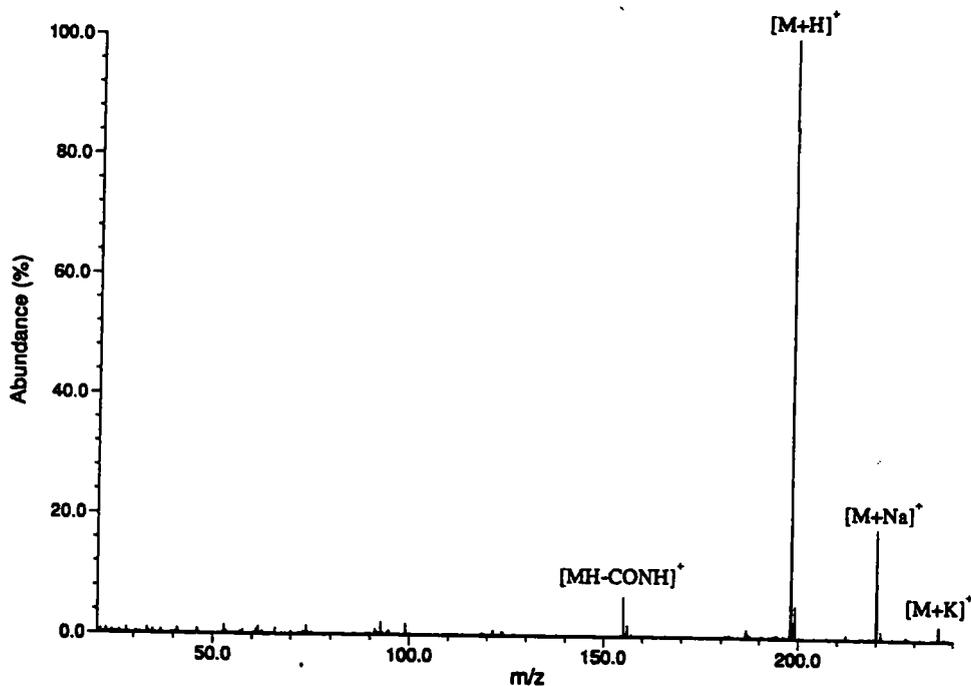


Figure IV.7 : Spectre de masse de l'hydroxyatrazine sur aluminium par désorption laser à 248 nm. Irradiance 10^6 W.cm^{-2}

L'ion de masse 156 correspond au fragment $[\text{MH}-\text{C}_3\text{H}_6]^+$. Cette fragmentation ainsi que la plupart des autres sont équivalentes à celles observés par EI.

Lorsque l'irradiance diminue le pic pseudo-moléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ (m/z 198) augmente et l'on observe des adduits de sodium et de potassium. Vers $7 \cdot 10^6 \text{ W cm}^{-2}$, le pic m/z 198 devient majoritaire et la fragmentation diminue (voir figure IV.7). A partir de $8 \cdot 10^5 \text{ W cm}^{-2}$ il devient difficile de discerner des fragments. Le pic $[\text{M}+\text{H}]^+$ est détecté jusqu'à une irradiance d'environ $5 \cdot 10^5 \text{ W cm}^{-2}$.

Qualitativement, on peut affirmer que les spectres d'hydroxyatrazine par désorption laser sont nettement plus simples que ceux de l'atrazine. En effet, très peu d'adduits de recombinaison sont observés et leur intensité est toujours faible comparé au pic $[\text{M}+\text{H}]^+$. De plus, la variation du délai avant excitation ne cause pas de

bouleversement du spectre, tout au plus peut-on observer une diminution du signal due à une perte d'ions.

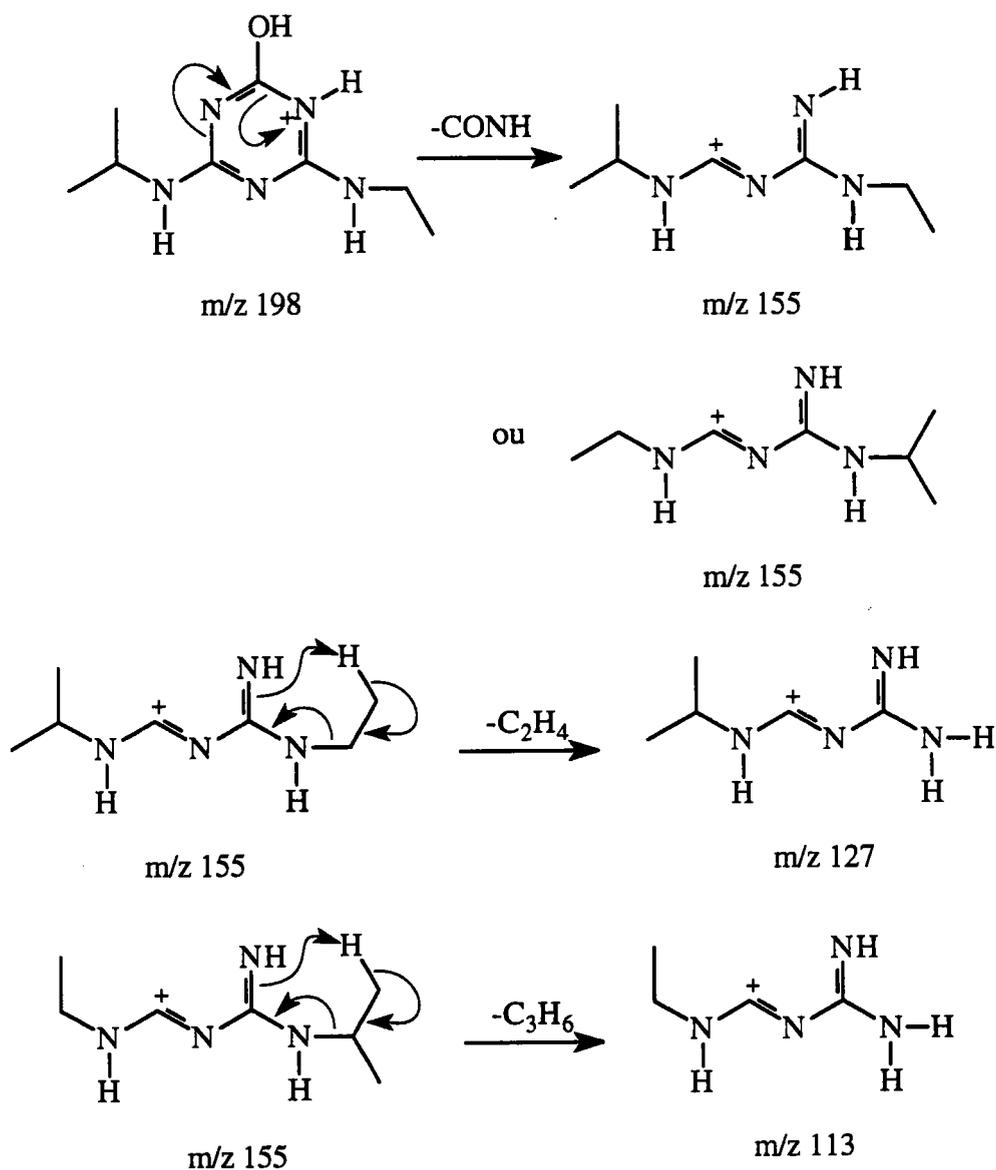


Figure IV.8 : Proposition de fragmentation pour l'hydroxyatrazine en désorption laser à 248 nm.

Par rapport à l'EI, les spectres de désorption laser se caractérisent par l'absence de certains fragments. En particulier, les ions correspondant aux pertes de C_2H_4 ou de CH_4 à partir de l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ ne sont pas significatifs, même à irradiance moyenne.

II. Etude de la désorption laser FTMS sur support d'extraction

Les études préliminaires ont révélé que l'atrazine et son métabolite sont convenablement retenus sur les silices greffées C₁₈ et que leurs spectres de masse par désorption laser directe sont obtenus de façon fiable. La faisabilité de la désorption laser sur support a donc été étudiée.

La désorption laser s'effectuant à la surface du support, le choix du conditionnement est un paramètre important. Notre choix s'est porté sur les disques d'extraction au détriment des cartouches pour plusieurs raisons :

Il est possible d'envisager d'utiliser une cartouche pour l'extraction puis de vider la phase pour l'analyser par désorption laser. Il est cependant beaucoup plus simple de découper une portion de membrane et de la fixer directement sur le porte-échantillon.

En outre, dans le cas des cartouches d'extraction, les grains de silice ne sont pas maintenus par un réseau. Il serait donc à priori difficile de récupérer les grains les plus chargés après ouverture de la cartouche. Parallèlement, l'extraction de composés colorés sur des disques a démontré qu'ils sont retenus dans les premiers 50 µm d'épaisseur et la désorption laser est donc envisageable [1].

A. Désorption laser FTMS sur disque d'extraction

1. Estimation des interférences possibles dues à la membrane

Dans un premier lieu, il a été nécessaire d'effectuer l'analyse de membranes témoins pour s'assurer qu'il n'y a aucune interférence avec les pics des composés étudiés. Les témoins utilisés sont des membranes sur lesquelles 100 ml d'eau "ultra-pure" ont été percolés.

Ces membranes sont, comme nous l'avons vu précédemment, constituées de particules de silice greffée emprisonnées dans un réseau très dense de microfibrilles de teflon. Les greffons sont des chaînes hydrocarbonées à 18 atomes de carbone. Le rapport teflon sur silice greffée est d'environ 10% en poids [10]

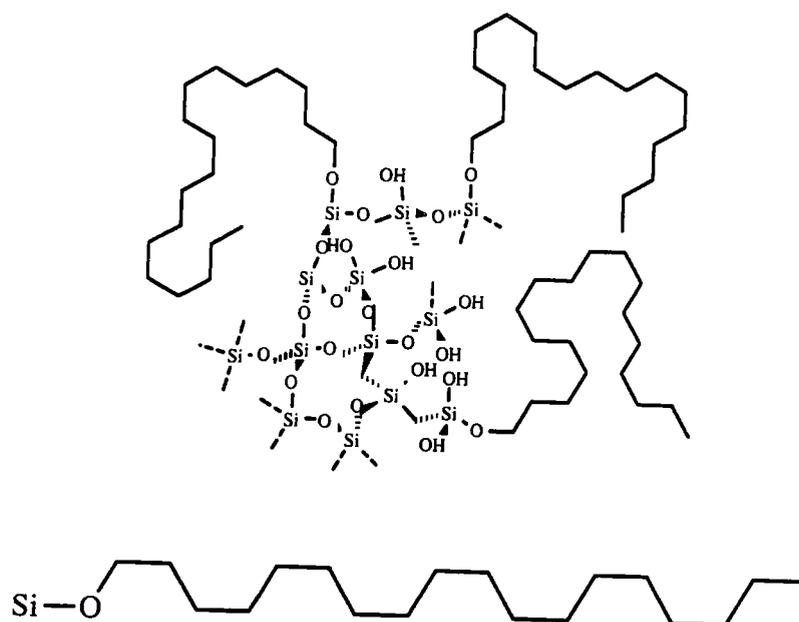


Figure IV.9 : Réseau tridimensionnel de la silice et phase greffée C₁₈. (C₁₈H₃₇OSi). Masse moyenne : 297,58 g/mol. Masse monoisotopique (²⁸Si, ¹²C, ¹⁶O, ¹H) : 297,26 u.

A haute irradiance ($3 \cdot 10^9 \text{ W cm}^{-2}$) (voir figure IV.11), les spectres de la membrane sont dominés par les pics dus au silicium (Si⁺, SiOH⁺, SiF⁺). On distingue également le pic de l'ion CF⁺ avec une faible intensité et les agrégats [SiC₂H]⁺ et [SiC₂H₃]⁺. L'ion CF⁺ est le seul ion caractéristique du téflon à être détecté.

Lorsque l'irradiance diminue (entre 10^8 et $5 \cdot 10^6$), on voit apparaître d'autres agrégats ionisés du silicium (du type Si_xC_nH_m en particulier) ainsi que des ions d'autres éléments (impuretés) présents à l'état de traces (Na⁺, K⁺, Ba⁺, Fe⁺, Ni⁺, Ti⁺) qui ne sont pas détectés systématiquement. L'intensité de ces agrégats du silicium augmente par rapport à celle des impuretés lorsque l'irradiance diminue dans la gamme précitée. Ces agrégats sont issus de recombinaisons entre la silice et les chaînes carbonées des greffons (voir figure IV.10). On ne détecte par contre aucun pic qui permette d'affirmer qu'il y ait des recombinaisons entre la phase greffée et le téflon.

A des irradiances inférieures à $4 \cdot 10^6 \text{ W.cm}^{-2}$, aucun pic n'est plus détecté. A ces irradiances, le seuil d'ablation/ionisation de la membrane n'est pas atteint et il semble donc possible de désorber des produits sans craindre d'interférences.

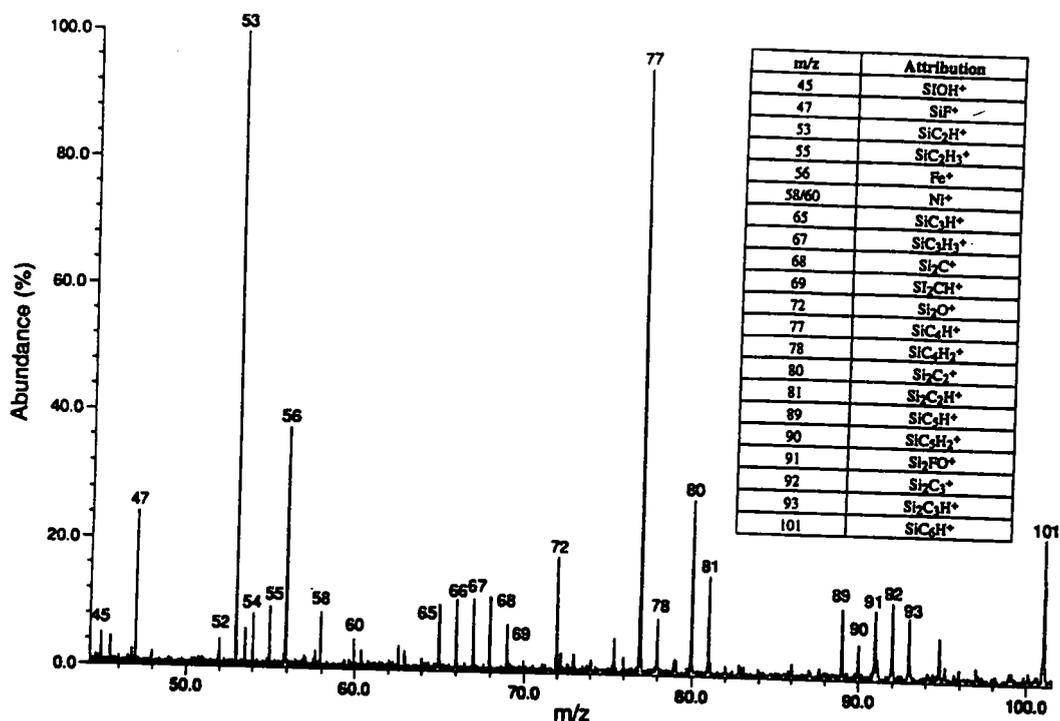


Figure IV.10 : Spectre de masse de la membrane d'extraction en désorption laser à 248 nm pour une irradiance d'environ 10^7 W.cm^{-2} .

2. Microscopie électronique à balayage de membranes après ablation laser

Afin de déterminer les modifications morphologiques de la membrane, et ainsi d'avoir une idée des sites de désorption des molécules adsorbées, nous avons effectué des essais d'ablation laser de la membrane à différentes irradiances.

Une membrane n'ayant subi aucun traitement préalable est fixée sur un porte-échantillon FTMS et recouverte d'une grille de microscopie électronique à transmission. Cette grille permet de localiser les différents impacts à la surface de la membrane. La membrane est ensuite insérée dans la chambre d'analyse et soumise à diverses irradiations qui correspondent aux conditions favorables soit pour la détection de l'atrazine soit pour celle de son métabolite :

Point d'impact n°1 : 1 impact laser focalisé (10^9 W.cm^{-2})

Point d'impact n°2 : 100 impacts laser à faible irradiance (10^6 W.cm^{-2})

La membrane est retirée du porte-échantillon après irradiation en prenant soin de ne pas bouger la grille de repérage. L'ensemble membrane et grille subit tout d'abord deux métallisations successives (carbone, puis Au/Pd) avant d'être introduite dans le MEB

et observé en mode d'électrons secondaires. L'expérience a été répétée sur quatre membranes et les résultats obtenus sont comparables.

Pour le point d'impact n°1, on distingue clairement un cratère d'une vingtaine de micromètres de profondeur dans la membrane (voir figure IV.11). L'analyse FTMS correspondante montre les ions que nous avons décrit au paragraphe précédent.

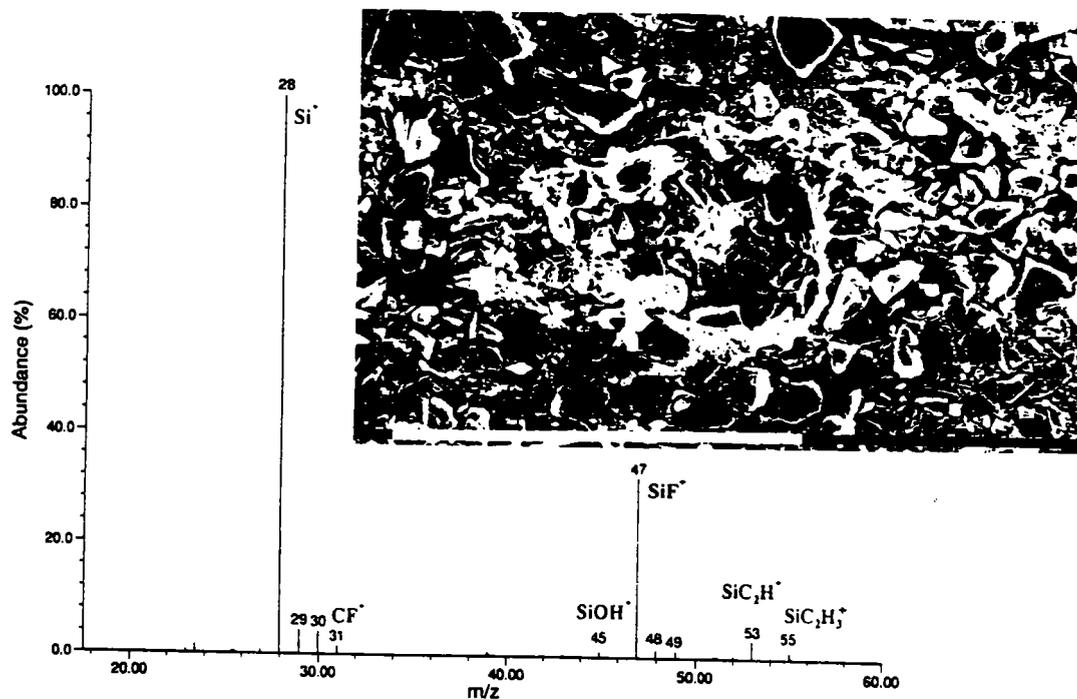


Figure IV.11 : Spectre de masse résultant d'un seul impact laser à haute irradiance sur une membrane d'extraction et photographie MEB du cratère généré.

En ce qui concerne le point d'impact n°2, aucune altération de la surface n'est observée au MEB. De plus, aucun ion n'est détecté par FTMS en mode positif puisque nous nous trouvons nettement en dessous du seuil d'ablation / ionisation que nous avons évalué précédemment à environ $4 \cdot 10^6 \text{ W.cm}^{-2}$. On peut donc raisonnablement estimer que le seuil d'ablation de la membrane se situe autour de $2 \cdot 10^6 \text{ W.cm}^{-2}$.

3. Désorption laser des composés adsorbés

Après avoir déterminé les interférences dues à la membrane et les conditions optimales de désorption des deux composés, la désorption laser à partir de disques d'extraction a pu être évaluée à 248 nm.

La figure IV.12 montre les spectres obtenus pour les deux produits adsorbés sur membrane C₁₈. Les concentrations des solutions extraites sont de 10 µg/ml.

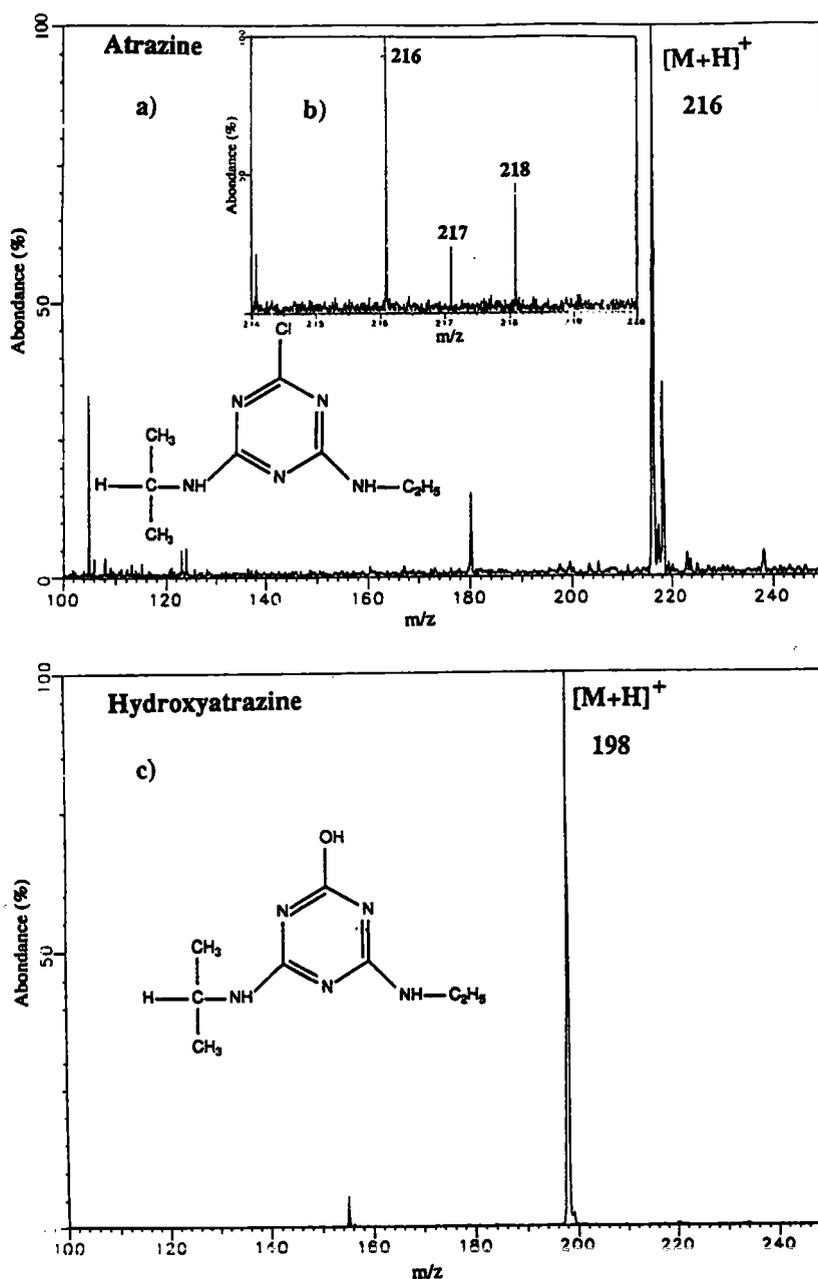


Figure IV.12 : Spectre de masse par désorption laser à 248 nm de l'atrazine (a) et l'hydroxyatrazine (c) sur membrane d'extraction C₁₈. L'insert (b) montre un spectre en mode hétérodyne dans la gamme de masse de l'ion $[M+H]^+$ de l'atrazine.

Les deux composés sont aisément détectés et identifiés en utilisant les paramètres déterminés précédemment : irradiance élevée et long délai pour l'atrazine et irradiance faible et délai court pour son métabolite. On distingue dans les deux cas le pic pseudo-

moléculaire $[M+H]^+$ (m/z 216 et m/z 198) ainsi qu'un fragment caractéristique (m/z 180 et m/z 156 pour l'atrazine et l'hydroxyatrazine respectivement).

Lors de l'analyse des standards, il est apparu que les deux molécules cibles nécessitent d'utiliser des conditions opératoires très différentes. Il en est de même pour l'analyse des composés adsorbés sur membranes d'extraction. Ces considérations nous ont amenés à examiner de façon plus approfondie deux paramètres : l'irradiance et le délai entre l'impact laser et l'excitation des ions. Nous avons ainsi pu mettre en évidence des mécanismes d'ionisation distincts pour les deux composés.

B. Mise en évidence de deux mécanismes d'ionisation

1. Etude du paramètre irradiance

La figure IV.13 montre la variation du signal des ions $[M+H]^+$ de l'atrazine et de l'hydroxyatrazine en fonction de l'irradiance sur l'échantillon.

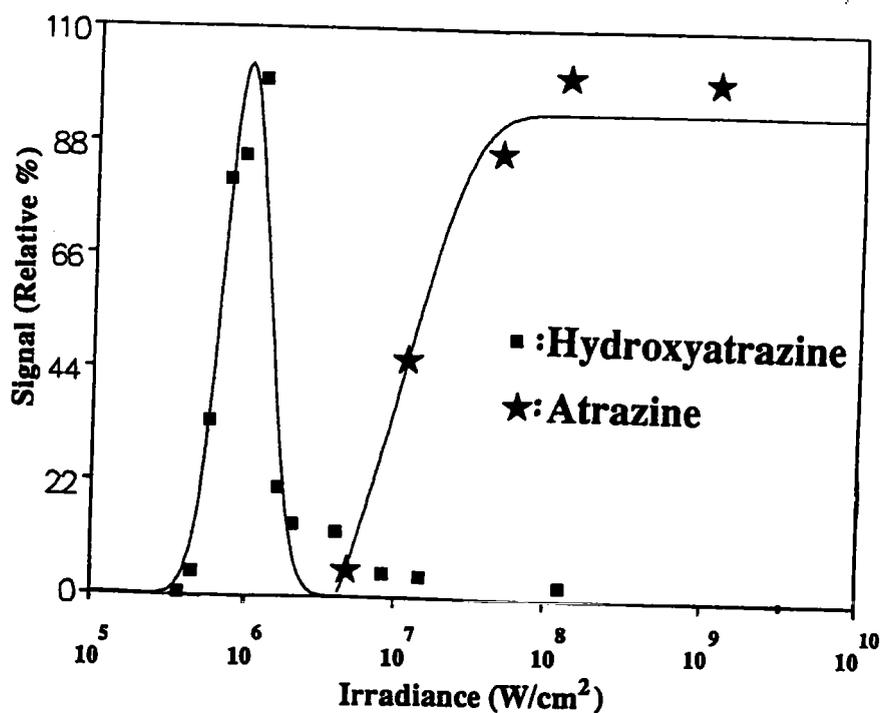


Figure IV.13 : Signal de l'ion pseudo-moléculaire de l'atrazine et de l'hydroxyatrazine sur membrane en fonction de l'irradiance laser utilisée pour l'ionisation. Le délai entre l'ionisation et l'excitation est de 3 s et 100 ms pour l'atrazine et pour l'hydroxyatrazine respectivement.

Il apparaît que l'atrazine adsorbée sur la membrane ne s'ionise qu'à irradiance élevée alors que son analogue hydroxylé est détecté dans des conditions beaucoup plus

douces. C'était déjà le cas lors de l'analyse des standards. Malgré les conditions très rudes employées, l'atrazine ne se fragmente pas beaucoup alors que dans les mêmes conditions, son métabolite présente un spectre où ne figurent que des fragments et des ions issus de la membrane.

2. Etude du délai d'ionisation

Lors de l'étude des standards par désorption laser, nous avons observé d'importantes modifications des spectres de l'atrazine suivant le délai entre l'impact laser et l'excitation des ions. Pour l'hydroxyatrazine, au contraire, l'allure des spectres était conservée. En effet, comme le montre la figure IV.14, le signal de l'ion pseudo-moléculaire de l'atrazine augmente pendant un temps très long (environ 4 secondes ici) comparé à l'hydroxyatrazine.

En outre, ce délai dépend de la taille de la membrane et de la pression résiduelle dans le spectromètre. Le graphe de la figure IV.14 a été réalisé avec une portion de 5 mm x 5 mm de membrane et à une pression résiduelle de $9,2 \cdot 10^{-6}$ Pa. Pour des coupes de membrane plus réduites ou pour de pressions résiduelles plus élevées, le temps nécessaire pour avoir un signal maximal d'atrazine augmente.

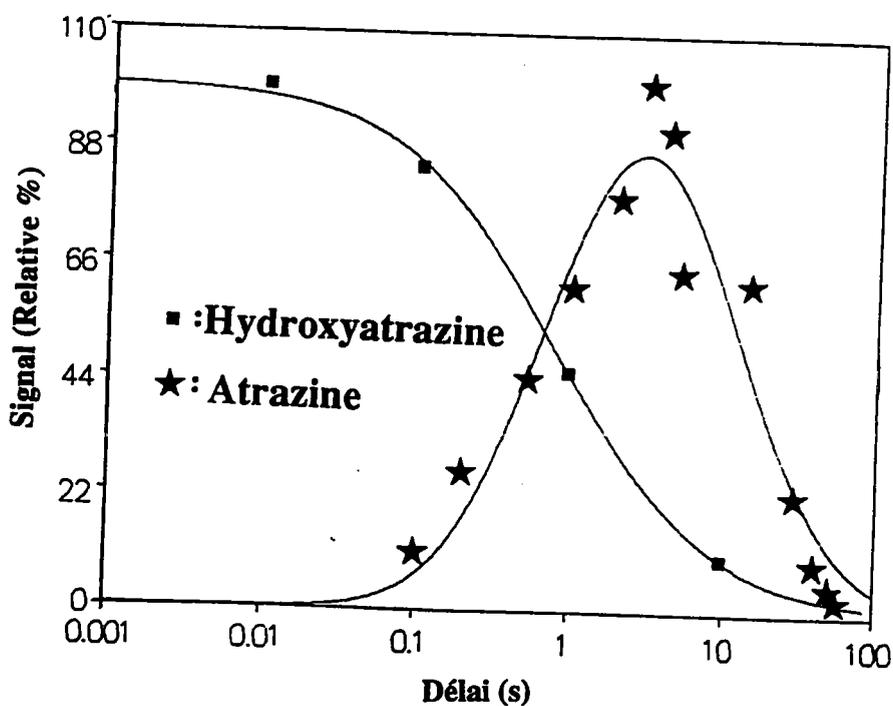


Figure IV.14 : Signal de l'ion pseudo-moléculaire de l'atrazine et de l'hydroxyatrazine adsorbés sur membrane en fonction du délai entre l'ionisation et l'excitation des ions. Les irradiances utilisées sont de $5 \cdot 10^8$ et 10^6 $W \cdot cm^{-2}$ pour l'atrazine et pour l'hydroxyatrazine respectivement.

Des études ont montré que l'émission de neutres et d'ions peut continuer pendant plusieurs millisecondes après une irradiation laser de quelques nanosecondes [11]. Cependant, il n'a jamais été rapporté qu'elle pouvait durer plusieurs secondes. Les résultats concernant l'atrazine ne cadrent donc pas avec ces observations. Il est donc probable que l'atrazine sublime dans la cellule malgré les interactions avec la silice greffée et y est ionisée par les ions du type SiC_nH issus de l'ablation de la membrane, alors que l'hydroxyatrazine s'ionise par un phénomène de désorption/ionisation laser classique. Dans le cas de l'atrazine, la désorption laser semble même ne jouer qu'un rôle mineur comme nous allons le voir au paragraphe suivant.

3. Confirmation des mécanismes d'ionisation

La pression de vapeur saturante de l'atrazine est de $4 \cdot 10^{-5}$ Pa à 20°C [9] comparé à la pression de $6,7 \cdot 10^{-6}$ Pa qui règne dans la chambre d'analyse. Ceci conforte l'hypothèse d'un mécanisme en phase gazeuse. Nous ne disposons malheureusement pas de la valeur correspondante pour l'hydroxyatrazine. Cependant, une expérience réalisée à l'INRA nous a permis de montrer que cette pression de vapeur saturante est nettement inférieure à celle de l'atrazine.

Il s'agit de comparer la volatilité de l'atrazine et de son métabolite en soumettant $500 \mu\text{g}$ de produit à un vide de $5,26 \cdot 10^{-4}$ Pa pendant 10 minutes. L'expérience est menée dans l'enceinte d'un spectromètre de masse quadripolaire. Les ions obtenus après désorption thermique et ionisation électronique sont détectés et leurs intensités comparées. Les calculs sont effectués sur le courant ionique total ainsi que sur la somme des deux ions principaux de haute masse 215/200 et 197/182 (pour l'atrazine et l'hydroxyatrazine respectivement) en utilisant le programme d'intégration de surface et de hauteur automatique de l'instrument. Quel que soit le mode de calcul utilisé, on constate que le signal de l'atrazine est inférieur à 5% de sa valeur initiale après 10 minutes de séjour dans la source, alors que celui de l'hydroxyatrazine reste inchangé.

D'autres indices confirment une ionisation en phase gazeuse de l'atrazine. Lorsque nous fixons sur le même porte échantillon une membrane traitée à l'atrazine et une membrane vierge, il est possible de détecter le pic moléculaire de l'atrazine même lorsque le laser est pointé sur la membrane vierge. La désorption laser n'est donc pas nécessaire pour le passage du composé en phase gazeuse. Celui-ci s'évapore continuellement et s'ionise par réaction avec les ions provenant de la membrane. On

peut envisager notamment des réactions avec les agrégats ionisés du type $\text{Si}_x\text{C}_n\text{H}_m^+$, ce qui expliquerait que l'ion détecté soit $[\text{M}+\text{H}]^+$.

D'autre part, la molécule est détectée sur n'importe quel type d'échantillon pendant plusieurs heures après l'analyse d'une membrane chargée, pour peu que l'on travaille à haute irradiance et avec un long délai après l'impact laser. Il existe donc un risque de contamination croisée d'échantillons et de détection de faux positifs. Par conséquent, il apparaît que la méthode de désorption laser FTMS sur membrane d'extraction est limitée par la volatilité des composés à analyser. Dans la suite de l'étude, nous nous limiterons aux cas favorables de molécules ayant une pression de vapeur saturante inférieure à $6,7 \cdot 10^{-6}$ Pa.

III. Détection de l'hydroxyatrazine sur membrane : les problèmes posés par la limite de solubilité

Nous venons de voir que la désorption laser sur membranes d'extraction permet de détecter des produits adsorbés mais reste limitée par la volatilité des produits à analyser. Nous avons voulu dans un deuxième temps étudier le seuil de détection de la technique dans le cas de l'hydroxyatrazine.

En raison de la faible solubilité de l'hydroxyatrazine dans l'eau ($5,9 \mu\text{g}/\text{ml}$ à pH 7), différents protocoles sont testés. Dans une première série d'expériences, des solutions d'hydroxyatrazine sont directement extraites sur membranes. Le second protocole comporte un étape de filtration de la solution mère sur un filtre de nitrocellulose.

En effet, nous nous sommes aperçus que la molécule est présente à l'état de microcristaux dans la solution mère et qu'elle risque de se retrouver déposée sur la membrane et non pas adsorbée sur la phase. Ceci peut avoir pour conséquence une erreur systématique sur les déterminations des rendements globaux d'extraction car une partie du composé n'est peut-être pas adsorbée.

A. Solutions non filtrées

Des membranes contenant des quantités variables d'hydroxyatrazine sont analysées dans les conditions optimales de délai et d'irradiance que nous avons déterminées sur les échantillons standard. Pour les membranes les plus chargées ($10 \mu\text{g}/\text{ml}$ et $1 \mu\text{g}/\text{ml}$), un signal intense de l'ion pseudo-moléculaire est détecté même après un grand nombre

d'impacts au même point de la membrane. Etant donné que cette dernière n'est pas endommagée dans ces conditions d'irradiance ($\leq 10^6 \text{ W cm}^{-2}$), il semble bien que l'hydroxyatrazine soit adsorbée sur des sites très proches de la surface. On peut éventuellement penser à la présence de microcristaux déposés sur la membrane.

Le signal de l'ion $[M+H]^+$ est enregistré pour les différentes concentrations. Le tableau IV.3 regroupe les résultats obtenus.

Tableau IV.3 : Signal (en unités arbitraires) de l'ion $[M+H]^+$ de l'hydroxyatrazine pour différentes concentrations de la solution extraite.

Concentration ^a	10	1	0,1	0,05	0,01
Signal $[M+H]^+$	24,5±1,3	20±2,1	13,3±2,0	7,8±0,9	5,0±0,9

a : concentrations exprimées en $\mu\text{g/ml}$.

A 0,001 $\mu\text{g/ml}$, aucun signal provenant du composé n'est détecté, nous estimons donc le seuil de détection à 0,01 $\mu\text{g/ml}$.

La figure IV.15 montre la variation du signal en fonction de la concentration de la solution de départ. On constate sur ce graphe que la linéarité n'est pas très bonne et que la précision ne permet pas de déterminer la concentration.

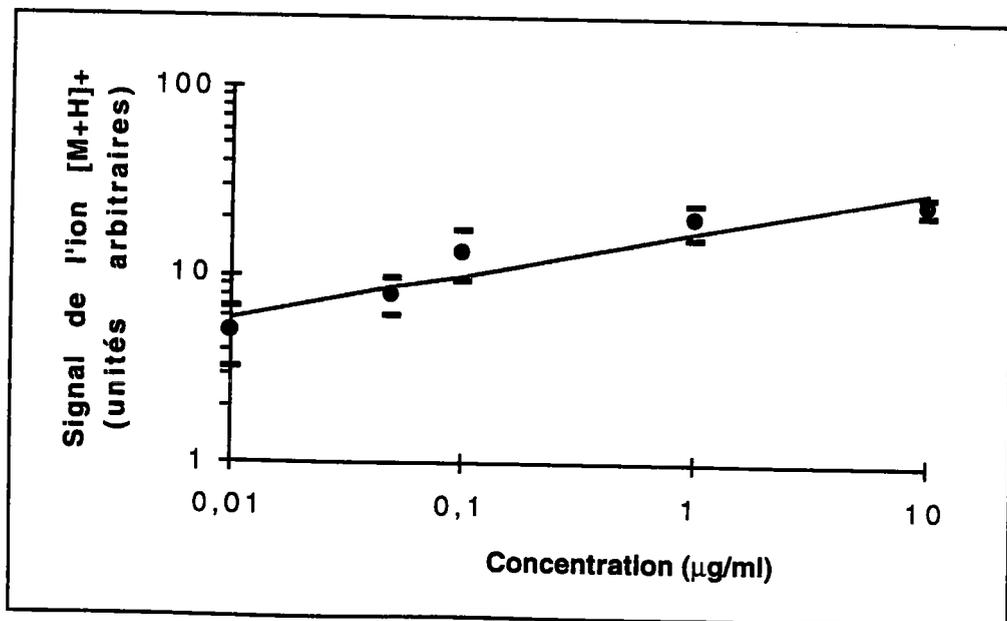


Figure IV.15: Variation du signal de l'ion $[M+H]^+$ de l'hydroxyatrazine en fonction de la concentration de la solution de départ.

Pour mieux distinguer les différentes concentrations, nous avons tenté d'évaluer le nombre total d'impacts laser nécessaires à une perte totale de signal de l'ion $[M+H]^+$. Le tableau IV.4 regroupe les résultats enregistrés.

Tableau IV.4 : Nombre de tirs laser successifs au même point d'une membrane permettant la détection de l'ion $[M+H]^+$ de l'hydroxyatrazine.

Concentration ^a	10	1	0,1	0,05	0,01
Nombre de tirs	1800	165	34	16	2

a : concentrations exprimées en $\mu\text{g/ml}$.

On note qu'à lui seul, le nombre de tirs efficaces ne permet pas non plus de déterminer avec précision la gamme de concentration de la solution de départ, notamment à faibles concentrations. Afin de pouvoir tenir compte du signal et du nombre de tirs efficaces, nous avons représenté le signal absolu (signal multiplié par le nombre de tirs efficaces) en fonction du nombre de tirs effectués (voir figure IV.16).

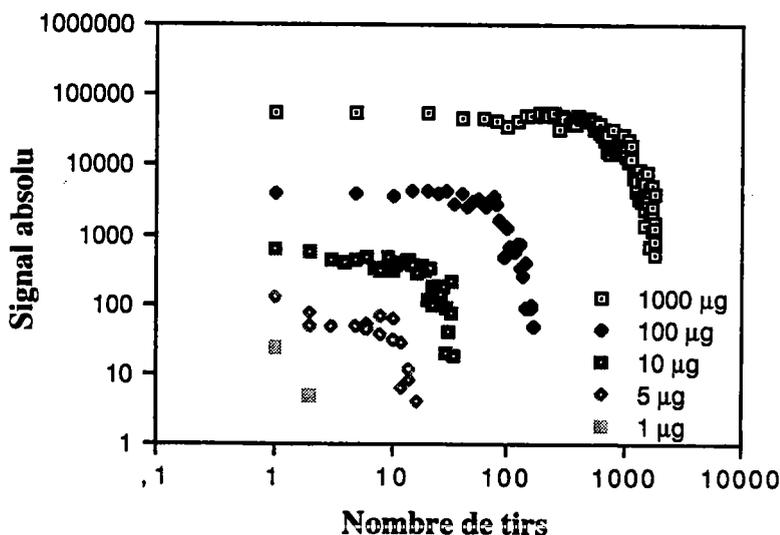


Figure IV.16 : Signal absolu de l'ion $[M+H]^+$ de l'hydroxyatrazine en fonction du nombre de tirs au même endroit d'une membrane pour diverses quantités adsorbées. Irradiance 10^6 W cm^{-2} . Délai avant excitation 100 ms.

On note que cette approche permet de mieux séparer les différentes concentrations. Cependant, une analyse nécessite un étalonnage dans la gamme de concentrations étudiée et il faut admettre que la précision n'est pas toujours très bonne. La méthode permet néanmoins d'avoir une idée grossière de la concentration des solutions de départ dans la gamme de 0,01 à 10 $\mu\text{g/ml}$ lorsque la solution mère n'est pas filtrée.

B. Solutions filtrées et filtres de nitrocellulose

Lorsque les solutions mères sont filtrées avant extraction, le seuil de détection est nettement plus élevé. En effet, il est impossible dans ces conditions de déceler le produit à faible irradiance. Pour le détecter, il est nécessaire d'employer des irradiances moyennes juste en dessous du seuil d'ionisation de la membrane elle-même ($3 \cdot 10^6 \text{ W.cm}^{-2}$). Dans ces conditions, le rapport signal sur bruit est plus faible et la fragmentation du composé est plus forte (voir figure IV.17).

En ce qui concerne le nombre d'impacts laser accumulés au même point, on remarque qu'il n'est pas possible de détecter le signal du composé adsorbé plus de 20 fois au même endroit.

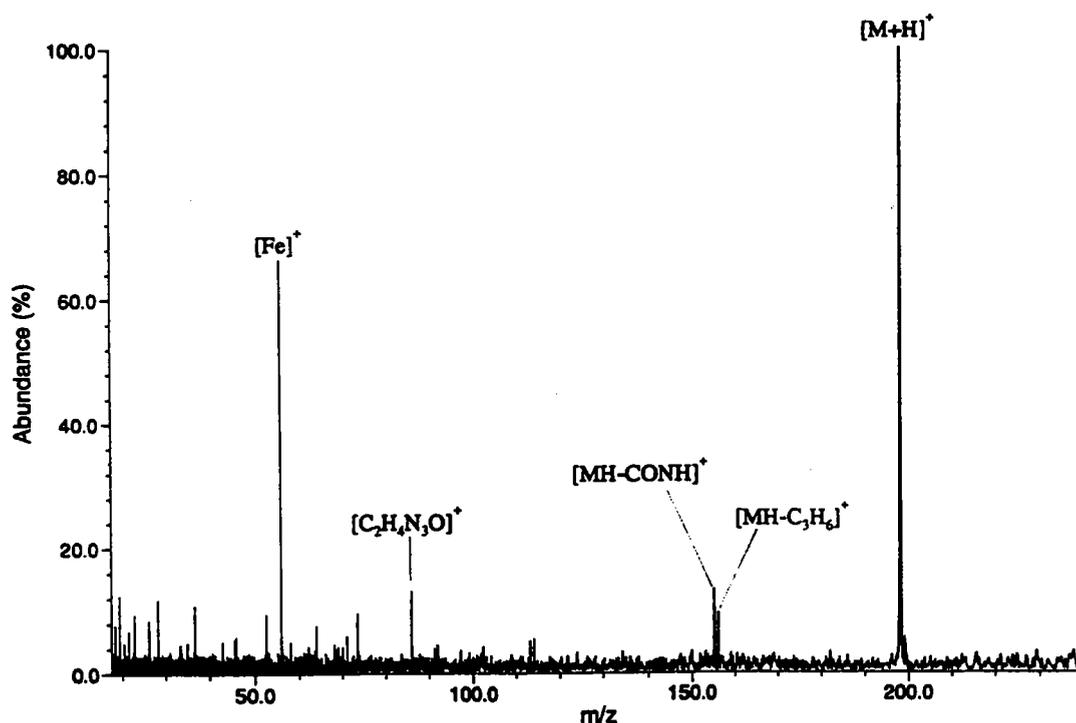


Figure IV.17 : Spectre par désorption laser à 248 nm de l'hydroxyatrazine adsorbée sur membrane d'extraction (après filtration de la solution).

De plus, l'analyse du filtre de nitrocellulose utilisé pour filtrer la solution montre une importante quantité d'hydroxyatrazine. Il est possible, sur ce filtre, d'utiliser les irradiances faibles qui nous avaient permis de détecter la molécule cible sur les membranes lorsque les solutions n'étaient pas filtrées. En plus de retenir les cristaux en solution, il est également possible que le filtre de nitrocellulose ait joué le rôle de support d'extraction, ce qui expliquerait d'une autre façon la perte de sensibilité considérable lors de l'analyse de la membrane.

Partie 2. Extension de l'étude à d'autres composés

Nous avons pu constater que la désorption laser directe de l'hydroxyatrazine adsorbée sur membrane d'extraction liquide solide est possible. Il est clair cependant que la méthode est limitée par la volatilité des composés à analyser (atrazine). De plus, il convient de filtrer les solutions avant extraction pour éviter les interférences dues aux micro-cristaux déposés sur la membrane.

Nous avons tenté d'étendre la méthode à la détection d'autres pesticides. Les critères de choix de ces nouvelles cibles sont les suivants :

1. Etre convenablement retenus sur les membranes utilisées.
2. Etre aisément ionisés par désorption laser directe sur support d'aluminium et détectés par FTMS.
3. Et si possible avoir une pression de vapeur saturante compatible avec le vide qui règne dans la chambre d'analyse.

Les trois molécules sélectionnées sont la fluméquine, l'isoproturon et le flutriafol. Leurs caractéristiques sont résumées dans le tableau II.1 au chapitre II. Ces trois composés sont très différents de par leurs structures et leurs applications en agriculture.

I. Données préliminaires

A. Spectres UV des composés

Tout comme dans le cas de l'atrazine et de son métabolite, les trois produits ont été étudiés par spectrophotométrie UV pour déterminer leur absorption aux longueurs d'ondes des lasers d'ionisation. La figure IV.18 représente les spectres d'absorption UV des trois composés.

Pour la fluméquine, le spectre est composé de nombreux pics plus ou moins bien résolus. On note un maximum d'absorption à 248 nm. L'isoproturon quant à lui présente deux bandes caractéristiques du groupement C=O et du cycle benzénique. Son absorption est également intense à 248 nm. Le flutriafol enfin montre une

absorption intense autour de 203 nm, mais une faible absorption dans la gamme de 248 nm.

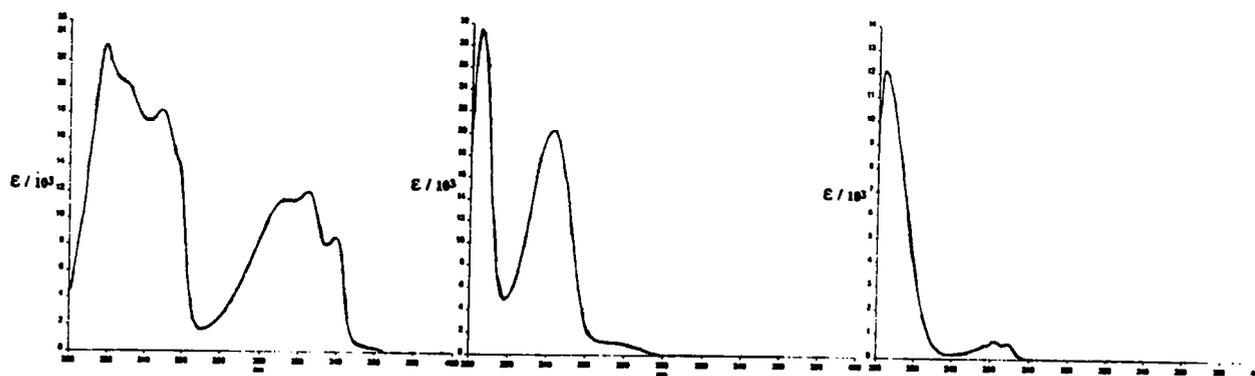


Figure IV.18 : Spectres d'absorption UV de la fluméquine (a), de l'isoproturon (b) et du flutriafol (c).

Le tableau suivant résume les coefficients d'absorption molaires des trois composés à certaines longueurs d'ondes utilisables pour l'ionisation laser. Il n'est pas possible de déterminer l'absorption des produits à 193 nm en raison de fluctuations importantes des mesures dans cette gamme.

Tableau IV.5 : Coefficients d'absorption molaires ($l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) des trois pesticides dans l'éthanol.

	$\epsilon_{248 \text{ nm}}$	$\epsilon_{266 \text{ nm}}$	$\epsilon_{355 \text{ nm}}$
Fluméquine ($4,04 \cdot 10^{-5} \text{ M}$)	18225	2554	300
Isoproturon ($3,41 \cdot 10^{-5} \text{ M}$)	17122	1502	0
Flutriafol (10^{-4} M)	446	725	0

B. Rendements de rétention sur membranes de silices greffées C_{18}

Les rendements de rétention sur membrane d'extraction C_{18} ont été évalués pour les trois composés. Les volumes percolés étaient de 100 ml à la concentration de $10 \mu\text{g/ml}$. Les résultats des analyses du filtrat par HPLC ont permis de déterminer les rendements de rétention regroupés dans le tableau IV.6. Les trois composés sont convenablement retenus sur les membranes que nous utilisons.

Tableau IV.6 : Rendements de rétention des trois molécules sur membrane C₁₈.

Composé	% retenu
Fluméquine	98,3
Isoproturon	100
Flutriafol	100

II. Réponse comparée des standards en spectrométrie de masse par différentes techniques d'ionisation

A. La fluméquine

1. Ionisation par faisceau d'électrons (EI)

Le spectre de masse par EI de la fluméquine est représenté figure IV.19 :

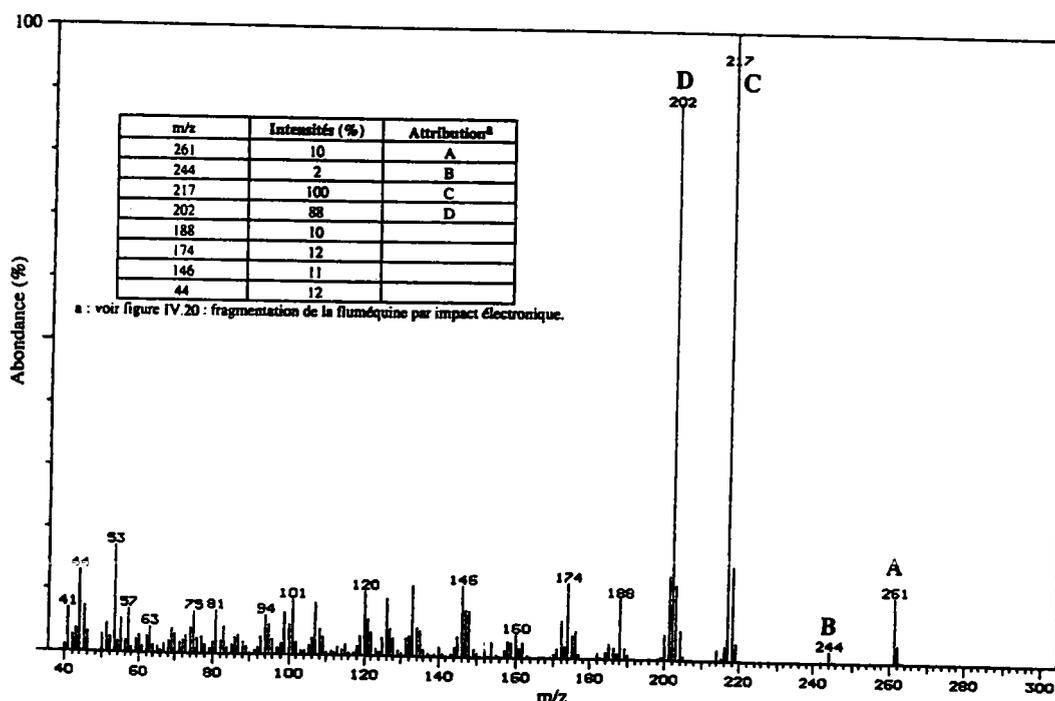


Figure IV.19 : Spectre de masse de la fluméquine par EI.

La molécule comporte un seul azote, les pics de masse impaire 261 et 217 sont donc des ions radicaux correspondant respectivement à $M^{+\bullet}$ et $[M-CO_2]^{+\bullet}$, ce dernier est probablement formé suivant un réarrangement de McLafferty. Les autres fragments

sont issus de ces ions. Le pic m/z 244 résulte de la perte d'un radical $\cdot\text{OH}$ par l'ion 261. Le pic 202 correspond à la perte du radical $\cdot\text{CH}_3$ par l'ion m/z 217.

Les voies de fragmentation de la fluméquine sont regroupées en figure IV.20. Les mécanismes correspondant sont regroupés en annexe.

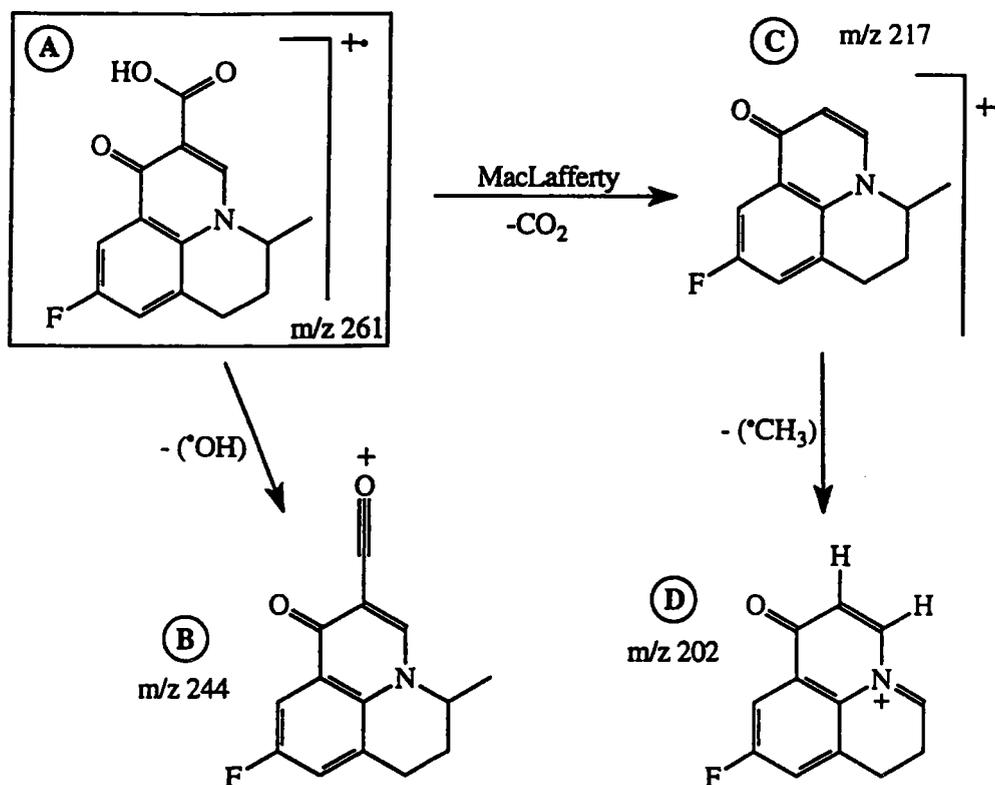


Figure IV.20 : Voies de fragmentations de la fluméquine par EI.

2. Ionisation chimique

En ionisation chimique par NH_3 , le spectre observé se caractérise par un pic pseudo-moléculaire abondant (pic de base) et la quasi-absence de fragments (voir figure IV.21)

Le pic à m/z 279 résulte de l'adjonction d'un ion NH_4^+ à la molécule intacte. Seuls les fragments 244 et 217 sont observés avec des intensités très faibles ($< 2\%$). Le mécanisme invoqué ici pour le pic 244 peut être une déshydratation.

En ce qui concerne le pic 217, il apparaît encore à une masse impaire et devrait donc comporter un nombre impair d'électrons si l'azote est inclus dans ce fragment. Le départ d'un radical $\cdot\text{COOH}$ peut être invoqué ici.

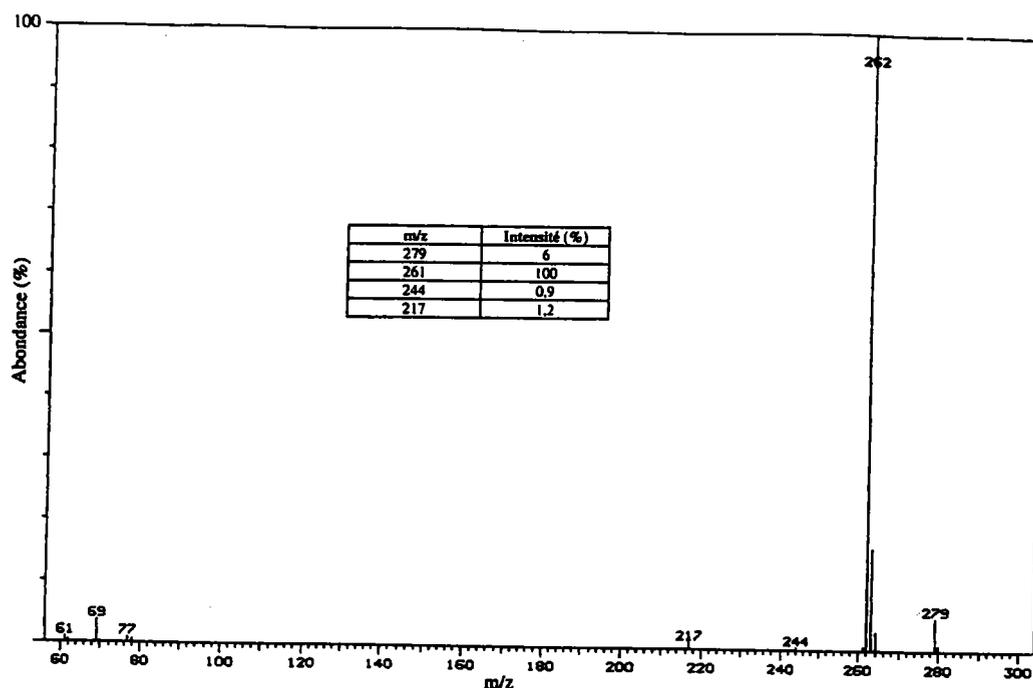


Figure IV.21 : Spectre de masse de la fluméquine par ionisation chimique (NH_3).

3. Désorption laser à 248 nm

A 248 nm, la désorption laser de la fluméquine donne des spectres caractérisés par une fragmentation forte, même lorsque l'irradiance la plus faible est employée. Ceci s'explique par l'absorption très intense de ce composé à la longueur d'onde utilisée. Les principaux fragments observés sont à m/z 244, 218, 202 et 176. L'ion pseudo-moléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ apparaît dans des conditions d'irradiance moyenne (vers $6 \cdot 10^6 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$) mais son intensité ne devient appréciable qu'au dessous de $10^6 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$. Son signal augmente alors graduellement lorsque l'irradiance décroît jusqu'à l'irradiance minimale que l'on peut atteindre après défocalisation du faisceau (environ $3,5 \cdot 10^5 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$) (voir figure IV.22).

Les principaux fragments observés sont issus de l'ion pseudo-moléculaire ; l'ion à m/z 244 par un processus de déshydratation, et le 218 par une décarbonylation comme le montre la figure IV.23. Le pic 244 était présent également en EI et en ionisation chimique.

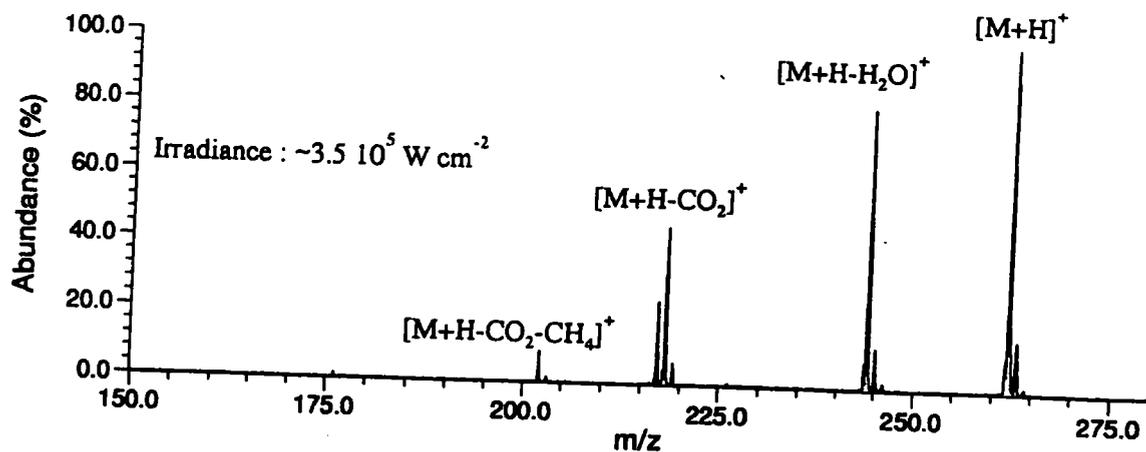


Figure IV.22 : Spectre de masse en désorption laser à 248 nm de la fluméquine déposée sur support d'aluminium.

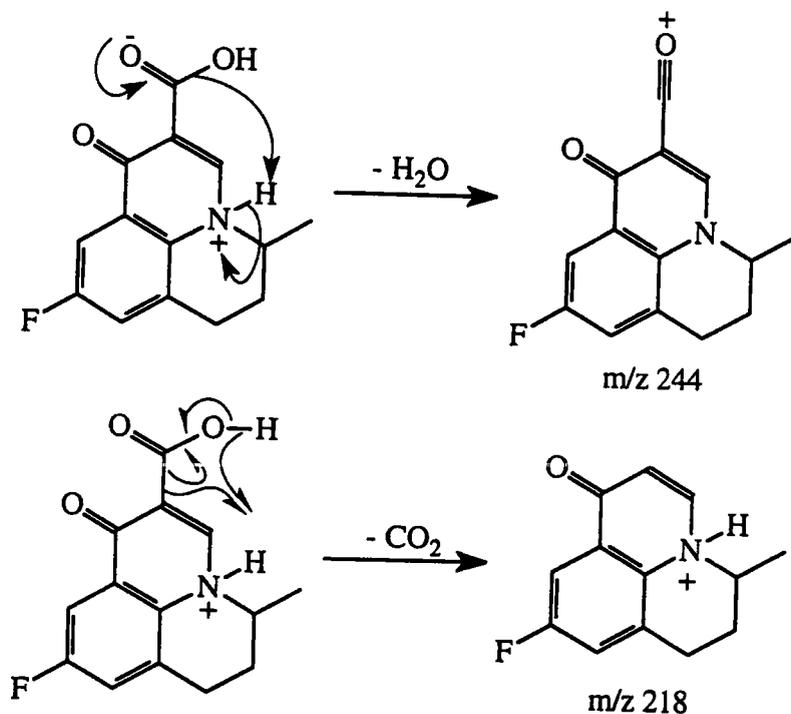


Figure IV.23 : Origine des fragments 244 et 218 de la fluméquine par désorption laser à 248 nm.

L'ion m/z 217 est détecté avec une intensité faible par rapport à l'ion m/z 218. On peut invoquer la fragmentation de l'ion moléculaire qui est également susceptible d'avoir été formé par ionisation laser. La perte de CO_2 , qui se produit également par EI est nettement majoritaire en désorption laser.

Le fragment m/z 218 conduit à l'ion m/z 202 par perte de méthane. Il s'agit d'une fragmentation analogue à celle observée par EI (perte de $\cdot\text{CH}_3$). L'ion m/z 202 se décompose par la suite en l'ion m/z 176 par élimination d'acétylène. Ce mécanisme n'est par contre pas observé en EI. Nous proposons figure IV.24 un mécanisme possible pour ces fragmentations.

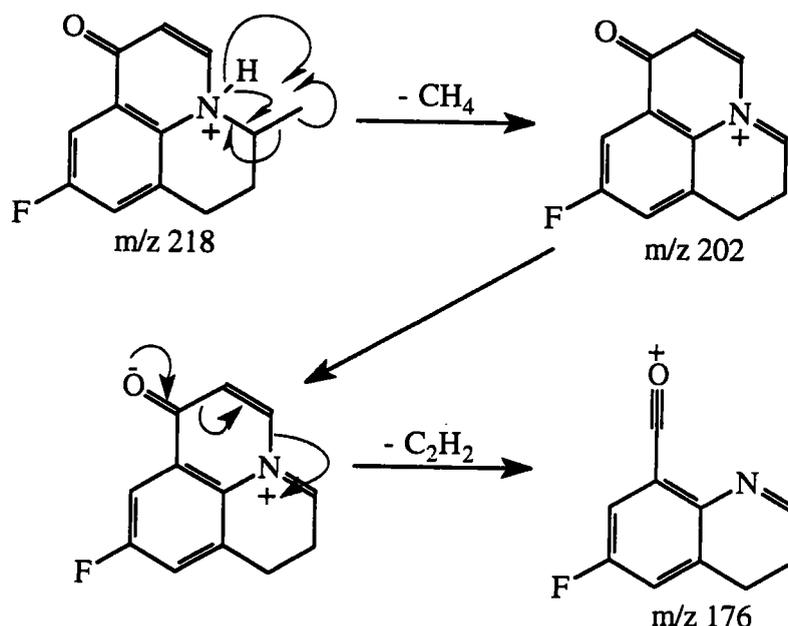


Figure IV.24 : Mécanismes de formation des fragments 202 et 176 de la fluméquine par désorption laser à 248 nm.

B. L'isoproturon

1. Ionisation par faisceau d'électrons (EI)

Le spectre de masse de l'isoproturon par EI est représenté figure IV.25. Le pic 206 correspond à l'ion moléculaire $\text{M}^{\bullet+}$. Le fragment 191 résulte de la perte d'un radical $\cdot\text{CH}_3$, le 146 de la perte consécutive de $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$. Le pic 91 est celui de l'ion tropylium C_7H_7^+ et le 72 correspond très probablement au fragment $(\text{CH}_3)_2\text{NCO}^+$.

Nous proposons figure IV.26 les voies de fragmentations de l'isoproturon par EI. Les mécanismes correspondant sont regroupés en annexe.

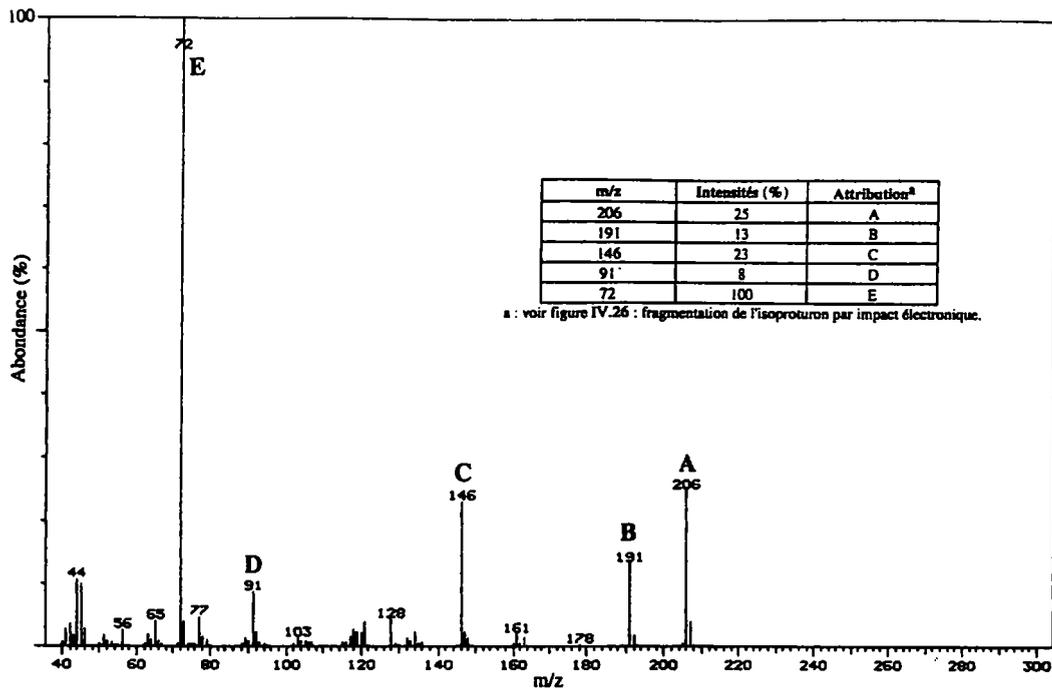


Figure IV.25 : Spectre de masse de l'isoproturon par EI.

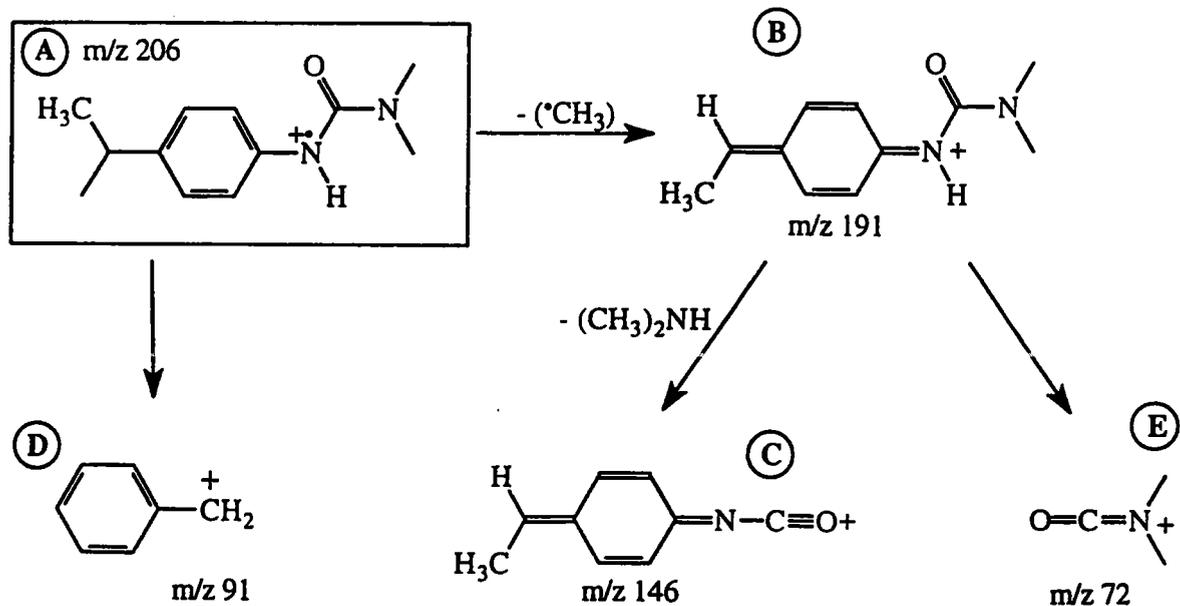


Figure IV.26 : Fragmentation de l'isoproturon par EI.

2. Ionisation chimique

En ionisation chimique, l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ est majoritaire comme le montre le spectre représenté figure IV.27.

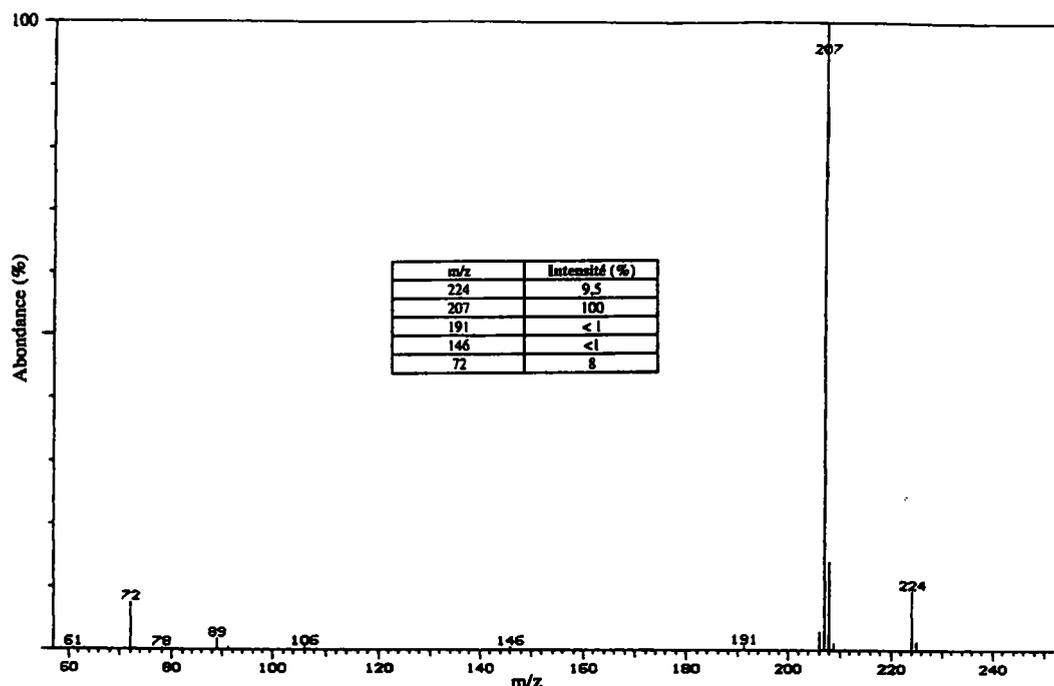


Figure IV.27 : Spectre de masse de l'isoprothuron par ionisation chimique (NH_3).

Le pic 224 résulte d'un adduit de NH_4^+ . Les mêmes types de fragmentations que précédemment sont observées avec des intensités beaucoup plus faibles, la différence principale étant l'ion parent. L'ion 191 provient de la perte de CH_4 , les ions 146 et 72 sont sans doute des reliquats d'ionisation électronique.

3. Désorption laser à 248 nm

A haute irradiance ($> 10^8 W cm^{-2}$) les spectres obtenus se caractérisent par la présence des fragments à m/z 189, 146, 134, 72 et l'absence du pic pseudo-moléculaire. Les ions m/z 189 et 134 sont interprétés comme étant respectivement $[MH-H_2O]^+$ et $[MH-CO-HN(CH_3)_2]^+$. Les ions 146 et 72 sont des fragments de l'ion pseudo-moléculaire $M^{+\bullet}$ comme le démontrent les spectres en EI (voir plus haut). Ces ions correspondent respectivement à $[M-HN(CH_3)_2-\bullet CH_3]^+$ et $[(CH_3)_2NCO]^+$.

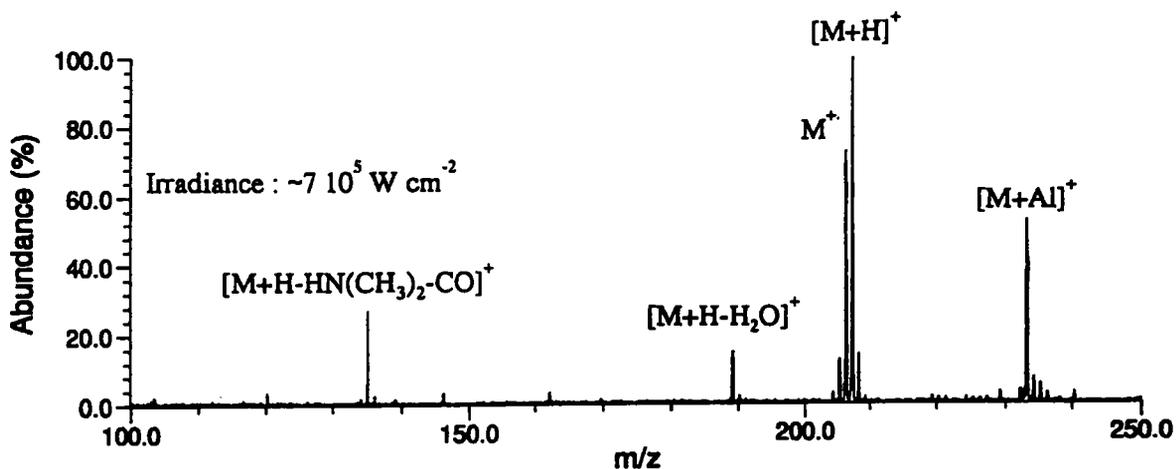


Figure IV.28 : Spectre de masse en désorption laser à 248 nm de l'isotropuron déposé sur support d'aluminium.

A partir d'une irradiance moyenne ($2 \cdot 10^7 \text{ W cm}^{-2}$), on observe l'émergence du pic pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ ainsi que du pic moléculaire M^+ . L'obtention du pic moléculaire en désorption laser est caractéristique des molécules comportant un cycle aromatique. Il est rarement observé pour d'autres composés. Dans la gamme d'irradiance moyenne apparaissent également de nombreux adduits ($[M+Na]^+$, $[M+K]^+$, $[M+Al]^+$ entre autres) et ceux-ci dominent le spectre jusqu'à des irradiances relativement faibles (environ 10^6 W cm^{-2}).

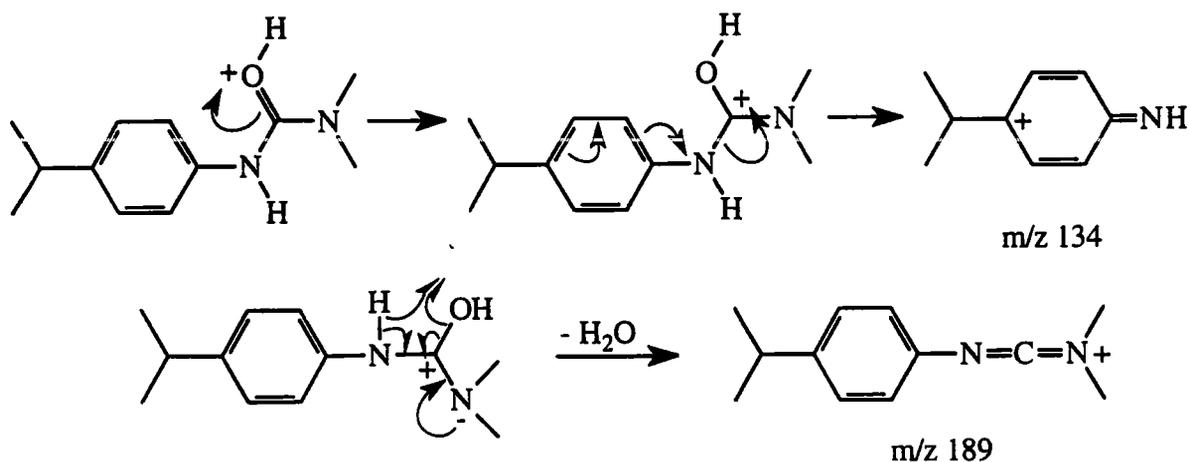


Figure IV.29 : Mécanismes de fragmentation proposés pour les ions 189 et 134 de l'isotropuron.

Les signaux des ions moléculaire et pseudo-moléculaire augmentent jusqu'à atteindre un maximum vers une irradiance d'environ $7 \cdot 10^5 \text{ W cm}^{-2}$ (voir figure IV.28). A cette irradiance, on peut encore observer les fragments 146 et 189 de faible intensité ainsi que de nombreux adduits. On peut imputer la fragmentation à une irradiance aussi faible à la forte absorption du composé à 248 nm tout comme pour la fluméquine.

Dans le cas de l'isoproturon, on note une légère évolution des spectres lorsque le délai entre l'ionisation et l'excitation augmente. En effet, on observe des pics d'adduits plus intenses à long délai. On peut encore invoquer ici un problème de tension de vapeur car l'isoproturon se situe à la limite de volatilité ($3,3 \cdot 10^{-6} \text{ Pa}$ à 25°C comparé à la pression résiduelle de l'appareil : $6,7 \cdot 10^{-6} \text{ Pa}$) d'autant plus que la température à l'intérieur de l'appareil excède les 25°C . De ce fait, il est possible que l'échauffement de la surface du porte-échantillon dû aux impacts laser répétés provoque une évaporation du pesticide qui est alors disponible en phase gazeuse pour réagir avec les ions produits lors de l'impact laser.

C. Le flutriafol

1. Ionisation par faisceau d'électrons (EI)

Le flutriafol présente une forte tendance à la fragmentation en EI comme le montre le spectre de la figure IV.30 :

Les fragments 219 et 83 proviennent de la perte de la moitié triazole avec rétention de la charge sur le radical ou sur l'oxygène. L'ion m/z 95 provient également de l'ion moléculaire via une simple fragmentation en alpha du site d'ionisation. Les ions m/z 164 et 138 résultent quand à eux d'une recombinaison entre la moitié triazole et un phényle fluoré. L'ion 138 donne ensuite le fragment majoritaire à m/z 123.

Nous présentons figure IV.31 les voies possibles de fragmentation du flutriafol par ionisation électronique. Les mécanismes que nous proposons pour expliquer ce fragmentations sont regroupés en annexe.

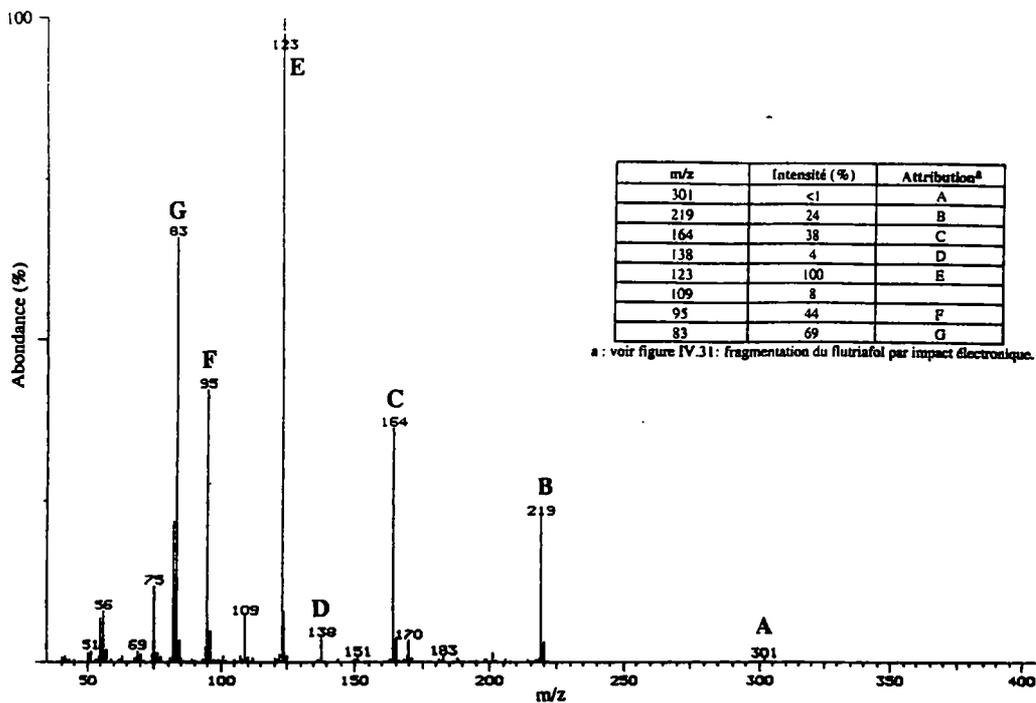


Figure IV.30 : Spectre de masse du flutriafol par EI.

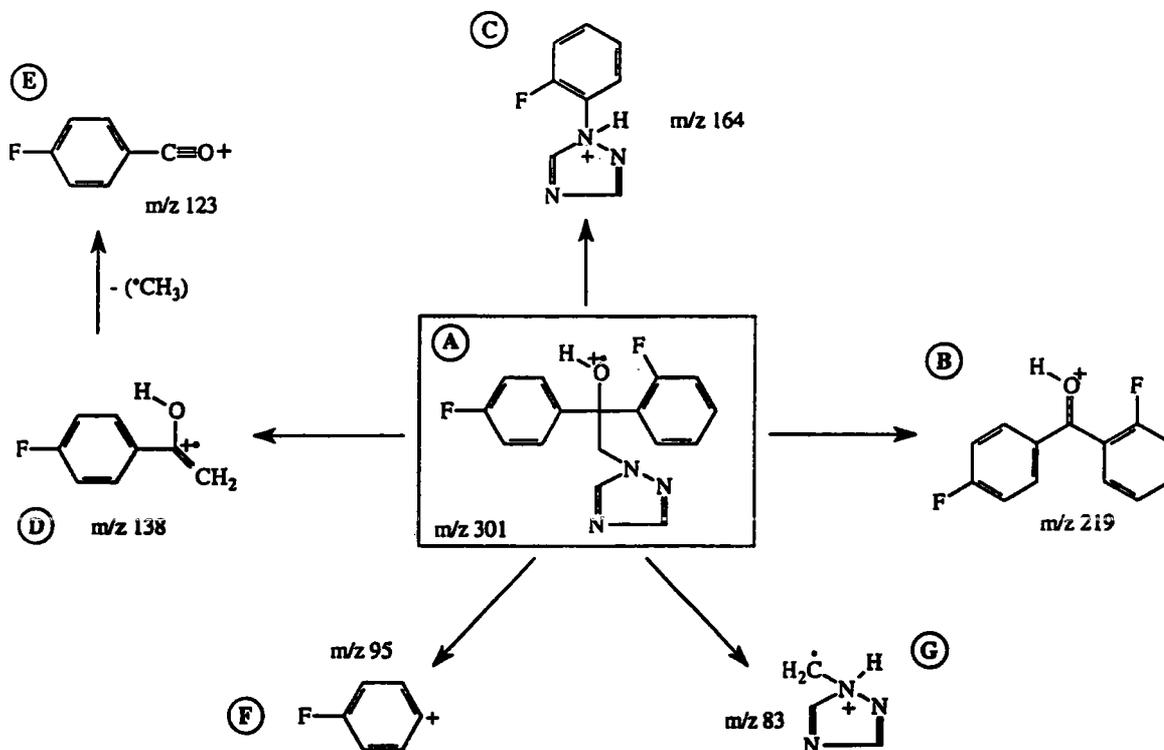


Figure IV.31 : Voies possibles de fragmentation du flutriafol par EI.

2. Ionisation chimique

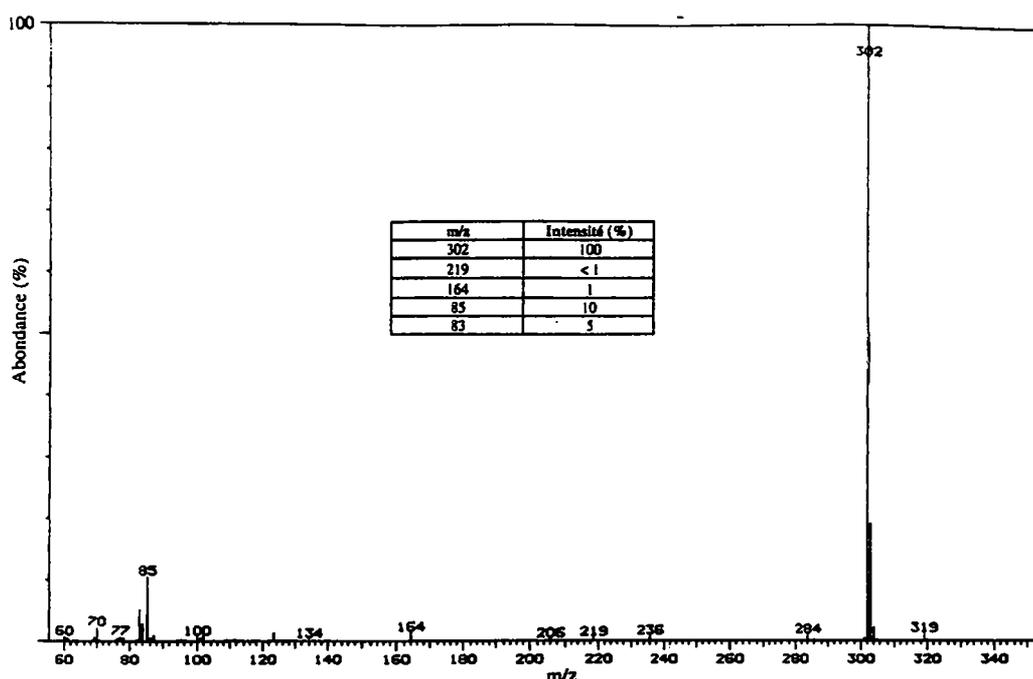


Figure IV.32 : Spectre de masse du flutriafol par ionisation chimique (NH₃).

Comme le montre la figure IV.32, le spectre du flutriafol en ionisation chimique se caractérise par la présence du pic pseudo-moléculaire [M+H]⁺ (m/z 302) et une fragmentation très limitée. On distingue néanmoins quelques pics dont un résulte d'une perte de H₂O (m/z 284). Ce type de fragmentation n'est pas observé en EI (absence du pic [M-(•OH)]⁺). Les autres fragments sont identiques à ceux de l'EI sauf l'ion m/z 85 qui pourrait provenir d'une substitution de NH₃ sur la moitié triazole pour donner l'ion [C₂H₅N₄]⁺ représenté ci-dessous.

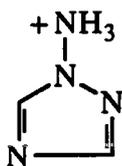


Figure IV.33 : Structure possible de l'ion m/z 85 du flutriafol.

3. Désorption laser à 248 nm

Les spectres de flutriafol à 248 nm se caractérisent par l'émergence du pic pseudo-moléculaire [M+H]⁺ (m/z 302) et des adduits de sodium (m/z 324) et de potassium

(m/z 341) à forte irradiance (10^8 W cm^{-2}). Le pic $[M+H]^+$ devient majoritaire dès les irradiances moyennes (10^7 W cm^{-2}). Les fragments 284, 233, 215, 123 et 70 sont souvent observés avec des intensités faibles. Les trois premiers fragments sont très probablement issus du pic pseudo-moléculaire après perte d'eau (m/z 284), de la moitié triazole $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}_3$ (m/z 233) ou perte combinée des deux fragments (m/z 215). Nous proposons figure IV.35 un mécanisme de fragmentation possible.

L'ion m/z 284 est observé également en ionisation chimique mais pas en EI alors que la perte de la moitié triazole n'est observée qu'en désorption laser. Les ions à m/z 123 et 70 sont attribués respectivement à $[\text{FC}_6\text{H}_4\text{CO}]^+$ et $[\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_3]^+$. Ils sont tout deux observés en ionisation chimique mais pas en EI. L'ion $[M+H]^+$ présente une intensité maximale pour une irradiance de l'ordre de 10^6 W cm^{-2} (voir figure IV.34). A des irradiances plus faibles, le signal est très rapidement indétectable. Cette observation ainsi que la détection du pic $[M+H]^+$ à haute irradiance sont compatibles avec la faible absorption de flutriafol à la longueur d'onde utilisée pour l'ionisation.

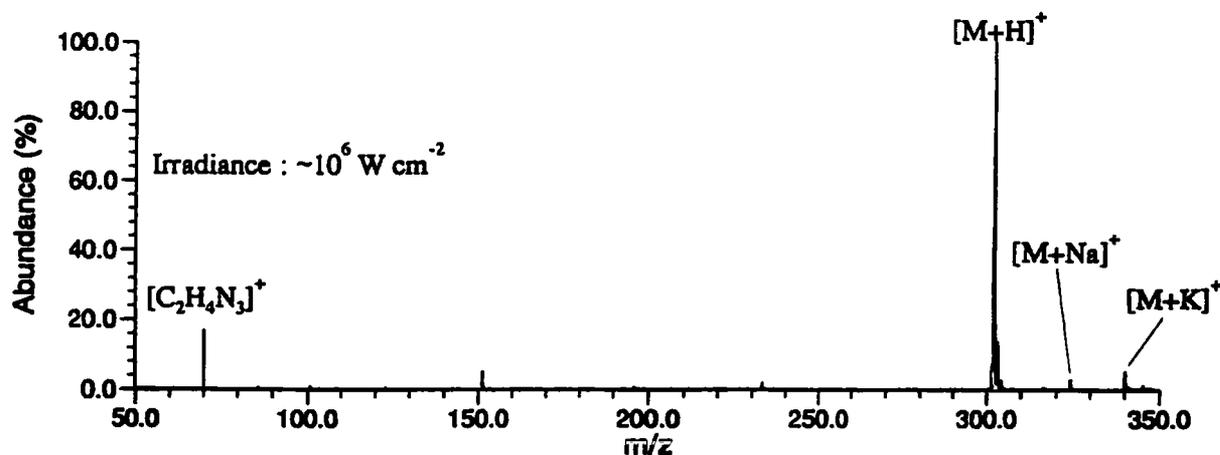


Figure IV.34 : Spectre de masse en désorption laser à 248 nm du flutriafol déposé sur support d'aluminium.

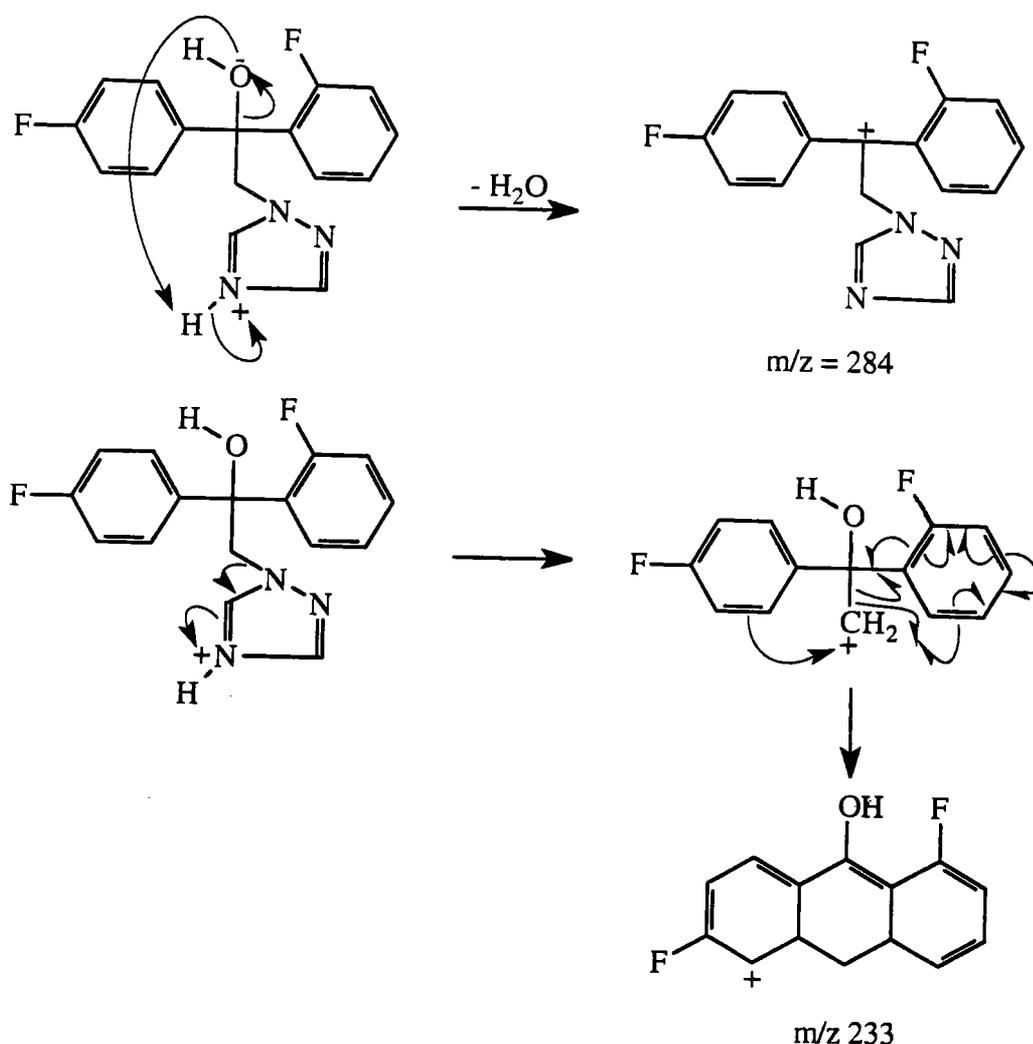


Figure IV.35 : Proposition de mécanismes de formation des ions 284 et 233 du flutriafol par désorption laser à 248 nm.

III. Désorption laser directe des membranes imprégnées

A. Désorption laser à 248 nm

A 248 nm, seule la fluméquine a été détectée sur membrane C_{18} et cela à une irradiance moyenne (environ $3 \cdot 10^6 \text{ W cm}^{-2}$). Dans ces conditions, les spectres montrent le signal de l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ ainsi qu'une fragmentation abondante (voir figure IV.36). Les fragments sont identiques à ceux détectés lors de l'analyse du standard. A des irradiances plus élevées, les spectres sont dominés par des ions provenant de la membrane. Aucun signal n'est détecté pour des irradiances inférieures à $2 \cdot 10^6 \text{ W cm}^{-2}$. Le pesticide est détecté de façon fiable uniquement pour

des concentrations de $1\mu\text{g/ml}$ et $0,5\mu\text{g/ml}$ mais aucun signal n'est observé à des concentrations plus faibles. Environ 20 tirs laser au même endroit sont nécessaires pour une perte complète du signal du pesticide et il semble n'y avoir aucune corrélation avec la quantité extraite pour les deux concentration détectées.

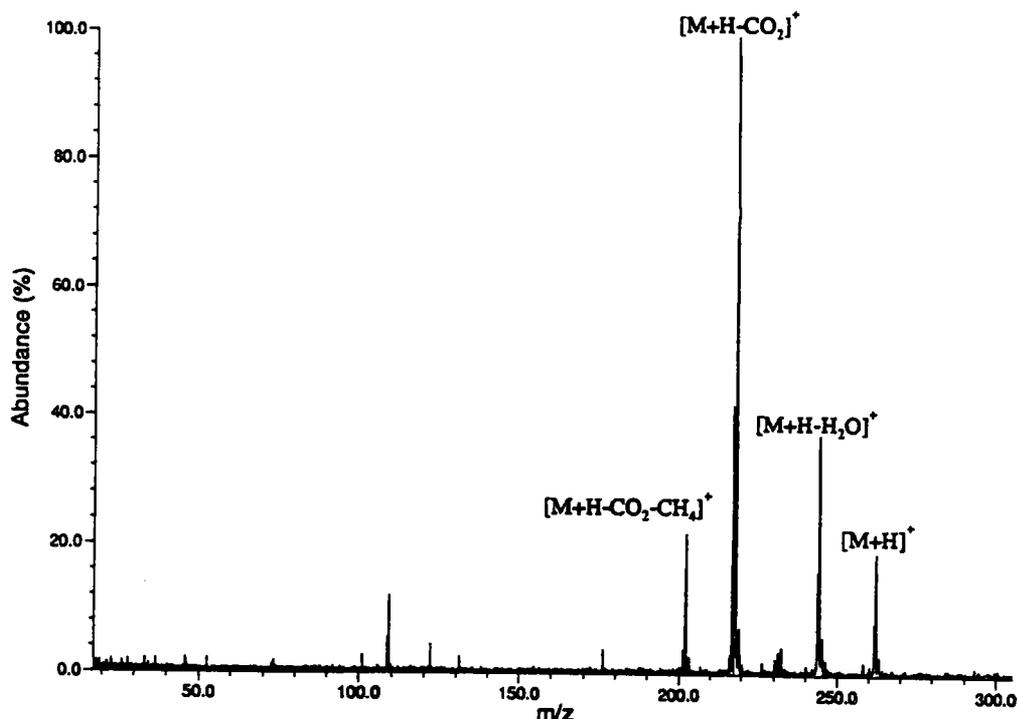


Figure IV.36 : Spectre de masse en désorption laser à 248 nm de la fluméquine adsorbée sur membrane C₁₈.

A cette longueur d'onde, les autres molécules n'ont pas été détectées après extraction sur membrane C₁₈ que ce soit en mode positif ou négatif, quelles que soient les conditions d'irradiance. C'est un fait troublant si l'on considère la facilité de détection des standards. Pour tenter d'expliquer ce phénomène, diverses hypothèses ont été émises et testées lors d'une étude des paramètres de désorption.

B. Etude des paramètres de désorption

1. Absorption UV

Une des explications possible de la non-détection de l'isoproturon et du flutriafol serait une différence d'absorption UV de ces molécules comparées à l'hydroxyatrazine et à la fluméquine. Le tableau IV.7 résume les coefficients d'absorption molaire à 248 nm obtenus pour chacun des produits.

A 248 nm, on se trouve proche d'un maximum d'absorption pour la fluméquine et dans une zone de faible absorbance pour le flutriafol. En revanche, en ce qui concerne l'hydroxyatrazine et l'isoproturon, on se trouve dans des zones de forte variation de l'absorbance.

Tableau IV.7 : Coefficients d'absorption molaire ($l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) à 248 nm des composés étudiés dans l'éthanol.

Molécule	ϵ_{248}
Hydroxyatrazine	6227
Fluméquine	18225
Isoproturon	17122
Flutriafol	446

On note que, si l'hypothèse d'une absorption trop faible peut-être défendue en ce qui concerne le flutriafol, qui absorbe faiblement à 248 nm, elle n'est pas valable dans le cas de l'isoproturon, qui absorbe presque autant que la fluméquine et nettement plus que l'hydroxyatrazine, mais n'est pas détecté non plus sur la membrane. D'autre part l'isoproturon et la fluméquine ont montré des tendances similaires lors de l'étude des standard en raison de leur absorption à la longueur d'onde du laser.

2. Partage entre phase mobile et phase stationnaire

Une autre raison qui permettrait d'expliquer les différents comportements des molécules étudiées est que les processus de rétention sur la membrane ne sont pas les mêmes.

Le coefficient de partage eau/octanol est une caractéristique qui rend compte des phénomènes de partage entre une phase polaire et une phase apolaire (voir tableau IV.8). Il sert en général en chromatographie liquide haute performance et au calcul des rendements d'extraction liquide/liquide. En effet, en solution diluée, le partage d'un composé entre les deux phases peut s'écrire :

$$\frac{C_{\text{oct}}}{C_{\text{eau}}} = P_{\text{oct}}$$

avec C_{oct} et C_{eau} les concentrations du soluté dans l'octanol et dans l'eau.

Ce coefficient est relié à l'enthalpie libre de transfert du soluté entre la phase mobile et la phase stationnaire suivant l'équation suivante :

$$\ln\left(\frac{C_{\text{oct}}}{C_{\text{H}_2\text{O}}}\right) = -\frac{\mu_{\text{oct}}^{\theta} - \mu_{\text{H}_2\text{O}}^{\theta}}{RT} = -\frac{\Delta G_{\text{transfert}}^{\theta}}{RT} = \ln(P_{\text{oct}})$$

Le processus de partage entre une phase aqueuse et une phase apolaire est également invoqué dans le cas de l'extraction liquide/solide en phase inverse. La phase apolaire étant ici la phase stationnaire contenue dans la membrane.

Tableau IV.8 : Coefficients de partage octanol/eau et enthalpies libres de transfert des pesticides étudiés.

Molécule	log P _{oct} ^a	P _{oct}	ΔG _{transfert} ²⁹⁸
Atrazine	2,21-2,75	162-562	-12,7 à -15,7 kJ/mol
Hydroxyatrazine	1,41-1,75	26-56	-8,1 à -10 kJ/mol
Fluméquine	1,47	29	-8,4 kJ/mol
Isoproturon	2,25	178	-12,8 kJ/mol
Flutriafol	2,3	200	-13,2 kJ/mol

a. P_{oct} : coefficient de partage octanol-eau.

En ce qui concerne nos composés, on note que l'isoproturon, le flutriafol et l'atrazine ont une affinité beaucoup plus forte pour la phase apolaire que la fluméquine ou l'hydroxyatrazine. Le transfert du soluté de la phase aqueuse vers la phase greffée est donc à priori plus facile pour les trois premiers composés. Ils devraient logiquement être plus disponibles en surface lors de l'irradiation laser. Ceci ne concorde pas avec les résultats observés en tout cas en ce qui concerne le flutriafol et l'isoproturon (pour l'atrazine, nous avons vu que d'autres phénomènes interviennent). Le processus de partage n'est pas le seul susceptible d'intervenir lors de la rétention des composés sur membranes. Pour la fluméquine et l'hydroxyatrazine, notamment, on peut invoquer une rétention plus rapide en surface en raison de leur hydrophobicité. Ces deux molécules se fixent dès qu'elles ont la possibilité de quitter la phase aqueuse alors que les autres composés vont combler les sites vacants plus en profondeur dans la membrane. Ce processus est schématisé figure IV.37 pour la fluméquine et l'isoproturon

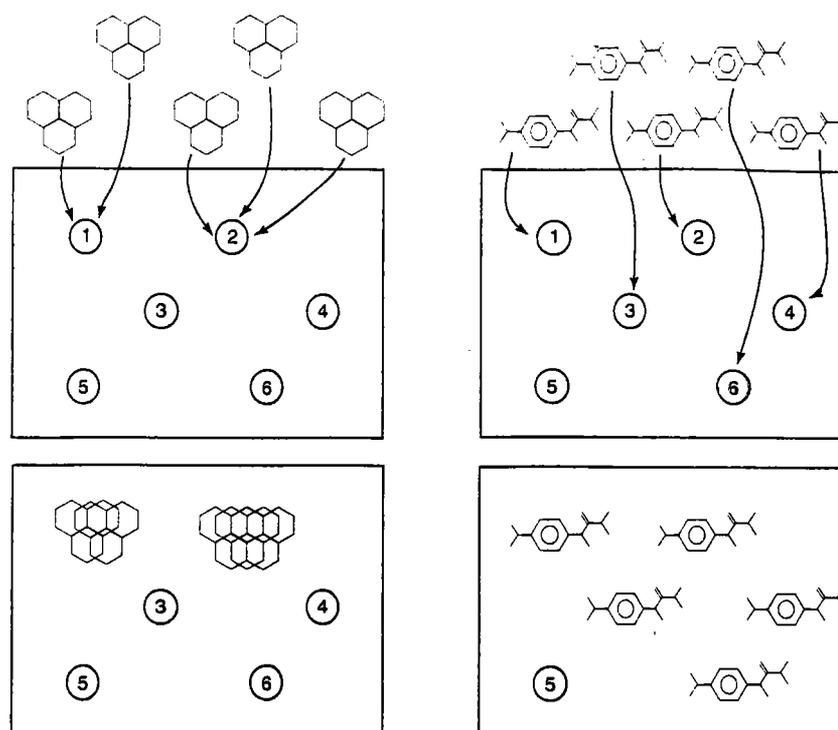


Figure IV.37 : Hydrophobicité et partage entre la phase mobile et la phase stationnaire sont les deux phénomènes responsables de la rétention des composés. Lorsque c'est le premier qui domine, les molécules sont plus disponibles en surface pour y être ionisées lors de l'impact laser.

Nous avons essayé de vérifier cette hypothèse en soumettant des membranes chargées de pesticides à des irradiations prolongées dans une cellule d'ablation laser.

Le but est de caractériser les différences des quantités de pesticides désorbés lors de l'interaction laser/membrane pour les différents composés étudiés. Une membrane chargée de 1 mg de pesticide (hydroxyatrazine, fluméquine, isoproturon ou flutriafol) est déposée sur un porte-substrat situé à l'intérieur d'une cellule d'ablation laser sous vide (pression résiduelle de l'ordre de 10^{-6} Torr). Un faisceau laser (diamètre 3 mm, longueur d'onde 248 nm, irradiance sur la membrane 10^6 W cm^{-2}) vient en frapper la surface un certain nombre de fois (100 ou 1000 impacts). La membrane est ensuite soumise à une étape d'élution et l'éluat est analysé par HPLC.

Les expériences dans la cellule d'ablation laser ne nous permettent pas de nous prononcer quand à une différence flagrante des processus de désorption à 248 nm pour les quatre composés. Dans certains cas, la quantification des produits par HPLC donne des quantités supérieures après 1000 impacts laser que pour les membranes non

irradiées. En fait, il semble que la méthode ne soit pas adaptée à nos besoins. En effet, l'élution suivie de l'analyse HPLC est loin de donner une sensibilité suffisante pour quantifier les doses de produits désorbés par le laser. Le problème qui se pose est celui de la taille de l'impact laser : en effet celui-ci n'est que de 3 mm de diamètre, ce qui représente environ 5% de la surface utile de filtration (16 mm de diamètre). Ceci impose de détecter des différences très faibles par HPLC. Malheureusement, avec le laser excimère, il ne nous a pas été possible d'obtenir une irradiance de 10^6 W cm^{-2} sur une surface plus importante en raison de l'absorption du hublot de la cellule d'ablation.

La seule molécule qui possède une forte affinité pour la phase apolaire et qui a été détectée est l'atrazine. Cependant, nous avons pu montrer que le processus d'ionisation en phase gazeuse n'implique pas de désorption laser du pesticide. Pour tenter d'évaluer la désorption laser de l'atrazine, nous avons analysé une membrane congelée dans l'azote liquide ; la congélation ayant pour but d'éviter que le composé ne s'évapore dans la cellule. Cette membrane a été fixée sur un système isolant en polystyrène qui permet de limiter les transferts de chaleur du porte-échantillon vers la membrane. Un contrôle après analyse a révélé que la membrane était encore à très basse température.

Dans ces conditions, l'atrazine n'a pas été détectée non plus à 248 nm, et ce quels que soient l'irradiance et le délai entre l'impact laser et l'excitation. L'hypothèse que le processus de désorption laser sur membrane est gouverné par les coefficients de partage octanol-eau semble donc se confirmer avec ce composé. Il est évident cependant que d'autres tests seraient nécessaires afin d'évaluer l'influence exacte de ce paramètre.

C. Désorption laser à 355 nm

Pour prouver l'hypothèse d'une absorption en profondeur des composés non détectés, il a donc été nécessaire de trouver un autre moyen. Le couplage d'un laser Nd-YAG avec la microsonde FTMS nous permet d'utiliser une longueur d'onde (355 nm) et une irradiance plus élevées. Dans ces conditions, il devrait être possible d'obtenir une augmentation de l'ablation de la membrane et peut-être de détecter les produits adsorbés plus en profondeur. En effet, l'augmentation de longueur d'onde se traduit par un accroissement de l'échauffement lors de l'interaction. De plus, le temps d'impulsion du laser Nd-YAG étant 6 fois plus court que celui de l'excimère, des irradiances plus élevées sont disponibles à surface constante. Tout ceci concourt à obtenir une ablation plus intense lors de l'interaction.

1. Ablation de la membrane à 355 nm

L'analyse de la membrane à 355 nm a permis de détecter essentiellement les mêmes ions qu'à 248 nm (voir figure IV.38). On détecte encore les ions Si^+ , SiOH^+ , SiF^+ à haute densité de puissance ($2 \cdot 10^{10} \text{ W cm}^{-2}$) et les mêmes agrégats qu'à 248 nm dont l'intensité augmente lorsque l'irradiance diminue. Cependant, on note une exaltation de l'intensité des ions dus aux impuretés présentes dans la membrane. L'ion Fe^+ notamment est détecté de façon systématique.

A cette longueur d'onde, le seuil d'ablation/ionisation de la membrane a été estimé à environ $3 \cdot 10^7 \text{ W cm}^{-2}$. Cette augmentation par rapport aux résultats obtenus à 248 nm (seuil d'ablation/ionisation environ 10 fois plus élevé à 355 nm) peut s'expliquer par une absorption moindre du rayonnement incident. Les spectres UV en réflectance de la membrane montrent en effet qu'une proportion moindre du faisceau est réfléchi à 248 nm par rapport à 355 nm (voir figure IV.39).

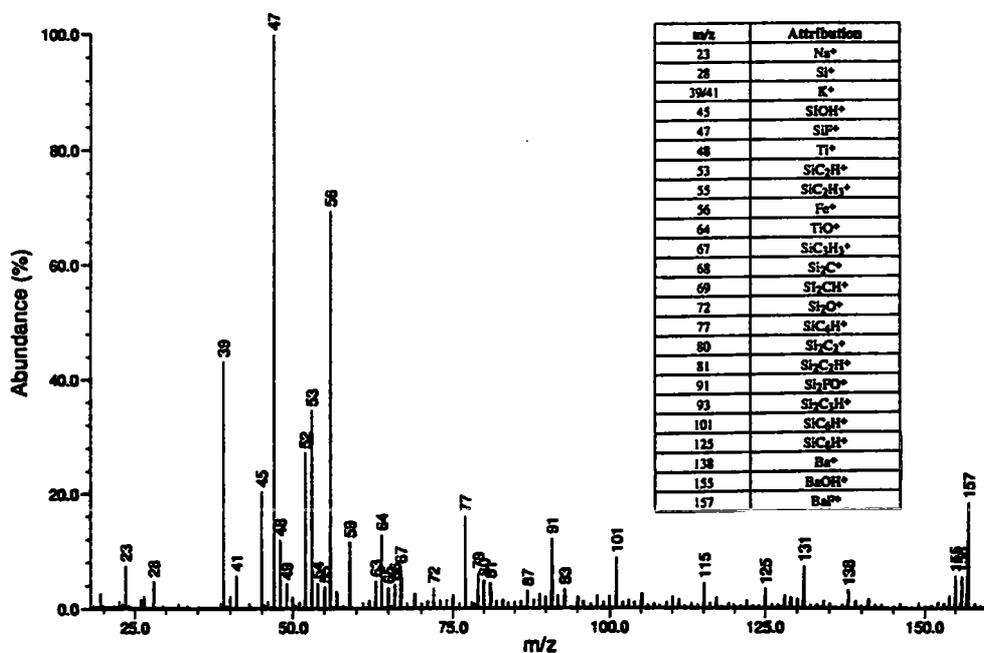


Figure IV.38 : Spectre de masse en désorption laser à 355 nm d'une membrane vierge.

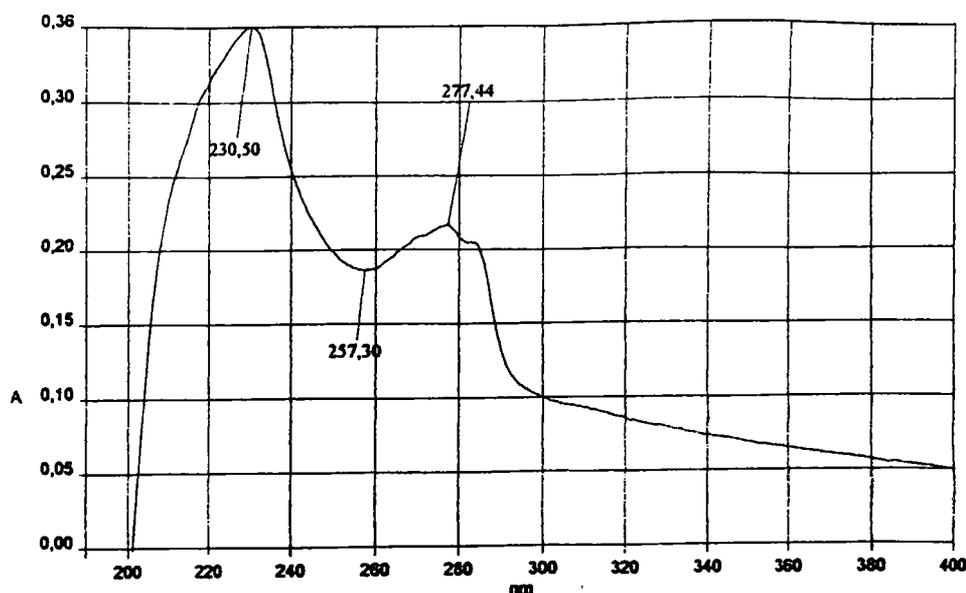


Figure IV.39: Spectre UV en réflectance d'une membrane vierge.

Les résultats obtenus ne sont pas incompatibles avec un taux d'ablation plus élevé de la membrane à 355 nm. En effet, bien que celle-ci absorbe moins bien à cette longueur d'onde, l'augmentation de la gamme d'irradiance permet de détecter les mêmes ions qu'à 248 nm. De plus, l'omniprésence des ions issus des impuretés suggère la présence d'un plasma chaud. La longueur d'onde 355 nm permet en effet d'obtenir une irradiance environ 10 fois plus élevée à surface constante.

2. Désorption laser à 355 nm des pesticides adsorbés

L'utilisation du laser Nd-YAG triplé permet de détecter les composés non détectés à 248 nm sur membranes d'extraction à partir de solutions de concentration 10 µg/ml. Il est cependant nécessaire d'employer de hautes irradiances et les spectres se caractérisent par des taux de fragmentation élevés.

La fluméquine donne lieu à des pics de cationisation intenses mais un signal faible de l'ion $[M+H]^+$ (voir Figure IV.40.a). Comme nous l'avons vu, la cationisation peut être le résultat de réactions ion/molécule dans la zone "frontière" proche de la surface créée par l'impact laser. Les ions Na^+ et K^+ sont vraisemblablement issus de pollutions de surface qui sont ionisées par effet thermoionique. Le fait que, des trois composés, la fluméquine présente les plus forts taux de cationisation confirme encore l'hypothèse d'une adsorption plus proche de la surface pour cette molécule.

Les spectres de masse de l'isoproturon et du flutriafol montrent des ions $[M+H]^+$ intenses et des pics de cationisation d'intensité plus faible (voir figure IV.40.b et c). On distingue également des fragments caractéristiques de ces produits qui avaient été détectés à 248 nm sur les standards.

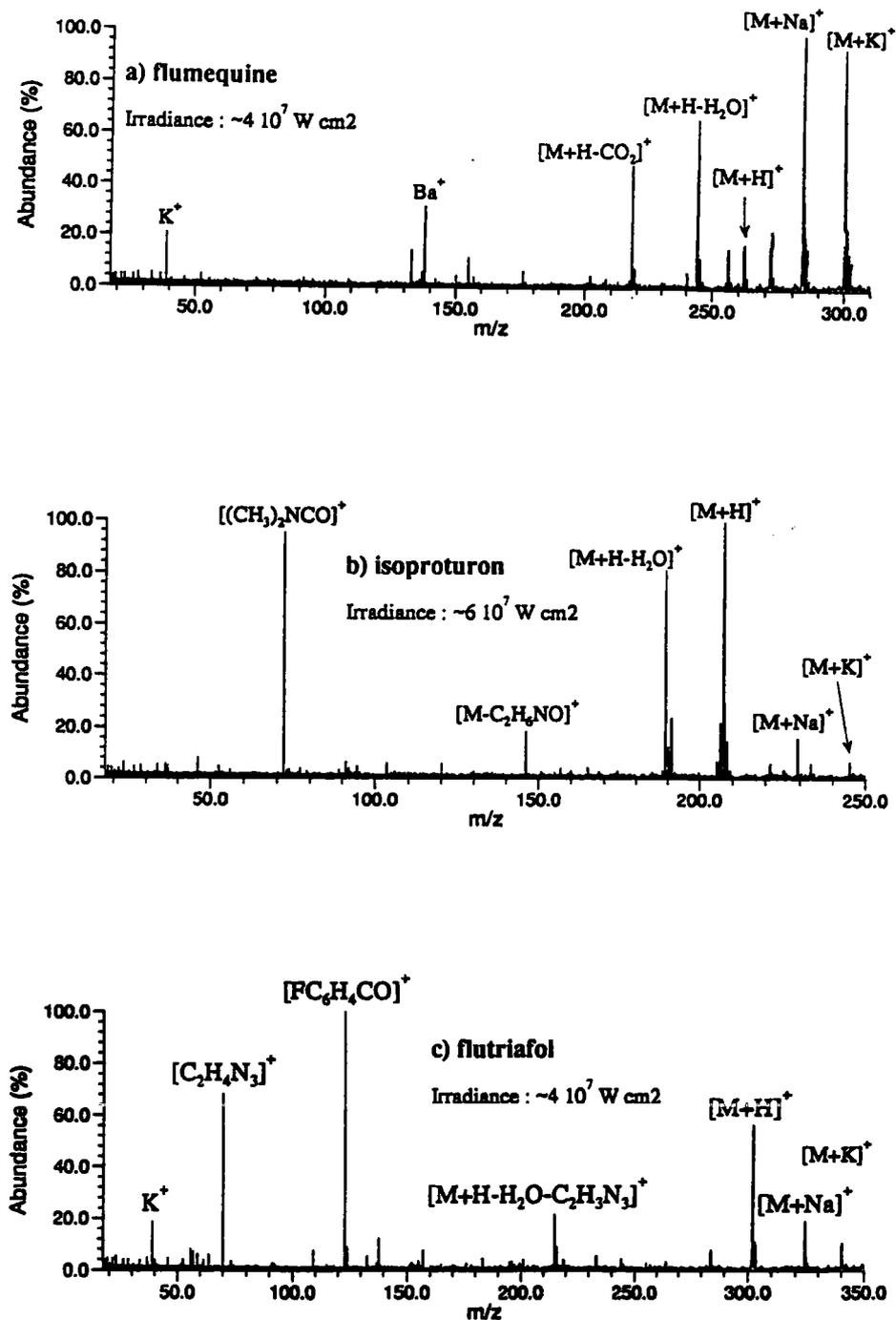


Figure IV.40 : Spectres de masse en ionisation laser à 355 nm de la fluméquine, l'isoproturon et du flutriafol adsorbés sur membrane C₁₈.

A cette longueur d'onde, les 3 molécules n'absorbent que très faiblement (voir tableau IV.5) mais ont été détectées. La faible absorbance peut être un avantage ici, car elle permet d'éviter la fragmentation complète des molécules analysées.

Les résultats indiquent qu'il est préférable d'utiliser des irradiances élevées pour détecter les pesticides adsorbés. Ceci est cohérent avec un taux d'ablation/désorption plus élevé dû à l'irradiance et à la longueur d'onde utilisée (processus thermiques favorisés). Cependant, la fragmentation intense des composés est préjudiciable à la sensibilité de l'analyse.

Parallèlement à nos travaux, des expériences sur des échantillons semblables ont été réalisées par Bristow et coll [12] à l'aide d'une trappe ionique couplée à un laser à azote (337 nm). Les auteurs ont utilisé une matrice d'acide dihydroxybenzoïque qui est très utilisée en désorption laser assistée par matrice (MALDI) pour limiter la fragmentation des molécules cibles. La fluméquine, l'hydroxyatrazine et le flutriafol ont ainsi été détectés avec des taux de fragmentation réduits. Cependant, la présence des ions de la matrice a constitué une gêne surtout aux faibles concentrations. La sensibilité concernant la fluméquine a été estimée à 0,5 µg/ml dans la solution extraite.

Conclusion

La première partie de l'étude concernant l'atrazine et son métabolite nous a permis d'évaluer les possibilités de la méthode ainsi que certaines de ses limitations. Si les deux composés sont détectés aussi bien en désorption laser directe que lorsqu'ils sont adsorbés sur des membranes d'extraction, ils présentent des mécanismes d'ionisation très différents. Ces disparités s'expliquent principalement par les différences de tension de vapeur. La méthode est donc applicable de préférence sur des composés qui ne s'évaporent pas dans la cellule du FTMS. Dans le cas contraire, on ne peut pas exclure la contamination croisée d'échantillons et donc la détection de faux positifs. D'autre part, la filtration des solutions avant extraction peut être envisagée dans le cas de composés faiblement solubles pour éviter d'analyser les composés déposés en surface de la membrane.

Les essais effectués avec la fluméquine, l'isoproturon et le flutriafol nous ont permis de déterminer leur réponse en désorption laser à 248 nm. Les processus de fragmentation observés ont été comparés à ceux obtenus par ionisation par faisceau d'électrons et par ionisation chimique. Nous avons constaté ensuite que lorsque ces composés sont adsorbés sur des membranes d'extraction, seule la fluméquine est détectée à 248 nm. Si les coefficients d'absorption molaires des trois molécules ne rendent pas bien compte des différences de comportement en désorption laser sur membranes, il semble que celui-ci dépende davantage du coefficient de partage octanol/eau. En effet, on note que les composés qui ne sont pas détectés ont une affinité plus grande pour la phase stationnaire. Des essais sur des membranes d'atrazine [dont le $\log(P_{oct})$ est comparable à ceux de l'isoproturon et du flutriafol] congelées montrent que cette molécule n'est pas désorbée non plus lors de l'irradiation à 248 nm. D'autres expériences sont néanmoins souhaitables pour dégager avec précision une tendance en ce qui concerne la corrélation entre le $\log(P_{oct})$ et le comportement en désorption laser sur membrane d'extraction. Les essais entrepris à 355 nm ont permis de détecter les trois molécules sur membranes. Comme à cette longueur d'onde, l'ablation de la membrane est augmentée, cela confirme une adsorption plus profonde des composés non détectés à 248 nm. Néanmoins, dans ces conditions, la fragmentation des composés à analyser est importante. Bristow et coll ont montré que ces taux de fragmentation peuvent être réduits en utilisant une matrice absorbante à la longueur d'onde du laser d'ionisation.

Bibliographie

- [1] Nélieu, S. Thèse de l' INP de Toulouse, 14 juin 1994
- [2] Blackedge, J.A. et Alexander, A.J. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 843-848.
- [3] Liu, Y.H.L. ; Bai, J. ; Liang, X. ; Lubman, D.M. et Venta, P.J. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 3482-3490.
- [4] Li, Y. ; Huang J. ; McIver, R.T.Jr. et Hemminger, J.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2428-2432.
- [5] Dunphy, J.C. ; Busch, K.L. ; Hettich, R.L. et Buchanan, M.V. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 1329-1335.
- [6] Brinen, J.S. ; Los, M. ; Kelland, D. et Wallach, E.R. *Surface and Interface Analysis* **1988**, *11*, 559-562.
- [7] Morelli, J.J. et Hercules, D.M. *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1294-1298.
- [8] Yinon, J. *Rapid. Comm. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 532-536.
- [9] The pesticide manual, Ed. Worthing, British crop protection council, Croydon, (GB), 6^{ème} édition, **1979**.
- [10] "New **Empore**TM Extraction Disks with BAKERBOND bonded phase". 3M Document commercial.
- [11] Van Vaeck, L. ; Van Roy, W. ; Gijbels, R. et Adams, F. extrait de "*Laser Ionization Mass Analysis*" Chemical Analysis Series, Ed. Vertes, A. ; Gijbels, R. et Adams, F., Vol. 124, John Wiley & Sons, Inc., New York, **1993**, p. 177-319.
- [12] Bristow, A.W.T. ; Creaser, C.S. ; Nélieu, S. et Einhorn, J. *Analyst* **1996**, *121*, 1425-1428.

Conclusion générale

Le couplage de la spectrométrie de masse à transformée de Fourier avec l'ionisation laser date d'à peine plus d'une décennie et ses applications se développent rapidement.. De nombreux domaines de la chimie analytique peuvent être concernés. Les résultats obtenus dépendent pourtant d'un grand nombre de paramètres dont l'influence n'est pas toujours facile à déterminer.

Après avoir passé en revue les bases physiques des phénomènes impliqués lors de l'analyse par LD/FTMS, nous avons tenté de décrire précisément les difficultés qui peuvent se poser et les solutions qui peuvent être mises en oeuvre. Malgré tout, il est impossible de décrire tous les cas possibles car chaque analyse en LD/FTMS est différente. En fait, c'est le plus souvent la compréhension des phénomènes physiques qui permet de faire face aux difficultés imprévues, et ceci nécessite d'observer avec beaucoup d'attention les informations apportées par les spectres : forme des pics, mesures des masses exactes, intensité du signal.

Les évolutions de la technique ont rendu nécessaires certaines modifications de notre instrumentation. Ainsi, pendant ces trois ans de thèse, nous avons procédé au changement de l'informatique d'acquisition et nous avons modifié la configuration de la cellule source. La nouvelle informatique d'acquisition permet un traitement plus rapide de l'information mais son grand avantage réside dans la simplicité de programmation des séquences d'analyse. Les conséquences de la modification de la cellule source n'ont encore pas toutes été évaluées. Cependant, nous avons soulevé à plusieurs reprises l'importance d'un nouveau paramètre : le potentiel de la plaque de piégeage source pendant l'ionisation.

Dans un deuxième temps, nous avons évalué les possibilités d'appliquer cette méthode pour l'analyse de composés adsorbés sur membranes d'extraction en phase solide.

La première partie de l'étude concernant l'atrazine et son métabolite nous ont permis d'émettre certaines réserves. En effet, si les deux composés sont détectés aussi bien en désorption laser directe que lorsqu'ils sont adsorbés sur des membranes d'extraction, ils présentent des mécanismes d'ionisation très différents. L'hydroxyatrazine s'ionise par un mécanisme de désorption/ionisation habituel alors que l'atrazine s'évapore dans la cellule même sans l'intervention du faisceau laser. La méthode est donc applicable de préférence sur des composés qui ne s'évaporent pas dans la cellule du FTMS. Dans le cas contraire, on ne peut pas exclure la contamination croisée d'échantillons et donc

la détection de faux positifs. D'autre part, la filtration des solutions avant extraction permet, dans le cas de composés peu solubles, d'éviter les interférences de cristaux déposés en surface de la membrane.

Les essais effectués avec la fluméquine, l'isoproturon et le flutriafol sous forme de standards nous ont permis de comparer leur mécanismes d'ionisation par faisceau d'électrons, ionisation chimique et désorption laser. Nous avons constaté ensuite que lorsque ces composés sont adsorbés sur des membranes d'extraction, seule la fluméquine est détectée à 248 nm. Si les coefficients d'absorption molaires des trois molécules ne rendent pas bien compte des différences de comportement en désorption laser sur membranes, il semble que celui-ci dépend du coefficient de partage octanol/eau. En effet, seuls les composés dont l'affinité pour la phase stationnaire est peu élevée sont détectés à 248 nm. Des essais sur des membranes congelées d'atrazine [dont le $\log(P_{\text{oct}})$ est comparable à ceux de l'isoproturon et du flutriafol] montrent que cette molécule n'est pas désorbée non plus lors de l'irradiation à 248 nm. D'autres expériences sont néanmoins souhaitables pour dégager avec précision une tendance en ce qui concerne la corrélation entre le $\log(P_{\text{oct}})$ et le comportement en désorption laser sur membrane d'extraction. Les essais entrepris à 355 nm ont permis de détecter les trois molécules sur membranes. Comme à cette longueur d'onde, l'ablation de la membrane est augmentée, cela confirme une répartition plus en profondeur des composés non détectés à 248 nm.

Cette étude nous a permis de déterminer que si la désorption laser et l'analyse par spectrométrie de masse de composés adsorbés sur supports d'extraction est possible, elle dépend en particulier du type d'interaction entre la molécule cible et la phase. Dans certains cas, il est nécessaire d'employer des densités de puissance laser relativement élevées pour accéder à l'intérieur de la membrane, ce qui conduit à la fragmentation des composés désorbés. Ces travaux ont donné lieu à deux publications [1, 2].

Il est clair cependant que des travaux ultérieurs seront nécessaires pour mieux cerner l'influence des paramètres d'adsorption (hydrophobicité; coefficient de partage). A cet égard, il serait souhaitable d'étendre l'étude à une plus grande variété de composés. D'autre part, il serait possible d'améliorer la sensibilité et la reproductibilité de la méthode en utilisant des séquences d'accumulation des ions ou encore en procédant au balayage d'une surface de membrane plus importante. On peut également envisager de changer de phase pour privilégier l'adsorption par rapport au partage.

Bibliographie

[1] Krier, G. ; Masselon, C. ; Muller, J.F. ; Nélieu, S. et Einhorn, J. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1994**, 8, 22-25

[2] Masselon, C. ; Krier, G. ; Muller, J.F. ; Nélieu, S. et Einhorn, J. *Analyst*, **1996**, 121, 1429-1433

Annexes

Chapitre III. Partie 2. I.B.3. Page72

Tableau A.1 : Paramètres de la séquence utilisée pour l'analyse de la fluméquine sur aluminium.

	Paramètre	Valeur
	Configuration	Porte-échantillon interne
	Laser d'ionisation	Excimère : 248 nm
	Accumulation	10 impacts
	Potentiel de piégeage (V)	0,75
	Délai avant excitation (ms)	100
Excitation	Vitesse de balayage de RF (Hz/ μ s)	3200
	Atténuation de la RF (dB)	0
	Fréquence limite basse (Hz)	2116
	Fréquence limite haute (kHz)	2666,667
	Temps d'excitation (μ s)	838
Détection	Fréquence d'acquisition (kHz)	5333,334
	Atténuation du signal (dB)	20
	Nombre de points	65536
	Durée de détection (ms)	12,29
	Nombre de zéro ajoutés	1x

Chapitre III. Partie 2. IV.D. Page 86

Tableau A.2 : Paramètres de la séquence en mode hétérodyne utilisée pour la détection du pic moléculaire du dicoronène.

	Paramètre	Valeur
	Configuration	Porte-échantillon interne
	Laser d'ionisation	Excimère : 248 nm
	Accumulation	Non
	V plaque source pdt ionisation (V)	3
	Potentiel de piégeage (V)	2
	Délai avant excitation (ms)	100
Excitation	Vitesse de balayage de RF (Hz/ μ s)	2400
	Atténuation de la RF (dB)	0
	Fréquence limite basse (Hz)	9270
	Fréquence limite haute (kHz)	200196
	Temps d'excitation (μ s)	80
Détection en mode Hétérodyne	Fréquence de référence (Hétérodyne) (Hz)	79805
	Gain du signal mixé (dB)	0
	Fréquence d'acquisition (Hz)	5319
	Atténuation du signal (dB)	6
	Nombre de points	8192
	Durée de détection (ms)	1540,056
	Nombre de zéro ajoutés	1x

Chapitre III. Partie 2. V.B. Page 89

Tableau A.3 : Paramètres de la séquence utilisée pour étudier les réactions entre l'acétophénone et les ions Mg^+ .

	Paramètre	Valeur
	Configuration	Porte-échantillon interne
	Laser d'ionisation	Nd-YAG : 266 nm
	Accumulation	Non
	Potentiel de piégeage (V)	1,5
Sélection Mg^+	Vitesse de balayage de RF (Hz/ μ s)	500
	Atténuation de la RF (dB)	0
	Fréquence limite basse (Hz)	66701
	Fréquence limite haute (kHz)	1507,4
	Temps d'excitation (μ s)	2881
	Pression dans le cellule (Torr)	$5 \cdot 10^{-7}$
	Temps de réaction (s)	0,05 à 10
Excitation	Vitesse de balayage de RF (Hz/ μ s)	2000
	Atténuation de la RF (dB)	0
	Fréquence limite basse (Hz)	23298
	Fréquence limite haute (kHz)	2666,6
	Temps d'excitation (μ s)	1323
Détection	Fréquence d'acquisition (kHz)	2000
	Atténuation du signal (dB)	30
	Nombre de points (Koctet)	64
	Durée de détection (ms)	32,77
	Nombre de zéro ajoutés	1x

Chapitre III. Partie 2. V.C.3. Page 92

Tableau A.4 : Paramètres de la séquence utilisée pour la détection de Mg⁺ dans un alliage de zinc.

	Paramètre	Valeur
	Configuration	Porte-échantillon interne
	Laser d'ionisation	Nd-YAG : 266 nm
	Accumulation	30x
	Potentiel de piégeage (V)	2
	Suspension du piégeage (µs)	10
Ejection Zn ⁺	Vitesse de balayage de RF (Hz/µs)	50
	Atténuation de la RF (dB)	0
	Fréquence limite basse (Hz)	682113
	Fréquence limite haute (kHz)	1483,4
	Temps d'excitation (µs)	16026
Excitation	Vitesse de balayage de RF (Hz/µs)	2000
	Atténuation de la RF (dB)	8
	Fréquence limite basse (Hz)	467224
	Fréquence limite haute (kHz)	2666,6
	Temps d'excitation (µs)	1094
Détection	Fréquence d'acquisition (kHz)	5333
	Atténuation du signal (dB)	10
	Nombre de points (Koctet)	8
	Durée de détection (ms)	1,54
	Nombre de zéro ajoutés	1x

Chapitre III. Partie 1.I.D.1. Page 125

Tableau A.5 : Paramètres de la séquence utilisée pour la détection de l'atrazine sur aluminium.

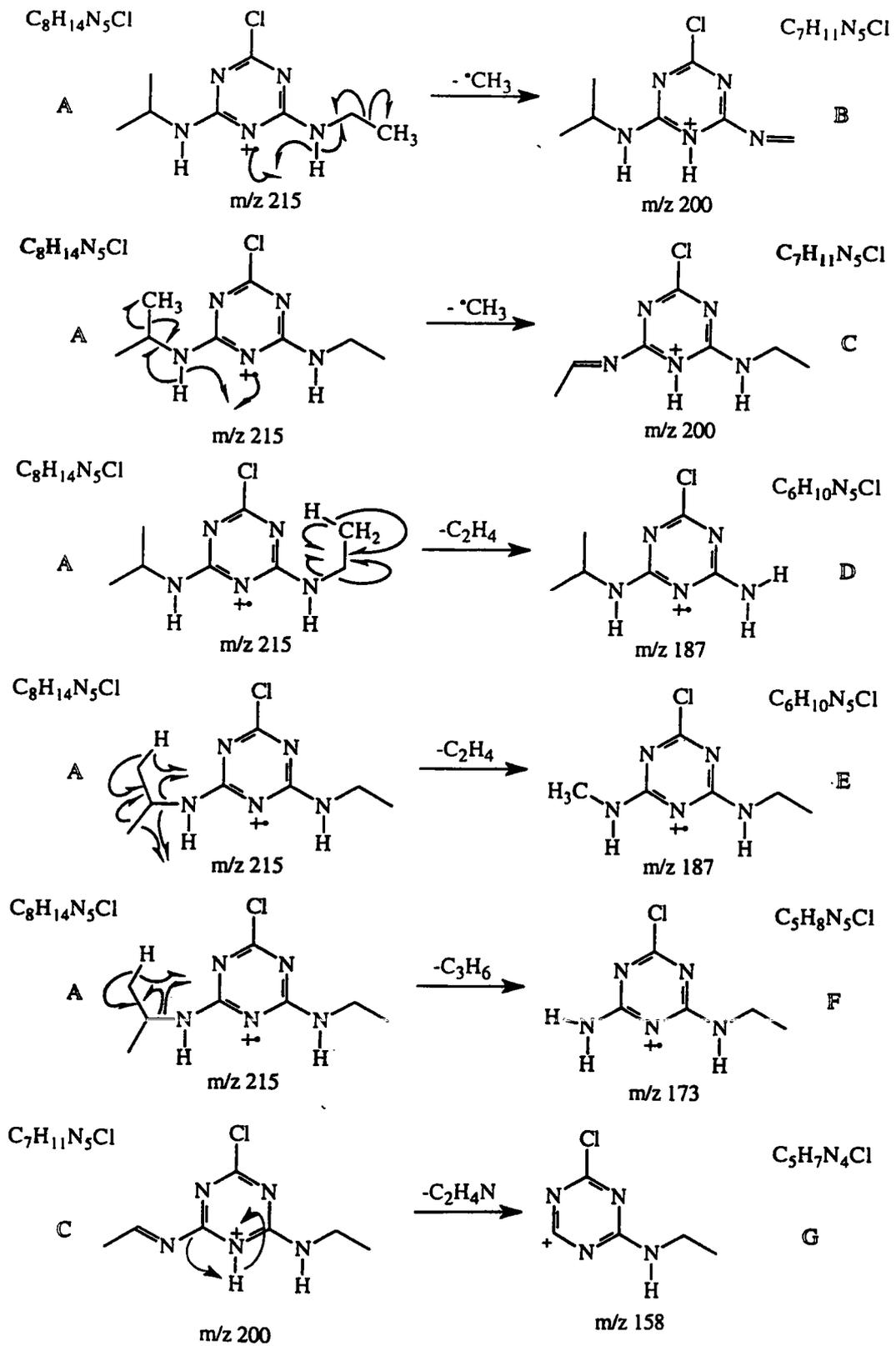
	Paramètre	Valeur
	Configuration	Porte-échantillon interne
	Laser d'ionisation	Excimère 248 nm
	Accumulation	10x
	Délai après ionisation (ms)	4000
	Potentiel de piégeage (V)	2
Excitation	Vitesse de balayage de RF (Hz/µs)	2000
	Atténuation de la RF (dB)	0
	Fréquence limite basse (Hz)	4000
	Fréquence limite haute (kHz)	2666,6
	Temps d'excitation (µs)	1331
Détection	Fréquence d'acquisition (kHz)	5333
	Atténuation du signal (dB)	10
	Nombre de points (Koctet)	32
	Durée de détection (ms)	6,15
	Nombre de zéro ajoutés	1x

Nous donnons ci-dessous une liste non exhaustive des commandes et fichiers utiles à l'administrateur d'un système UNIX. Il est impossible de donner ici toutes les options disponibles pour chaque commande. Nous suggérons au lecteur d'utiliser l'aide en ligne disponible par la commande "man".

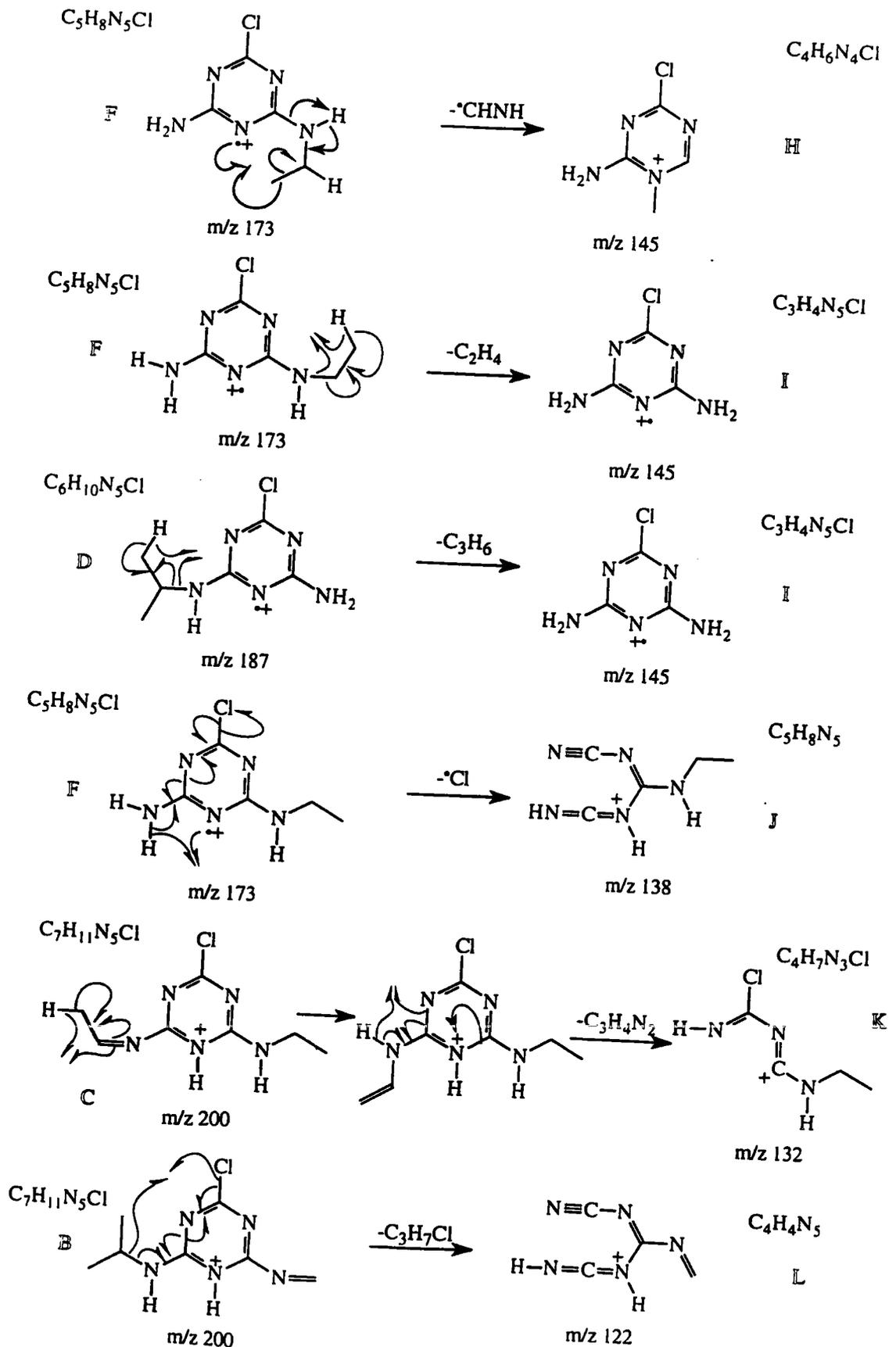
Nom	Type	Définition
man	commande	Manuel en ligne (taper man Nom_de_Commande)
login	commande	Ouverture d'une session
logout	commande	Fermeture d'une session
whoami	commande	Défini sous quel userid la session courante est ouverte
ping	commande	Teste la connection avec un système distant
ftp	commande	Ouverture du protocole de transfert de fichiers avec un système distant
rlogin	commande	Ouverture d'une session sur un système distant
telnet	commande	Ouverture d'une connection avec un système distant
su	commande	Passer en mode "super-user" (root)
passwd	commande	Changer le mot de passe
/etc/passwd	fichier	Liste des userid autorisés sur le système
finger	commande	Liste les userid actuellement en session
clear	commande	Nettoie l'écran du terminal
stty	commande	Définit les options d'un terminal
ls	commande	Liste le contenu du répertoire courant
pwd	commande	Donne le chemin d'accès du répertoire courant
cd	commande	Permet le déplacement dans l'arborescence
cat	commande	Liste le contenu d'un fichier
more	commande	Liste le contenu d'un fichier page par page
vi	commande	Editeur de texte
grep	commande	Recherche d'une chaîne dans un fichier
umask	commande	Définit le masque des autorisation pour la création de fichiers
chmod	commande	Change les autorisations d'un fichier
chown	commande	Change l'userid propriétaire d'un fichier
chgrp	commande	Change le groupe propriétaire d'un fichier
mkdir	commande	Crée un fichier - répertoire
mv	commande	Déplace un fichier dans le même système de fichiers. Aussi utilisé pour changer le nom d'un fichier

cp	commande	Crée une copie d'un fichier
rm	commande	Supprime un fichier
link	commande	Création d'un lien logique entre fichiers
unlink	commande	Suppression de lien logiques
tar	commande	Création ou lecture une sauvegarde sur cartouche
dfs	commande	Donne la liste et la disponibilité des fichiers système
/etc/fstab	fichier	Liste des fichiers système montés au démarrage
mount	commande	Monte un fichier système (le rend accessible)
umount	commande	Démonte un fichier système
/etc/mntab	fichier	Liste des fichiers système actuellement montés
fsck	commande	Contrôle et réparation éventuelles des fichiers système
mkfs	commande	Création de fichiers systèmes (installation de nouveaux périphériques de stockage)
/etc/export	fichier	Liste des fichiers systèmes dont l'exportation vers des systèmes distants est autorisée.
lpc	commande	Gestionnaire d'imprimantes
/etc/printcap	fichier	Liste des périphériques d'impression
lpstat	commande	Donne l'état de l'imprimante
/usr/bin/install/ add_user	commande	Ajoute un utilisateur du C-shell ou de openwindows
/usr/bin/install/ add_ftms_user	commande	Ajoute un utilisateur des logiciels Odyssey
ps	commande	Donne la liste des processus en cours d'exécution
halt	commande	Suspend l'exécution du système d'exploitation. Cette commande est suivie de boot ou de reset
boot	commande	Ne s'utilise qu'après halt. Redémarre le système UNIX après avoir effectué une série de tests.
reset	commande	Ne s'utilise qu'après halt. Simule un cycle interrupteur on/off. Réinitialise le système

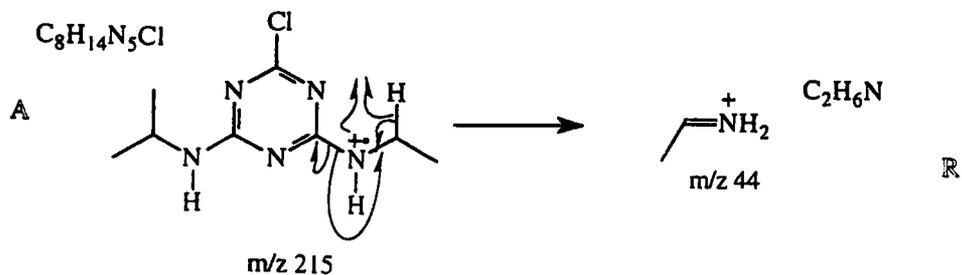
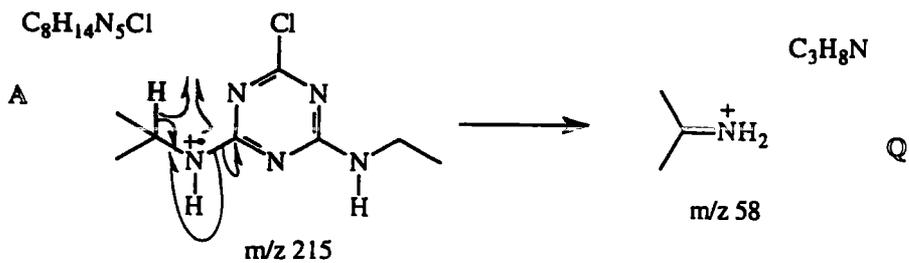
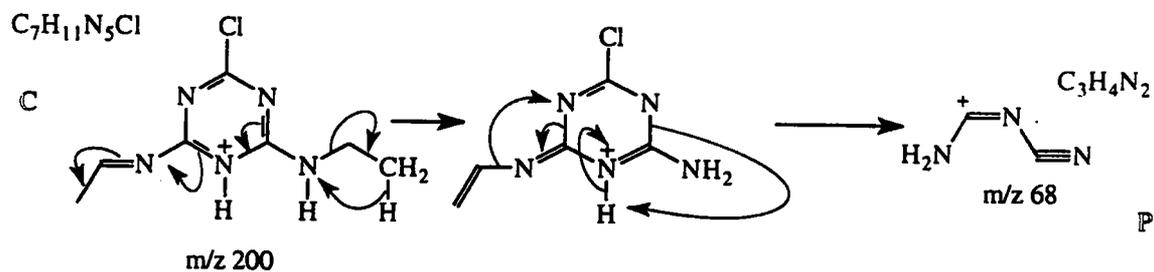
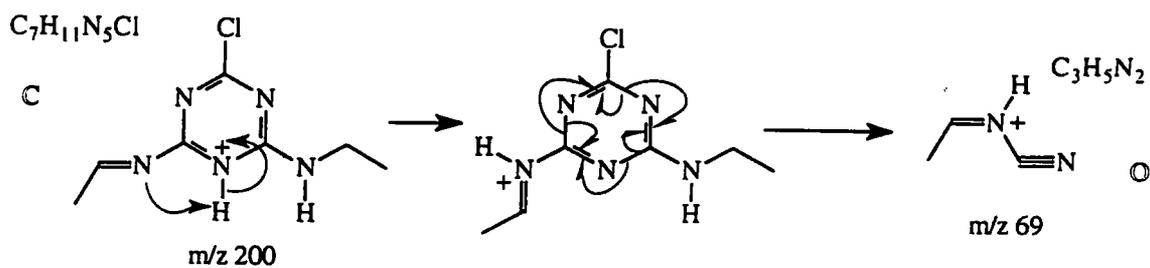
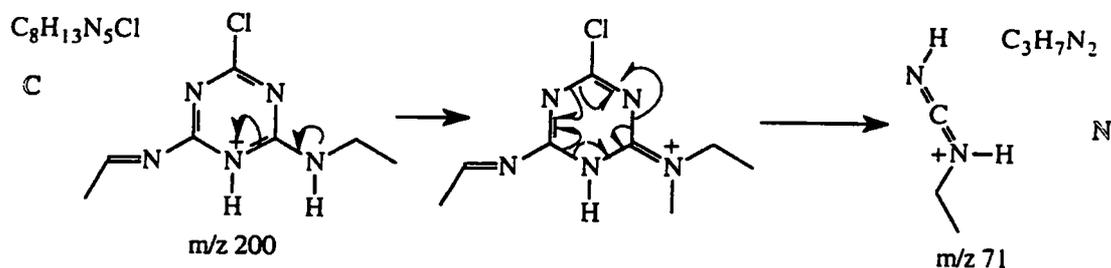
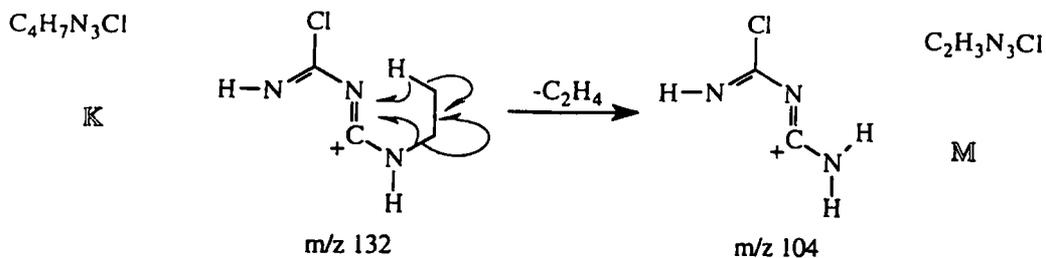
Atrazine (1/4)



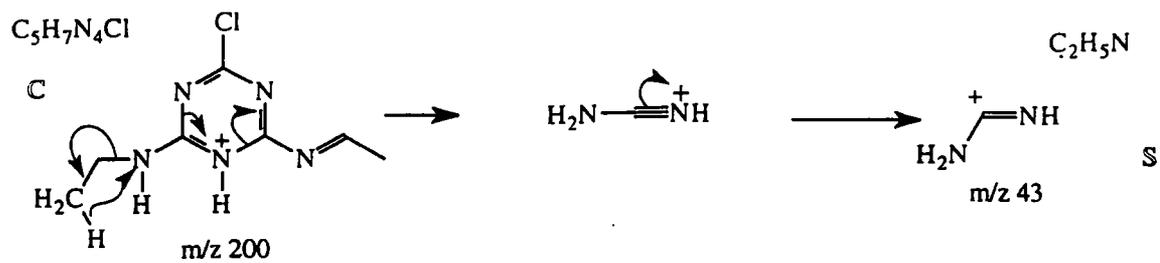
Atrazine (2/4)



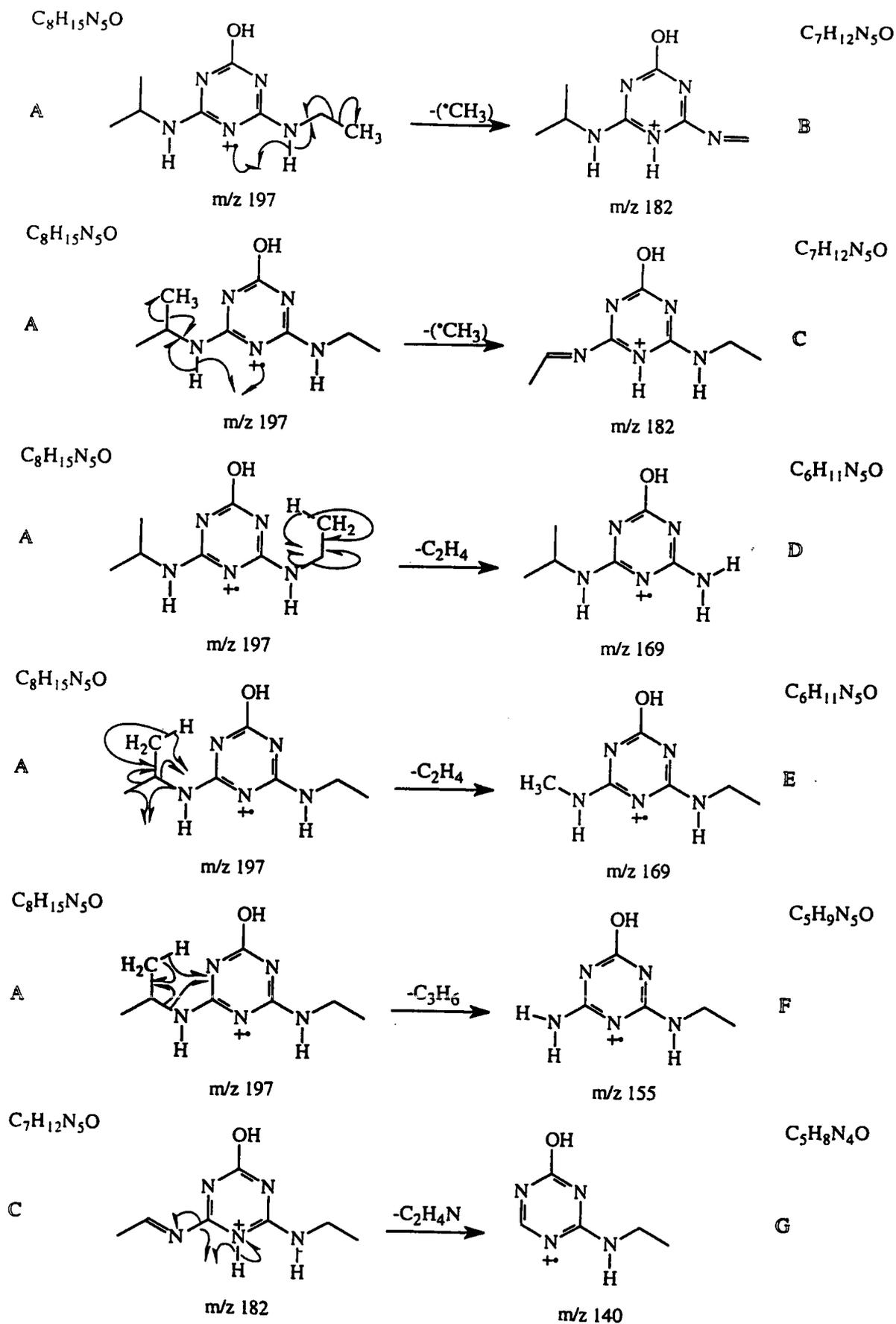
Atrazine (3/4)



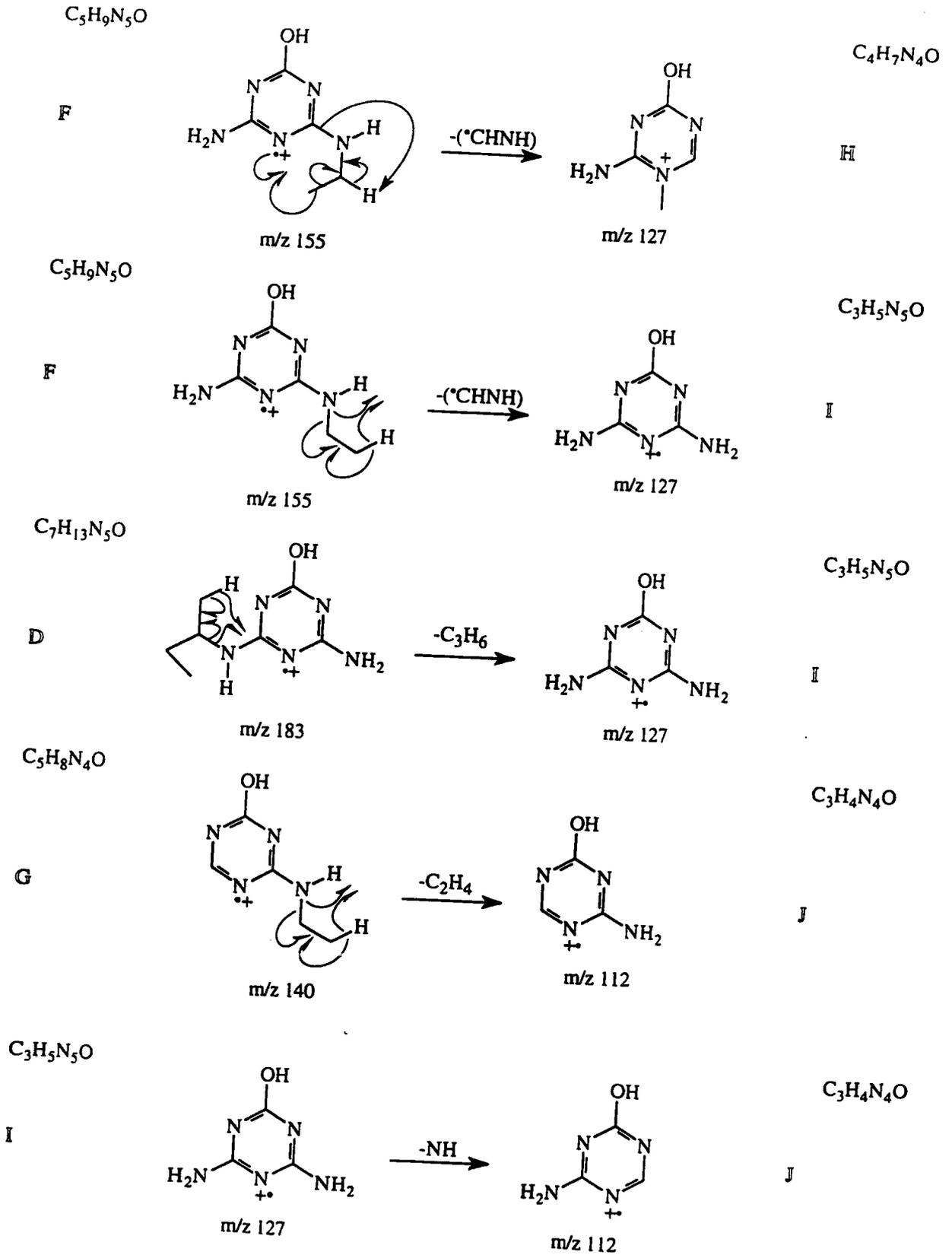
Atrazine (4/4)



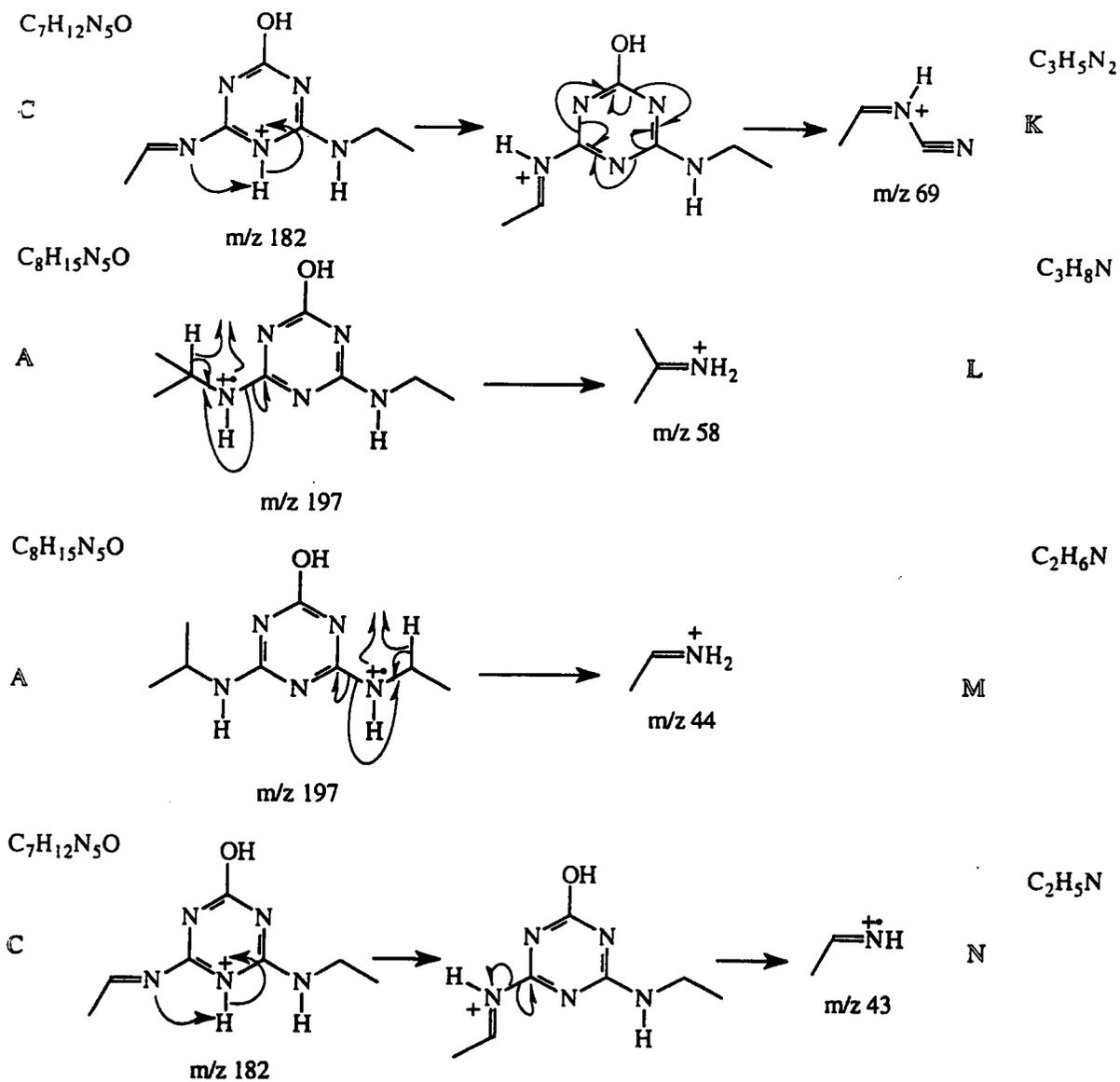
Hydroxyatrazine (1/3)



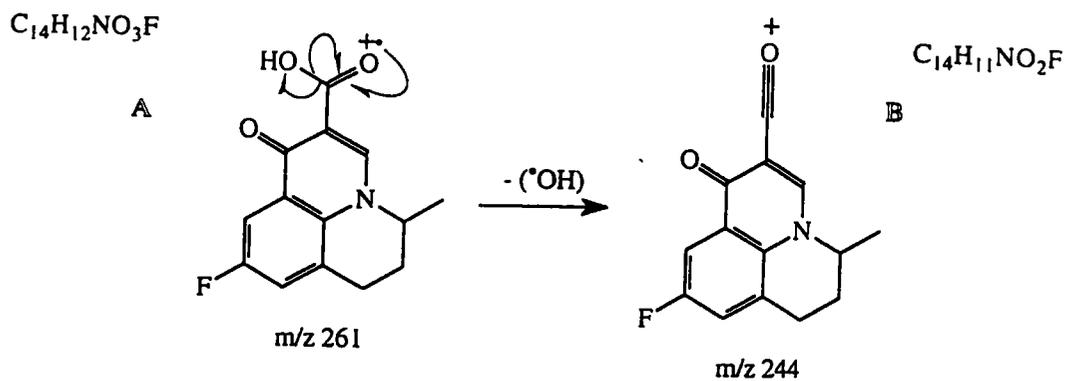
Hydroxyatrazine (2/3)



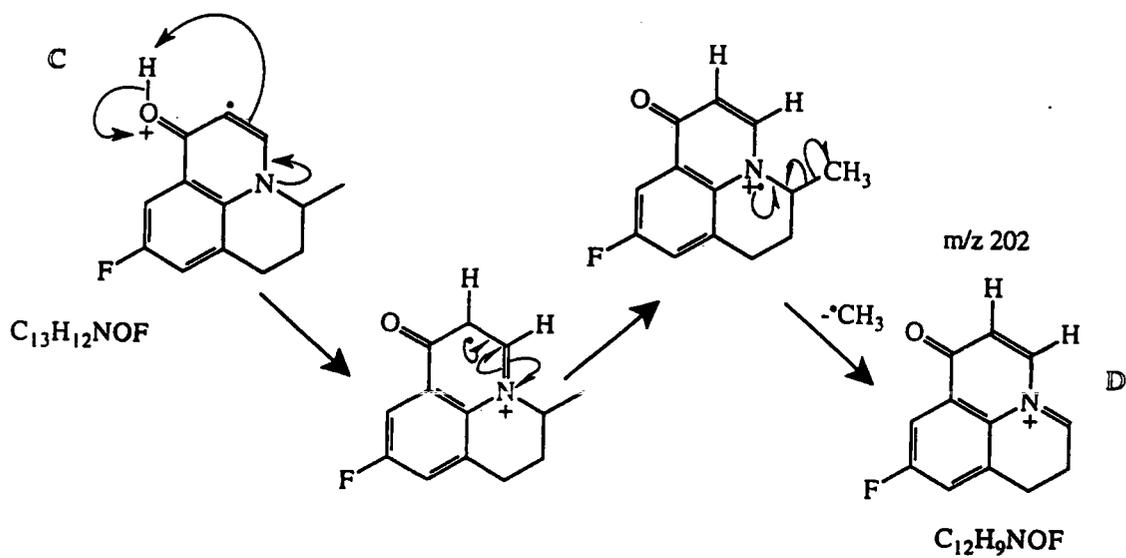
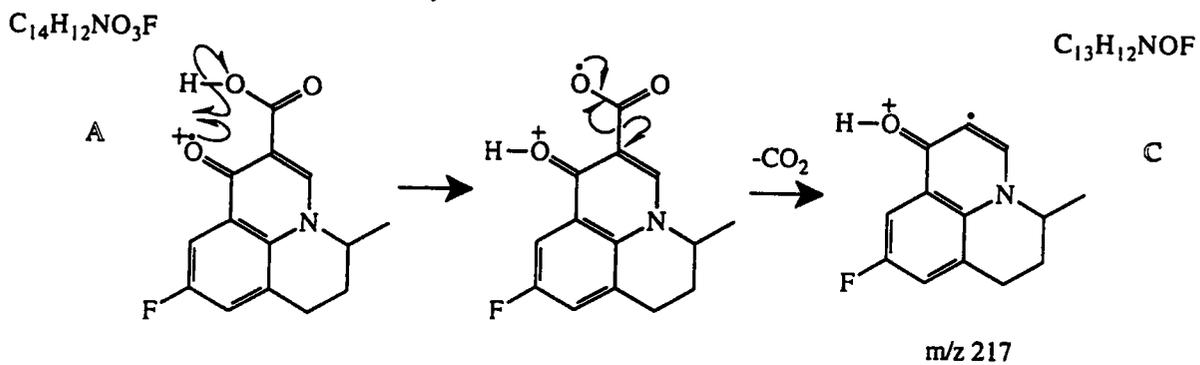
Hydroxyatrazine (3/3)



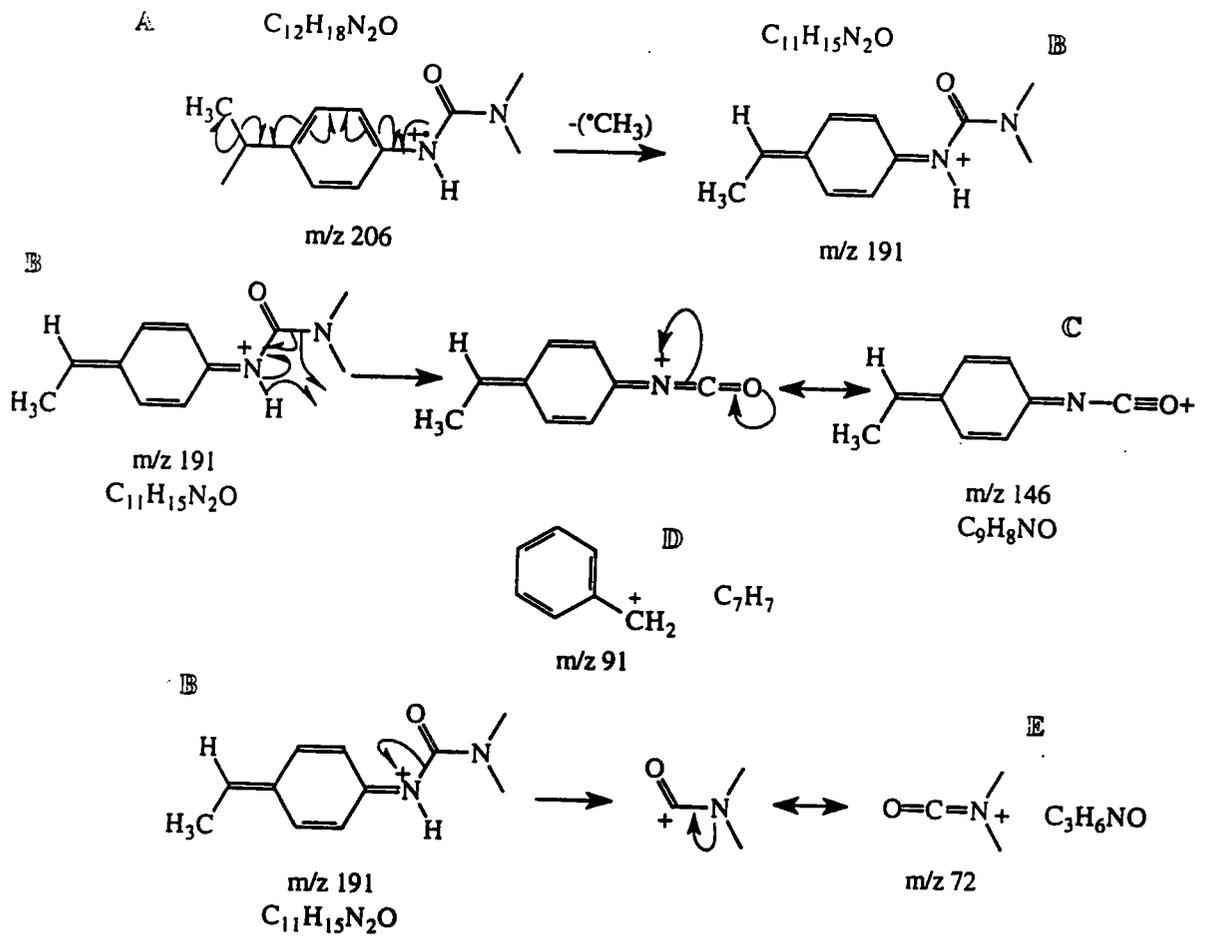
Fluméquine (1/1)



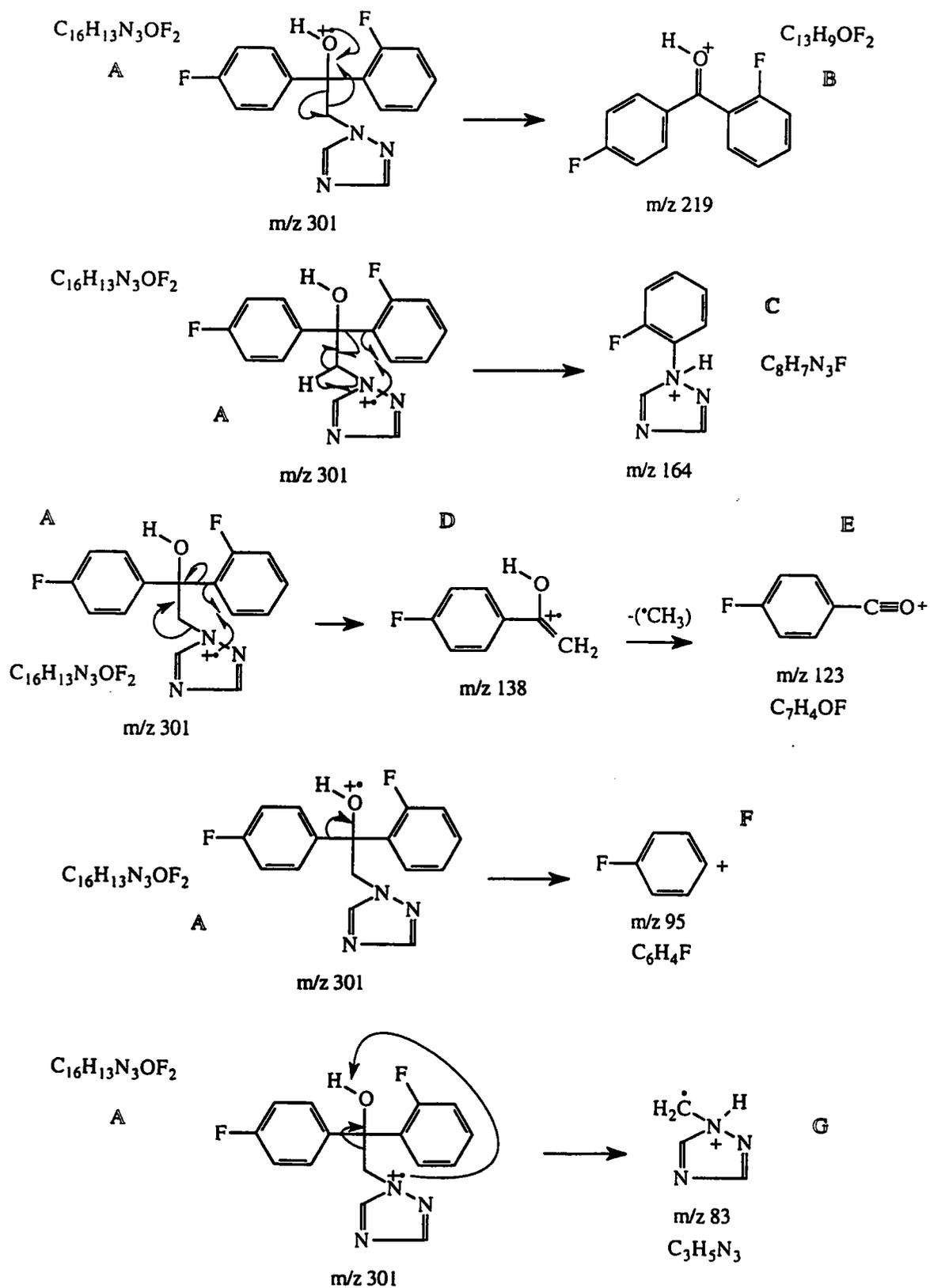
Réarrangement de Mc Lafferty



Isoproturon (1/1)



Flutriafol (1/1)



Effets de l'apodisation et du "remplissage" par des zéros sur le signal

Fonctions d'apodisation $f(t)$ [avec T = temps d'acquisition]

Blackman Harris 3 terms :

$$0,42323 - 0,49755 \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) + 0,07922 \cos\left(\frac{4\pi t}{T}\right)$$

Blackman Harris 4 terms :

$$0,38575 - 0,48829 \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) + 0,14128 \cos\left(\frac{4\pi t}{T}\right) - 0,01168 \cos\left(\frac{6\pi t}{T}\right)$$

Gaussian :

$$\exp\left(-0,5 \left[\frac{3,5(2t-T)}{T}\right]^2\right)$$

Hamming :

$$0,54 - 0,46 \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right)$$

Hanning :

$$\sin^2\left(\frac{\pi t}{T}\right)$$

Kaiser-Bessel :

$$\frac{I_0\left\{3,5\pi\sqrt{1,0 - \left(\frac{(2t-T)}{T}\right)^2}\right\}}{I_0(3,5\pi)}$$

avec $I_0(x)$ une fonction de Bessel d'ordre zéro modifiée

Kaiser-Bessel 4 terms:

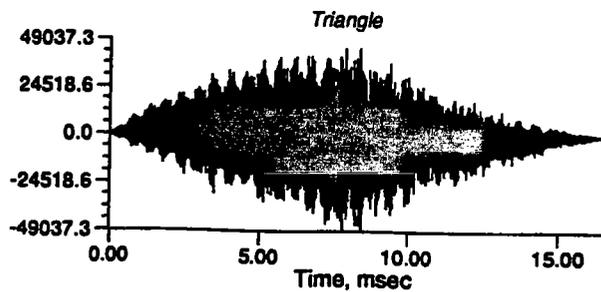
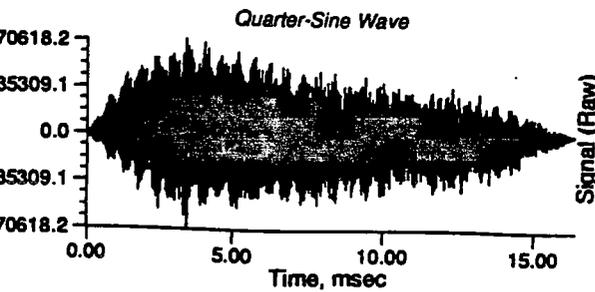
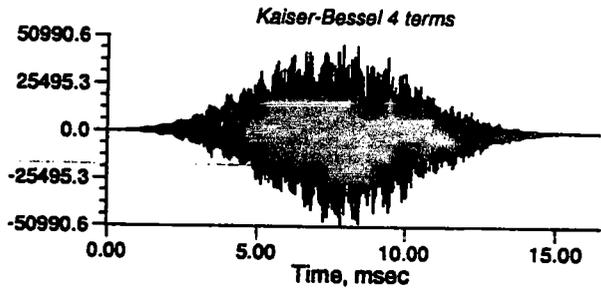
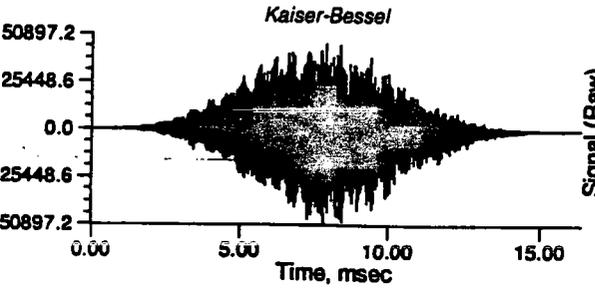
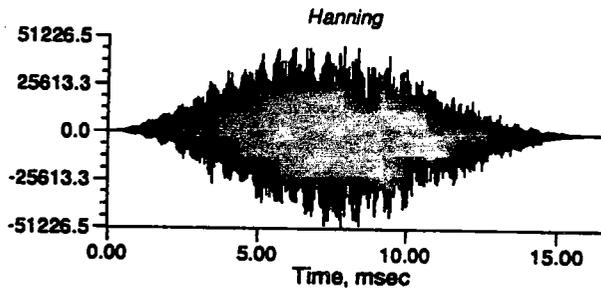
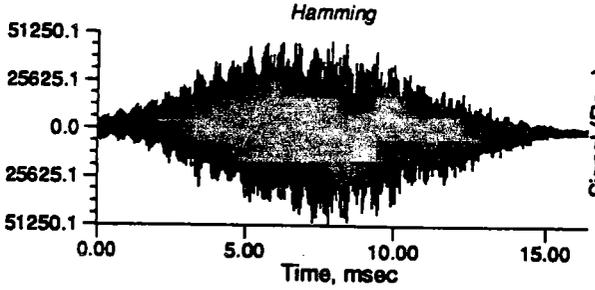
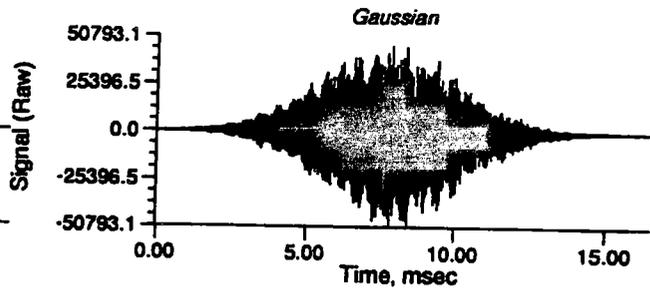
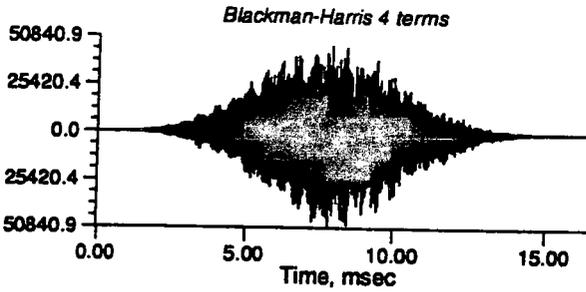
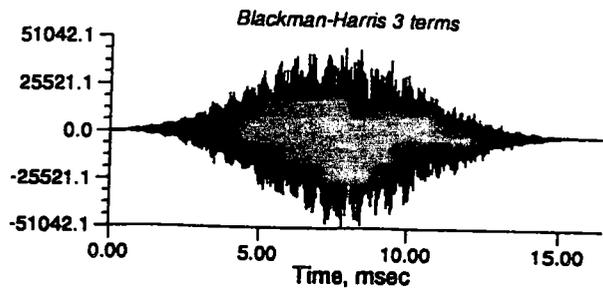
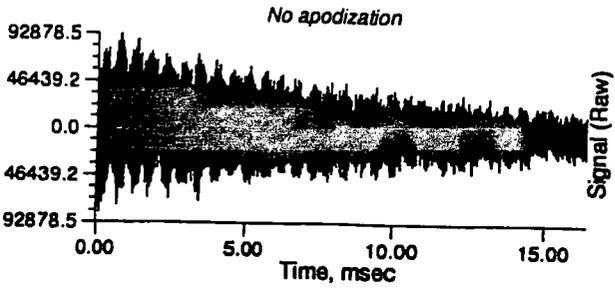
$$0,40243 - 0,49804 \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) + 0,09831 \cos\left(\frac{4\pi t}{T}\right) - 0,00122 \cos\left(\frac{6\pi t}{T}\right)$$

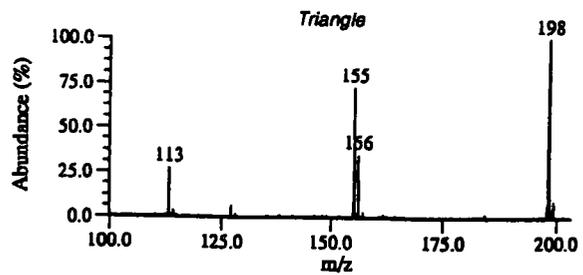
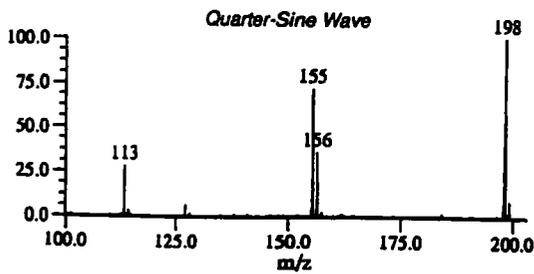
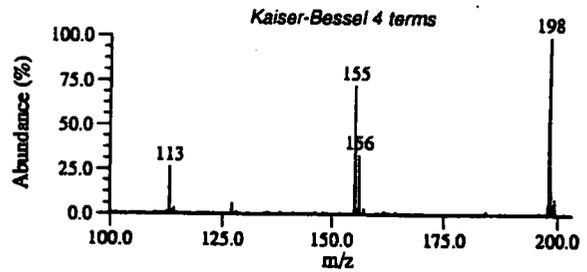
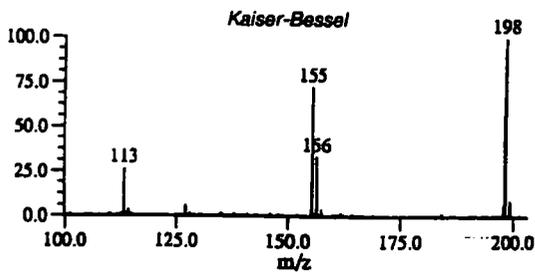
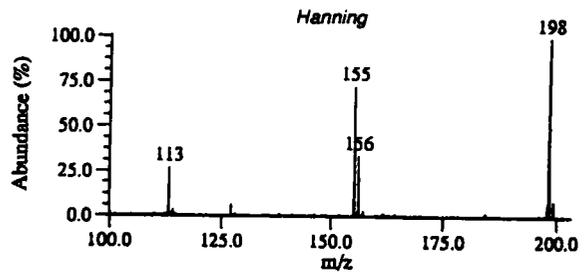
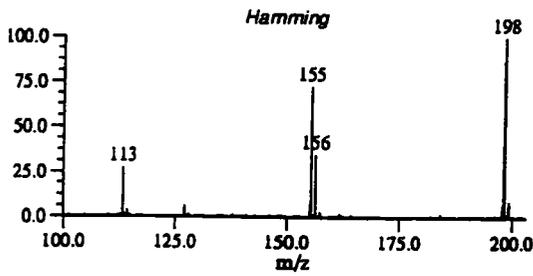
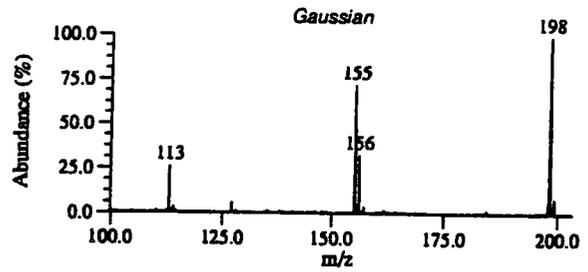
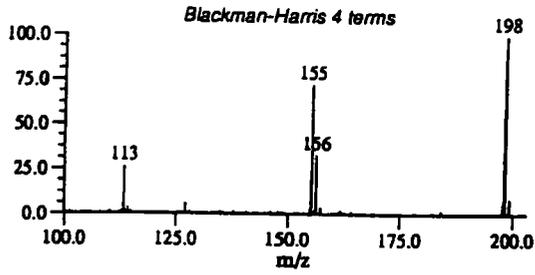
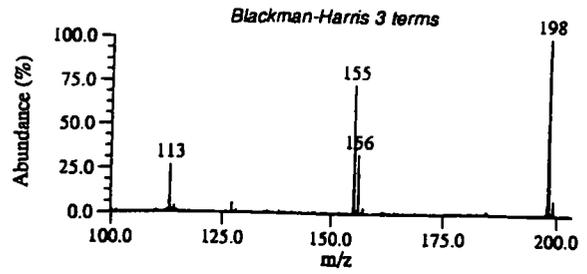
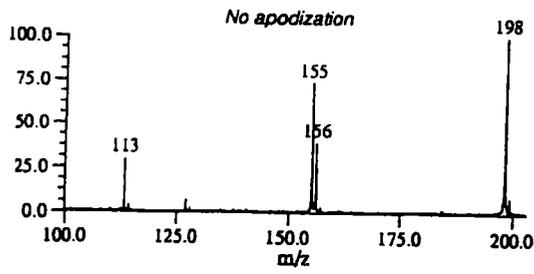
Triangle :

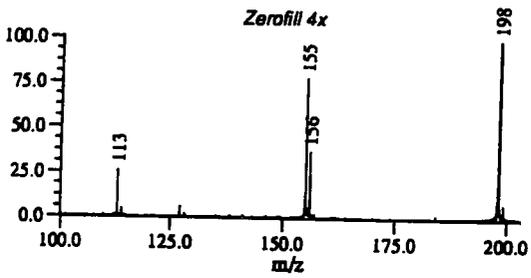
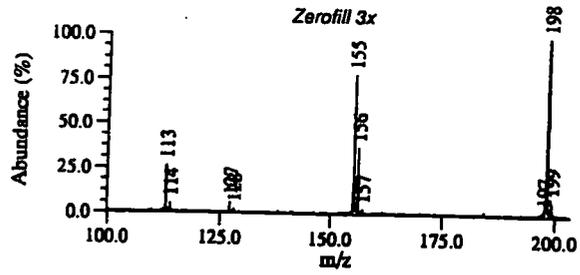
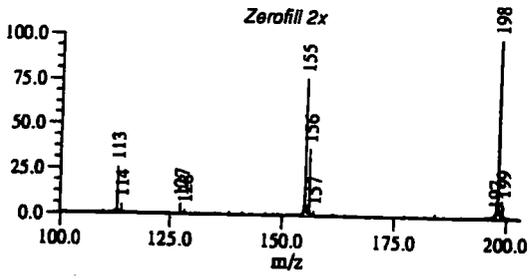
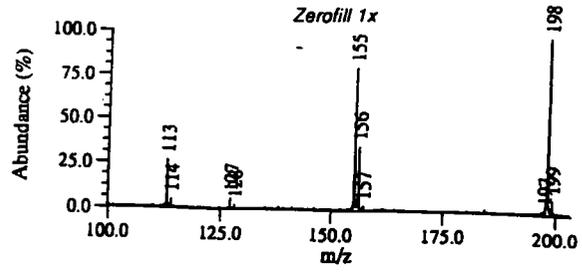
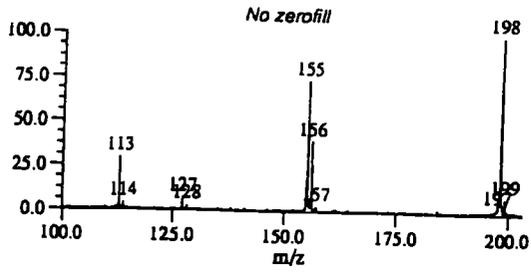
$$1,0 - \frac{|2t-T|}{T}$$

Quarter sine wave :

$$\begin{array}{ll} \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) & \text{pour } 0 < t < \frac{T}{4} \\ 1,0 & \text{pour } \frac{T}{4} \leq t \leq \frac{3T}{4} \\ \sin\left(\frac{2\pi t}{T} - \pi\right) & \text{pour } \frac{3T}{4} < t < T \end{array}$$







Liste des figures et tableaux

Liste des figures :

Figure I.1:	Devenir des pesticides dans l'environnement.	5
Figure I.2:	Modèle interphase de l'arrangement des chaînes de la phase greffée à haute densité.	10
Figure I.3:	Représentation schématique de la création d'une zone frontière.	17
Figure I.4:	Représentation schématique de la désorption induite par transition électronique lors de l'impact laser.	20
Figure II.1:	Diagramme expérimental de l'étude de la désorption laser FTMS sur membranes d'extraction.	28
Figure II.2:	Atrazine (2 - chloro - 4 - (ethylamino) - 6 - (isopropylamino) -s-triazine)	30
Figure II.3:	Hydroxyatrazine (2-(ethylamino)-4-hydroxy-6-(isopropylamino)-s-triazine)	31
Figure II.4:	Mécanisme de dégradation de l'atrazine en hydroxyatrazine.	31
Figure II.5:	Fluméquine {[1H,5H] - (6, 7- dihydro -9- fluoro -5- methyl -1- oxo) benzo[i,j]-quinolizine -2- acide carboxylique}	32
Figure II.6:	Isoproturon [3-(4-isopropylphenyl)-1, 1-diméthylurée].	33
Figure II.7:	Flutriafol [(RS)-2,4'-difluoro-a-(1H-1,2,4-triazole-1-ylmethyl).	33
Figure II.8:	Dispositif d'extraction sur membrane.	35
Figure II.9:	Représentation schématique d'un filtre quadripolaire.	39
Figure II.10:	Microsonde laser spectromètre de masse à transformée de Fourier. Schéma général.	41
Figure II.11:	La double - cellule de la microsonde laser du laboratoire.	43
Figure II.12:	Porte - substrats de la microsonde FTMS.	48
Figure III.1:	Séquence temporelle d'analyse en FTMS.	53
Figure III.2:	Schémas de principe d'un spectromètre de masse à résonance cyclotronique à transformée de Fourier.	54
Figure III.3:	Courant image globalement nul généré par un ensemble d'ions de phase aléatoire avant excitation.	55
Figure III.4:	Schémas de principe de l'excitation et de la détection des ions par FTMS.	56
Figure III.5:	Comparaison des trajectoires de deux nuages d'ions après la même excitation..	58
Figure III.6:	Équipotentiels du champ électrique entre deux plaques de piégeage portées au potentiel 1 V.	59
Figure III.7:	Représentation schématique du champ électrique dû au potentiel de piégeage dans le cas d'une cellule cubique	60
Figure III.8:	Bilan des forces qui s'exercent sur l'ion soumis aux deux champs de piégeage	60
Figure III.9:	Combinaison des trois mouvements naturels d'un ion dans la cellule FTMS cyclotron, magnétron et oscillations de piégeage.	63
Figure III.10:	Représentation schématique de l'effet de charge d'espace	66
Figure III.11:	Diagramme schématique des différents facteurs qui influencent l'étape d'ionisation.	69
Figure III.12:	Spectres en désorption/ionisation laser à 248 nm de la fluméquine déposée sur support d'aluminium. La fragmentation dépend de l'irradiance utilisée.	71
Figure III.13:	Diagramme schématique des facteurs influents lors du piégeage des ions.	73
Figure III.14:	Equipotentiels du champ électrique de piégeage dans la cellule avec porte-échantillon interne. Le porte-échantillon est porté au même potentiel que les plaques de piégeage.	76
Figure III.15:	Diagramme schématique de l'excitation.	77
Figure III.16:	Forme d'onde temporelle pour une excitation pulsée et sa transformée de Fourier.	78
Figure III.17:	Signal d'excitation par balayage de fréquences (a) et sa transformée de Fourier (b).	79

Figure III.18: Exemple d'application de la méthode SWIFT.	80
Figure III.19: Diagramme schématique présentant les paramètres de la détection et du traitement du signal.	81
Figure III.20: Spectre LD/FTMS à 248 nm d'un échantillon de nitrure de bore.	83
Figure III.21: Schémas de fonctionnement du mode hétérodyne	85
Figure III.22: Spectre en mode hétérodyne du dicoronène.	86
Figure III.23: Diagramme des manipulations des populations d'ions.	87
Figure III.24: Séquence utilisée pour étudier la réactivité de l'acétophénone (L) vis à vis du cation Mg+.	88
Figure III.25: Spectres obtenus après réaction entre les ions Mg+ formés par ionisation laser et des molécules neutres d'acétophénone (L)	89
Figure III.26: Séquence type de piégeage suspendu. Le délai durant lequel le piégeage est suspendu doit être optimisé en fonction des populations ioniques.....	91
Figure III.27: Spectre de masse en désorption laser d'un échantillon de zinc contenant 12 ppm de magnésium obtenu par la méthode de piégeage suspendu avec éjection	92
Figure III.28: Représentation de la conversion entre les mouvements cyclotron et magnétron lors d'une excitation quadripolaire azimutale à la fréquence ν_c	93
Figure III.29: Photo à la binoculaire (grossissement 119x 1 cm=151 μ m) de l'échantillon de dicoronène sur indium.	95
Figure III.30: Evolution des spectres en désorption/ionisation laser à 248 nm.	97
Figure III.31: Interférogramme obtenu dans les conditions standard lors de l'analyse du dicoronène.	99
Figure III.32: Spectres de masse en désorption/ionisation laser à 248 nm de l'hydroxyatrazine déposée sur acier inoxydable	102
Figure III.33: Diagramme des fonctions du système NICOLET 1280 et de ses modules.	107
Figure III.34: Diagramme des fonctions du système Odyssey et de ses modules.	108
Figure III.35: Lignes équipotentielle du champ électrique de piégeage dans la configuration avec échantillon interne porté au potentiel de piégeage (a) et avec l'échantillon externe au potentiel 0 V(b).	112
Figure IV.1: Spectre de masse de l'atrazine en EI.	119
Figure IV.2: Fragmentation de l'atrazine par EI.	120
Figure IV.3: Spectre de masse de l'hydroxyatrazine par EI.	121
Figure IV.4: Fragmentation de l'hydroxyatrazine par EI.	121
Figure IV.5: Spectres d'absorption UV de l'atrazine et de l'hydroxyatrazine.	122
Figure IV.6: Spectre de masse de l'atrazine par désorption laser à 248 nm.	125
Figure IV.7: Spectre de masse de l'hydroxyatrazine sur aluminium par désorption laser à 248 nm.	126
Figure IV.8: Proposition de fragmentation pour l'hydroxyatrazine en désorption laser à 248 nm.	127
Figure IV.9: Réseau tridimensionnel de la silice et phase greffée C ₁₈	129
Figure IV.10: Spectre de masse de la membrane d'extraction en désorption laser à 248 nm.	130
Figure IV.11: Spectre de masse résultant d'un seul impact laser à haute irradiance sur une membrane d'extraction et photographie MEB du cratère généré. ...	131
Figure IV.12: Spectre de masse par désorption laser à 248 nm de l'atrazine (a) et l'hydroxyatrazine (c) sur membrane d'extraction C ₁₈	132
Figure IV.13: Signal de l'ion pseudo-moléculaire de l'atrazine et de l'hydroxyatrazine sur membrane en fonction de l'irradiance laser utilisée pour l'ionisation.	133
Figure IV.14: Signal de l'ion pseudo-moléculaire de l'atrazine et de l'hydroxyatrazine adsorbés sur membrane en fonction du délai entre l'ionisation et l'excitation des ions.	134

Figure IV.15: Variation du signal de l'ion $[M+H]^+$ de l'hydroxyatrazine en fonction de la concentration de la solution de départ.	137
Figure IV.16: Signal absolu de l'ion $[M+H]^+$ de l'hydroxyatrazine en fonction du nombre de tirs au même endroit d'une membrane pour diverses quantités adsorbées	138
Figure IV.17: Spectre par désorption laser à 248 nm de l'hydroxyatrazine adsorbée sur membrane d'extraction (après filtration de la solution).	139
Figure IV.18: Spectres d'absorption UV de la fluméquine (a), de l'isoproturon (b) et du flutriafol (c).	141
Figure IV.19: Spectre de masse de la fluméquine par EI.	142
Figure IV.20: Voies de fragmentations de la fluméquine par EI.	143
Figure IV.21: Spectre de masse de la fluméquine par ionisation chimique (NH_3). ...	144
Figure IV.22: Spectre de masse en désorption laser à 248 nm de la fluméquine déposée sur support d'aluminium.	145
Figure IV.23: Origine des fragments 244 et 218 de la fluméquine par désorption laser à 248 nm.	146
Figure IV.24: Mécanismes de formation des fragments 202 et 176 de la fluméquine par désorption laser à 248 nm.	146
Figure IV.25: Spectre de masse de l'isoproturon par EI.	147
Figure IV.26: Fragmentation de l'isoproturon par EI.	147
Figure IV.27: Spectre de masse de l'isoproturon par ionisation chimique (NH_3).	148
Figure IV.28: Spectre de masse en désorption laser à 248 nm de l'isoproturon déposé sur support d'aluminium.	149
Figure IV.29: Mécanismes de fragmentation proposés pour les ions 189 et 134 de l'isoproturon.	149
Figure IV.30: Spectre de masse du flutriafol par EI.	151
Figure IV.31: Voies possibles de fragmentation du flutriafol par EI.	151
Figure IV.32: Spectre de masse du flutriafol par ionisation chimique (NH_3).	152
Figure IV.33: Structure possible de l'ion m/z 85 du flutriafol.	152
Figure IV.34: Spectre de masse en désorption laser à 248 nm du flutriafol déposé sur support d'aluminium.	153
Figure IV.35: Proposition de mécanismes de formation des ions 284 et 233 du flutriafol par désorption laser à 248 nm.	154
Figure IV.36: Spectre de masse en désorption laser à 248 nm de la fluméquine adsorbée sur membrane C18.	155
Figure IV.37: Hydrophobicité et partage.	158
Figure IV.38: Spectre de masse en désorption laser à 355 nm d'une membrane vierge.	160
Figure IV.39: Spectre UV en réflectance d'une membrane vierge.	161
Figure IV.40: Spectres de masse en ionisation laser à 355 nm de la fluméquine, l'isoproturon et du flutriafol adsorbés sur membrane C18.	162

Liste des tableaux :

Tableau I.1: Paramètres influençant le processus de désorption/ionisation laser.....	14
Tableau II.1: Caractéristiques des composés étudiés.	30
Tableau II.2: Conditions d'analyse HPLC des pesticides étudiés.	36
Tableau II.3: Concentrations des solutions pour analyse UV.	37
Tableau II.4: Paramètres d'acquisition des spectres d'absorption UV.....	38
Tableau II.5: Conditions d'analyses par D-EI et D-CI.	40
Tableau II.6: Caractéristiques des faisceaux délivrés par les lasers couplés à la microsonde laser FTMS.	45
Tableau II.7: Gammes d'irradiance accessibles à l'aide des différents lasers.	46
Tableau III.1: Comparaison des différents analyseurs de masses	52
Tableau III.2: Lois d'étalonnage utilisées en FTMS.	66
Tableau III.3: Liste des paramètres utilisés pour l'optimisation de la séquence d'analyse du dicoronène	96
Tableau III.4: Liste des paramètres utilisés pour l'optimisation de la séquence d'analyse de l'hydroxyatrazine.	101
Tableau IV.1: Rendements de rétention et d'élution des deux composés étudiés (concentration 5 µg/ml, élution par le méthanol).	118
Tableau IV.2: Coefficients d'absorption molaire de l'atrazine et de son métabolite à différentes longueurs d'ondes.	123
Tableau IV.3: Signal (en unités arbitraires) de l'ion [M+H] ⁺ de l'hydroxyatrazine pour différentes concentrations de la solution extraite.	137
Tableau IV.4: Nombre de tirs laser successifs au même point d'une membrane permettant la détection de l'ion [M+H] ⁺ de l'hydroxyatrazine.	138
Tableau IV.5: Coefficients d'absorption molaires des trois pesticides.	141
Tableau IV.6: Rendements de rétention des trois molécules sur membrane C18.	142
Tableau IV.7: Coefficients d'extinction molaire à 248 nm des composés étudiés.	155
Tableau IV.8: Coefficients de partage octanol/eau des pesticides étudiés.	157

Résumé

La désorption/ionisation laser couplée à la spectrométrie de masse à transformée de Fourier est une technique d'analyse en plein développement dont les applications en analyse de surfaces sont particulièrement prometteuses. Il s'agit cependant d'une méthode extrêmement sensible aux conditions opératoires. Après avoir défini les phénomènes physiques sous-jacents, nous avons, à travers des exemples d'applications, mis l'accent sur les implications pratiques des phénomènes microscopiques dont il faut tenir compte lors d'une analyse.

La faisabilité de cette méthode pour l'analyse de pesticides adsorbés sur supports d'extraction a été évaluée pour la première fois. Cinq composés de structures très différentes et d'applications variées en agriculture ont été analysés sous forme de standard par spectrométrie de masse classique et les modes de

fragmentation comparés à ceux obtenus par désorption laser à 248 nm. L'analyse des membranes utilisées a permis de déterminer les interférences possibles et d'évaluer la profondeur d'ablation à différentes irradiances. Les essais concernant l'atrazine et son métabolite hydroxylé adsorbés sur membranes d'extraction ont conduit à proposer deux mécanismes distincts d'ionisation : un processus d'ionisation en phase gazeuse comparé à une désorption vraie. De plus, à 248 nm, les différents composés analysés sur membranes ont montré des comportements très différents qui sont mieux expliqués par leur coefficients de partage octanol/eau respectifs que par leur absorption à la longueur d'onde utilisée. L'utilisation d'un laser Nd-YAG triplé a permis de détecter les composés qui posaient des problèmes à 248 nm et de confirmer l'hypothèse d'une adsorption plus profonde dans la membrane.

Mots clés : *Pesticides; membranes d'extraction en phase solide; désorption/ionisation laser; Spectrométrie de masse par résonance cyclotronique à transformée de Fourier.*

Abstract

Laser desorption/ionisation coupled with Fourier transform mass spectrometry is an ever growing technique with promising applications in the field of surface analysis. However, this method is very sensitive to the experimental parameters. Through this work, after having defined the physical phenomena invoked in the process, we have put the stress on the practical implications of the microscopic processes which have to be taken into account during the analysis. Several examples illustrate this demonstration.

The feasibility of the method for the analysis of pesticides adsorbed on solid phase extraction membranes has been evaluated for the first time. Five compounds with very different structures and various applications in agriculture have been analysed by classical mass spectrometry and their fragmentation

products have been compared to those obtained by laser desorption at 248 nm wavelength. The analysis of the membrane by laser desorption has allowed us to evaluate the possible interferences and the ablation depth at various irradiances. The experiments concerning atrazine and its metabolite have allowed us to propose two distinct ionisation mechanisms : gas phase ionisation versus "true" desorption. Moreover, at the 248 nm wavelength, the various compounds adsorbed on membranes have shown very different behaviors which are better explained by their respective octanol/water partition coefficient than by their absorbance at the laser wavelength. The use of a tripled Nd-YAG laser has allowed the detection of the compounds which couldn't be detected at 248 nm and to confirm the hypothesis of a deeper adsorption of these compounds into the membrane.

Keywords : *Pesticides; solid-phase extraction membranes; laser desorption/ionization; Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry.*

Title : *Laser ablation/ionization mechanisms of pesticides adsorbed on membranes studied by Fourier transform mass spectrometry.*