

2m11.2566.8

Université de Montréal

Étude de composés oxygénés avec l'ionisation induite par bombardement
d'atomes/d'ions rapides en spectrométrie de masse assistée par matrice liquide.



Université de Montréal

Bibliothèque

par

Stephan Obarewicz
Département de chimie
des Arts et des Sciences

à la faculté des études supérieures
pour l'obtention du grade de
Maîtrise en Sciences (M. Sc.)
en chimie

Juillet 1997

©Stephan Obarewicz



2000-11-12

3
U54
1998
V.001

Université de Montréal

Étude de composés oxygénés avec l'ionisation induite par bombardement
d'atomes rapides en spectrométrie de masse assistée par matrice lipidique

par

Stephan Ostrzewicz
Département de chimie
Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître en Sciences (M.Sc.)
en chimie

Juillet 1997

©Stephan Ostrzewicz



Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

Étude de composés oxygénés avec l'ionisation induite par bombardement
d'atomes/d'ions rapides en spectrométrie de masse assistée par matrice liquide.

présenté par

Stephan Obarewicz

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Marius D'Amboise
Michel Bertrand
Thomas Ellis

président-rapporteur
directeur de recherche
membre du jury

Mémoire accepté le 19 Décembre 1997.

" The ships in the harbour
slip from their chains,
head for new horizons
into the sea. "

-Ian Brown, *The Stone Roses*.

Sommaire

Les composés organiques oxygénés ont été grandement étudiés par le passé. Étant donné les nombreuses fonctions chimiques qu'ils peuvent engendrer (cétones, aldéhydes, esters, acides carboxyliques, alcools, époxydes, éthers), leur diversité a suscité un grand intérêt pour la caractérisation de mécanismes chimiques et physiques dans plusieurs branches de la chimie. On peut citer entre autres l'électrochimie, la chimie de synthèse, la spectroscopie, la spectrométrie de masse et la chromatographie.

La création d'ions, induite par le bombardement d'atomes/d'ions rapides en spectrométrie de masse assistée par matrice liquide, a mené à l'observation de nombreuses voies d'ionisation pour les composés oxygénés. Ainsi, on peut observer dans la région moléculaire des spectres FAB/LSIMS, que ces techniques d'ionisation permettent simultanément la perte d'hydrure, la perte d'électron et la protonation. Ces processus sont respectivement en relation avec les pics de masse des ions $[M-H]^+$, M^+ et $[M+H]^+$. Les raisons qui expliquent la convergence envers l'un ou l'autre de ces processus d'ionisation, pour les produits oxygénés, ne sont toutefois pas clairement établies et cela, malgré une connaissance accrue de leurs propriétés thermodynamiques.

Pour tenter d'établir les tendances envers les diverses voies d'ionisation offertes, l'influence de la substitution entraînant une basicité croissante a été étudiée avec un acétal. Ainsi, il a été déterminé que l'ajout de groupes basiques, tels que l'hydroxyméthyle et l'acétate, avait un effet direct sur la protonation et cela, en dépit de la perte d'hydrure normalement recensée pour les acétals de faibles masses moléculaires.

Suite aux résultats obtenus pour les acétals substitués, des composés ayant des énergies d'ionisation et des affinités protoniques très semblables ont été étudiés, soient les isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène. Cela a été effectué pour explorer davantage l'influence que les propriétés thermodynamiques peuvent avoir sur la création simultanée d'ions; M^+ et $[M+H]^+$ dans ce cas-ci. Malgré la similarité des propriétés physiques de ces isomères, les résultats obtenus pour chacun en LSIMS ont été très différents. Cela contredisait a priori les hypothèses émises quant à la proportionnalité entre les résultats issus de l'ionisation et les énergies d'ionisation/affinités protoniques. Cependant, des analyses plus poussées avec spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) ont permis d'explorer les caractéristiques structurales des isomères et il a été découvert que ceux-ci se transformaient en d'autres structures durant le bombardement. Les propriétés thermodynamiques de ces nouvelles structures étant différentes des isomères originaux, il fut déduit que l'intensité des divers types d'ionisations, envers lesquels ces structures convergeaient, pourrait aussi être proportionnelle à leurs propriétés physiques.

L'étude des phénols substitués avec des groupes tels que NO_2 , Cl, CH_3 , OCH_3 et OH ont permis d'explorer davantage l'effet que puissent avoir les structures et les propriétés physiques sur l'ionisation en FAB/LSIMS. Différentes distributions d'intensités relatives de pics de masse ont d'ailleurs été observées dans la région moléculaire des spectres des phénols substitués et celles-ci semblaient être apparentées au(x) type(s) de substituant(s) impliqué(s). Ces tendances ne semblaient pas être réellement en relation avec les énergies d'ionisation et les affinités protoniques connues pour les analytes. Ainsi, pour mieux connaître les caractéristiques structurales des phénols substitués durant le bombardement, l'analyse par MS/MS a été une fois de plus utilisée. Cette analyse a

permis d'établir que les étendues dans la perte d'électron et la protonation, sur les phénols substitués, étaient en relation directe avec les variations de densité électronique sur les cycles aromatiques et les substituants.

L'influence que les diverses structures des composés oxygénés ont sur leur propre ionisation en FAB/LSIMS n'a quand même alloué que des prévisions approximatives des résultats à obtenir. Ainsi une extension à l'exploration de la chimie des matrices induite par irradiation a été entreprise pour expliquer plus précisément les résultats en FAB/LSIMS. Il semble que le lien entre la chimie de la radiolyse et l'ionisation induite par le faisceau de particules rapides ait été une fois de plus établi. Il apparaît que les matrices thioliées et disulfures inhibent la perte d'hydrure alors que les sulfures l'accroissent. De plus, une protonation anormale observée dans des matrices dites "oxydantes", menant habituellement à la formation d'ions M^+ , a aussi été expliquée à l'aide des données présentées dans la littérature de la radiolyse. La chimie des matrices, induite par le bombardement, a été élaborée selon des mécanismes réactionnels empruntés à la radiolyse de composés biologiques.

Globalement, plusieurs arguments permettent de croire que l'ionisation induite par le bombardement d'atomes/d'ions rapides soit un phénomène en phase condensée. L'argument principal vient du fait que des espèces ioniques moléculaires sont justement accumulées dans la matrice durant le bombardement. Cela a été déduit à partir de l'observation de variations d'intensités relatives dans la région moléculaire des spectres.

TABLE DES MATIÈRES

Sommaire	v
Table des matières	viii
Liste des figures	xi
Liste des tableaux	xvi
Glossaire	xvii
Remerciements	xix
Introduction	1
Chapitre 1: Les principes expérimentaux et théoriques des techniques FAB et LSIMS	7
1.1 Un bref historique des techniques	7
1.2 Principes instrumentaux d'ionisation et de désorption en FAB/LSIMS	9
1.3 Les principes fondamentaux de l'ionisation FAB/LSIMS	12
1.3.1 L'ionisation en phase gazeuse et en phase condensée	14
1.3.2 Influence de la structure des analytes	18
1.3.3 Contributions des matrices	20
1.3.4 Similarité entre la radiolyse et FAB/LSIMS	21

Chapitre 2: Partie Expérimentale	23
2.1 Origine des composés utilisés	23
2.2 Analyses des composés par FAB et LSIMS	25
2.2.1 Types d'appareils utilisés	25
2.2.2 Conditions d'analyses	30
2.2.3 Préparation et analyse des échantillons	32
2.2.4 Traitement des données spectrales	33
 Chapitre 3: Étude de l'influence des propriétés structurales d'acétals sur la formation d'ions en LSIMS	 34
3.1 But de l'étude des acétals substitués en LSIMS	34
3.2 Résultats expérimentaux avec l'ionisation LSIMS	35
3.3 Conclusions	41
 Chapitre 4: Étude des comportements anormaux des isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène en LSIMS	 44
4.1 But de l'étude des isomères de l'oxyde de stilbène en LSIMS	44
4.2 Résultats expérimentaux en MS	46
4.2.1 Résultats avec l'ionisation LSIMS	46
4.2.2 Résultats avec l'ionisation par Électrons (EI)	49
4.2.3 Résultats avec l'ionisation Chimique (CI)	51
4.2.4 Résultats avec l'ionisation par Électronébulisation (ESI)	51
4.3 Résultats expérimentaux en spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)	56
4.3.1 Résultats avec LSIMS / MS	57
4.3.2 Résultats avec EI / MS / MS	61
4.3.3 Résultats avec CI / MS / MS	63
4.3.4 Résultats avec ESI / MS / MS	63
4.4 Conclusions	70

Chapitre 5: Étude des influences de la substitution du phénol sur l'ionisation en FAB/LSIMS	77
5.1 But de l'étude des phénols substitués en FAB/LSIMS	77
5.2 Résultats expérimentaux	80
5.2.1 Résultats pour les phénols substitués en FAB	80
5.2.2 Résultats pour les di et tri-hydroxybenzènes avec LSIMS / MS	88
5.3 Conclusions.....	92
Chapitre 6: La radiolyse et la chimie induite par le bombardement	102
6.1 Étude des effets des matrices sur l'ionisation de l'acétal substitué PDM ...	103
6.1.1 But de l'étude	103
6.1.2 Résultats expérimentaux	103
6.1.3 Conclusions	111
6.2 Expérience sur les espèces réactives menant à la protonation	112
6.2.1 But de l'expérience	112
6.2.2 Résultats expérimentaux pour l' isomère cis de l'oxyde de stilbène, le résorcinol, le pyrogallol et le 1,3,5-tri-hydroxybenzène	113
6.2.3 Conclusions	118
Conclusions générales	125
Références	129

Liste des figures

Figure 1 :	Composantes d'un spectromètre de masse	2
Figure 2 :	Schématisation du procédé d'ionisation et de désorption FAB/LSIMS	11
Figure 3 :	Spectre de la région moléculaire du composé N-heptyle-ésérine	13
Figure 4 :	Perte d'un hydrure menant à un ion $[M-H]^+$	18
Figure 5 :	Perte d'un électron menant à un ion M^+	19
Figure 6 :	Appareil VG AutoSpec-Q utilisé pour l'étude LSIMS	26
Figure 7 :	Appareil Kratos MS50TC utilisé pour l'étude FAB	27
Figure 8 :	Appareil Finnigan MAT TSQ GCQ Ion Trap utilisé pour l'étude EI et CI	28
Figure 9 :	Appareil Finnigan MAT TSQ 700 triple quadrupôle utilisé pour l'étude ESI	29
Figure 10 :	Les acétals substitués avec divers groupes basiques	35
Figure 11 :	Les isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène	45

Figure 12 :	Spectres LSIMS des isomères (a) trans et (b) cis de l'oxyde de stilbène dans la matrice NBA après 30 secondes de bombardement et 3 minutes - 1M	47
Figure 13 :	Spectres EI des isomères (a) trans et (b) cis de l'oxyde de stilbène	50
Figure 14 :	Spectres CI des isomères (a) trans et (b) cis de l'oxyde de stilbène	52
Figure 15 :	Spectres ESI des isomères (a) trans et (b) cis de l'oxyde de stilbène	53
Figure 16 :	Spectres LSIMS-MIKES des isomères (a) trans et (b) cis après 30 secondes de bombardement et 3 minutes dans NBA - 1M	58
Figure 17 :	Spectres LSIMS-MIKES des isomères (a) trans et (b) cis après 30 secondes de bombardement et 3 minutes dans HPEA - 1M	59
Figure 18 :	Spectres LSIMS-MIKES des isomères (a) trans et (b) cis après 30 secondes de bombardement et 3 minutes dans HEDS - 1M	60
Figure 19 :	Spectres EI/MS/MS des isomères (a) trans et (b) cis de l'oxyde de stilbène	62
Figure 20 :	Spectres CI/MS/MS des isomères (a) trans et (b) cis de l'oxyde de stilbène	64
Figure 21 :	Spectres ESI/MS/MS des isomères (a) trans et (b) cis de l'oxyde de stilbène	65

Figure 22 :	Schéma des réorganisations structurales des isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène pendant le bombardement LSIMS	70
Figure 23 :	Spectres LSIMS-MIKES du (a) diphénylacétaldéhyde et du (b) déoxybenzoïne dans NBA - 1M	72
Figure 24 :	Phénols substitués utilisés pour l'étude en FAB	78
Figure 25 :	Phénols substitués utilisés pour l'étude en FAB	79
Figure 26 :	Rapports d'intensités relatives $M^+ / [M+H]^+$ pour les phénols substitués dans NBA - 1M	81
Figure 27 :	Spectres LSIMS négatifs des nitrophénols <i>ortho</i> , <i>méta</i> et <i>para</i> dans la matrice NBA - 1M	84
Figure 28 :	Spectres LSIMS-MIKES pour les di-hydroxybenzènes dans la matrice NBA - 1M	89
Figure 29 :	Spectres LSIMS-MIKES pour les tri-hydroxybenzènes dans la matrice NBA - 1M	91
Figure 30 :	Structures moléculaires ioniques du résorcinol et du 1,3,5-tri-hydroxybenzène	92
Figure 31 :	Structures moléculaires ioniques du catéchol et du pyrogallol	93
Figure 32 :	Structures moléculaires ioniques de l'hydroquinone et du 1,2,4-tri-hydroxybenzène	94

Figure 33 :	Spectres LSIMS-MIKES pour les <i>mé</i> ta et <i>para</i> -chlorophénols dans la matrice NBA - 1M	96
Figure 34 :	Formes structurales des <i>mé</i> ta et <i>para</i> -chlorophénols durant le bombardement LSIMS dans NBA - 1M	97
Figure 35 :	Formes structurales hypothétiques de l' <i>o</i> -chlorophénol et de l' <i>o</i> -nitrophénol durant le bombardement LSIMS	98
Figure 36 :	Rapport d'intensités relatives $[M-H]^+ / [M+H]^+$ avec le temps de bombardement pour PDM dans diverses matrices	104
Figure 37 :	Spectre LSIMS négatif de la matrice TDE	108
Figure 38 :	Spectre LSIMS négatif de la matrice MB	109
Figure 39 :	Spectre LSIMS négatif de la matrice HEDS	110
Figure 40 :	Rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ du résorcinol en fonction du temps de bombardement et du pourcentage molaire de Diéthanolamine dans le Thioglycérol - 1M	114
Figure 41 :	Rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ du pyrogallol en fonction du temps de bombardement et du pourcentage molaire de Diéthanolamine dans le Thioglycérol - 1M	115
Figure 42 :	Rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ du 1,3,5-tri-hydroxybenzène en fonction du temps de bombardement et du pourcentage molaire de Diéthanolamine dans le Thioglycérol - 1M	116

- Figure 43 : Rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ de l'oxyde de stilbène-cis en fonction du temps de bombardement et du pourcentage molaire de Diéthanolamine dans le NBA - 1M 117
- Figure 44 : Spectre LSIMS de la matrice NBA en mode négatif 120
- Figure 45 : Spectres LSIMS de l'oxyde de stilbène-cis après (a) 30 secs. de bombardement et (b) 3 min. dans NPOE - 1M 122

Liste des tableaux

Tableau 1:	Structures et masses moléculaires monoisotopiques des matrices utilisées pour l'étude en FAB et LSIMS	24
Tableau 2:	Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des acétals substitués en fonction du temps de bombardement dans HEDS	36
Tableau 3:	Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des acétals substitués en fonction du temps de bombardement dans NBA	37
Tableau 4:	Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des acétals substitués en fonction du temps de bombardement dans TDE	39
Tableau 5:	Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des acétals substitués en fonction du temps de bombardement dans MB	39
Tableau 6:	Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des acétals substitués en fonction du temps de bombardement dans GLY	40
Tableau 7:	Intensités relatives des pics de masse des isomères cis et trans de l'oxyde stilbène selon le temps de bombardement dans diverses matrices - 1M	46

Glossaire

AET	: 1,4-AnhydroEryThritol.			Électronébulisation.
B	: Champ magnétique.	eV	: Électronvolt.	
benz.	: Benzène.	FAB	: Fast Atom Bombardment ou	Bombardement d'Atomes Rapides.
CAD	: Collision Activated Dissociation ou			
	Dissociation Activée par Collision.	GC	: Gas Chromatography ou Chromatographie	gazeuse.
CH ₃	: Méthyle.	GLY	: Glycerol.	
CH ₄	: Méthane.	[(Gly+H) _n - H] ⁺	: Cation d'agglomérats de Glycérol.	
-CH ₂ OH	: Substituant méthanol.	h	: Constantes de Plank.	
·CH ₂ OH	: Radical α-hydroxyle.	H	: Hydrogène atomique.	
CI	: Chemical Ionization ou Ionisation	H ⁺	: Proton.	
	Chimique.	H ⁻	: Anion hydrure.	
CID	: Collision Induced Dissociation ou	HBSA	: para-HydroxyBenzeneSulfonic Acid.	
	Dissociation activée par collision.	HEDS	: 2-HydroxyEthylDisulfideAlcohol.	
Cl	: Chlore atomique.	HPEA	: 2-HydroxyPhenEthylAlcohol.	
-COOH	: Substituant acétate.	[I(Csl) _n] ⁻	: Anion d'agglomérats d'Iodure de Césium.	
Cs ⁺	: Ion Césium.	k	: Constante de vitesse.	
[Cs(Csl) _n] ⁺	: Cation d'agglomérats d'Iodure de Césium.	keV	: Kiloélectronvolt.	
D ⁻	: Anion Deutérium.	kV	: Kilovolt.	
DEA	: DiEthanolAmine.	λ	: Longueur d'onde associée à la particule	d'impact.
DMBA	: DiMethoxyBenzylAlcohol.	LSIMS	: Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry	ou Spectrométrie de masse d'Ions
e ⁻	: électron.			Secondaires assistée par matrice Liquide.
E	: Champ électrostatique.	m	: masse.	
Ecs+	: Énergie d'impact d'un atome de Césium	m	: méta.	
EI	: Electron Ionization ou Ionisation par	M	: Concentration Molaire.	
	Impact Électronique.	M ⁺	: Cation radical moléculaire de l'analyte.	
E _K	: Énergie cinétique de l'atome de Césium			
ESI	: Electrospray Ionization ou Ionisation par			

M [•]	: radical moléculaire de l'analyte.	NH ₄ ⁺	: Ion Ammonium.
mA	: Milliampère.	NO ₂	: Nitro.
MB	: <i>Magic Bullet</i> .	φ-NO ₂	: Nitrobenzène.
[M-CHO] ⁺	: Cation issu d'une perte d'aldéhyde.	φ-NO ₂ ^{•-}	: Radical anion nitrobenzène.
[M-CO] ⁺	: Cation issu d'une perte d'un carbonyle.	NPOE	: <i>NitroPhenylOctylEther</i> .
m _{Cs+}	: Masse de l'ion Césium.	o	: <i>ortho</i> .
[M-HCl] ⁺	: Cation issu d'une perte de chlorhydrate.	OCH ₃	: Méthoxyle.
[M-D] ⁺	: Cation pseudo-moléculaire de l'analyte dédeutéié.	OH	: Hydroxyle.
[M-H] ⁺	: Cation pseudo-moléculaire de l'analyte déhydruré.	p	: <i>para</i> .
[M+H] ⁺	: Cation pseudo-moléculaire de l'analyte protoné.	q	: Lentille quadripolaire.
[M+nH, n ≥ 1] ⁺	: Cation pseudo-moléculaire de l'analyte réduit.	Q	: Analyseur de masse quadripolaire.
[M+H] ⁺ / M ⁺	: Rapport d'intensités relatives.	R [•]	: Radical.
[M-H ₂ O] ⁺	: Cation de l'analyte déshydraté.	RS [•]	: Radical thiyl.
MIKES	: <i>Mass-analyzed Ion Kinetic Energy Spectroscopy</i> .	RS ⁻	: Thiolate.
min	: Minute.	RSH	: Thiol.
mL	: Millilitre.	RSR	: sulfure.
mm	: Millimètre.	RSSR	: Disulfure.
MS	: <i>Mass Spectrometry</i> ou Spectrométrie de masse.	RSSR ^{•-}	: Radical anion disulfure.
MS/MS	: <i>Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i> ou Spectrométrie de masse en tandem.	secs.	: Secondes.
m/z	: Rapport de la masse "m" et de la charge "z" d'un ion-analyte.	SIMS	: <i>Secondary Ion Mass Spectrometry</i> ou Spectrométrie de masse d'ion Secondaires.
Na ⁺	: Ion Sodium.	TDE	: <i>ThioDiEthanol</i> .
NBA	: <i>3-NitroBenzylAlcohol</i> .	TG	: <i>ThioGlycerol</i> .
		μL	: Microlitre.
		v	: Volume.
		V	: Volt.
		V _{Cs+}	: Vitesse d'impact du césium.
		Xe ^o	: Xénon atomique.
		Xe ⁺	: Ion Xénon.

Remerciements

À Michel J. Bertrand, pour sa patience unique, son sens du respect et pour les nombreuses heures qu'il a allouées à mes réflexions.

À mes parents spécialement, Berthe et Julien, qui m'ont toujours secondé dans mes projets rocambolesques.

À Nathalie, ma douce complice des cimes étoilées, cette grande conquérante des contrées éloignées qui, faute de ressources pour voyager, m'a accompagné pour explorer l'univers de la pensée.

À Christine et Marcel qui m'ont supporté plus d'une fois au travers les moments difficiles.

À Mustapha Harraj, pour sa patience, ses conseils professionnels et personnels, et surtout pour l'amitié.

À Pascal Proulx, Sophie Depadova, Isabelle Marcotte, Caroline Paris, Louise Noreau, Tatiana Rendon et Catherine Lavallée pour des relations de travail amicales, agréables et sans aucun doute incomparables, comme cela aurait dû et devrait toujours être dans le milieu.

À Mike Evans, ce grand druide de la spectrométrie de masse qui chasse les démons hors des appareils.

À Gary J. C. Paul, pour m'avoir appris que parfois, seule l'initiative compte pour arriver à nos fins.

À Martine Allard, pour m'avoir initié au domaine de la spectrométrie de masse.

INTRODUCTION

Le début du 20^{ème} siècle ayant été riche dans l'élaboration d'hypothèses en sciences fondamentales, il était nécessaire de vérifier celles-ci en élaborant des expériences justificatrices. C'est dans une telle optique que l'analyse de faisceaux positifs fut effectuée par Thomson pour démontrer l'existence de formes isotopiques de certains éléments stables [1]. Les éléments stables et leurs isotopes, formant le faisceau d'ions positifs en question, furent séparés par déviation à l'aide d'un champ magnétique portant une discrimination sur les différents rapports masse/charge (m/z) des ions respectifs. Ainsi naquit la spectrométrie de masse, une idée qui reçut, quelques années plus tard, l'attention d'autres chercheurs, Aston [2] et Dempster [3], qui réussirent respectivement à faire la première détermination précise de masses d'ions et de leur abondance.

De nos jours, la spectrométrie de masse est probablement la méthode analytique la plus applicable de toutes dû au fait que la technique peut offrir une vaste gamme d'informations utiles au chimiste. Par exemple, on peut obtenir la composition qualitative et quantitative de composés inorganiques ou organiques provenant de mélanges complexes. Aussi, on peut souvent déterminer les structures des analytes ou du moins leurs fonctions chimiques. De plus, on peut déterminer les rapports isotopiques et même les structures de surfaces solides [4].

Habituellement, les données obtenues de l'analyse par spectrométrie de masse sont faciles à interpréter, le spectre de masse montrant un pic moléculaire dont le rapport m/z correspond à la masse moléculaire de l'analyte. Toutefois, le pic moléculaire est parfois accompagné ou dominé par des pics pseudo-moléculaires correspondant à une fragmentation ou à un ajout d'atome(s). Cela peut compliquer l'analyse pour les expérimentateurs non-avertis puisque ce genre de résultat laisse présager des masses moléculaires inférieures ou supérieures à la réalité. Tout de même, l'interprétation des résultats est de loin plus facile que l'élaboration des principes instrumentaux. C'est pourquoi la description des composantes majeures d'un spectromètre de masse et de leurs fonctions ne sont que brièvement décrites à l'aide du schéma bloc de la Figure 1.

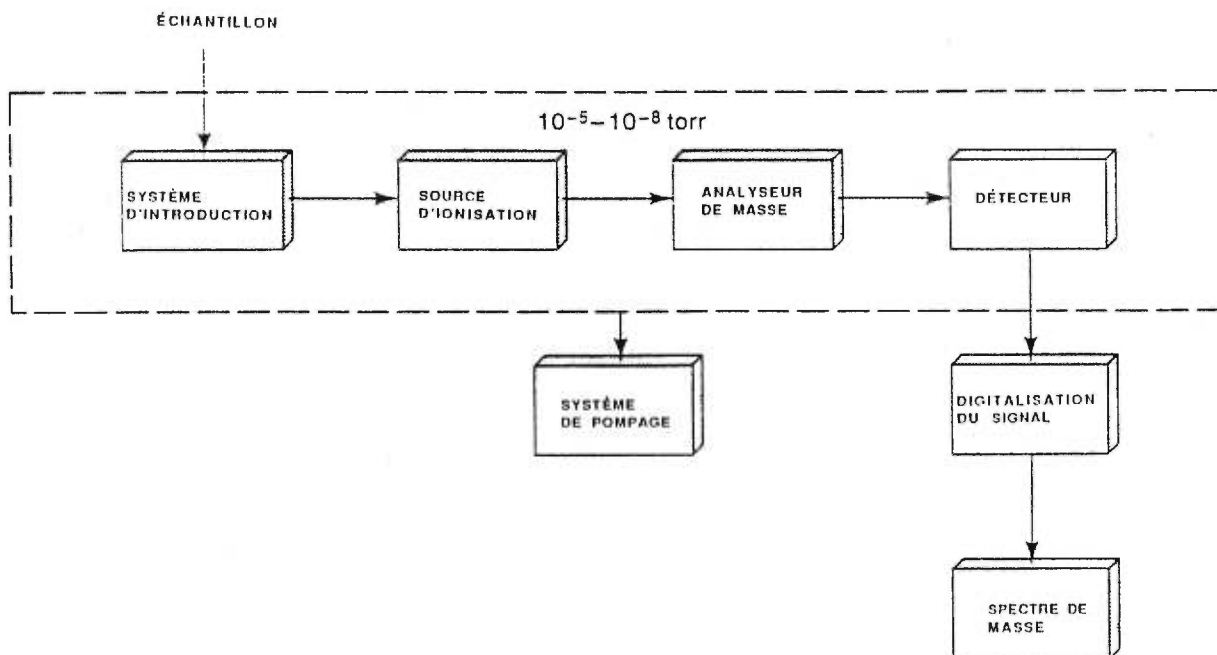


Figure 1 : Composantes d'un spectromètre de masse

Le système d'introduction permet à l'analyte d'entrer en très petite quantité dans la zone de la source d'ionisation. Cette dernière convertit les analytes neutres en ions positifs ou négatifs en les bombardant avec des électrons, des atomes, des ions, des molécules ou des photons, selon le type de source d'ionisation utilisée. Les ions produits sont ensuite accélérés vers l'analyseur de masse grâce à un gradient de potentiel à la sortie de la source d'ionisation. La fonction de l'analyseur de masse est de séparer ces ions de haute vitesse selon leur rapport, masse sur charge (m/z) si c'est un secteur magnétique, ou énergie cinétique sur charge si c'est un secteur électrostatique. L'analyseur classique est un secteur magnétique combiné en série à un secteur électrostatique, tel que décrit à la section 2.2.1, mais jusqu'à aujourd'hui plusieurs types d'analyseurs ont été développés. Il y a entre autres ceux de types quadripolaire, à temps d'envol, à trappe ionique et ceux à résonance cyclotronique/transformée de Fourier [5]. Peu importe le type d'analyseur de masse utilisé, une fois que la séparation des ions est effectuée, leur abondance est mesurée, selon les différents rapports m/z , par un détecteur qui convertit le faisceau d'ions en un courant électrique qui peut être digitalisé puis enregistré. Cette information est finalement traduite en spectre de masse.

Un des principaux fondements dans l'analyse de composés organiques par spectrométrie de masse réside dans la production d'ions à partir d'analytes neutres. Ainsi, plusieurs types de sources d'ionisation ont vu le jour pour combler cette nécessité. Parmi les plus populaires jusqu'à maintenant, on peut citer l'ionisation par Électrons (*Electron Ionization - EI*) qui permet de soustraire un ou plusieurs électrons d'un analyte dans la phase gazeuse grâce au champ électrique perturbateur d'un électron excité

(70eV) produit dans la source; l'Ionisation Chimique (*Chemical Ionization - CI*) qui permet de protoner l'analyte dans la phase gazeuse grâce à des espèces hyperacides créées dans la source; l'Électronébulisation (*Electrospray Ionization - ESI*) qui permet de protoner l'analyte en phase condensée selon des phénomènes d'équilibres en solution et finalement l'Ionisation par Bombardement d'Atomes Rapides (*Fast Atom Bombardment - FAB*¹) qui permet de générer des ions de plusieurs types tels $[M-H]^+$, M^+ et $[M+H]^+$ entre autres. Le procédé global de ce type d'ionisation n'est toutefois pas encore connu et justement, le but de la présente étude est d'en éclaircir plusieurs aspects.

Pour cette étude, deux grandes influences agissant apparemment sur l'ionisation des analytes en FAB/LSIMS ont été étudiées, soient l'influence des structures des analytes et l'influence de la contribution des matrices liquides. Les chapitres 3-5 traitent de l'influence des structures des analytes sur l'ionisation FAB/LSIMS pour trois types de composés. Premièrement, la substitution d'un acétal cyclique élémentaire avec divers groupes basiques a été étudiée. Cela avait pour but de déterminer l'influence de l'accroissement de la basicité sur les processus d'ionisation en FAB / LSIMS. Particulièrement ceux qui mènent à la création apparemment compétitive des ions $[M-H]^+$ et $[M+H]^+$. Ces ions sont issus respectivement de la perte d'hydrure et de la protonation (Chap. 3). Deuxièmement, des composés de type époxydes substitués, soient les

¹ La technique de spectrométrie de masse d'ions secondaires assistée par matrice liquide (*Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry - LSIMS*) est considérée comme équivalente à FAB.

isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène, ont été analysés dans le but de recueillir de l'information sur les processus d'ionisation permettant la création simultanée d'ions $[M-H]^+$, $[M+H]^+$ et M^+ ; ce dernier type d'ion étant issu de la perte d'un électron. Aussi, il fut espéré de pouvoir vérifier les hypothèses en relation avec la création compétitive d'ions $[M-H]^+$ vs. $[M+H]^+$ en étendant l'étude à d'autres types compétitifs de formations d'ions, soient celles de M^+ et $[M+H]^+$ pour le cas des isomères époxydes (Chap.4). De plus, une comparaison entre les résultats obtenus avec la technique LSIMS et les techniques d'ionisation EI, CI et ESI a été effectuée dans le but de tenter d'expliquer un phénomène anormal observé en LSIMS pour ces mêmes isomères. Ce phénomène anormal, "l'effet-temps", est caractérisé par des variations opposées des intensités relatives d'ions dans la région moléculaire des spectres durant le bombardement des échantillons. D'une manière plus générale, ce phénomène a été décrit comme une augmentation du rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ avec le temps d'irradiation. Finalement, pour terminer l'étude de l'influence des structures des analytes sur l'ionisation FAB/LSIMS, des phénols substitués ont été étudiés. Cette étude avait pour objet de déterminer l'effet qu'aurait le type et la position de divers substituants sur les diverses voies d'ionisation possibles en FAB (Chap. 5). Ainsi, on espérait pouvoir déterminer des tendances menant à la perte d'électrons et/ou à la protonation afin de mieux comprendre les facteurs contrôlant ces deux processus d'ionisation en FAB. Le chapitre 6 a été consacré exclusivement à l'étude de la chimie des matrices induite par le bombardement des échantillons. Pour commencer, un effet-temps obtenu pour un des acétals substitués dans diverses matrices, semblable à celui obtenu pour les isomères de l'oxyde de stilbène, a été étudié en parallèle avec des données tirées de la littérature sur la

radiolyse. Ce type d'étude a ensuite été poursuivi pour expliquer, dans un aspect complémentaire à celui abordé au Chapitre 4, l'effet-temps observé pour les isomères de l'oxyde de stilbène; ce genre d'effet-temps a aussi été observé pour d'autres composés tels le résorcinol, le pyrogallol et le 1,3,5-trihydroxybenzène.

Globalement, pour les trois classes de composés, il s'agissait de recueillir les résultats en FAB/LSIMS, de les comparer parfois avec des résultats provenant d'autres types d'ionisation, de tenter de découvrir des phénomènes particuliers qui auraient pu aider à caractériser le mécanisme d'ionisation en FAB / LSIMS, de tenter de définir la chimie des matrices sous irradiation et de créer de nouvelles expériences-clés permettant de vérifier les hypothèses émises relativement au mécanisme d'ionisation en FAB / LSIMS. Certaines de ces expériences-clés ont d'ailleurs permis d'établir de nouvelles similarités entre la radiolyse et les techniques d'ionisations FAB/LSIMS, une caractéristique dont l'exploration a permis précédemment de définir les principes d'un mécanisme de réduction en FAB/LSIMS, soit la déshalogénéation de composés organiques [6,7]. De plus, l'utilisation de la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) s'est avérée être un outil particulièrement puissant dans la détermination des formes structurales des ions stabilisés et désorbés grâce à la technique LSIMS. Cela a permis d'envisager les raisons pour lesquelles différents types d'ionisation sont observés pour un même composé dans différentes matrices ou pour des isomères dans une même matrice.

CHAPITRE 1

Les principes expérimentaux et théoriques des techniques

FAB et LSIMS

1.1 Un bref historique des techniques FAB et LSIMS.

Jusqu'à la fin des années 70, la spectrométrie de masse offrait des techniques d'ionisation comme l'ionisation par Électrons (EI) et l'ionisation Chimique (CI). L'ionisation par Électrons permettait en général de retirer un électron d'un analyte, ce qui résultait en la formation d'ions M^+ . Cependant, cette technique d'ionisation, dite dure, engendrait souvent beaucoup de fragmentation due à l'excès d'énergie transféré à l'analyte par les électrons hautement énergétiques (70eV) issus de la source. Il en résultait alors un pic de masse moléculaire faible en intensité relative dans les spectres de masses EI. Évidemment, cela compliquait jusqu'à un certain point la détermination qualitative et quantitative de certains analytes. L'avènement subséquent de l'ionisation Chimique semblait pouvoir remédier à ce genre de situation grâce à un processus d'ionisation "doux" par lequel les analytes étaient ionisés au moyen de réactions ions-molécules déposant beaucoup moins d'énergie dans les analytes. Ainsi, pour les cas où l'ionisation par Électrons échouait, on pouvait obtenir de l'information sur la masse moléculaire, sans fragmentation extrême, grâce à la création d'un pic de masse pseudo-

moléculaire apparenté à l'ion $[M+H]^+$ qui est thermodynamiquement plus stable qu'un ion M^+ . Cependant, les techniques EI et CI n'offraient pas la possibilité d'analyser les composés thermolabiles qui se décomposaient durant le processus de volatilisation nécessaire à l'utilisation de ces techniques [5].

Vers 1982, l'équipe de recherche du professeur Barber a finalement remédié aux problèmes engendrés par l'impossibilité d'analyser les composés thermolabiles en EI et CI. Les chercheurs créèrent une nouvelle technique permettant d'ioniser ce type de substance sans avoir recours à une volatilisation préalable. La base de leur principe avait été empruntée à Benninghoven, qui avait analysé des molécules organiques de masses moléculaires élevées en utilisant une technique appelée *SIMS-Secondary Ion Mass Spectrometry* (Spectrométrie de masse d'ions secondaires). L'analyse d'ions secondaires était effectuée lorsque ceux-ci étaient désorbés d'une surface solide par bombardement avec un faisceau d'ions primaires de haute énergie [8]. Cependant cette technique n'était pas réputée pour avoir une grande sensibilité; une augmentation de l'énergie du faisceau primaire donnait trop de fragmentation et une diminution menait inévitablement à une perte de sensibilité. Toutefois, on découvrit plus tard que l'utilisation d'une matrice de nitrocellulose permettait d'augmenter la sensibilité et la longévité du signal d'ions secondaires [9]. C'est suite à cette découverte que l'équipe du professeur Barber proposa d'utiliser une matrice de Glycérol, qui permettait de renouveler l'apport d'analyte à la surface de l'échantillon soumis au bombardement. Cela donnait la possibilité d'éliminer en partie les dommages en surface normalement engendrés par le bombardement d'échantillons secs et aussi la possibilité d'utiliser un

faisceau primaire plus énergétique menant à une meilleure sensibilité. Ainsi est née la technique de désorption et d'ionisation par bombardement d'atomes rapides, mieux connue sous l'acronyme *FAB - Fast Atom Bombardment*. Cette nouvelle technique permettait d'analyser par spectrométrie de masse, des composés de poids moléculaires beaucoup plus élevés que ne permettait les anciennes techniques [10]. Plus tard est née, pour des raisons d'optimisations instrumentales, la technique de spectrométrie de masse d'ions secondaires assistée par matrice liquide, soit le *LSIMS-Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry*. Cette technique est, à toutes fins pratiques, la même chose que le FAB, les résultats obtenus des deux techniques divergeant que très rarement [5].

1.2. Principes instrumentaux d'ionisation et de désorption en FAB/LSIMS.

Le principe de la désorption et de l'ionisation en FAB/LSIMS est basée sur le bombardement, avec des atomes/ions rapides, d'un échantillon de matrice liquide et visqueuse dans laquelle est dissous un analyte, tel qu'illustré à la figure 2. Un faisceau de particules énergétiques est dirigé vers l'extrémité d'une sonde d'insertion sur laquelle un échantillon de matrice est étendu (Figure 2a). L'utilisation d'ions (LSIMS) ou d'atomes neutres (FAB) pour le bombardement n'a apparemment aucune influence sur l'intensité ou la durée du faisceau secondaire si on compare les deux faisceaux caractéristiques avec la même énergie d'impact. Habituellement, les mêmes spectres de masses sont obtenus en FAB et en LSIMS. Par contre, un changement dans la masse des particules d'impact affecte le rendement du faisceau secondaire. En général, celui-ci est intensifié

par l'utilisation de particules plus massives, par exemple en utilisant le Xénon au lieu de l'Argon qui lui-même est plus efficace que le Néon. Peu importe le type de particules d'impact utilisées, leur collision avec la surface de la matrice crée une chaîne collisionnelle jusqu'à une certaine profondeur, c'est ce qu'on appelle "la cascade radiative" (Figure 2b). De multiples phénomènes thermiques et énergétiques en sont les conséquences. Jusqu'à maintenant, on croit que l'impact du faisceau primaire sur la surface de la matrice crée une pointe thermique. Cela aurait pour conséquence d'occasionner un réchauffement rapide qui mènerait à une transition explosive de la phase condensée vers un plasma dense, puis jusqu'à un état où les molécules de matrices et d'analytes seraient libérées les unes des autres (Figure 2c). Il faut noter toutefois que l'expansion rapide caractérisant la transition explosive pourrait aussi amener un refroidissement de la surface de l'échantillon, ce qui peut expliquer la stabilité des molécules thermolabiles durant le bombardement. On rapporte d'ailleurs qu'il faudrait des réactions unimoléculaires extrêmement rapides ($k > 10^{11} \text{ s}^{-1}$), dans les régions les plus chaudes de l'expansion thermique, pour pouvoir observer une fragmentation importante. De plus, il est reconnu aujourd'hui que la cascade radiative agit aussi à une profondeur excédant la zone de désorption. Conséquemment, il est probable qu'une chimie en phase condensée soit initiée le long des chaînes collisionnelles de la cascade radiative dans les profondeurs de la matrice (Figure 2d). Il en résulterait une accumulation d'espèces réactives ou d'analytes ionisés à l'intérieur même de la matrice. Au long de l'érosion des couches de la matrice, les ions, produits par le procédé et accédant à la surface, pourraient finalement être désorbés et accélérés hors de la source pour être dirigés vers l'analyseur de masse (Figure 2a) [5].

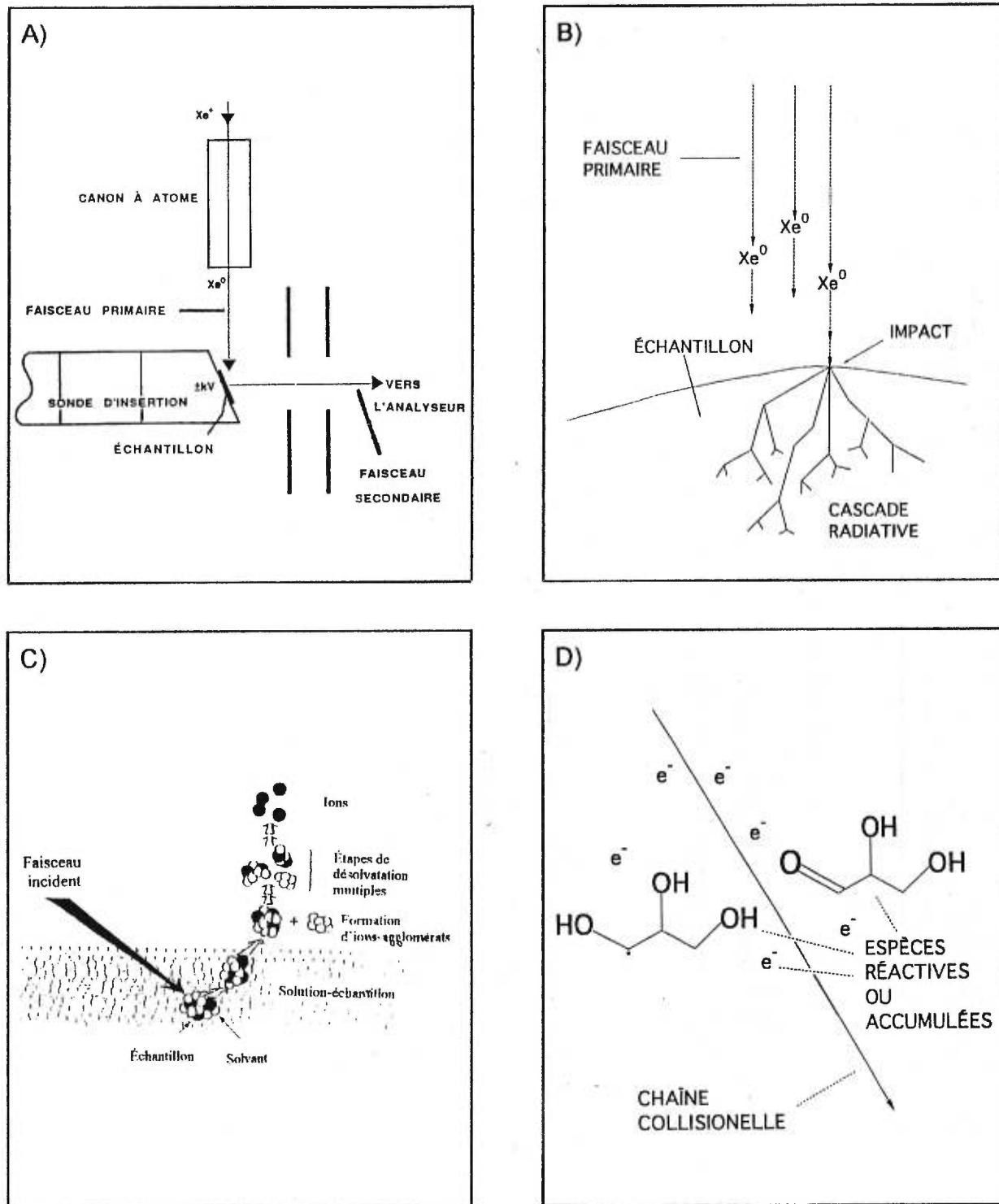


Figure 2: Schématisation du procédé d'ionisation et de désorption FAB/LSIMS.

Lorsqu'un échantillon sec est déposé sur la sonde d'insertion puis soumis au bombardement, il s'ensuit un décroissement rapide du faisceau secondaire d'ions moléculaires. Ce problème est dû aux dommages créés en surface par le faisceau primaire. Toutefois, ce phénomène est enrayé grâce à l'utilisation de la matrice dont l'érosion des couches, pendant le bombardement, permet de fournir un renouvellement continu de la surface de l'échantillon. Par conséquent, la désorption de la surface élimine les dommages occasionnés par le faisceau primaire et une portion fraîche d'analyte est constamment soumise au bombardement. Grâce à cela, le faisceau d'ions secondaires peut être assez intense et maintenu pendant plusieurs minutes pour permettre l'utilisation d'un analyseur de masses à balayages multiples. De nos jours, ces avantages font que les techniques FAB et LSIMS sont des méthodes standards pour l'analyse de molécules thermolabiles de masses moléculaires pouvant aller jusqu'à 24 000 daltons [5].

1.3 Les principes fondamentaux de l'ionisation FAB/LSIMS.

Jusqu'à nos jours, il n'y a pas eu d'entente générale concernant un schéma global pouvant définir le mécanisme d'ionisation en FAB/LSIMS. D'ailleurs, le débat concernant les aspects fondamentaux de l'ionisation avec ces techniques a généré de nombreux travaux. De ceux-ci ont été suggérés divers modèles impliquant la phase vapeur [11-18], la phase condensée avant ou pendant le bombardement [19-29] ou même une combinaison de tous ces modèles [30]. La plus importante stratégie pour tenter d'obtenir un aperçu du mécanisme d'ionisation FAB/LSIMS a été de déterminer les origines des

ions $[M-H]^+$, M^+ et $[M+nH, n \geq 1]^+$; ceux-ci étant respectivement en relation avec la perte d'un hydrure, la perte d'un électron et la protonation/réduction [11-40].

En général, les résultats obtenus en FAB/LSIMS montrent un pic de masse intense à la position "m/z" correspondant à une unité de masse supérieure à la masse moléculaire de l'analyte, ce pic étant relatif à l'ion $[M+H]^+$, le plus observé en FAB/LSIMS. Par-contre, il advient en plusieurs occasions que des pics de masse, dits "anormaux", apparaissent sur les spectres de masses. Ces pics sont situés aux positions "m/z" correspondant soit à une unité de masse inférieure à la masse moléculaire de l'analyte, soit à la masse moléculaire même de l'analyte ou encore à 2 ou 3 unités de masses supérieures à la masse moléculaire de l'analyte. Ces pics "anormaux" correspondent respectivement aux ions $[M-H]^+$, M^+ , $[M+2H]^+$ et $[M+3H]^+$. Souvent, il en résulte que plusieurs de ces pics de masse apparaissent dans la région moléculaire des spectres FAB/LSIMS et la détermination de la masse moléculaire des analytes devient alors compliquée. Dans certains cas extrêmes, le ou les pics de masse "anormaux" dominant en intensité dans le spectre, rendant ainsi la détermination de la masse moléculaire encore plus difficile. Le spectre ci-dessous, tiré de la littérature, illustre bien le problème [47].

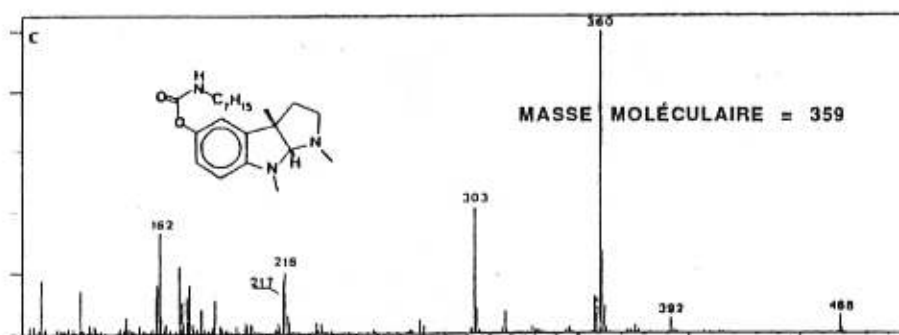


Figure 3: Spectre de la région moléculaire du composé N-heptyle-ésérine.

Il en ressort que la rationalisation des processus d'ionisation impliqués en FAB/LSIMS devient essentielle dans le but d'éviter des interprétations analytiques erronées. De plus, l'information acquise sur la formation d'ions anormaux, avec ces techniques, peut être indirectement reliée au phénomène d'ionisation normalement observé, soit la protonation. Cela, dans l'unique but d'optimiser les conditions d'analyses en FAB/LSIMS.

1.3.1 L'ionisation en phase vapeur et en phase condensée.

Au coeur du débat entourant le mécanisme d'ionisation en FAB/LSIMS se trouvent les questions concernant l'emplacement prédominant où l'ionisation des analytes pourrait se produire : Est-ce dans la phase vapeur ou dans la phase condensée? Puis, dans une optique plus particulière, si l'ionisation se fait dans la phase condensée, est-ce que celle-ci est induite par le bombardement ou est-elle simplement le fruit de processus d'équilibres en solution avant le bombardement? Par le passé, plusieurs expériences-clés ont été effectuées pour tenter de répondre à ces questions. Le plus souvent, l'information sur les processus d'ionisation menant aux ions anormaux en FAB/LSIMS a été obtenue en comparant ces techniques avec d'autres techniques d'ionisation telles que l'ionisation par Électron (EI), l'ionisation chimique (CI), l'Électronébulisation (ESI) et FAB en phase gazeuse (Gaz Phase FAB) [26,29,40-42]. Ce genre de comparaison a été effectué entre autres avec des composés tels que des acétals cycliques, des dérivés de monosaccharides et un triamine, le perhydro-3a,6a,9a-triazaphénalène, tous donnant des ions $[M-H]^+$ en LSIMS et des ions $[M+H]^+$ en CI [26,29]. La comparaison des données thermodynamiques relatives aux affinités hydriques des espèces réactives en

CI et en FAB/LSIMS ont permis de démontrer que l'ionisation FAB/LSIMS n'était d'aucune manière reliée à un processus en phase gazeuse de type CI. Les affinités hydriques des espèces réactives en CI étaient supérieures aux affinités hydriques des espèces réactives proposées pour un mécanisme FAB/LSIMS en phase gazeuse et pourtant, des tendances opposées à ces données ont été observées dans les spectres. Le pic de masse de l'ion $[M+H]^+$ dominait en CI alors que c'était celui du pic $[M-H]^+$ en FAB/LSIMS. Dans une optique alternative, il a été proposé qualitativement que la formation dominante d'ions $[M-H]^+$ par rapport à $[M+H]^+$ en FAB/LSIMS puisse être expliquée par les différentes énergies de solvation des états de transition menant à ces ions durant le procédé [25,27,28]. Globalement, l'hypothèse d'un modèle d'ionisation en phase condensée semblait plus adéquate que celle d'un modèle en phase gazeuse pour expliquer la dominance de la perte d'hydrure par rapport à la protonation pour ces analytes en FAB/LSIMS.

D'autres résultats obtenus pour des expériences en EI et ESI ont permis d'appuyer davantage l'hypothèse d'une ionisation en phase condensée induite par le bombardement en FAB/LSIMS [25-29]. Les spectres EI ont montré, pour les mêmes composés cités plus haut, des pics correspondants aux ions $[M-H]^+$, comme en FAB/LSIMS. Cependant, des examens plus approfondis en EI avec spectrométrie de masse en tandem "MIKES" ont démontré que les ions $[M-H]^+$ provenaient en fait d'une perte de H \cdot à partir des ions M^+ alors que ce n'était pas le cas en LSIMS avec tandem MIKES. De cette manière, il a été impossible de caractériser les techniques FAB/LSIMS en termes de mécanismes d'ionisation de type "EI" en phase gazeuse [26]. Quant aux

résultats obtenus par ESI pour les mêmes composés, les spectres ont toujours montré un pic $[M+H]^+$ dominant alors qu'aucun ne correspondait aux ions $[M-H]^+$ et M^+ , contrairement aux spectres obtenus par FAB/LSIMS [27-29]. Puisque les spectres ESI pourraient être reconnus comme étant le reflet de l'ionisation issue de l'équilibre existant entre toutes les espèces en solution [43-46], il a été impossible de relier le mécanisme d'ionisation FAB/LSIMS à un procédé d'équilibre en solution avant le bombardement [27-29]. D'autres expériences ont été effectuées avec les techniques CI et le FAB en phase gazeuse pour des analytes dont on obtient des ions M^+ et $[M+H]^+$ en FAB/LSIMS. Il a été conclu qu'il était impossible d'apparenter la formation des ions moléculaires en FAB/LSIMS avec des réactions telles que l'échange de protons en phase gazeuse et la perte d'électrons par collision faisceau primaire/analyte dans la phase gazeuse. Les auteurs ont basé leurs arguments sur le fait que les fragmentations des mêmes types d'ions produits par toutes ces techniques étaient trop différentes pour pouvoir prétendre que les procédés d'ionisations étaient similaires l'un à l'autre [40,42]

Dans le but d'appuyer davantage l'hypothèse d'une ionisation FAB/LSIMS en phase condensée, l'aspect cinétique de l'ionisation dans la phase condensée sous bombardement a été étudié [26,28]. Des résultats ont démontré qu'un changement de l'activité de surface d'un acétal deutéré contribuait à créer un effet-temps : Une variation substantielle des rapports d'intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des spectres des analytes. Ainsi, en modifiant la longueur d'une chaîne alkyle substituante, apposée sur la structure de base de l'acétal deutéré, on arrivait à favoriser la variation du rapport d'intensités relatives $[M-D]^+ / [M+H]^+$; l'augmentation était

d'autant plus forte à mesure que l'activité de surface était moindre. Pour expliquer cela, les auteurs ont proposé que les analytes étaient plus assujettis à la perte d'hydrure dans la *région* où des espèces réactives dé-hydrurantes, créées par le bombardement, pourraient être accumulées. Cette *région* d'accumulation serait en fait la surface de l'échantillon. Alors, une accessibilité accrue à cette région, engendrée par une surfactance supérieure, était considérée comme un facteur favorable envers la perte d'un deutérium par rapport à la protonation. En accord avec ce principe, une accessibilité à la surface uniquement causée par l'érosion de la matrice pendant le bombardement aurait permis d'augmenter, dans le temps, la formation d'ion $[M-D]^+$ à la surface de l'échantillon pour les analytes moins surfactants. Cette hypothèse expliquerait l'effet-temps observé. Toutefois, il a été ajouté que la deutération du site de perte hydrique des analytes pourrait autant avoir contribué à ralentir le procédé de perte. Ainsi, un tel phénomène aurait aussi pu créer l'effet-temps. Cela fut interprété en terme d'un effet cinétique provenant de l'isotope : Le taux de perte d'un D^- est normalement plus lent que celui d'un H^- [26].

Malgré le fait que les expériences citées jusqu'à maintenant n'ont pas permis de clore le débat sur l'ionisation FAB/LSIMS, il en est ressorti un argument important : Les structures des analytes pourraient avoir une influence importante dans le processus d'ionisation FAB/LSIMS. Cela est évoqué dans le sens qu'il pourrait être possible de prévoir le(s) type(s) d'ion(s) à obtenir selon les caractéristiques structurales des analytes.

1.3.2 Influence de la structure des analytes.

Les origines de la formation d'ions $[M-H]^+$ ont été grandement explorées et cela, a priori, grâce à une connaissance des caractéristiques structurales favorisant ce type d'ionisation. On croit que les ions $[M-H]^+$ sont favorablement créés avec des analytes dont la charge issue de la perte de l'hydrure serait stabilisée par une résonance permise grâce à des noyaux aromatiques et/ou des doublets d'électrons libres avoisinant le site de perte (Figure 4). Ce fut le cas des composés dont il était question à la section 1.3.1 [26,28]. On indique également qu'un oxygène d'une fonction "éther" est un élément-clé dans la formation d'ions de types $[M-H]^+$ [34].

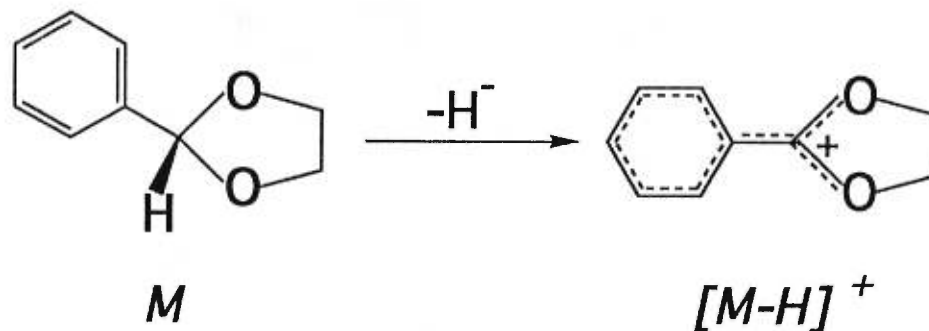


Figure 4: Perte d'un hydrure menant à un ion $[M-H]^+$.

Dans le but de savoir si le mécanisme d'ionisation en phase condensée, suggéré pour la formation de l'ion $[M-H]^+$ en FAB/LSIMS, est en effet valable pour la majorité des analytes, il est important de vérifier si d'autres procédés d'ionisation menant à des ions anormaux peuvent être expliqués de la même façon. Tel que mentionné auparavant, un autre ion anormal est parfois observé dans la région moléculaire des spectres FAB/LSIMS, soit l'ion M^+ issu de la perte d'un électron. Le procédé menant à cet ion

est schématisé ci-dessous [12,13,38,40,42,47-58]. Ce type d'ion est normalement observé avec les analytes contenant un réseau de liaisons π -conjuguées, comme les noyaux aromatiques [13,48-54].

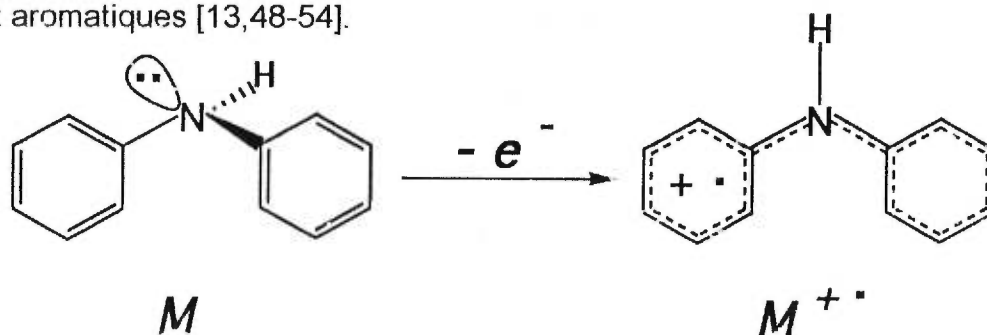


Figure 5: Perte d'un électron menant à un ion $M^{+\bullet}$.

La perte d'un électron pourrait être un résultat directement relié aux faibles énergies d'ionisation ainsi qu'à la stabilisation par résonance de l'énergie de perte sur le réseau conjugué. De plus, il a souvent été observé que la formation apparemment compétitive des ions $M^{+\bullet}$ et $[M+H]^+$ pourrait probablement être influencée par des substituants attachés aux noyaux aromatiques [41,48,50,53]. Il semble que les substituants attracteurs d'électrons ne sont pas favorables à la formation de $M^{+\bullet}$ dû au fait qu'ils augmentent l'énergie d'ionisation en retirant partiellement les électrons du noyau. Quant aux substituants électrodonneurs, ils créent l'effet contraire. De plus, si ces substituants sont basiques (électro-attracteurs ou donneurs), on croit qu'ils peuvent nettement favoriser la protonation et conséquemment la formation d'ions $[M+H]^+$. Par contre, le fait que les électrons des systèmes π peuvent être promus à des niveaux énergétiques plus ou moins élevés par des substituants ne détermine pas pour autant quel phénomène est favorisé entre la protonation et la perte d'un électron. Cela est dû au fait que, dans les deux cas, la disponibilité des électrons est impliquée. Par cela, on ne comprend pas

encore comment des analytes aromatiques substitués pourraient nous permettre de prévoir un résultat spécifique en termes d'intensités relatives des pics M^+ vs. $[M+H]^+$ en FAB/LSIMS.

1.3.3 Contributions des matrices.

Les caractéristiques structurales des analytes ne sont certainement pas les seuls facteurs contributifs à la formation d'ions. L'influence des matrices utilisées pour dissoudre les analytes a aussi souvent été évoquée pour expliquer les différents pics de masse observés dans la région moléculaire des spectres FAB/LSIMS [6,33,37-39,56,57,59-61]. De telles contributions sont reconnues pour être en relation avec des groupes particuliers de matrices favorisant des voies spécifiques d'ionisation. Les matrices hydroxyles aliphatiques sont reconnues pour favoriser la protonation et la réduction des analytes. Dans de telles circonstances, des pics de type $[M+nH, n \geq 1]^+$ domineraient le spectre de masse [6,37,39,57,61]. Cela est probablement dû au fait que ce genre de matrice ne possède pas d'affinité électronique. Toutefois, on a quand même déjà observé des M^+ dans le glycérol pour certains analytes, tels les isomères du dihydroxybenzène [50]. À cause de cela, on ne peut définitivement clore le débat sur l'ionisation dans ce type de matrice. Quelques auteurs ont indiqué qu'un autre groupe de matrices, les aromatiques, permettait une formation importante d'ions M^+ [6,37,61]. Cela serait dû aux propriétés captatrices d'électrons attribuées à ce type de matrice. Toutefois, il faut noter que des $[M+H]^+$ et des $[M-H]^+$ sont aussi couramment observés dans ce type de matrice [36,37,41,48,50,53] et similairement, on ne peut non plus

fermer le débat sur l'ionisation dans ce type de matrice. En plus, on rapporte que des matrices de type sulfurées ont, jusqu'à un certain point, des propriétés inhibitrices de réduction qu'on a associé à l'affinité électronique des radicaux thiyls formés sous bombardement. Cette caractéristique mènerait à une formation compétitive d'ions M^+ et $[M+H]^+$ [6]. Jusqu'à maintenant, aucun groupe de matrices agissant sur la perte d'hydrure n'a été identifié.

En dépit de tout ce qui a été écrit jusqu'à maintenant sur les aspects fondamentaux des techniques FAB/LSIMS, leur mécanisme général d'ionisation n'est pas encore bien compris. Cependant, il semble que les tendances de l'ionisation pourraient être dictées autant par les caractéristiques structurales des analytes que par la chimie des matrices dans la phase condensée sous bombardement.

1.3.4 Similarité entre la radiolyse et FAB/LSIMS.

Les différentes contributions des matrices ont souvent été décrites en tant que propriétés vagues et rudimentaires associées aux molécules des matrices, l'emploi de termes tels "protonantes" ou "captatrices d'électrons" étant les plus rencontrés. Toutefois, en tenant compte de l'évidente fragmentation intensive à la surface de la matrice pendant le bombardement, il semble quand même ambigu de préciser la façon dont des propriétés de molécules "intactes" de matrices pourraient être contributives dans certains types d'ionisation. Par contre, grâce à des travaux plus approfondis effectués par Field [62] et Keough [63], une rationalisation du mécanisme d'ionisation en FAB/LSIMS a été proposée selon un aspect différent. Les auteurs ont démontré l'implication de radicaux prétendument créés durant le bombardement, donnant ainsi

naissance à l'hypothèse d'une relation entre la radiolyse des composés polyhydroxylés et le bombardement FAB/LSIMS d'échantillons de même type. Un autre auteur, Tuinmann [64], a démontré l'existence de la formation de radicaux en phase condensée durant le bombardement en observant des effets-temps dans l'échantillonnage de produits de condensation. Les produits de condensation n'étaient pas présents dans l'échantillon avant le bombardement mais étaient apparemment produits pendant par des réactions radicalaires entre la matrice de glycérol et un analyte surfactant, le triméthyltétradécylammonium. L'auteur a proposé qu'une chimie de radicaux, induite par le bombardement, ait créé aléatoirement plusieurs types d'adduits qui aurait modifié la surfactance de base de l'analyte. Par exemple, des adduits, de même poids moléculaires mais de différentes structures, ont été dévoilés par spectrométrie de masse en tandem. Il fut déterminé que les réactions radicalaires permettaient de fixer un même radical de glycérol à différentes positions sur les chaînes alkyles de l'analytes, ce qui créait conséquemment des adduits de surfactances variables. Ainsi, les différents produits de condensation de même masse moléculaire étaient l'un après l'autre désorbés de la surface de l'échantillon selon l'ordre décroissant de leur activité de surface respective et les spectres MS/MS changeaient dans le temps selon la structure désorbée et analysée. D'autres travaux effectués par Théberge [65] et Williams [66] ont permis de suggérer qu'un procédé de réduction induit par le faisceau de particules d'impact puisse expliquer la réduction de composés dissous dans des matrices aliphatiques hydroxylées. On croit qu'un procédé de déshalogénéation est actif dans un milieu semblable à celui créé par la radiolyse de composés hydroxylés tel le méthanol [65]. Les deux procédés sont basés sur la chimie de radicaux α -hydroxyles réducteurs créés pendant l'irradiation des échantillons.

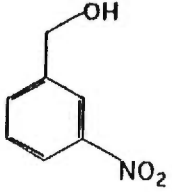
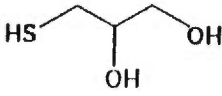
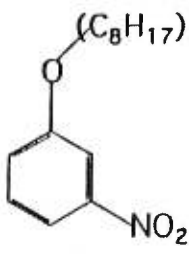
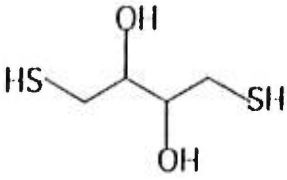
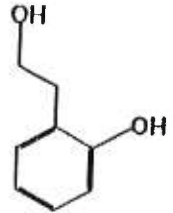
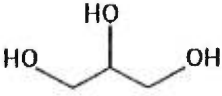
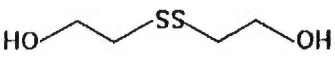
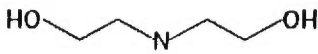
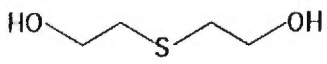
CHAPITRE 2

Partie Expérimentale.

2.1 Provenance des composés utilisés.

Tous les produits utilisés pour cette étude étaient disponibles commercialement chez Aldrich Chemical (Milwaukee, Wisconsin). Il s'agit des acétals PEA (Acétal éthylène phénylacétaldéhyde), PDM (Dioxolane-1,3-phényle-2-hydroxyméthyle-4), DBT (Dioxolane-1,3-phényle-2-dihydroxyméthyle-4,5-D), DDBT (Dioxolane-1,3-Phényle-2-diacétate-4,5-D) et LDBT (Dioxolane-1,3-Phényle-2-diacétate-4,5-L), des isomères *cis* et *trans* de l'oxyde de stilbène et des phénols substitués ou disubstitués en *ortho*, *méta*, ou *para* par les groupes OH, OCH₃, CH₃, Cl, NO₂. Il suffit de consulter les figures 10, 11, 24 et 25 aux chapitres 3-5 pour connaître les structures spécifiques. Les matrices utilisées ont aussi été achetées chez Aldrich Chemical, il s'agit de NBA (3-NitroBenzylAlcohol), NPOE (3-NitroPhenylOctylEther) HPEA (2-HydroxyPhenEthylAlcohol), HEDS (2-HydroxyEthylDiSulfide), TDE (ThioDiEthanol), TG (ThioGlycerol), MB (Magic Bullet), GLY (Glycerol) et DEA (DiEthanolAmine). Les structures caractéristiques et les masses moléculaires monoisotopiques sont montrées au tableau 1.

Tableau 1. Structures et masses moléculaires monoisotopiques des matrices utilisées pour l'étude en FAB et LSIMS.

Matrice	Masse Moléculaire	Structure	Matrice	Masse Moléculaire	Structure
NBA	153.04		TG	108.02	
NPOE	251.15		MB	154.00	
HPEA	138.07		GLY	92.05	
HEDS	154.01		DEA	104.07	
TDE	122.19				

2.2 Analyses des composés par FAB et LSIMS.

2.2.1 Types d'appareils utilisés [67-70].

Toutes les données FAB/LSIMS ont été acquises par spectrométrie de masse grâce à deux appareils. Le premier est de type AutoSpec-Q hybride de géométrie EBEqQ et équipé d'une source VG LSIMS standard et d'un canon à ions de Césium (VG, Manchester, Royaume-Uni, Figure 6). Cet instrument est constitué de trois secteurs, soient deux électrostatiques (ESA1 et ESA2) ayant des angles de $72,5^\circ$ et un secteur magnétique à angle de 35° . Ces secteurs sont disposés en série de façon à permettre la double focalisation et la MS/MS, cette dernière option étant aussi possible à l'aide des quadripôles placés à la suite du dernier ESA. La détection est effectuée au moyen de dynodes.

Le deuxième appareil est un analyseur triple Kratos MS50TC disposé dans une géométrie EBE en C (Kratos, Manchester, UK; Figure 7) et équipé d'un canon à atomes rapides de type Ion Tech B11NF (Ion Tech Ltd, Teddington, UK). Cet appareil possède aussi un secteur magnétique (27°) mis en série entre deux secteurs ESA (90°) pour obtenir la double focalisation et la MS/MS. La détection est faite avec un multiplicateur d'électrons.

Les données EI et CI ont été acquises avec un Finnigan MAT TSQ GCQ, soit une trappe ionique avec une source d'ionisation externe connectée à un système d'insertion par colonne GC. Quant aux données de l'ionisation ESI, elles ont été récoltées avec un triple quadripôle Finnigan MAT TSQ 700 sur lequel était branchée une source d'électronébulisation à pression atmosphérique. Les caractéristiques instrumentales sont détaillées aux figures 8 et 9.

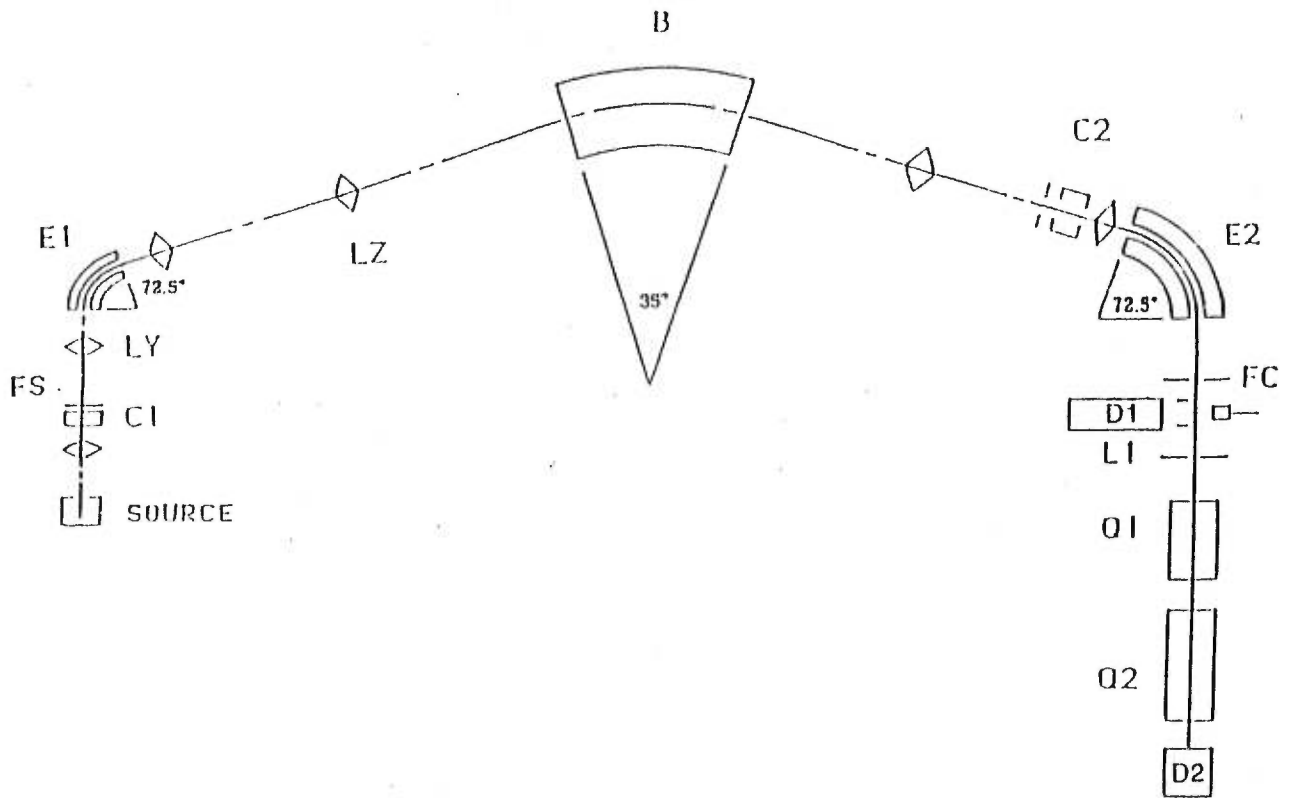


Figure 6: Appareil VG AutoSpec-Q utilisé pour l'étude LSIMS [67].

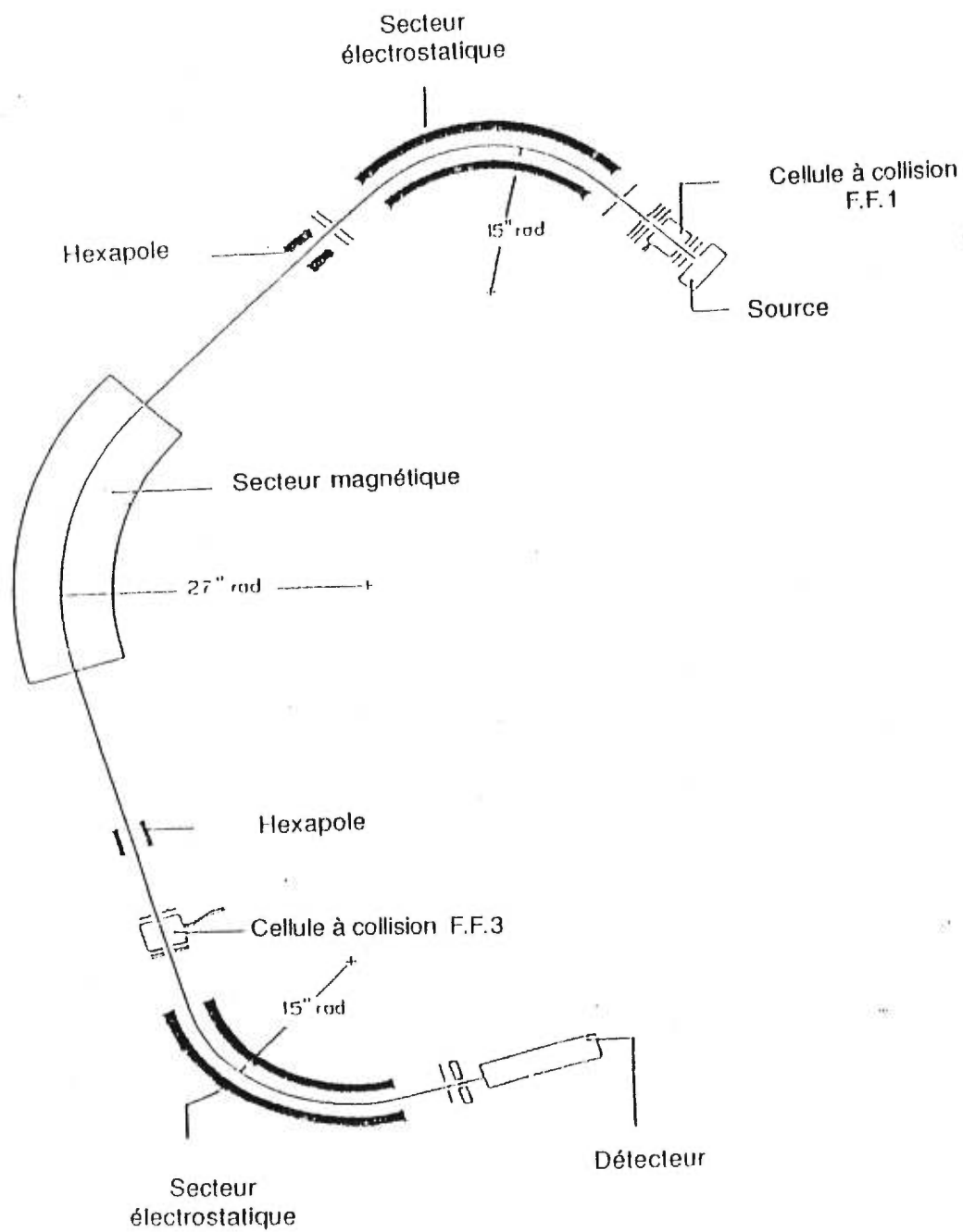


Figure 7: Appareil Kratos MS50TC utilisé pour l'étude FAB [68].

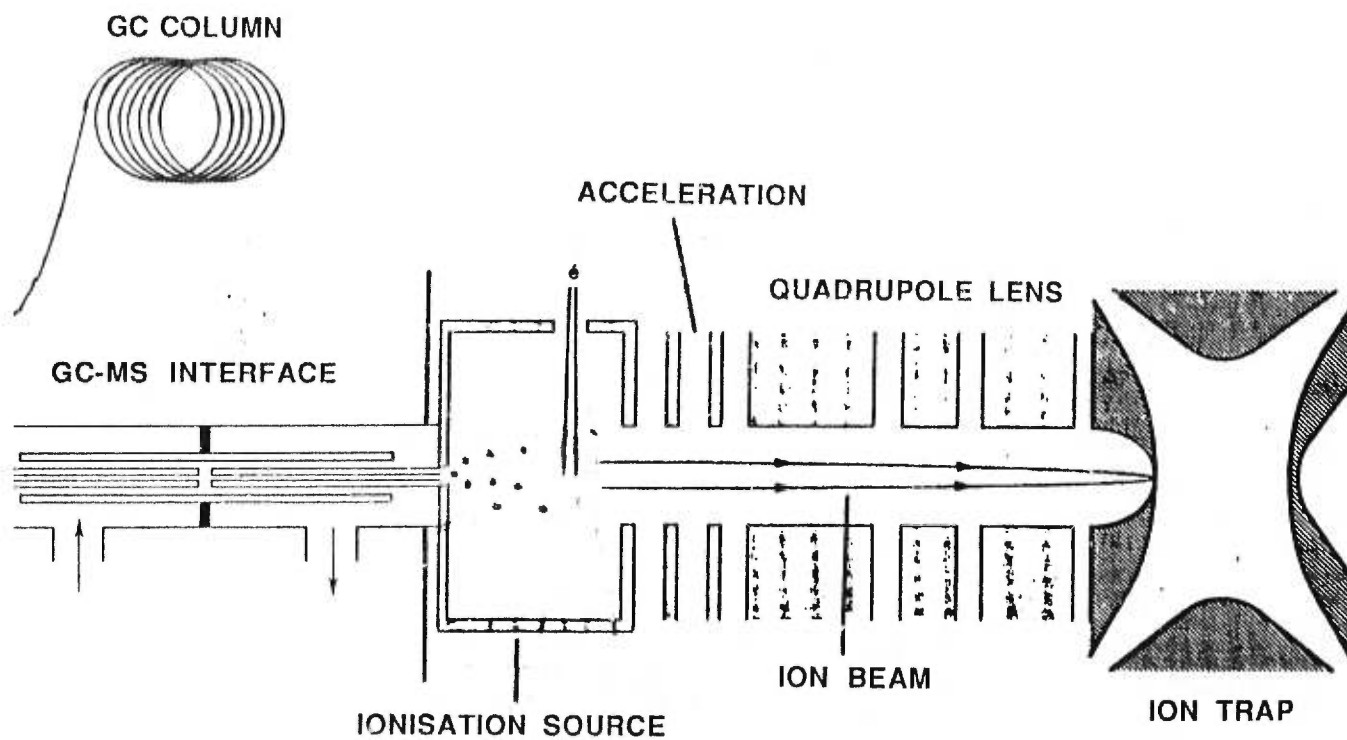


Figure 8: Appareil Finnigan MAT TSQ GCQ Ion Trap utilisé pour l'étude EI et CI [69].

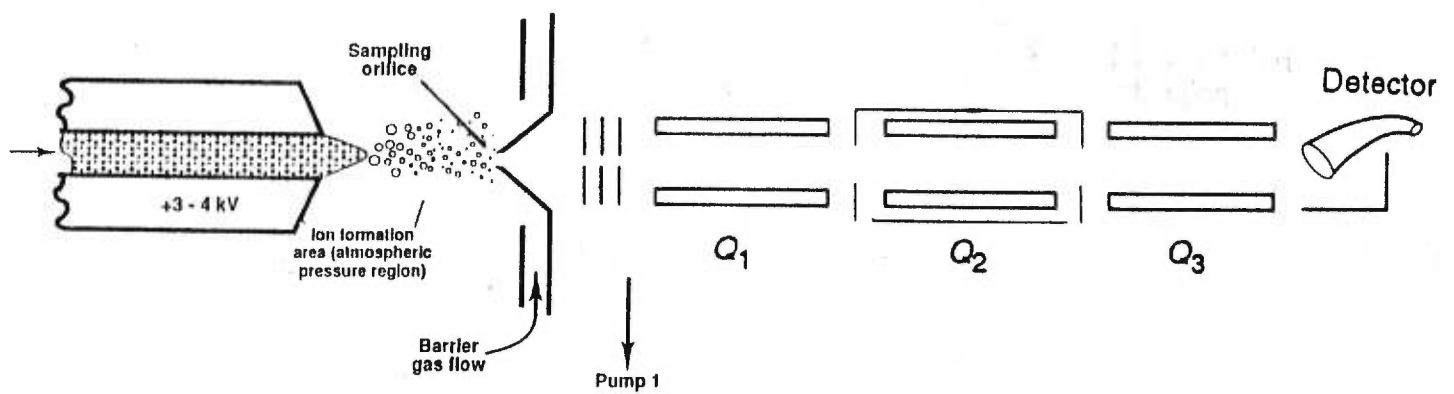


Figure 9 : Appareil Finnigan MAT TSQ 700 triple quadrupôle utilisé pour l'étude ESI [70].

2.2.2. Conditions d'analyse.

Dans le cas des analyses effectuées avec l'AutoSpec, les ions ont été extraits de la source LSIMS avec un potentiel d'accélération de 8 kV. L'énergie d'impact et la densité du faisceau primaire d'ions césium étaient respectivement de 14 keV et 0,017 mA/mm² aussi bien dans le mode positif que négatif et la surface de la sonde était de 7 mm². La résolution ($m/\Delta m$) était d'environ 1000, par définition à une vallée renfermant 10% des intensités égales de deux pics adjacents. L'acquisition des spectres en MS standard a été effectuée en balayant le champ magnétique à une vitesse de 5 secondes par décade sur un domaine d'unités de masse de 50 à 1000. Le spectromètre a été calibré en utilisant une solution aqueuse d'iodure de césium grâce à une série d'agglomérats $[\text{Cs}(\text{Csl})_n]^+$ pour le mode positif et $[\text{I}(\text{Csl})_n]^-$ pour le mode négatif. L'acquisition de données spectrales a été effectuée avec le logiciel VG Opus (Version 1.6F).

Pour les analyses effectuées avec le Kratos MS50TC, les ions ont été extraits de la source FAB avec un potentiel d'accélération de 8 kV. L'énergie d'impact du faisceau primaire d'atomes de Xénon était de 6 keV. La résolution ($m/\Delta m$) était d'environ 2000 (10% de vallée). L'acquisition des spectres en MS standard a été effectuée en balayant le champ magnétique à une vitesse de 10 secondes par décade, sur un domaine d'unités de masse de 50 à 1000. Le spectromètre a été calibré en utilisant une solution glycérol/iodure de césium grâce à une série d'agglomérats d'iodure de césium $[\text{Cs}(\text{Csl})_n]^+$ et de glycérol $[(\text{Gly}+\text{H})_n - \text{H}]^+$ dans le mode positif. L'acquisition de données spectrales a été effectuée avec le logiciel Masspec (Version 10.2a, Masspec Data Systems, Manchester, UK).

Pour les expériences en EI et CI, la température de la source était de 175 °C, l'énergie des électrons de 70 eV et la pression du gaz réactif CI, CH₄, était ajustée de façon à optimiser la protonation des analytes. Dans le cas des expériences en ESI, la solution d'analyte a été introduite dans le spectromètre via un capillaire d'acier inoxydable maintenu à un potentiel de 4.5 kV. L'orifice d'introduction du spectromètre a été maintenu à + 120 V.

L'acquisition des spectres en mode LSIMS/MS a été effectuée par balayage MIKES (Mass-analysed Ion Kinetic Energy Spectrometry) avec l'appareil AutoSpec décrit ci-haut. Le deuxième secteur électrostatique était balayé pendant que le premier était maintenu à sa valeur de champ normal. Aucun gaz de collision ne fut utilisé étant donné que seules les fragmentations unimoléculaires étaient étudiées [71]. Les données EI/MS/MS et CI/MS/MS ont été recueillies avec le même Finnigan GCQ-trappe ionique décrit ci-haut. La sélection de l'ion parent était effectuée en éjectant tout autre type d'ion de la trappe ionique et la fragmentation fut rehaussée par l'énergie issue des collisions à l'intérieur [72]. Tous les produits de fragmentation étaient accumulés dans la trappe et éjectés par la suite selon leur rapport m/z respectif pour produire un spectre de masse. L'information ESI/MS/MS a été recueillie en augmentant le potentiel d'accélération de l'ion parent [M+H]⁺ passant au travers la région à pression atmosphérique devant le premier des trois quadrupôles du Finnigan TSQ 700 décrit plus haut. L'analyse de masse de la fragmentation résultante était effectuée avec le premier quadrupôle. Toutes les acquisitions de données sur les spectromètres Finnigan ont été possibles grâce au logiciel d'acquisition Finnigan Data System.

2.2.3 Préparation et analyse des échantillons.

Les échantillons d'analytes destinés aux analyses FAB et LSIMS ont été préparés dans des vials de 2 mL en dissolvant chaque analyte dans les matrices sélectionnées pour obtenir des solutions de concentrations désirées. Aucun additif ou co-solvant n'a été utilisé puisqu'on voulait étudier l'influence des matrices pures sous bombardement. Cela implique forcément que les matrices pures ne pouvant dissoudre les analytes étaient écartées de l'étude. Autant dans le cas des analyses FAB que pour celles en LSIMS, 2 μ L de solution étaient étendus sur le bout de la sonde d'acier inoxydable (LSIMS) ou de cuivre (FAB) avant d'être introduits dans la source du spectromètre de masse pour être soumis au bombardement.

Dans le cas des expériences EI, CI, EI/MS/MS et CI/MS/MS, les analytes dissous dans du méthanol étaient injectés ($T_{inj} = 240^{\circ}\text{C}$) sur une colonne non-polaire C18 ($T_{col} = 200^{\circ}\text{C}$) pour chromatographie gazeuse et introduit vers la source via une interface GCMS à la sortie de cette colonne.

Pour les expériences ESI et ESI/MS/MS, les analytes étaient dissous dans une solution 50:50 (v/v) de méthanol et d'eau contenant 0.05M d'acide acétique favorisant la protonation des analytes. La solution a été introduite à un débit de 20 μ L/min dans la source via le capillaire d'acier inoxydable et l'orifice d'introduction de l'appareil.

2.2.4 Traitement des données.

L'intensité des pics de masses d'intérêt a souvent été "contaminée" de contributions matricielles et isotopiques. Ainsi, dans le but d'obtenir les bons rapports d'intensités relatives pour un analyte donnant par exemple les pics $[M-H]^+$, M^+ et $[M+H]^+$, il fallait soustraire la contribution isotopique du pic $[M-H]^+$ au pic M^+ , puis celle de ce pic au suivant sur le spectre, soit $[M+H]^+$. Les contributions isotopiques des analytes étaient soustraites selon les règles normales prescrites par les abondances isotopiques connues de nos jours. Quant aux contributions matricielles, elles étaient éliminées des spectres en faisant simplement une soustraction de leurs contributions aux signaux des analytes. Les contributions matricielles étaient déterminées en faisant l'acquisition du spectre de masse de chaque matrice pure. Cependant, il fallait tenir compte de la possibilité que l'interaction entre la matrice et les analytes puisse amener des variations dans la contribution matricielle observée à partir du spectre de la matrice pure. Il en découle que cette approche n'était qu'approximative parce que les paramètres définissant l'interaction entre la matrice et les analytes ne sont pas tous connus. Il en reste que c'était le seul moyen disponible pour évaluer les véritables intensités des pics de masse des analytes.

La reproductibilité des données a été vérifiée en répétant les expériences trois fois, pour chaque analyte, sur une période de 8 mois. Un écart-type moyen général sur les intensités relatives obtenues a été calculé comme étant de 7%. Pour obtenir un spectre normal FAB ou LSIMS, une moyenne de 5 à 8 balayages était utilisée. Pour un spectre EI, CI ou ESI, on faisait autant d'acquisitions de spectres que le nombre de balayages possibles étaient permis par la présence d'une quantité suffisante d'analyte dans la source. La reproductibilité était jugée satisfaisante lorsque les spectres obtenus étaient similaires pour différentes acquisitions. Toutes les données reliées aux intensités relatives ont été traitées à l'aide du logiciel Quattropro 5.00 pour Windows (Borland).

CHAPITRE 3

Étude de l'influence de propriétés structurales d'acétals sur la formation d'ions en LSIMS.

3.1 But de l'étude des acétals substitués en LSIMS.

Tel que mentionné dans la section sur les principes fondamentaux de l'ionisation FAB/LSIMS (1.3), l'étude de la formation d'ions anormaux engendrés par ces techniques est essentielle à l'optimisation des conditions expérimentales afin d'éviter des interprétations analytiques erronées. Ainsi avait-on découvert par le passé qu'il est possible de contrôler les conditions expérimentales pour favoriser la formation des ions $[M-H]^+$ ou $[M+H]^+$ [26]. Cela avait été effectué en démontrant que, plus les composés devenaient surfactants, plus la formation de l'ion $[M-H]^+$ était favorisée au dépit de l'ion $[M+H]^+$ (section 1.3.1).

L'étude des acétals substitués avec divers groupes basiques avait pour objectif de déterminer si l'influence de divers substituants, sur une même structure chimique de base, pouvait aussi avoir une influence sur les processus d'ionisation menant à la formation compétitive d'ions $[M-H]^+$ ou $[M+H]^+$ en FAB/LSIMS. Les structures des acétals substitués utilisés pour cette étude sont les suivantes :

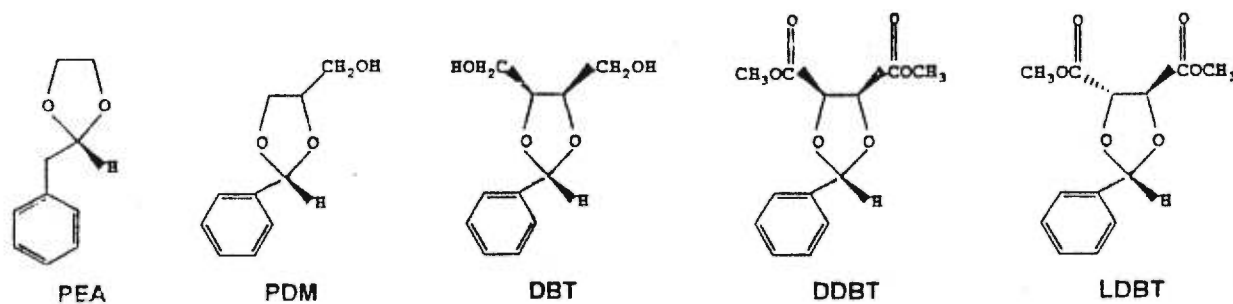


Figure 10: Les acétals substitués avec divers groupes basiques.

Ces composés sont l'acétal éthylènephénylacétaldéhyde (PEA), le dioxolane-1,3-phényle-2-hydroxyméthyle-4 (PDM), le dioxolane-1,3-phényle-2-dihydroxyméthyle-4,5 (DBT), le dioxolane-1,3-phényle-2-diacétate-4,5-D (DDBT) et le dioxolane-1,3-phényle-2-diacétate-4,5-L (LDBT). L'utilisation d'un acétal benzylique (PEA) au lieu d'un homologue phénylique avait pour but de tester la contribution unique des doublets libres des oxygènes dans la stabilisation de la charge issue de la perte d'une hydrure sur le site du carbone 2 (Voir Figure 4).

3.2 Résultats expérimentaux avec l'ionisation LSIMS.

Les résultats obtenus avec l'ionisation LSIMS pour les acétals substitués pourraient indiquer deux influences agissant sur l'ionisation des analytes, soit l'influence des propriétés structurales des analytes et l'influence des matrices sous bombardement. Pour commencer, nous explorerons la contribution de l'effet des substituants sur la formation des ions moléculaires en LSIMS. Il sera question de l'influence des matrices au chapitre 6.

Les résultats expérimentaux obtenus pour tous les acétals substitués avec les matrices HEDS, NBA, TDE, MB et GLY sont résumés dans les tableaux 2 à 6. Pour commencer, les résultats obtenus pour le PEA avec la matrice HEDS ont montré que l'intensité relative de l'ion $[M-H]^+$ a dominé sur celle de l'ion $[M+H]^+$. Ces intensités relatives de la région moléculaire du PEA ont été constantes durant tout le temps d'irradiation (Tableaux 2).

Tableau 2. Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des acétals substitués en fonction du temps de bombardement dans HEDS.

Structure & Concentration	Ion Moléculaire	Temps de Bombardement			
		30 secs.	1 min.	2 min.	3 min.
PEA 0,5M	$[M-H]^+$	100	100	100	-
	$[M+H]^+$	17	17	19	-
PDM 0,25M	$[M-H]^+$	31	34	33	35
	$[M+H]^+$	100	100	100	100
LDBT 0,5M	$[M-H]^+$	30	29	28	-
	$[M+H]^+$	100	100	100	-
LDBT 0,25M	$[M-H]^+$	27	26	25	-
	$[M+H]^+$	100	100	100	-
DDBT 0,5M	$[M-H]^+$	25	25	24	-
	$[M+H]^+$	100	100	100	-
DDBT 0,125M	$[M-H]^+$	15	16	15	15
	$[M+H]^+$	100	100	100	100

Par contre, lorsque les acétals substitués avec divers groupes basiques ont été étudiés avec la même matrice, les résultats ont démontré un changement radical dans la région moléculaire des spectres LSIMS comparativement à PEA (Tableau 2). En moyenne sur tout le temps de bombardement, le pic de masse de l'ion $[M+H]^+$ a prédominé en intensité relative au-dessus de celui de $[M-H]^+$ pour PDM, LDBT et DDBT. Ces mêmes tendances se sont aussi manifestées pour les acétals lorsqu'ils ont été étudiés avec la matrice NBA, tel que les données au tableau 3 le démontrent.

Tableau 3. Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des acétals substitués en fonction du temps de bombardement dans NBA.

Structure & Concentration	Ion Moléculaire	Temps de Bombardement			
		30 secs.	1 min.	2 min.	3 min.
PEA 0,5M	$[M-H]^+$	100	100	100	-
	$[M+H]^+$	23	23	23	-
PDM 0,66M	$[M-H]^+$	38	39	42	48
	$[M+H]^+$	100	100	100	100
PDM 0,25M	$[M-H]^+$	36	35	40	-
	$[M+H]^+$	100	100	100	-
DBT 0,5M	$[M-H]^+$	56	61	59	58
	$[M+H]^+$	100	100	100	100
DBT 0,25M	$[M-H]^+$	53	55	49	51
	$[M+H]^+$	100	100	100	100
LDBT 0,5M	$[M-H]^+$	23	25	24	-
	$[M+H]^+$	100	100	100	-

Les données acquises ont également indiqué une tendance envers une augmentation du rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / [M-H]^+$ à mesure que les substituants étaient supposés être de plus en plus basiques, à l'exception du DBT dans NBA (Tableaux 2-3). Les pKa de ces composés ne sont pas disponibles dans la littérature alors il fut estimé que le caractère basique des substituants soit dans l'ordre suivant : H (PEA) < mono- CH_2OH (PDM) < di- CH_2OH (DBT) < di- $COOH$ (LDBT ou DDBT).

Lorsque le PDM a été analysé dans la matrice NBA, un faible effet-temps a été observé, c'est-à-dire une tendance envers des variations opposées entre les intensités relatives de $[M+H]^+$ et $[M-H]^+$ au long du temps d'irradiation (Tableau 3). Le pic de masse de l'ion $[M-H]^+$ augmentait dans le temps alors que celui de l'ion $[M+H]^+$ diminuait. En plus, lorsque les composés ont été analysés avec les matrices TDE et MB, les résultats ont montré des effets-temps encore plus prononcés pour PDM, LDBT et DDBT (Tableaux 4,5). Malgré cela, qu'il y ait présence d'effet-temps ou non, il en est ressorti que les acétals substitués avec des groupes basiques (PDM, DBT, LDBT et DDBT) étaient toujours plus protonés que celui sans substituants (PEA). Ce dernier ayant toujours mené à une formation constante et dominante d'ions $[M-H]^+$. Il faut aussi ajouter à cela qu'il semble que les effets-temps étaient moins intenses à mesure que les substituants utilisés étaient plus basiques (Tableaux 4,5), de PDM (mono- CH_2OH) à LDBT et DDBT (diacétates).

Globalement, les résultats semblent démontrer qu'un accroissement de la basicité des substituants ralentirait proportionnellement les processus amenant les acétals à perdre une hydrure pendant le bombardement et cela, en faveur de la protonation.

Tableau 4. Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des acétals substitués en fonction du temps de bombardement dans TDE.

Structure & Concentration	Ion Moléculaire	Temps de Bombardement		
		30 secs.	1 min.	2 min.
PDM 0,5M	[M-H] ⁺	82	100	100
	[M+H] ⁺	100	96	64
PDM 0,25M	[M-H] ⁺	71	93	100
	[M+H] ⁺	100	100	69
LDBT 0,5M	[M-H] ⁺	37	39	66
	[M+H] ⁺	100	100	100
DDBT 0,5M	[M-H] ⁺	36	43	55
	[M+H] ⁺	100	100	100
DDBT 0,25M	[M-H] ⁺	25	36	47
	[M+H] ⁺	100	100	100

Tableau 5. Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des acétals substitués en fonction du temps de bombardement dans MB.

Structure & Concentration	Ion Moléculaire	Temps de Bombardement			
		30 secs.	1 min.	2 min.	3 min.
PEA 1,5M	[M-H] ⁺	100	100	100	100
	[M+H] ⁺	14	15	15	16
PDM 1,33M	[M-H] ⁺	39	41	48	58
	[M+H] ⁺	100	100	100	100
PDM 0,25M	[M-H] ⁺	20	22	28	35
	[M+H] ⁺	100	100	100	100
DDBT 0,25M	[M-H] ⁺	11	12	15	20
	[M+H] ⁺	100	100	100	100

Des effets-temps ont aussi été observés lorsque le PDM fut analysé avec la matrice GLY, mais une autre tendance intéressante est survenue. L'effet-temps de l'espèce PDM (mono-CH₂OH) allait à l'inverse de ce qui a été observé jusqu'à maintenant; l'intensité relative du pic de masse de l'ion [M-H]⁺ diminuait alors que celle du pic [M+H]⁺ augmentait (Tableau 6). Malgré ce phénomène, il en ressort, une fois de plus, que l'acétal avec un substituant basique (PDM) protonait beaucoup plus que l'acétal non substitué (PEA) qui donnait, d'une manière constante, des ions [M-H]⁺.

Tableau 6. Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire des acétals substitués en fonction du temps de bombardement dans GLY.

Structure & Concentration	Ion Moléculaire	Temps de Bombardement			
		30 secs.	1 min.	2 min.	3 min.
PEA 0,5M	[M-H] ⁺	100	100	100	-
	[M+H] ⁺	11	11	12	-
PDM 0,66M	[M-H] ⁺	83	58	37	32
	[M+H] ⁺	100	100	100	100
PDM 0,33M	[M-H] ⁺	52	36	23	-
	[M+H] ⁺	100	100	100	-

Il est aussi important de mentionner que l'augmentation de la concentration semble occasionner une augmentation de la perte d'hydrure (Tableaux 2-6). Cela supporte ce qui a déjà été rapporté dans la littérature. Soit que la création d'ion [M-H]⁺ est favorisée à mesure que l'analyte est de plus en plus présent à la surface (Voir Serction 1.3.1).

3.3 Conclusions.

Le premier argument qui résulte des observations est que la formation d'ions $[M-H]^+$ peut effectivement être rehaussée uniquement par les paires libres d'électrons localisées sur les oxygènes de la fraction dioxolane des acétals (Figure 4). Cela s'explique par le fait que le PEA ait donné majoritairement des ions $[M-H]^+$ dans tous les cas où l'analyse était possible (Tableaux 2,3,5,6). Ces résultats appuient davantage l'hypothèse que la présence d'un oxygène étheré constitue une caractéristique structurale importante pour la perte d'un hydrure en LSIMS, tel que rapporté par d'autres auteurs (Section 1.3.2). Toutefois, la protonation semble avoir été un procédé d'ionisation assez compétitif pour le PEA, puisque la formation d'ions $[M+H]^+$ n'était pas négligeable (Tableaux 2,3,5,6). La plus grande tendance de ce composé envers la perte, par rapport à la protonation, ne dépend peut-être que de la plus grande stabilité thermodynamique de l'ion $[M-H]^+$. Cet ion est d'ailleurs une entité ayant comme base structurale un dioxyde de carbone renfermant une résonance [73].

La compétitivité entre les deux voies d'ionisation (protonation vs. perte d'hydrure) a quand même pu être explorée grâce aux tendances occasionnées par les substitutions avec les groupes à basicité croissante. Les résultats ont démontré clairement que l'ajout, sur les carbones 4 et 5, de substituants dont la basicité suit l'ordre mentionné à la section 3.2, a contribué à amplifier l'ionisation par la voie de la protonation selon le même ordre (sauf pour le cas du DBT dans le NBA). Cela même si les cycles aromatiques étaient mis à contribution potentielle pour subvenir à une résonance

supérieure promouvant la perte d'un hydrure pour les composés PDM, DBT, LDBT et DDBT (Figure 10; Tableaux 2-6). Quant à la marginalité des résultats acquis pour l'acétal DBT, il est probable qu'elle soit engendrée par la présence de ponts hydrogènes internes entre ses substituants "CH₂OH". Cela causerait une moindre disponibilité des doublets des oxygènes envers la protonation. Conséquemment, l'ordre établi pour la basicité des substituants, ainsi que sa relation apparemment directe sur la protonation, semble être ébranlé lorsque les substituants d'un acétal interagissent entre eux.

Malgré les tendances évidentes amenées par la substitution des acétals, l'analyse des résultats doit quand même être étendue à d'autres particularités émanant du processus LSIMS. En fait, les caractéristiques structurales qu'on croyait être précurseurs envers différentes voies d'ionisation telles la protonation, la perte d'électron ou d'hydrure n'ont permis que des prévisions très approximatives des résultats à obtenir en FAB/LSIMS [6,52,61,74]. On peut citer en exemple la présence d'effets-temps qui viennent chahuter la proportionnalité établie entre la protonation et la basicité des acétals substitués. D'autres auteurs ont également rapporté des divergences entre la théorie et leurs résultats. Par exemple, une formation non-anticipée d'ions [M+H]⁺ a été observée pour des hydrocarbures polyaromatiques [52] au lieu des habituels M⁺ qu'on obtient avec les analytes à systèmes π-conjugués (Section 1.3.2). Aussi, des distributions divergentes de pics de masse dans la région moléculaire des spectres ont été observées pour des isomères époxydes ayant les mêmes valeurs de potentiel d'ionisation adiabatique et d'affinité protonique [74]; il en sera question au Chapitre 4.

De plus, différentes étendues en déshalogénéation par rapport à la protonation ont été observées pour des composés chlorés en changeant le type de matrice pour l'analyse [6,61]. Globalement, les résultats cités démontrent que les caractéristiques structurales ne sont pas les seuls facteurs dont il faut tenir compte dans l'ionisation des analytes en FAB/LSIMS. Jusqu'à maintenant, les comportements anormaux décrits dans la littérature ont toujours été expliqués selon une hypothèse basée sur une contribution des matrices dans le procédé d'ionisation LSIMS. Cet aspect sera élaboré au chapitre 6 et servira entre autres d'extension pour expliquer davantage les tendances divergentes dénotées lorsque les acétals substitués ont été analysés dans diverses matrices. Ces tendances anormales ont été décrites en tant que des effets-temps dans la section des résultats expérimentaux (Section 3.2).

CHAPITRE 4

Étude des comportements anormaux des isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène en LSIMS.

4.1 But de l'étude des isomères de l'oxyde de stilbène en LSIMS.

Jusqu'à maintenant, les études portant sur le mécanisme d'ionisation ont permis de croire qu'en certaines occasions, des caractéristiques structurales des analytes permettaient de prévoir les types d'ions à être créés durant le processus FAB/LSIMS (Sections 1.3.2, 3.3). Évidemment, certains analytes peuvent contenir en même temps plusieurs de ces caractéristiques, ce qui complique grandement toutes prévisions de résultats spécifiques à cause des caractères possiblement compétitifs existant entre chaque processus d'ionisation. Cette notion de compétitivité vient du fait que parfois, les analyses de composés mènent à l'obtention de spectres présentant plusieurs pics de masse dans la région moléculaire (Figures 3; Tableaux 2-6). Ainsi, dans le but d'étudier encore de tels phénomènes et de pouvoir vérifier si les hypothèses émises jusqu'à maintenant (Section 3.3) peuvent être appliquées à la formation d'autres ions anormaux, les isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène ont été analysés. Ceux-ci devaient théoriquement offrir la possibilité d'obtenir les ions $[M-H]^+$, M^+ et $[M+H]^+$ puisqu'ils ont toutes les caractéristiques structurales pour qu'il en soit ainsi (Section 1.3.2; Figure 11).



Figure 11: Les isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène.

De plus, il fut espéré de pouvoir vérifier plus particulièrement l'hypothèse que certains auteurs ont formulée, soit que les intensités des pics M^+ et $[M+H]^+$ peuvent être directement proportionnelles aux valeurs des énergies d'ionisation et des affinités protoniques [12,41,43,48,50,53,55,60,66,75]. Cette analyse a été facilitée dû au fait que les isomères de l'oxyde de stilbène ont des énergies d'ionisation adiabatiques pratiquement égales (cis = 8,68 eV; trans = 8,60 eV) [76] et que leur affinité protonique devrait l'être aussi, comme c'est habituellement le cas pour des isomères géométriques [77]. Ainsi, les spectres des deux isomères de l'oxyde de stilbène auraient dû être semblables dans la région moléculaire. Globalement, il fut espéré que les résultats acquis avec ces composés dans diverses matrices puissent permettre d'élucider davantage les processus du mécanisme d'ionisation en FAB / LSIMS.

4.2 Résultats expérimentaux en MS.

4.2.1 Résultats avec l'ionisation LSIMS.

Les comportements des oxydes de stilbène cis et trans en LSIMS ont été étudiés avec les matrices NBA, HPEA, HEDS, GLY et TDE. Les spectres de masses des isomères dans NBA après 30 secondes de bombardement et après 3 minutes sont montrés à la Figure 12. Ces résultats révèlent que les processus d'ionisation ont mené, tel que prévu par la théorie, à la formation d'ions $[M-H]^+$, M^+ et $[M+H]^+$, respectivement en relation avec les pics de masse observés aux rapports $m/z=195$, 196 et 197 . Les mêmes tendances, obtenus pour les analyses des isomères dans chaque matrice sur une période de 3 minutes de bombardement, sont résumées au Tableau 7.

Tableau 7 : Intensités relatives des pics de masse de la région moléculaire avec le temps de bombardement pour les isomères Cis et Trans de l'Oxyde de Stilbène dans diverses matrices - 1.0 M.

Isomère & Matrice	Temps de Bombardement								
	0 - 30 secs.			~ 1 min.			~ 3 min.		
	(M-H) ⁺	M ⁺	(M+H) ⁺	(M-H) ⁺	M ⁺	(M+H) ⁺	(M-H) ⁺	M ⁺	(M+H) ⁺
<i>Cis</i> /NBA	22	100	63	19	63	100	11	14	100
<i>Trans</i> /NBA	16	100	48	15	100	48	15	100	47
<i>Cis</i> /HPEA	23	69	100	20	62	100	14	26	100
<i>Trans</i> /HPEA	26	89	100	30	90	100	33	88	100
<i>Cis</i> /HEDS	13	7	100	9	5	100	7	4	100
<i>Trans</i> /HEDS	19	35	100	12	32	100	14	33	100
<i>Cis</i> /GLY	19	12	100	18	18	100	14	17	100
<i>Cis</i> /TDE	14	15	100	10	8	100	13	8	100

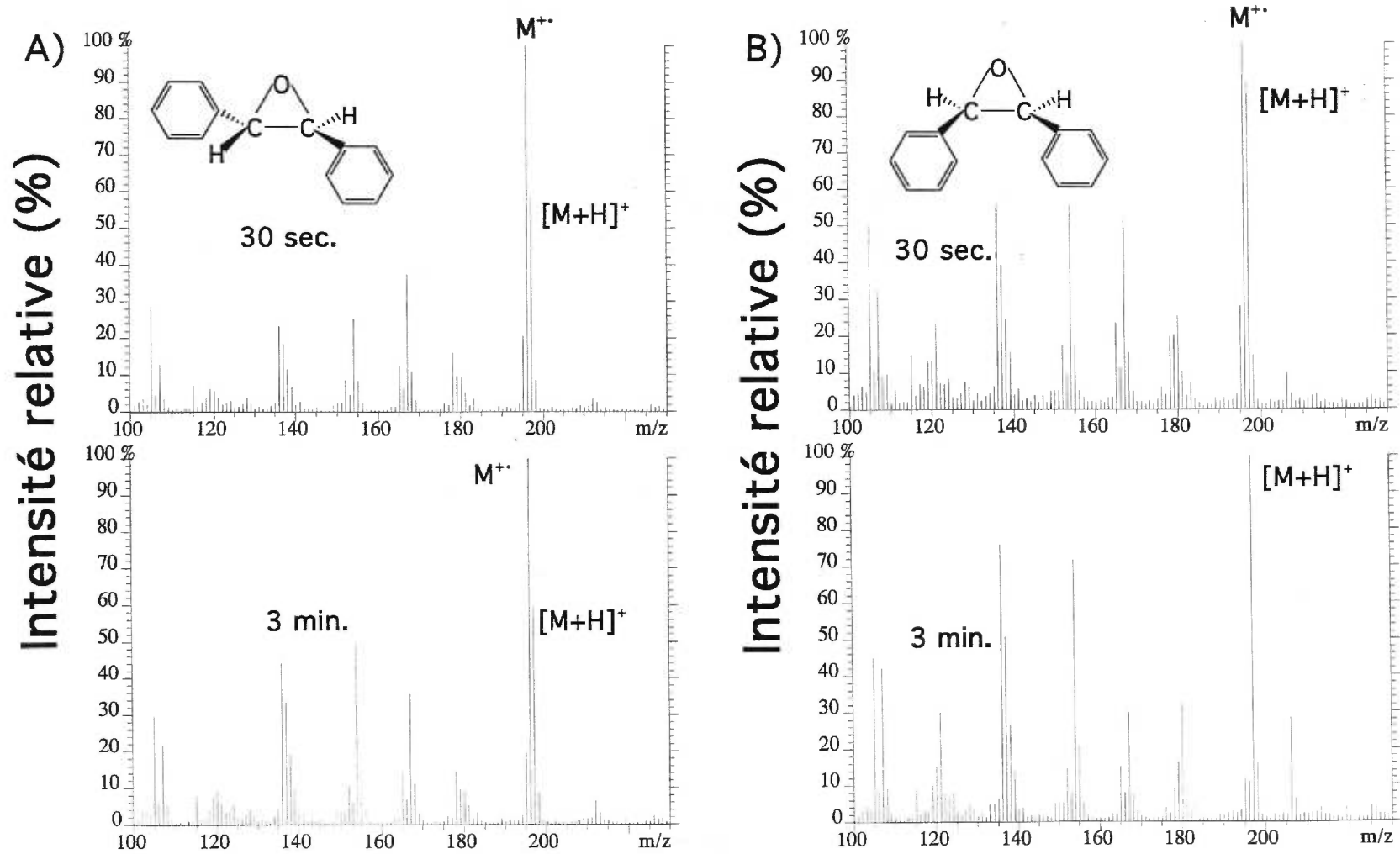


Figure 12: Spectres LSIMS des isomères (A) trans et (B) cis de l'oxyde de stilbène dans la matrice NBA après 30 secondes de bombardement et 3 minutes - 1M.

Dans l'ensemble, les résultats montrent que les ions $[M-H]^+$, M^+ et $[M+H]^+$ ont été échantillonnés avec différents rapports d'intensités relatives selon les diverses combinaisons d'isomères et de matrices qui ont été analysées. Cela contredit de toutes évidences la proportionnalité espérée entre les résultats et les propriétés thermodynamiques des isomères. Étant donné que ces propriétés thermodynamiques (énergies d'ionisation et affinités protoniques) sont très similaires, on s'attendait à une formation équivalente d'ions M^+ pour les deux analytes et de même pour les ions $[M+H]^+$. Les résultats démontrent clairement que ce n'est jamais le cas. Alors que la formation d'ions M^+ a dominé sur celle des ions $[M+H]^+$ pour les deux isomères au début du bombardement dans NBA (Figure 12), la tendance opposée a été observée quand les autres matrices étaient impliquées (Tableau 7). Les résultats ont aussi indiqué que l'oxyde de stilbène trans a toujours mené à un rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ constant et plus faible que le cis du début du bombardement jusqu'à la fin, un intervalle de temps durant lequel ce dernier a parfois montré un comportement anormal. Une telle tendance pour l'oxyde de stilbène cis a été révélée par des variations opposées entre les intensités relatives des pics de masse des ions M^+ et $[M+H]^+$ pendant le temps de bombardement. Ces variations sont crues être en relation avec un échantillonnage hétérogène des espèces ioniques moléculaires pendant l'irradiation et la désorption de l'échantillon. Ainsi, il peut être observé que l'isomère cis a conduit à une décroissance de la formation d'ions M^+ et/ou à une augmentation de celle d'ions $[M+H]^+$ pendant la période de bombardement dans les matrices NBA et HPEA (Figure 12; Tableau 7). De tels effets-temps n'ont pas été observés dans les matrices HEDS, GLY et TDE et aucun résultat n'a été obtenu pour l'isomère trans dans les matrices GLY et TDE dû au manque de solubilité.

En général, il faut retenir des expériences LSIMS qu'un changement de matrice a amené différentes étendues dans la production des ions M^+ et $[M+H]^+$ pour les isomères de l'oxyde de stilbène. Il est surtout important de noter que les intensités de leur pic de masse ne sont pas proportionnelles aux énergies d'ionisation et aux affinités protoniques. De plus, seul l'isomère cis a donné, apparemment, un accroissement dans la formation d'ions $[M+H]^+$ durant le bombardement lorsque les matrices NBA et HPEA ont été utilisées.

Dans le but de savoir si des mécanismes d'ionisation connus, en phases gazeuse ou condensée, pouvaient aider à expliquer les comportements particuliers des isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène en LSIMS, d'autres techniques d'ionisation telles que EI, CI et ESI ont été explorées avec les isomères. Les résultats sont décrits dans les pages qui suivent.

4.2.2 Résultats avec l'ionisation par Électrons (EI).

Les résultats obtenus avec l'ionisation par Électrons sont montrés à la figure 13 et il est évident que les profils d'ionisation et de fragmentation sont à toutes fins identiques pour les deux isomères. La perte d'un hydrure semble avoir été le processus dominant ($m/z=195$) dans la création d'ions moléculaires alors que les voies de fragmentation ont mené majoritairement à un ion tropyliumphényle dont le pic de masse apparaît à $m/z=167$. Les résultats obtenus sont d'ailleurs très différents de ce qui a été observé en LSIMS. La similarité dans l'ionisation et la fragmentation des isomères en EI fait que la différenciation de ceux-ci est impossible avec cette technique, ce qui n'est pas le cas en LSIMS (Figure 12).

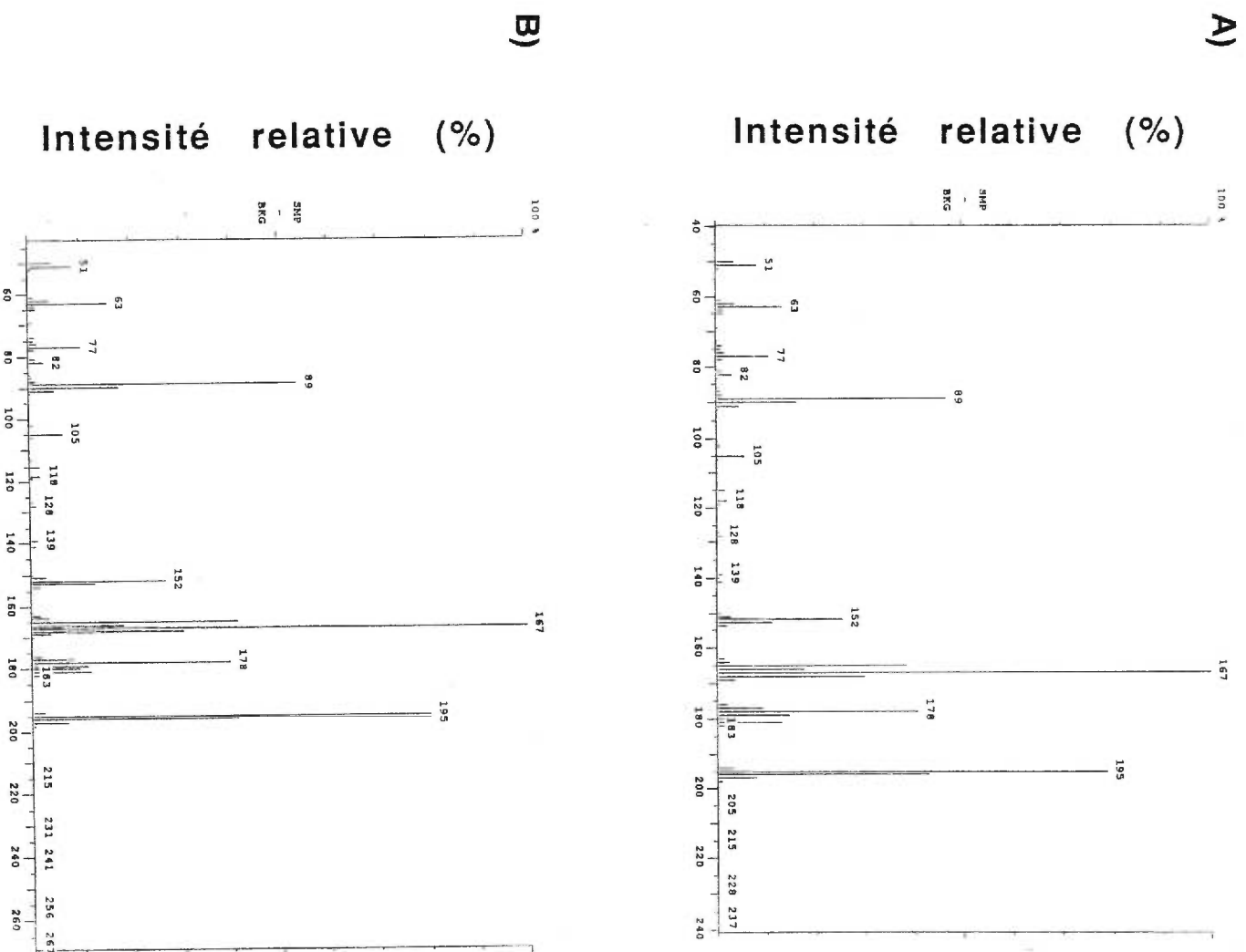


Figure 13: Spectres EI des isomères (A) trans et (B) cis de l'oxyde de stilbène.

4.2.3 Résultats avec l'ionisation Chimique (CI).

Les expériences effectuées avec cette technique ont aussi résulté en des profils d'ionisation et de fragmentation très similaires pour les deux isomères (Figure 14). Le procédé CI a donné un pic de masse $[M+H]^+$ ($m/z=197$), grandement dominant, au-dessus de faibles pics $[M-H]^+$ et M^+ ($m/z=195$ et 196). La fragmentation a, quant à elle, donné des fragments aromatiques tels que le tropyliumphényle et le phénoxyde correspondant aux rapports $m/z=167$ et 105 ; une faible perte d'eau a aussi été recensée à $m/z=179$. Quoique l'ionisation CI ait donné les ions $[M-H]^+$, M^+ et $[M+H]^+$, leurs ratios d'intensités relatives n'étaient pas les mêmes que ceux observés en LSIMS. Il est clair aussi que la différenciation des isomères est impossible avec cette technique comparativement au cas lorsque la technique LSIMS est utilisée.

4.2.4 Résultats avec l'ionisation par Électronébulisation (ESI).

Les données obtenues avec cette technique ont montré que le seul pic de masse moléculaire est celui de l'ion $[M+H]^+$ ($m/z=197$) et cela, pour les deux isomères (Figure 15-a,b). L'oxyde de stilbène trans a semblé avoir subi plus de fragmentation que le cis, mais il est encore ambigu de confirmer si un tel phénomène a été causé par les conditions instrumentales ou par l'analyte lui-même. Il en ressort quand même que le processus d'ionisation par Électronébulisation n'entraîne pas la perte d'électron et d'hydrure menant à la formation d'ions M^+ et $[M-H]^+$, contrairement au LSIMS.

L'examen des isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène avec les ionisations EI, CI, ESI et LSIMS a donc permis de démontrer que différents résultats pouvaient être obtenus d'une technique à l'autre. Il est particulièrement important de retenir que le LSIMS a été la seule technique qui a permis clairement de différencier les isomères et surtout que les effets-temps se manifestaient pour le cis qu'avec cette technique.

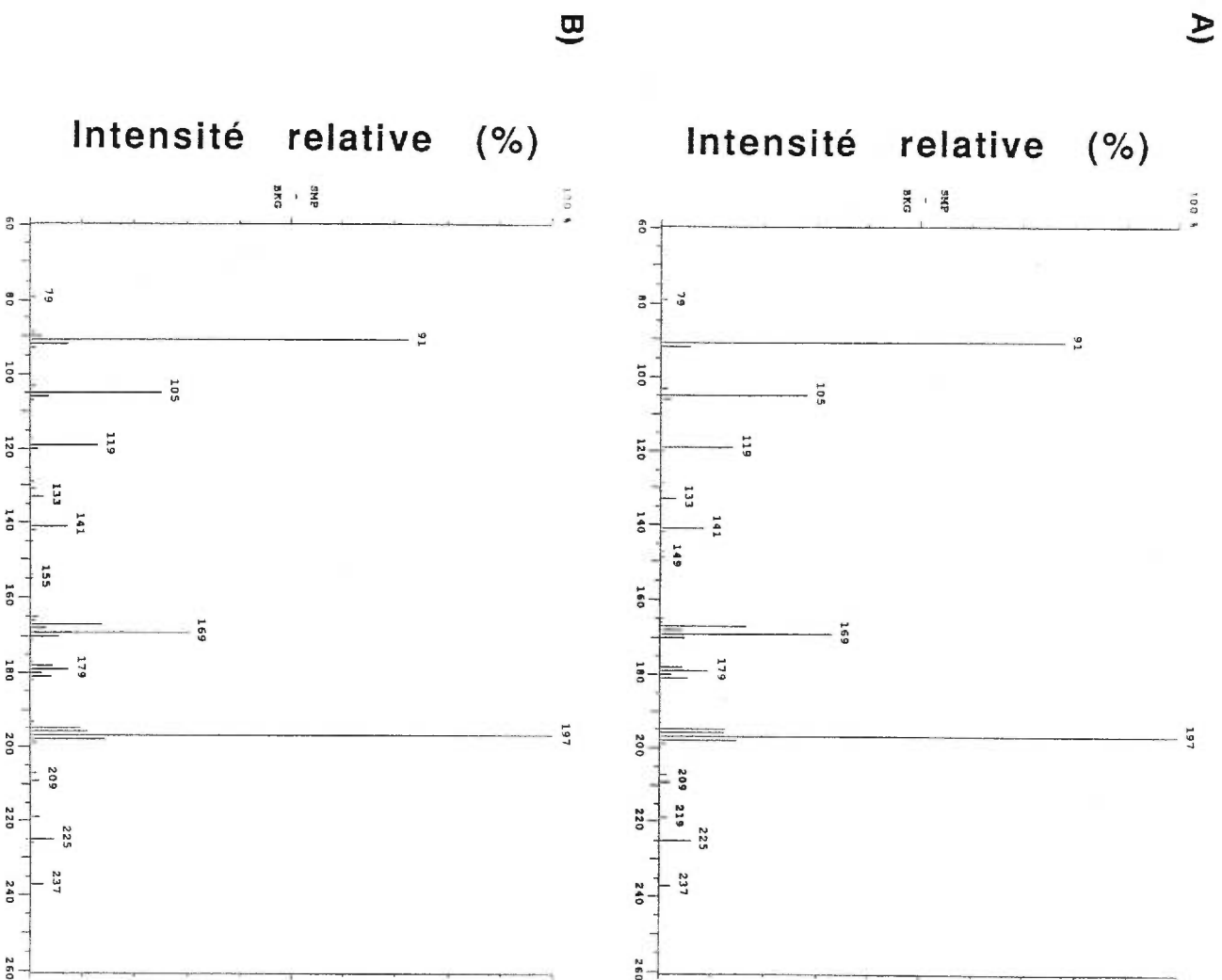


Figure 14: Spectres CI des isomères (A) trans et (B) cis de l'oxyde de stilbène.

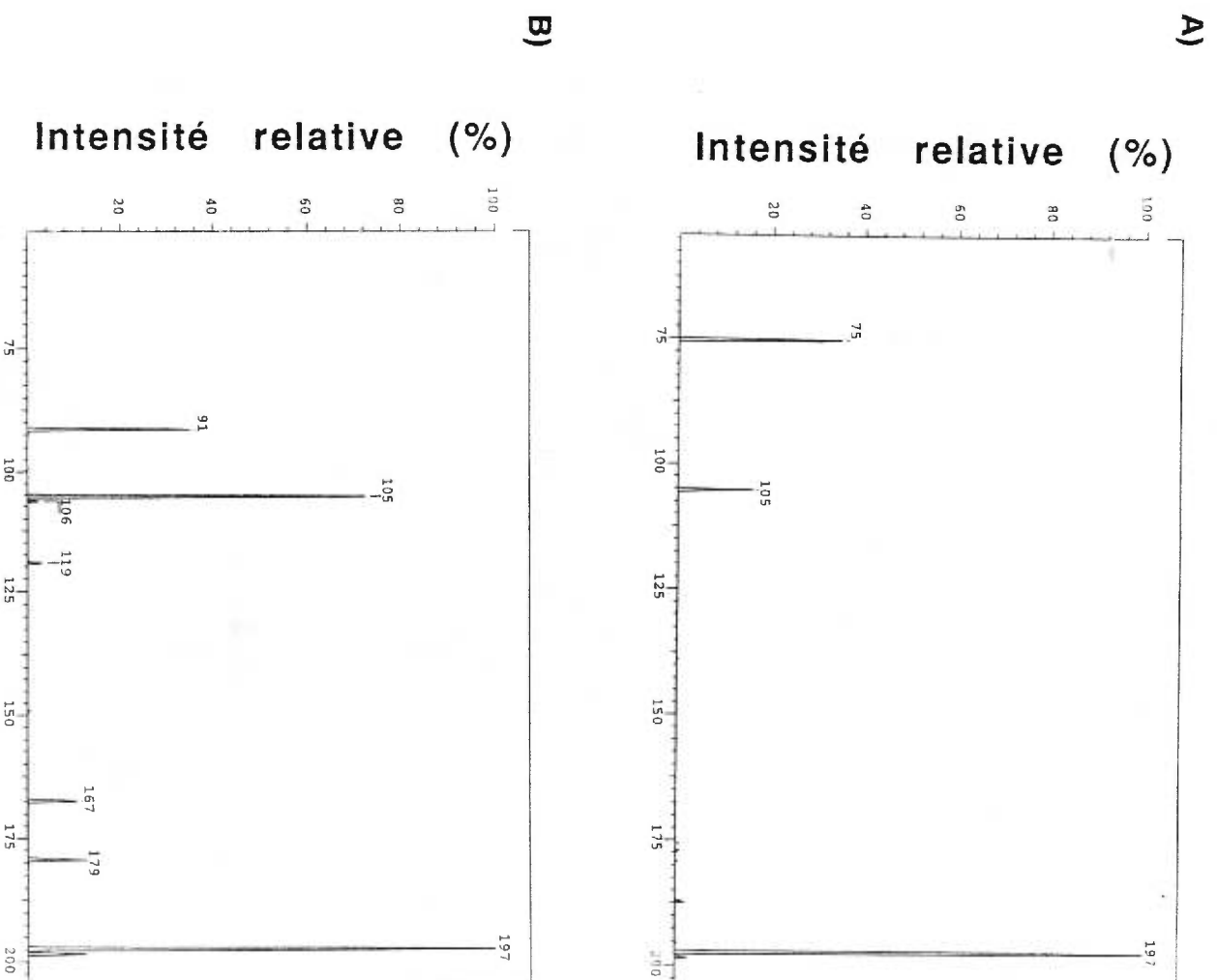


Figure 15: Spectres ESI des isomère (A) trans et (B) cis de l'oxyde de stilbène.

En comparant les résultats LSIMS, EI, CI et ESI, il apparaît que le LSIMS a été la seule technique qui a permis la distinction des isomères. Cette distinction est une tendance particulièrement marginale par rapport à ce qui est indiqué dans la littérature. Il a été rapporté que les tendances en perte d'électron et en protonation, pour des isomères, pouvaient être expliquées en termes de proportionnalité avec les valeurs d'énergies d'ionisation et d'affinités protoniques (Section 4.1). Certains de ces auteurs avaient proposé que les espèces avec les plus fortes basicités et les énergies d'ionisation les plus élevées aient été plus portées à former des ions $[M+H]^+$, alors que la formation de M^+ aurait été rehaussée par les espèces avec les basicités les plus faibles et les énergies d'ionisation les plus basses [53]. Il faut cependant noter qu'il y avait des espèces dont les propriétés se situaient entre ces deux situations extrêmes. Il semblait conséquemment difficile de déterminer comment les énergies d'ionisation et les basicités pouvaient expliquer séparément la formation de M^+ et de $[M+H]^+$ sans tenir compte de la possible compétitivité entre les deux voies d'ionisation. De toute façon, l'hypothèse des auteurs serait inadéquate pour expliquer les différences dans les résultats LSIMS obtenus pour les isomères de l'oxyde de stilbène. Ces composés ont les mêmes potentiels d'ionisation adiabatiques et affinités protoniques et pourtant, ils ont donné des rapports $[M+H]^+ / M^+$ différents dans les mêmes conditions d'analyses en LSIMS.

La diversité des résultats obtenus avec plusieurs techniques d'ionisation semble compliquer l'analyse des résultats obtenus avec FAB/LSIMS. A priori, il fut espéré que les résultats servent à mieux situer le mécanisme d'ionisation FAB/LSIMS par rapport aux phénomènes d'ionisation "dures" en phase gazeuse (*Ionisation par Électrons-EI*) ou par rapport aux phénomènes d'ionisation "douces" en phase gazeuse (*Ionisation Chimique-CI*) et en phase condensée (*Électronébulisation-ESI*). L'analyse des résultats a donc été abordée avec une prémisse simple, soit que toutes différences entre la

technique FAB/LSIMS et les autres techniques permettraient de pencher en faveur d'un mécanisme d'ionisation particulier pour FAB/LSIMS; toutes similarités créeraient la situation contraire.

Puisque les résultats obtenus en FAB/LSIMS pour les isomères de l'oxyde de stilbène semblent exprimer de profondes divergences par rapport aux résultats obtenus à partir des techniques EI, CI et ESI, il pourrait être suggéré qu'il existe deux options différentes concernant l'ionisation des isomères. D'un côté, il y aurait les techniques EI, CI et ESI, desquelles les isomères ne pourraient être différenciés et d'un autre côté, il y aurait la technique LSIMS, qui permettrait cette différenciation. Ces options semblent être en relation rapprochée avec des observations précédemment publiées desquelles il a été proposé que des mécanismes du genre EI et CI en phase gazeuse et ESI en phase condensée puissent ne pas être reliés à la création d'ions en LSIMS (Section 1.3.1). Puisque cela a déjà été abondamment illustré dans la littérature à l'aide de données thermodynamiques sur les analytes et les matrices, il fut décidé, pour l'étude actuelle, d'élargir un tel champ de connaissances en explorant directement les caractéristiques structurales pendant chaque procédé d'ionisation. Dans cette optique, des analyses en spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) ont été effectuées avec chaque technique d'ionisation. En d'autres mots, il fut espéré de pouvoir identifier n'importe quel procédé fondamental qui pourrait révéler les raisons pour lesquelles les isomères peuvent être distingués en LSIMS et pas avec les autres techniques d'ionisation. Cela fut aussi effectué pour déterminer s'il était possible d'expliquer davantage l'évidente discrimination entre le mécanisme LSIMS et ceux agissant dans la phase gazeuse (EI,CI) ou en pré-équilibre en solution (ESI).

4.3 Résultats expérimentaux avec la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS).

Dans le but de faire enquête sur les différences observées pour les isomères cis et trans en EI, CI, ESI et LSIMS, il fut décidé d'examiner les caractéristiques structurales des ions créés par chaque technique d'ionisation à l'aide de la spectrométrie de masse en tandem. Conséquemment, dans les cas du EI, CI et LSIMS, on devait étudier les dissociations moléculaires qui étaient activées par la plus faible énergie possible². La fragmentation étudiée dans ces cas-ci était donc de type unimoléculaire, c'est-à-dire que seul l'énergie interne, donnée à l'analyte durant le procédé d'ionisation, contribuait à sa propre dissociation [71]. D'autres types de fragmentations, induites par contre, telle la "dissociation activée par collision" - *Collision Activated Dissociation (CAD)*, donnent trop d'énergie aux isomères durant la fragmentation. Cela contribue à placer les isomères dans un contexte énergétique où ils donnent absolument les mêmes formes moléculaires [71]. Ainsi, toutes possibilités de détecter des propriétés propres à chacun sont éliminées et il devient impossible de discerner des différences pouvant expliquer les comportements particuliers à chacun lorsque chaque technique d'ionisation est utilisée.

L'analyse des spectres MS/MS se fait normalement par l'observation de fragments issus de "pertes logiques" provenant des analytes. Ainsi, lorsque qu'on analyse un aldéhyde par exemple, il est normal d'observer une perte de 29 unités de masse qui

² Dans le cas de l'Électronébulisation, les précautions prises avec les autres techniques pour l'analyse MS/MS étaient impossibles à réaliser instrumentalement. Toutefois, cela n'a pas influencé l'étude à effectuer sur la fragmentation unimoléculaire (Voir Section 4.4)

provient de cette fonction chimique. Cela résulte en un pic de masse associé au fragment $[M-CHO]^+$ sur le spectre MS/MS. Dans le cas des énols, on perçoit une perte de 18 unités de masse et un fragment de type $[M-H_2O]^+$ apparaît sur le spectre MS/MS. De nombreuses pertes de masse peuvent être observées, mais assurément, elles sont toujours logiquement en relation avec la structure des ions échantillonnés [85].

4.3.1 Résultats avec LSIMS / MS.

Les expériences LSIMS-MIKES ont été effectuées en échantillonnant soit l'ion cis M^+ ou l'ion trans M^+ à partir des matrices NBA, HPEA ou HEDS durant le bombardement. En plus d'enquêter sur les structures ioniques désorbées, il était possible de vérifier si le type de matrice avait un effet sur la présence ou l'absence d'un effet-temps en mode LSIMS régulier; c'était le cas. Lorsque l'ion cis M^+ était échantillonné des matrices NBA et HPEA au début du bombardement, l'intensité relative du fragment $[M-CHO]^+$, attribuée à une perte d'aldéhyde, était plus intense que celle du fragment $[M-H_2O]^+$, attribuée à une perte d'eau. D'une manière quelconque, ces intensités relatives se sont nivelées l'une par rapport à l'autre après 3 minutes d'irradiation (Figures 16b,17b). Quant à l'ion trans- M^+ , celui-ci donnait un profil de fragmentation constant quand il était échantillonné à partir des matrices NBA et HPEA (Figures 16a,17a). Lorsque des expériences supplémentaires ont été effectuées en échantillonnant le cis ou trans- M^+ à partir de la matrice HEDS, ils menaient chacun à un profil de fragmentation constant dans le temps (Figure 18). C'est-à-dire que l'intensité relative du fragment $[M-CHO]^+$ dominait au-dessus de celle du fragment $[M-H_2O]^+$.

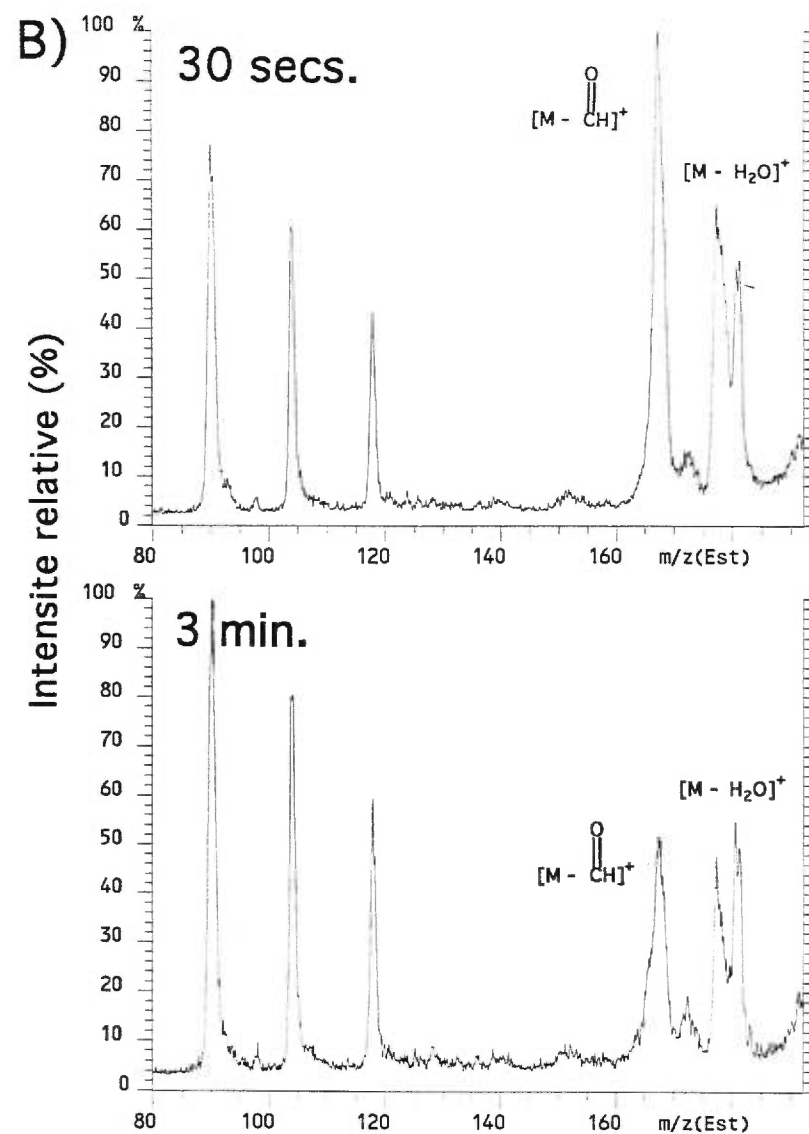
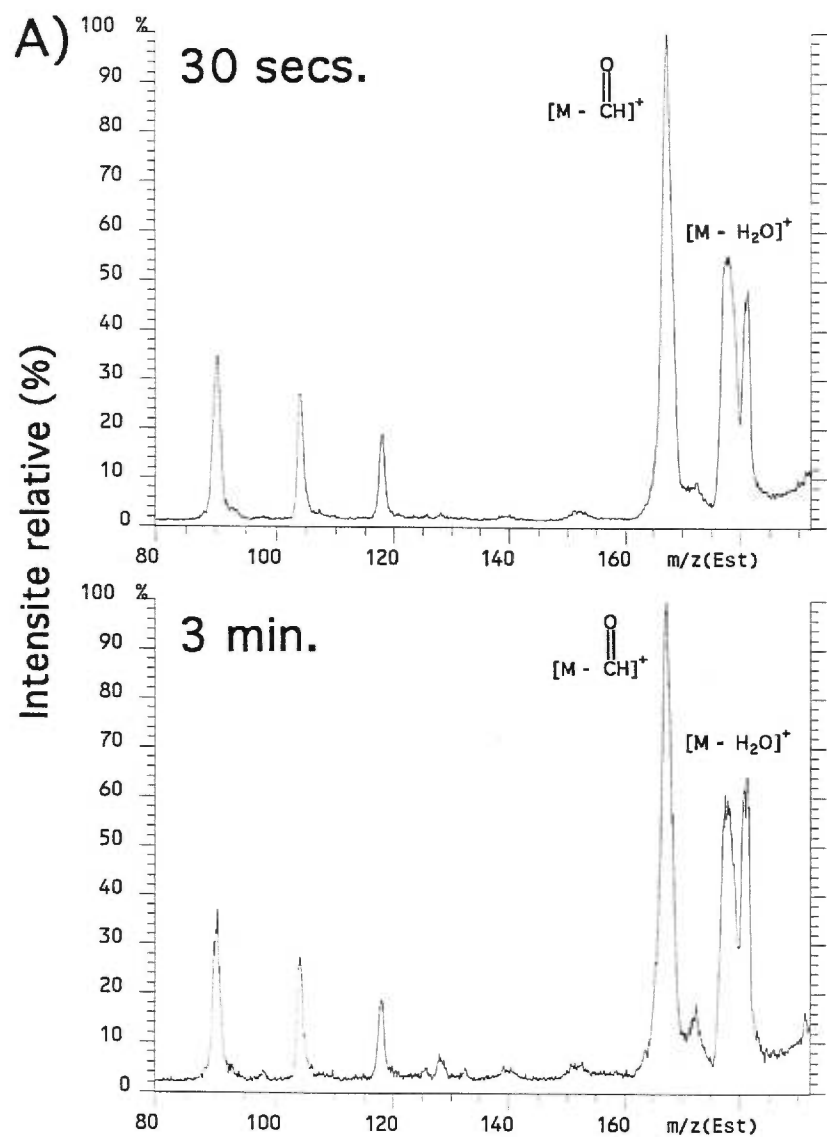


Figure 16: Spectres LSIMS-MIKES des isomères (A) trans et (B) cis après 30 secondes de bombardement et 3 minutes dans NBA - 1M.

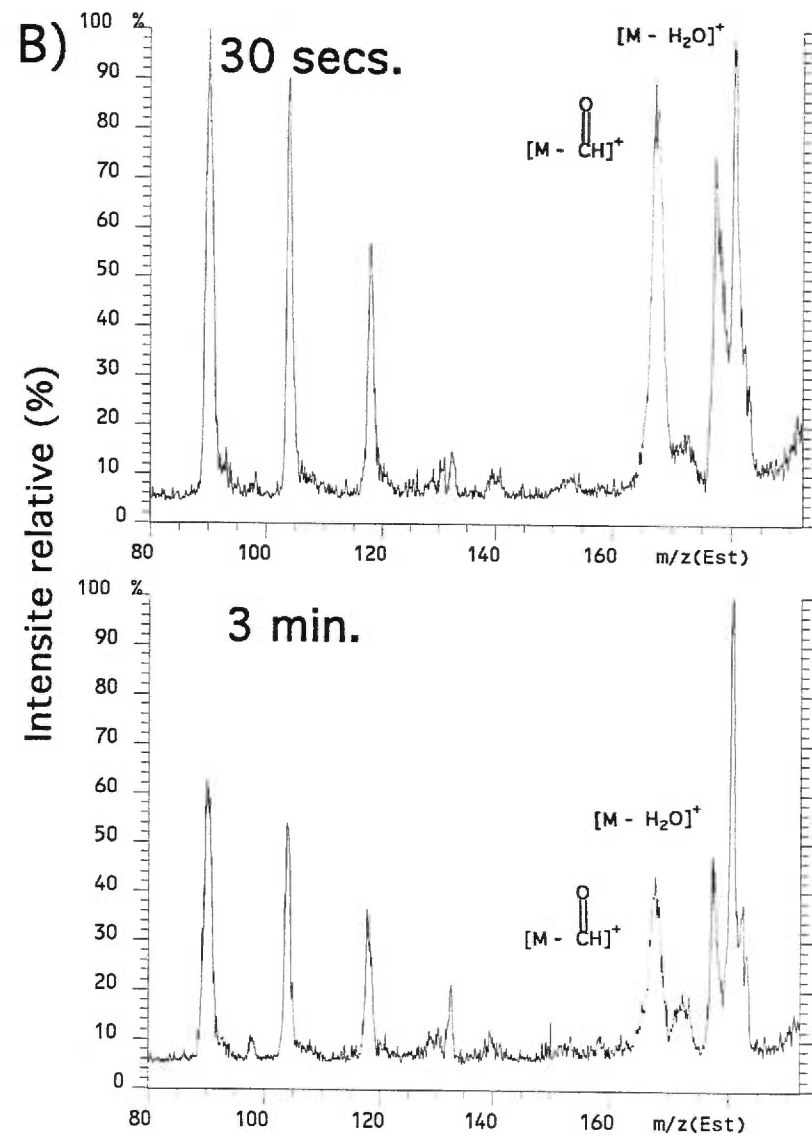
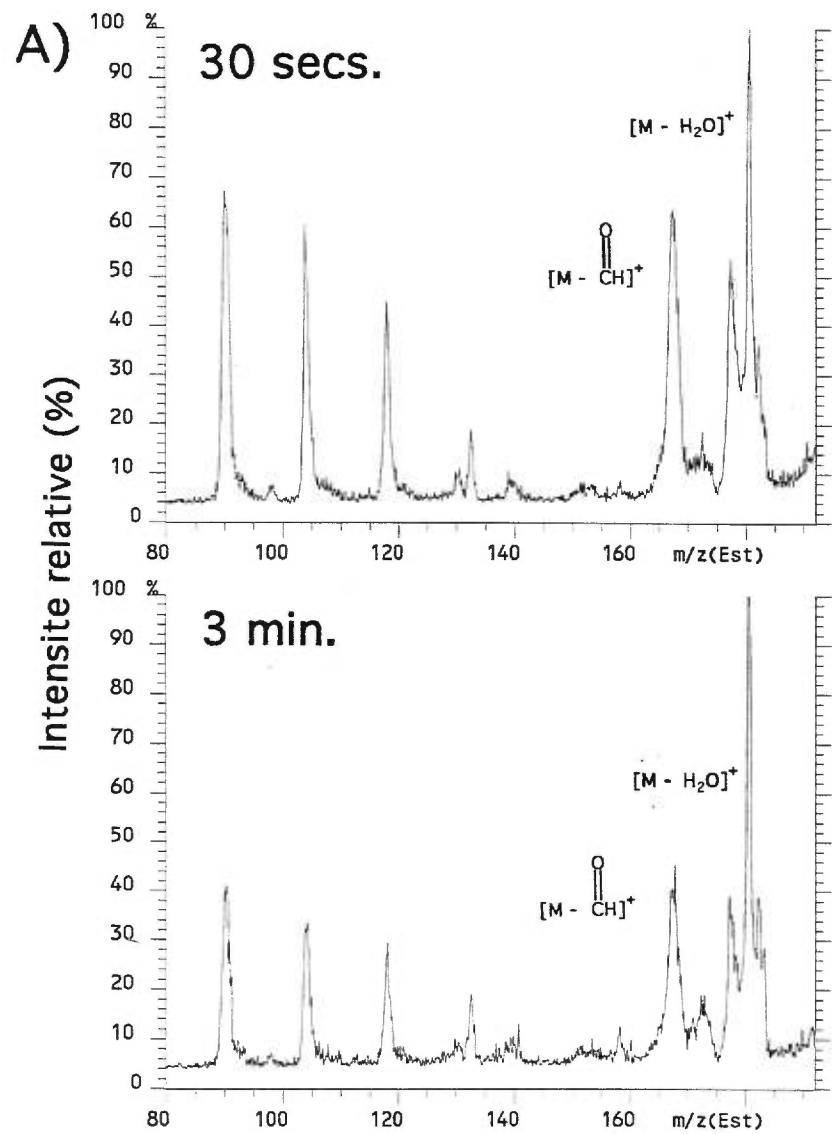


Figure 17: Spectres LSIMS-MIKES des isomères (A) trans et (B) cis après 30 secondes de bombardement et 3 minutes dans HPEA - 1M.

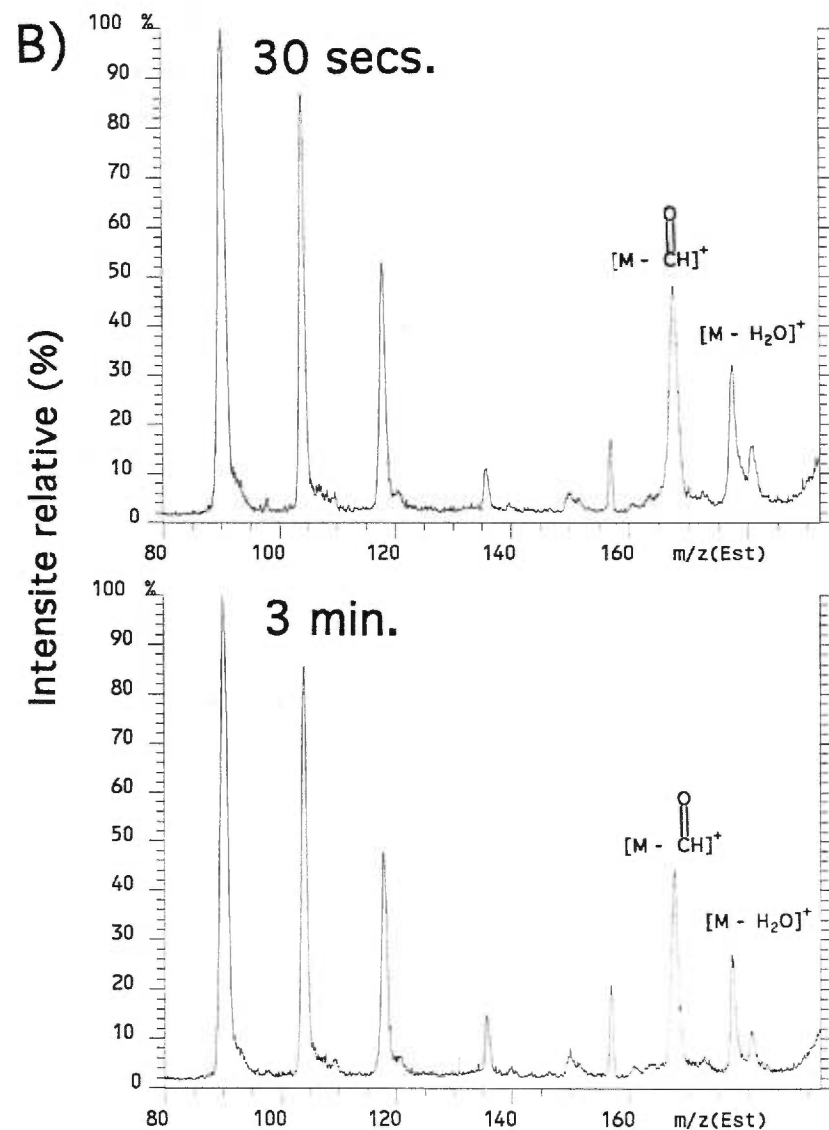
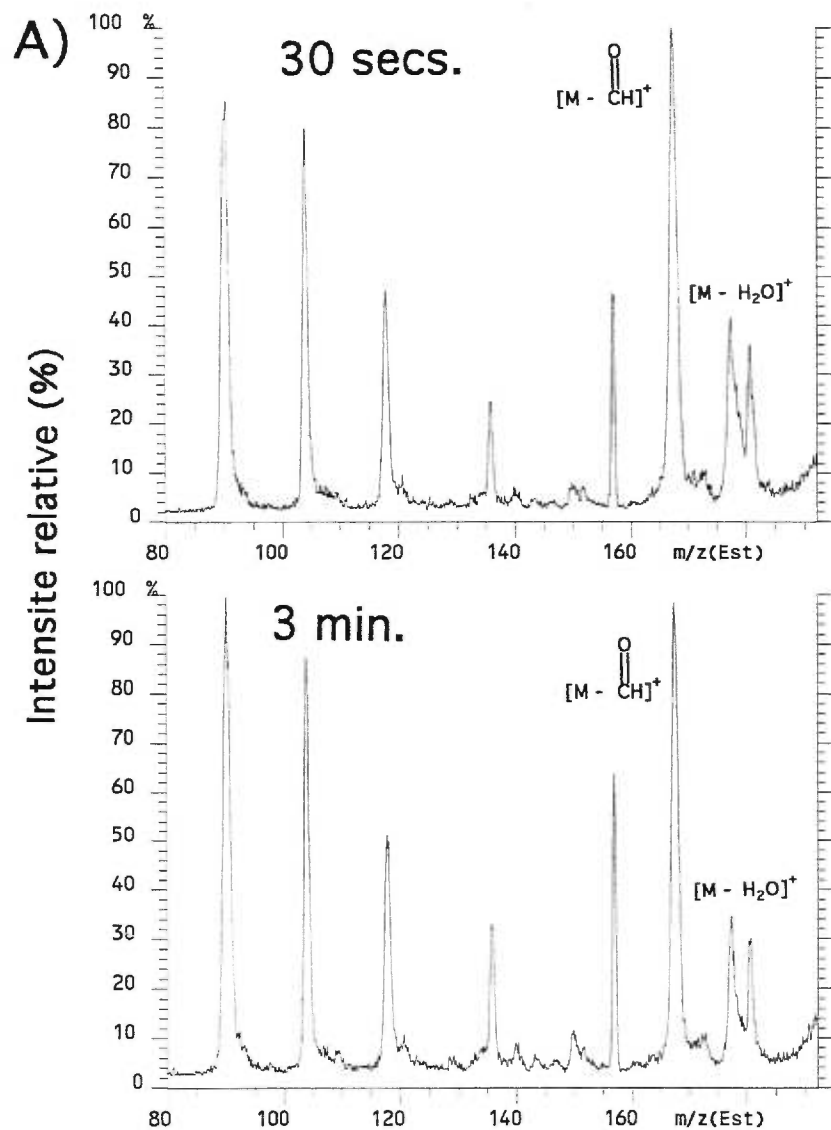
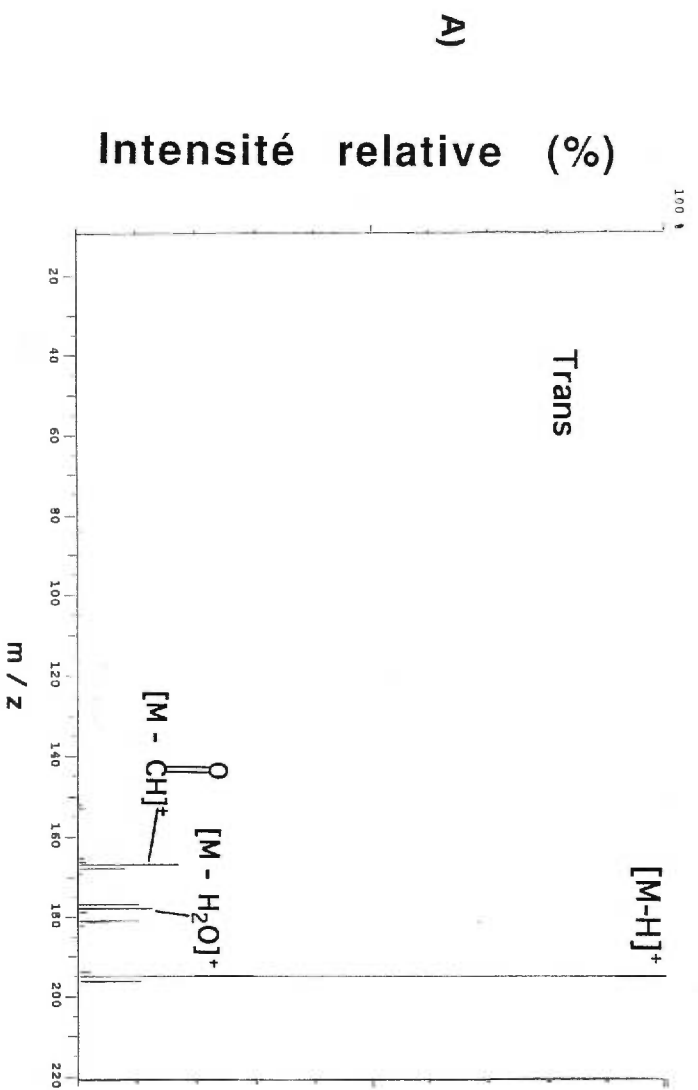


Figure 18: Spectres LSIMS-MIKES des isomères (A) trans et (B) cis après 30 secondes de bombardement et 3 minutes dans HEDS - 1M.

Il est important de mentionner que l'isomère trans a toujours donné plus de perte d'aldéhyde que de perte d'eau en comparaison à l'isomère cis. De plus, le fait que les isomères donnent des pertes d'eau et d'aldéhyde laisse présager qu'ils se transforment forcément en alcool et en aldéhyde durant le bombardement puisque les époxydes cis et trans ne comportent pas ces fonctions chimiques. En relation avec cela, il pourrait être envisageable que les étendues, envers chaque transformation structurale, ne soient pas les mêmes pour chacun des isomères. Un tel argument vient justement du fait que ceux-ci ne donnent pas les mêmes intensités relatives dans les pertes d'eau et d'aldéhyde. Aussi, il faut souligner l'importance d'un autre fait, soit que seul le cis donnait une fragmentation variable dans le temps en LSIMS/MS (Figures 16b,17b). De façon intéressante, seul cet isomère menait aussi à un effet-temps en LSIMS standard (Tableau 7; Figure 12b).

4.3.2 Résultats avec EI / MS / MS

Ces expériences de spectrométrie de masse en tandem ont démontré que la fragmentation des ions cis et trans- $M^{+•}$ a donné, pour les deux cas séparés, la même étendue de formation d'ions $[M-H]^+$ (Figure 19). Il faut rappeler que ce genre de fragmentation, de $M^{+•}$ à $[M-H]^+$, a déjà été observé auparavant et attribué à une perte d'atome hydrogène [26]. Les autres types de fragmentation sont apparemment semblables, la perte d'aldéhyde ($m/z=167$) et la perte d'eau ($m/z=178$) menant respectivement à des fragments d'intensités relatives identiques pour les deux isomères. Donc, les ions $M^{+•}$, créés à partir de l'un ou l'autre des deux isomères avec l'ionisation EI, ont donné les mêmes proportions de structures $[M-H]^+$, $[M-CHO]^+$ et $[M-H_2O]^+$. Il faut, par conséquent, en déduire que les ions moléculaires créés en EI, $M^{+•}$ -cis et $M^{+•}$ -trans, ont des structures identiques. Ces résultats divergent de ceux obtenus avec le LSIMS/MS puisque les analyses semblaient alors démontrer que des proportions différentes d'aldéhyde et d'alcool étaient engendrées par les isomères de l'oxyde de stilbène.



62

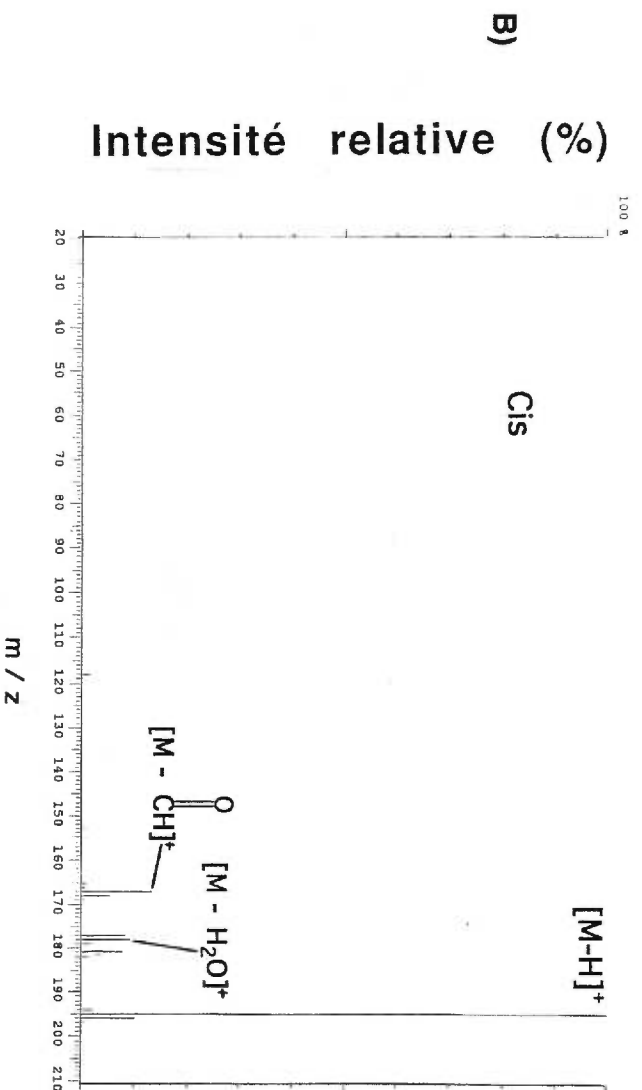


Figure 19: Spectres EI/MS/MS des isomères (A) trans et (B) cis de l'oxyde de stilbène.

4.3.3 Résultats avec CI / MS / MS.

Ces résultats ont démontré que la fragmentation de l'ion $[M+H]^+$ donnait aussi un profil de fragmentation identique pour les deux isomères : Un fragment M^+ presque négligeable, une perte d'eau ($m/z=179$) et des aromatiques tels que le benzyle et le phénoxyde à $m/z=91$ et $m/z=105$ (Figure 20). Malgré que l'ionisation Chimique soit un processus différent de l'ionisation par Électrons, les mêmes arguments que ceux de la section 4.3.2 sont amenés pour expliquer les résultats obtenus en CI/MS/MS. Ainsi, le processus menant à la distinction observée entre les isomères avec le LSIMS n'a apparemment rien à voir avec le procédé CI. Cela est évidemment relié au fait que l'ionisation Chimique n'a pas permis de voir de différences entre les deux isomères lorsqu'on analyse la fragmentation effectuée avec les ions $[M+H]^+$.

4.2.8 Résultats avec ESI / MS / MS

Cette fois-ci, la technique de MS/MS qui fut utilisée était ce qu'on peut décrire comme une analyse des fragments obtenus par l'accroissement successif du voltage d'accélération dans la source d'ionisation. Cette technique, la "Collision Induced Dissociation" - *CID*, permet de varier l'énergie interne de l'ion sélectionné afin de contrôler son degré de fragmentation. La méthode permet d'optimiser le nombre de fragments visibles sur le spectre et il en résulte ainsi une meilleure analyse/comparaison des patrons de fragmentation des analytes [5]. Les résultats ont démontré que les ions $[M+H]^+$ obtenus des isomères *cis* et *trans* n'effectuaient pas exactement les mêmes types de fragmentation (Figure 21), tous les fragments étant toutefois de mêmes types que ceux décrits dans les sections précédentes. Alors, la distinction des isomères semblait aussi possible en ESI/MS/MS, quoique le profil de fragmentation de chacun divergeait énormément de ce qu'il a été observé en LSIMS/MS. Il est alors fort probable que les processus, menant à la formation d'ions en ESI et en LSIMS, soient tout à fait différents l'un de l'autre.

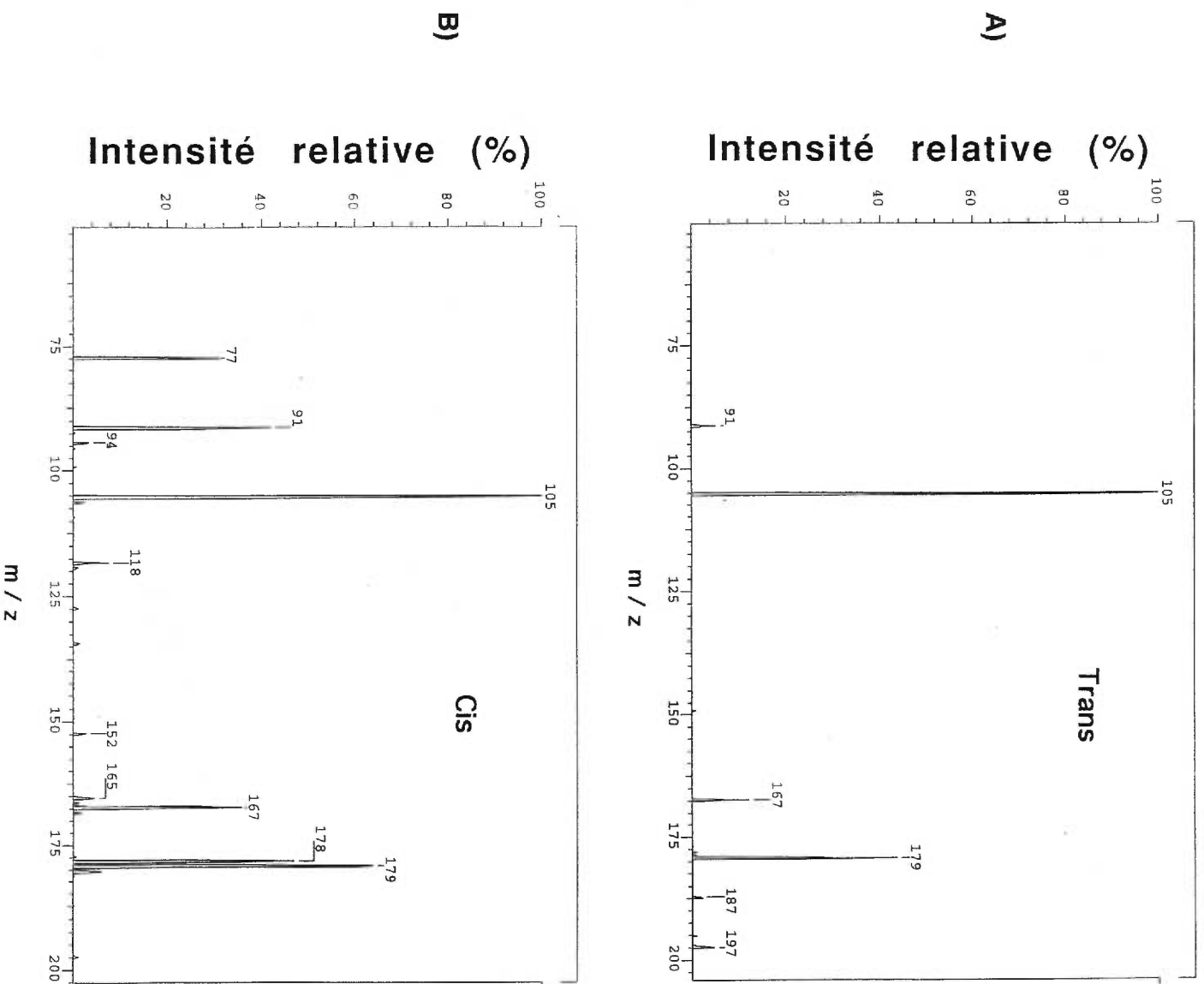


Figure 20: Spectres C/MS/MS des isomères (A) trans et (B) cis de l'oxyde de stilbène.

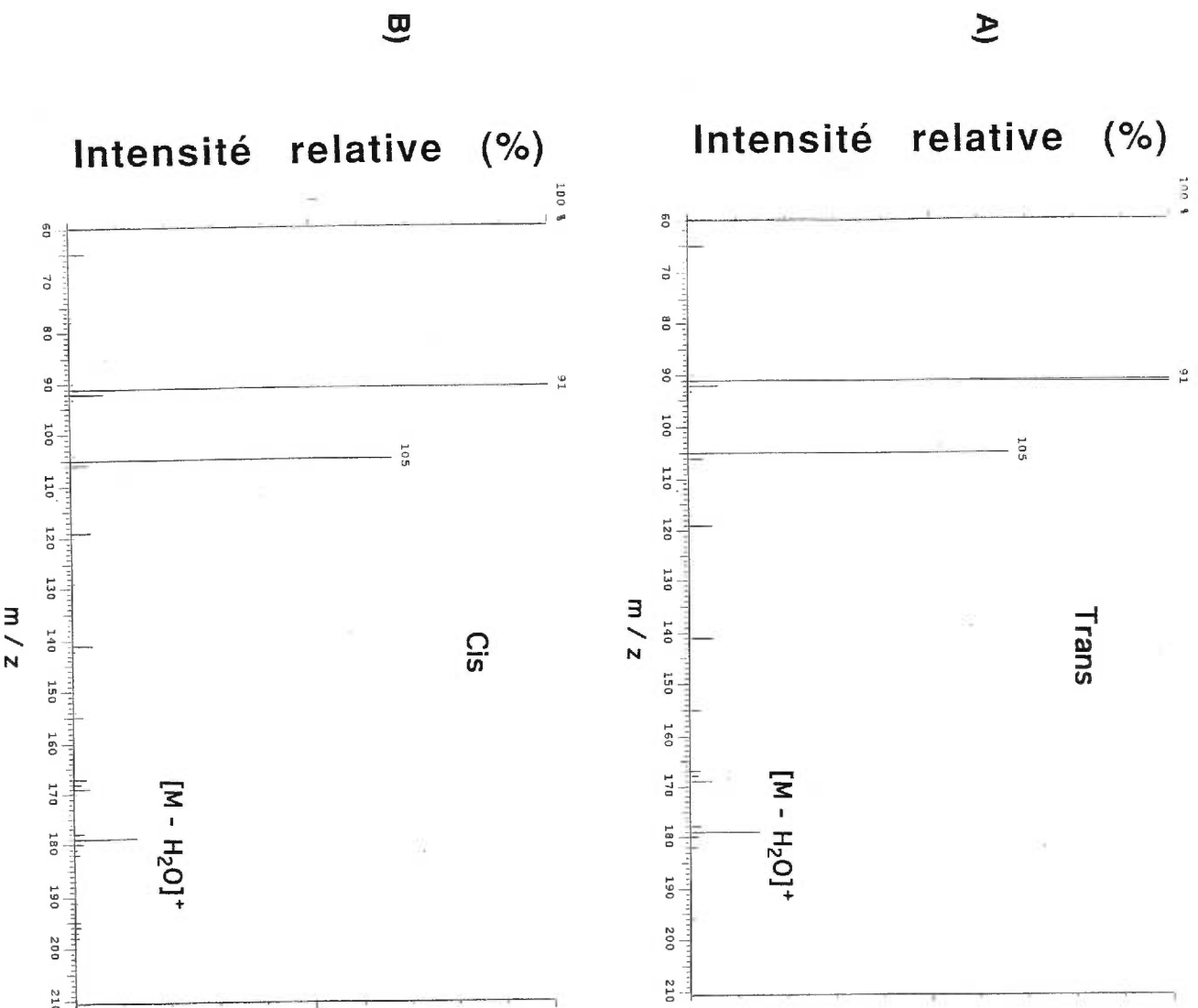


Figure 21: Spectres ES/MS/MS des isomères (A) trans et (B) cis de l'oxyde de stilbène.

Les analyses en spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), combinée aux diverses techniques d'ionisation, ont permis d'établir que, similairement à la MS, les analyses MS/MS ne permettaient de discerner des comportements distinctifs que lorsque l'ionisation LSIMS était utilisée. En plus de cela, un effet-temps en LSIMS/MS a été observé pour les mêmes échantillons d'analyte/matrice qui ont donné aussi un effet-temps en LSIMS.

Comme les informations obtenues de la fragmentation des ions M^+ en EI/MS/MS et des ions $[M+H]^+$ en CI/MS/MS n'ont alloué aucune différenciation entre les isomères (Figures 19,20), on croit que ces techniques isomérisent, de quelconques manières pendant leur procédé respectif, les oxydes cis et trans du stilbène. Quoique ces isomérisations ne sont probablement pas de même type en EI et CI. En ce qui concerne la technique EI, il est possible que la quantité d'énergie d'ionisation déposée dans les analytes ait amené ceux-ci à un niveau énergétique où seulement une seule espèce ionique ou un mélange identique d'isomères ionisés pouvait exister pour les deux analytes. Incidemment, il serait normal que les ions M^+ , échantillonnés de n'importe quel isomère, puissent donner le même profil de fragmentation en MS/MS (Figure 19). Des résultats similaires ont déjà été publiés, desquels il fut conclu que l'isomérisation des ions moléculaires était prévue pour être très active lorsque son énergie d'activation était au-dessous de celle de la plus basse énergie de fragmentation. Cela est particulièrement véridique lorsque l'isomérisation est amplifiée par des changements de positions d'hydrogènes, à basse énergie, et des fragmentations de structures aromatiques, à haute énergie [71], comme ce devrait être le cas pour les isomères cis

et trans en EI. Avec les résultats acquis en CI, il a été démontré que les ions $[M+H]^+$, créés à partir du cis ou du trans, ont donné les mêmes spectres MS/MS (Figure 20). Cela est peut-être la conséquence d'une protonation typique des époxydes où normalement une rotation libre autour du lien carbone-carbone est subséquente à une rupture du lien carbone-oxygène de l'hétérocycle [78]. Pour ces raisons, la protonation des oxydes cis et trans du stilbène est considérée comme isomérisante, annulant ainsi toutes différenciations possibles avec le CI/MS/MS.

Quant aux différences observées dans les résultats obtenus du ESI/MS/MS (Figure 21), ils pourraient être expliqués par le fait que l'Électronébulisation ne requiert aucun ajout d'énergie dans l'analyte pour l'ioniser [79]. Alors, il est possible que les légères différences entre les isomères ont été observées parce que chacun était gardé confiné dans son propre puits de potentiel pendant l'ionisation. En relation avec cela, il est important de mentionner que les isomères ont montré exactement les mêmes spectres MS/MS lorsque les fragmentations ont été rehaussées par collision activée (*CAD*-Voir Section 2.2.2). De tels détails concernant la dissociation à partir de différents niveaux énergétiques ont déjà été pleinement étudiés par MS/MS. Globalement, il a été rapporté que la *CAD* permet plutôt d'échantillonner les ions isomérisés [71]. Cela serait une indication attestant que l'énergie des ions doit être considérablement amplifiée pour obtenir l'isomérisation en ESI. Ce qui en fait probablement une des techniques de choix pour l'analyse des fragmentations des isomères.

Finalement, les résultats obtenus en LSIMS/MS ont semblé indiquer que des caractéristiques structurales inattendues pourraient avoir influencé les résultats en LSIMS standard. Ces caractéristiques structurales sont crues pour être directement en relation avec un nombre de fonctions chimiques engendrées durant le bombardement. D'une quelconque manière, ces fonctions chimiques, dévoilées par les résultats de l'enquête en MS/MS, n'ont rien à voir avec les isomères cis et trans originels. Les spectres LSIMS/MS ont plutôt montré des pertes d'eau ($m/z=178$) et d'aldéhyde ($m/z=167$), informant ainsi que des entités de type aldéhyde et alcool étaient issues des isomères (Figures 16-18). Puisque les oxydes cis et trans du stilbène n'ont pas de telles fonctions chimiques, ceux-ci auraient dû avoir passé au travers un certain nombre de réorganisations structurales pendant le bombardement. De toute façon, cela est sûrement un comportement normal pour ces isomères, puisque les mêmes genres de transformations sont aussi observés avec les autres techniques d'ionisation. Le degré envers chaque genre de réorganisation structurale a été approximativement le même pour les deux isomères en EI et en CI, ce qui devrait être une conséquence de l'isomérisation discutée ci-haut (Figures 19,20). Toutefois, le fait intéressant en LSIMS est que les oxydes cis et trans du stilbène ne sont peut-être pas passés avec le même degré au travers chaque type de réorganisation structurale.

Tel que les résultats en LSIMS/MS l'ont démontré, le rapport d'intensités relatives $[M-H_2O]^+ / [M-CHO]^+$ a changé selon le type de combinaison de matrice et d'analyte qui a été étudié (Figures 16-18). Comme pour le cas des intensités relatives des pics de masse dans la région moléculaire en LSIMS (Figure 12, Tableau 7). Lorsque chaque cas

de matrice est individuellement considéré, il semble que la formation d'ions M^+ en LSIMS standard a été intensifiée pour l'isomère qui montrait le plus faible rapport $[M-H_2O]^+ / [M-CHO]^+$ en MS/MS, comme c'était en faveur de la formation d'ions $[M+H]^+$ pour l'isomère qui donnait le rapport le plus fort. En plus, lorsque le rapport $[M-H_2O]^+ / [M-CHO]^+$ augmentait avec le temps de bombardement en MS/MS (Figures 16b,17b), une augmentation dans la production d'ions $[M+H]^+$ était recensée pour l'isomère cis en LSIMS standard (Figure 12b, Tableau 7). Simplement dit, il semble qu'une perte croissante d'eau a été observée dans le temps en MS/MS alors que la protonation devenait plus active en LSIMS standard. D'autres auteurs ont déjà observé des variations dans l'échantillonnage d'espèces ioniques en FAB/LSIMS [64,80-83]. Il avait été rapporté que ces anomalies étaient surtout reliées à des phénomènes tels que la cristallisation des analytes dans la matrice, l'évaporation de la matrice et la formation de croûtes d'analytes à la surface de l'échantillon [80-83]. Tuinmann a quant à lui apparenté les variations d'intensités à un échantillonnage hétérogène d'espèces ioniques à partir de la surface de l'échantillon pendant le bombardement [64]. Pour les expériences nécessaires à la présente étude, aucune cristallisation, évaporation et formation de croûtes n'a été discernée.

4.4 Conclusions.

Les indications fournies par la LSIMS/MS pourraient être utilisées comme base pour rationaliser les résultats en LSIMS, c'est-à-dire le plus faible rapport $[M+H]^+ / M^+$ pour l'isomère trans en comparaison à celui du cis et aussi, pour l'augmentation de ce même rapport dans le temps pour le cis dans les matrices NBA et HPEA. Le schéma ci-dessous décrit les réorganisations structurales qui auraient dû précéder la perte d'aldéhyde et d'alcool pour les isomères.

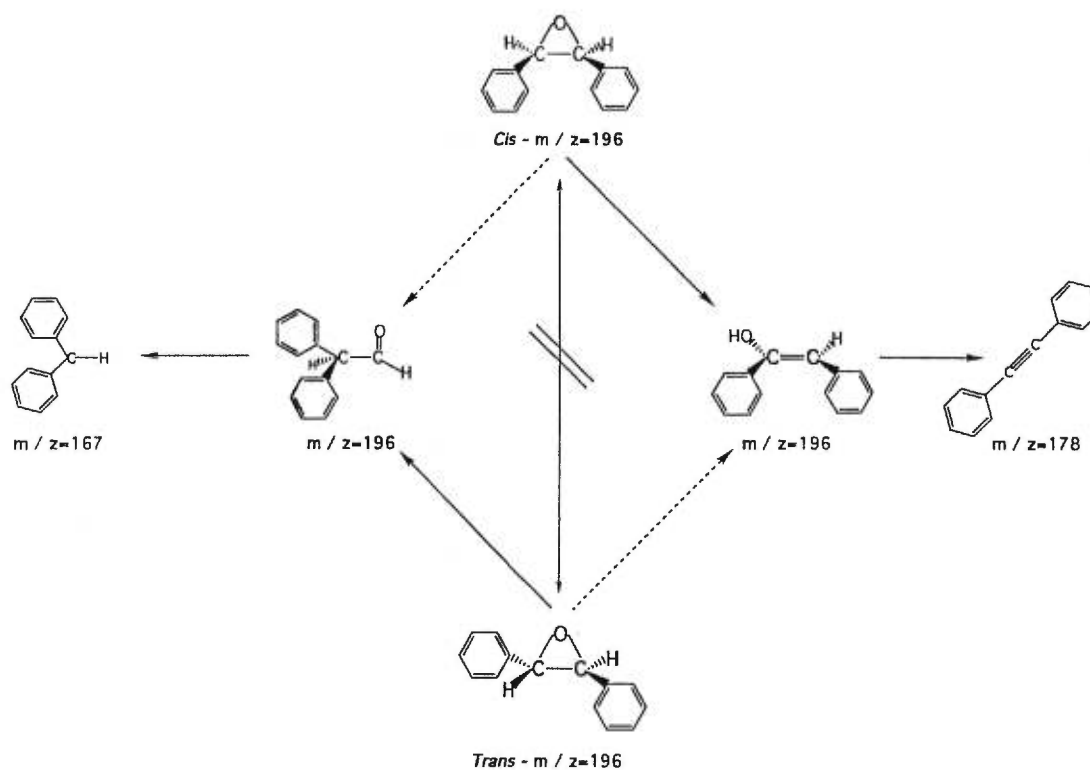


Figure 22: Schéma des réorganisations structurales des isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène pendant le bombardement en LSIMS.

Ainsi, pour que les pertes d'eau et d'aldéhyde soient effectives à partir de la fragmentation de l'ion M^+ en MS/MS, les réorganisations devaient créer deux isomères structuraux différents et de même masse moléculaire à partir des oxydes de stilbène, c'est à dire le diphénylacétaldéhyde et une espèce énolique. Pour démontrer un tel phénomène, des composés de références, le diphénylacétaldéhyde et le déoxybenzoïne, ont été analysés avec la matrice NBA en LSIMS/MS. Il faut noter ici que le déoxybenzoïne a été désigné comme composé de référence parce c'est la seule contrepartie céto-énolique stable et disponible correspondant à l'entité énolique proposée pour la réorganisation structurale à la Figure 22. L'analyse de ce composé par MS/MS a résulté en une convergence avec le comportement de l'oxyde de stilbène cis dans les mêmes conditions, même si une perte d'eau plus intense a été obtenue avec le composé de référence (Figures 16b,23b). Néanmoins, une telle perte, en plus du reste de la fragmentation, peu très bien démontrer la transformation de l'isomère cis et du déoxybenzoïne en l'énol de la Figure 22. La différence dans l'étendue de la perte d'eau pourrait venir du fait que le déoxybenzoïne est beaucoup plus proche que l'oxyde de stilbène cis relativement à la forme énolique. Conséquemment, une transformation plus rapide du composé de référence vers l'énol serait la raison pour laquelle plus de perte d'eau subséquente est observée. Ensuite, lorsque les analyses LSIMS/MS ont été effectuées avec le diphénylacétaldéhyde, les résultats ont donné un spectre MS/MS des plus semblables à celui de l'isomère trans dans les mêmes conditions (Figures 16a,23a), confirmant ainsi la réorganisation du trans en diphénylacétaldéhyde. Donc, les résultats obtenus avec les produits de références en LSIMS/MS ont indiqué clairement que les procédés induits par le bombardement LSIMS conféraient une disposition à l'oxyde de stilbène trans pour se réorganiser en diphénylacétaldéhyde, expliquant ainsi plus de perte d'aldéhyde, alors qu'ils permettaient au cis de se transformer dans une forme énolique, donnant ainsi plus de perte d'eau.

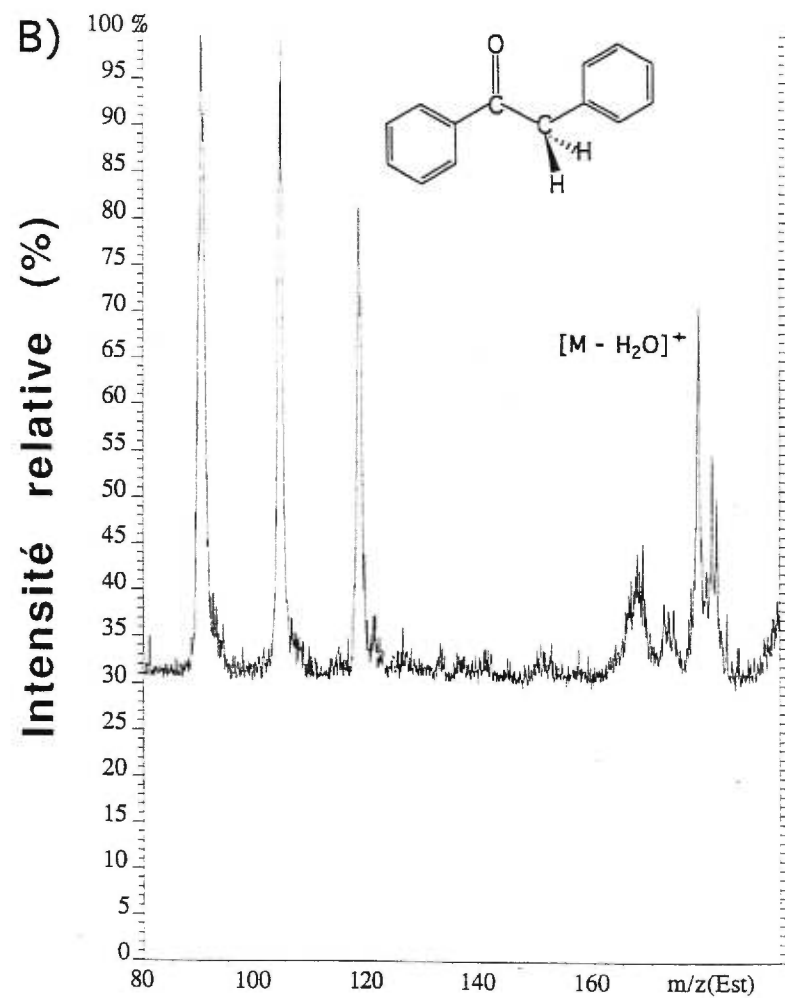
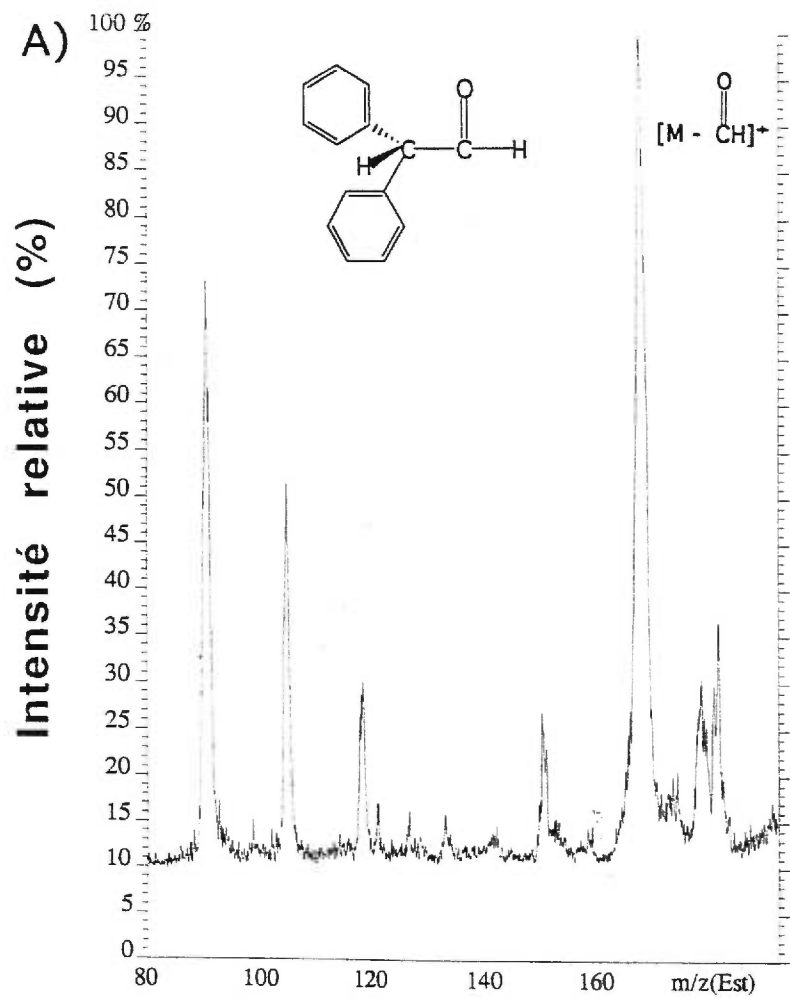


Figure 23: Spectres LSIMS-MIKES du (A) diphenylacétaldéhyde et du (B) déoxybenzoïne dans NBA - 1M

Des travaux rapportés auparavant dans la littérature ont permis d'envisager qu'une accumulation d'espèces réactives dans la matrice et/ou un échantillonnage retardé d'espèces ioniques moléculaires pendant l'érosion de la matrice pouvaient expliquer les effets-temps observés (Voir Section 1.3.1). L'établissement d'une preuve pour de tels phénomènes permettrait d'établir d'avantage la différence entre le procédé LSIMS et les techniques d'ionisation en phase gazeuse (EI, CI) ou d'ionisation par pré-équilibre en solution (ESI). Cela implique qu'il devait être décisivement prouvé que les réorganisations, démontrées ci-haut à la figure 22, survenaient dans la phase condensée et ce, pendant le bombardement. Il fallait aussi démontrer que ces réorganisations avaient une influence sur la désorption hétérogène d'ions moléculaires (effet-temps) dans des conditions similaires.

Premièrement, il fallait déterminer les raisons pour lesquelles les isomères originaux se transformeraient préféablement en des proportions parfois variables d'aldéhyde et d'énol en LSIMS et cela, contrairement aux autres techniques. La réponse réside peut-être dans un changement croissant des propriétés des matrices occasionné par les dommages du bombardement. Une telle variation des propriétés dans le temps pourrait modifier les paramètres thermodynamiques et cinétiques globaux qui favoriseraient premièrement la solvation des états de transitions menant aux formes aldéhyde et énol et finalement, l'échantillonnage de ces derniers. De plus, comme les différentes matrices ont différentes propriétés, même sous une irradiation endommageante, il semble possible que chacune de celles-ci puissent offrir un type particulier et variable de solvation pendant le bombardement. Forcément, il en résulterait, selon le type

d'analyte et de matrice étudiés, différentes solvations d'états de transition et diverses proportions dans l'échantillonnage d'espèces moléculaires. Ces raisonnements devraient appuyer une hypothèse préalablement formulée comme quoi il pouvait exister, dans les matrices durant le bombardement, des états de transitions d'espèces moléculaires ayant des énergies de solvations différentes [26,27]. Si les espèces moléculaires avaient atteint leurs états de transitions respectives dans la phase gazeuse, il n'y aurait jamais eu les différences observées entre la formation de l'aldéhyde et de l'énol dans le temps. Cela parce que le concept de solvation variable, favorisant préférentiellement certains états de transition, ne peut exister dans la phase gazeuse. Forcément, un changement de matrice ou de leurs propriétés auraient une influence sur la stabilisation préférentielle d'états de transition et cela permet d'évoquer que cette stabilisation impliquerait la phase condensée. Ainsi, lorsqu'on étudie le concept de la réorganisation sélective qui est particulier au LSIMS, les arguments penchent en faveur d'une manifestation en phase condensée pendant le bombardement.

Jusqu'à maintenant, l'étude a permis d'envisager que l'accroissement du rapport $[M+H]^+ / M^+$ en LSIMS standard soit en relation avec l'accroissement du rapport $[M-H_2O]^+ / [M-CHO]^+$ en LSIMS/MS. Ce phénomène a apparemment pour origine la prédisposition de l'isomère cis à se transformer en alcool dans la phase condensée durant le bombardement. Selon le même argument, on peut prétendre que la susceptibilité de l'isomère trans à se transformer en aldéhyde causerait l'observation d'un rapport $[M+H]^+ / M^+$ plus faible et constant en LSIMS, qui serait semblablement en relation avec un rapport $[M-H_2O]^+ / [M-CHO]^+$ aussi constant et plus faible en LSIMS/MS. Explicitement,

cela implique qu'il est possible que l'augmentation dans la proportion de l'échantillonnage de la forme alcool à partir de la matrice ait été en relation avec le rehaussement de l'échantillonnage de l'ion $[M+H]^+$ pour l'isomère cis. Dans la même optique, une plus grande étendue dans la fragmentation de l'aldéhyde, quoique constante, et une formation plus intense et constante d'ions M^+ pour l'isomère trans pourraient être associées. Puisqu'un alcool est plus basique qu'un aldéhyde, il n'est pas surprenant d'observer la protonation s'intensifier dans le temps à mesure que la forme alcool est de plus en plus échantillonnée durant le bombardement pour l'isomère cis (Figures 12b,16b).

Donc, l'échantillonnage retardé des espèces ioniques moléculaires emprisonnées dans la matrice semble être confirmé et également, la validité des phénomènes en phase condensée induits par le bombardement LSIMS. Ces arguments nous ont amené finalement à expliquer l'effet-temps qui a été observé seulement en LSIMS : La protonation croissante de l'isomère cis est issue d'une accumulation de sa forme énol durant bombardement dans la matrice (Figure 12b).

Globalement, l'étude des isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène avec divers types d'ionisation a permis d'établir une ségrégation entre l'ionisation LSIMS et les techniques impliquant la phase gazeuse comme le EI et le CI ou celle impliquant l'ionisation par pré-équilibre en solution, le ESI. Grâce à la spectrométrie de masse en tandem, les aspects structuraux des analytes ont pu être étudiés et il en est ressorti que les isomères acquéraient vraisemblablement des formes structurales différentes des

originels durant les procédés d'ionisation. D'ailleurs, que dans le cas du LSIMS, cela a été observé avec une variation des concentrations respectives des structures dérivées. Il est conclu qu'une ionisation en phase condensée induite par le bombardement est le phénomène le plus probable en LSIMS. D'ailleurs, d'autres phénomènes en phase condensée ont été explorés pour expliquer le type d'effet-temps observé pour l'isomère cis de l'oxyde de stilbène et pour d'autres composés. Les explications potentielles viennent d'une corrélation avec des données empruntées à la radiolyse, une autre technique impliquant des phénomènes en phase condensée induits par un bombardement. Il en sera question au chapitre 6.

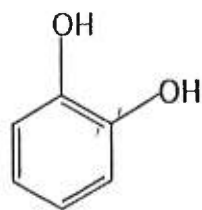
CHAPITRE 5

Étude des influences de la substitution du phénol sur l'ionisation en FAB/LSIMS.

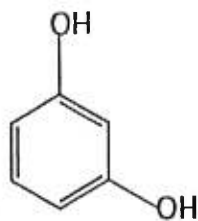
5.1 But de l'étude des phénols substitués en FAB/LSIMS.

Grâce à leur diversité, les phénols substitués constituent un groupe de composés des plus intéressants pour l'étude des phénomènes menant à la protonation et/ou à la perte d'un électron durant le processus d'ionisation FAB/LSIMS. En effet, ces composés ont toutes les structures caractéristiques qui permettent théoriquement de donner les ions $[M+H]^+$ et M^+ (Figures 24,25; Section 1.3.2). Jusqu'à maintenant, les résultats obtenus en FAB/LSIMS pour les phénols substitués ont montré que les processus d'ionisation menant à la formation de ces ions semblent être compétitifs. Généralement, les phénols substitués donnent, du même coup, les pics de masse des ions M^+ et $[M+H]^+$ dans la région moléculaire des spectres LSIMS.

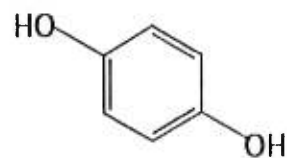
Pour pouvoir décrire plus précisément cette possible compétition entre les facteurs structuraux menant à la protonation et aux pertes des électrons, l'influence du type de substituants fut d'abord considérée. Ensuite, l'influence de la position des substituants, en *ortho*, *méta* et *para*, fut étudiée de plus près pour tenter de décrire d'avantage le comportement d'isomères avec lesquels on obtient des résultats différents en FAB/LSIMS.



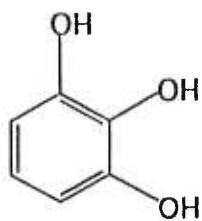
Catéchol



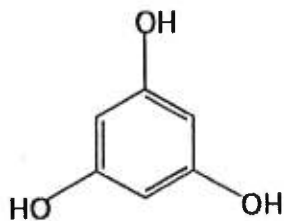
Résorcinol



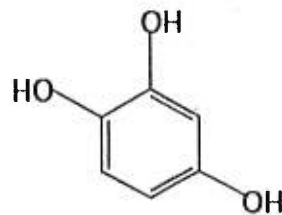
Hydroquinone



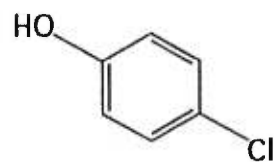
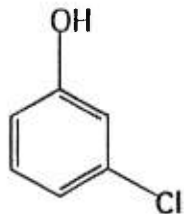
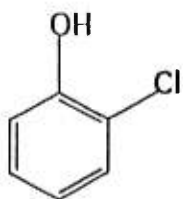
Pyrogallol



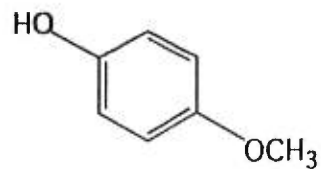
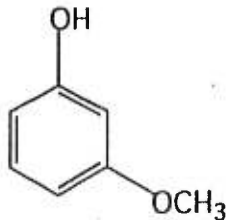
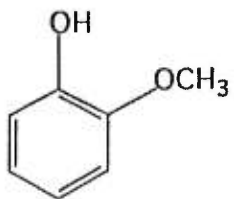
1,3,5-Trihydroxybenzène



1,2,4-Trihydroxybenzène

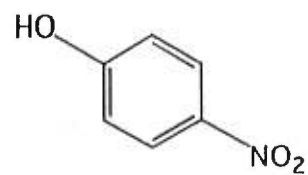
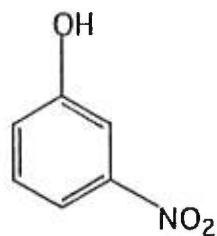
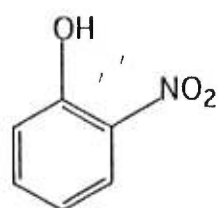


Chlophénols

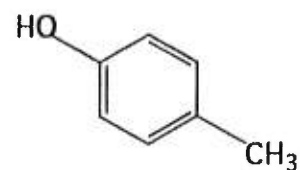
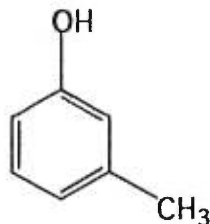
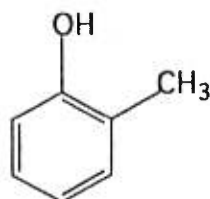


Méthoxyphénols

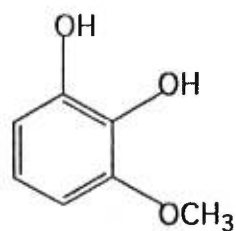
Figure 24: Phénols substitués utilisés pour l'étude en FAB.



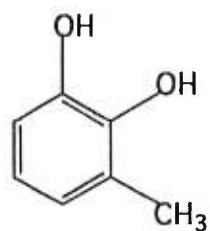
Nitrophénols



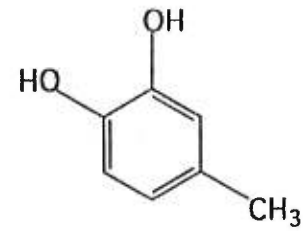
Crésols



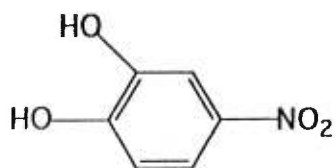
3-Méthoxycatéchol



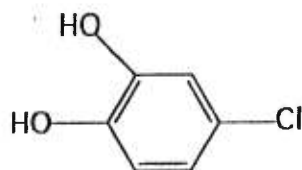
3-Méthylcatéchol



4-Méthylcatéchol



4-Nitrocatéchol



4-Chlororésorcinol

Figure 25: Phénols substitués utilisés pour l'étude en FAB.

5.2 Résultats expérimentaux

5.2.1 Résultats pour les phénols substitués en FAB.

Initialement, les processus d'ionisation agissant sur les phénols substitués ont été étudiés dans les matrices NBA, HBSA, HPEA, DMBA, HEDS, TDE, ANH, GLY et TG. Cependant les résultats qui ont été obtenus et le traitement qui en a résulté aurait largement dépassé les limites de cette étude. Par conséquent, les seuls résultats présentés ici sont ceux obtenus dans la matrice NBA, l'utilisation de celle-ci ayant d'ailleurs permis d'observer le plus grand nombre de tendances caractéristiques à chaque phénol substitué. Il faut mentionner que des tendances anormales ont été observées dans une autre matrice, le ThioGlycérol (TG), et il en sera question au chapitre 6. Les résultats obtenus pour les phénols substitués en FAB avec la matrice NBA sont résumés à la Figure 26. Puisque l'étude concerne l'influence des structures des analytes sur la formation des ions M^{+} et $[M+H]^{+}$, les résultats sont présentés sous forme du rapport d'intensités relatives des pics de masse de ces ions en fonction du type et de la position des substituants. Ainsi, plus le procédé FAB a produit des ions M^{+} par rapport aux ions $[M+H]^{+}$ et plus le rapport $M^{+} / [M+H]^{+}$ est élevé. Aucun résultat n'a été accumulé pour les crésols parce que ceux-ci étaient insolubles dans toutes les matrices utilisées.

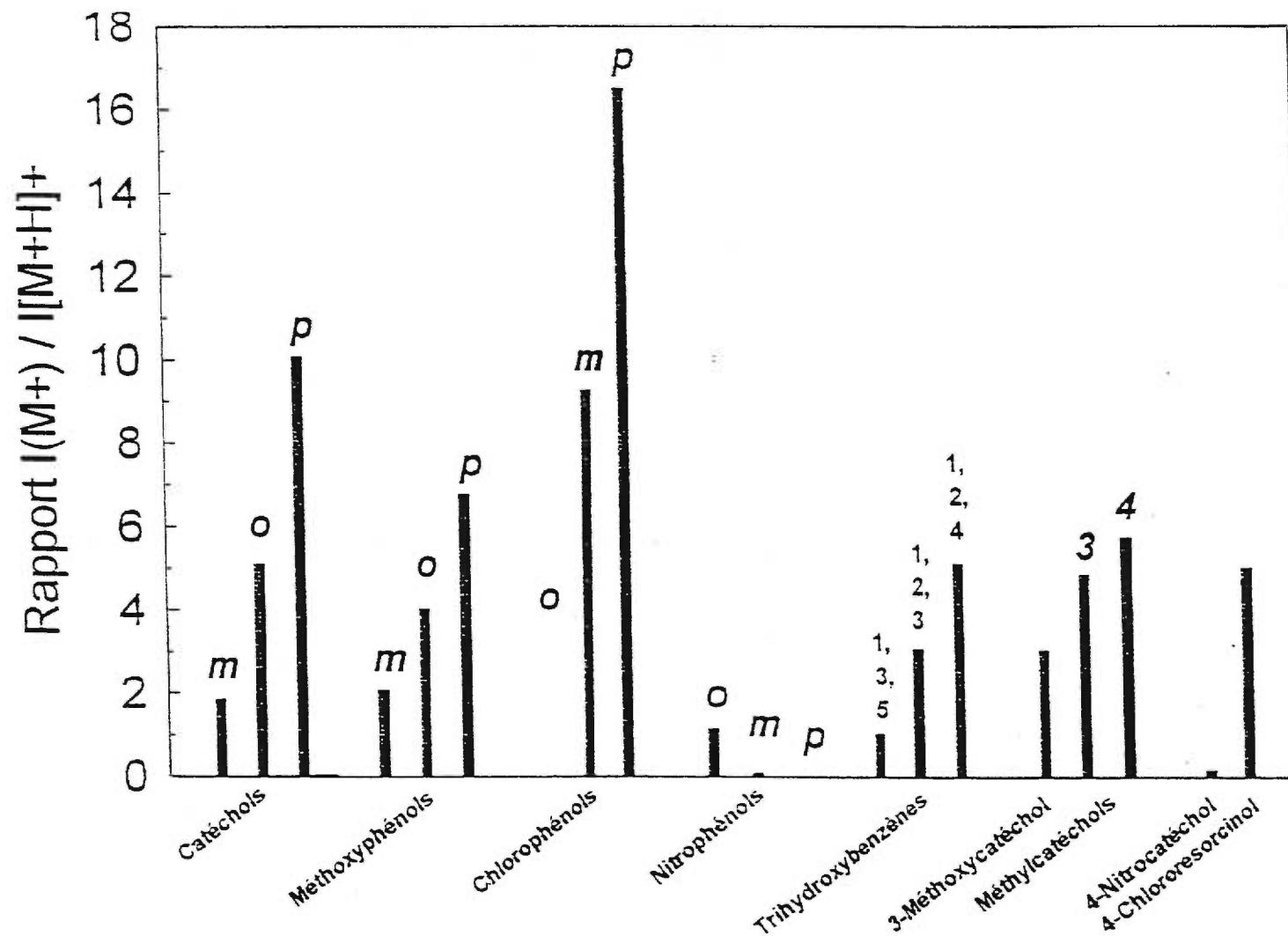
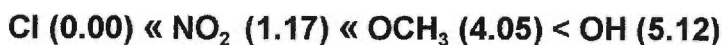
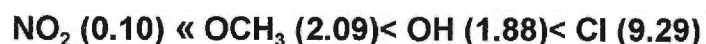


Figure 26: Rapports d'intensités relatives $M^+ / [M+H]^+$ pour les phénols substitués dans NBA- 1M.

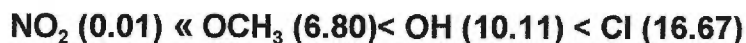
Les tendances envers la perte d'électron et la protonation peuvent être analysées en relation avec le type et la position des substituants sur les phénols substitués. Ces tendances ont été traduites en rapports d'intensités relatives $M^+ / [M+H]^+$ (Figure 26). En considérant en premier lieu l'influence de différents substituants sur une même position, il a été observé que lorsque ceux-ci étaient en *ortho* de l'hydroxyle, la valeur du rapport d'intensités relatives (entre parenthèse) pour les phénols variait selon l'ordre:



Quoiqu'il faut indiquer, malgré les valeurs des rapports, que le chloro ne donnait aucun signal et que le nitro n'en générait qu'un très faible. Ensuite, si les substituants étaient en *méta* de l'hydroxyle, l'ordre devenait :



le nitro n'ayant encore généré qu'un faible signal. Finalement lorsque les substitutions étaient en *para*, il a été observé que :



le nitro ne permettant toujours pas d'obtenir un signal appréciable.

Globalement, il a été observé que les nitrophénols ont donné de plus faibles rapports d'intensités relatives en comparaison aux dihydroxybenzènes et méthoxyphénols (Figure 26). Habituellement, un groupe nitro confère une forte désactivation aux électrons du noyau aromatique et de l'oxygène de l'entité phénolique à laquelle il est associé, l'inverse étant effectif pour les dihydroxybenzènes et les méthoxyphénols [84]. De plus, une fraction nitro est toujours considérée comme très acide [84]. Ainsi, cela pourrait être une raison pour laquelle la perte d'un électron sur le système π -conjugué et/ou la protonation sur les sites basiques (Section 1.3.2) n'ont pas été aussi intenses sur les nitrophénols que sur les dihydroxybenzènes et méthoxyphénols. D'ailleurs, il a été observé que les nitrophénols, sauf l'*ortho*, empruntaient principalement les voies de l'ionisation menant à des ions $[M-H]^-$ (Figure 27), ce qui serait une conséquence normale de la désactivation de l'hydroxyle et du noyau par le groupe nitro. Quant aux substituants hydroxyles et méthoxyles, ils sont reconnus pour activer les noyaux avec une intensité qui leur est semblable [84]. Cela implique alors que les plus faibles rapports d'intensités relatives pour les méthoxyphénols, par rapport aux hydroxyphénols, pourraient être dus à la plus grande basicité des méthoxyles engendrée par l'apport des électrons du Méthyle [84]. Ainsi, il apparaît jusqu'ici que la perte d'électron pourrait être activée par une résonance d'électrons à partir des substituants vers le cycle aromatique. En plus, il semblerait que la protonation puisse être promue par une présence accrue des électrons sur les substituants. Cela ne contredit pas l'hypothèse amenée par plusieurs auteurs, attestant que les substituants activants promeuvent la formation d'ions M^+ alors que c'est l'inverse pour les désactivants. De plus, les résultats appuient l'idée que les groupes basiques hors-cycle soutiennent la formation d'ions $[M+H]^+$ (Section 1.3.2).

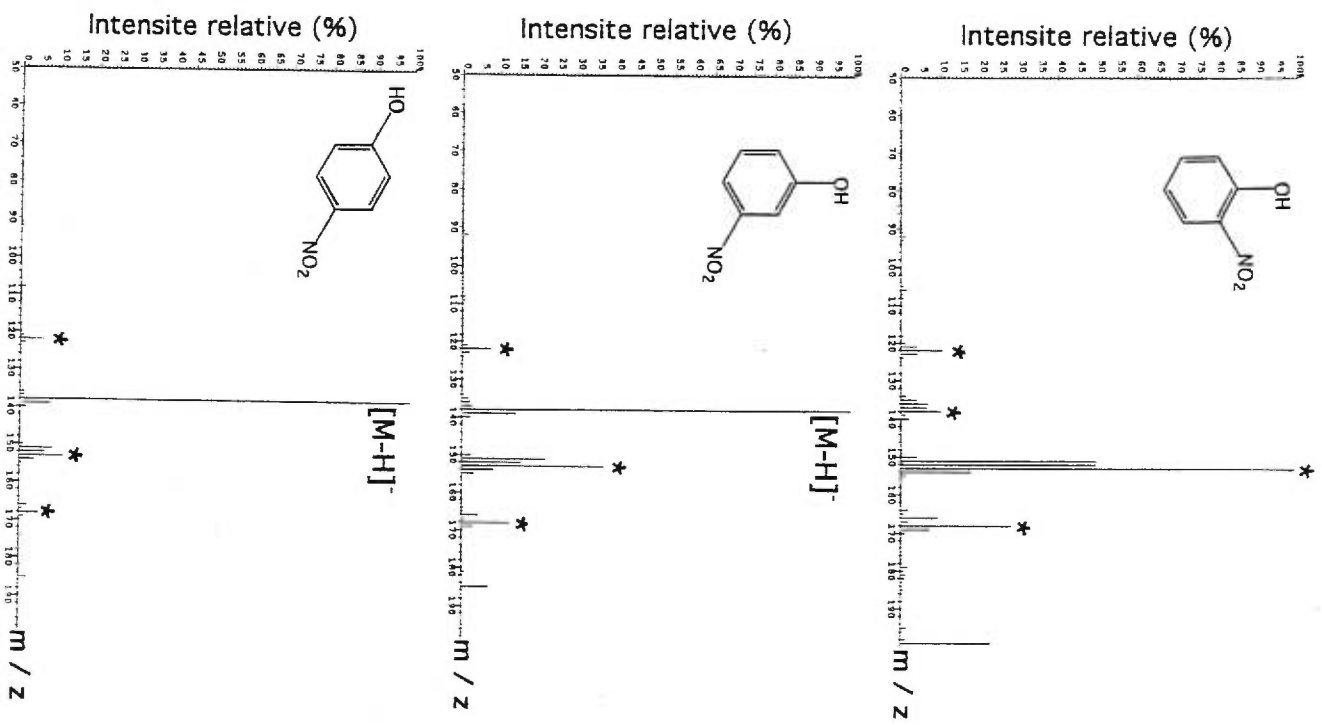


Figure 27: Spectres LSIMS négatifs des nitrophénols ortho, méta et para dans la matrice NBA - 1M. (* = Pics de masse de la matrice)

Les effets amenés par la substitution du chlore apparaissent être marginaux par rapport aux arguments du paragraphe précédent. Normalement, un chlore désactive un noyau aromatique de par son électronégativité et cela, malgré le fait que ses orbitales n ont un certain caractère π -conjugué [78]. On aurait pu s'attendre alors à beaucoup moins de perte d'électron et de plus, le chlore étant reconnu pour être basique, on aurait pu espérer voir plus de protonation (section 1.3.2). Ainsi, les chlorophénols auraient dû tous montrer des rapports d'intensités relatives plus faibles que pour les phénols substitués avec des hydroxyles ou des méthoxyles. Toutefois, le contraire a été observé, c'est-à-dire que l'*ortho*-chlorophénol n'a pas donné de signal et que le *méta* et le *para* ont donné des rapports d'intensités qui sont parmi les plus élevés (Figure 26). Jusque là, rien ne peut expliquer ces comportements divergents.

Pour mieux définir les tendances observées jusqu'à maintenant sur l'ionisation globale des phénols substitués, la deuxième influence sur le rapport d'intensités relatives a été explorée, soit l'effet de la position d'un même substituant en *ortho*, *méta* ou *para*. Dans le cas des dihydroxybenzènes, l'ordre pour le rapport d'intensités relatives des pics de masse M^+ et $[M+H]^+$ est :

$$m (1.88) < o (5.12) < p (10.12)$$

et dans le cas du méthoxyphénol :

$$m (2.09) < o (4.05) < p (6.80)$$

alors que pour le chlorophénol c'est :

$$o(3.58) \ll m(9.29) < p(16.67)$$

puis pour le nitrophénol, il a été observé que :

$$p(0.01) \ll m(0.10) \ll o(1.17)$$

Ces tendances semblent encore indiquer que les groupes activants et désactivants ont des influences distinctes sur l'ionisation des analytes. Dans le cas de la substitution avec un activant comme l'hydroxyle ou le méthoxyle, les résultats montrent que l'effet *mé*ta favoriserait la protonation alors que les effets *ortho* et *para* rehausseraient la perte d'un électron. Ces résultats pourraient très bien être reliés au fait que les électrons des substituants en *ortho* et *para* résonnent beaucoup sur le cycle, alors que c'est la situation opposée pour ceux en *mé*ta. Ainsi, les substituants *ortho/para* intensifieraient la densité électronique du noyau et diminueraient celle des sites basiques, alors que l'effet *mé*ta rehausserait l'opposé. Par conséquent, dans le cas des substituants activants, la perte d'un électron apparaît encore comme un phénomène promu par un accroissement de la densité électronique sur le cycle aromatique. Quant à la protonation, celle-ci semble de plus en plus être une manifestation amplifiée par un accroissement de la densité électronique sur les sites basiques des substituants. Pour le cas des substituants désactivants comme le chlore et le nitro, aucun ordre précis n'a été dénoté en relation aux effets *ortho*, *mé*ta ou *para*. Il est donc une fois de plus difficile d'établir les règles de leurs tendances particulières envers les différentes voies d'ionisation.

L'effet général d'activation / désactivation de la perte d'électron et de la protonation reste encore vague lorsqu'il est mis en relation avec les sites moléculaires où pourraient survenir l'ionisation. Jusqu'à maintenant, plusieurs auteurs ont recherché à créer un lien entre ce genre de phénomène et les valeurs des énergies d'ionisation et d'affinités protoniques (Section 1.3.2). Ce genre d'information étant relié aux caractéristiques structurales des analytes, il semblait a priori justifié de les utiliser. Toutefois, dans la majorité des cas, la carence en données ou l'absence de corrélation entre celles-ci et les résultats en FAB/LSIMS n'ont pas permis d'en arriver à des conclusions justes. Cela est probablement dû au fait que ce genre de données est déterminé dans des milieux différents de celui de la matrice soumise au bombardement durant le procédé FAB/LSIMS. Cela revient à dire que les propriétés structurales des analytes peuvent probablement être différentes d'un contexte de solvation à un autre. De plus, si la protonation et la perte d'électron étaient en compétition sur les mêmes sites, il pourrait être difficile de déterminer dans quelles limites l'utilisation des données thermodynamiques serait justifiée. Par conséquent, il fallait trouver un moyen de déterminer les caractéristiques structurales des phénols substitués durant le bombardement pour espérer pouvoir décrire l'influence de leur structure sur l'ionisation. Cela a déjà été fait en utilisant la spectrométrie de masse en tandem pour l'analyse des isomères de l'oxyde de stilbène (Chapitre 4).

5.2.2. Résultats pour les di/tri-hydroxybenzènes avec LSIMS/MS.

Pour vérifier le comportement des isomères sous bombardement, des analyses LSIMS-MIKES ont été effectuées pour déterminer, il faut le rappeler, les structures moléculaires des analytes durant le processus LSIMS (Sections 4.3,4.4). Cela évidemment, dans le but de pouvoir appliquer, si possible, les mêmes genres de raisonnements qui ont permis de donner une interprétation aux résultats obtenus pour les oxydes de stilbène; la fragmentation étudiée fut encore de type unimoléculaire.

Le cas des dihydroxybenzènes a d'abord été abordé. Ces phénols étant en principe des entités céto-énoliques [78,85], on s'attendait à ce que les spectres MS/MS montrent des fragments issus des deux contre-parties en résonance (Section 4.4). La partie énolique aurait dû donner des fragments caractéristiques d'une perte d'eau et la partie céto, des fragments typiques d'une perte de carbonyle [85]. C'est bien ce qui a été observé, mais, les profils de fragmentation typiques aux deux contre-parties n'étaient pas exactement les mêmes pour l'*ortho* et le *para*, tous deux étant aussi différents du *méta* (Figure 28). Ces tendances indiquent bel et bien que les isomères hydroxyphénoliques aient eu des caractéristiques structurales différentes durant le bombardement et cela pourrait expliquer les différences dans les résultats acquis pour chacun en LSIMS standard. Premièrement, l'hydroquinone a donné un pic de masse relatif à une perte de carbonyle, $[M-CO]^+$, nettement dominant au-dessus de celui du pic de masse relatif à la perte d'eau, soit $[M-H_2O]^+$. Cela démontre que l'hydroquinone adopte principalement une configuration céto durant le bombardement. Ensuite, le

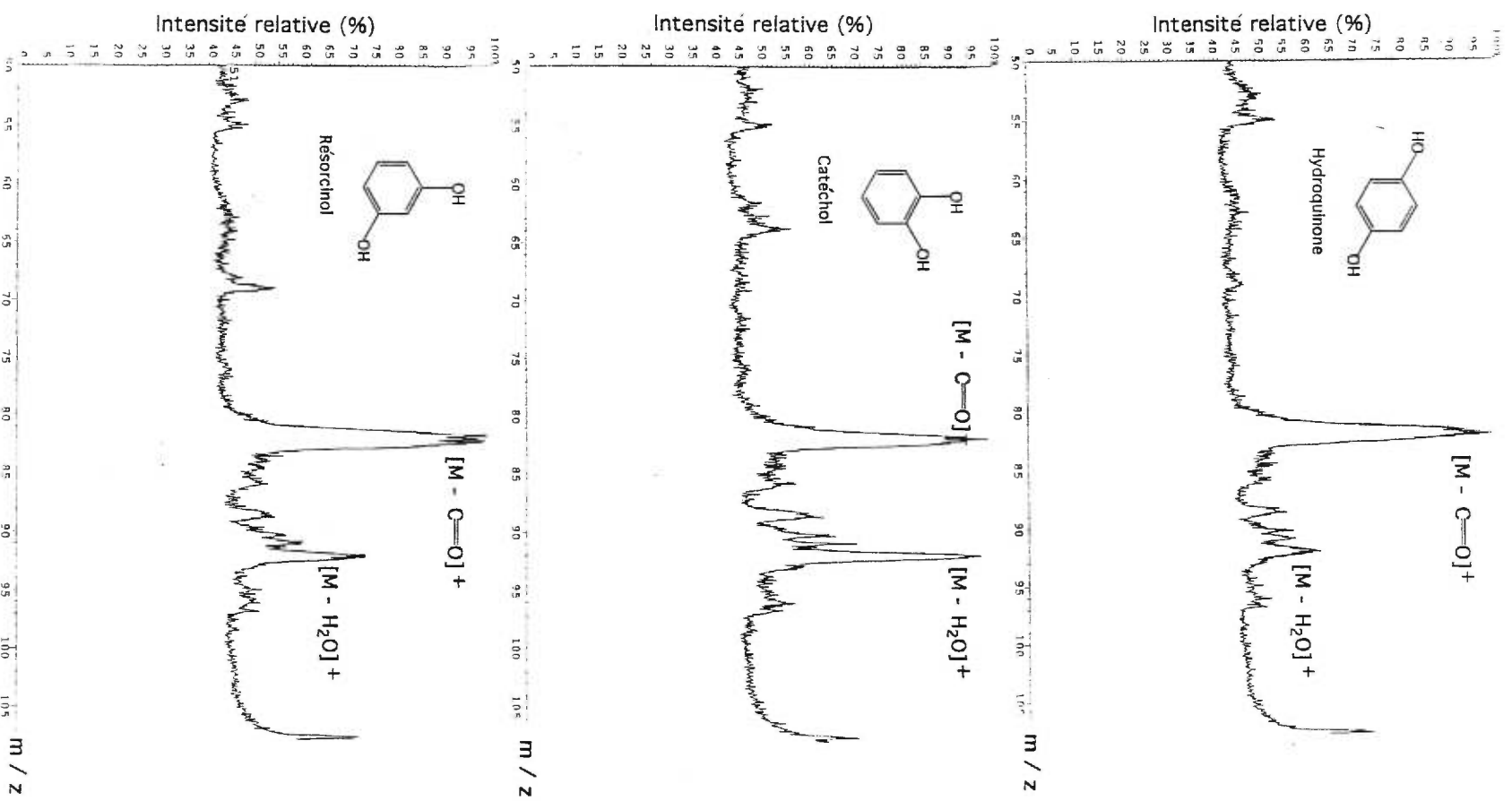


Figure 28: Spectres LSIMS-MIKES pour les di-hydroxybenzènes dans la matrice NBA - 1M.

catéchol a donné autant de fragments issus de la forme céto que de la forme énol, indiquant ainsi que les deux formes sont autant présentes l'une que l'autre. Finalement, le résorcinol a donné un rapport de perte de carbonyle et d'eau intermédiaire aux deux autres et il s'ensuit que cela devrait refléter les mêmes tendances quant à son équilibre céto-énolique. Ensuite, en se fiant aux raisonnements élaborés au chapitre 4, soit qu'un carbonyle protone moins qu'un énol, il faudrait que le catéchol ait formé plus de $[M+H]^+$ que le résorcinol qui lui même en aurait formé plus que l'hydroquinone. Cela n'est toutefois pas le cas, les résultats ayant démontré que l'ordre des rapports d'intensités relatives $M^+ / [M+H]^+$ entre le catéchol et le résorcinol (Figure 26) est inversé, tel que :

Résorcinol (1.88) < Catéchol (5.12) < Hydroquinone (10.11)

Puisque les informations transmises par la MS/MS donnent normalement des indications précises pour déterminer les structures des analytes, il est probable que les informations acquises pour les di-hydroxybenzènes ne soient pas suffisantes pour effectuer une interprétation juste. Ainsi pour explorer d'avantage les effets que pourraient avoir les substitutions en *ortho* et en *méta* sur les structures des analytes, la présence d'un hydroxyle supplémentaire en *ortho* du catéchol (pyrogallol) et en *méta* du résorcinol (1,3,5-trihydroxybenzène) a été étudiée. Les résultats obtenus (Figures 28,29) semblent montrés qu'une substitution supplémentaire en *ortho* amène un accroissement considérable de la perte d'eau (catéchol vs. pyrogallol) tandis que l'ajout en *méta* crée à peine plus de cette même perte (résorcinol vs. 1,3,5-trihydroxybenzène). L'ajout d'un substituant en *ortho* à l'un des hydroxyles de l'hydroquinone crée aussi un net accroissement de la perte d'eau (Figures 28,29). Ces observations laissent présager que la proximité des groupes hydroxyles permet d'obtenir des fragmentations d'eau plus labiles que lorsque ces groupes sont éloignés. Cela a déjà été rapporté dans le cas des

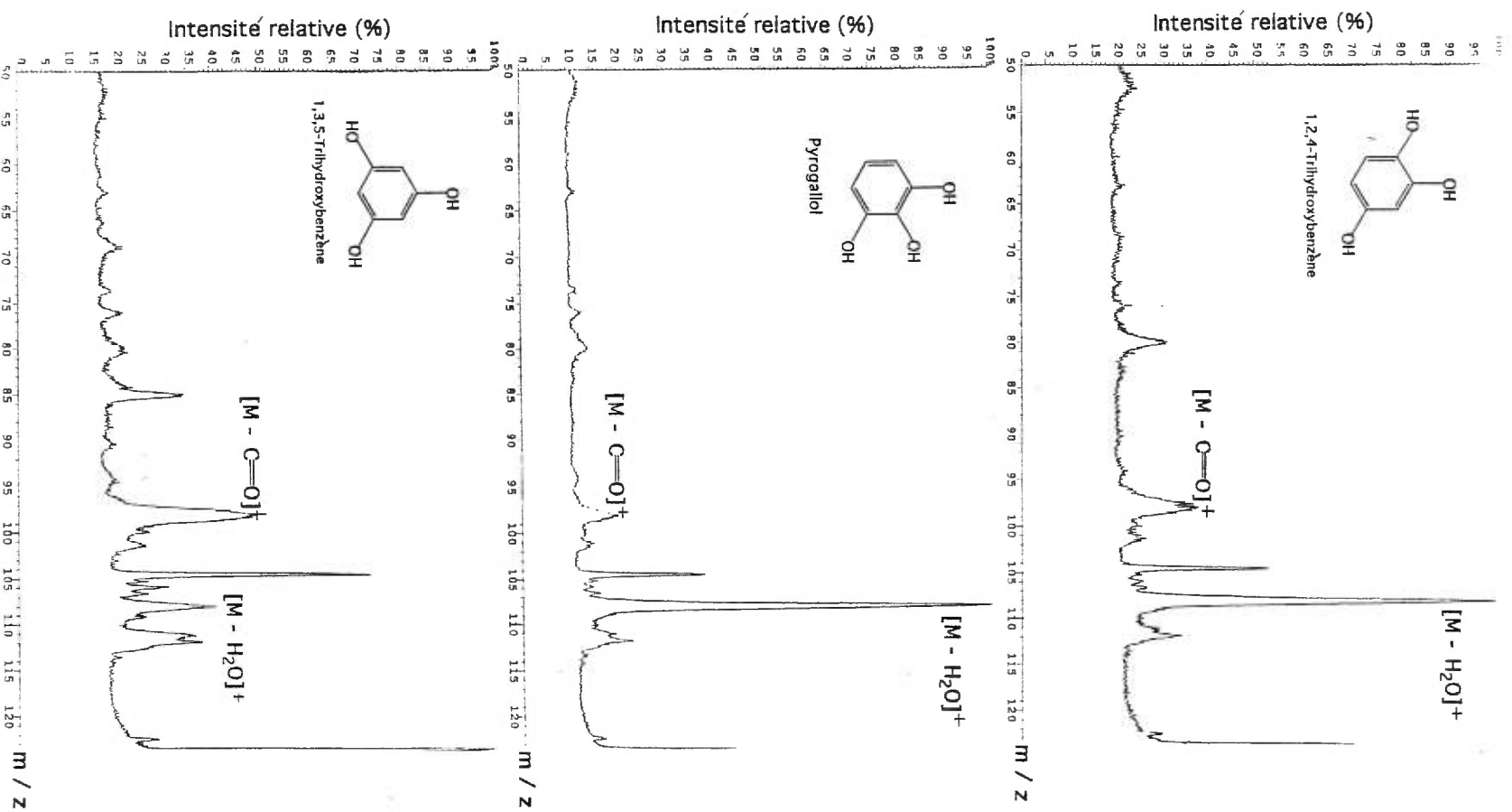


Figure 29 : Spectres LSIMS-MIKES pour les tri-hydroxybenzènes dans la matrice NBA - 1M.

phénols substitués pour lesquels il avait été établi par MS/MS que l'hydrogène hydroxyle agit comme un donneur facile pour un réarrangement en *ortho*, mais pas en *para* ni en *mé*ta [86]. C'est probablement dû au fait que le départ d'un proton hydroxyle vers un hydroxyle adjacent est favorisé comparativement au transfert d'un proton benzylique vers un hydroxyle adjacent. Ce serait un phénomène tout à fait normal puisqu'un proton hydroxyle est de loin plus acide qu'un proton benzylique [85,87].

5.3 Conclusions.

Il peut être déduit des analyses MS/MS que les analytes avec substitution *mé*ta (résorcinol et 1,3,5-trihydroxybenzène) puissent avoir des formes structurales favorisant véritablement la forme énol. Ainsi, les doublets d'électrons des oxygènes auraient un grand caractère d'orbitale *n* et la conjugaison sur le cycle serait presque absente, tel qu'illustré ci-dessous.

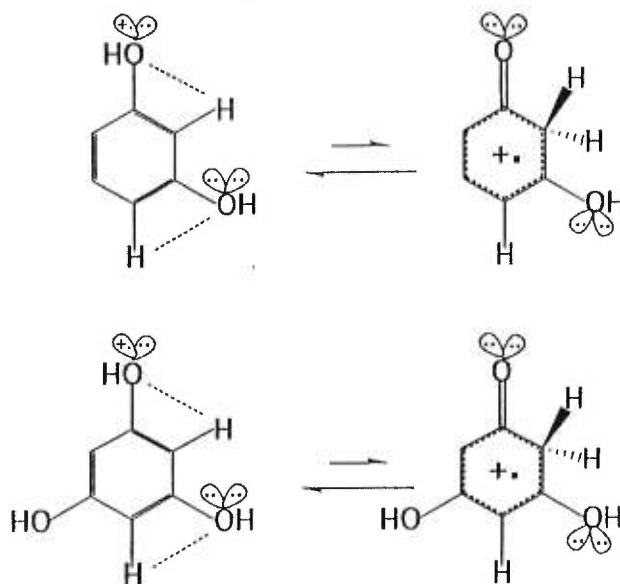


Figure 30 : Structures moléculaires ioniques du résorcinol et du 1,3,5-trihydroxybenzène.

Quant aux analytes avec les substituants en *ortho* (catéchol et pyrogallol), ils comporteraient un H₂O structural. Une telle propriété favorisait une perte d'eau labile grâce à la présence d'autant de fractions énol que de fractions cétone pour que le transfert de proton acide, d'un hydroxyle, soit fait vers un autre OH. Il en résulterait une meilleure résonance d'électrons sur le cycle, comparé au cas de la substitution totalement en *méta*, mais la présence de moins de doublets d'électrons libres sur les substituants. Les structures sont schématisées à la figure qui suit.

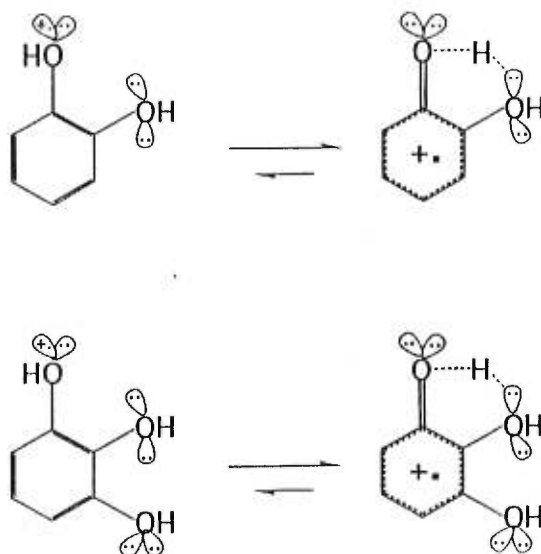


Figure 31 : Structures moléculaires ioniques du catéchol et du pyrogallol.

Quant à la substitution en *para*, il est clair que celle-ci favorise pleinement la forme céto qui active le cycle et dont les doublets d'électrons ne sont pas libres à cause de leur caractère π -conjugués. La grande perte d'eau causée par l'ajout d'un OH en *ortho* sur l'hydroquinone pour former le 1,2,4-trihydroxybenzène pourrait indiquer qu'une résonance supplémentaire sur le cycle est impossible, laissant ainsi les doublets du nouvel hydroxyle tout à fait libres. Les structures sont représentées à la page suivante.

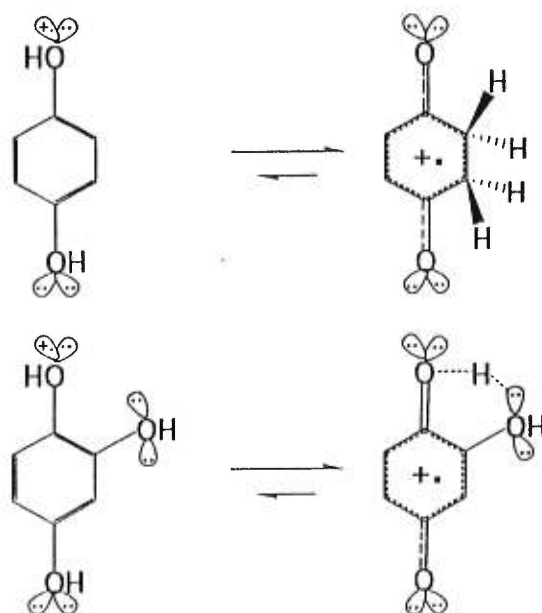


Figure 32 : Structures moléculaires ioniques de l'hydroquinone et du 1,2,4-trihydroxybenzène.

Ainsi, si on détermine l'ordre de l'activation des cycles aromatiques à l'aide des structures caractérisées par la MS/MS (Figure 31), on obtient :

hydroquinone > 1,2,4-triOHbenz. > catéchol \approx pyrogallol > résorcinol > 1,3,5-triOHbenz.

puis en ce qui concerne l'ordre de la disponibilité des doublets d'électrons des hydroxyles, on a :

hydroquinone < 1,2,4-triOHbenz. < catéchol < pyrogallol < résorcinol < 1,3,5-triOHbenz.

Il apparaît que l'activation du cycle aromatique est inversement proportionnelle à la disponibilité des électrons des doublets pour les n-hydroxybenzènes. Cela est tout à fait normal puisque ces deux phénomènes sont évidemment reliés par l'étendue de la résonance. Ce qui est surtout intéressant, c'est que le rapport d'intensités relatives $M^+ / [M+H]^+$ le plus élevé en FAB a été observé pour l'hydroquinone (10.11) dont les électrons étaient les plus localisés sur le cycle. De plus, le rapport le plus bas a été recensé pour le 1,3,5-trihydroxybenzène (1.07) dont les électrons étaient les plus localisés sur les hydroxyles. Entre ces deux extrêmes, le rapport d'intensités relatives a diminué à mesure que les électrons étaient plus disponibles sur les substituants et moins sur le cycle, tel que :

1,2,4-triOHbenz.(5.13) < catéchol (5.12) < pyrogallol (3.08) < résorcinol (1.88)

En termes simples, il apparaît véridique, durant l'ionisation LSIMS, que la perte d'électron menant à l'ion M^+ soit promue par un accroissement de la densité électronique sur le cycle. Il semble vrai, du même coup, que la protonation menant à l'ion $[M+H]^+$ soit amplifiée par une densité électronique accrue sur les substituants des n-hydroxybenzènes. Les mêmes arguments pourraient être utilisés pour les méthoxyphénols dû aux similarités existant entre les substituants OH/OCH₃ et les résultats qui en découlaient.

L'analyse MS/MS des chloros et nitrophénols a aussi été entreprise pour déterminer, de la même façon, les caractéristiques structurales menant à leur ionisation. Ce genre d'analyse n'a toutefois pas été possible pour l'*o*-chlorophénol et pour les nitrophénols, parce que le premier ne donnait pas de signal, tandis que les autres n'en généraient que de très faibles. L'analyse des *mé*ta et *para*-chlorophénols a quand même été effectuée pour déterminer les caractéristiques qui permettaient au *para* de donner un rapport d'intensités plus élevé que le *mé*ta (Figure 33). Les pertes logiques

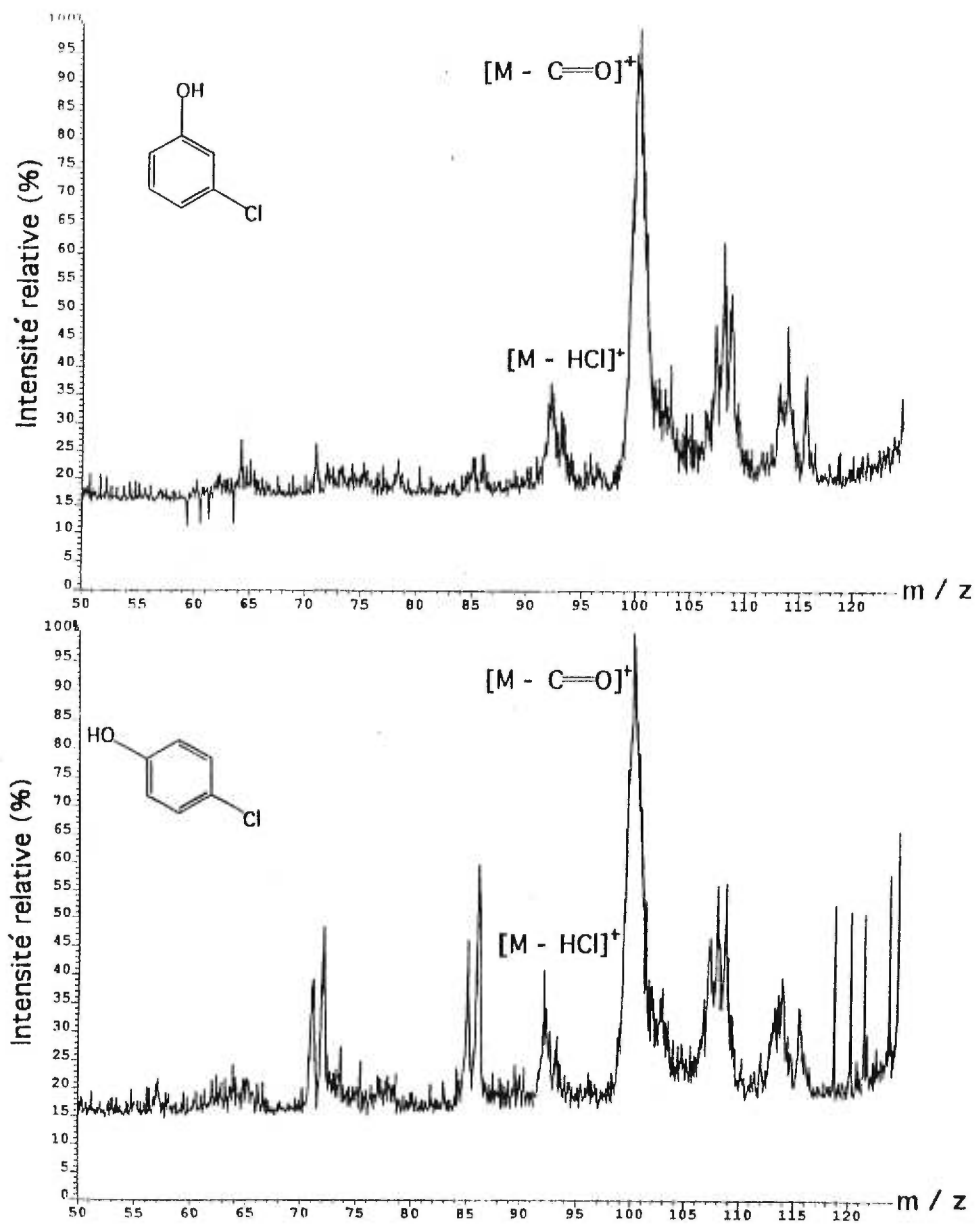


Figure 33: Spectres LSIMS-MIKES pour les *mé*ta et *para*-chlorophénols dans la matrice NBA - 1M.

engendrées par la fragmentation de ces espèces auraient dû être de type $[M-CO]^+$, $[M-H_2O]^+$ et $[M-HCl]^+$, respectivement associés à une forte résonance du doublet sur le cycle, à une forte disponibilité de ces mêmes doublets sur les hydroxyles et finalement, à une disponibilité des doublets du chlore. Les résultats des analyses ont montré pour les deux isomères que les doublets d'électrons de l'hydroxyle résonnaient fortement sur le noyau alors que les électrons du chlore étaient disponibles (Figure 30). Les résultats ont aussi démontré que les électrons du chlore en *para* étaient plus disponibles que ceux du *méta*. Cela fut observé à cause du fait que le rapport d'intensités des fragments, $[M-HCl]^+/[M-CO]^+$, était plus fort dans le cas du *para*. Ainsi, le chlore en *para* était plus en mesure de soustraire un proton du cycle benzénique pour donner un fragment $[M-HCl]^+$. Les structures de ces analytes devraient donc être les suivantes, soient :

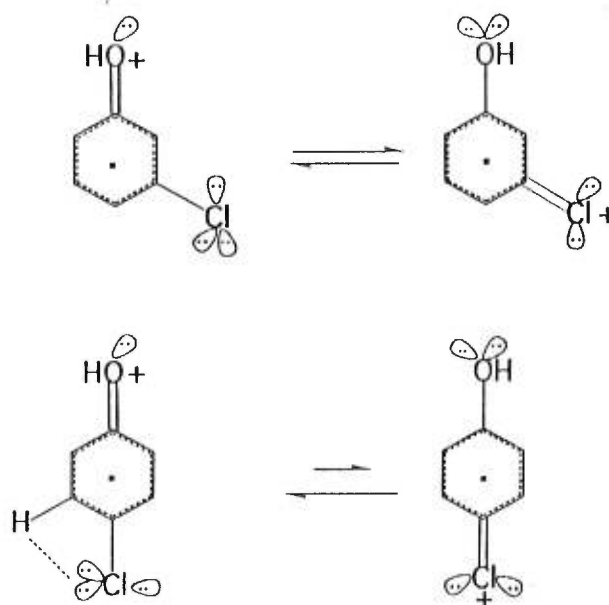


Figure 34: Formes structurales ioniques des *méta* et *para*-chlorophénols durant le bombardement LSIMS dans NBA - 1M.

Ainsi, la protonation sur les hydroxyles serait difficile dû à la forte conjugaison de leurs doublets d'électrons. En plus, puisque les cycles seraient en principe désactivés dans les deux cas par le chlore, il est probable que la perte des électrons soit promue sur les doublets de celui-ci. D'ailleurs, le composé dont les doublets du chlore sont majoritairement disponibles est justement celui qui donne le plus d'ions M^+ . Cela expliquerait encore plus l'inhibition de la protonation puisque que celle-ci serait en compétition pour le même site que la perte d'électron. Ainsi, le genre de résonance proposé à la figure 34 serait valable et permettrait aussi d'envisager une explication aux cas marginaux observés avec les substituants électroattracteurs en *ortho*. Il faut rappeler ici que l'*o*-chlorophénol et l'*o*-nitrophénol ne génèrent que très peu ou pas de signal en FAB. Ce phénomène pourrait être lié aux formes moléculaires illustrées ci-dessous:

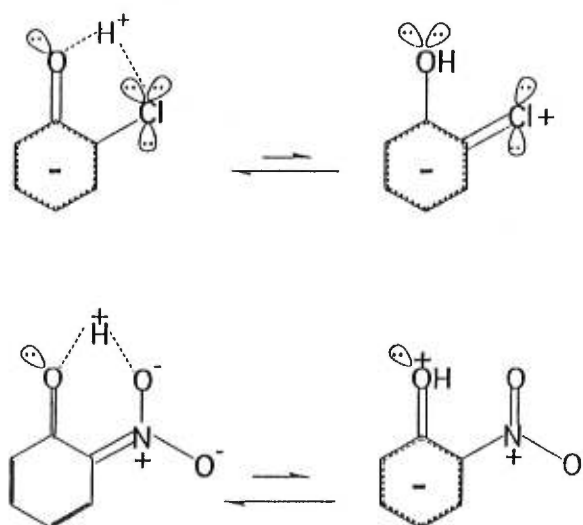


Figure 35: Formes structurales hypothétiques de l'*o*-chlorophénol et de l'*o*-nitrophénol durant le bombardement LSIMS.

où les mêmes formes de résonance que celles proposées à la figure 34 formeraient des entités dont les doublets du chlore ou du nitro supporteraient le proton issu du carbonyle. Dans le premier cas les électrons du chlore seraient moins labiles à la perte d'électron et à toute protonation supplémentaire, tout comme la fraction carbonyle. L'absence de signaux reliés à la formation de M^+ et de $[M+H]^+$ en serait une conséquence. Dans le deuxième cas, il est probable que la perte du proton issu du carbonyle soit inhibée par sa stabilisation sur un oxygène du nitro. De là viendrait l'absence de signal relié à l'ion $[M-H]^-$ en LSIMS négatif (Figure 27).

Compte tenu des limites de cette étude, l'aspect de la disubstitution n'a pas été abordé entièrement en tenant compte de l'analyse MS/MS. Ainsi, l'analyse des résultats a été limitée aux rapports d'intensités relatives (entre parenthèses) des pics de masse des ions $M^+ / [M+H]^+$ (figure 26). Il est montré que l'ajout d'un méthoxyle en *ortho* sur le catéchol influence l'ionisation de la même manière que l'ajout d'un hydroxyle :

Pyrogallol (3.08) \approx 3-Méthoxycatéchol (3.06)

Par contre, l'ajout d'un méthyle à la même position semble augmenter la perte d'électron et/ou diminuer la protonation

3-méthylcatéchol (4.92) $>$ Pyrogallol (3.08) \approx 3-Méthoxycatéchol (3.06)

Tenant compte de l'argument qui stipule que la protonation sur ce type de molécule devrait se faire sur les groupes basiques et la perte d'électron sur le noyau, il apparaît normal qu'il y ait justement plus d'ions M^+ et moins d'ions $[M+H]^+$ alors qu'on substitue un groupe basique qui résonne (hydroxyle) par un groupe peu basique qui résonne autant (méthyle³). Le même argument s'applique lorsque le 4-hydroxyle du 1,2,4-trihydroxybenzène (5.13) est substitué par un CH_3 pour donner le 4-méthylcatéchol (5.75). Quant à l'ajout d'un nitro à la même position, il est clair que cela a pour effet de désactiver le cycle, laissant ainsi peu d'opportunité à la perte d'électron et à la protonation, d'où le faible signal obtenu pour le 4-nitrocatechol (0.18). De plus, l'ajout d'un chlore sur un analyte qui protonne beaucoup, le résorcinol (1.88), démontre bien une fois de plus le rehaussement en perte d'électron causé par l'ajout d'un tel substituant pour former le 4-chlororésorcinol (5.04).

³ Le méthyl est reconnu pour son *hyperconjugaison* à caractère activant [84].

CHAPITRE 6

La radiolyse et la chimie induite par le bombardement.

Dans le but d'explorer ce qui semble être une autre influence agissant sur l'ionisation en FAB/LSIMS, la contribution des matrices a été étudiée en relation avec la formation d'ions moléculaires pour les acétals cycliques, l'oxyde de stilbène cis et les di/tri-hydroxybenzènes. Les résultats ont été abordés sous l'aspect de la chimie des matrices induite par le bombardement. Tel que stipulé dans l'élaboration des principes fondamentaux de l'ionisation FAB/LSIMS à la section 1.3, il y a des raisons de croire qu'une chimie radicalaire semblable à celle de la radiolyse pourrait expliquer les tendances observées en FAB/LSIMS. Jusqu'à maintenant, la formation de radicaux induite par le bombardement semble avoir été confirmée grâce aux travaux effectués par Field et Keough et l'influence que peut avoir ce phénomène sur l'échantillonnage hétérogène d'espèces ioniques moléculaires a été détaillé par Tuinmann (Section 1.3.4). De plus, l'élaboration d'un mécanisme de réduction créé par des radicaux α -hydroxyles a permis de décrire les tendances qu'ont des produits à se faire substituer un chlore pour un hydrogène dans des matrices aliphatiques hydroxyles durant le processus FAB/LSIMS (Section 1.3.4). Malgré ces études, les différentes voies offertes pour l'ionisation des analytes, par le procédé FAB/LSIMS, n'ont pas encore été pleinement reliées à la chimie radicalaire de la radiolyse.

6.1 Étude des effets des matrices sur l'ionisation de l'acétal substitué PDM.

6.1.1 But de l'étude.

Les résultats accumulés avec les différents acétals ont montré jusqu'ici plusieurs tendances suivant le type de matrice qui a été utilisé (Section 3.2). Entre autres, différents accroissements d'effets-temps avaient été observés selon le genre de matrice impliqué durant le bombardement des échantillons (Section 3.2). Alors, pour vérifier s'il pouvait exister encore un parallèle entre les résultats en FAB/LSIMS et des principes de chimie radicalaire, des données accumulées en radiolyse pour des composés très similaires aux matrices ont été utilisées. Il fut ainsi espéré de pouvoir décrire les différentes tendances anormales observées dans l'ionisation des analytes (Chapitres 3-5).

6.1.2 Résultats expérimentaux.

Les résultats expérimentaux rapportés pour les acétals à la section 3.2 ont montré que de nombreux effets-temps existaient dans de nombreuses matrices. Globalement, ces effets-temps pouvaient être décrits comme une augmentation dans le temps de l'intensité du pic de masse de l'ion $[M-H]^+$ et/ou une diminution de celle du pic de l'ion $[M+H]^+$. En d'autres mots, ce phénomène pouvait aussi être décrit comme une augmentation du rapport d'intensités relatives $[M-H]^+ / [M+H]^+$ avec le temps de bombardement. Ainsi, pour pouvoir explorer précisément les tendances occasionnées par les matrices sur ce rapport durant le bombardement, il fallait comparer l'évolution du

rapport d'intensités relatives pour chaque analyte dans chacune des matrices. Il a été observé toutefois que la concentration des échantillons avait un effet sur l'évolution du rapport et conséquemment, il était préférable de comparer les données pour une même concentration dans le plus grand nombre de matrices possible. Les contraintes expérimentales obligeant (solubilité, signal...), l'analyse en a été réduite à étudier que le comportement de l'acétal PDM (Dioxolane-1,3-phényle-2-hydroxyméthyle-4) dans les matrices TDE, HEDS, TG, NBA et GLY. L'évolution du rapport $[M-H]^+ / [M+H]^+$ avec le temps de bombardement pour PDM dans diverses matrices est montrée ci-dessous.

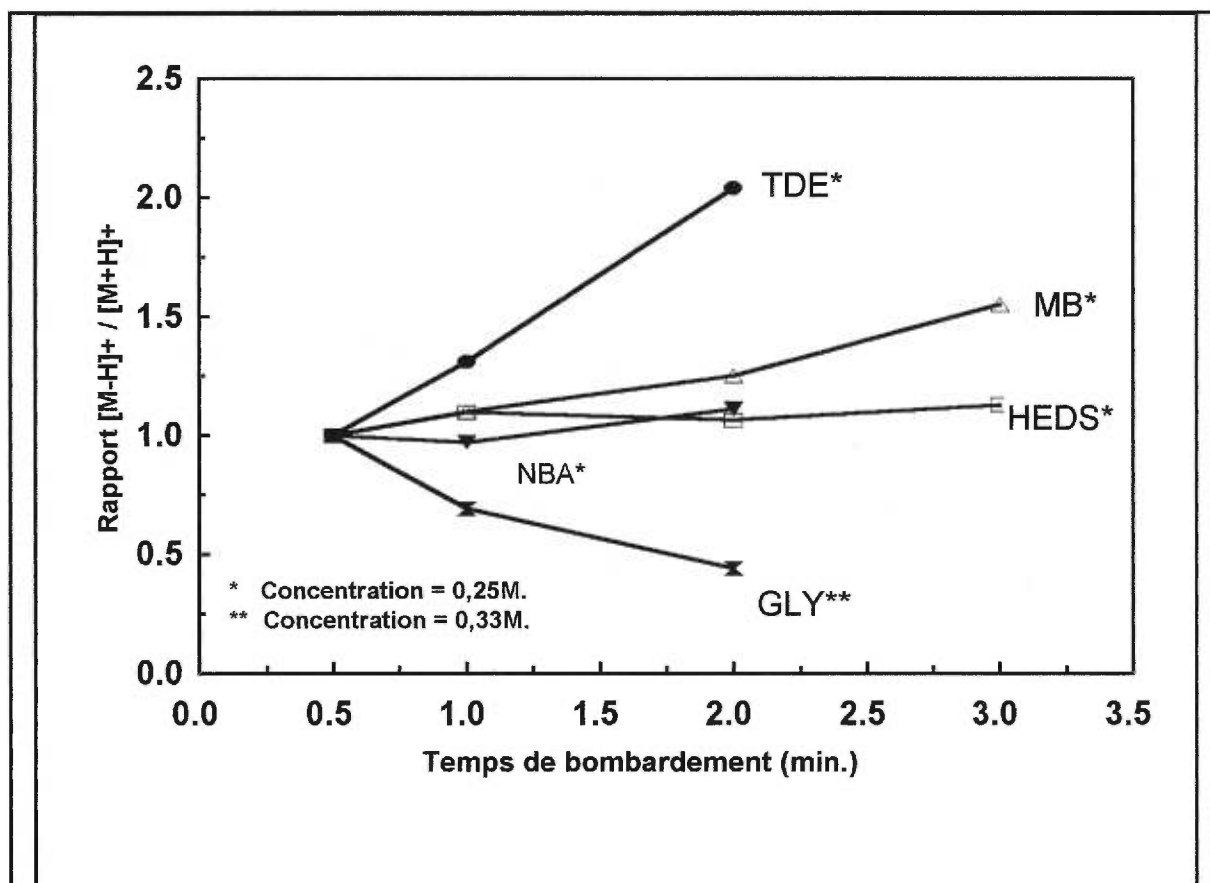


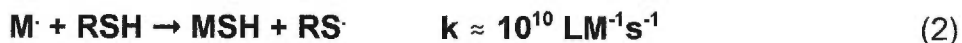
Figure 36: Rapport d'intensités relatives $[M-H]^+ / [M+H]^+$ avec le temps de bombardement pour PDM dans diverses matrices.

Les résultats résumés à la Figure 36 pour le PDM semblent indiquer trois tendances distinctes dans l'évolution du rapport $[M-H]^+ / [M+H]^+$ avec le temps de bombardement dans les matrices TDE, MB, HEDS, NBA et GLY. Apparemment, un accroissement dans la formation d'ions $[M-H]^+$ par rapport aux ions $[M+H]^+$ a été enregistré lorsque la matrice sulfurée TDE était impliquée alors que la tendance opposée était effective dans la matrice hydroxyle aliphatique GLY. En plus, une formation approximativement constante de $[M-H]^+$ par rapport à $[M+H]^+$ a été observée dans la matrice thiolique MB, dans la matrice disulfurée HEDS et dans la matrice aromatique NBA. Par conséquent, un effort a été fait pour tenter d'expliquer ces trois différentes tendances. Avec cet objectif en vue, une enquête a été effectuée dans les données de radiolyse obtenues pour des composés sulfurés similaires aux matrices.

Les données rapportées en littérature, sur la radiolyse de solutions aqueuses de composés sulfurés, indiquent une convergence dans la chimie induite par la radiation des disulfures et des thiols alors que celle des sulfures est différente. Cette différence entre les thiols/disulfures et les sulfures est basée sur diverses réactions subséquentes à la capture d'électron par chaque entité sulfurée. Dans le domaine de la radiolyse des composés biologiques, les thiols sont considérés comme des acteurs importants dans la donation d'atomes d'hydrogènes. Ils renversent ainsi l'effet qu'ont les processus d'irradiation dans la perte d'hydrure sur les analytes, tel que l'équation suivante le décrit [88], soit :



De plus, les thiols peuvent donner directement un H· à un analyte radical, M·, réparant ainsi la lésion occasionnée par la perte [88]



Les disulfures réagissent avec les électrons solvatés approximativement au même taux que les thiols



et l'anion radical disulfure résultant peut être, soit en équilibre avec un radical thiyl et un thiolate [88]



ou réagir avec un proton ou un atome d'hydrogène pour se décomposer rapidement en un radical thiyl et un thiol [88]



La chimie des thiols qui en résulte étant la même que celle décrite aux équations 1 et 2, les disulfures devraient aussi réparer les lésions occasionnées par la perte d'hydrure. Quant aux sulfures, ils réagissent beaucoup plus lentement avec les électrons solvatés que les thiols et les disulfures ne le fassent. La réaction la plus connue, induite par l'irradiation de solutions aqueuses de sulfures, est [88]



Il a aussi été observé que les cations radicalux sulfures étaient créés par irradiation et qu'ils sont reconnus pour être de puissants oxydants puisque qu'ils retirent facilement des électrons aux thiols [88]. Ils inhibent ainsi l'effet de réversibilité qu'ont les anions radicalaires thiols sur la perte d'hydrure. Globalement, les équations 1 à 6 montrent que les thiols et les disulfures ont une chimie très similaire sous radiolyse, celle-ci étant toutefois en divergence avec celle des sulfures. Les thiols et les disulfures produisent des radicaux thiyl oxydants (Équations 2,4) et agissent comme des inhibiteurs de pertes d'hydrures (Équations 1,2,5). Quant aux sulfures, ils ne sont pas reconnus pour promouvoir de telles réactions puisqu'ils ne créent pas de thiols inhibiteurs de lésion par aucun procédé et qu'ils n'agissent pas directement comme réparateurs de lésions.

Des résultats obtenus en LSIMS, pour les matrices pures, ont montré la présence de pics de masse correspondant aux entités RS^- dans les spectres négatifs de MB, HEDS et TDE et pareillement pour l'entité $RSSR^-$ dans le cas de la matrice HEDS (Figures 37-39). De tels résultats pourraient très bien indiquer encore une correspondance entre la chimie de la radiolyse et les réactions induites par le bombardement en LSIMS, les réactions 1-6 pouvant être particulières à la chimie des matrices sulfurées. Ces équations sont reportées sur les spectres respectifs pour rationaliser les différents mécanismes chimiques induits par le bombardement des échantillons. Les processus consécutifs sont chronologiquement dénombrés (1^{er}, 2^{ème}, ...).

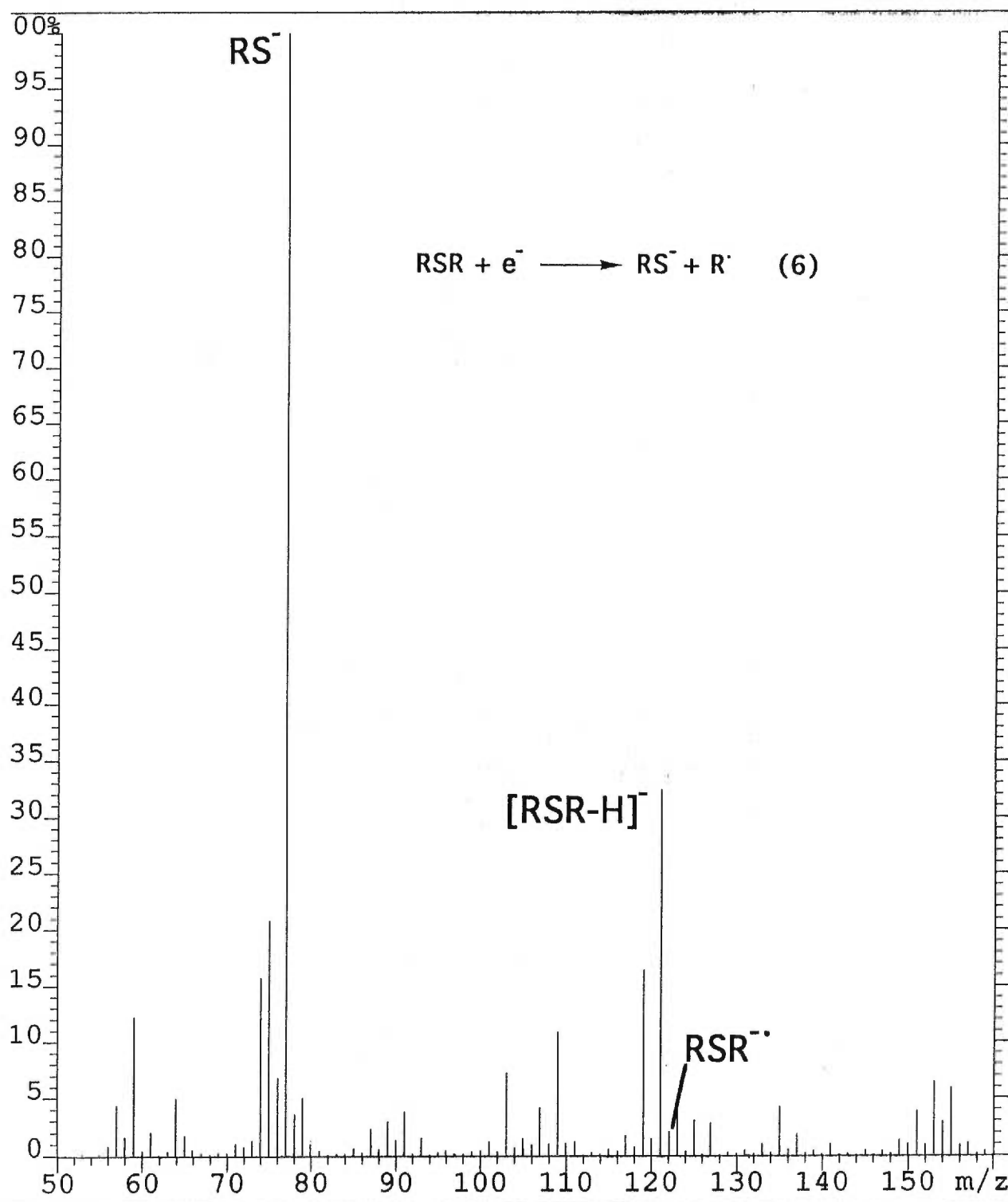


Figure 37: Spectre LSIMS négatif de la matrice TDE.

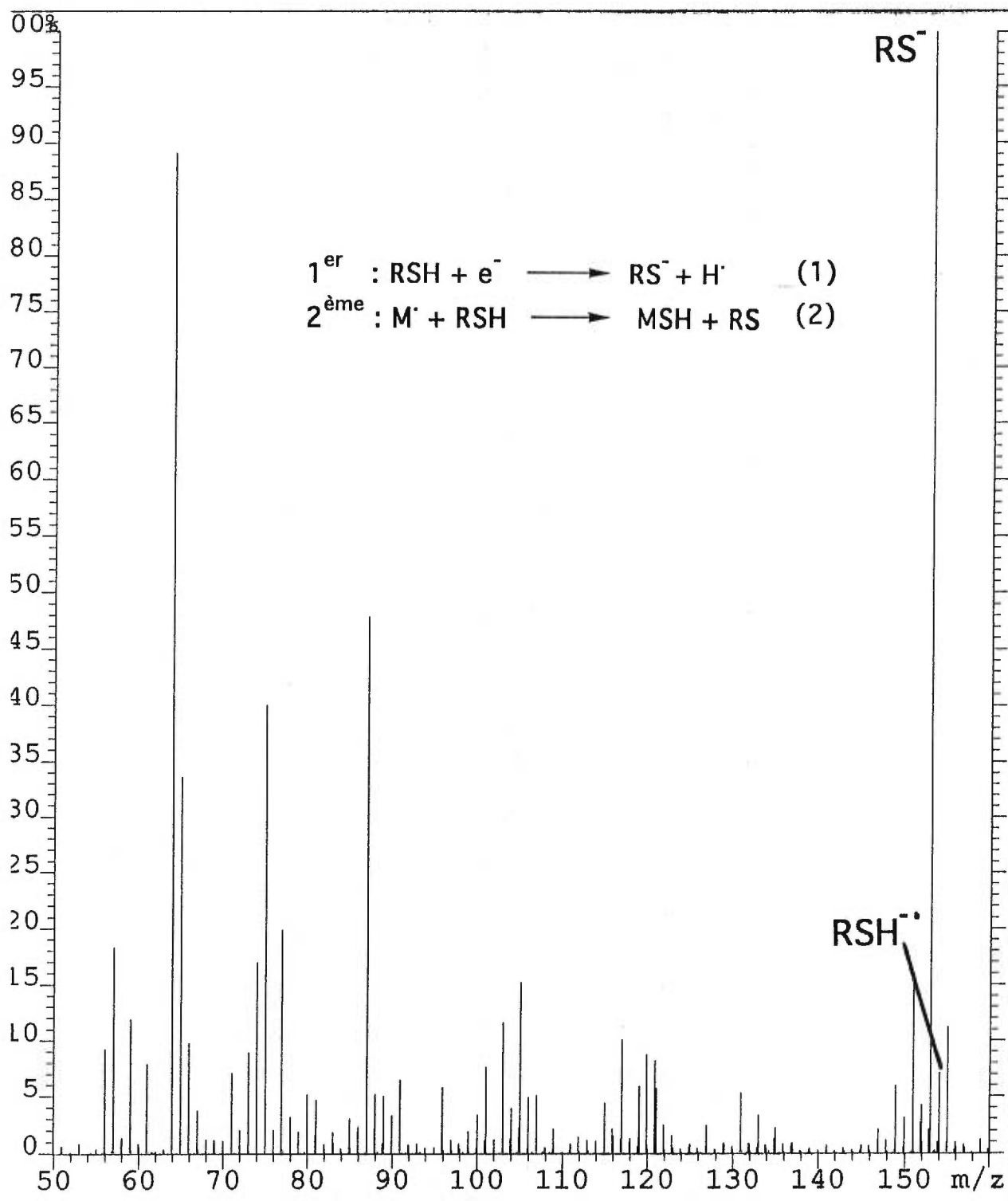


Figure 38 : Spectre LSIMS négatif de la matrice MB.

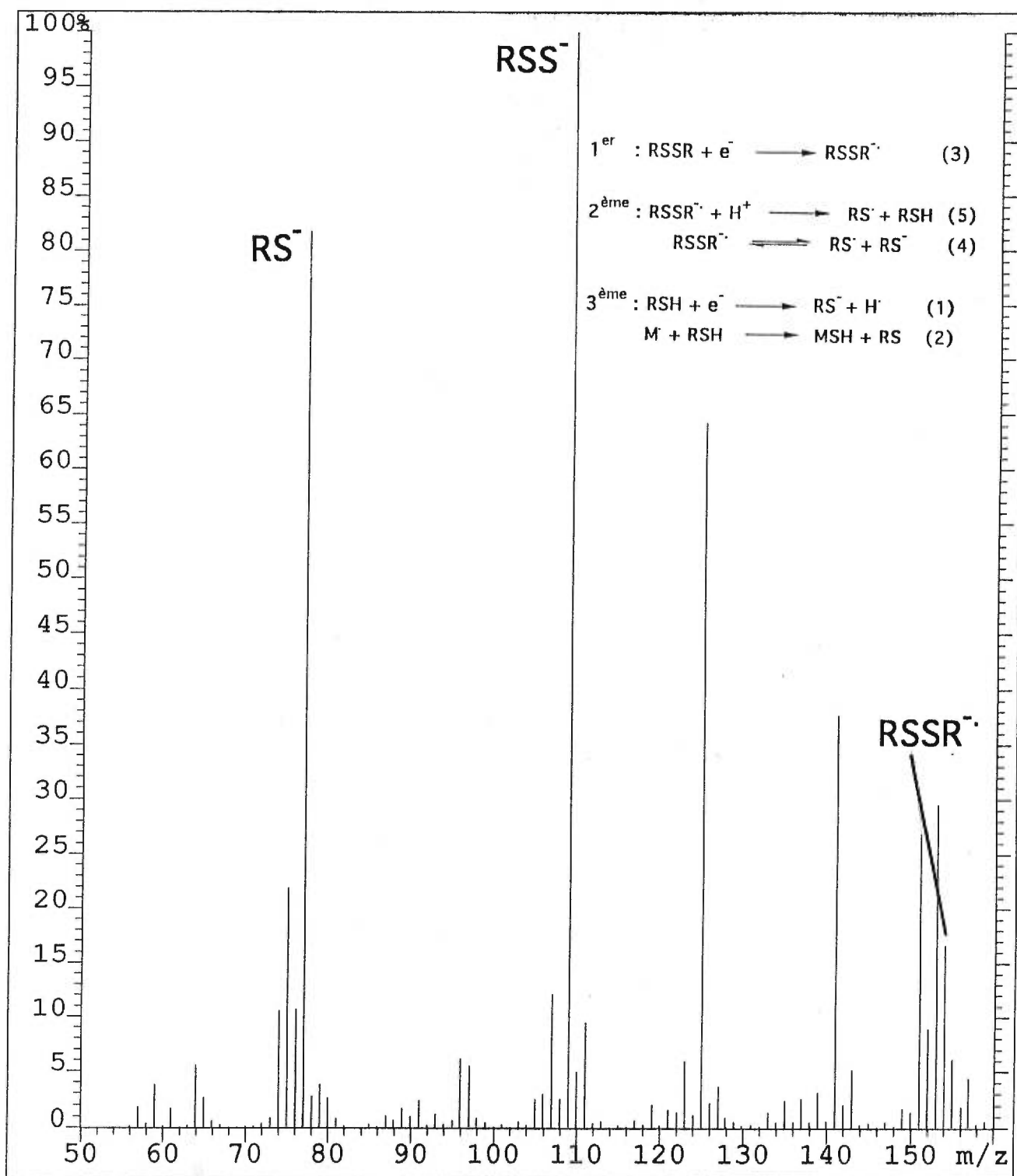


Figure 39 : Spectre LSIMS négatif de la matrice HEDS.

6.1.3 Conclusions.

Il semble que les résultats LSIMS pourraient supporter d'avantage l'hypothèse d'un mécanisme d'ionisation FAB/LSIMS basé sur la chimie radicalaire de type radiolyse. Dans ce mécanisme, les sulfures favoriseraient la formation des ions $[M-H]^+$ et les disulfures/thiols ralentiraient à un certain point la perte d'hydrure sur les analytes (Équations 1,2,5). D'ailleurs, c'est ce que les tendances des rapports $[M-H]^+ / [M+H]^+$ semblent montrées à la Figure 36 pour le PDM dans les diverses matrices en LSIMS. Toutefois, il faut aussi tenir compte du fait que les matrices utilisées sont toutes bifonctionnelles. Ainsi la protonation observée pour les analytes devrait être issue d'une chimie réductrice caractéristique aux composés hydroxyles sous bombardement, tel que démontré auparavant (Section 1.4.4). Cette même chimie réductrice, induite par le bombardement, pourrait aussi être responsable du rehaussement de la protonation observée pour le PDM dans GLY. L'accumulation d'électron, suggérée pour être le phénomène principal résultant du bombardement de composés hydroxyles, devrait expliquer l'allure de l'effet-temps dans le GLY. Quant aux tendances observées pour le PDM dans NBA, elles pourraient être expliquées à partir du fait que parfois, les nitroaromatiques agissent en tant que destructeurs des radicaux impliqués dans la perte des hydrures, tel que le démontrent des résultats obtenus aussi en radiolyse [88].

6.2 Expérience sur les espèces réactives menant à la protonation.

6.2.1 But de l'expérience.

La présente enquête sur le mécanisme d'ionisation en FAB/LSIMS a occasionné l'identification de plusieurs composés menant à des effets-temps dans diverses matrices. Parmi ces effets-temps, celui impliquant une augmentation dans le rapport $[M+H]^+ / M^+$ durant le bombardement semblait être issu d'une augmentation de la protonation dans le temps (Voir Sections 4.4). Les résultats obtenus avec la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) ont permis d'envisager jusqu'ici que la protonation croissante des analytes avait pu être favorisée par un certain degré d'accumulation d'espèces moléculaires énoliques dans la matrice durant le bombardement, ces espèces étant des formes isomériques des analytes (Section 4.4). Cependant, l'origine réactionnelle de la protonation durant le bombardement n'a pas encore été définie. Dans ce but, plusieurs systèmes ont été étudiés en utilisant l'ionisation FAB en présence d'un capteur de protons, le Diéthanolamine, dissous dans les échantillons. Ainsi, il fut espéré de pouvoir distinguer un effet particulier sur la protonation pendant l'irradiation et de relier les observations à ce qui semblait être un mécanisme en phase condensée jusqu'à maintenant.

6.2.2. Résultats expérimentaux pour l'oxyde de stilbène-cis, le résorcinol, le pyrogallol et le 1,3,5-tri-hydroxybenzène.

Les résultats acquis pour ces expériences sont traduits par la variation du rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ en fonction du temps de bombardement et de la concentration du capteur de protons DEA dans les matrices (Figures 40-43). Habituellement, ce genre d'expérience résulte en un enchevêtrement des courbes à causes des conditions expérimentales non-constantes toujours observées au début du bombardement FAB. Les rapports d'intensités relatives ont par conséquent été normalisés pour permettre une meilleure comparaison de leur variation relative, d'une courbe à l'autre, en fonction du temps de bombardement et de la concentration de DEA. Globalement, les résultats obtenus pour tous les analytes démontrent les mêmes tendances (Figures 40-43). Pour chaque analyte, les expériences effectuées avec 0% (molaire/molaire) de DEA ont toujours donné les courbes les plus accentuées. Ces courbes décrivent les effets-temps normalement observés en FAB pour chaque analyte. Les mêmes expériences effectuées par la suite avec le capteur de proton (DEA) ont mené à des courbes moins accentuées pour chacun des analytes. Ainsi, il est clair, dans tous les cas, que les expériences effectuées avec un ajout de 2% à 10% (molaire/molaire) de DEA ont mené à une décroissance significative de l'effet-temps d'une manière inversement proportionnelle à l'augmentation du pourcentage molaire de capteur de protons.

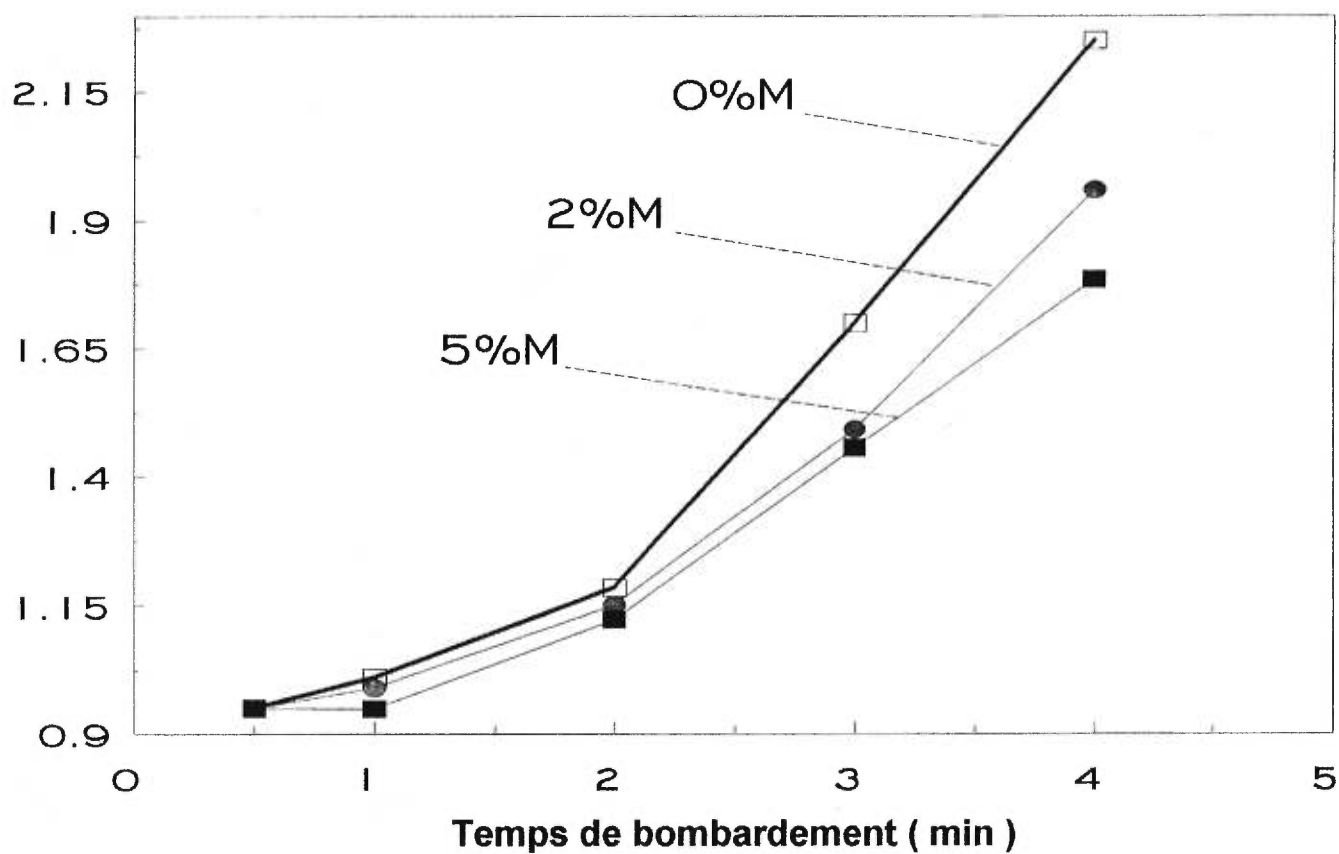


Figure 40: Rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ du résorcinol en fonction du temps de bombardement et du pourcentage molaire de Diéthanolamine dans le Thioglycérol - 1M.

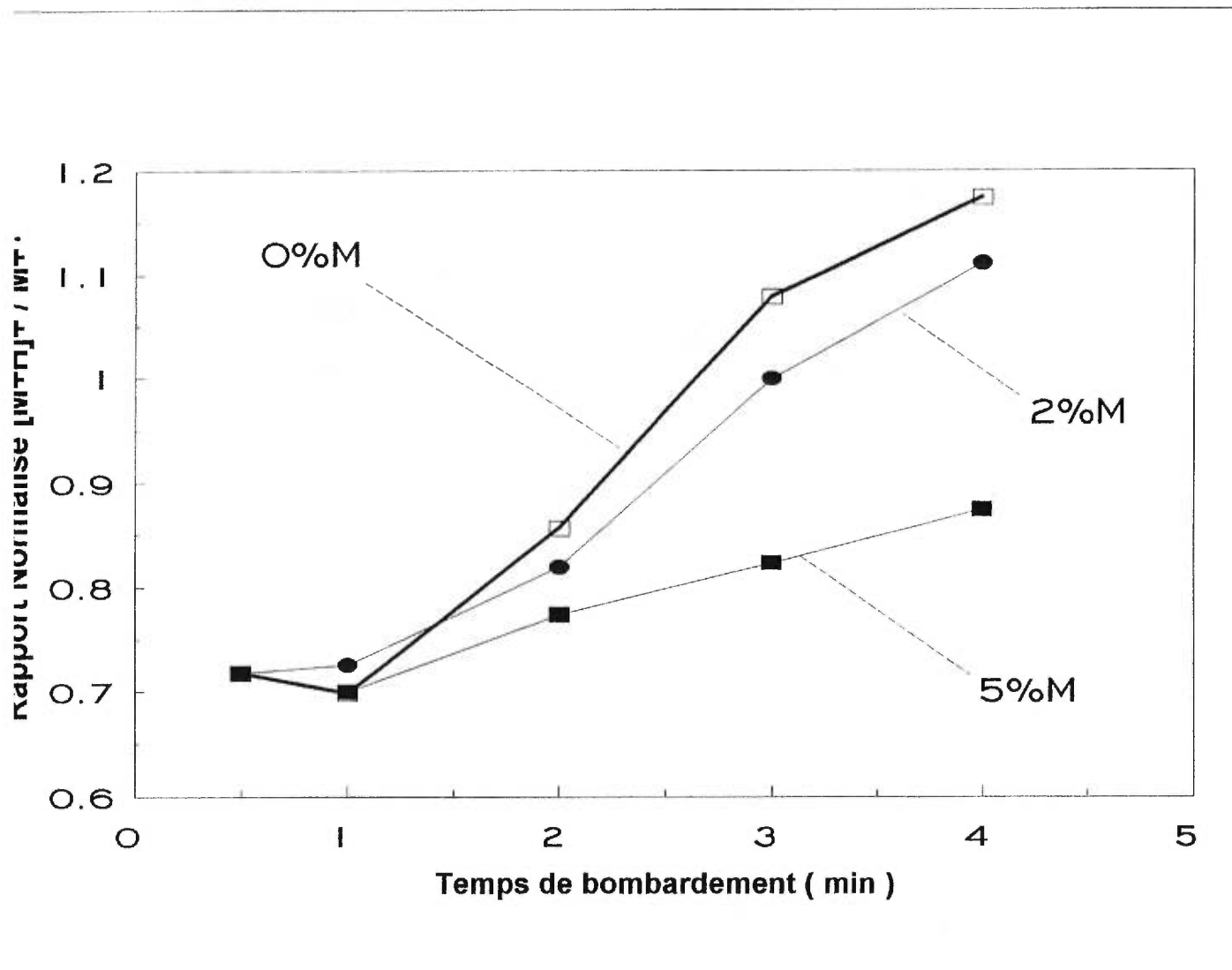


Figure 41: Rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ du pyrogallol en fonction du temps de bombardement et du pourcentage molaire de Diéthanolamine dans le Thioglycérol - 1M.

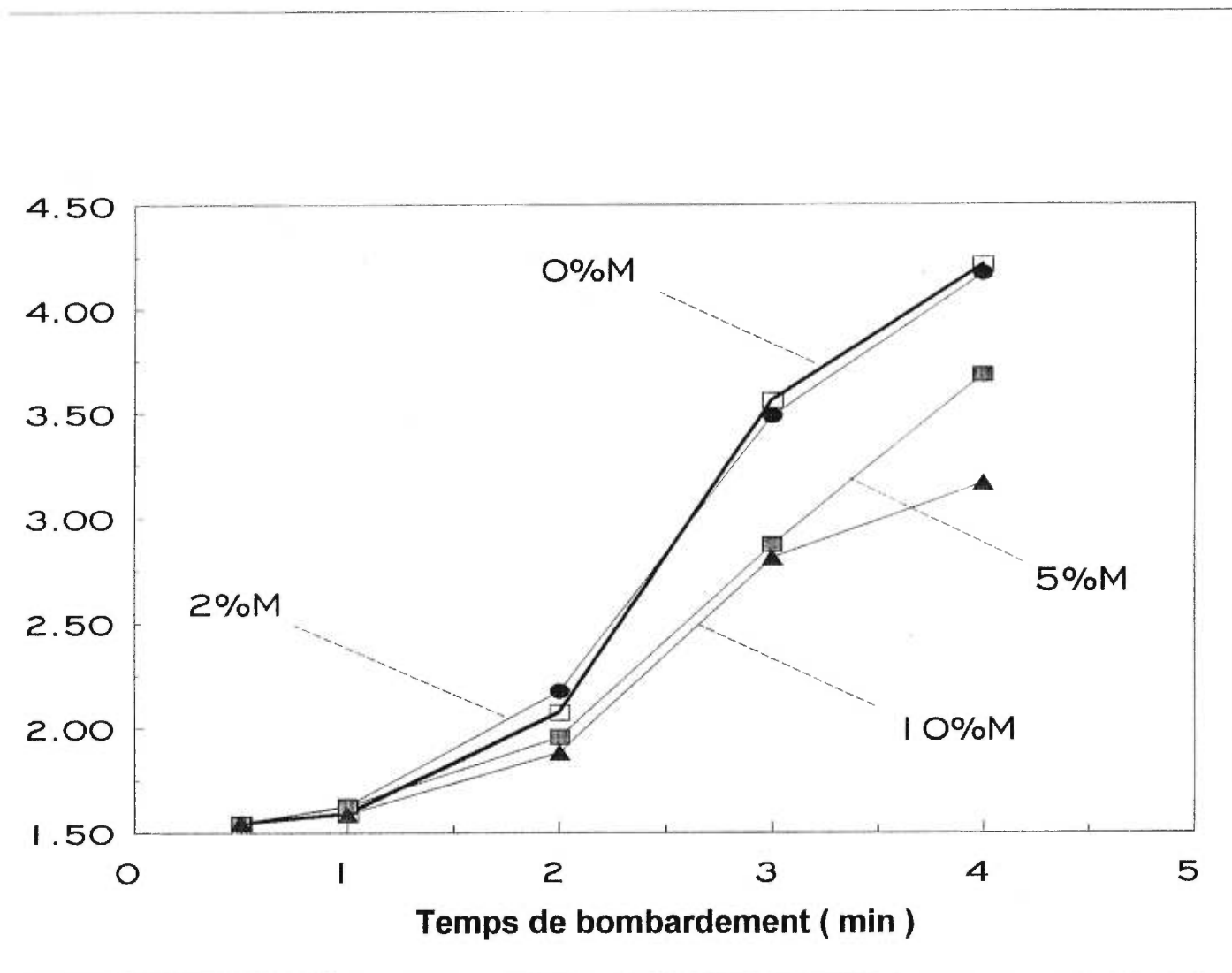


Figure 42: Rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ du 1,3,5-tri-hydroxybenzène en fonction du temps de bombardement et du pourcentage molaire de Diéthanolamine dans le Thioglycérol - 1M.

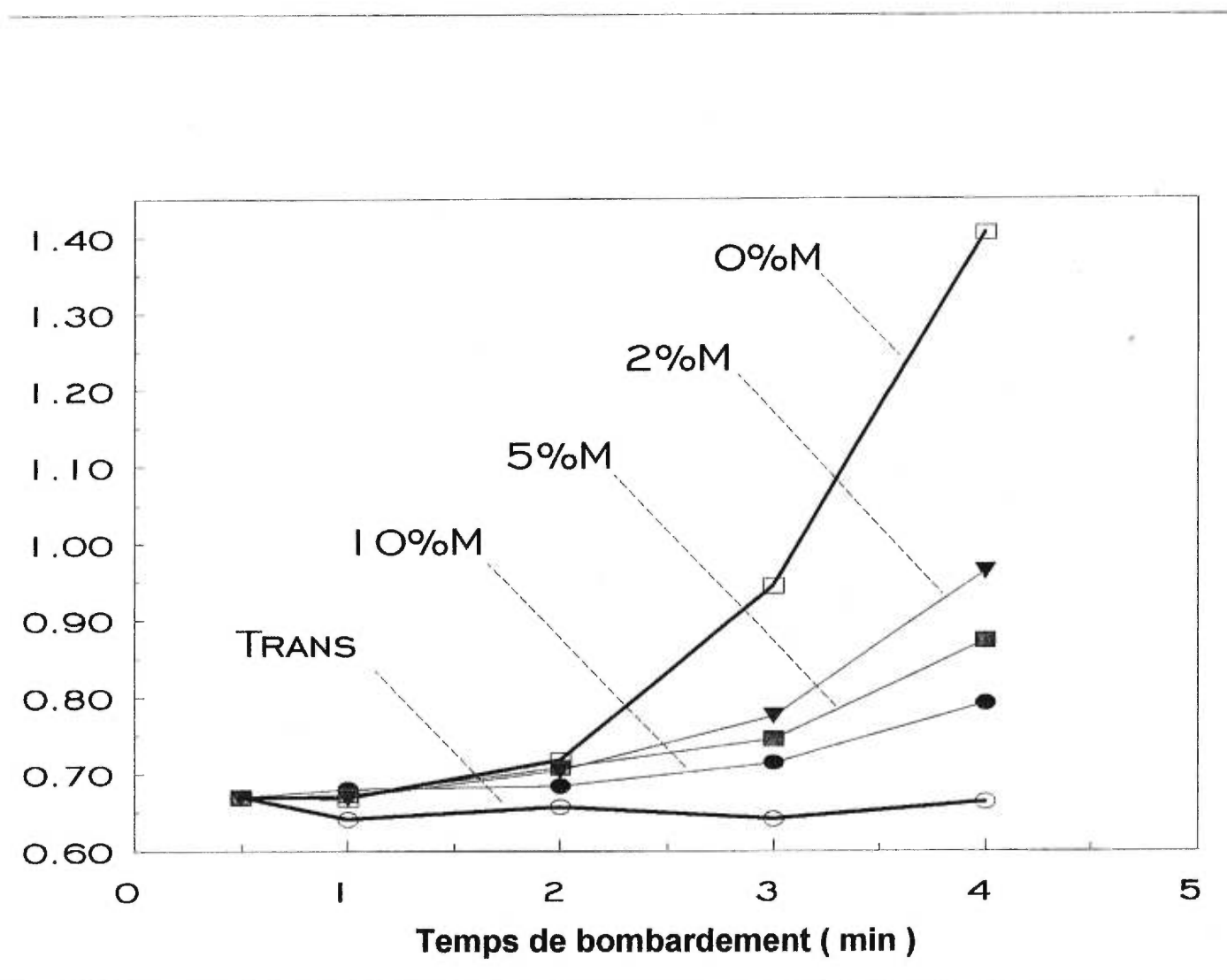


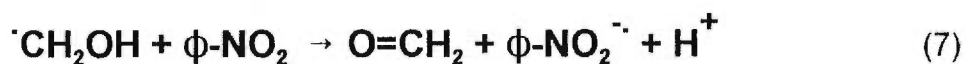
Figure 43: Rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ de l'oxyde de stilbène-cis en fonction du temps de bombardement et du pourcentage molaire de Diéthanolamine dans le NBA - 1M.

Les tendances observées pour le rapport d'intensités relatives $[M+H]^+ / M^+$ (Figures 40-43) indiquent que l'extinction partielle de la protonation dans la phase condensée a été réalisée. Le DEA ayant une affinité protonique très élevée, le transfert de protons était de plus en plus détourné vers ce capteur à mesure que sa concentration était augmentée, ce qui a eu comme conséquence le ralentissement de la protonation des analytes et une diminution de l'effet-temps en question. Cela démontre qu'il existait un transfert de protons, entre des espèces réactives et les analytes, dans la phase condensée durant le bombardement. Il est très probable que ces espèces réactives, créées durant le bombardement, aient pu être emprisonnées dans la matrice le long des chaînes collisionnelles engendrées par la cascade radiative (Figure 2). Ces résultats supportent d'avantage l'hypothèse que des phénomènes réactionnels en phase condensée sont contributifs à la formation d'ions en FAB/LSIMS (Sections 4.4, 6.1.3). L'origine des espèces protonantes reste toutefois à être déterminée.

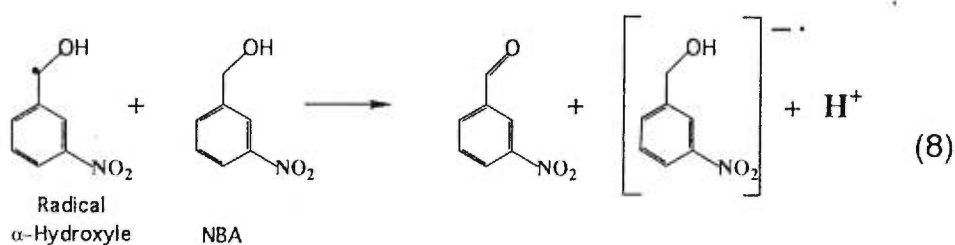
6.2.3 Conclusions.

L'aspect d'un parallèle entre la radiolyse et la chimie des matrices induites par le bombardement a été une fois de plus exploré. Cela avait pour objet de tenter d'expliquer une des tendances anormales observées, soit la protonation des analytes durant le bombardement dans le NBA, une matrice dite oxydante (Section 1.3.3). Cela a été réalisé en élaborant une extension au mécanisme de réduction [7] déjà établi comme étant très similaire à la chimie radicalaire en radiolyse. Il faut rappeler ici que des auteurs ont démontré l'implication de radicaux prétendument créés durant le

bombardement de composés hydroxyles [62-64]. Leurs procédés d'ionisation étaient basés sur la chimie réductrice d'espèces radicalaires de type α -hydroxyles, comme en radiolyse [7]. Dans le cas de la présente enquête, des données issues de la radiolyse de composés nitroaromatiques pourraient appuyer d'avantage l'hypothèse d'une relation entre cette technique et le procédé d'ionisation FAB/LSIMS. Les résultats de la radiolyse présentés en littérature ont démontré que pendant l'irradiation, des radicaux α -hydroxyles peuvent transférer un électron à des espèces nitroaromatiques tout en libérant un proton [89], tel que l'équation 7 le décrit, soit :



Ce phénomène pourrait très bien être traduit en FAB/LSIMS puisqu'il a été démontré que le type de radical impliqué existait durant le procédé induit par l'impact de particules rapides [7,62-64]. De plus, la matrice NBA, qui est une entité nitroaromatique, donne toujours un pic de masse relatif à l'anion radical moléculaire dans les spectres FAB/LSIMS en mode négatif (Figure 44). Ainsi, l'équivalent de l'équation 7 serait ce qui suit pour le mécanisme d'ionisation FAB/LSIMS, soit :



ou un radical α -hydroxyle, créé à partir de la fonction alcool du NBA, pourrait donner un électron à une autre molécule de NBA, permettant ainsi le réarrangement du radical

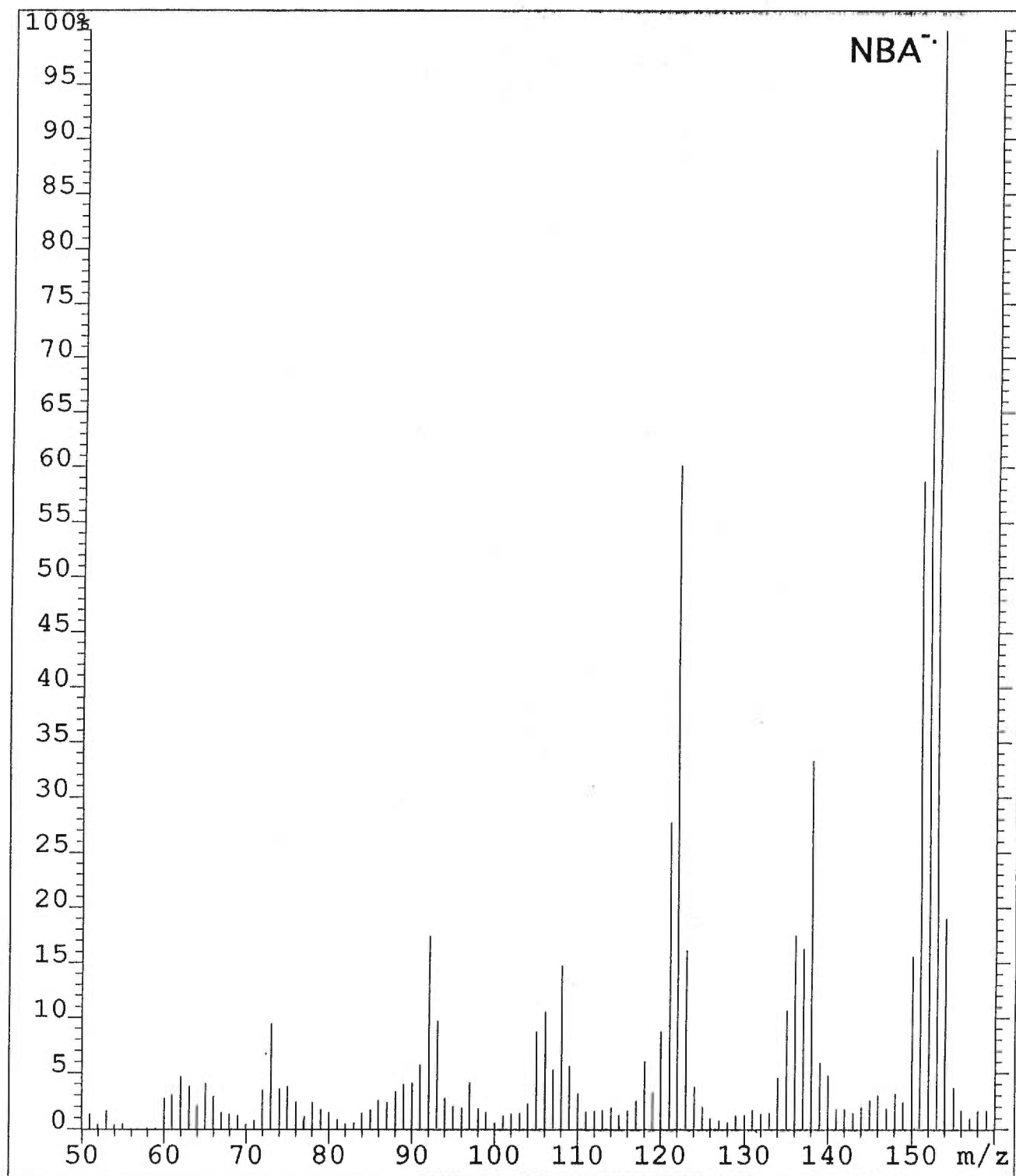


Figure 44: Spectres LSIMS de la matrice NBA en mode négatif.

réducteur en carbonyle, la création de l'anion radicalaire de la matrice NBA et la solvation d'un proton libre et disponible pour ioniser les analytes en $[M+H]^+$. Cela pourrait indiquer que l'origine de l'espèce réactive, menant au transfert d'un proton vers les analytes, résiderait dans la création du radical réducteur à partir de la matrice NBA. La carence de données de la littérature, en ce qui concerne les autres matrices, ne permet pas encore de définir leurs processus menant au même type d'effet-temps.

Dans le but de vérifier l'équation 8, il fallait déterminer si un effet-temps, ou du moins une protonation, pouvaient exister dans une autre matrice nitroaromatique pour l'isomère cis de l'oxyde de stilbène. La seule autre matrice nitrée existant est le NPOE (Tableau 1) et la fraction nitroaromatique de cette matrice devait offrir la même chimie que le NBA en terme de captation d'électron. Cela est dû au fait que l'affinité électronique des espèces nitroaromatiques est surtout engendrée par l'action désactivante que peut avoir la partie nitro sur la densité électronique du noyau [84]. Il serait aussi possible de créer des radicaux en α de l'oxygène sur la partie octyléther du NPOE. Malgré cela, l'absence d'hydroxyle ne devrait pas donner la possibilité de créer un processus menant à l'effet-temps observé (Figure 12b) ainsi qu'à la libération de protons dans le NBA (Équation 8). C'est justement ce que les résultats semblent démontrer, puisque il n'y a pas eu d'accroissement du pic de masse relié à l'ion $[M+H]^+$ pour l'isomère cis de l'oxyde de stilbène dans le NPOE (Figure 45). De plus, l'abstraction d'électron s'est avérée être le processus dominant sur au-delà de 3 minutes de bombardement. Donc, le processus décrit par l'équation 8 semble très concevable.

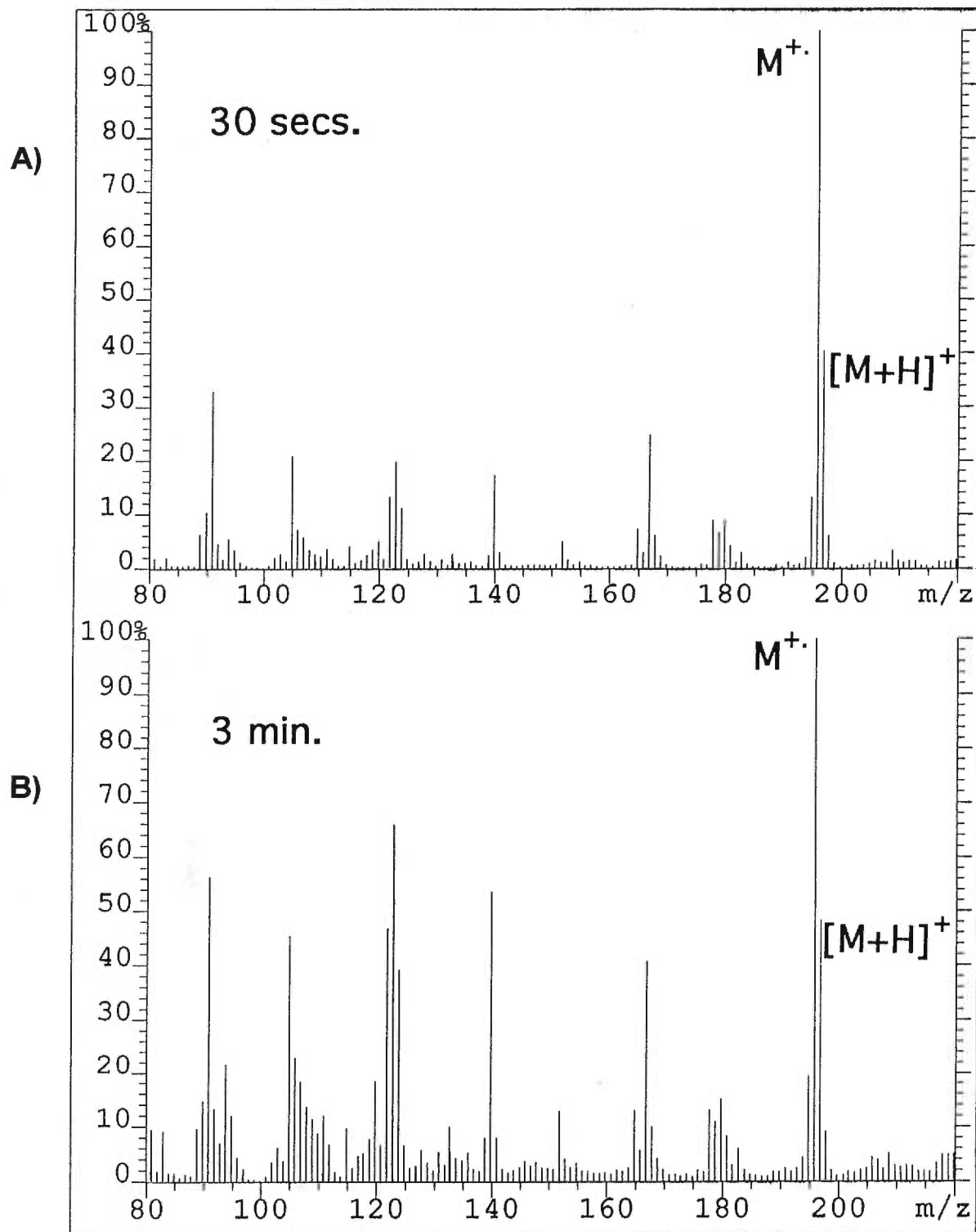


Figure 45: Spectre LSIMS de l'oxyde de stilbène-cis après (A) 30 secs. de bombardement et (B) 3 min. dans NPOE - 1M.

Il a été évoqué à plusieurs occasions dans cette étude que les diverses voies d'ionisation puissent être compétitives, la protonation et la perte d'électron sont de bons exemples. Malgré le fait que le rôle des structures des analytes a été grandement décrit pour ces processus (Sections 3.3, 4.4, 5.3), la causalité reste nébuleuse entre les emplacements où les procédés d'ionisation FAB/LSIMS sont actifs dans la matrice et leur compétition. Les résultats présentés jusqu'à maintenant semblent indiquer que la protonation et la perte d'hydrure sont des phénomènes en phase condensée (Sections 6.1.2, 6.3.3) et même actifs jusqu'à des profondeurs relatives de la matrice. En plus, puisque des espèces moléculaires ioniques sont accumulées dans les profondeurs et désorbées plus tard durant l'érosion de l'échantillon (Sections 1.3.1,4.4), ce serait justement pour cela que des effets-temps sont observés. L'emplacement de la perte d'électron n'a cependant pas été établi clairement. Par contre, l'absence d'effets-temps, qui est reliée à l'échantillonnage d'ions M^+ , laisse croire que ceux-ci ne pourraient jamais être accumulés et donc, surtout présents à la surface de la matrice. Conséquemment, l'impact du faisceau de particules rapides avec les analytes pourrait être le phénomène causant la perte d'électron.

Jusqu'à maintenant, les résultats démontrant la similarité des processus chimiques issus de la radiolyse et du bombardement de particules rapides nous permet de croire qu'il existe aussi une cascade radiative [88] durant les processus FAB/LSIMS (Voir section 1.2). L'énergie, déposée par les particules rapides frappant l'échantillon, serait donc très "pénétrante", dans un sens moléculaire, et cela implique que les modes

électroniques des analytes devraient être théoriquement très perturbés à la surface des échantillons. L'excitation des électrons et leur perte à partir des analytes en serait logiquement une conséquence et forcément, la création d'ions M^+ aussi. Il faut mentionner en plus, qu'il aurait été étonnant que les matrices dites "oxydantes" puissent soustraire un électron directement aux analytes pour donner des ions M^+ , puisque les affinités électroniques de celles-ci ne sont que de 3 eV au maximum, alors qu'en moyenne les analytes ont un potentiel d'oxydation de 9 eV [77]. Il faut en déduire que ces matrices dites "oxydantes" devraient en fait capter des électrons qui ont été solvatés, dans la matrice, par les processus induits durant le bombardement. Puisque les particules d'impact devraient être, en principe, ralenties durant leur pénétration dans la matrice, il en résulterait une décroissance de leur énergie. Cette énergie transmise à l'intérieur de l'échantillon pourrait ainsi être moins "pénétrante" et il serait ainsi possible qu'une fragmentation soit une conséquence pour les espèces en profondeur dans la matrice. On obtiendrait alors une gamme d'espèces chimiques radicalaires et/ou ioniques pouvant jouer un rôle important dans les mécanismes réactionnels élaborés jusqu'à maintenant (Voir Sections 1.3.4, 6.1.2, 6.2.3). L'érosion des couches de la matrice permettrait aussi éventuellement la désorption de ces fragments et de là, probablement, la raison pour laquelle la fragmentation est toujours moins intense dans les premières acquisitions spectrales en comparaison avec les dernières.

Conclusions générales.

L'étude de l'ionisation des composés oxygénés induite par le bombardement d'atomes/d'ions rapides en spectrométrie de masse assistée par matrice liquide a permis de cerner deux influences majeures sur la création d'ions en FAB/LSIMS. La première influence réside dans la structure même de l'analyte, celle-ci prédisposant l'analyte à une stabilisation thermodynamique particulière l'inclinant à des types précis d'ionisation. La deuxième influence sur l'ionisation vient de la contribution des matrices, notamment la chimie induite par le bombardement.

Les analytes utilisés pour cette étude possédaient plusieurs caractéristiques structurales amenant la possibilité de créer une distribution de pics de masse dans la région moléculaire des spectres. La distribution des pics de masse était apparentée à la création d'ions tels que $[M-H]^+$, M^+ et $[M+H]^+$, respectivement en relation avec la perte d'une hydrure, la perte d'un électron et la protonation. La pluralité de l'ionisation en FAB/LSIMS causait a priori un problème analytique puisqu'on n'obtient pas uniquement le pic relié à la masse moléculaire de l'analyte. Cependant, la relation existant entre la variation des structures des analytes et les diverses distributions dans la région moléculaire des spectres a contribué à enrichir les connaissances décrivant les tendances envers chaque type d'ionisation en FAB/LSIMS.

Il a été observé que la formation d'ions $[M+H]^+$ était nettement favorisée par un accroissement de l'affinité protonique d'un acétal cyclique qui stabilise normalement les ions $[M-H]^+$. Suite à ces résultats, les propriétés thermodynamiques et leur influence sur l'ionisation FAB/LSIMS ont été étudiées davantage avec les isomères cis et trans de l'oxyde de stilbène. Ces composés devaient permettre de vérifier, avec précision, la proportionnalité entre les intensités relatives des pics de masse des ions $[M+H]^+$ et M^+ et les propriétés thermodynamiques associées aux analytes. Puisque leur affinité protonique et leur énergie d'ionisation étaient très semblables, il fut espérer d'obtenir des distributions de pics de masse très identiques dans la région moléculaire des spectres; cela n'est toutefois pas survenu. L'analyse des propriétés structurales par MS/MS a cependant révélé que les isomères se transformaient, durant le bombardement, en des structures dont les propriétés thermodynamiques étaient très différentes des originales. Ainsi, le cis se transformait préférentiellement en énol tandis que le trans, en aldéhyde. Cela a permis d'expliquer la protonation supérieure pour le cis par rapport au trans. Puisque qu'un alcool est plus basique qu'un aldéhyde, la proportionnalité entre les propriétés thermodynamiques des analytes et leur tendance envers les diverses voies d'ionisation était toujours envisageable. L'analyse de l'influence des propriétés structurales des analytes sur leur ionisation a été davantage explorée grâce aux phénols substitués. Ainsi, il a été démontré que les substituants activants tels que l'hydroxyle ou le méthoxyle permettaient autant la protonation que la perte d'électron. La MS/MS a d'ailleurs permis de constater que la variation de la densité électronique sur les substituants et le noyau aromatique était directement en relation avec l'intensité de la protonation et de la perte d'un électron. En effet, plus la densité électronique sur le noyau est grande et plus la formation d'ions M^+ est favorisée, alors que c'est la formation

d'ions $[M+H]^+$ qui est majoritaire lorsque les électrons sont de plus en plus sur les substituants. De plus, la présence de substituants désactivants tels le chlore et le nitro ont amené des effets très différents. Le nitro désactivait énormément tout type d'ionisation en FAB positif à cause de sa désactivation du cycle et de son acidité reconnue. La désactivation du cycle permettait quand même la formation d'ions $[M-H]$, ceux-ci étant issus de l'acidité accrue du groupement hydroxyle en forte résonance sur le cycle. Le chlore désactivait le cycle d'une manière similaire au nitro. Toutefois, la disponibilité des électrons de ce substituant permettait davantage la perte d'électron directement sur celui-ci et cela, au dépit de la protonation. Le processus qui désactive le cycle sur les nitro et chloro-phénols en ionisation FAB/LSIMS a justement été démontré par le fait que les substituants en *ortho* à l'hydroxyle permettaient une résonance interne des protons et des électrons. Cette déduction a été rendue possible grâce à l'absence d'ionisation issue des phénols chlorés ou nitrés en *ortho*. L'aspect de la disubstitution a suivi entièrement les processus structuraux déduits de la monosubstitution. Conséquemment, cela supporte davantage les conclusions en rapport avec les effets qu'a la substitution sur l'ionisation des phénols substitués.

Afin de préciser encore plus les processus d'ionisation agissant sur les analytes en FAB/LSIMS, la chimie des matrices induite par le bombardement a été étudiée en parallèle avec la radiolyse de composés biologiques. Grâce aux mécanismes réactionnels empruntés à la radiolyse, des variations dans la perte d'hydrure ont pu être expliquées. Il a été déduit, globalement, que les matrices thioliques et disulfures inhibent la perte d'hydrure en libérant des atomes d'hydrogènes suite à une captation d'électron. Par contre, les matrices sulfures semblaient avoir une chimie radiolytique marginale à

ces processus et la création de $[M-H]^+$ était justement favorisée avec celles-ci en FAB/LSIMS. La contribution des matrices sur la perte d'hydrure n'avait jamais été définie auparavant. Des études additionnelles ont aussi permis de définir un processus de protonation anormal recensé dans des matrices dites "oxydantes" et cela, toujours en parallèle avec les données issues de la littérature de la radiolyse. Ainsi, il a été déduit que la captation d'électron par le NBA pouvait provenir de la libération d'un électron à partir d'un radical créé à même une autre molécule de NBA. Cet échange résultait ensuite en une libération d'un proton, ce dernier pouvant se fixer éventuellement sur l'analyte dissous dans la matrice. Ce processus a d'ailleurs été démontré grâce à l'altération du site de libération du proton en utilisant la matrice NPOE au lieu du NBA; la protonation fut éliminée en grande partie.

Les observations et les arguments présentés dans cette étude penchent nettement en faveur de l'ionisation en phase condensée. La démonstration de l'accumulation d'espèces moléculaires énols ioniques, pour l'oxyde de stilbène-cis, a d'ailleurs été la démonstration de base. L'étude de ce composé a aussi mené à la démonstration des solvations variables en phase condensée, ce qui a permis de définir un pilier supplémentaire soutenant l'hypothèse de l'ionisation FAB/LSIMS en phase condensée. Il faut aussi ajouter à cela que le parallèle évident entre la radiolyse et l'ionisation FAB/LSIMS supporte encore plus cette hypothèse. En effet, il est reconnu que les processus de la radiolyse sont actifs en phase condensée. L'absence de corrélation avec les résultats en EI et CI permet aussi d'envisager que le procédé d'ionisation FAB/LSIMS ne soit pas apparenté à ces processus en phase gazeuse. De plus, l'absence de corrélation avec les résultats ESI laisse croire que le bombardement FAB/LSIMS est nécessaire à la création d'ions avec ces techniques de désorption.

RÉFÉRENCES

1. J.J. Thompson dans *Rays of positive electricity*, Longmans, Green and Co., London (1913)
2. F.W. Aston, *Phil. Mag.*, **38**, 707 (1919)
3. A.J. Dempster, *Phys. Rev.*, **11**, 316 (1918)
4. D.A. Skoog, J.J. Leary dans *Principles of instrumental analysis*, 4th Ed., Saunders College Publishing, NY (1992); Chapitre 18
5. J.R. Chapman dans *Practical organic mass spectrometry*, 2^{ème} Ed., Wiley, NY, Chap.1 (1993)
6. R.Théberge, G.J.C. Paul and M.J. Bertrand, *Org.Mass Spectrom.*, **29**, 18 (1994)
7. R.Théberge et M.J. Bertrand, *J. Mass Spectrom.*, **30**, 163 (1995)
8. A. Benninghoven, D. Jasper and W. Sichtermann, *Appl. Phys.*, **11**, 35 (1976)
9. F. Lafortune, R. Beavis, X. Tang, K.G. Standing and B.T. Chait, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **1**, 114 (1987)
10. M. Barber, R.S. Bordoli, G.J. Elliot, R.D. Sedgwick and A.N. Tyler, *Anal. Chem.*, **54**, 645A (1982)
11. J.A. Sunner, A. Morales et P.Kebarle, *Anal.Chem.*, **59**, 1378 (1987).
12. M. Takayama, T. Fukai, T. Nomura and K. Nojima, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **3**, 4 (1989)
13. R.T. Rosen, T.G. Hartman, J.D. Rosen and C.-T. Ho, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2**, 21 (1988)

14. O.Curcuroto, P.Traldi, G.Monetti, L.Corda and G.Podda, *Org.Mass Spectrom.*, **26**, 713 (1991)
15. J.A. Sunner, R.Kalutunga et P.Kebarle, *Anal.Chem.*, **58**, 1312 (1986)
16. E.Schroder, H.Munster, H.Budzikiewicz, *Org. Mass Spectrom.*, **21**, 707 (1986)
17. H.Munster, F.Theobald, H.Budzikiewicz, E.Schroder, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **79**, 73 (1987)
18. J.Sunner, *Org. Mass Spectrom.*, **28**, 805 (1993)
19. A. Benninghoven, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **53**, 85 (1983)
20. P.J. Todd, *J.Am.Soc. Mass Spectrom.*, **2**, 33 (1991)
21. M.J.Connolly and R.G. Orth, *Anal.Chem.*, **59**, 903 (1987)
22. M.G.O. Santana-Marques, A.J.V. Ferrer-Correia and M.L. Gross *Anal.Chem.*, **61**, 1442 (1989)
23. B.T.Kiremire,D.Chiarello, P.Traldi, P.Bravo and G.Resnati, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **5**, 591 (1991)
24. M.Brakta, B.Chaguir, D.Sinou, J.Banoub and M.Becchi, *Org.Mass Spectrom.*, **27**, 331 (1992)
25. G.J.C. Paul, S.Bourg, M.J.Bertrand, *Rapid Commun.Mass Spectrom.*, **6**, 85 (1992)
26. G.J.C. Paul, S.Bourg, M.J.Bertrand, *J.Am.Soc. Mass Spectrom.*, **4**, 493 (1993)
27. G.J.C. Paul, R. Théberge, M.J. Bertrand, R.Feng, M.D. Bailey, *Org.Mass Spectrom.*, **28**,1329 (1993)

28. G.J.C. Paul, T. Rendon, J. Anastassopoulou, T. Theophanides and M.J. Bertrand, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **142**, 41 (1995)
29. G.J.C. Paul, R. Feng, M.J. Bertrand, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **145**, 123 (1995)
30. R.G. Cooks, K.L. Bush, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **53**, 111 (1983)
31. D.E. Main, W. Ens, R. Beavis, B. Schueler, K.G. Standing, J.B. Westmore et C.-W. Wong, *Biomed. Mass Spectrom.*, **14**, 91 (1987)
32. M.A. Baldwin, K.J. Welham, I. Toth et W.A. Gibbons, *Org. Mass Spectrom.*, **23**, 697 (1988)
33. Q. Zha and M.J. Bertrand, *Proceeding 37th ASMS Annual Conference*, 1989, p.792
34. Q. Zha and M.J. Bertrand, *Org. Mass Spectrom. Letters*, **25**, 435 (1990)
35. Q. Zha, M.D. Bailey and M.J. Bertrand, *Can. J. Appl. Spectros.*, **35**, 141 (1990)
36. S. Obarewicz, G.J.C. Paul and M.J. Bertrand, *Proceeding 44th ASMS Annual Conference*, 1996, p.802
37. J. Visentini, P.M. Nguyen and M.J. Bertrand, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **5**, 586 (1991)
38. M. Takayama, M. Iwamura, S. Fuchibe, *Org. Mass Spectrom.*, **29**, 601 (1994)
39. J.N. Kyranos, P. Vouros, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **19**, 628 (1990)
40. M. Takayama, *J. Mass Spectrom.*, **30**, 1352 (1995)
41. H. Nakata, N. Arakawa, R. Mizuno, *Org. Mass Spectrom.*, **29**, 192 (1994)
42. M. Takayama, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **6**, 114 (1995)

43. R. Guevremont, K.W.M. Siu, J.C.Y. LeBlanc et S.S. Berman, *J.Am.Soc. Mass Spectrom.*, **3**, 216 (1992)
44. Z.L. Cheng, K.W.M. Siu, R. Guevremont et S.S. Berman, *J.Am.Soc. Mass Spectrom.*, **3**, 281 (1992)
45. J.C.Y. LeBlanc, R. Guevremont et K.W.M. Siu, *Int. J. mass Spectrom. Ion Processes*, **125**, 145 (1993)
46. K. Iraoka, K. Murata et I.Kudaka, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **7**, 363 (1993)
47. F.M. Rubino and L.Zecca, *Org.Mass Spectrom.*, **26**, 961 (1991)
48. H.Nakata, K.Tanaka, *Org. Mass Spectrom.*, **29**, 283 (1994)
49. G.Dube, *Org. Mass Spectrom.*, **19**, 242 (1984)
50. K.P. Madhusudanan, *J. Mass Spectrom.*, **30**, 1230 (1995)
51. C.Athanassopoulos, D.Papaioannou, A. Napoli, C.Siciliano, G.Sindona, *J. Mass Spectrom.*, **30**,1284 (1995)
52. (a) C.Dass, *J.Am.Soc.Mass Spectrom.*, **1**, 405,(1990); (b) C.Dass, R.Seshadri, M.Israel and D.M.Desiderio, *Biomed. Mass Spectrom.*, **17**, 37 (1988)
53. K.Balasanmugam, J.M. Miller, *Org. Mass Spectrom.*, **23**, 267 (1988)
54. W. Vetter, W.Meister, *Org.Mass Spectrom.*, **20**, 266 (1985)
55. S.Kurono, T.Tani, T.Hirano, K.Tjujimoto, M.Ohashi, *Org.Mass Spectrom.*, **27**, 1365 (1992)
56. M.Takayama, T.Fukai,T.Nomura, *Int.J.Mass Spectrom.Ion Processes*, **96**, 169 (1990)
57. M.Takayama, Y. Tanaka,T.Nomura,*Org. Mass Spectrom.*, **28**, 1529 (1993)

58. S.Naylor, C.A. Hunter, J.A.Cowan, J.H.Lamb, J.K.M. Sanders, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 6507 (1990)
59. M.Takayama, T.Fukai, T.Nomura, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **89**, R1-R5 (1989)
60. M. Takayama, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **42**, 249 (1994)
61. R. Théberge and M.J. Bertrand, *J. Mass Spectrom.*, **30**, 163 (1995)
62. F.H. Field, *J. Phys. Chem.*, **86**, 5115 (1982)
63. T. Keough, F.S. Ezra, A.F. Russel, J.D. Pryne, *Org. Mass Spectrom.*, **22**, 241 (1987)
64. A.A. Tuinmann, K.D. Cook, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **92**, (1994)
65. R. Théberge et M.J. Bertrand, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **7**, 1109 (1996)
66. D.H. Williams, A.F. Findeis, S. Naylor, B.W. Gibson, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 1980 (1987)
67. VG Analytical, *Autospec Operators Manual*, vol. 3, Fisons Instruments (1992)
68. Kratos Analytical Instruments, *Kratos MS50 operating manual*, Manchester, UK (1983)
69. R.E. March, P.J. Todd dans *Practical aspects of ion trap mass spectrometry*, vol. 2, *Ion trap instrumentation*, CRC press, Chap. 1 (1995)
70. J.R. Chapman dans *Practical organic mass spectrometry*, 2^{ème} Ed., Wiley, NY, Chap. 2,6,7 (1993)
71. R.G. Cooks dans *Collision Spectroscopy*, Plenum Press, New York, 405-408 (1978)

72. R.E. March and P.J. Todd dans *Practical Aspects of Ion Trap Mass Spectrometry*, vol.1, CRC Press, Boca Raton, Chapitre 7 (1995)
73. F.W. McLafferty dans *Interpretation of mass spectra*, 3^{ème} édition, Mill Valley, California, University Science Books, Chap. 4,9 (1980)
74. S. Obarewicz, G.J.C. Paul et M.J. Bertrand, Proceeding 45th ASMS Annual Conference, 1997
75. L.D. Detter, O.W. Hand, R.G. Cooks et R.A. Walton, *Mass Spectrom. Rev.*, **7**, 465 (1988)
76. D.R. Arnold et P.C. Wong, *Can. J. Chem.*, **57**, 2098 (1979)
77. The American chemical society and the american institute of physics for the national bureau of standards, *J. Phys. Chem. ref. data*, vol. 17, supplement no. 1, Tableau 2 (1988)
78. A. Streitwieser, C.H. Heathcock, E.M. Kosower dans *Introduction to Organic Chemistry*, 44th, Macmillan, Toronto, 1992, p.236
79. J.C. Tabet, *Cours de Spectrométrie de Masse, Méthodes de désorption, Electrospray et Ionspray (Partie 1)*, 1^{ère} édition, Université P. et M. Curie, 1996
80. K.P. Wirth, E. Junker, F.W. Rollgen, P. Fonrobert et M. Przybylski, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1387 (1987)
81. P.J. Todd, G.S. Groenewold, *Anal. Chem.*, **58**, 895 (1986)
82. E. Junker, K.P. Wirth, F.W. Rollgen, *Journal de physique*, C2 Supplément #2, **50**, 53 (1989)
83. E. Junker, K.P. Wirth, F.W. Rollgen, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **122**, 3 (1992)

84. C.K. Ingold dans *Structure and mechanism in organic chemistry*, 2^{ème} édition, Ithaca, Cornell University Press, Chap. 3-6 (1969)
 85. F.W. McLafferty dans *Tandem mass spectrometry*, New York, Wiley, 68 (1983)
 86. F.W. McLafferty dans *Interpretation of mass spectra*, 3^{ème} édition, Mill Valley, California, University Science Books, 194 (1980)
 87. D.C. Harris dans *Quantitative chemical analysis*, 2^{ème} édition, New York, W.H. Freeman (1987)
 88. C. von Sonntag dans *The chemical basis of radiation biology*, Taylor and Francis, New York, Chap.11 (1987)
 89. K.D. Asmus, A. Henglein, A. Wigger and G. Beck, *Ber. Bunsenges. Physik. Chem.*, **70**, 459 (1966)
-