

Quentin DUEZ ^(1,2), Romain LIENARD ^(1,3), Vincent LEMAUROU ⁽²⁾, Jérôme CORNIL ⁽²⁾, Pascal GERBAUX ⁽¹⁾, Julien DE WINTER ^{(1)*}

⁽¹⁾ Laboratoire de Synthèse et Spectrométrie de Masse Organiques (S²MOs), Centre Interdisciplinaire de Spectrométrie de Masse (CISMa).

⁽²⁾ Laboratoire de Chimie des Matériaux Nouveaux (CMN), Centre d'Innovation et de Recherche des Matériaux Polymères (CIRMAP).

⁽³⁾ Laboratoire des Matériaux Polymères et Composites (SMPC), Centre d'Innovation et de Recherche des Matériaux Polymères (CIRMAP), Université de Mons, UMonS, 23 Place du Parc, 7000 Mons, Belgique. Tel : +32 (0) 65 37 33 37, Julien.dewinter@umons.ac.be.

Différenciation et identification d'architectures polymères par spectrométrie de masse à mobilité ionique

Distinction and identification of polymeric architectures using ion mobility mass spectrometry

Résumé

Du fait de l'étroite relation entre la structure moléculaire d'un polymère et les propriétés physico-chimiques du matériau qui lui sont associées, la caractérisation structurale de macromolécules synthétiques représente une étape incontournable lors de la conception de matériaux originaux. C'est dans l'objectif de caractériser un mélange d'architectures polymères isomères que les performances de la spectrométrie de masse à mobilité ionique ont été évaluées au cours de ce travail de Master en Sciences Chimiques. Un mélange de polylactides isomères (linéaires versus cycliques) a été analysé par spectrométrie de masse à mobilité ionique et les ions polymères de différentes topologies ont été séparés en phase gazeuse sur base de leurs sections efficaces de collision, i.e., en première approximation sur base de leurs structures tridimensionnelles. Les ions ainsi séparés sont ensuite identifiés par l'utilisation de la spectrométrie de masse en tandem. L'implémentation de la technique de mobilité ionique en association avec les techniques plus conventionnelles de la spectrométrie de masse ouvre la perspective à des études structurales poussées basées sur la détermination des sections efficaces de collision d'ions issus de macromolécules isomères. Il est également envisageable de quantifier la proportion en structures isomères présentes au sein d'un échantillon sur base de ces techniques.

Abstract

Due to the close relationship between the molecular structure of a polymer and the associated physicochemical properties of the material, structural characterization of synthetic macromolecules has become an essential step in the conception of original materials. The aim of this Master thesis in Chemical Sciences is to evaluate the performances of ion mobility mass spectrometry for the characterization of a mixture of isomeric polymeric architectures. A mixture of isomeric (cyclic versus linear) polylactides has been analyzed by ion mobility mass spectrometry and the ions were separated in gas phase according to their collisional cross section, i.e., in first approximation according to their tridimensional structures. The separated ions are identified using tandem mass spectrometry. The implementation of ion mobility in association to more conventional mass spectrometry techniques offers the prospect of deeper structural analyses based on the macromolecular collisional cross sections. Another possible option is the quantification of the proportion of isomeric structures within the sample using ion mobility and tandem mass spectrometry.

Mots-Clés

Spectrométrie de masse, mobilité ionique, chimie des polymères, analyse structurale

Keywords

Mass spectrometry, ion mobility, polymer chemistry, structural analysis

1. Introduction : Analyse de polymères par spectrométrie de masse

Depuis plusieurs décennies, la spectrométrie de masse est devenue un outil analytique incontournable pour la caractérisation structurale de macromolécules synthétiques, au même titre que la spectroscopie de résonance magnétique (RMN) ou que la chromatographie d'exclusion stérique (SEC). Contrairement à ces deux dernières techniques, la spectrométrie de masse permet de détecter chaque chaîne de la distribution polymère indépendamment des autres, ainsi que d'en déterminer un rapport *masse-sur-charge* (m/z). Un spectromètre de masse est constitué d'une source produisant des ions en phase gazeuse, d'un analyseur permettant de séparer les ions produits en fonction de leur rapport m/z ainsi que d'un détecteur convertissant le courant ionique en un signal électrique [1].

Historiquement, les premières sources d'ionisation développées pour la spectrométrie de masse, à savoir essentiellement la technique d'ionisation électronique, ne permettaient l'accès qu'aux molécules volatiles, puisque l'ionisation des molécules de l'analyte est postérieure à sa vaporisation. De plus, la majorité du temps, les sources originelles

sont associées inévitablement à la formation d'ions fragments. Dans le cas de l'analyse de polymères, quand il est possible de l'obtenir pour des problèmes évidents de volatilité, le spectre de masse devient très complexe à analyser et l'information sur les paramètres de masse de l'échantillon polymère est perdue. Au début des années 1980, l'intérêt pour la spectrométrie de masse dans le contexte de la caractérisation de polymères s'est significativement accentué avec l'apparition de deux nouvelles sources d'ionisation dites douces. En effet, le développement des sources *ElectroSpray Ionization* (ESI) et *Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization* (MALDI) s'est révélé représenter une avancée significative pour la vaporisation ainsi que l'ionisation des macromolécules en réduisant significativement les phénomènes de fragmentation. C'est d'ailleurs depuis l'introduction de ces nouvelles sources que le nombre d'articles référencés reprenant les mots clés *Mass Spectrometry* et *Polymer* (ou *polymers*) a augmenté de manière exponentielle (Fig. 1) [2, 3, 4].

Le spectre de masse d'un échantillon polymère présente une distribution de signaux espacés d'un $\Delta m/z$ proportionnel à la masse de l'unité répétitive de la macromolécule. Chaque signal correspond

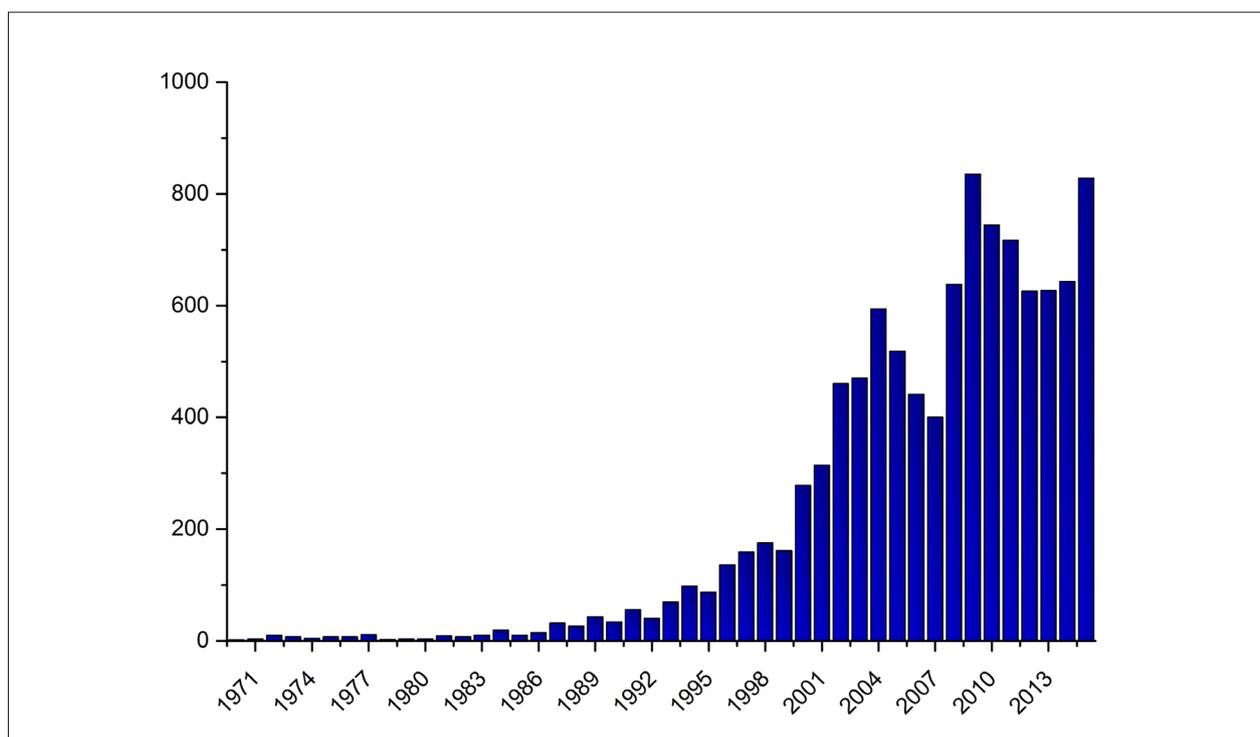


Figure 1 : Nombre d'articles référencés reprenant les mots clés *Mass Spectrometry* et *Polymer* [2]

à une chaîne polymère d'un degré de polymérisation donné, c'est-à-dire d'un nombre donné d'unités monomères. De ce fait, il est aisé de déterminer la nature de(s) unité(s) monomère(s) constituant le squelette du polymère ainsi que la nature des bouts de chaîne. Il est intéressant de noter que par rapport aux deux techniques habituellement utilisées (SEC et RMN), l'information obtenue par spectrométrie de masse n'est pas une information moyennée sur l'ensemble de l'échantillon mais caractéristique de chacune des molécules présentes au sein de l'échantillon, ce qui permet de mettre en exergue la présence de chaînes polymères possédant un même nombre d'unités monomériques mais des bouts de chaîne de nature différente. Par exemple, la figure 2 représente le spectre de masse MALDI d'un poly(3-hexylthiophène) pour lequel la différence $\Delta m/z$ entre

deux signaux vaut 166.09 Da, ce qui correspond à la masse de l'unité monomère [5, 6].

À partir du rapport m/z et en connaissant la nature de l'unité répétitive, il est possible de déterminer la masse des bouts de chaînes et éventuellement obtenir des informations sur le mécanisme de synthèse. Cependant, une simple analyse en masse ne permet pas de distinguer la présence de structures isomères (même masse exacte et même composition) qui présentent des topologies différentes (par exemple : linéaire vs cyclique) ou des connectivités différentes comme dans le cas de copolymères. Dès lors, une analyse par spectrométrie de masse en tandem peut être envisagée afin d'obtenir des informations complémentaires [7].

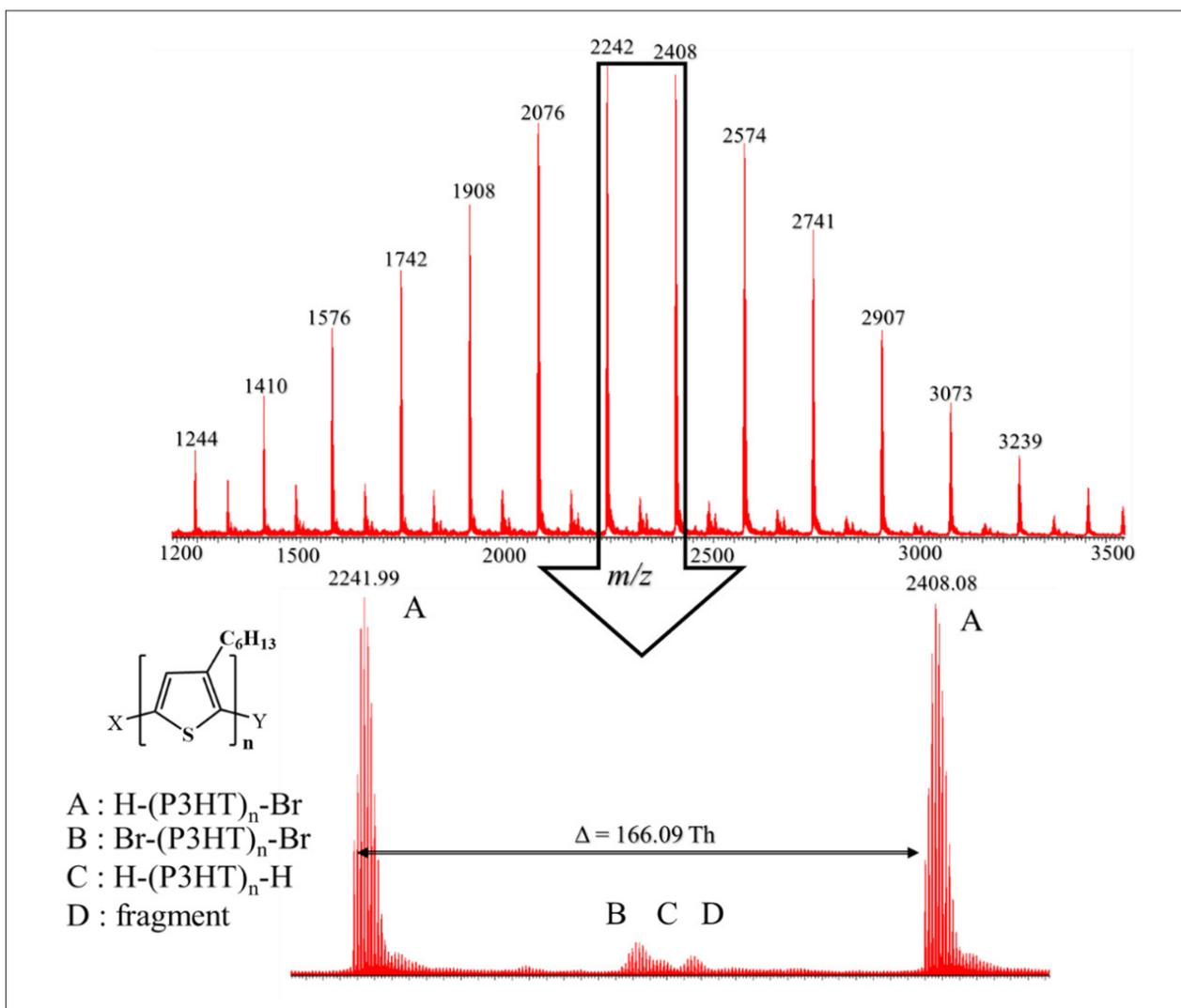


Figure 2 : Spectre MALDI de poly(3-hexylthiophène) ; figure adaptée de la référence [6]

2. Introduction : Analyse de polymères par spectrométrie de masse en tandem

Les études effectuées avec les premiers spectromètres de masse permettaient la caractérisation structurale d'analytes à partir des fragments produits en source au cours du processus d'ionisation. Comme précisé plus haut, l'introduction des nouvelles sources d'ionisation ESI et MALDI a permis le transfert en phase gazeuse et l'ionisation de macromolécules intactes (réduisant donc la production de fragments) mais de ce fait, l'information structurale basée sur l'étude de ces ions fragmentés est perdue. Il est donc requis d'induire volontairement des réactions de décomposition en phase gazeuse sur des ions préalablement sélectionnés, et ce par des procédés d'activation. L'étude des fragments ainsi obtenus peut aider à la caractérisation structurale d'un ion donné. Ce principe est celui de la spectrométrie de masse en tandem (MSMS).

Un des procédés d'activation les plus utilisés consiste à augmenter l'énergie interne d'ions, préalablement sélectionnés en masse, suite à des collisions inélastiques avec un gaz inerte. Au cours de ces processus collisionnels, une partie de l'énergie cinétique translationnelle des ions parents est transférée en énergie interne. Cette excitation est, le plus souvent, de nature vibrationnelle et mène à la décomposition des ions excités suivant des réactions de fragmentation

compétitives. Cet ensemble de processus, dénommé *Collision-induced Dissociation* (CID), est représenté schématiquement en figure 3 [7, 8].

L'application de la MSMS à l'analyse de polymères permet par exemple de caractériser la masse de chaque bout de chaîne séparément, contrairement à une simple analyse en masse lors de laquelle seule la masse totale des bouts de chaînes peut être déterminée. La MSMS permet également de différencier des ions isomères ou isobares, c'est-à-dire des ions ayant la même masse entière. Par exemple, deux poly(éthylène glycol) (PEG) avec des bouts de chaînes différents peuvent facilement être caractérisés par cette technique. Comme présenté dans la figure 4a, l'ion moléculaire m/z 525 élimine, après activation collisionnelle, un fragment neutre dont la masse vaut 44 Da, correspondant à une unité éthylène glycol. Dans la figure 4b, les ions isobares de structure plus complexe éliminent un fragment neutre de masse 282 Da correspondant à de l'acide oléique. Tous les fragments détectés entre m/z 371 et m/z 315 sont issus de réactions de fragmentation du bout de chaîne acide oléique.

Néanmoins, dans le cas d'un mélange des deux polymères, une séparation préalable à la fragmentation sera bénéfique afin de simplifier l'interprétation des résultats. Dans ce contexte, une nouvelle technique de séparation a récemment été implémentée, la spectrométrie de masse à mobilité ionique [1].

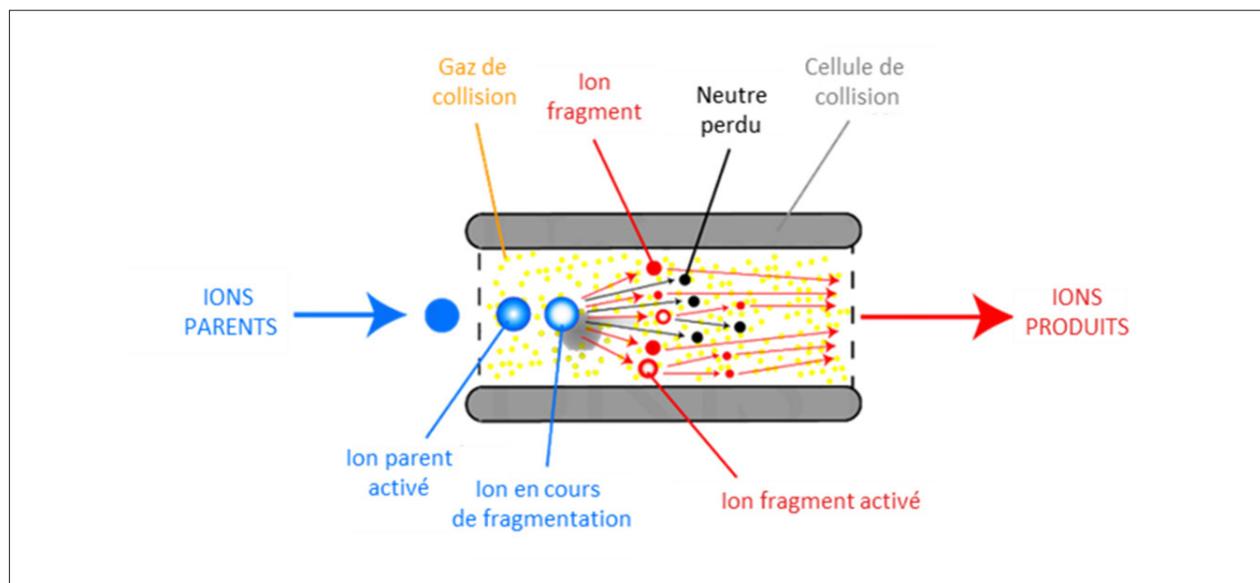
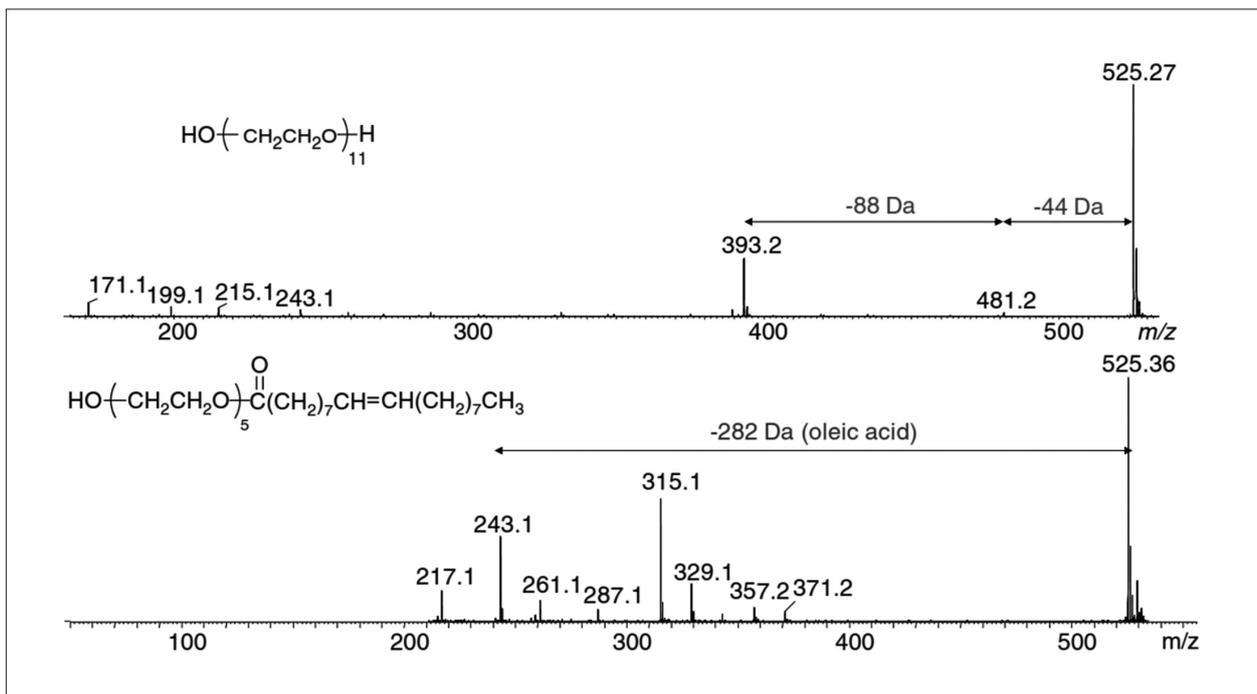


Figure 3 : Représentation schématique du processus CID ; figure adaptée de la référence [9]



Figures 4a et 4b : Spectres MSMS de PEG isobares avec des bouts de chaînes différents [1]

3. Introduction : Analyse de polymères par spectrométrie de masse à mobilité ionique

La spectrométrie de masse à mobilité ionique (IMMS), également appelée *chromatographie plasma*, permet de séparer des ions en phase gazeuse en fonction de leurs sections efficaces de collision en phase gazeuse. La technique de mobilité ionique sonde la vitesse moyenne d'ions en phase gazeuse, sous l'influence d'un champ électrique, qui parcourent une cellule de mobilité remplie à haute pression par un gaz tampon. Les ions sont à la fois accélérés par le champ électrique et ralentis par des collisions avec le gaz tampon, injecté dans la direction opposée au mouvement des ions. Dans des conditions dites de champ faible, il s'établit un régime stationnaire dans le mouvement des ions. Les ions acquièrent une vitesse de migration décrite par l'Équation 1, dans laquelle v est leur vitesse de migration, K leur constante de mobilité et E le champ électrique appliqué [10, 11].

$$\vec{v} = K\vec{E}$$

La constante de mobilité des ions est inversement proportionnelle à leur section efficace de collision, tel qu'exprimé dans la loi de Mason-Schamp (Équation 2) [12].

$$K = \left(\frac{3q}{16N}\right) \sqrt{\frac{2\pi}{kT}} \sqrt{\frac{m+M}{mM}} \left(\frac{1}{\Omega_{avg}}\right)$$

Dans cette équation, q est la charge de l'ion, N le nombre de densité du gaz tampon, k la constante de Boltzmann, T la température, m la masse du gaz tampon, M la masse de l'ion et Ω_{avg} la section efficace de collision moyenne. Dès lors, pour un rapport m/z donné, les ions les plus compacts, dont la section efficace de collision est la plus faible, traversent la cellule de mobilité plus rapidement que les ions les plus étendus (Fig. 5).

En couplant la mobilité ionique à la spectrométrie de masse, il apparaît alors qu'un niveau supplémentaire de séparation est apporté. Les ions en phase gazeuse sont en effet caractérisés par leur rapport m/z ainsi que par leur section efficace de collision [13].

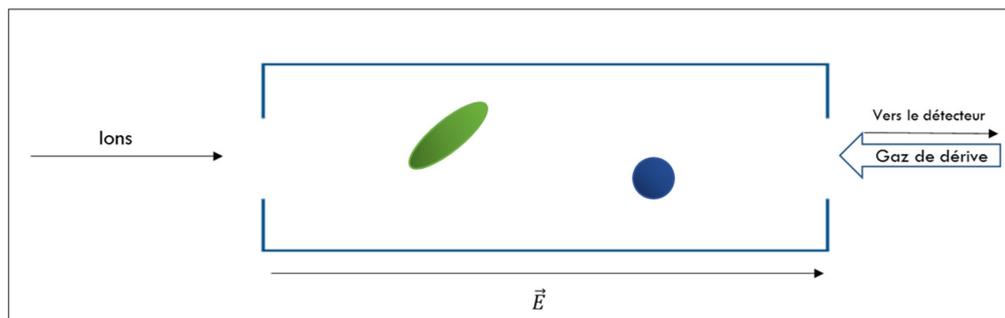


Figure 5 : Représentation schématique d'une cellule de mobilité dans laquelle deux ions de même m/z , en vert et bleu, sont séparés en fonction de leurs sections efficaces de collision en phase gazeuse

4. Analyse d'un mélange de polymères de topologies différentes

La spectrométrie de masse à mobilité ionique apparaît donc comme un outil analytique de choix pour la séparation de mélanges d'analytes isomères. Par exemple, au sein de notre laboratoire, l'IMMS a été utilisée afin de distinguer et d'identifier un polyacétide linéaire et son isomère cyclique au sein d'un mélange. Le polymère cyclique a été obtenu à partir de son homologue linéaire par une réaction « Click » de Huisgen décrite dans la littérature (Fig. 6) [14].

Étant donné que les deux polymères sont isomères, une seule distribution est observée sur le spectre de masse par état de charge (Fig. 7).

Après détermination des distributions de temps d'arrivée associées à chacun des rapports m/z présents dans l'échantillon polymère, il est apparu que deux signaux étaient présents pour les chaînes polymères plusieurs fois chargées. Par exemple, la distribution de temps d'arrivée des ions m/z 985 correspondant aux chaînes polymères triplement sodées, avec un degré de polymérisation de 18, est représentée dans la figure 8.

Il semble donc intuitif de penser que chacun de deux signaux, apparaissant respectivement à des temps de dérive valant 6.28 et 7.28 ms, correspond au polymère linéaire ou au polymère cyclique. Afin d'identifier à quel polymère correspond chacun des signaux, des expériences de spectrométrie de masse en tandem couplées à la séparation par mobilité ionique ont été réalisées. En particulier, sur les spectromètres de masse actuels, il est possible de réaliser les expériences CID à différentes énergies translationnelles et de mesurer le rendement de décomposition en fonction de l'énergie cinétique des ions incidents. Ce type de mesure permet de distinguer des ions isomères non seulement qualitativement sur base de l'identification

d'ions fragments différents, mais également quantitativement sur base du suivi du taux de décomposition en fonction de l'énergie d'activation. En pratique, c'est le taux de survie des ions parents - le Survival Yield (SY) (Éq. 3) - qui est déterminé en fonction de l'énergie cinétique des ions avant l'activation collisionnelle. Cette technique permet de distinguer des ions isomères qui posséderaient les mêmes ions fragments, mais produits suivant des réactions de décomposition caractérisées par des cinétiques différentes. Concrètement, des analyses MSMS successives sont effectuées à différentes énergies de collision afin de déterminer à partir de quelle énergie cinétique les ions parents d'intérêt subissent des réactions de décomposition. Le SY, décrit par l'équation 3, correspond au rapport entre la quantité d'ions parents sélectionnés et la quantité totale d'ions fragments et parents associés aux ions préalablement sélectionnés. Le SY est mesuré à différentes énergies de collision et est ensuite porté en graphique en fonction de l'énergie de collision [15].

$$SY = \frac{I_{parent}}{I_{parent} + I_{Frag}}$$

Il a déjà été montré dans la littérature que les ions issus d'un polymère cyclique obtenu par réaction « Click » doivent subir initialement des processus d'ouverture de cycle avant de pouvoir subir des réactions de décomposition. Étant donné que l'ouverture du cycle nécessite de l'énergie, les ions du polymère cyclique se fragmentent à une énergie de collision plus élevée que les ions de son isomère linéaire. De plus, le bout de chaîne du polymère linéaire contient une fonction azoture, très fragile, perdant rapidement une molécule de N_2 [14].

Après sélection des ions de rapport m/z 985, les ions polymères de topologies différentes ont été séparés par mobilité ionique, et ensuite des expériences de SY après la cellule de mobilité ont été réalisées. Les

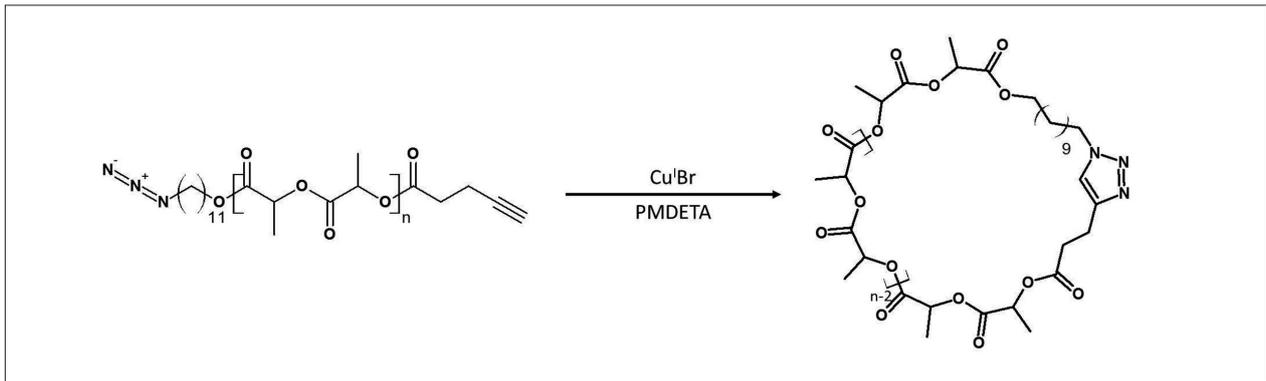


Figure 6 : Réaction de cyclisation « Click » d'un polylactide fonctionnalisé

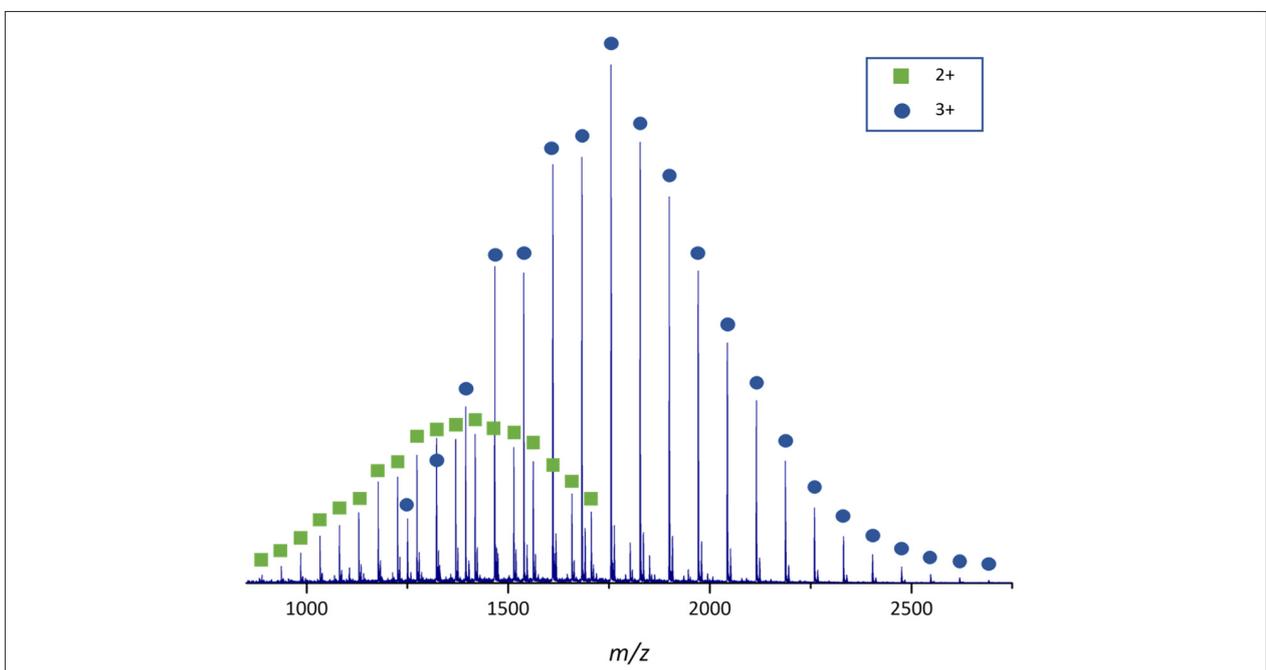


Figure 7 : Spectre de masse ElectroSpray du mélange de polylactides cycliques et linéaires

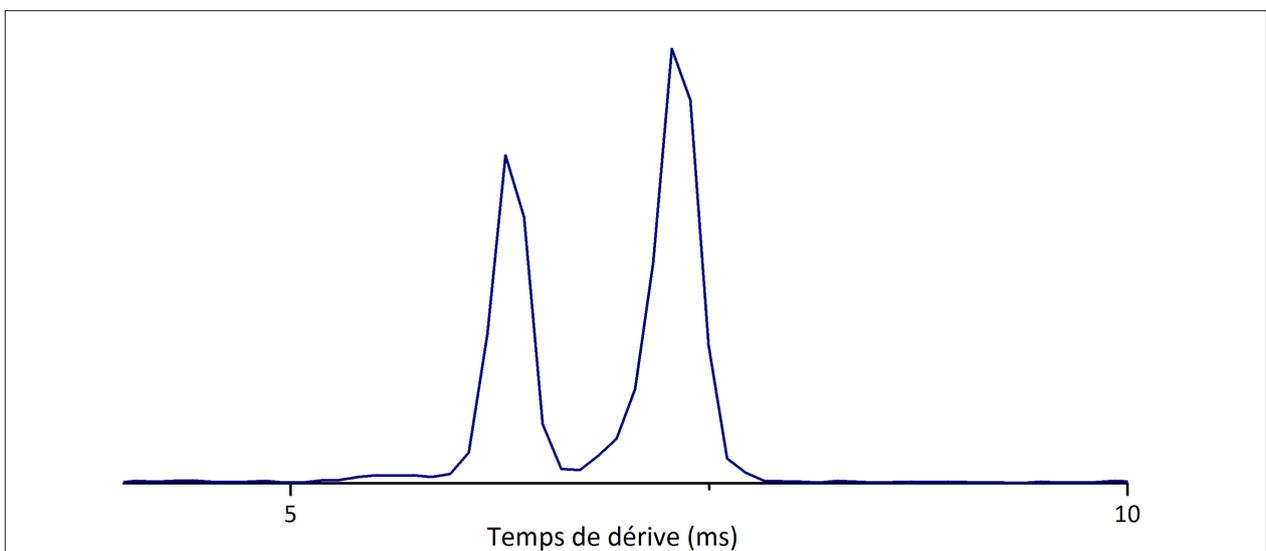


Figure 8 : Distribution de temps d'arrivée des ions m/z 985

courbes de SY obtenues sont représentées en figure 9 pour chacune des distributions observées, à 6.28 ms et à 7.28 ms.

Les ions apparaissant à un temps de dérive de 7.28 ms sont caractérisés par un seuil de décomposition plus faible. Sur base des observations précédemment publiées dans la littérature [14], les ions apparaissant à 6.28 ms sont des ions polymères cycliques, tandis que les ions apparaissant à 7.28 ms sont des ions polymères linéaires.

L'évolution du temps de dérive des ions de chaque topologie en fonction du degré de polymérisation (DP) est représentée en figure 10. Il apparaît clairement que le temps de dérive du polylactide cyclique

est systématiquement inférieur au temps de dérive du polymère linéaire, tel que reporté dans la littérature pour des poly(ϵ -caprolactone) (PCL) [16]. Il apparaît également plusieurs plateaux dans les courbes représentées. Ces plateaux ont déjà été rapportés dans la littérature dans le cas de polylactides linéaires et sont associés à des repliements différents de la chaîne polymère en phase gazeuse. À partir d'un certain point, les courbes se rejoignent car les deux polymères adoptent la même structure en phase gazeuse, à savoir une structure globulaire [17].

Le potentiel de l'IMMS ionique en tant qu'outil analytique puissant est clairement mis en évidence par la distinction et l'identification non-ambigüe de

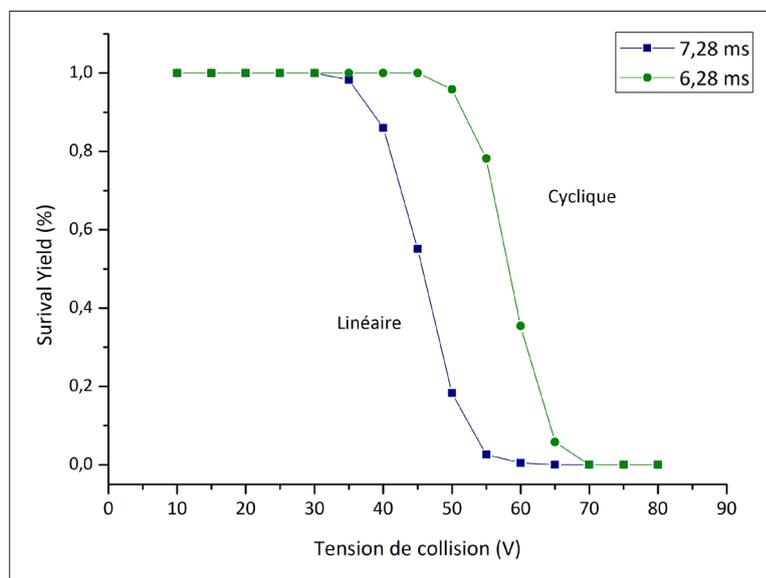


Figure 9 : Courbes de Survival Yield des signaux apparaissant à 6.28 et 7.28 ms

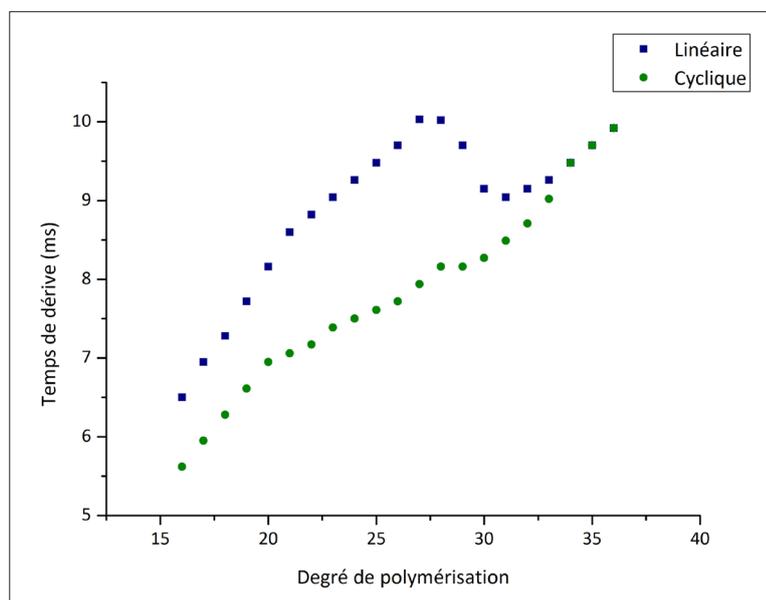


Figure 10 : Évolution du temps de dérive de polylactides linéaires et cycliques en fonction du degré de polymérisation

deux polymères isomères de topologies différentes. Outre l'aspect analytique, l'IMMS permet également une caractérisation structurale fine des ions via la détermination de leur section efficace de collision. Toutefois, dans le but d'atteindre cet objectif, il est nécessaire d'avoir accès aux structures tridimensionnelles des systèmes étudiés au niveau atomistique. Pour ce faire, la modélisation moléculaire apparaît comme un outil de choix. C'est d'ailleurs grâce à la combinaison entre la modélisation moléculaire et l'IMMS que notre laboratoire continue à étudier les phénomènes physico-chimiques impliqués dans les repliements des ions polymères en phase gazeuse ; des études préliminaires font déjà l'objet d'une publication [17].

5. Conclusions

Dans cette étude, l'intérêt analytique de la spectrométrie de masse et la spectrométrie de masse à mobilité ionique a été mise en évidence dans le contexte de la caractérisation structurale de polymères. De plus, la puissance de l'IMMS a pu être mise en exergue par la différenciation et l'identification de polymères isomères de topologies différentes. En effet, un mélange de polylactides linéaires et cycliques isomères a été résolu par mobilité ionique et chaque polymère a été identifié de manière non-ambigüe par la technique du *Survival Yield*. Cette approche ouvre la perspective à des études quantitatives visant à évaluer, par exemple, le degré d'avancement d'une réaction. Sur base des sections efficaces de collision de chacun des polymères, une approche d'analyse structurale est actuellement réalisée en utilisant la combinaison entre la mobilité ionique et la modélisation moléculaire.

6. Méthodologie

Les expériences de mobilité ionique ont été réalisées sur le spectromètre de masse Waters Synapt G2-Si. Les solutions de polymères ont été préparées à une concentration de 15 μM dans de l'acétonitrile, auxquelles ont été rajoutées 10 μL d'une solution d'iodure de sodium (13 mM dans de l'acétonitrile). La solution ainsi obtenue a été injectée dans une source ESI avec un débit de 5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ à un voltage

de capillaire de 3.1 kV, une température de source de 100°C, une température de désolvatation de 200°C. Les expériences de mobilité ionique ont été réalisées en utilisant de l'azote en tant que gaz de dérive, à une pression de 2.9 mbar, une vitesse de vague de 800 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ et une hauteur de vague de 40V.

7. Remerciements

Le laboratoire de spectrométrie de masse remercie le Fonds National de la Recherche Scientifique (FRS-FNRS) pour sa contribution à l'acquisition du spectromètre de masse Waters Synapt G2-Si ainsi que pour son soutien. J.C. est directeur de recherche au FNRS et Q.D. est chercheur associé FNRS.

Références

- [1] C. Barner-Kowollik, T. Gruending, J. Falkenhagen, T. Robert, et A. R. Michael, *Mass Spectrometry in Polymer Chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim, 2012.
- [2] Nombre d'articles référencés utilisant les mots «Mass spectrometry» et «Polymer» en tant que mots clés - Données depuis Scopus (Novembre 2016).
- [3] M. J. Vergne, D. M. Hercules, et R. P. Lattimer, "A Developmental History of Polymer Mass Spectrometry," *J. Chem. Educ.* 2007 84, 1.
- [4] H. J. Räder et W. Schrepp, "MALDI-TOF mass spectrometry in the analysis of synthetic polymers," *Acta Polym.* 1998, 49.
- [5] G. Montaudo, F. Samperi, et M. S. Montaudo, "Characterization of synthetic polymers by MALDI-MS," *Prog. Polym. Sci.* 2006, 31, 3.
- [6] J. De Winter, G. Deshayes, F. Boon, O. Coulembier, P. Dubois, et P. Gerbaux, "MALDI-ToF analysis of polythiophene : use of trans -2- [3- (4- t-butyl-phenyl) -2-methyl-2-propenylidene] malononitrile - DCTB - as matrix," *J. Mass Spectrom.*, 2011, 46.
- [7] C. Wesdemiotis, S. Nilüfer, M. J. Polce, D. E. Dabney, K. Chaicharoen, et B. C. Katzenmeyer, "Fragmentation pathways of polymer ions," *Mass Spectrom. Rev.*, 2011, 30, 4.
- [8] L. Sleno et D. A. Volmer, "Ion activation methods for tandem mass spectrometry," *J. Mass Spectrom.*, 2004, 39, 10.
- [9] Image depuis Mass Spectrometry Facility - University of Bristol; Disponible à <http://www.chm.bris.ac.uk/ms/images/cid-schematic.jpg>
- [10] A. A. Shvartsburg et R. D. Smith, "Fundamentals of Traveling Wave Ion Mobility Spectrometry," *Anal. Chem.* 2008, 80, 24.
- [11] K. Giles, S. D. Pringle, K. R. Worthington, D. Little, J. L. Wildgoose, et R. H. Bateman, "Applications of a travelling wave-based radio-frequency-only stacked ring ion guide," *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2004, 18, 20.
- [12] H. E. Revercomb et E. A. Mason, "Theory of Plasma Chromatography/Gaseous Electrophoresis- A Review," *Anal. Chem.* 1975, 47, 7.
- [13] V. Gabelica, "Intérêt de la spectrométrie de mobilité ionique pour l'étude de la conformation et des assemblages non-covalents des biomolécules," *Spectra Anal.* 2006, 251.
- [14] T. Josse, J. De Winter, P. Dubois, O. Coulembier, P. Gerbaux, et A. Memboeuf, "A tandem mass spectrometry-based method to assess the architectural purity of synthetic polymers: A case of a cyclic polylactide obtained by click chemistry," *Polym. Chem.* 2015, 6, 1.
- [15] A. Memboeuf, L. Jullien, R. Lartia, B. Brasme, Y. Gimbert, D. D. C. Moléculaire, C. Université, et J. Fourier, "Tandem Mass Spectrometric Analysis of a Mixture of Isobars Using the Survival Yield Technique" 2011, 22.
- [16] J. N. Hoskins, S. Trimpin, et S. M. Grayson, "Architectural differentiation of linear and cyclic polymeric isomers by ion mobility spectrometry-mass spectrometry," *Macromolecules* 2011, 44, 17.
- [17] J. De Winter, V. Lemaire, R. Ballivian, F. Chiro, O. Coulembier, R. Antoine, J. Lemoine, J. Cornil, P. Dubois, P. Dugourd, et P. Gerbaux, "Size dependence of the folding of multiply charged sodium cationized polylactides revealed by ion mobility mass spectrometry and molecular modelling," *Chem. - A Eur. J.* 2011, 17, 35.