

Julien DE WINTER, Quentin DUEZ, Pascal GERBAUX  
Service de Synthèse et Spectrométrie de Masse Organiques,  
Université de Mons – UMONS, julien.dewinter@umons.ac.be

# Dix ans de Spectrométrie de Masse à Mobilité Ionique sur les Polymères à l'Université de Mons

## 1. Introduction

Précédemment, dans le volume 122 de Chimie Nouvelle, notre groupe a eu l'opportunité de publier un article relatant l'utilité de la spectrométrie de masse dans le contexte de la caractérisation structurale de polymères synthétiques. Parmi toutes les techniques de spectrométrie de masse à la disposition du chimiste analyste, le relevé des rapports masse-sur-charge ( $m/z$ ) d'ions en phase gazeuse (« single stage MS ») représente la première mais obligatoire étape pour la caractérisation d'un polymère, et de toute autre molécule. En particulier, si les mesures de masses exactes sont accessibles sur l'instrumentation à disposition – on parle par abus de langage de spectrométrie de masse à haute résolution - la détermination des  $m/z$  de tous les ions issus de la source du spectromètre de masse donne immédiatement accès à la composition des ions et donc des molécules. Dès lors que la caractérisation structurale doit être poussée plus en avant, avec en particulier le besoin de définir les structures primaire – séquence – et secondaire - topologie – des chaînes polymère, des techniques plus élaborées sont nécessaires. On retrouve alors la spectrométrie de masse en tandem (MSMS) et, depuis peu, la spectrométrie de masse à mobilité ionique, pour ne citer que les plus couramment utilisées. En effet, les analyses en « single stage MS » correspondent à une seule analyse en masse, les spectres relevés permettent de mesurer les rapports  $m/z$  de tous les ions produits dans

la source d'ionisation. Dans le cas de l'analyse de polymères, cette simple mesure de masse permet d'identifier la nature de l'unité monomère ainsi que la nature des bouts des chaînes. Sous certaines conditions, il est également possible de mettre en exergue les paramètres en masse, c'est-à-dire la masse moléculaire moyenne en nombre et la masse moléculaire moyenne en « poids » [1]. Cependant, bien que la « single stage MS » permette déjà de fournir un grand nombre d'informations structurales, une simple mesure de masse ne permet pas nécessairement de faire face à certaines limitations telles que la caractérisation non ambiguë d'ions isomères. Pour ce faire, la spectrométrie de masse en tandem – la MSMS - est une alternative parfaite.

Il y a quelques années, la spectrométrie de masse à mobilité ionique (IM-MS) a fait son apparition et est de plus en plus utilisée [2-4]. Cette technique permet non seulement de séparer des ions sur base de leurs  $m/z$ , mais également sur base de leurs mobilités ioniques respectives, c'est-à-dire de leur capacité à se déplacer dans un gaz sous l'action d'un champ électrique. La mobilité d'ions est directement dépendante de leur section efficace de collision (CCS), qui est elle-même étroitement associée à la structure 3D des ions. Très vite, l'IM-MS s'est révélée être d'un grand intérêt analytique dans de très nombreux domaines tels que les analyses protéomiques [5-7], ou métabonomiques [8], ... et bien évidemment a également suscité un intérêt non négligeable pour

l'étude de polymères [9-14]. Entre autres, comme souligné dans l'article précédent, l'IM-MS s'est avérée très utile pour la séparation d'ions isomères présentant des topologies significativement différentes tels que des polymères cycliques et linéaires [15, 16]. Depuis quelques années, notre groupe s'intéresse à l'utilisation de la spectrométrie de masse à mobilité ionique pour l'analyse et la caractérisation d'ions polymères de natures et topologies différentes. Dans ce contexte, nous évaluons l'utilisation de l'IM-MS à des fins purement analytiques mais nous essayons également de comprendre les phénomènes physico-chimiques s'y rapportant. Afin d'illustrer au mieux le contexte de notre travail, un bref résumé de nos récentes avancées dans ce domaine est présenté dans les lignes suivantes.

## 2. Spectrométrie de masse à mobilité ionique (IM-MS)

La spectrométrie de masse à mobilité ionique est une technique de séparation d'ions dont le déplacement sous l'action d'un champ électrique est entravé par diverses interactions avec le milieu dans lequel les ions se meuvent. A ce titre, l'IM est souvent comparée à l'électrophorèse capillaire. Cependant, en mobilité ionique, la séparation des ions est réalisée en phase gazeuse dans une cellule pressurisée avec un gaz tampon, généralement de l'hélium ou de l'azote, contre lequel les ions subissent des collisions [2, 3, 17-19].

Tel qu'illustré dans la Figure 1, les ions produits en source sont piégés dans une trappe d'ions avant d'être injectés à un temps ( $t = 0$ ) dans une cellule de mobilité, ici nommé « tube de dérive ». Les ions qui parcourent cette cellule sont à la fois accélérés par le champ électrique homogène et ralentis par les nombreuses collisions avec le gaz tampon. Ces effets antagonistes permettent à un régime stationnaire de s'établir. Les ions pourront être séparés sur base de leur vitesse de parcours moyenne au sein de la cellule de mobilité. Les ions acquièrent une vitesse de migration décrite par l'Equation I, dans laquelle  $v$  est leur vitesse de migration,  $K$  leur constante de mobilité ionique et  $E$  le champ électrique appliqué [20].

$$\vec{v} = K \vec{E} \quad (\text{Eq. I})$$

Selon les équations développées par Mason-Schamp [20, 21] (Equation II), une relation linéairement proportionnelle est établie entre le temps de dérive et la section efficace de collision des ions moyennée selon toutes les orientations possibles des ions ( $CCS_{avg}$ ) (Equation II). Un raccourci évident est souvent employé et consiste en le fait que, au plus l'ion aura une taille importante ( $CCS_{avg}$  importante), au plus le nombre de collisions sera élevé et au plus l'ion parcourra lentement la cellule de mobilité. Il en résulte donc que la séparation est principalement basée sur la structure 3D des ions.

$$K = \frac{\vec{v}}{\vec{E}} = \frac{d}{tE} = \left(\frac{3q}{16N}\right) \sqrt{\frac{2\pi}{kT}} \sqrt{\frac{m+M}{mM}} \left(\frac{1}{\Omega_{avg}}\right) \quad (\text{Eq. II})$$

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

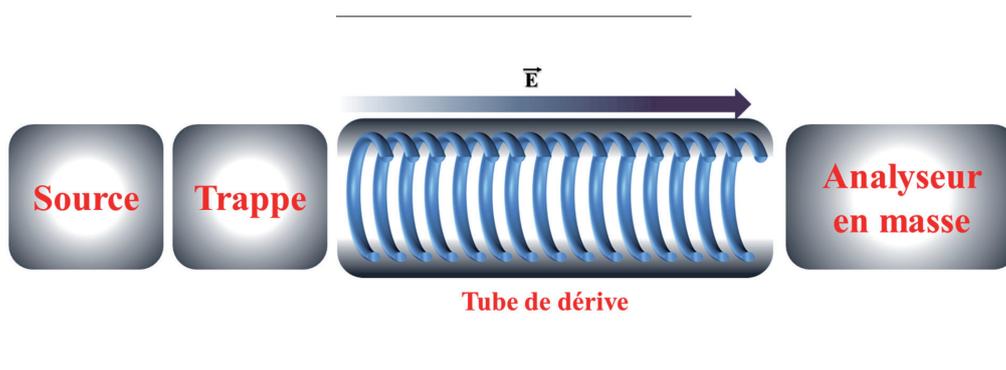


Figure 1. Schéma de principe d'un spectromètre de masse à mobilité ionique.

La  $CCS_{avg}$  est une donnée dépendante de la géométrie des ions qu'il est possible de déterminer au niveau atomistique par des techniques de modélisation moléculaire [22-26]. Il en résulte que des valeurs de CCS théoriques peuvent être obtenues par des méthodes de simulation, qui pourront donc être directement comparées à des valeurs expérimentales. Si les  $CCS_{avg}$  théoriques et expérimentales sont proches, il est possible d'assigner des structures 3D aux ions observés expérimentalement.

### 3. Spectrométrie de masse à mobilité ionique pour la caractérisation de polymères synthétiques

La particularité d'un échantillon polymère réside dans le fait que nous sommes en présence d'un mélange de congénères, c'est-à-dire de macromolécules ne se différenciant que par le nombre d'unités monomère. Ceci implique que, lors de l'analyse en masse avec la mobilité ionique, il est possible de déterminer l'évolution de la  $CCS_{avg}$  pour chacun des ions de la distribution, quel que soit leur état de charge, en fonction de leur degré de polymérisation (DP). Plusieurs études réalisées sur des polyéthers et polyester différents, dont une que nous avons menée sur les ions poly(lactide) [27], font état de la structuration progressive des ions. Ceci est détecté par l'observation de courbes de tendance,  $CCS=f(DP)$ , qui présentent des profils similaires. Dans le cas d'ions monochargés, la  $CCS_{avg}$  augmente de manière monotone avec le nombre d'unités monomère. Étant donné que la structure 3D d'ions polymères monochargés est globulaire, il a été montré que la  $CCS_{avg}$  évolue en suivant une loi de puissance en  $2/3$  avec le nombre d'unités monomère (ou avec la masse des ions polymères), ce qui est en excellente correspondance avec des modèles géométriques [27-31]. Le cas des macroions polychargés est plus complexe à décrire car il faudra ici accommoder plusieurs charges électriques de même signe dans un volume très contraint qui est défini par la structure de l'ion. Ainsi, alors qu'une augmentation monotone de la  $CCS_{Avg}$  avec le nombre d'unités monomère est *a priori* attendue,

il s'avère que des brisures sont détectées dans l'évolution de la  $CCS_{avg}$  en fonction du nombre d'unités monomère (Figure 2) [13, 14, 27]. Ce comportement permet de mettre en évidence que la structure des macroions polychargés est gouvernée par la compétition entre la répulsion coulombienne entre les multiples charges et les interactions intramoléculaires poussant la chaîne à se replier sur elle-même. Dans le cas de petits ions fortement chargés, la répulsion entraînera un déploiement de l'ion (large  $CCS_{avg}$ ) menant à une structure 3D de type « perles sur un collier » pour laquelle chaque perle correspond à une charge le long de la chaîne. Au contraire, des gros ions peu chargés adopteront des structures globulaires (faible  $CCS_{avg}$ ), étant donné que la répulsion coulombienne sera largement compensée par les interactions intramoléculaires poussant l'ion à se replier sur lui-même. En suivant l'évolution de la CCS d'ions de même charge (>2) en fonction du nombre d'unités monomère, il est donc possible d'observer les différentes conformations étendues et compactes des ions.

Dès lors, comme présenté sur la Figure 2b, pour les ions triplement chargés (carrés mauves), la  $CCS_{Avg}$  augmente progressivement en fonction du nombre d'unités monomère jusqu'à atteindre un plateau, caractérisé par une légère diminution de la CCS, entre les degrés de polymérisation (DP) 25 et 33. Ce phénomène est expliqué par un repliement (« folding ») de la structure 3D autour des cations (agents de cationisation,  $Na^+$ ) lorsque le nombre d'unités monomère est suffisant que pour induire un écrantage entre les charges [27]. Le plateau observé dans la Figure 2b correspond donc à une zone de transition entre structures étendues, pour lesquelles la répulsion coulombienne domine, et les structures globulaires, pour lesquelles les interactions intramoléculaires permettent à l'ion de se replier sur lui-même. Cette étude menée il y a un peu plus d'une dizaine d'années avait été réalisée en collaboration avec le laboratoire du Dr Philippe Dugourd de l'Université de Lyon, un des pionniers européens dans le domaine de la spectrométrie de masse à mobilité ionique. Les premières expériences ont été réalisées sur une machine originale conçue au sein même de ce laboratoire dont la cellule de mobilité était un tube

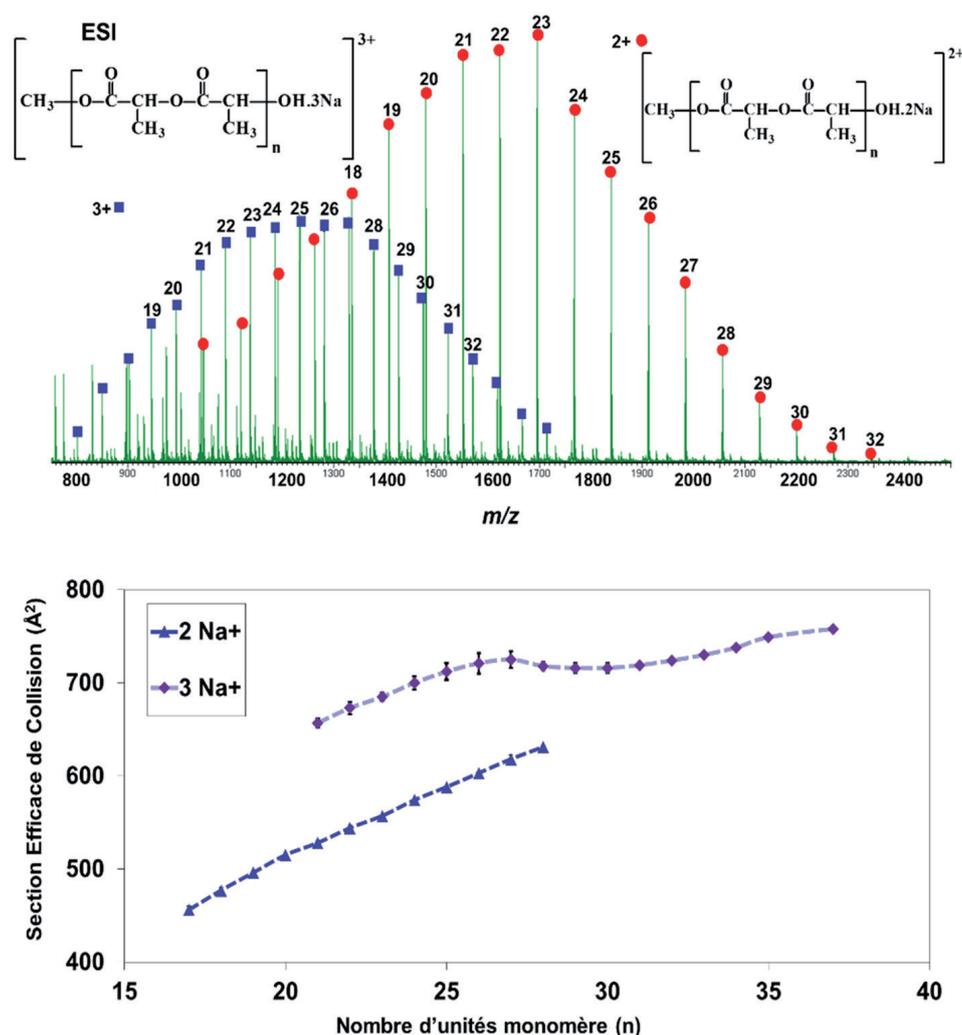


Figure 2. (a) Spectre de masse Electrospray enregistré pour un échantillon de polylactide ( $M_n$  3200  $g \cdot mol^{-1}$ ) et (b) évolution de la CCS en fonction du nombre d'unités monomère pour les ions doublement et triplement chargés (figure adaptée de la référence 27)

de dérive tel que repris en Figure 1. Sans entrer dans les détails, un tube de dérive consiste en une cellule parcourue par un champ électrique homogène. Bien que les résultats obtenus aient été publiés, il est vite apparu que le manque de résolution des instrumentations de l'époque ne permettait pas de détecter des subtiles modifications de structures, associées à des modifications de CCS trop faibles que pour être mesurées. Quelques années plus tard, grâce au soutien du FNRS, nous avons eu l'opportunité d'acquérir un nouveau spectromètre de masse commercial à mobilité ionique, le WATERS Synapt G2-Si. Dans cet instrument, la géométrie de la cellule de mobilité est cependant significativement différente comparée au tube de

dérive présenté en Figure 1. En effet, la cellule de mobilité est basée sur une technologie différente appelée Travelling-Wave® [4, 32, 33] pour laquelle le champ électrique appliqué est un champ électrique oscillant. Cette différence implique que l'Equation 1 est beaucoup plus difficile à résoudre étant donné que le champ électrique n'est plus constant. Afin de pouvoir néanmoins déterminer les CCS, une calibration doit être réalisée par le biais d'un mélange de molécules de référence (habituellement des peptides) dont les  $CCS_{avg}$ , des ions associés, ont été préalablement déterminées sur un tube de dérive. Le lecteur intéressé est renvoyé à des articles spécialisés pour plus d'informations [28, 34-36].

La première étude réalisée sur ce nouveau spectromètre de masse était donc l'analyse du même échantillon que celui utilisé dans le travail précédent [27]. L'étude de cet échantillon sur cette machine commerciale de nouvelle génération a permis d'étendre la gamme de DP détectée après séparation par IM. L'augmentation notable de sensibilité a également permis d'avoir une plus grande précision sur la mesure car le rapport signal-sur-bruit était aussi significativement amélioré. Grâce à cet instrument, de nouvelles données ont été générées. Tout d'abord, la plus grande sensibilité au cours de l'analyse a permis de détecter les ions possédant des DP plus faibles permettant de confirmer la présence d'un plateau pour les PLA doublement chargés. Alors que ce plateau n'avait été prédit que théoriquement [27], nous avons pu confirmer son existence expérimentalement. Ensuite, nous avons pu nous rendre compte que le plateau observé pour les PLA 3+ n'était en fait pas un plateau unique mais en réalité un plateau composé de deux zones de transition successives. La Figure 3 reprend l'évolution du temps d'arrivée des ions 3+ en fonction du DP. Il a été démontré que ces deux processus successifs de repliement sont expliqués par le rapprochement de deux sites chargés (parmi les 3) permettant le passage d'une espèce totalement étendue vers une partiellement repliée. La seconde compaction est attribuée au passage d'une espèce partiellement repliée vers une complètement repliée (associée à un objet globulaire (sphérique)). Outre la présence de ces plateaux « composites », qui semblent être une particularité des ions PLA car jamais observés avec des polymères d'autres natures, nous avons également pu mettre en évidence la présence de conformations différentes pour des ions possédant le même DP et le même état de charge. En effet, pour des ions de même rapport masse sur charge ( $m/z$ ), la coexistence de plusieurs structures limites a pu être mise en évidence, en particulier des structures « étendue-partiellement étendue » ou « partiellement étendue-globulaire » [37]. La coexistence de plusieurs structures 3D dans les zones de transition est particulièrement intéressante car elle met en évidence une évolution progressive d'une conformation à une autre, au lieu d'une transition brutale d'une structure étendue vers une structure compacte.

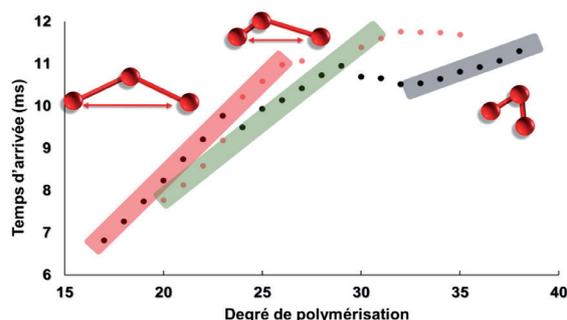


Figure 3. Evolution du temps d'arrivée des ions PLA triplement chargés en fonction du DP. Pour certaines espèces, deux temps d'arrivée sont détectés. Les points noirs représentent les ions majoritaires.

La présence de plusieurs structures limites a déjà été rapportée dans le contexte d'études relatives à des bio-polymères (protéines ou polyacide nucléique) [38-41]. Il est à noter que ces structures limites peuvent être présentes en solution mais également générée au sein du spectromètre de masse de par des processus collisionnels menant à l'excitation des ions. Ce phénomène, induisant le déploiement de la structure 3D des macroions, est connu sous la dénomination « Collision-Induced Unfolding » (CIU) [38]. Le cas du PLA est tout à fait différent étant donné que ce polymère se comporte comme une pelote statistique en solution, aucune rétention de structures en solution n'est donc attendue et la structuration est donc intrinsèquement associée aux processus physico-chimiques qui accompagnent le transfert des ions de la solution vers la phase gazeuse [42].

Avant d'étudier l'origine de l'hétérogénéité conformationnelle des ions PLA, la question de l'éventuelle dynamique d'interconversion en phase gazeuse s'est posée : « *Est-il possible d'induire volontairement une modification structurale d'ions PLA par activation collisionnelle et donc modifier les proportions relatives des espèces étendues/repliées présentes en phase gazeuse ?* »

#### 4. Etude de la stabilité structurale d'ions polymère en phase gazeuse

Afin de mener à bien cette étude, des expériences de mobilité en tandem ont été réalisées. A l'instar

de la spectrométrie de masse en tandem où deux analyses en masse successives sont réalisées, la mobilité ionique en tandem permet d'isoler des ions possédant un temps de dérive bien défini (Figure 4). Après séparation dans un premier tube de dérive, les ions sont stockés dans une trappe avant d'être réinjectés dans une seconde cellule de mobilité. Il est aussi possible d'exciter les modes de vibration de ces ions par des processus collisionnels au sein de la trappe. Ce faisant, des dissociations d'ions ou des modifications structurales, c-à-d isomérisations, peuvent être induites avant la deuxième analyse de mobilité ionique. Un tel instrument (IM-IM-MS) a été développé dans le laboratoire du Dr. Philippe Dugourd, déjà partenaire lors de nos premières analyses d'ions PLA.

Cet instrument original a permis de réaliser des expériences de mobilité en tandem afin de mettre en évidence la possibilité d'induire des modifications structurales des ions par collision (CIU). Lors des analyses précédentes en mobilité ionique simple [27], nous avons observé que les ions polymères présents dans les zones de transition, pouvaient exister sous des structures 3D différentes et observables (« étendue-partiellement étendue » ou « partiellement étendue-globulaire »).

Comme présenté à la Figure 5, la distribution de temps d'arrivée (ATD) globale associée à des ions  $m/z$  1377 met en évidence l'existence de deux populations d'ions distinctes qui sont respectivement les ions globulaires et les ions semi-étendus. Afin de mener à bien cette étude,

chaque population a été isolée et soumise à de l'activation collisionnelle avant que les ions ne soient réinjectés dans le second tube de dérive. Il est à noter que l'activation collisionnelle a été contrôlée de telle sorte à éviter des réactions indésirables de dissociation d'ions. Comme illustré à la Figure 5, aucune modification de conformation n'a été détectée.

L'origine de la présence de plusieurs structures est une question qui a alors rapidement émergé, surtout du fait que les structures des ions peuplant les différentes familles d'ions ne sont finalement pas influencées par les différentes étapes d'activation que peuvent subir les ions au cours de leur vol entre la source et le détecteur d'un spectromètre de masse. Globalement, il est relativement vite apparu que cette structuration devait trouver son origine dans les processus de désolvatation et d'ionisation qui caractérisent l'ionisation de type Electrospray. Des analyses supplémentaires ont d'ailleurs conforté cette intuition car nous avons montré que les conditions de formation des ions en source Electrospray (flux d'infusion, polarité du solvant, géométrie de la source,...) influencent les proportions relatives des différentes espèces. La structure des ions, c'est-à-dire structures étendues vs repliées, semble donc directement tributaire des conditions de formation des ions dans la source. Comme précisé plus haut, le PLA se comporte comme une pelote statistique en solution. Aucune rétention de structure de la solution vers la phase gazeuse n'est donc attendue, comme c'est le cas pour les protéines [43, 44]. Les mécanismes de formation d'ions en phase gazeuse ont donc

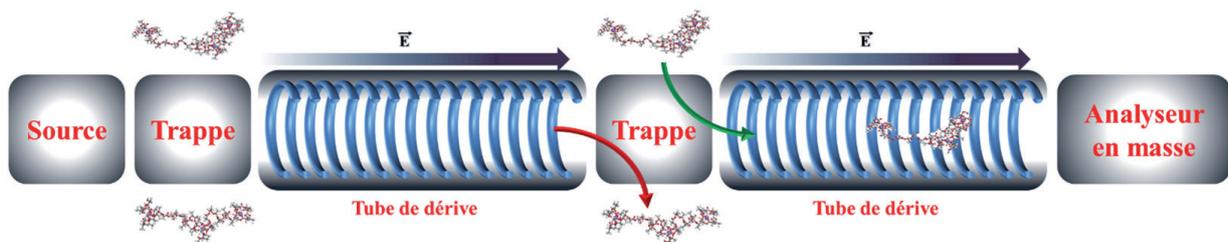


Figure 4. Schéma d'un spectromètre de masse à mobilité ionique en tandem. Dans la première trappe, tous les ions sont stockés et injectés dans le premier tube de dérive. Dans la seconde trappe, seuls les ions possédant une mobilité ionique donnée (et donc une CCS bien définie) sont stockés. Après activation (collisionnelle par exemple), les ions sont ensuite réinjectés dans le second tube de dérive afin de mettre en évidence la présence ou non d'autres espèces suite à des phénomènes d'isomérisation.

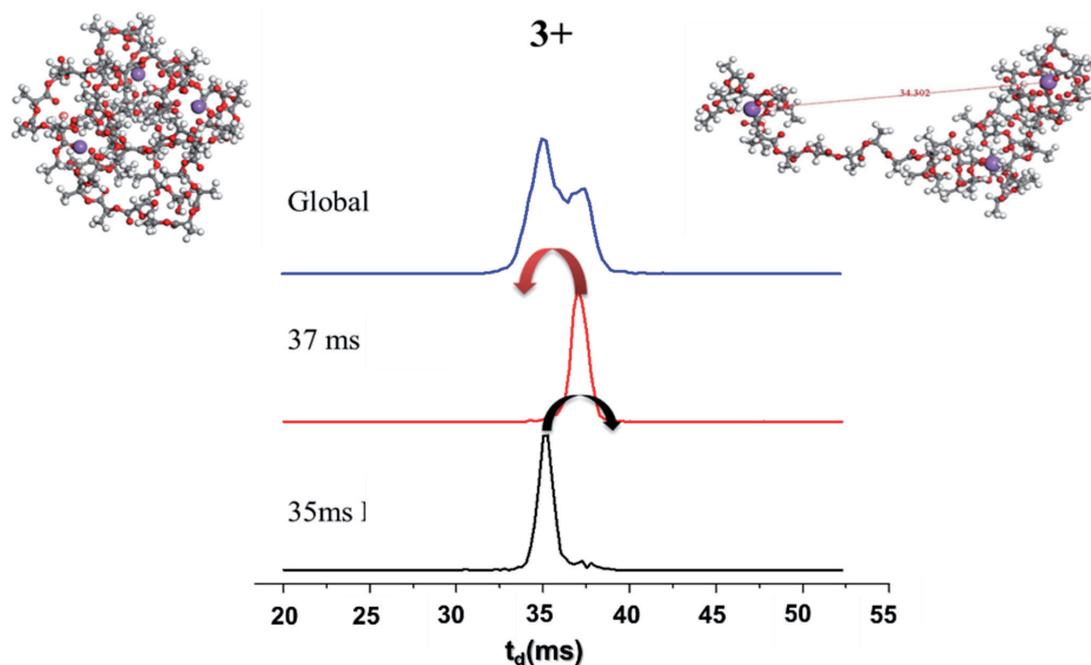


Figure 5. Distribution de temps d'arrivée (ATD) enregistrée par mobilité ionique sur l'instrument IMS-IMS. En bleu : ATD globale enregistrée pour les ions  $m/z$  1377, pour lesquelles deux structures 3D sont résolues. En noir et rouge : ATDs enregistrées dans le deuxième tube de dérive après sélection des ions ayant un temps d'arrivée respectivement de 35 ms et 37 ms dans le premier tube de dérive. Ces ions ont été soumis à des processus d'activation entre les deux tubes de dérive et ne présentent que des distributions de temps d'arrivée monomodales.

semblé être une piste plausible pour expliquer l'hétérogénéité conformationnelle du PLA. Afin de lever le voile sur cette particularité liée aux polymères synthétiques, une étude théorique complète a été réalisée en collaboration avec le Prof Lars Konermann de l'University of Western Ontario (London, ON - Canada), afin de mieux comprendre l'origine des différentes espèces observées. Cette étude a eu pour but de simuler les phénomènes de désolvatation/ionisation de polymères au cours des processus Electrospray. Ce travail, très récemment publié, a permis de démontrer que les ions PLA étaient produits selon deux mécanismes distincts. De plus, il apparaît qu'en fonction de la nature du mécanisme, l'une ou l'autre structure (étendue, partiellement repliée ou globulaire) semble favorisée [45].

Ces observations de mobilité ionique ont été déterminantes pour la suite de notre travail. En effet, comme discuté précédemment, l'IM-MS commercial dont nous disposons au laboratoire ne permet de déterminer la CCS d'ions que par l'utilisation d'une calibration. Jusqu'alors, les protéines et peptides étaient les principales

molécules de référence utilisées afin de réaliser cette calibration. Cependant, les protéines et peptides présentent de nombreux inconvénients. Tout d'abord, ces échantillons de référence sont relativement onéreux, également sensibles à la nature du solvant ou aux conditions de stockage, et finalement sujettes à des modifications structurales (CIU) en phase gazeuse au sein de spectromètre de masse, ce qui peut bien évidemment induire de grandes erreurs expérimentales. En comparaison, les polymères de synthèse sont très bon marché, présentent une très grande stabilité quelle que soit la nature du solvant et ne s'isomérisent pas en phase gazeuse, comme nous avons pu le démontrer.

La suite logique a donc été de valider que les polymères synthétiques représentent de très bons candidats pour la mise en place d'une calibration fiable en mobilité ionique, s'étendant sur une très large gamme de CCS. La Figure 6 met en évidence la grande différence entre la gamme de CCS que nous pouvons couvrir avec le calibrant le plus populaire, c'est-à-dire la polyalanine, une gamme de CCS allant de  $89 \text{ \AA}^2$  à  $516 \text{ \AA}^2$  alors qu'avec

la calibration proposée avec des polymères synthétiques, nous pouvons calibrer de  $116 \text{ \AA}^2$  à  $1556 \text{ \AA}^2$ . De plus, là où les peptides et protéines présentent des modifications structurales suite à de l'activation collisionnelle, à l'inverse, les ions polymères restent insensibles et permettent d'être utilisés comme calibrant même si des conditions d'analyses plus « dures » sont utilisées.

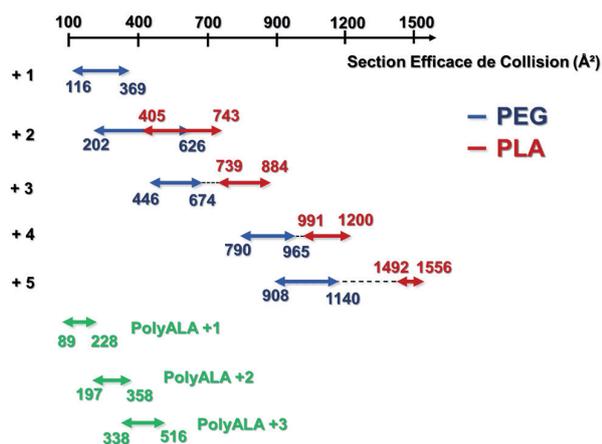


Figure 6. Représentation des gammes de CCS accessibles pour mener à bien la calibration lorsque différents types de calibrant sont utilisés. La gamme de CCS couverte par les polymères est significativement plus étendue que celle accessible par l'utilisation de la polyalanine.

L'utilisation des polymères comme calibrant, a déjà été mise à contribution dans de nombreuses études pour lesquelles des comparaisons expérience/théorie ont été réalisées [31, 45-49].

### 5. Influence de la nature des bouts de chaînes sur la structure 3D des ions polymères en phase gazeuse

Depuis de nombreuses années, des polymères de complexité croissante en termes de composition et de bouts de chaînes sont synthétisés. Dans un souci de qualité, il est important de pouvoir caractériser le plus correctement possible la structure de ces nouvelles macromolécules. Comme il a déjà été démontré au cours de la dernière décennie, la spectrométrie de masse et ses techniques associées, telles que la spectrométrie de masse en tandem ou l'IM-MS, sont très performantes et prometteuses pour la caractérisation de matériaux de plus en plus complexes. Souvent, les paramètres structuraux fondamentaux sont

obtenus en analysant l'évolution de la CCS des ions tout au long de la distribution en masse, c'est-à-dire en analysant l'évolution  $CCS=f(MW)$  [29, 50, 51]. Cependant, la contribution des bouts de chaîne de la macromolécule à la CCS des ions correspondants est le plus souvent négligée, voire oubliée. Récemment, nous avons évalué la contribution des bouts de chaînes à la structure 3D d'ions polymères en phase gazeuse. Dans ce contexte, une dizaine de polymères linéaires (polyesters et polyéthers) possédant des bouts de chaînes variés ont été étudiés par mobilité ionique. Tout d'abord, nous avons restreint le type d'ions à inclure dans nos méthodes de fitting aux ions globulaires (totalement repliés), pour lesquels le modèle mathématique permettant de corrélérer l'évolution de la CCS en fonction de la masse moléculaire est établi [31]. Parmi ce type d'ions, les macroions monochargés adoptent des structures globulaires tandis que les ions polychargés acquièrent ce type de structure uniquement après les zones de transition étendu/replié dont nous avons discuté ci-avant. Les ions polymères adoptant une structure globulaire présentent alors une évolution de la CCS en fonction du nombre d'unités monomère (DP) selon l'équation  $CCS = A.DP^{2/3}$ . Dans ce type d'équation, la contribution des bouts de chaîne à la CCS est clairement négligée, ce qui est certainement le cas pour des bouts de chaîne peu volumineux [29, 51]. Afin d'évaluer la contribution des bouts de chaînes à la CCS, nous avons enregistré l'évolution  $CCS/DP$  pour des ions polymères globulaires (monochargés et doublement chargés après la zone transition) selon une loi  $A.DP^{2/3}+B$ , la contribution des bouts de chaînes résidant dans le terme B. Les bouts de chaîne étudiés varient du simple hydroxyle à l'acide 3,3,3-triphenylpropionique ayant une taille considérable. Comme le montre la Figure 7(a), B varie significativement en fonction de la taille du bout de chaîne. Cependant, cette observation reste purement qualitative et ne présente aucune information quantitative sur la réelle CCS de ces bouts de chaîne. Bien que cette représentation mette en évidence la présence de bouts de chaînes différents, la présence de deux variables (A et B) présente certaines difficultés pour mener à bien des comparaisons entre chaînes

de natures différentes. Nous avons donc décidé de représenter l'évolution de la CCS non plus en fonction du DP mais en fonction du nombre d'atomes. Cette représentation, déjà utilisée par Bowers *et al.*, permet d'imposer l'intercept à (0;0) [52]. En effet, si aucun atome n'est présent, la CCS peut être considérée comme nulle. Comme illustré sur la Figure 7(b), il est très intéressant de se rendre compte que, selon cette nouvelle représentation, toutes les courbes ont exactement le même profil avec le même paramètre A' (CCS = A'.nAtoms<sup>2/3</sup>). Par contre, ceci implique qu'il n'est plus possible de faire la distinction entre les ions possédant la même unité monomère, mais des bouts de chaîne différents.

Lorsque nous comparons des polymères de natures différentes, il en ressort un intérêt tout particulier car chaque courbe est caractérisée par son propre paramètre A' (Figure 8). Dès lors, peu importe le bout de chaîne, il est possible de comparer la nature de polymères différents en fonction de leur paramètre A' qui est une donnée expérimentale

L'évolution des CCS, directement reliée à la taille d'ions sphériques dans ce cas précis, peut être décrite par des fonctions mathématiques. Il est donc possible de relier le paramètre A' à la propension qu'a un ion polymère globulaire à s'étendre rapidement par l'ajout d'une unité monomère. Il est également possible d'extraire de la valeur de A' un nombre de densité pour les ions polymères (nombre d'atomes par unité de volume). Selon cette représentation, il est possible de faire une très nette différence entre les polymères de natures différentes (polyesters et polyéthers). De plus, la distinction entre des polymères dont les unités monomériques sont isomères (polypropiolactone vs polylactide) est également réalisée. Cette différenciation est particulièrement cruciale étant donné que de tels polymères sont indiscernables par « single stage MS » puisqu'ils sont isomères. La mobilité ionique permet donc ici de mettre en évidence de subtiles différences structurales entre deux macroions isomères. Il est à noter qu'une étude complète sur la différenciation de polymères isomères par spectrométrie de masse à mobilité ionique est en cours dans notre laboratoire.

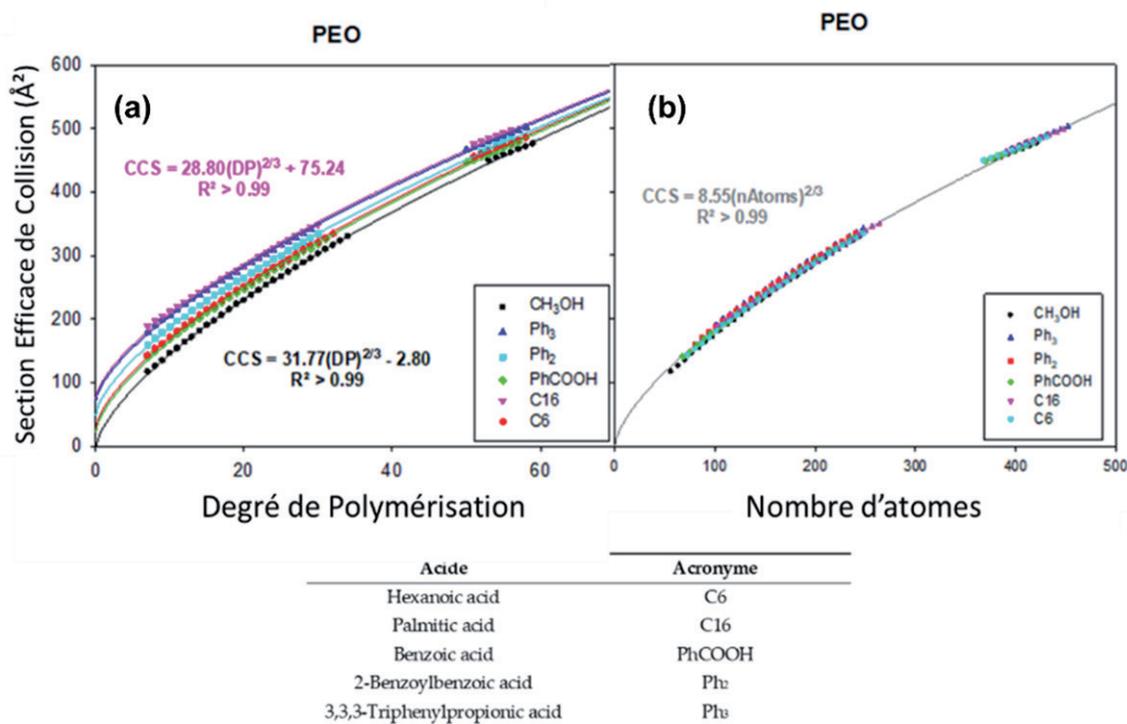


Figure 7. Représentation de l'évolution de la CCS de plusieurs poly(oxyde d'éthylène) dont le bout de chaîne hydroxyle a été estérifié : (a) évolution de la CCS en fonction du DP et (b) évolution de la CCS en fonction du nombre d'atomes.

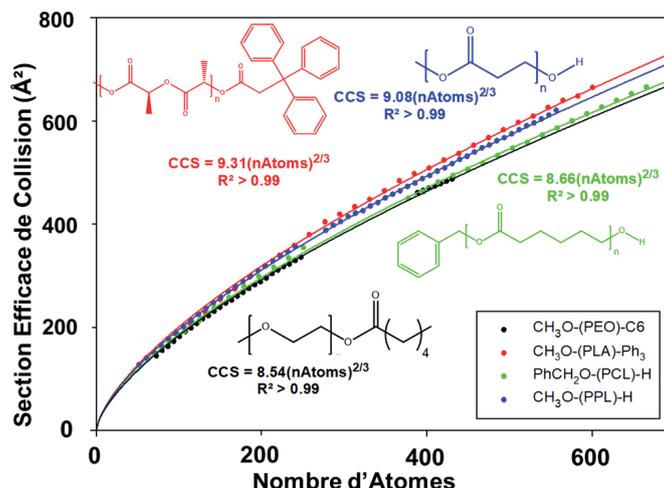


Figure 8. Représentation de l'évolution de la CCS de plusieurs polymères de natures différentes en fonction du nombre d'atomes (figure adaptée de la référence 30).

## 6. Limitation de l'IM-MS pour la quantification d'isomères structuraux

La littérature rapporte à de nombreuses reprises que l'IM-MS est efficace dans un contexte de discrimination d'ions isomères structuraux comme les polymères cycliques et linéaires [11, 53, 54]. Outre son intérêt de séparation analytique, il pourrait être envisagé d'utiliser l'IM-MS en tant qu'outil de quantification de macromolécules linéaires et cycliques. Étant donné que la majorité des polymères cycliques sont produits par cyclisation d'un analogue linéaire, notre intérêt s'est porté sur la quantification d'impuretés linéaires au sein d'une solution de polymères cycliques. Actuellement, il est pratiquement impossible, par résonance magnétique nucléaire ou par chromatographie d'exclusion stérique, de déterminer la pureté de l'échantillon cyclique pour des taux de contamination inférieurs à 5-10% en précurseur linéaire. Récemment, notre groupe a publié une méthode de quantification d'isomères linéaires au sein de l'échantillon cyclique par spectrométrie de masse en tandem (MSMS), basée sur la technique des ions survivants [16]. Cette technique de quantification est très sensible et a permis de mettre en évidence un taux d'impureté de l'ordre de 2%. Bien qu'efficace, elle présente certaines limitations. En effet, cette méthode de quantification basée sur la fragmentation d'ions induite

par collision (Collision-induced dissociation ou CID) nécessite que les deux isomères d'intérêt présentent des seuils de dissociation significativement différents. Cependant, cette condition est rarement rencontrée. À titre d'exemple, la Figure 9 représente une réaction de cyclisation d'un polymère linéaire par réaction de Diels-Alder. Alors que la cyclisation s'effectue sous irradiation UV, la réaction inverse, c'est-à-dire l'ouverture de cycle, peut être réalisée thermiquement. Cependant, la fragmentation d'ions en phase gazeuse nécessite d'augmenter significativement leur énergie interne par collisions avec un gaz inerte. Ce processus, aussi apparenté à un « chauffage » des ions implique que la réaction d'ouverture du cycle soit susceptible de se produire en phase gazeuse. Dans le cas de la Figure 9, il apparaît donc clairement que la technique de quantification précédemment développée par MSMS est inefficace.

L'IM-MS ne se basant que sur des différences structurales permet de discriminer les ions linéaires des ions cycliques à condition que les ions n'adoptent pas une structure globulaire. Si cette condition est respectée, les ions polymères cycliques adoptent systématiquement une conformation plus compacte que leurs homologues linéaires (Figure 10). Cependant, ceci n'est valable qu'avant le phénomène de repliement complet de l'ion (plateau). En

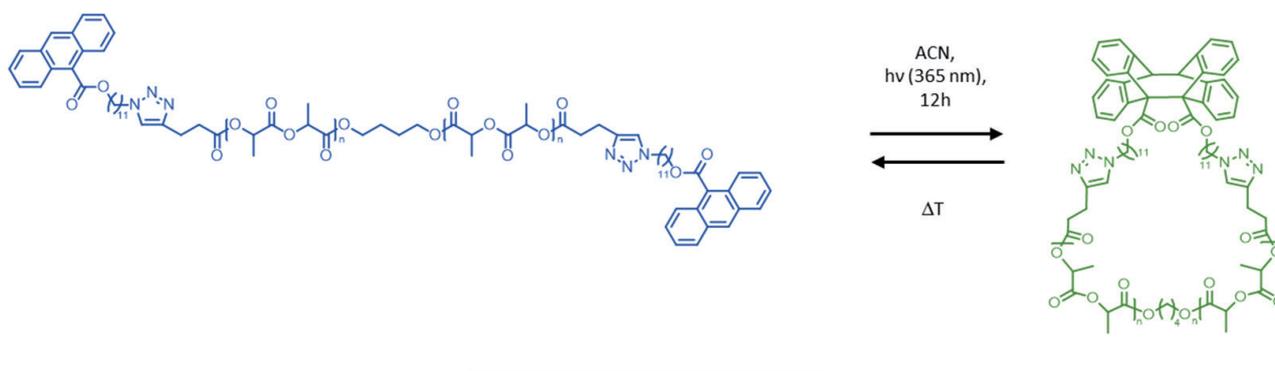


Figure 9. Méthode de cyclisation de  $\alpha,\omega$ -dianthryl-PLA réalisée par photodimérisation.

effet, tous les ions polymères, peu importe leur topologie, adoptent une structure globulaire après repliement complet et deviennent indiscernables. Il est également impossible de séparer des ions monochargés linéaires et cycliques étant donné qu'ils se replient également en structures globulaires, comme décrit ci-dessus. La méthode de quantification se limitera donc aux macroions polychargés avant les processus de repliement ( $DP < 25$  dans ce cas) [55].

Afin d'évaluer la possibilité de quantifier des impuretés linéaires au sein de l'échantillon cyclique, la méthode des ajouts dosés a été utilisée. De manière très inattendue, des proportions irréalistes en isomère linéaire ont été déterminées dans l'échantillon cyclique « pur », ou supposé tel. En réalisant cette expérience pour d'autres longueurs de chaînes, il s'avère qu'au plus le DP est faible, au plus la proportion d'impuretés linéaires est importante. Cette observation est en total désaccord avec la loi de Jacobson-Stockmayer [56]. Cette loi stipule que la probabilité que deux bouts de chaîne se rencontrent afin de pouvoir réagir, et donc mener à la cyclisation, diminue en fonction de la taille de la chaîne polymère. Il en résulte donc que la proportion de chaînes linéaires résiduelles doit être plus importante pour les hauts DP. Notre étude récemment publiée démontre que cette discordance provient d'une différence significative d'efficacité d'ionisation entre les espèces linéaires et cycliques avant le « folding ». Cependant, au plus le DP est proche du « folding » complet, au plus les efficacités d'ionisation sont proches pour être identiques après le repliement complet des ions.

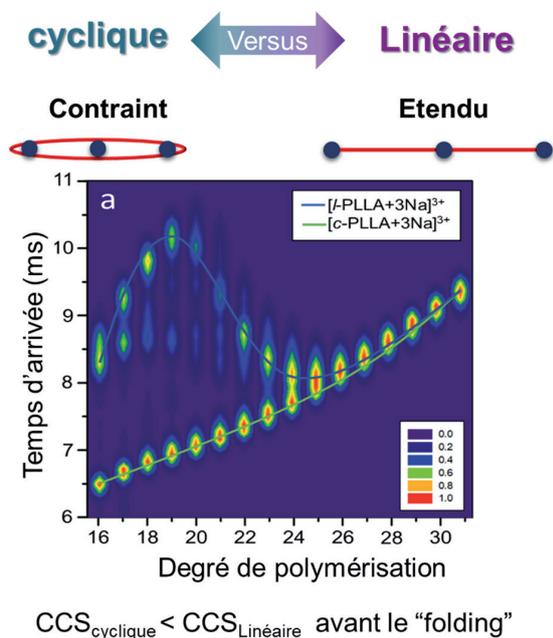


Figure 10. Représentation des temps d'arrivée en fonction du degré de polymérisation pour un mélange 50:50 de PLA linéaire et cyclique. Après repliement complet, nous pouvons remarquer que les deux familles coalescent pour adopter une structure globulaire. Figure adaptée de la référence 55.

Bien que la mobilité ionique se soit avérée être un outil très puissant pour la caractérisation de polymères, ce travail a souligné certaines de ses limites dans le contexte de la quantification absolue des isomères. Il est à noter que cet effet est uniquement dû aux processus d'ionisation. Un taux raisonnable de contamination a cependant été déterminé en considérant les ions du DP le plus proche possible du « folding ».

## 7. Conclusions

Dans le contexte de cet article, nous avons résumé nos recherches réalisées durant les 10 dernières années en nous focalisant principalement sur les études de polymères synthétiques par mobilité ionique. En 2009, nos premières études ont été réalisées sur un échantillon de PLA avec l'utilisation d'un instrument « home-made » présentant une sensibilité relativement faible. L'évolution technologique a permis d'accroître la sensibilité, mais également la résolution nous offrant la possibilité de mettre en évidence des phénomènes consécutifs lors du repliement d'ions polymères polychargés. De plus, nous avons identifié la coexistence de plusieurs types d'espèces « étendue-partiellement étendue » ou « partiellement étendue-globulaire ». Des études de mobilité ionique en tandem ont montré que, contrairement aux protéines, les phénomènes de modification conformationnelle par collision ne sont pas observés dans le contexte des ions polymères. Plus tard, une approche théorique complète a suggéré que la présence de structures multiples était due aux processus de désolvatation et d'ionisation subis par des chaînes polymères. La très grande stabilité des ions polymères, même face à l'activation collisionnelle, nous a également permis de valider l'utilisation de polymères comme calibrant pour la détermination des sections efficaces d'ions au départ des temps de dérive déterminés sur des spectromètres de masse dont la relation entre le temps de dérive et la CCS n'est pas linéairement proportionnelle, par exemple des dispositifs commerciaux de type « traveling wave ».

Par la suite, nous avons visé à universaliser les approches de « fitting » de données de mobilité ionique pour inclure des polymères possédant des bouts de chaîne différents. Grâce à cette méthode, il a été possible de différencier des polymères de natures différentes sur base de leurs nombres de densité. Finalement, nous avons montré que l'utilisation de l'IM-MS en tant qu'outil de quantification d'isomères macromoléculaires représente une potentielle source d'erreur et avons souligné ses limitations. Cette étude a entre autres permis de confirmer que des espèces linéaires

et cycliques présentent avant le « folding » des efficacités d'ionisation différentes.

Depuis sa commercialisation en 2006, la spectrométrie de masse à mobilité ionique est aujourd'hui présente dans de nombreux laboratoires de recherche. De plus, un grand nombre de firmes impliquées dans le développement de spectromètres de masse proposent des systèmes permettant la séparation par mobilité ionique avec une résolution toujours de plus en plus grande. Nous sommes convaincus que la mobilité ionique, une technique de plus en plus résolue et perfectionnée, sera davantage utilisée afin de caractériser la structure de polymères et d'autres macromolécules synthétiques. Le couplage de la mobilité ionique à la spectrométrie de masse seule permettrait par exemple de mettre en évidence de copolymères de séquences différentes (aléatoire, alternée, block), ayant exactement la même masse, mais dont le nombre de densité serait dépendant de la séquence. De plus, comme présenté dans cette revue, la structure de macroions en phase gazeuse est principalement gouvernée par une balance entre répulsion de Coulomb, forçant le macroion à s'étendre, et la capacité qu'à l'ion d'écranter ces interactions électrostatiques. L'introduction de motifs particuliers présentant des interactions fortes en phase gazeuse (liens hydrogènes) pourrait donc aider à supplanter ce phénomène et à contrôler le niveau de structuration en phase gazeuse. Nous sommes donc convaincus que l'ingénierie macromoléculaire permettra d'exploiter au maximum les capacités de cette technologie émergente.

## Remerciements

Le laboratoire de synthèse et spectrométrie de masse organiques de l'Université de Mons (S<sup>2</sup>MOs) remercie sincèrement le FRS-FNRS pour son support financier lors de l'acquisition de divers spectromètres de masse dont le Waters Synapt G2-Si. Le S<sup>2</sup>MOs also thanks the members of Waters Belgium for their continuing support.

Quentin Duez remercie le FRS-FNRS pour son mandat d'aspirant FNRS et Julien De Winter tient à remercier une nouvelle fois le Comité de Gestion du Bulletin (CGB-CBB) pour l'octroi de l'« incentive Award 2019 ».

## Références

- [1] H. J. Räder and W. Schrepp, *Acta Polym.*, 1998, **48**, 272-293.
- [2] F. Lanucara, S. W. Holman, C. J. Gray and C. E. Eyers, *Nature Chemistry*, 2014, **6**, 281-294.
- [3] V. D'Atri, M. Porrini, F. Rosu and V. Gabelica, *J. Mass Spectrom.*, 2015, **50**, 711-726.
- [4] S. D. Pringle, K. Giles, J. L. Wildgoose, J. P. Williams, S. E. Slade, K. Thalassinou, R. H. Bateman, M. T. Bowers and J. H. Scrivens, *Int. J. Mass spectrom.*, 2007, **261**, 1-12.
- [5] D. E. Clemmer, R. R. Hudgins and M. F. Jamold, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 10141-10142.
- [6] D. E. Clemmer and M. F. Jarrold, *J. Mass Spectrom.*, 1997, **32**, 577-592.
- [7] D. E. Clemmer, D. H. Russell and E. R. Williams, *Acc. Chem. Res.*, 2017, **50**, 556-560.
- [8] C. Laphorn, F. Pullen and B. Z. Chowdhry, *Mass Spectrom. Rev.*, 2012, **32**, 43-71.
- [9] S. Trimpin, M. Plasencia, D. Isailovic and D. E. Clemmer, *Anal. Chem.*, 2007, **79**, 7965-7974.
- [10] S. Trimpin and D. E. Clemmer, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 9073-9083.
- [11] J. N. Hoskins, S. Trimpin and S. M. Grayson, *Macromolecules*, 2011, **44**, 6915-6918.
- [12] C. D. Foley, B. Zhang, A. M. Alb, S. Trimpin and S. M. Grayson, *ACS Macro Lett.*, 2015, **4**, 778-782.
- [13] C. Larriba and J. F. de la Mora, *J. Phys. Chem. B*, 2012, **116**, 593-598.
- [14] C. Larriba, J. Fernandez de la Mora and D. E. Clemmer, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2014, **25**, 1332-1345.
- [15] Q. Duez, R. Liénard, V. Lemaure, J. Cornil, P. Gerbaux and J. De Winter, *Chimie Nouvelle*, 2016, **122**, 1-9.
- [16] T. Josse, J. De Winter, P. Dubois, O. Coulembier, P. Gerbaux and A. Memboeuf, *Polym. Chem.*, 2015, **6**, 64-69.
- [17] D. P. Smith, T. W. Knapman, I. Campuzano, R. W. Malham, J. T. Berryman, S. E. Radford and A. E. Ashcroft, *European Journal for Mass Spectrometry*, 2009, **15**, 113-130.
- [18] V. Gabelica and E. Marklund, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2018, **42**, 51-59.
- [19] V. Gabelica, A. A. Shvartsburg, C. Afonso, P. Barran, J. L. P. Benesch, C. Bleiholder, M. T. Bowers, A. Bilbao, M. F. Bush, J. L. Campbell, I. D. G. Campuzano, T. Causon, B. H. Clowers, C. S. Creaser, E. De Pauw, J. Far, F. Fernandez-Lima, J. C. Fjeldsted, K. Giles, M. Groessl, C. J. Hogan, Jr., S. Hann, H. I. Kim, R. T. Kurulugama, J. C. May, J. A. McLean, K. Pagel, K. Richardson, M. E. Ridgeway, F. Rosu, F. Sobott, K. Thalassinou, S. J. Valentine and T. Wyttenbach, *Mass Spectrom. Rev.*, 2019, **38**, 291-320.
- [20] E. A. Mason and E. W. McDaniel, *Transport Properties of Ions in Gases*, John Wiley & Sons, 1988.
- [21] E. A. Mason and H. W. J. Schamp, *Annals of Physics*, 1958, **4**, 233-270.
- [22] G. Von Helden, M. T. Hsu, N. Gotts and M. T. Bowers, *The Journal of Physical Chemistry*, 1993, **97**, 8182-8192.
- [23] M. F. Mesleh, J. M. Hunter, A. A. Shvartsburg, G. C. Schatz and M. F. Jarrold, *J. Phys. Chem.*, 1996, **1996**, 16082-16086.
- [24] C. Bleiholder, T. Wyttenbach and M. T. Bowers, *Int. J. Mass spectrom.*, 2011, **308**, 1-10.
- [25] S. A. Ewing, M. T. Donor, J. W. Wilson and J. S. Prell, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2017, **28**, 587-596.
- [26] R. Lai, E. D. Dodds and H. Li, *J. Chem. Phys.*, 2018, **148**, 064109.
- [27] J. De Winter, V. Lemaure, R. Ballivian, F. Chiro, O. Coulembier, R. Antoine, J. Lemoine, J. Cornil, P. Dubois, P. Dugourd and P. Gerbaux, *Chem. Eur. J.*, 2011, **17**, 9738-9745.
- [28] B. T. Ruotolo, J. L. Benesch, A. M. Sandercock, S. J. Hyung and C. V. Robinson, *Nature Protocols*, 2008, **3**, 1139-1152.
- [29] S. Kokubo and P. Vana, *Macromol. Chem. Phys.*, 2016, **218**, 1600373.
- [30] Q. Duez, R. Liénard, S. Moins, V. Lemaure, O. Coulembier, J. Cornil, P. Gerbaux and J. De Winter, *Polymers*, 2019, **11**, 688.
- [31] S. Hoyas, E. Halin, V. Lemaure, J. De Winter, P. Gerbaux and J. Cornil, *Biomacromolecules*, 2020, **21**, 903-909.
- [32] K. Giles, S. D. Pringle, K. R. Worthington, D. Little, J. L. Wildgoose and R. H. Bateman, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2004, **18**, 2401-2414.
- [33] K. Giles, J. P. Williams and I. Campuzano, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2011, **25**, 1559-1566.
- [34] M. F. Bush, Z. Hall, K. Giles, J. Hoyes, C. V. Robinson and B. T. Ruotolo, *Anal. Chem.*, 2010, **82**, 9557-9565.
- [35] M. F. Bush, I. D. Campuzano and C. V. Robinson, *Anal. Chem.*, 2012, **84**, 7124-7130.
- [36] K. M. Hines, J. C. May, J. A. McLean and L. Xu, *Anal. Chem.*, 2016, **88**, 7329-7336.
- [37] Q. Duez, T. Josse, V. Lemaure, F. Chiro, C. M. Choi, P. Dubois, P. Dugourd, J. Cornil, P. Gerbaux and J. De Winter, *J. Mass Spectrom.*, 2017, **52**, 133-138.
- [38] J. T. Hopper and N. J. Oldham, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2009, **20**, 1851-1858.
- [39] K. Breuker and F. W. McLafferty, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, **105**, 18145-18152.
- [40] H. Shi, N. Atlasevich, S. I. Merenbloom and D. E. Clemmer, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2014, **25**, 2000-2008.
- [41] N. Khristenko, J. Amato, S. Livet, B. Pagano, A. Randazzo and V. Gabelica, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2019, **30**, 1069-1081.
- [42] A. E. Tonelli, *Macromolecules*, 2014, **47**, 6141-6143.
- [43] R. G. McAllister, H. Metwally, Y. Sun and L. Konermann, *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, **137**, 12667-12676.
- [44] D. Kim, N. Wagner, K. Wooding, D. E. Clemmer and D. H. Russell, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 2981-2988.
- [45] Q. Duez, H. Metwally, S. Hoyas, V. Lemaure, J. Cornil, J. De Winter, L. Konermann and P. Gerbaux, *PCCP*, 2020, **22**, 4193-4204.
- [46] Q. Duez, M. Romain, C. Tonneaux, J. De Winter, V. Lemaure, J. Cornil, C. Poriol and P. Gerbaux, *Analytical Methods*, 2018, **10**, 2303-2306.
- [47] Q. Duez, H. Metwally and L. Konermann, *Anal. Chem.*, 2018, **90**, 9912-9920.
- [48] Q. Duez, N. A. van Huizen, V. Lemaure, J. De Winter, J. Cornil, P. C. Burgers and P. Gerbaux, *Int. J. Mass spectrom.*, 2019, **435**, 34-41.
- [49] C. Decroo, E. Colson, V. Lemaure, G. Caulier, J. De Winter, G. Cabrera-Barjas, J. Cornil, P. Flammang and P. Gerbaux, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2019, **33**, 22-33.
- [50] S. Kokubo and P. Vana, *Macromol. Chem. Phys.*, 2017, **218**, 1700126.
- [51] J. R. N. Haler, D. Morsa, P. Lecomte, C. Jerome, J. Far and E. De Pauw, *Methods*, 2018, **144**, 125-133.
- [52] J. Gidden, T. Wyttenbach, A. T. Jackson, J. H. Scrivens and M. T. Bowers, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 4692-4699.
- [53] N. E. Alexander, J. P. Swanson, A. Joy and C. Westdemiotis, *Int. J. Mass spectrom.*, 2018, **429**, 151-157.
- [54] R. Liénard, T. Josse, J. De Winter, P. Dubois and P. Gerbaux, *Polimery*, 2017, **62**, 435-442.
- [55] R. Liénard, Q. Duez, S. M. Grayson, P. Gerbaux, O. Coulembier and J. De Winter, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2019, **In press** - **10.1002/rcm.8660**.
- [56] H. Jacobson and W. H. Stockmayer, *J. Chem. Phys.*, 1950, **18**, 1600-1606.