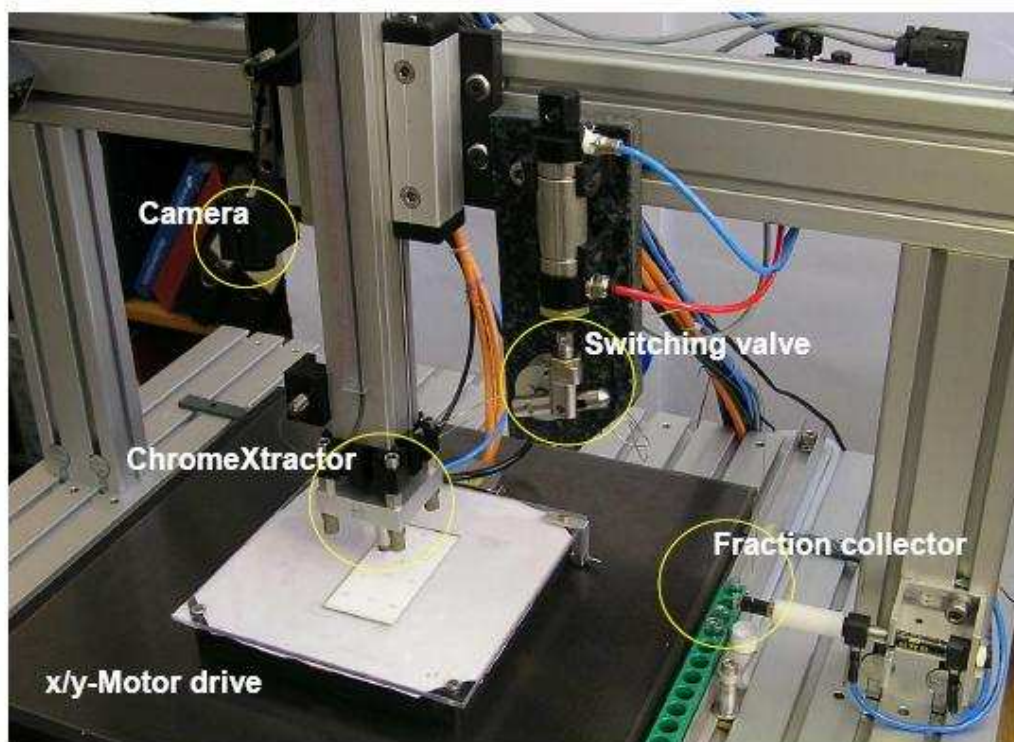


Couplage HPTLC/MS



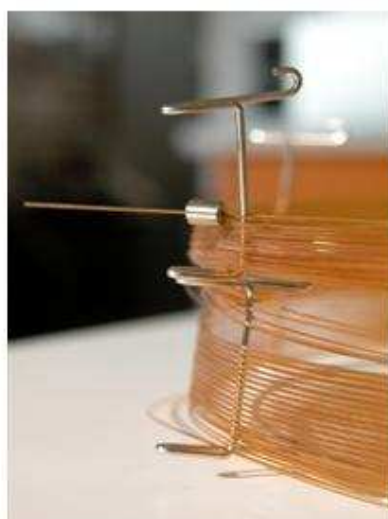
CCM, HPTLC

LCMBA

UMR CNRS-UNSA 6005

Chromatographie en phase Gazeuse rapide

Chromatographie conventionnelle



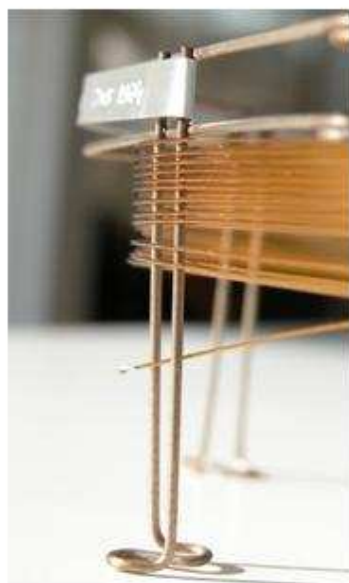
- Colonnes:
de 15 à 50 m – 0,25 mm x 200 μ m
- Programmation du four:
rampes de 2 à 10 $^{\circ}$ C/min
- Durée de l'analyse:
de 20 à 240 min

LCMBA

UMR CNRS-UNSA 6005

Chromatographie en phase Gazeuse rapide

Chromatographie Fast



- Colonnes:
de 5 à 10 m – 0,10 mm x 100 µm
- Programmation du four:
rampes de 15 à 50 °C/min
- Durée de l'analyse:
de 5 à 15 min

LCMBA

Chromatographie en phase Gazeuse rapide

Chromatographie Ultra-Fast



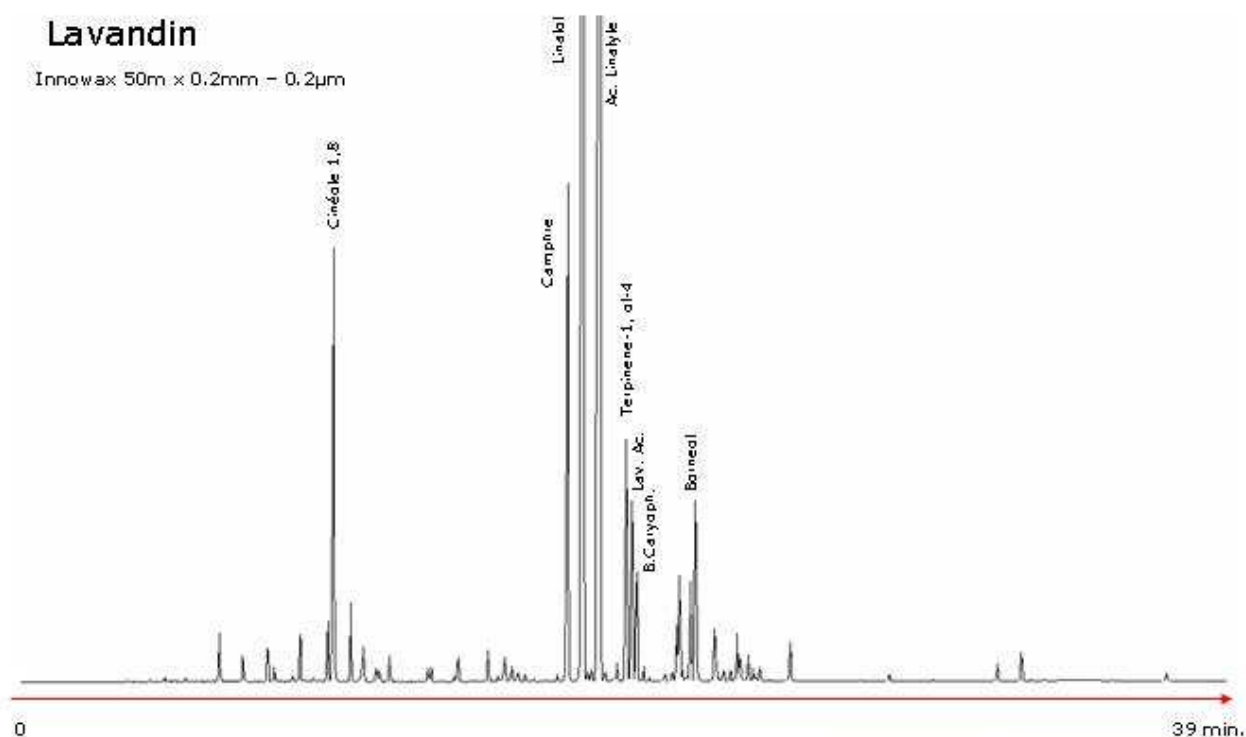
- Modules:
5 m – 0,10 mm x 100 µm
- Programmation du four:
rampes de 50 à 1200 °C/min
- Durée de l'analyse:
de 1 à 3 min

LCMBA

Chromatographie en phase Gazeuse rapide

Lavandin

Innowax 50m x 0.2mm - 0.2µm



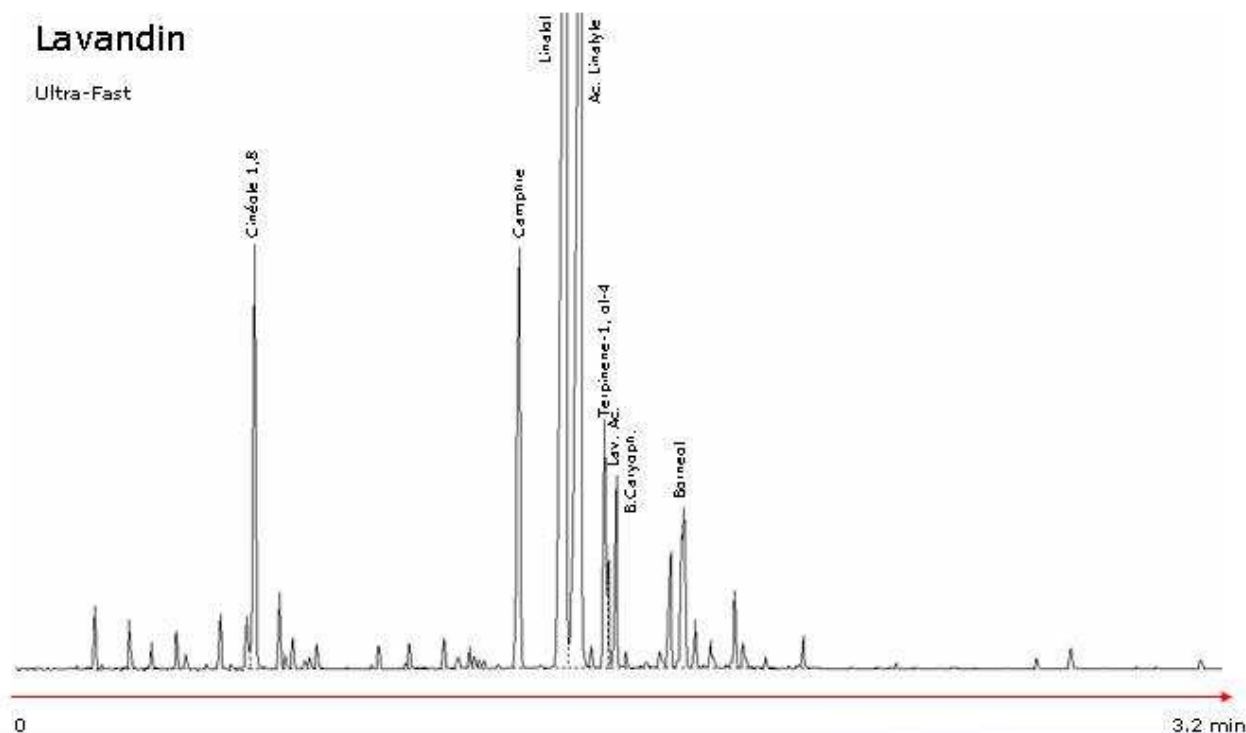
UMR CNRS-UNSA 5002

LCMBA

Chromatographie en phase Gazeuse rapide

Lavandin

Ultra-Fast



UMR CNRS-UNSA 5002

LCMBA

Identification/quantification de composés à l'état de traces

GC multidimensionnelle (MDGC) :

- analyse de l'échantillon sur deux colonnes différentes (propriétés orthogonales)
- un seul instrument
- une seule analyse

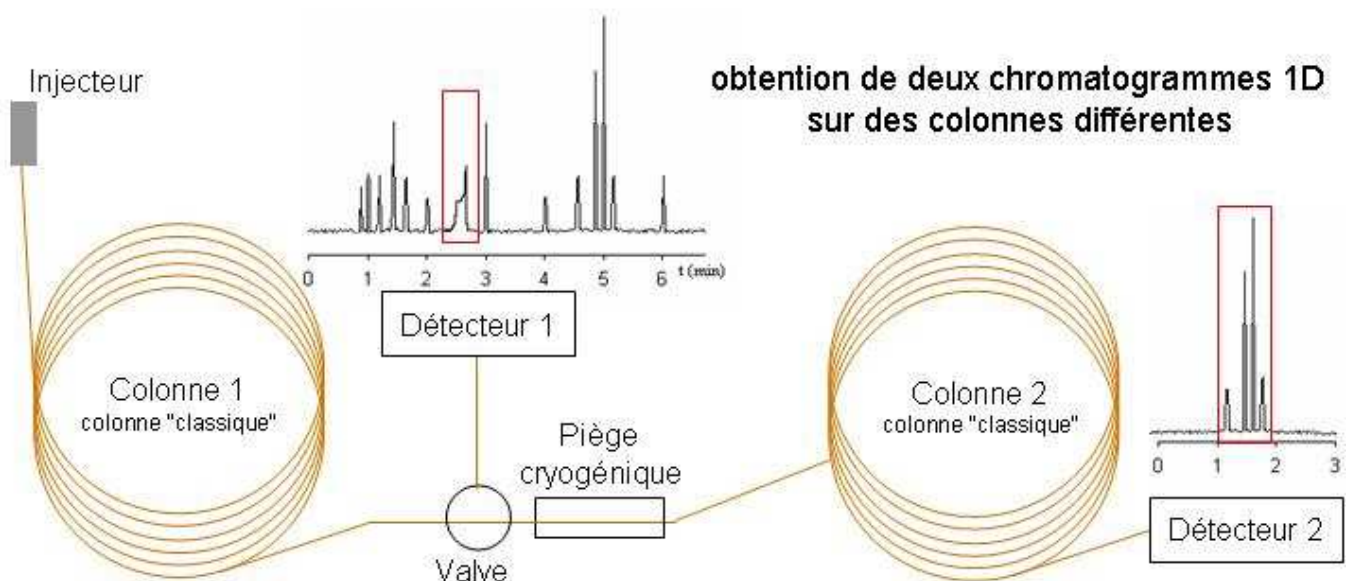
Deux techniques :

- la GC–GC conventionnelle (technique du "heartcut")
- la GC×GC totale (comprehensive GC)

Eyres G. *et al.* *J. Chromatogr. A.* 2007, 70–77; Qian M.C. *et al.* in *Sensory-directed flavour analysis*, 2006, pp. 111–154

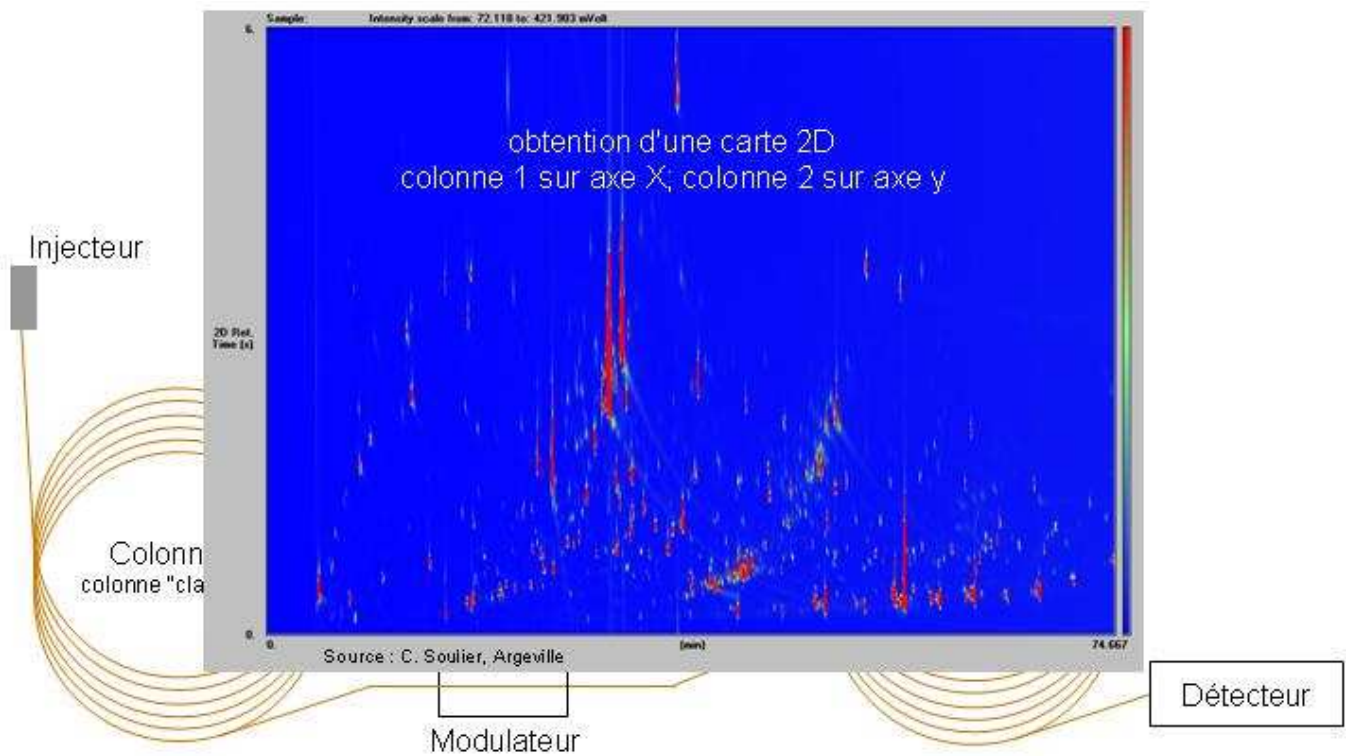
LCMBA

MDGC : GC–GC conventionnelle par "heartcut"



Eyres G. *et al.* *J. Chromatogr. A.* 2007, 70–77; Qian M.C. *et al.* in *Sensory-directed flavour analysis*, 2006, pp. 111–154

LCMBA



Eyres G. et al. *J. Chromatogr. A*. 2007, 70-77; Qian M.C. et al. in *Sensory-directed flavour analysis*, 2006, pp. 111-154

LCMBA

GC×GC/MS-TOF

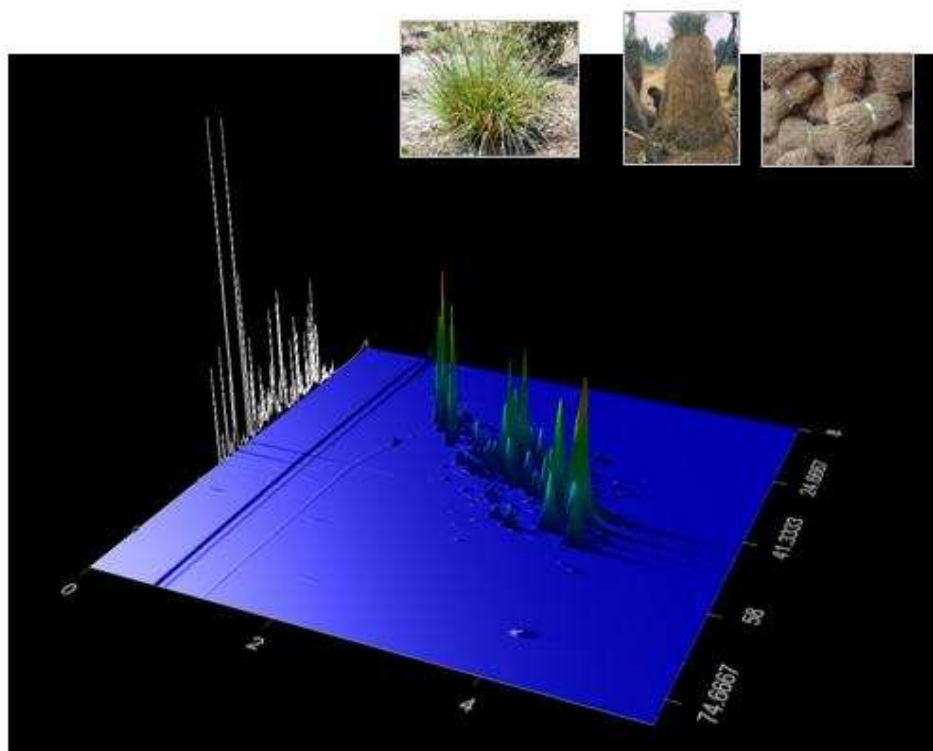
- Combine les performances de la GC×GC et du détecteur de masse à temps de vol
- GC×GC : augmentation de la capacité de pics
- MS-TOF : augmentation de la fréquence de détection et de la transmission



LCMBA

GC×GC/Tof-MS

Analyse GC×GC/Tof-MS
d'une HE de vétiver

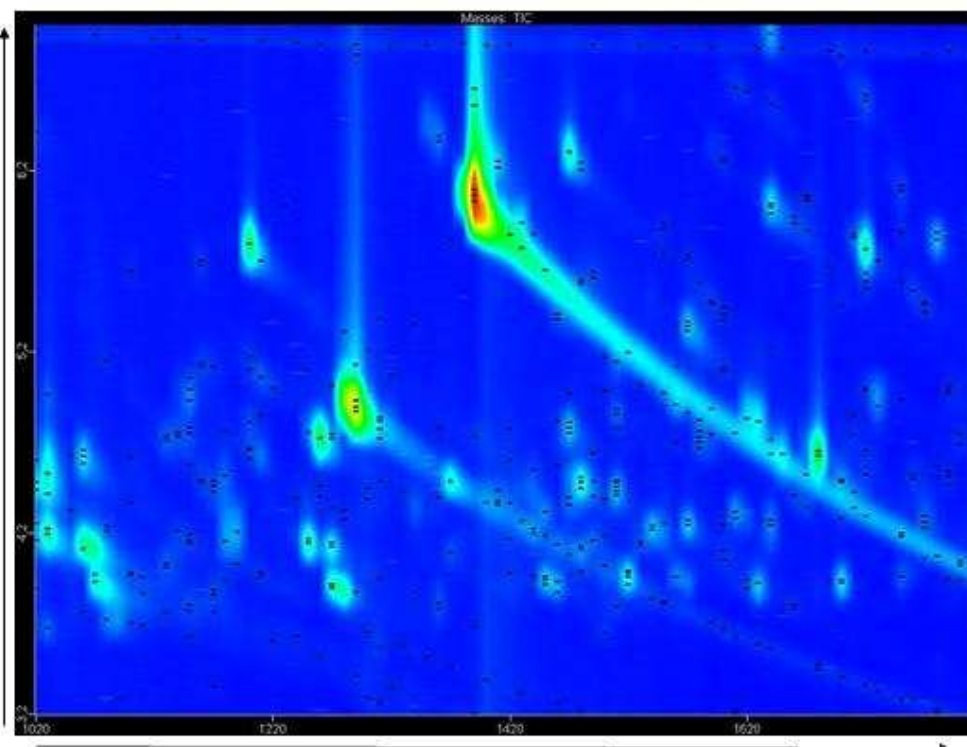


2D-GC

IDECOS

2^{ème} colonne/dimension
 t_r (s)

Identification du composé cible
GC×GC : absence de co-élutions majeures



1^{ère} colonne/dimension t_r (s)

LCMBA

UMR CNRS-UMSA 5002

Le couplage GC/HRMS

- L'aptitude d'un analyseur à distinguer un faible écart de masse entre deux composés distincts définit sa résolution
- Analyseur haute résolution = grande précision de la mesure du rapport m/z
- Le rapport m/z obtenu peut être corrélé à la composition élémentaire de l'ion (erreur relative à chaque appareil mais de l'ordre du ppm)

GC/HRMS

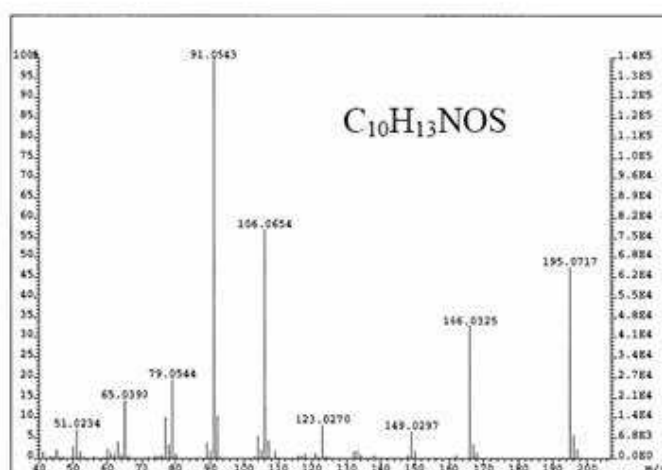
Le couplage LC/HRMS

- Exemple de 2 composés:
 - A de composition élémentaire : $C_{15}H_{16}N_2$
 - B de composition élémentaire : $C_{15}H_{12}O_2$
- Même masse nominale:
 - $M(A) = 15 \times 12 + 16 \times 1 + 2 \times 14 = 224$
 - $M(B) = 15 \times 12 + 12 \times 1 + 2 \times 16 = 224$
- Masses exactes différentes:
 - $M_{ex}(A) = 15 \times 12,0000(00) + 16 \times 1,0078(25) + 2 \times 14,0030(74) = 224,1313$
 - $M_{ex}(B) = 15 \times 12,0000(00) + 12 \times 1,0078(25) + 2 \times 15,9949(15) = 224,0837$

GC/HRMS

Couplage GC/HRMS

- Très utile pour déterminer la structure de composés inconnus (formule brute, fragmentation)
- Peu de configuration (analyseur magnétique essentiellement)



GC/HRMS

LCMBA

UMR CNRS-UNSA 6005

Couplage GC/HRMS

- **Nouveauté** : source GC à pression atmosphérique (APGC)
- Permet de rendre compatible un GC avec un spectromètre de masse haute résolution de LC

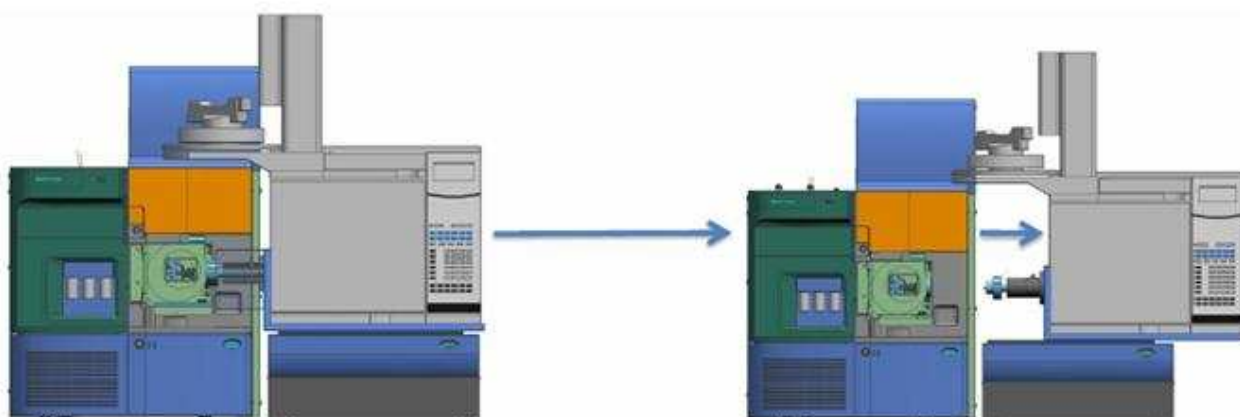


GC/HRMS

LCMBA

UMR CNRS-UNSA 6005

Couplage GC/HRMS



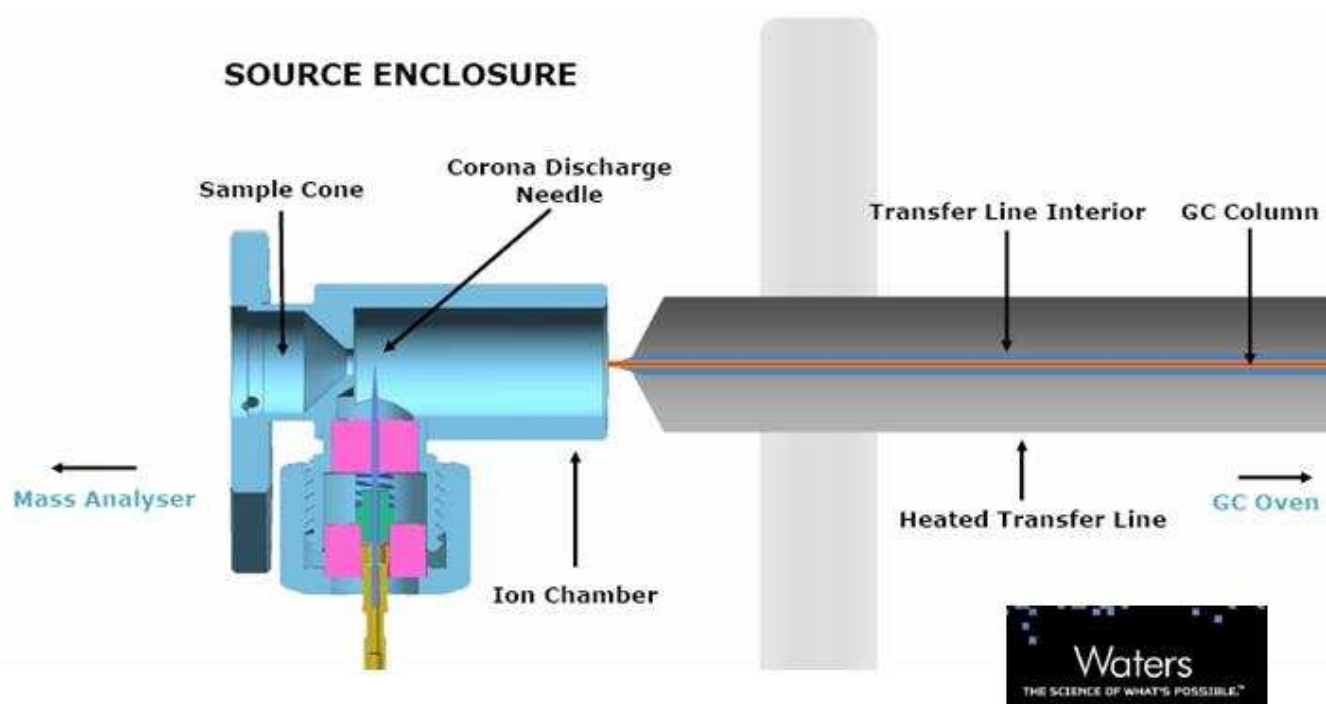
- Changements LC/MS vers GC/MS en moins de 5 min
- Ne nécessite pas d'outils

GC/HRMS

LCMBA

UMR CNRS-UNSA 6005

Couplage GC/HRMS

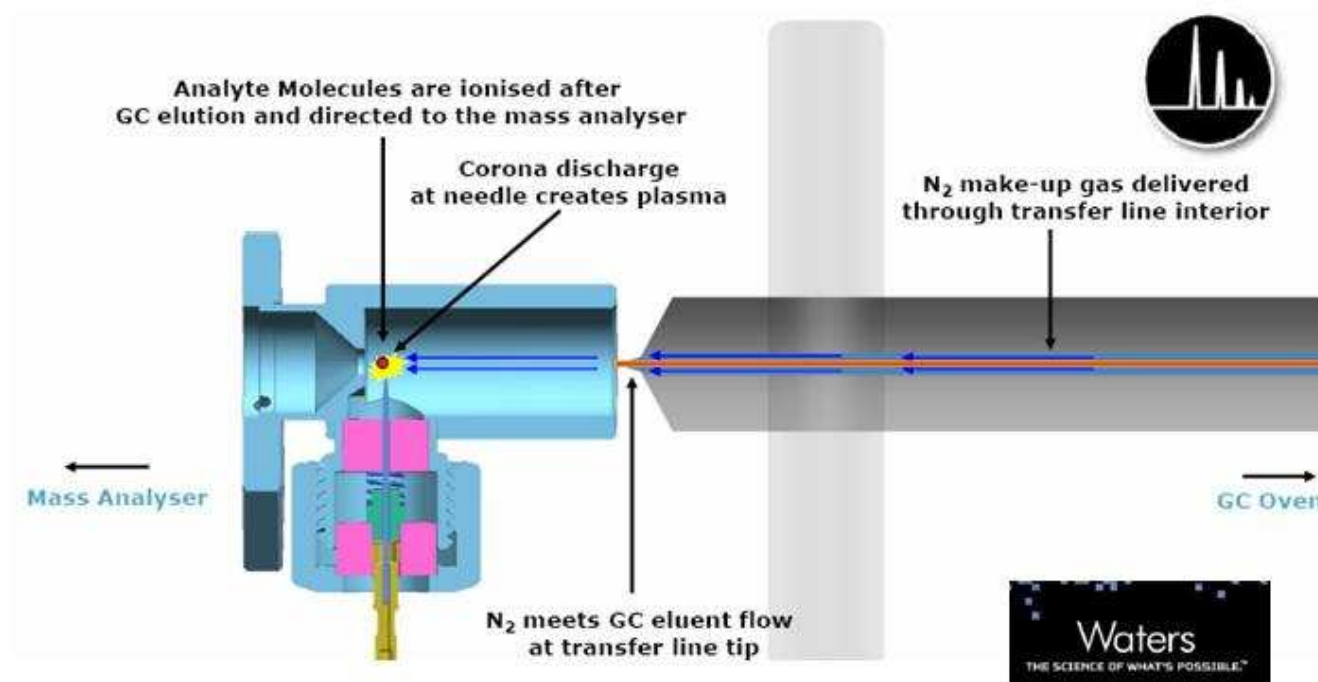


GC/HRMS

LCMBA

UMR CNRS-UNSA 6005

Couplage GC/HRMS



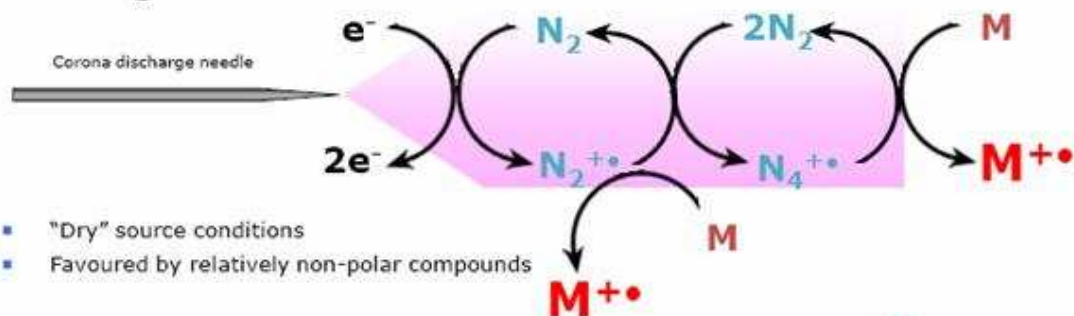
GC/HRMS

LCMBA

UMR CNRS-UNSA 6000

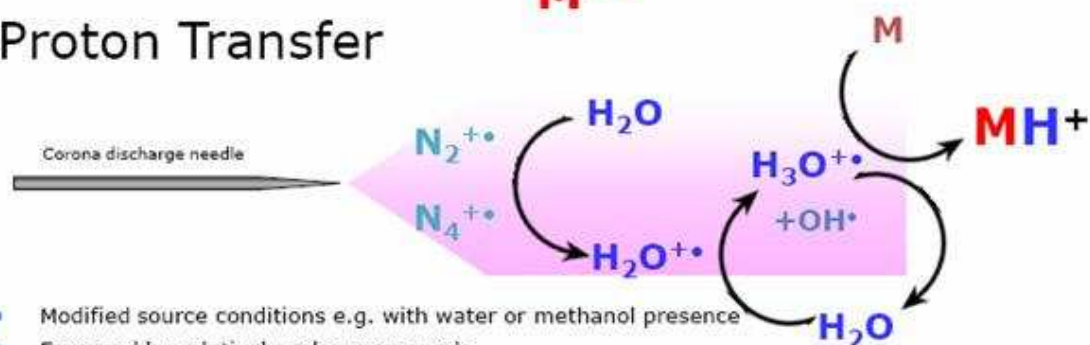
Couplage GC/HRMS

Charge Transfer



- "Dry" source conditions
- Favoured by relatively non-polar compounds

Proton Transfer



- Modified source conditions e.g. with water or methanol presence
- Favoured by relatively polar compounds

GC/HRMS

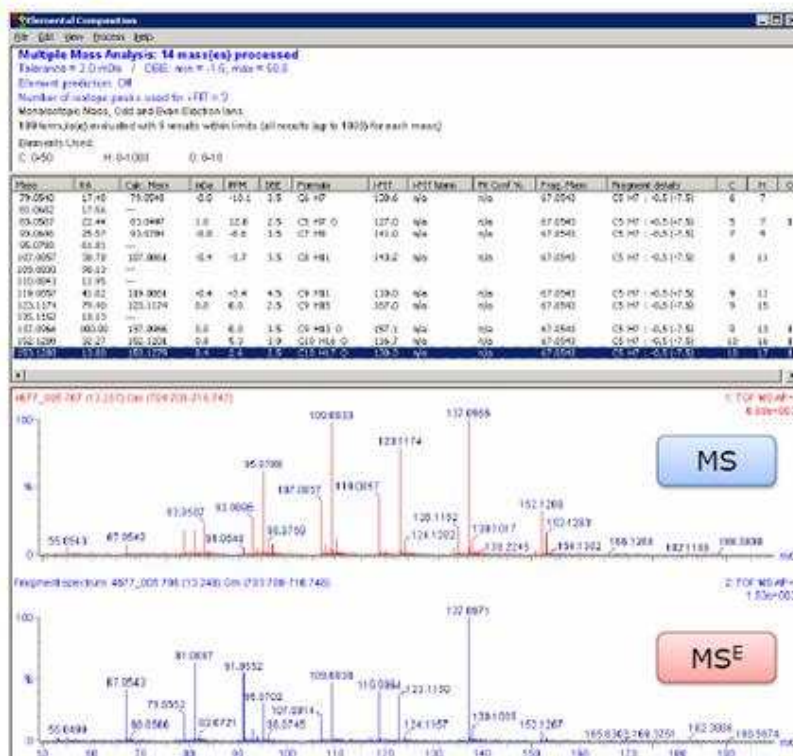
LCMBA

UMR CNRS-UNSA 6000

Couplage GC/HRMS

Formule brute calculée :

- $C_{10}H_{17}O$
- $[M-H]^+$



GC/HRMS

LCMBA

Couplage GC/HRMS

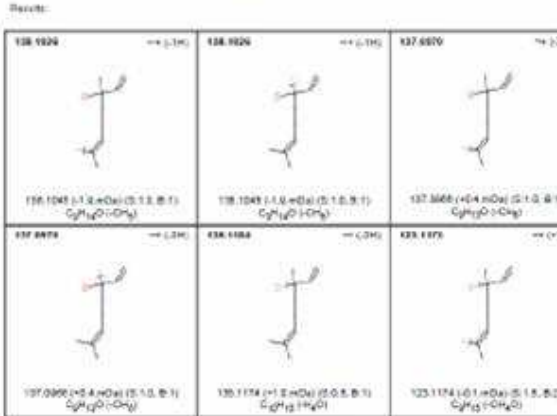
Report

Input

	ID (API)	58
	Mass (Da)	154.1358
	Formula	C ₁₀ H ₁₈ O
	DBE	1

Equipment

Product ions (Da)	109.0563 107.0662 105.0668 103.0673 117.0707 115.0694 121.0729 125.1174 139.1184 137.0670 135.1026 129.0549 87.0543 77.0543 75.0542 61.0546 61.0541 61.0542 55.0546 41.0555
GC	Qm GC
Electron source	70eV
Maximum X defocus	0
Fragment number of bonds	2
Scoring	algorithm: 5, multiple: 4, top: 2, phenyl: 0, other: 1 method: 2, parent modifier: 0.5, max score: 10
Order	mass
Plot	show <input checked="" type="checkbox"/> hide <input type="checkbox"/>



GC/HRMS

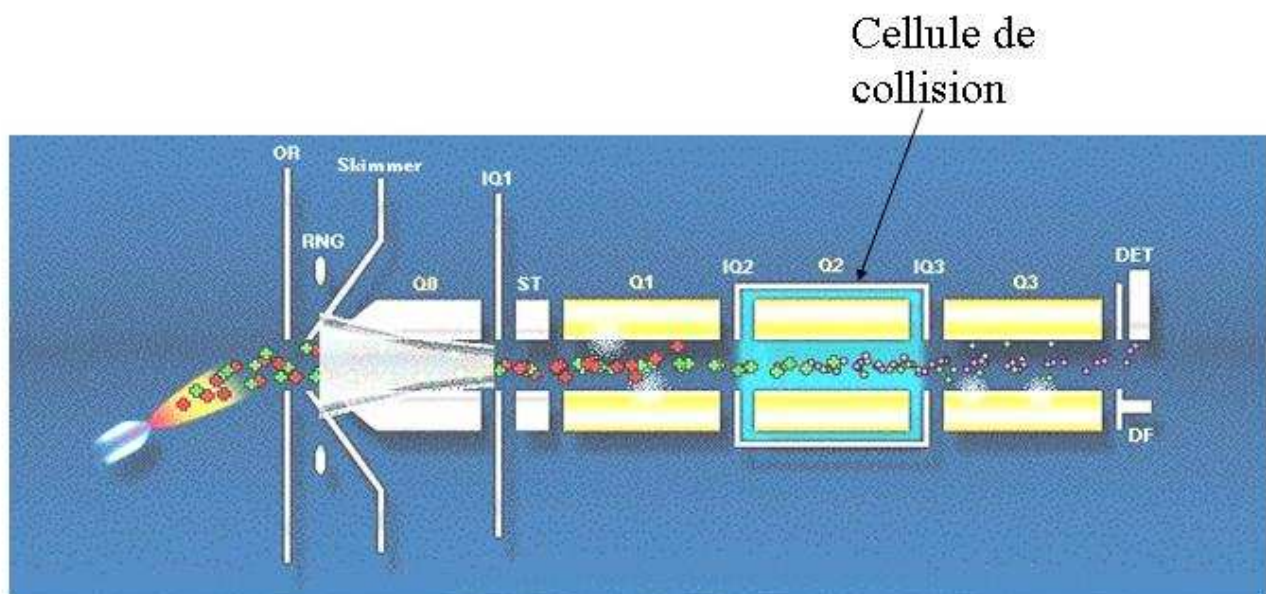
LCMBA

Principe de la LC/MS/MS

- Permet de faire de la MS/MS ou MS²
- Trois quadripôles sont mis en série : Q1, Q2, Q3. Q2 joue le rôle de cellule de collision.
- L'argon est le gaz de collision le plus souvent utilisé
- Différents types de balayage peuvent être utilisés :
 - **mode fils** : Q1 sélectionne un ion dont les fragments obtenus par collision dans Q2 sont analysés dans Q3
 - **mode parent** : Q1 balaye une gamme de masse alors que Q3 ne filtre qu'un ion particulier. Seuls les ions se décomposant pour donner l'ion sélectionné seront détectés
 - **mode perte de neutre** : Q1 et Q3 balaye une gamme de masse mais avec un décalage correspondant à la perte d'un fragment caractéristique d'un produit ou d'une famille de composés

HPLC

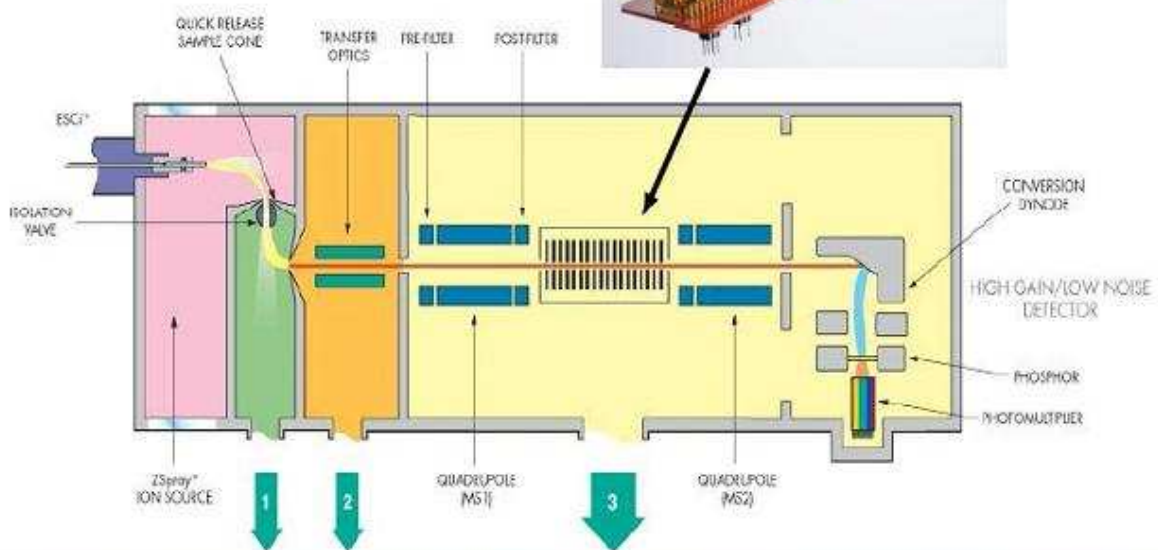
Principe de la LC/MS/MS



HPLC

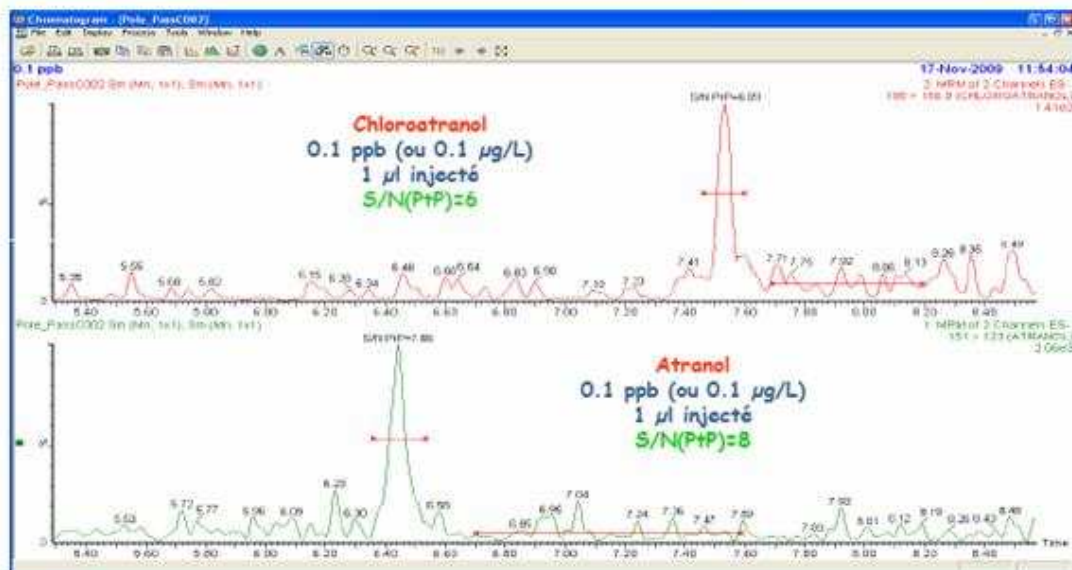
Principe de la LC/MS/MS

ScanWave Collision Cell



HPLC

Principe de la LC/MS/MS



La LOD (pour un S/N (PtP) > 3) est estimée à 0.05 ppb pour le Chloroatranol et à 0.04 ppb pour l'Atranol, pour 1 µl injecté.

HPLC

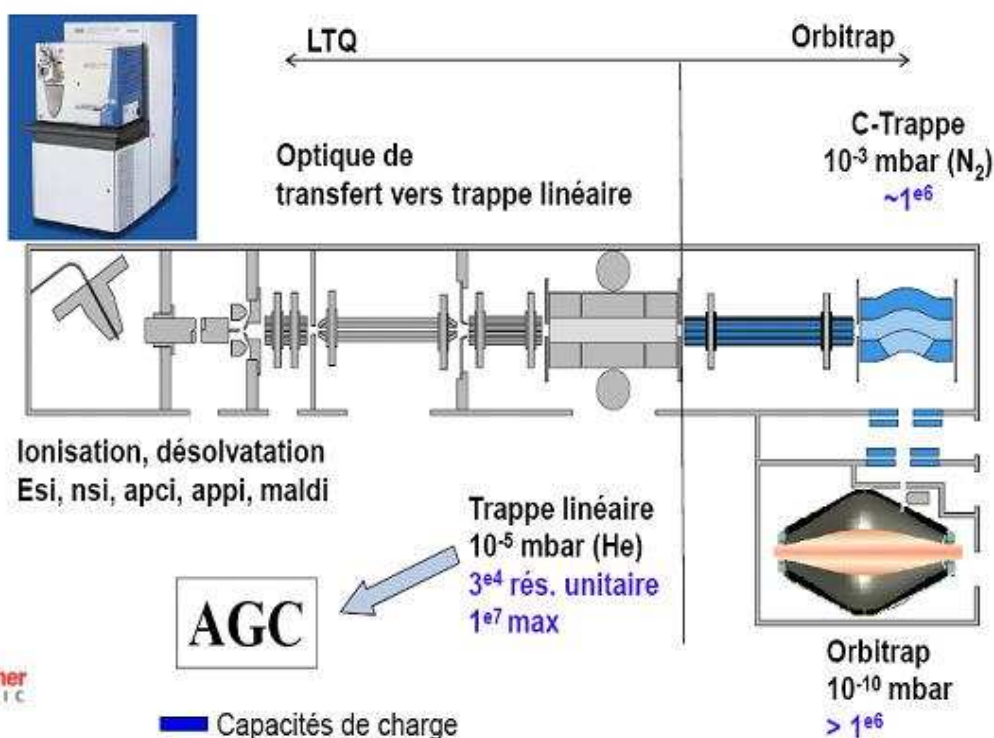
Le couplage LC/HRMS



- Instrumentation qui a beaucoup progressée
- Très utile dans l'analyse qualitative des extraits naturels
- Détermination de formules brutes
- Aide à la fragmentation, construction de structure
- Plusieurs technologies :
 - ✓ Analyseur magnétique
 - ✓ Q-Tof
 - ✓ IT-ToF
 - ✓ FT-ICR (analyseur à résonance cyclotronique d'ion)
 - ✓ Orbitrap

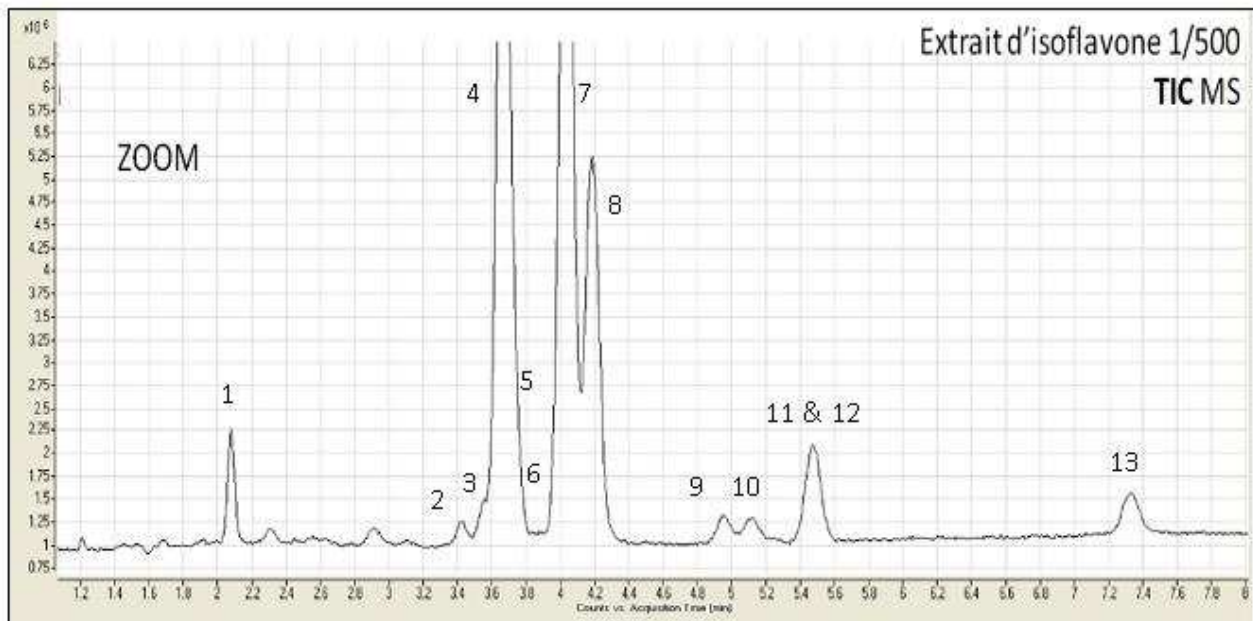
HPLC/HRMS

Le couplage LC/HRMS



HPLC/HRMS

Couplage LC/HRMS



HPLC

Le couplage LC/HRMS

HPLC/QTOF-SM			
Composé	t_R	Masse	Formule brute
1	2,078	166,0633	$C_9H_{10}O_3$
2	3,428	300,06374	$C_{16}H_{12}O_6$
3	3,55	330,07467	$C_{17}H_{14}O_7$
4	3,661	360,08452	$C_{18}H_{16}O_8$
5	3,72	330,07438	$C_{17}H_{14}O_7$
6	3,886	332,0897	$C_{17}H_{16}O_7$
7	4,034	312,06345	$C_{17}H_{12}O_6$
8	4,188	342,0739	$C_{18}H_{14}O_7$
9	4,953	298,04821	$C_{16}H_{10}O_6$
10	5,126	328,0585	$C_{17}H_{12}O_7$
11	5,478	386,10056	$C_{20}H_{18}O_7$
12		356,09004	$C_{19}H_{16}O_7$
13	7,325	314,07967	$C_{17}H_{14}O_6$

HPLC/HRMS

Conclusion

- Evolution rapide de la réglementation
- REACH : nécessité de connaître la composition chimique des extraits naturels
- Les substances soumises à une réglementation/limitation sont de plus en plus nombreuses
- Cela va conduire à une augmentation du nombre d'analyses
- Nécessité d'évoluer et d'utiliser de nouvelles techniques