



HAL
open science

Spectrométrie de masse FT-ICR bidimensionnelle, développements et applications

Julien Bouclon

► **To cite this version:**

Julien Bouclon. Spectrométrie de masse FT-ICR bidimensionnelle, développements et applications. Chimie théorique et/ou physique. Université Paris sciences et lettres, 2018. Français. NNT : 2018PSLEE002 . tel-01872601

HAL Id: tel-01872601

<https://theses.hal.science/tel-01872601>

Submitted on 12 Sep 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE DE DOCTORAT

de l'Université de recherche Paris Sciences et Lettres
PSL Research University

Préparée à l'Ecole Normale Supérieure de Paris

Spectrométrie de masse FT-ICR bidimensionnelle,
développements et applications

Two-dimensional FT-ICR mass spectrometry, developments
and applications

Ecole doctorale n°388

CHIMIE PHYSIQUE ET CHIMIE ANALYTIQUE DE PARIS CENTRE

Spécialité Chimie Physique

Soutenue par Julien BOUCLON
le 26 janvier 2018

Dirigée par **Geoffrey BODENHAUSEN**

COMPOSITION DU JURY :

Mme. LAVANANT Hélène
Université de Rouen, Rapporteur

M. VAN DER REST Guillaume
Université Paris sud, Rapporteur

Mme. SAGAN Sandrine
Ecole Normale Supérieure, Président du jury

M. ROLANDO Christian
Université de Lille 1, Examineur

M. BODENHAUSEN Geoffrey
Ecole Normale Supérieure, Directeur de thèse

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Prof. **Geoffrey Bodenhausen** de m'avoir donné l'opportunité de travailler sous sa direction. Ce qui semblait au départ être une thèse orientée utilisateur s'est vite transformé en un travail de développement de méthodes, de calculs analytiques, de simulations, de programmations, et je n'y serais pas arrivé sans ton support et ta confiance. Même si tu en penses le contraire, dans les épisodes les plus creux de ce parcours de trois ans, tu as su dire les mots dont j'avais besoin pour sortir la tête de l'eau. Quand ma motivation était réduite à néant, j'ai toujours pu compter sur toi pour m'inspirer et continuer la bataille. Cela a été difficile, mais si j'ai réussi aujourd'hui à écrire ce manuscrit et à préparer ma défense de thèse sans rougir, c'est en partie grâce à ton enseignement. Merci.

Je remercie aussi le Dr. **Hélène Lavanant** et le Prof. **Guillaume van der Rest** d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail. Vos remarques avisées ainsi que vos idées de perspectives ont largement contribué à l'amélioration de ce manuscrit ainsi que de ma présentation orale. Je vous remercie donc pour votre lecture attentive et pour le temps que vous m'avez consacré en jugeant ce travail de manière pertinente, objective et surtout scientifique. Je remercie également le Dr. **Sandrine Sagan** d'avoir accepté mon invitation en tant qu'examinateur de mon travail, ainsi que pour son accueil au sein du Laboratoire des Biomolécules.

Je remercie le Dr. **Christian Rolando** de m'avoir accueilli au sein du MSAP de Lille afin de réaliser mon apprentissage de ce monstre qu'est un analyseur FT-ICR. Votre expertise dans le domaine de la spectrométrie de masse a été essentiel à l'accomplissement de ma tâche. Vous avez su m'aiguiller sur des voies dont je ne comprenais pas toujours la finalité, et qui m'ont finalement mené à améliorer les spectres bidimensionnels et à décrire les comportements des ions au cours d'une séquence complète. Ce dernier point est crucial pour acquérir les connaissances nécessaires à l'innovation dans le développement de la FT-ICR MS 2D. Je vous remercie également d'être venu à Paris quelques jours avant la soutenance pour une ultime répétition.

Je remercie le Dr. **Philippe Pelupessy** pour son aide dans la compréhension de mes résultats les plus obscurs. Tes remarques et idées ont été primordiales au cours

de mon périple. Comment un tel génie peut côtoyer une telle humilité ? Tu es un exemple scientifique et humain à suivre, et je suis heureux d'avoir la chance de te connaître ainsi que d'avoir travaillé avec toi. Merci pour tout.

Je remercie le Dr. **Marc-André Delsuc** pour ses explications et son aide dans l'amélioration de mes compétences de programmeur. Tu es toujours quelqu'un de très avenant, souriant, rieur et positif. Ton esprit critique m'a aidé à éclaircir mes idées de concepts de simulations, je repense notamment à la discussion que nous avons eu lors des JFSM. Je te remercie pour ton accueil chaleureux dans ton équipe, et pour tes conseils riches d'enseignements.

Je remercie le Dr. **Daniel Abergel** pour nos discussions quant à la formation du nuage de fragments. Ton expertise théorique mise à mal par mes résultats a mis en relief leur manque de clarté. Tes questions pertinentes ont permis l'amélioration de mes simulations ainsi que de la compréhension de mon message.

Je remercie le Dr. **Fabrice Bray** de m'avoir aidé à apprivoiser le spectromètre de masse. Je te remercie pour toutes nos discussions scientifiques ou non.

Je remercie le Dr. **Patricia Le Meillour** ainsi que le Dr. **Chrystelle Le Danvic** de m'avoir fait connaître mon premier amour scientifique. Je vous remercie pour toutes ces heures passées à me rassurer et à améliorer mon esprit scientifique ainsi que notre publication. Je ne serais pas là où je suis sans vous. Patricia, ta relecture m'a été d'une aide précieuse dans l'élaboration de mon manuscrit. Je ne vous remercierais jamais assez.

Je remercie le Prof. **Jean-Claude Tabet** pour son partage inconditionnel de ses connaissances. Ton altruisme est incroyable, même s'il faut se lever à quatre heures du matin pour en profiter. Tes conseils et tes encouragements, notamment lors de nos retrouvailles à l'ASMS, ont été une source d'inspiration à une période où celle-ci me faisait défaut. Je suis toujours impressionné par ton énergie débordante, tu es vraiment une force de la nature.

Je remercie le Prof. **Richard Cole** sans qui je n'aurais jamais postulé à cette thèse.

Je remercie toute **l'équipe 3 du Laboratoire des Biomolécules**, notamment le Dr. **Fabien Ferrage** pour sa relecture de ma partie RMN ainsi que pour nos discussions. Je remercie aussi le Dr. **Dennis Kurzbach** pour sa folie de même fréquence de résonance que la mienne. Tes compétences, ta motivation et ton oreille attentive m'ont aidé à ne pas baisser les bras. « Quand tout va mal, demande-toi ce que le capitaine Jean-Luc Picard ferait ». Merci. Je remercie également **Emmanuelle Weber** de m'avoir épaulé jusqu'à la fin, que ce soit pour les discussions d'extériorisation ou l'aspect administratif. Je remercie aussi le Dr. **Mathieu Baudin** pour les mêmes raisons.

Je remercie toute **l'équipe du MSAP de Lille**, en particulier le Dr. **Caroline Tokarsky** pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, le Dr. **Maël Penhoat** et le Dr. **Amra Aksamija** pour nos discussions lors des pauses clope, le Dr. **Olga Plechakova** pour m'avoir supporté dans son bureau, et finalement **Christophe Penverne**, dont la folie et la bonne humeur sont contagieuses.

Je remercie le Dr. **Sophie Cersoy** pour sa relecture attentive de mes équations et ses remarques pertinentes ayant contribué à l'amélioration de ce manuscrit.

Je remercie le Dr. **Frédéric Thiebault** pour son aide à l'amélioration de ma soutenance et pour son amitié.

Je remercie le Dr. **Séverine Zirah** de m'avoir aidé à améliorer ma soutenance.

Je remercie **Anne Halloppé** du département de chimie de l'ENS pour son aide quant à la préparation de mes missions à Lille, ainsi que d'avoir accéléré le remboursement tardif de mes frais. Je remercie également **Karine Warne** du MSAP de Lille pour son aide avec le CROUS.

Je remercie la **SFSM** pour les deux bourses m'ayant permis de participer aux rencontres des jeunes chercheurs en spectrométrie de masse et à l'ASMS.

Je remercie l'**ANR** pour le financement de ces travaux de thèse.

Je remercie **ma famille**, pour son soutien inconditionnel. Je remercie mes parents, **Thierry** et **Cathy**, d'avoir cru en moi, et de m'avoir rassuré tout au long de ce travail. Je ne serais rien sans vous, sans votre enseignement, et sans les valeurs que vous m'avez transmises. Merci également à mes frères, **Romain** (Biblb) et **Lucas**, pour votre support et vos nombreuses questions sur mon travail. Merci pour tout, vous êtes tous sans aucun doute les personnes les plus humaines que je connaisse, et je vous aime plus que tout.

Et finalement, je remercie **Louise**. Tu me soutiens, tu supportes mon humeur sinusoïdale en permanence, et tu acceptes mes défauts et ma folie. Je ne serais jamais arrivé au bout de cette thèse sans toi. Tu n'as jamais cessé de croire en mon potentiel et tu m'as donné les clés pour l'exprimer. Ton aide, que ce soit pour l'obtention de cette thèse, la rédaction ou la soutenance m'a été des plus précieuses. Aucun mot n'est assez fort pour exprimer ma gratitude à ton égard ou ce que je ressens pour toi. Merci.

Sommaire

Introduction.....	1
1. <i>La spectrométrie de masse</i>	1
a) Les sources.....	2
b) Les analyseurs.....	3
c) Stratégies d'obtention d'informations structurales	5
2. <i>L'analyseur FT-ICR</i>	6
a) La cellule ICR ou piège de Penning.....	7
b) Excitation et isolation d'ions.....	9
c) Limites dans le cas d'échantillons complexes	10
3. <i>La spectroscopie RMN 2D</i>	10
4. <i>La spectrométrie de masse FT-ICR bidimensionnelle</i>	12
a) Concept original de 1987	12
b) Les différentes stratégies développées jusqu'en 2002	13
c) Limitations qui ont conduit à une perte d'intérêt de la technique	14
d) Renouveau de la FT-ICR MS 2D	16
e) Résumé et objectifs de la thèse.....	17
Partie 1 : Application de l'échantillonnage aléatoire (NUS) à la FT-ICR MS 2D, ou comment augmenter la résolution à moindre coût.....	19
1. <i>Introduction</i>	19
a) Augmenter la résolution avec un échantillonnage uniforme : méthodes linéaires.....	19
b) Augmenter la résolution avec un échantillonnage non uniforme ou « Non-Uniform Sampling » (NUS).....	20
2. <i>Matériel et méthodes</i>	22
a) Algorithme d'échantillonnage aléatoire	22
b) Expériences	25
c) Algorithme de traitement des données	26
3. <i>Résultats et discussion</i>	26
a) Augmentation de la résolution	26
b) Détermination d'un compromis	27
c) Echantillon d'huile de sésame	28
4. <i>Conclusions et perspectives</i>	35
Partie 2 : Comportement des ions au cours d'une séquence d'impulsions.....	36

1. <i>Introduction</i>	36
2. <i>Equations de la trajectoire d'un précurseur au cours d'une séquence $P_1-t_1-P_2-t_m-P_3-t_2$</i>	38
a) Impulsion P_1 avec $t_{pulse} = T_1$ et $E_x = E_1$	38
b) Intervalle d'encodage t_1 avec $E_x = 0$	39
c) Impulsion P_2 avec $t_{pulse} = T_2$ et $E_x = E_1$	39
d) Intervalle de fragmentation t_m avec $E_x = 0$	40
e) Impulsion P_3 avec $t_{pulse} = T_3$ et $E_x = E_3$	41
f) Intervalle de détection t_2	42
3. <i>Equations de la trajectoire d'un fragment au cours de $t_m-P_3-t_2$</i>	43
a) Intervalle de fragmentation t_m	44
b) Excitation P_3 avec $t_{pulse} = T_3$ et $E_x = E_3$	46
c) Intervalle de détection t_2	48
4. <i>Simulations de trajectoires</i>	50
a) Cas du précurseur	50
1) Excitation P_1	50
2) Intervalle d'encodage t_1	50
3) Excitation P_2	51
4) Intervalle de fragmentation t_m	52
5) Excitation P_3 et temps d'évolution t_2	53
6) Discussion et perspectives	53
b) Cas des fragments	64
1) Production d'un fragment	64
2) Distribution des fragments à la fin de t_m	65
3) Influence de P_3 sur la distribution des fragments et précession au cours de t_2	66
4) Discussion et perspectives	67
5. <i>Conclusions</i>	89
Conclusions générales et perspectives	90
Table des Figures	93
Références	97
Annexes	111

Introduction

Qu'il s'agisse de dissections pour l'anatomie ou la cartographie des astres, l'observation a toujours été à la base de tout raisonnement scientifique. Plus l'Humanité repousse les limites de sa Science, plus il est nécessaire de voir plus loin, ou plus proche, et de mettre en évidence des phénomènes de l'ordre du détail. Les avancées technologiques nous ont permis d'observer les planètes de notre système solaire, puis des exoplanètes, grâce à des télescopes et de la même façon, des tissus musculaires, puis des cellules, grâce à des microscopes. L'apparition de la Chimie et la mise en évidence des atomes et des molécules, ont lancé un défi à l'Humanité. La Chimie a créé le besoin de développer des moyens pour caractériser l'infiniment petit, là où l'observation directe ne suffit plus.

1. La spectrométrie de masse

La première expérience de spectrométrie de masse (MS) a été réalisée en 1912 par le physicien britannique J. J. Thomson¹⁻² et consistait en l'observation des isotopes du néon (^{20}Ne , ^{22}Ne). Cette expérience consistait en la mesure de la déflexion d'un flux d'ions positifs du néon à travers des champs magnétiques et électriques sur une plaque photographique. La spectrométrie de masse consiste en la caractérisation d'un échantillon par la séparation et l'identification de ses différents constituants selon leur rapport masse sur charge (m/z). Depuis 1912, les nombreux développements ont fait de cette technique une analyse incontournable dans l'élucidation de structures de petites molécules³⁻⁴, ainsi que la pierre angulaire des domaines émergents dits des « omics », comme la protéomique⁵⁻⁸, la métabolomique⁹⁻¹⁰ ou la pétroléomique¹¹⁻¹². Chaque spectromètre de masse peut être divisé en 3 parties distinctes : la source, le ou les analyseurs et le détecteur (Figure 1).

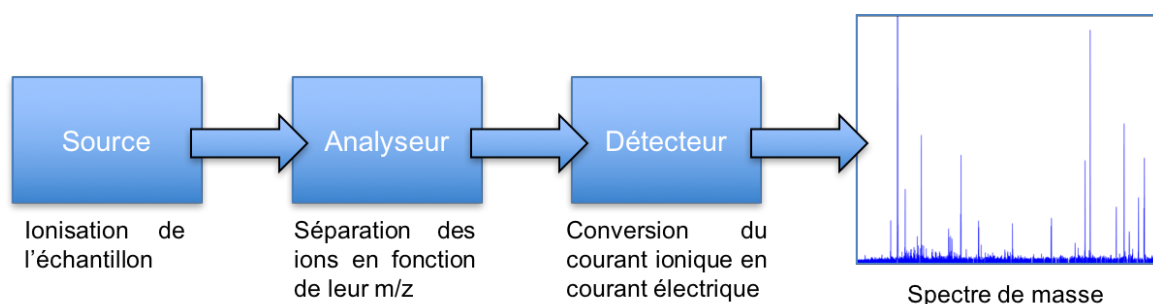


Figure 1 : Représentation schématique du fonctionnement d'un spectromètre de masse.

a) Les sources

La fonction de la source est d'ioniser les molécules de l'échantillon. Le choix de la source à utiliser va dépendre de la nature de l'échantillon à analyser ainsi que des résultats attendus. La première source développée est l'ionisation électronique (EI) par A. J. Dempster¹³ en 1918, qui consiste en l'ionisation de l'échantillon en phase gazeuse par des électrons sous haute énergie (70 eV). Originellement, cette source était nommée impact électronique. Cependant, ce n'est pas le contact avec l'électron qui crée l'ionisation, mais l'onde générée par le déplacement des électrons¹⁴. Cette source ne permet l'ionisation que de composés volatiles thermostables. L'énergie des électrons utilisée ne permet que rarement l'observation de l'ion moléculaire et génère la production de nombreux fragments dans la source. Généralement, cette source est couplée à la chromatographie en phase gazeuse¹⁵⁻¹⁷ (GC) dans le but de séparer avant l'ionisation les constituants du mélange selon leur point de fusion et leur affinité pour la phase stationnaire de la colonne. Cette source génère également une ionisation très reproductible ce qui permet la comparaison des spectres expérimentaux avec des banques de données de spectres¹⁸⁻¹⁹ connus. A moins de diminuer l'énergie des électrons, il est possible de ne pas avoir l'information sur la masse moléculaire des constituants de l'échantillon. Une technique possible pour pallier ce trop-plein énergétique consiste à ioniser préalablement un gaz neutre (méthane ou ammoniac par exemple) par ionisation électronique, puis d'ioniser les molécules de l'échantillon avec ces nouveaux ions par échange de charge. Il s'agit de l'ionisation chimique (CI) introduite pour la première fois en 1966 par M. S. B. Munson et F. H. Field²⁰. Dans cette méthode, l'échantillon n'est pas en contact avec le faisceau d'électrons, elle est alors appelée source « douce » puisqu'elle permet l'obtention d'ions moléculaires. Cependant, ces deux sources ne fonctionnent qu'en phase gazeuse. L'analyse par spectrométrie de masse était donc limitée à des composés volatils ou ayant subi une étape de dérivation préalable²¹.

Le développement de la source *Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation*²² (MALDI) intervenu en 1984 a permis d'étendre les analyses par spectrométrie de masse aux échantillons non volatils²³⁻²⁴. K. Tanaka et ses collaborateurs ont partagé le prix Nobel de Chimie en 2002 pour leurs travaux sur l'ionisation de protéines par source MALDI. Dans ce cas, l'échantillon est d'abord mélangé à une matrice sur une plaque dédiée. Le rôle de la matrice, composée principalement de cycles

aromatiques, est d'absorber l'énergie du faisceau laser dans le but de protéger l'échantillon de l'irradiation. Après séchage, la plaque est introduite dans la source et le spot ainsi formé est irradié par le laser. Cette irradiation entraîne la désorption de complexes matrice-échantillon puis l'ionisation des molécules d'intérêt. Le processus d'ionisation reste encore à élucider. Plusieurs modèles d'ionisation tel *Lucky survivor*²⁵⁻²⁶, *Cluster Ionization*²⁷ ou encore plus récemment *Thermal proton transfert*²⁸ ont été proposés. Cette ionisation préserve l'intégrité des molécules de l'échantillon. Cependant, parce qu'elle est réalisée sur phase solide, il n'est pas possible de coupler cette méthode avec des techniques de chromatographie en ligne. Elle permet en revanche d'ioniser des molécules de poids moléculaire élevé comme des protéines, ce qui fait du MALDI une source de choix pour résoudre des problématiques biologiques²⁹⁻³⁰.

La dernière méthode que nous évoquerons ici est l'ionisation par électronébuliseur (ESI) créée par J. B. Fenn³¹ en 1984, prix Nobel de Chimie en 2002 pour ces travaux. L'échantillon alors en phase liquide est mélangé à un solvant acide et injecté dans un capillaire métallique. Sous l'effet d'une différence de potentiel entre le capillaire et une contre électrode, un cône de Taylor se forme, produisant ainsi un nébulisât. La source étant chauffée en présence d'un gaz de nébulisation (N₂), le solvant s'évapore, diminuant la taille des gouttelettes et augmentant la concentration en analyte. Ces gouttelettes se rompent en cascade jusqu'à obtenir les ions en phase gazeuse. Comme pour la source MALDI, les processus d'ionisation font débat. Deux modèles sont proposés : soit les ions sont produits dans les gouttelettes³² ; soit dans le cône de Taylor³³. Les avantages de cette méthode sont une ionisation « douce » ne présentant pas de fragments en source, une production d'ions multichargés réduisant la gamme de m/z , et un couplage possible avec des techniques de chromatographie en phase liquide³⁴⁻³⁵ (LC). Une fois les ions produits, ils sont aspirés par différentiel de pression dans l'analyseur.

b) Les analyseurs

L'analyseur est le dispositif permettant de séparer les ions selon leur rapport masse sur charge. Le choix de l'analyseur utilisé détermine la précision et la résolution de l'analyse.

Le premier analyseur est l'analyseur à secteur magnétique développé par A. J. Dempster³⁶ en 1916. Avant que l'ion n'entre dans l'analyseur, il est d'abord

accélération jusqu'à entrer dans le champ magnétique. Une particule chargée dans un champ magnétique est soumise à une force de Lorentz, ce qui a pour effet de modifier la trajectoire linéaire de l'ion en une trajectoire circulaire perpendiculaire au champ magnétique. Dans un analyseur à secteur magnétique, l'ion n'a pas le temps de réaliser une rotation complète, il en résulte une déviation d'un rayon de courbure dépendant du champ magnétique, de la vitesse initiale de l'ion et de son m/z tel que :

$$r_{ion} = \frac{mv}{qB}$$

Ainsi, lors d'une accélération uniforme des ions et l'utilisation d'un champ magnétique fixe, plus l'ion a un m/z petit, plus il est dévié. Dans ce cas, certains ions sont envoyés sur une plaque de détection, et d'autres, qui auraient été soit trop déviés, soit pas assez, ne sont pas détectés. En connaissant l'énergie apportée pour l'accélération, le champ magnétique et la géométrie de l'analyseur, on peut en déduire le m/z de l'ion détecté. Pour détecter tous les ions de l'échantillon, la stratégie consiste en un balayage de vitesse initiale en faisant varier la tension d'accélération. Cependant, la micro-hétérogénéité d'énergie cinétique et de direction des ions de même m/z entrant dans l'analyseur crée une dispersion sur la plaque de détection, ce qui génère une perte de résolution du signal. À partir des années 1930, le développement de l'analyseur à secteur magnétique à double focalisation³⁷ permet de corriger ce problème et d'augmenter la résolution des spectres.

En 1946, W. E. Stephens³⁸ développe l'analyseur à temps de vol ou *Time of Flight* (TOF). Le principe consiste à accumuler les ions provenant de la source, puis de les accélérer en paquet sur une courte distance. La mesure s'effectue sur la durée qu'il leur est nécessaire pour parcourir la distance depuis l'entrée de l'analyseur jusqu'au détecteur. La quantité d'énergie initiale reçue est théoriquement la même pour tous les ions, leur vitesse va donc dépendre de leur m/z . Plus l'ion est de m/z faible, plus sa vitesse est élevée. En mesurant le temps de vol des ions, on en déduit leur vitesse et donc leur m/z . Cependant, la différence de position des ions au moment de l'accélération entraîne une dispersion du temps de vol des ions de même m/z ce qui génère une perte de résolution. De plus, la résolution de l'analyse est conditionnée par le temps de vol des ions donc limitée par la taille de l'analyseur. Deux techniques ont été développées pour pallier ces contraintes. La première est la technique d'extraction retardée³⁹, consistant à utiliser une deuxième impulsion après la première excitation, afin de permettre aux ions « en retard » de rattraper les ions « en avance », ce qui a pour effet d'améliorer la résolution des spectres. La

deuxième technique est l'utilisation du réflectron⁴⁰, un appareil constitué de lentilles électrostatiques sous gradient de tension, qui permet de refocaliser les ions de même m/z et donc d'augmenter la résolution.

En 1953 est introduit l'analyseur quadripolaire⁴¹. Cet analyseur est composé de quatre électrodes parallèles. Un champ électrostatique quadripolaire est créé au centre des quatre électrodes par application d'une tension continue U et d'une tension alternative V . Une différence de potentiel entre l'entrée et la sortie du quadripôle permet la traversée des ions. Leur stabilité au sein de l'analyseur décrite par la solution de l'équation de Mathieu⁴² dépend des tensions U et V appliquées. Ainsi le quadripôle peut être utilisé comme simple guide d'ions ou bien comme filtre de m/z en fonction des tensions U et V appliquées.

Le dernier analyseur évoqué ici est l'Orbitrap⁴³. Son principe a été initialement introduit par K. Kindon⁴⁴ en 1923 puis repris par A. A. Makarov⁴⁵⁻⁴⁶ à la fin du XX^{ème} siècle avant d'être commercialisé en 2005⁴⁷. L'Orbitrap est composé d'une électrode externe concave et d'une électrode centrale convexe en forme de fuseau. Un champ électrostatique est généré entre les deux électrodes et les ions injectés dans l'analyseur vont décrire des trajectoires en spirale dont la fréquence axiale est inversement proportionnelle à leur m/z . La détection du signal périodique permet d'obtenir un signal en fréquence par application de la transformée de Fourier et donc le m/z des ions présents dans l'analyseur. Ce type d'appareil est simple d'utilisation et permet d'obtenir une haute résolution et une grande précision en masse, ce qui explique sa large utilisation en routine pour des approches en protéomique⁴⁸⁻⁵⁰, lipidomique⁵¹⁻⁵³ ou encore métabolomique⁵⁴⁻⁵⁶.

c) Stratégies d'obtention d'informations structurales

Lors d'une analyse par spectrométrie de masse et dans le cas d'une source d'ionisation dite « douce » (CI, MALDI et ESI par exemple), l'information récoltée ne concerne généralement que les ions moléculaires. On peut ainsi déterminer à partir de ce spectre MS toutes les masses moléculaires des constituants de l'échantillon. Cependant, l'information concernant la structure de ces molécules est manquante. Il est alors nécessaire d'utiliser des techniques de fragmentation afin d'enregistrer des spectres par spectrométrie de masse en tandem⁵⁷ (MS/MS). La priorité est d'isoler chaque type de constituant pour obtenir des spectres MS/MS à partir d'un seul type de précurseur. De façon générale, la stratégie est d'implémenter au spectromètre de masse un quadripôle en amont de l'analyseur qui permettra la caractérisation de

l'échantillon. En fonction des tensions U et V appliquées, le quadripôle peut soit transférer tous les ions (obtention d'un spectre MS), soit être utilisé en tant que filtre afin de réaliser un balayage en m/z . Plusieurs types de fragmentation existent, tel que la *Collision Induced Dissociation* (CID), l'*Electron Capture Dissociation* (ECD) ou encore l'*Infra-Red Multi-Photon Dissociation* (IRMPD).

Dans le cas de la CID⁵⁸⁻⁵⁹, un quadripôle rempli d'un gaz neutre est présent entre le premier quadripôle servant de filtre et l'analyseur réalisant la caractérisation. Les ions d'un m/z donné vont être accélérés par impulsion électrique à haute énergie cinétique dans la cellule de collision et ainsi heurter les molécules de gaz neutre. Lors de la collision, l'énergie cinétique de l'ion est transformée en énergie interne entraînant la rupture d'une liaison. Ce type de fragmentation est « agressif » et ne peut être utilisé pour des analyses ciblées de composés labiles, comme certaines modifications post-traductionnelles par exemple⁶⁰⁻⁶¹.

L'ECD⁶²⁻⁶⁴ consiste à bombarder des ions multichargés d'électrons à très basse énergie. Ceci résulte en la capture de l'électron par la formation d'un ion radicalaire qui va se dissocier et former un fragment chargé et un radical. Ce type de fragmentation est « doux » et permet de conserver les modifications post-traductionnelles labiles des protéines⁶⁵⁻⁶⁶.

Enfin, lors d'une fragmentation de type IRMPD⁶⁷, les ions sont soumis à une irradiation à l'aide d'un laser infra-rouge. L'ion absorbe de multiples photons, est excité dans des états vibratoires d'énergie croissante jusqu'à la rupture d'une liaison et production d'un fragment. Ces deux dernières méthodes de fragmentation sont généralement utilisées dans l'analyseur FT-ICR⁶⁸.

2. L'analyseur FT-ICR

Le concept de la spectrométrie de masse à résonance cyclotronique ionique (*Fourier-Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry* ou FT-ICR MS), a été inventé en 1974 par M. B. Comisarow et A. G. Marshall⁶⁹. Il repose sur les travaux de E. O. Lawrence et M. S. Livingston⁷⁰ de 1932. Ces travaux démontrent qu'une particule chargée soumise à un champ magnétique \vec{B} perpendiculaire à son mouvement est contrainte à un mouvement circulaire dont la fréquence angulaire est indépendante du rayon de l'orbite de la particule. Cette fréquence est exprimée par l'équation cyclotronique suivante :

$$\omega = \frac{qB}{m}$$

Où ω est la fréquence angulaire, q la charge de la particule, B l'intensité du champ magnétique et m la masse de la particule. La fréquence angulaire de l'ion est inversement proportionnelle à son m/z . Il est donc possible de séparer des ions de m/z différents en les faisant tourner dans une cellule et de détecter un signal périodique permettant l'obtention du signal en fréquence par application de la transformée de Fourier et donc leurs m/z . Ces travaux montrent également que le mouvement cyclotronique d'une particule peut être excité à des rayons d'orbite supérieurs par application d'une impulsion radiofréquence (RF) à la fréquence cyclotronique de la particule. Cela signifie qu'il est possible d'exciter une particule chargée à des énergies cinétiques très grandes en utilisant simplement un champ magnétique, ce qui a valu à E. O. Lawrence le prix Nobel de Physique en 1939. Les analyseurs FT-ICR sont donc composés d'un aimant supraconducteur⁷¹ au milieu duquel se situe une cellule dans laquelle les ions vont pouvoir être excités, séparés et détectés.

a) La cellule ICR ou piège de Penning

Après leur production dans la source, les ions sont transférés par des dispositifs électrostatiques (TOF ou multipôles) jusqu'à l'analyseur FT-ICR qui est une cellule cylindrique sous vide au sein d'un aimant supraconducteur. Elle est composée de 6 plaques symétriques deux à deux : deux plaques de piégeage perpendiculaires au champ magnétique, deux plaques d'excitation et deux plaques de détection. Le champ électrique quadripolaire généré par les plaques de piégeage combiné au champ magnétique de l'aimant supraconducteur génère un puits de potentiel qui maintient les ions injectés au centre de la cellule et limite leur mouvement selon l'axe z ⁷²⁻⁷³ en accord avec le principe du piège de Penning⁷⁴. La fréquence de piégeage d'un ion peut être définie par l'équation :

$$v_T = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{2qV_T\alpha}{md^2}}$$

Avec d la distance entre les plaques, V_T la tension de piégeage appliquée et α un facteur géométrique. Idéalement, le champ électrique doit être homogène et parallèle au champ magnétique. Le piège de Penning n'étant pas parfait, la composante radiale du champ électrique génère un troisième mouvement, le magnétron⁷⁵. Ce mouvement perturbe la fréquence cyclotronique des ions et donc induit une dispersion de fréquence. La fréquence cyclotronique réduite peut être exprimée selon l'équation :

$$v_{cr} = \frac{v_c}{2} + \sqrt{\left(\frac{v_c}{2}\right)^2 - \frac{v_T^2}{2}}$$

Et la fréquence magnétron :

$$v_m = \frac{v_c}{2} - \sqrt{\left(\frac{v_c}{2}\right)^2 - \frac{v_T^2}{2}}$$

Avec v_c la fréquence cyclotronique de l'ion. Cette fréquence étant inversement proportionnelle au m/z , plus l'ion a un m/z faible, plus l'influence du magnétron est négligeable. Afin de limiter l'impact de la fréquence de piégeage sur la génération de mouvement magnétron et donc sur la fréquence cyclotronique, de faibles potentiels de piégeage sont utilisés. Après piégeage des ions, ceux-ci sont localisés au centre de la cellule. Ils ont donc une orbite très faible et ayant été introduits dans la cellule à des moments et à des énergies cinétiques différents, le mouvement d'une population d'ions (de même m/z) est à un stade incohérent. Les plaques d'excitation génèrent une impulsion RF permettant de propulser les ions sur une orbite de rayon plus élevé. Les ions ne sont excités qu'à une fréquence correspondant à leur fréquence cyclotronique, c'est à dire que chaque population d'ions est excitée séparément et en paquet, ce qui homogénéise la phase de chaque population d'ion. Chaque paquet décrit alors une trajectoire circulaire perpendiculaire au champ magnétique, le mouvement cyclotronique, d'une fréquence angulaire inversement proportionnelle à leur rapport m/z . En d'autres termes, les ions de faibles m/z tournent plus rapidement que les ions de m/z élevés. Les plaques de détection enregistrent le courant induit par le mouvement cohérent des paquets d'ions, permettant l'obtention d'un signal sinusoïdal décroissant, la *Free Induction Decay*⁷⁶ (FID). Ce signal périodique est transformé en signal de fréquences par application de la transformée de Fourier, puis converti en spectre de masse. L'analyseur FT-ICR permet l'enregistrement de spectres de masse de très haute résolution (de 100000 à 10 Millions, soit à m/z 1000, FWHM = $10^{-4} m/z$), et une précision en masse théorique de $10^{-5} m/z$ soit 10 ppb. En utilisant un quadripôle en amont de l'analyseur FT-ICR, il est possible de balayer les rapports m/z afin de fragmenter les populations d'ions une par une au centre de la cellule par IRMPD ou ECD. Cependant, la capacité à isoler séparément deux types d'ions de m/z très proches est limitée par la résolution du quadripôle. Dans le cas d'échantillons très complexes, il est possible d'enregistrer des spectres MS de haute résolution et de déterminer la formule chimique des précurseurs, mais impossible d'obtenir les informations structurales des constituants de l'échantillon

analysé. Parce qu'il est possible de manipuler les ions avec des impulsions RF⁷⁷⁻⁷⁸, des méthodes ont été développées afin d'isoler les ions directement dans la cellule.

b) Excitation et isolation d'ions

L'impulsion monochromatique⁶⁹ consiste à appliquer un champ électrique sinusoïdal dipolaire homogène dans la cellule ICR. Ce champ oscille à la fréquence cyclotronique d'une population d'ions donnée. Les populations d'ions qui ne sont pas en résonance avec le champ électrique ne seront donc pas excitées. En FT-ICR, cette méthode d'excitation est peu utile car elle ne permet pas de couvrir toute la gamme de fréquence (du kHz au Mhz) des ions piégés dans la cellule. Généralement l'excitation est réalisée par une impulsion à balayage de fréquence dite *chirp*^{69, 79}, ou *train d'impulsions*. La technique dite de *COrelated Sweep Excitation*⁸⁰ (COSE) connue à présent sous le nom de *Correlated Harmonic Excitation field*⁸¹ (CHEF) utilise ce type d'impulsion à balayage à haute amplitude afin d'exciter les ions jusqu'à ce qu'ils heurtent les parois de la cellule alors que la fréquence cyclotronique de la population d'ions à conserver au centre de la cellule est évitée. Cependant, en raison de la largeur $\Delta\nu$ excitée par une impulsion de fréquence ν , la population d'ions à isoler peut être également excitée voire éjectée si leur rapport m/z est proche des ions à éjecter (excitation hors-résonance⁸²). Dans le cas où les ions sont simplement excités, ils ne sont plus localisés au centre de la cellule. Cette configuration ne permet pas la fragmentation par IRMPD ou ECD⁸³, le faisceau laser ou d'électron étant localisé au centre de la cellule suivant l'axe z . La méthode CHEF est utilisée dans le but de ne pas modifier la position des ions d'intérêt à la fin de l'excitation par l'excitation hors résonance, mais nécessite des temps d'excitation longs pour atteindre cet objectif. Proposée en 1985, la méthode *Stored Waveform Inverse Fourier Transform*⁸⁴⁻⁸⁵ (SWIFT) permet l'excitation homogène des ions de même m/z ainsi qu'une isolation de populations d'ions plus précise⁸⁶. L'onde radiofréquence à appliquer lors de l'excitation est déterminée à partir du domaine de fréquence à exciter par application d'une transformée de Fourier inverse. Pour isoler une population d'ions, l'amplitude de l'excitation est maximale sur toute la gamme de fréquence des ions à éjecter et nulle pour la fréquence de la population d'ions à isoler. Cependant, la même contrainte de l'excitation par la méthode CHEF s'applique à la méthode SWIFT, à savoir la durée de l'impulsion qui conditionne la précision de l'isolation. Une autre méthode ayant été développée est la *Notch Ejection* proposée par A. J. Noest et C. Kort⁸⁷ en 1983. Dans ce cas, l'impulsion est

réalisée par balayage de fréquences. Lorsque le *train d'impulsions* atteint à la fréquence de l'ion d'intérêt, la phase de l'impulsion est inversée, créant ainsi un « trou » dans le spectre de l'excitation, ce qui permet l'isolation d'une population d'ions⁸⁸ pouvant être par la suite fragmentée pour réaliser le spectre MS/MS.

c) Limites dans le cas d'échantillons complexes

La spectrométrie de masse permet d'obtenir à la fois l'information relative aux formules chimiques des précurseurs (MS) mais aussi d'élucider leur structure (MS/MS). Alors qu'un seul spectre MS (sans compter les accumulations nécessaires pour augmenter le rapport signal sur bruit noté S/N) est suffisant pour déterminer les formules chimiques des précurseurs, il est nécessaire de réaliser des spectres MS/MS pour chaque constituant de l'échantillon. C'est-à-dire que le temps d'une analyse complète d'un échantillon par spectrométrie de masse est dépendant de la complexité de l'échantillon analysé, quel que soit la technique d'isolation utilisée. De plus, la précision de l'isolation est souvent insuffisante pour obtenir des spectres de fragments provenant d'un seul précurseur, conduisant donc à une inaptitude de la technique à obtenir les informations structurales de précurseurs issus d'échantillons très complexes. Par exemple, en pétrologie, les informations du spectre MS sont utilisées afin de réaliser des diagrammes de Kendrick⁸⁹⁻⁹¹ qui évaluent la « lourdeur » du pétrole analysé, mais il n'est en aucun cas possible de déterminer la structure de ses composants. Il est alors crucial de développer des analyses de spectrométrie de masse indépendantes de la complexité de l'échantillon en vue de répondre à des problématiques de plus en plus complexes. La piste suivie il y a 40 ans pour résoudre cette difficulté est celle de la spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire bidimensionnelle (RMN 2D).

3. La spectroscopie RMN 2D

La résonance magnétique nucléaire est un phénomène associé aux noyaux de spin non nul (noyaux magnétiques) plongés dans un champ magnétique constant consistant en l'absorption puis l'émission de l'énergie d'une impulsion radiofréquence. Ce phénomène a été découvert en 1938 par I. I. Rabi *et al.*⁹²⁻⁹⁴ et a été étendu aux solides et liquides par F. Bloch en 1946⁹⁵. Dans la nature, la somme des moments dipolaires associés aux noyaux est nulle. Dans le cas d'un noyau de spin $\frac{1}{2}$, une levée de dégénérescence (effet Zeeman) des deux niveaux d'énergie est créée lorsque l'on applique un champ magnétique statique externe B_0 . La

différence de population entre ces deux niveaux d'énergie up (spins parallèles au champ) et down (spins antiparallèles) à l'équilibre est gouvernée par la loi de Boltzmann telle que :

$$\frac{n_{up}}{n_{down}} = e^{-\Delta E/kT} = e^{-\frac{h\gamma B_0}{2\pi kT}}$$

Avec n_{up} et n_{down} les populations des niveaux, ΔE la différence d'énergie entre les deux niveaux, k la constante de Boltzmann, T la température, h la constante de Planck et γ le rapport gyromagnétique du noyau. Lors d'une impulsion radiofréquence à la fréquence de précession du noyau étudié (fréquence de Larmor), les spins absorbent puis restituent l'énergie afin de retourner à l'équilibre. Le temps de retour à l'équilibre dépend de la nature du noyau et de son environnement. L'environnement va également générer une modification locale du champ magnétique créant un décalage de la fréquence de précession du noyau (déplacement chimique). C'est ce phénomène qui est exploité par la spectroscopie RMN. Ce type de spectroscopie consiste à mesurer le retour à l'équilibre de l'aimantation (équivalant à la somme de toutes les contributions magnétiques du système). L'intensité du signal détecté est directement proportionnelle à la différence de population entre les deux états de spin. Ce signal est généré sous la forme d'une FID à partir de laquelle les fréquences des noyaux sont obtenues par application de la transformée de Fourier. Les noyaux les plus étudiés sont ceux de l'hydrogène (on parle communément de RMN du proton ou RMN ^1H), du carbone (RMN ^{13}C), de l'azote (RMN ^{15}N) et du phosphore (RMN ^{31}P). Tandis que la RMN 1D ne donne l'information que des déplacements chimiques des noyaux du système étudié, la RMN 2D⁹⁶⁻⁹⁷ permet d'établir des corrélations entre les noyaux. De nombreuses séquences d'impulsions ont été développées, tel que la *COrrrelation Spectroscopy*⁹⁸⁻⁹⁹ (COSY) qui permet d'observer les couplages nJ entre protons (protons séparés par n liaisons chimiques) ; l'*Heteronuclear Single Quantum Coherence spectroscopy*¹⁰⁰ (HSQC) qui permet de corréler les déplacements chimiques en utilisant les couplages 1J hétéronucléaires (^1H - ^{13}C ou ^1H - ^{15}N par exemple) ; ou encore l'*Heteronuclear Multiple Bond Connectivity*¹⁰¹ (HMBC) qui permet d'exploiter des couplages hétéronucléaires plus faibles.

Ici, nous nous focaliserons plus précisément sur une expérience RMN 2D appelée *EXchange Spectroscopy*¹⁰² (EXSY), qui est utilisée pour obtenir des informations sur la dynamique des processus d'isomérisation et d'échange chimique à l'équilibre. Cette méthode consiste à appliquer une séquence de trois impulsions

RF telle que : $P_1 - t_1 - P_2 - t_m - P_3 - t_2$ (avec un angle d'impulsion = $\pi/2$). La première impulsion P_1 transforme l'aimantation longitudinale (selon l'axe z) en une aimantation transversale (dans le plan xy). Après un temps d'évolution t_1 sous le déplacement chimique, la deuxième impulsion P_2 convertit cette aimantation transversale en aimantation longitudinale dépendante de l'angle de précession accumulé au cours de t_1 . Durant l'intervalle de mélange t_m , une partie de cette aimantation s'échange vers un autre état. Après la dernière impulsion P_3 , l'aimantation est à nouveau transversale et sa précession est détectée au cours de t_2 . Ce procédé est répété en incrémentant systématiquement t_1 entre chaque séquence d'impulsions. On obtient ainsi une matrice (t_1, t_2) à partir de laquelle le spectre 2D (ω_1, ω_2) est obtenu par une double transformée de Fourier. Ce spectre présente une diagonale d'autocorrélation $(\omega_1 = \omega_2)$ s'il n'y a pas d'échange chimique, tandis que tous les pics en dehors de cette diagonale témoignent d'un processus d'échange chimique. C'est ce procédé qui a permis l'émergence de la spectrométrie de masse FT-ICR bidimensionnelle (FT-ICR MS 2D).

4. La spectrométrie de masse FT-ICR bidimensionnelle

a) Concept original de 1987

La FT-ICR MS 2D fut développée en 1987 à l'occasion d'une collaboration entre l'équipe de spectroscopie RMN dirigée par G. Bodenhausen et l'équipe de spectrométrie de masse dirigée par T. Gäumann¹⁰³. Cette méthode est basée sur la RMN 2D EXSY. En l'extrapolant à la spectrométrie de masse, l'idée est donc d'appliquer deux impulsions RF identiques séparées d'un intervalle d'encodage t_1 avant de réaliser l'impulsion de détection (Figure 2).

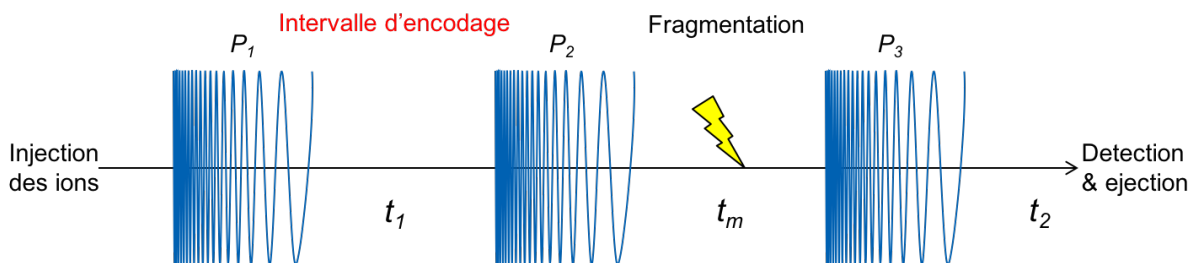


Figure 2 : Séquence d'impulsions FT-ICR 2D MS originale avec $P_1 = P_2 = P_3$.

Après la première excitation P_1 , les ions tournent en paquets dans la cellule et accumulent une phase propre à chaque paquet qui dépend de leur fréquence

angulaire ω et de la durée de rotation t_1 . Lors de l'impulsion P_2 , les paquets, en fonction de la phase accumulée lors de t_1 , vont être soit excités à une orbite plus élevée, soit désexcités et revenir proche du centre de la cellule⁸⁸. Les ions alors suffisamment proches du centre de la cellule pour être dans le faisceau de l'IRMPD ou de l'ECD sont fragmentés lors de t_m . Après l'impulsion P_3 , tous les ions sont à nouveau excités en paquets sur des orbites plus élevées, et être détectés. A cette étape, tous les ions, qu'ils soient des fragments produits ou des précurseurs non irradiés par le laser, contribuent à la FID. La cellule est ensuite vidée puis remplie à nouveau d'ions. Ce processus est répété n fois en augmentant t_1 à chaque séquence d'impulsions, faisant ainsi varier les paquets d'ions désexcités et fragmentés, donc la FID enregistrée. On génère ainsi une matrice bidimensionnelle contenant les FID pour chaque t_1 réalisé. La transformée de Fourier est appliquée selon t_2 à chaque FID afin d'obtenir le signal en fréquence pour chaque t_1 , puis selon t_1 pour chaque point de t_2 . Le spectre 2D résultant est présenté sous forme d'un graphique d'intensités dépendant des fréquences ω_1 , qui représente l'évolution dans la dimension indirecte (F1), le long de l'axe vertical ; et ω_2 , qui représente l'évolution dans la dimension directe (F2), le long de l'axe horizontal. Les précurseurs sont observés sur une diagonale d'autocorrélation ($\omega_1 = \omega_2$) et leurs fragments sur une horizontale de même niveau ($\omega_{1\text{précurseur}} = \omega_{1\text{fragment}}$). La corrélation entre fragments et précurseurs s'explique par la diminution du signal du précurseur fragmenté alors que le signal de ses fragments augmente. La fréquence d'apparition des fragments est donc la même que la fréquence de l'ion précurseur associé. Cette méthode permet d'obtenir les informations de la MS et celles de la MS/MS en une seule expérience, sans isolation préalable, où le temps d'analyse est indépendant de la complexité de l'échantillon.

b) Les différentes stratégies développées jusqu'en 2002

Les premières expériences de FT-ICR MS 2D réalisées par P. Pfändler *et al.*¹⁰³ utilisaient des méthodes d'impulsions à une ou deux fréquences dans le but d'observer des transferts de protons entre ion et molécule avec la Bromopyridine comme échantillon. Cependant, l'utilisation d'impulsions monochromatiques limite l'excitation des ions à des largeurs de gammes de fréquence faibles, rendant impossible la couverture de toute la gamme spectrale. Pour pallier ces difficultés, les expériences suivantes ont été réalisées en utilisant des impulsions RF à balayage de fréquence¹⁰⁴. Celles-ci mettent en évidence le transfert de la modulation suivant t_1

des ions précurseurs du méthane (CH_3^+ , CH_4^+ , CH_5^+) et du méthane deutéré (CHD_2^+ , CD_3^+ , CHD_3^+) à leurs produits de réactions ion-molécule en phase gazeuse CID lors de t_m . Cependant, l'utilisation de techniques de fragmentation par gaz entraînent une perte de cohérence des paquets d'ions due aux collisions, et donc une perte de résolution sur le signal. L'équipe de T. Gaumann a donc utilisé ensuite l'IRMPD comme mode de fragmentation pour générer un spectre de masse 2D d'ions $\text{CF}_3\text{I}^{105}$.

La réalisation de spectres de masse bidimensionnels avec une séquence type EXSY n'est pas la seule technique à avoir été développée. Une méthode alternative par transformée d'Hadamard (HT) a été proposée par F. W. McLafferty *et al.*¹⁰⁶⁻¹⁰⁷. Elle consiste en la sélection de la moitié des précurseurs de l'échantillon et de leur fragmentation simultanée. Cette opération est répétée n fois, où n est le nombre de précurseurs présents, en sélectionnant une moitié différente à chaque étape. Cette méthode dépend néanmoins de la complexité de l'échantillon, le nombre de répétitions n étant dépendant du nombre de précurseurs. Une autre méthode nommée *Stored Waveform Ion radius Modulation* (SWIM) a également été mise en avant par C. W. Ross *et al.*¹⁰⁸ pour réaliser des spectres de masse bidimensionnels. Il s'agit de réunir P_1 et P_2 en une seule et même impulsion et de faire varier son amplitude de manière sinusoïdale en fonction de la fréquence. En 2001, G. van der Rest *et al.*¹⁰⁹ réalisent une étude qui utilise la méthode SWIM sur des échantillons contenant des acides aminés ; puis, en 2002, C. W. Ross *et al.*¹¹⁰ appliquent cette même méthode à l'analyse d'échantillons complexes d'intérêt pharmaceutique et automobile. A notre connaissance, plus aucune étude impliquant la FT-ICR MS 2D n'a été réalisée jusqu'en 2010.

c) Limitations qui ont conduit à une perte d'intérêt de la technique

La première limitation de la FT-ICR MS 2D est la faible résolution dans la dimension indirecte, qui se trouve être un problème récurrent à toutes les analyses bidimensionnelles. Une solution consisterait à augmenter le nombre de points en F1, donc à augmenter le nombre de FID enregistrées, ce qui reviendrait à augmenter le temps d'analyse, la quantité d'échantillon consommé, et surtout, la taille des données. Alors qu'un spectre RMN 2D est généralement enregistré avec 2k (F1) x 2k (F2) points soit 4 Méga points, un spectre de masse bidimensionnel possédant une résolution de type quadripôle en F1 est acquis avec 8k (F1) x 128k (F2) soit 1024

Méga points. Aux débuts de la FT-ICR MS 2D, une telle analyse ne pouvait pas être traitée par les ordinateurs alors commercialisés.

Une autre limitation est le bruit intense généré lors de l'analyse, comme le bruit de scintillation et les harmoniques, qui peut entraîner des erreurs d'interprétation. Le bruit de scintillation est proportionnel au signal. Il est généré par des fluctuations en amplitude et/ou en fréquence d'un signal et ne peut être réduit par des accumulations. Le terme « bruit de scintillation » provient de l'astronomie et est provoqué par des turbulences atmosphériques générant une observation d'étoiles scintillantes¹¹¹. Il s'agit d'un bruit connu en spectroscopie RMN comme bruit t_1 ¹¹², et qui est causé par différentes sources d'instabilités. En FT-ICR MS 2D, la cause la plus probable du bruit de scintillation semble être la fluctuation du nombre d'ions injectés dans la cellule ICR au début de chaque séquence d'impulsions. Il est caractérisé par d'intenses bandes verticales à la fréquence ω_2 des pics les plus intenses. Les harmoniques sont caractérisées par une multiplication des signaux les plus intenses à des fréquences ω_1 plus élevées. Cette multiplication de signaux génère de multiples diagonales d'autocorrélation, et dans le cas de précurseurs très intenses, un signal des fragments les plus intenses du spectre MS/MS potentiellement multiplié. S. Guan et P. R. Jones¹¹³ ont démontré que les harmoniques étaient provoquées par la modulation non sinusoïdale du rayon d'orbite des ions selon t_1 . La faible résolution en F1, la taille des données et le bruit généré lors de l'analyse sont présentés en Figure 3.

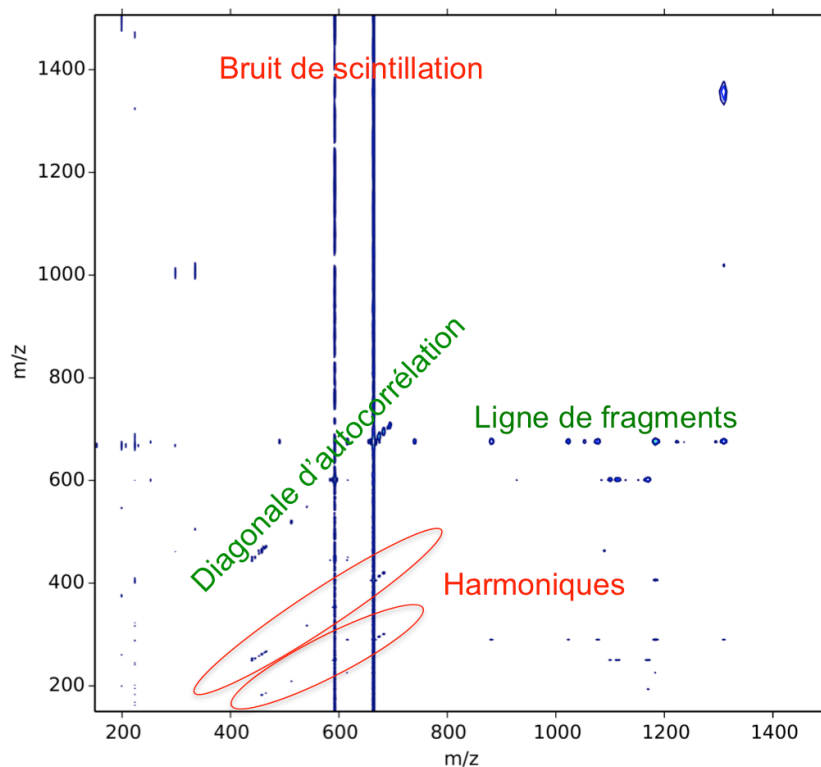


Figure 3 : Spectre FT-ICR MS 2D d'acquisition 2k (F1) x 128k (F2) de la substance P à $1 \text{ pmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ par FT-ICR Solarix 7T avec une cellule harmonisée. 45 minutes d'acquisition, résolution F1 = 150 à m/z 674,3713, taille du fichier 4 Go.

d) Renouveau de la FT-ICR MS 2D

En 2010, une équipe dirigée par C. Rolando obtient un financement dans le cadre de l'Agence Nationale pour la Recherche (ANR) sur le sujet de la FT-ICR MS 2D. L'étude qui en a résulté consiste d'abord à réaliser des analyses 2D de peptides seuls ou en mélange en utilisant l'IRMPD comme mode de fragmentation¹¹⁴ et la séquence d'impulsions originale de 1987. Malgré l'utilisation d'une méthode de fragmentation sans gaz, la résolution du précurseur (m/z 433) est de 100 en ω_1 et de 2000 en ω_2 pour un spectre enregistré avec 2048 x 32768 points en 55 minutes, avec une taille de donnée de 256 Mo. L'équipe utilise également l'ECD comme mode de fragmentation sur la substance P et un mélange de glycopeptides, et démontre sa compatibilité avec la FT-ICR MS 2D¹¹⁵. L'utilisation d'algorithmes de « débruitage » tels que l'algorithme de Cadzow¹¹⁶, adapté de la spectroscopie RMN¹¹⁷, permet d'améliorer significativement les spectres bidimensionnels en réduisant le bruit de scintillation¹¹⁸. De plus, la réduction de l'amplitude des deux premières impulsions a pour conséquence de réduire à la fois le bruit de scintillation et les harmoniques¹¹⁹. En excitant les ions à des orbites proches du faisceau laser, la modulation de l'efficacité de fragmentation devient proche d'une fonction sinusoïdale de t_1 ,

réduisant ainsi les harmoniques. Le bruit de scintillation étant également proportionnel à l'intensité du signal, l'augmentation de la fragmentation diminue de fait le nombre de précurseurs détectés, ce qui a pour effet de réduire les bandes verticales. Le manque de résolution en F1 est un véritable problème, qui peut certes être compensé en augmentant le nombre de FID enregistrées, mais donc le temps d'analyse ainsi que la consommation d'échantillon. Les techniques d'échantillonnages et de traitement de données utilisées en spectroscopie RMN pour diminuer le nombre d'accumulations peuvent être une source d'inspiration pour résoudre les problématiques inhérentes à la FT-ICR MS 2D.

e) Résumé et objectifs de la thèse

La spectrométrie de masse fournit deux types d'informations sur les échantillons analysés : la masse moléculaire des molécules présentes dans un mélange, grâce à une première expérience ; puis leurs structures, après isolation suivie de fragmentation, qui sont péniblement obtenues une à une.

La spectrométrie de masse FT-ICR bidimensionnelle permet de s'affranchir de cette isolation et d'obtenir toutes ces informations en une seule expérience, quelle que soit la complexité de l'échantillon. Néanmoins, le prix à payer est une perte de résolution, pouvant certes être nuancée par une augmentation du temps d'analyse, mais qui limite cette technique à une simple curiosité scientifique. A l'aube de ce travail, les spectres 2D acquis présentaient une résolution modérée comparable à celle obtenue avec des analyseurs quadripolaires dans la première dimension ; et une haute résolution, typique de la FT-ICR, dans la deuxième dimension. Pour atteindre une résolution analogue à celle des quadripôles utilisés en protéomique (quelques m/z) dans la première dimension, deux mille spectres environ doivent être enregistrés pour un temps d'analyse d'environ une heure. La résolution croît de façon concomitante avec le temps d'acquisition. En d'autres termes, atteindre une résolution acceptable nécessite donc des temps d'acquisition très longs.

Ce travail de doctorat a été financé par l'Agence Nationale de la Recherche dans le cadre de l'ANR « Défi de tous les savoirs (DS10) 2014 » pour le projet « ONE_SHOT_FT-ICR_MS_2D » qui réunit trois équipes :

- L'équipe du Pr. Geoffrey Bodenhausen du Laboratoire des Biomolécules (LBM, UMR7203) de l'Ecole Normale Supérieure de Paris.

- L'équipe du Dr. Christian Rolando du laboratoire Miniaturisation pour la Synthèse, l'Analyse et la Protéomique (MSAP, USR3290) de l'Université de Lille 1.
- L'équipe du Dr. Marc-André Delsuc de l'Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC UMR7104) de l'Université de Strasbourg.

Le premier objectif de cette thèse a donc été d'atteindre une haute résolution dans la dimension indirecte sans augmenter le temps d'acquisition. Notre approche a consisté en l'implémentation de l'échantillonnage non uniforme (Non-Uniform Sampling, NUS) en FT-ICR MS 2D. Cette méthode, largement utilisée en spectroscopie RMN 2D, consiste à prendre le même nombre de points que lors d'une expérience classique, mais répartis aléatoirement sur une plage t_1^{max} plus grande. Ce temps d'évolution étant négligeable comparé aux temps d'accumulation des ions, une augmentation significative de résolution sans perte de temps est observée. Il est cependant primordial d'obtenir des spectres MS/MS reproductibles et qui possèdent toutes les informations disponibles avec une analyse 1D. La précision de la quantification est un aspect fondamental qui n'avait alors pas encore été exploré. La première étape consistait donc à obtenir des spectres ayant des massifs isotopiques comparables aux massifs isotopiques théoriques pour les fragments produits à partir des isotopes les plus lourds. Dans une deuxième étape, les conditions expérimentales et de traitement optimales déterminées ont été ensuite appliquées à des composés en mélange. La stratégie détaillée ainsi que les résultats et leur discussion seront présentés dans la première partie de ce manuscrit.

Le deuxième objectif était de poursuivre le travail d'A. A. Sehgal *et al.*¹²⁰ basé sur celui de S. Guan et P. R. Jones¹¹³ qui utilise les équations de Lorentz pour décrire le comportement des ions dans la cellule ICR en fonction des impulsions RF utilisées. Dans une première partie, le but a été de mettre en évidence les équations de mouvement des ions précurseurs jusqu'à leur détection. Ensuite, avons implémenté la fragmentation à notre modèle et déterminé les équations de mouvement des fragments produits. La dernière étape a été de simuler le comportement des ions précurseurs tout au long de la séquence d'impulsions ainsi que celui du nuage de fragments produits lors de t_m après l'excitation P_3 . La stratégie détaillée ainsi que les résultats et leur discussion seront présentés dans la deuxième et dernière partie de ce travail.

Partie 1 : Application de l'échantillonnage aléatoire (NUS) à la FT-ICR MS 2D, ou comment augmenter la résolution à moindre coût

1. Introduction

La spectrométrie de masse FT-ICR 2D permet d'obtenir les spectres MS et MS/MS en une seule analyse, sans séparation ou isolation préalables. Cette technique ne dépend pas de la complexité de l'échantillon, c'est-à-dire que le temps d'analyse sera le même quel que soit l'objet d'étude. Cependant, le nombre de points échantillonnés dans la dimension indirecte (F1) conditionne la résolution des précurseurs, ce qui constitue actuellement une limite critique de la technique. Une acquisition uniforme FT-ICR MS 2D de 2k (F1) x 128k (F2) points correspond à un temps instrumental aux alentours de 45 min, ce qui permet d'obtenir des spectres 2D ayant une résolution des précurseurs extrêmement limitée comme celle utilisée en protéomique (environ 150 à $m/z = 700$). Pour atteindre une résolution comparable aux quadripôles, c'est-à-dire séparant pour les ions monochargés leurs isotopes, il est alors nécessaire d'effectuer l'analyse sur plus de 12h, ce qui consomme à la fois du temps machine, mais aussi une grande quantité d'échantillon. Sans une bonne résolution de précurseurs, pouvoir analyser sans séparation ni isolation préalables des échantillons complexes comme du pétrole ou des matrices biologiques perd de son intérêt. Il est donc crucial de pouvoir augmenter cette résolution sans augmenter le temps d'analyse afin de rendre la spectrométrie de masse FT-ICR bidimensionnelle viable.

a) Augmenter la résolution avec un échantillonnage uniforme : méthodes linéaires

Accroître la résolution sans augmenter le temps d'analyse est une contrainte classique. La prédiction linéaire¹²¹⁻¹²², d'abord utilisée en RMN 1D¹²³ avant d'être appliquée à la RMN 2D¹²⁴⁻¹²⁵ est une stratégie efficace en termes de gain de temps d'analyse. L'échantillonnage est réalisé de manière uniforme, mais en enregistrant moins de points dans la dimension qui est la plus onéreuse en temps. On obtient ainsi une FID tronquée, et l'information contenue dans cette FID (fréquences, phases, amplitudes) est utilisée pour reconstruire la partie manquante de cette dernière. Cette portion de FID reconstruite est ensuite ajoutée à la fin de la FID obtenue expérimentalement avant de réaliser la transformée de Fourier. La majeure partie des processus de prédictions linéaires est basée sur des méthodes de

moindres carrés, généralement la *Singular Value Decomposition* ou SVD¹²⁶, à condition que le signal puisse être décomposé en une superposition de sinusoides exponentielles amorties¹²⁷. D'après ce concept, il est en théorie possible de reconstruire l'intégralité du signal à partir d'un faible nombre de points. Il s'avère cependant que cette extrapolation est limitée de 2 à 4 fois le nombre de points échantillonnés¹²⁸ afin de conserver la forme du spectre¹²⁹. Cette stratégie est appliquée en routine et permet de diminuer le temps des analyses RMN.

b) Augmenter la résolution avec un échantillonnage non uniforme ou « Non-Uniform Sampling » (NUS)

Une autre approche consiste à effectuer des échantillonnages non-uniformes sur la gamme de t_1 étudiée. L'application de la transformée de Fourier à la RMN en 1966¹³⁰ a été une révolution. Pour réaliser la transformée de Fourier discrète d'une FID, les points la composant doivent être échantillonnés de manière uniforme, à une fréquence d'échantillonnage constante. Cette caractéristique n'est pas un problème en RMN 1D, mais le devient lors d'analyses nD. En effet, afin d'obtenir une résolution suffisante dans la dimension indirecte, il est nécessaire de réaliser un nombre élevé d'incrément de t_1 . Le premier échantillonnage non uniforme a été proposé en 1987 sous le nom d'*Exponential sampling* afin d'augmenter la résolution de la dimension indirecte sans augmenter le nombre de points échantillonnés¹³¹⁻¹³². Ce type d'échantillonnage consiste à réaliser l'analyse à des intervalles d'échantillonnage non constants. L'utilisation de la transformée de Fourier sur un ensemble de données de cette nature engendre des artefacts, mais il est possible d'utiliser des algorithmes de reconstruction afin d'obtenir les spectres corrects. L'association de ce type d'échantillonnage avec l'utilisation d'algorithmes de reconstruction afin d'obtenir le spectre en fréquence à partir des FID est appelé le *Non Uniform Sampling* ou NUS¹³³. Le NUS consiste à « sauter » des points (Figure 4) dans la dimension la plus couteuse en temps d'acquisition. Lors d'une telle analyse, le nombre de points échantillonnés est défini par le facteur de sous-échantillonnage noté par convention NUS 1/X. Par exemple, lors d'une analyse effectuée avec un facteur NUS 1/8, seulement 12,5% des incréments t_1 de l'analyse en échantillonnage uniforme seront échantillonnés, et les points manquants seront obtenus par reconstruction via des algorithmes. Il sera alors possible d'obtenir un spectre RMN 2D de même résolution qu'une analyse uniforme avec seulement 1/8 des points échantillonnés, soit un facteur 8 en gain de temps machine. Il est aussi possible de réaliser l'expérience

avec le même nombre de points échantillonnés mais sur une gamme de t_1^{max} 8 fois plus élevée tout en appliquant un échantillonnage NUS 1/8. L'effet sera alors d'obtenir une résolution dans la dimension indirecte 8 fois plus élevée pour un même temps d'acquisition. Bien entendu, plus la gamme de t_1^{max} sera élevée, plus la durée de reconstruction des données manquantes sera longue. Etant donné qu'il s'agit d'un temps de calcul sur serveur et non d'un « temps machine », le sacrifice est acceptable pour un tel gain de résolution.

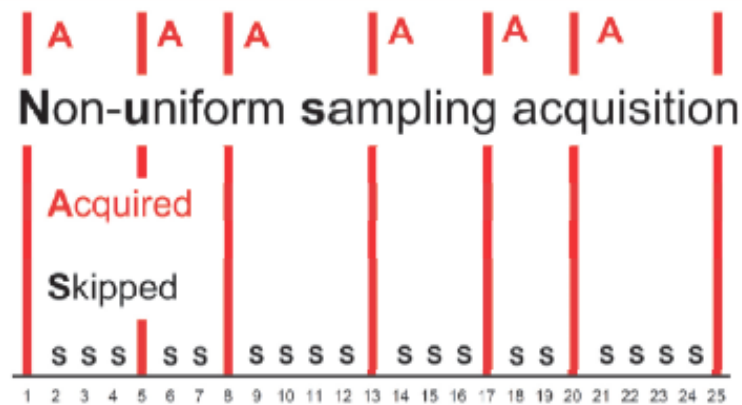


Figure 4 : Exemple d'échantillonnage non uniforme. En rouge les points de la FID échantillonnés, en noir les points « sautés ».

Depuis, cette approche est largement utilisée en RMN 2D¹³⁴⁻¹³⁸ afin de pallier les problèmes de résolution dans la dimension indirecte. Par convention, les points observés dans la dimension indirecte sont numérotés tel que $t_{1n} = n \cdot \Delta t_1$, avec n le numéro du point et Δt_1 l'inverse de la fréquence d'échantillonnage d'une analyse uniforme, c'est-à-dire l'incrément de t_1 ajouté pour avancer vers le point suivant. Généralement en RMN 2D le type d'échantillonnage utilisé est l'*Exponential sampling*, qui consiste à échantillonner selon une distribution non uniforme sur la gamme de t_1^{max} , avec une densité de points échantillonnés plus importante sur le début où vers fin de la gamme de t_1^{max} . D'autres formes d'échantillonnage sont aussi utilisées, tel que l'échantillonnage Poisson-gap¹³⁹ ou l'échantillonnage gaussien¹⁴⁰. Etant donné qu'il n'est pas possible d'obtenir les spectres 2D corrects d'une analyse NUS par transformée de Fourier, plusieurs algorithmes ont été développés afin de reconstruire les données manquantes. En RMN, les spectres sont généralement reconstruits par l'algorithme d'entropie maximale développé par J. Skilling *et al.*¹⁴¹⁻¹⁴². D'autres algorithmes, tel que *Multi-Dimensional Decomposition*¹⁴³ (MDD), ou basés sur le *compressed sensing*¹⁴⁴⁻¹⁴⁶ ou encore sur la *low-rank reconstruction*¹⁴⁷ ont été introduits depuis.

Néanmoins, la majorité des algorithmes utilisés en RMN 2D sont très dépendants de la taille des données, leur temps de calcul étant généralement proportionnel au minimum au carré du nombre de points dans la dimension indirecte¹⁴⁸. La taille des données d'un spectre de masse FT-ICR MS 2D est considérablement plus grande que celle d'un spectre RMN 2D. Un spectre RMN 2D est souvent enregistré avec 2k (F1) x 2k (F2) points soit 4 Méga points, alors qu'un spectre de masse FT-ICR MS 2D demandant une résolution type quadripôle en F1 est acquis avec 8k (F1) x 128k (F2) soit 1024 Méga points. Une méthode de reconstruction applicable aux spectres de masse NUS FT-ICR 2D est l'algorithme appelé Papoulis-Gersberg¹⁴⁹⁻¹⁵⁰ ou PG. Cet algorithme se base sur la réversibilité de la transformée de Fourier. A partir d'une FID incomplète nommée $g(t)$, on obtient le signal en fréquence $g(\omega)$ par transformée de Fourier. Etant donné que la FID est incomplète, les signaux ont une grande largeur en fréquence. On applique alors un filtre afin de ne garder qu'un intervalle centré sur la médiane du pic, afin de forcer l'obtention d'un signal en fréquence résolu. On applique alors à $g(\omega)$ une transformée de Fourier inverse permettant d'obtenir une FID à laquelle on additionne $g(t)$ pour obtenir $g_1(t)$. En répétant ce processus pendant n itérations, il est possible de reconstruire les points manquants de la FID. Cet algorithme est en revanche sensible au bruit, ce qui a poussé les équipes de Strasbourg et de Lille à développer un algorithme de débruitage nommé $urQRd$ ¹⁵¹ (*uncoiled random QR decomposition*). Cet algorithme est basé sur l'opération matricielle de décomposition QR d'une matrice, et peut également être utilisé comme algorithme de reconstruction sous certaines conditions.

2. Matériel et méthodes

a) Algorithme d'échantillonnage aléatoire

Lors d'une analyse FT-ICR MS 2D, il est nécessaire de spécifier la liste des temps t_1 à échantillonner. Dans le cas d'une analyse réalisée avec un échantillonnage uniforme, les N points sont échantillonnés à intervalle Δt_1 régulier tel que $t_{1n} = n * \Delta t_1$, avec n le numéro du point et $n \in [1 ; N]$. Nous prenons $\Delta t_1 = 0,500 \mu s$ afin d'avoir une fréquence d'échantillonnage deux fois supérieure à la fréquence de Nyquist. Dans notre cas, la fréquence de Nyquist est de 1 MHz, ce qui correspond à un m/z minimum de 144,3476 pour un champ magnétique de 9,4 T. Ainsi, lors d'une expérience avec 2048 points en t_1 , le premier point enregistré sera réalisé

avec $t_1 = 0.500 \mu\text{s}$ et le dernier avec $t_1^{max} = 1,024 \text{ ms}$. La liste des temps correspondante sera donc $[1, 2, 3, 4, \dots 2048] * \Delta t_1$. Pour un échantillonnage aléatoire, le facteur NUS détermine le nombre de points enregistrés sur la taille matricielle en t_1 . Par exemple, un facteur NUS 1/4 signifie que l'on n'échantillonne qu'un point sur quatre. Pour un nombre de points enregistrés de 2048 points en t_1 , le t_1^{max} sera de $8192 * \Delta t_1$. Dans ce cas, la liste des temps utilisée, générée de manière aléatoire, sera de type $[1, 4, 5, 8, \dots 8192] * \Delta t_1$. Dans tous les cas, il est préférable d'enregistrer le premier point (plus grande contribution au rapport signal sur bruit) et le dernier point (plus grande contribution à la résolution de l'analyse). De plus, l'algorithme urQRd requiert que ces conditions soient remplies. La première étape d'implémentation du NUS à nos analyses 2D est de créer des listes de temps selon un échantillonnage aléatoire sur la gamme de t_1^{max} envisagée. Nous avons opté pour une distribution aléatoire uniforme, étant donné la stabilité de la cohérence du paquet d'ion au cours de l'intervalle t_1 , afin d'obtenir une densité de points échantillonnés de façon homogène sur la gamme de t_1^{max} .

Le premier algorithme d'échantillonnage aléatoire de distribution uniforme utilisé pour nos expériences FT-ICR MS 2D a été réalisé par M.-A. Delsuc sous le nom *uniform*. Celui-ci consistait tout d'abord à déterminer l'intervalle de valeurs que peut prendre l'incrément (nommé *pas* ou *gap*) d'un point au suivant. Ainsi, les valeurs étaient comprises dans l'intervalle $[1, 2 * pas_{moyen}]$ où pas_{moyen} est l'incrément moyen correspondant à l'inverse du facteur de sous-échantillonnage. Puis, l'algorithme sélectionnait aléatoirement une valeur de cet intervalle qui était incrémentée au point n_{i-1} tel que $n_i = n_{i-1} + pas$. Le but de l'opération était de répéter ce processus jusqu'à atteindre le nombre de points à échantillonner sur la gamme de t_1^{max} . Pour un échantillonnage aléatoire de N points physiques avec un facteur NUS = 1/X, la taille matricielle en F1 est de $N * X$. Néanmoins, l'algorithme atteignait la taille matricielle en t_1^{max} du NUS avant d'atteindre la taille physique du nombre de points à échantillonner, dû à un pas_{max} trop élevé. Une fois la taille matricielle atteinte, les points restants étaient échantillonnés de telle manière que $pas = 0$, c'est-à-dire que la $FID_{n_{max}}$ était ré-échantillonnée jusqu'à atteindre la taille physique de l'analyse (Figure 5.a). Ceci générait un biais non négligeable de l'échantillonnage, qui non seulement n'était plus aléatoire sur la fin de l'analyse, mais qui possédait également une distribution de pas non uniforme (Figure 5.b).

Aléatoire « uniform » pour 2k points NUS 1/4

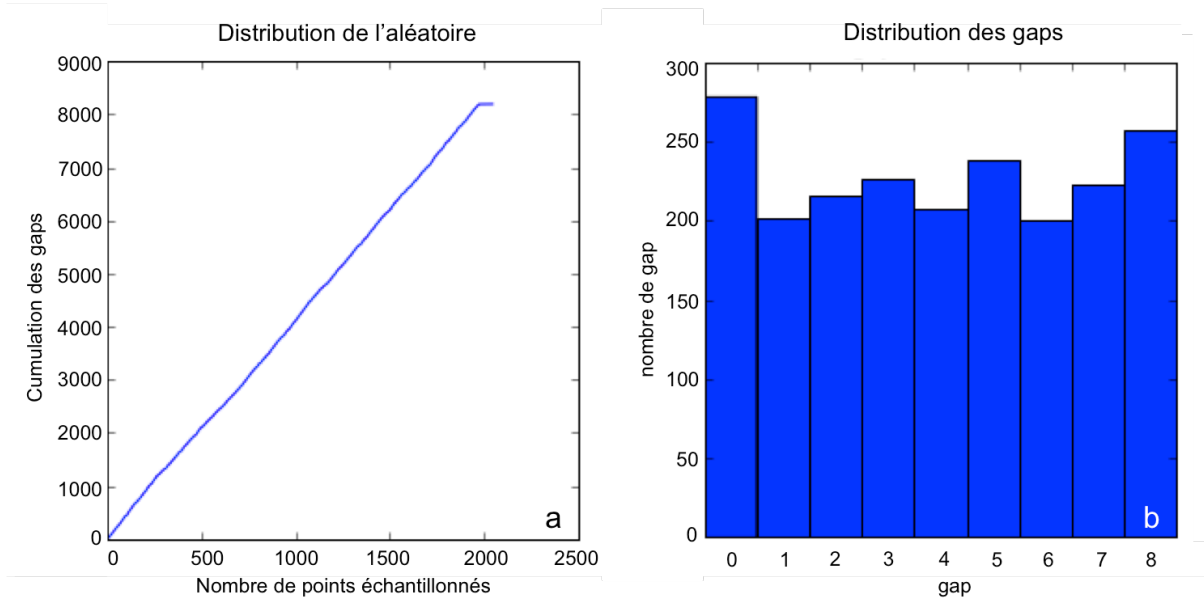


Figure 5 : Distribution de l'aléatoire (a) et des pas (b) donnée par l'algorithme uniform dans le cas d'une acquisition physique de 2048 points NUS 1/4.

Il a été nécessaire de redéfinir l'intervalle des valeurs de *pas*. Si l'on prend $pas_{moyen} = 1/(NUS_{ratio})$, et que l'on n'autorise pas le 0 comme valeur de *pas* possible (c'est-à-dire le ré-échantillonnage d'un point), l'intervalle de valeurs possibles devient $[1, 2 * pas_{moyen} - 1]$. Pour un échantillonnage NUS 1/4, l'intervalle de valeurs que peut prendre le *pas* est $[1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]$. Afin de réaliser l'aléatoire sur toute la gamme de t_1^{max} envisagée et d'éviter les précédents problèmes, il est aussi nécessaire de contrôler le nombre de fois que chaque valeur est prise afin d'uniformiser l'aléatoire. La solution est alors de calculer le nombre de fois maximum qu'une valeur peut être prise ($pas_{nombremax}$) en divisant N/X par la somme des valeurs de l'intervalle afin de créer un compteur. Tout d'abord, l'algorithme attribue aléatoirement une valeur de l'intervalle au *pas*. Si cette valeur n'a pas dépassé $pas_{nombremax}$, ce *pas* est ajouté au point n_{i-1} tel que $n_i = n_{i-1} + pas$. Dans le cas contraire, l'algorithme relance l'aléatoire jusqu'à obtenir une valeur adéquate. Les distributions de l'aléatoire et des valeurs de *pas* générés par l'algorithme *very_uniform* que j'ai développé sont montrées sur la Figure 6. Néanmoins, il est rare d'obtenir un résultat entier pour le $pas_{nombremax}$, l'idée est donc de l'arrondir à l'inférieur et de combler les derniers points de l'échantillonnage par pas_{moyen} . Cela engendre évidemment un biais dans l'échantillonnage, mais dans le cas de l'exemple présenté, seulement 4 points sur 2048 sont sélectionnés de la sorte, ce qui représente un biais de 0,2%. Par comparaison, le précédent algorithme n'échantillonnait aléatoirement que 1770 points sur 2048, créant un biais de 278 points soit 13,6% de l'échantillonnage.

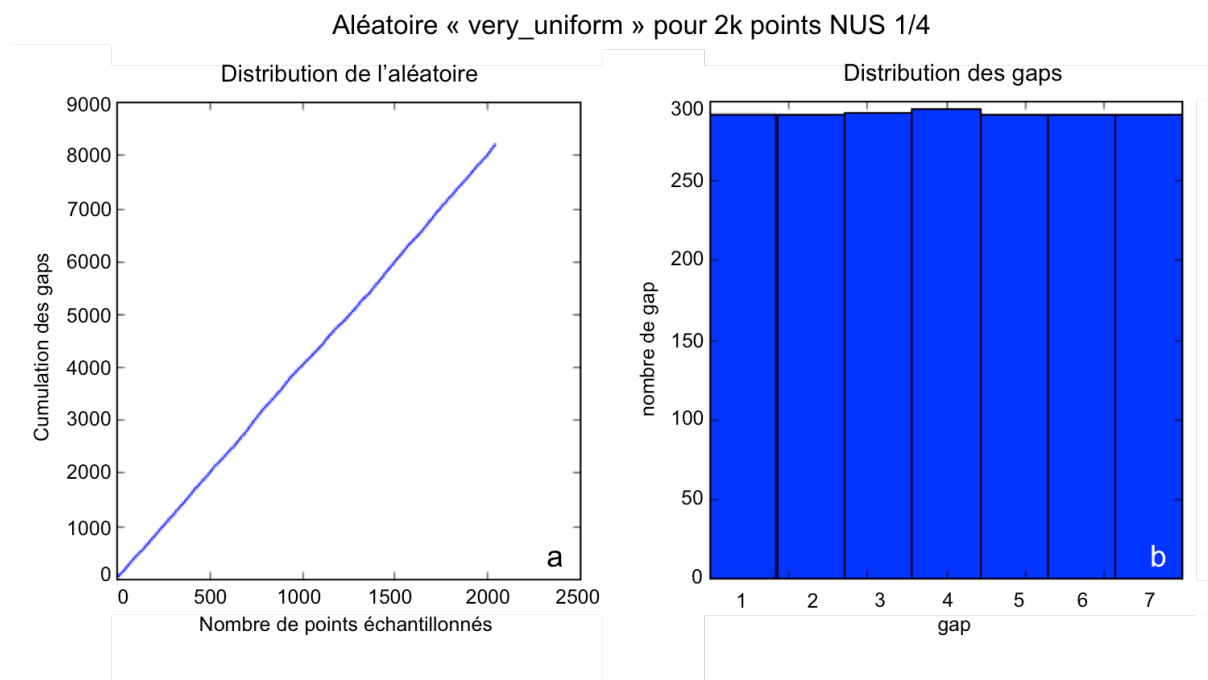


Figure 6 : Distribution de l'aléatoire (a) et des pas (b) donnée par l'algorithme *very_uniform* dans le cas d'une acquisition physique de 2048 points NUS 1/4.

b) Expériences

Pour déterminer les limites d'une acquisition non uniforme, nous avons utilisé comme modèle d'étude la substance P¹⁵²⁻¹⁵³. Il s'agit d'un neuropeptide composé de 11 acides aminés couramment utilisé au laboratoire MSAP pour la mise au point de méthode étant donné son bon comportement à l'ionisation et à la fragmentation. Les expériences ont été réalisées avec un FT-ICR SolariX XR 12 Tesla utilisant une cellule harmonisée ParaCell¹⁵⁴ de chez Bruker Daltonik GmbH (Bremen, Allemagne). L'échantillon, à une concentration de 1 pmol.μL⁻¹, a été ionisé par une source nanoESI. Le précurseur doublement chargé a été sélectionné et isolé par le quadripôle, et la fragmentation a été opérée par ECD. Toutes les acquisitions ont été réalisées avec une taille physique de 2k x 128k points (F1 x F2), correspondant à des durées d'acquisitions de 30 minutes. Une acquisition « classique » d'échantillonnage uniforme a d'abord été réalisée en tant que témoin, puis des acquisitions NUS avec des ratios 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 ont été effectuées, correspondant à des tailles d'acquisition uniforme de 4k, 8k, 16k, 32k et 64k points en t_1 , respectivement. Afin de valider l'utilisation du NUS pour les analyses 2D, nous avons appliqué cette stratégie à un échantillon d'huile de sésame complexé avec des ions Li⁺ et fragmenté en IRMPD. L'expérience a été réalisée avec un FT-ICR Apex 9,4 Tesla utilisant une cellule Infinity¹⁵⁵ chez Bruker Daltonik GmbH (Bremen,

Allemagne) par acquisition d'une matrice de taille 64k x 512k en NUS 1/8. Toutes les analyses ont été effectuées avec la séquence d'impulsions montrée en Figure 7.

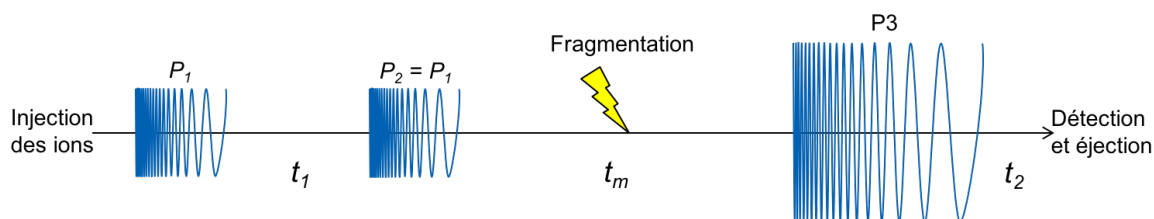


Figure 7 : Séquence d'impulsion 2D FT-ICR MS. Les impulsions $P_1 = P_2$ ont chacune une durée totale de 723 μs , soit 0,5 μs par pas de fréquence. Ces impulsions ont été réglées afin d'observer un rapport d'intensités fragments/précurseur de 50%. L'impulsion P_3 utilise les paramètres expérimentaux habituels pour l'excitation (100 V_{pp} d'amplitude et 20 μs par pas de fréquence).

c) Algorithme de traitement des données

L'algorithme utilisé pour réduire le bruit et reconstruire les spectres NUS est l'algorithme urQRd¹⁵¹ basé sur la décomposition QR d'une matrice échantillonnée aléatoirement à partir des données. Ce type d'algorithme permet de remplacer la SVD qui n'est pas applicable sur des matrices trop grandes. Il permet aussi un gain de temps de calcul considérable, et de plus cet algorithme n'utilisant que peu de mémoire vive, il est en théorie possible de traiter des tailles de matrices illimitées. L'algorithme urQRd a seulement deux paramètres, le rang (« rank ») de la reconstruction qui est le nombre de pics à détecter et le nombre d'itérations. Originellement, le but de cet algorithme était le débruitage d'un spectre, mais si l'on considère les points manquants comme des données bruitées, il est possible de les reconstruire. Ainsi, les données NUS 1/X acquises, ayant comme taille en F1 le nombre de points physiques N , sont injectées dans une matrice de taille N^*X en F1. Les points manquants sont mis à zéro, l'algorithme est appliqué à l'ensemble de la matrice puis les données expérimentales sont réinjectées au résultat obtenu. Ce processus est répété jusqu'à appliquer la transformée de Fourier sur l'ensemble de la matrice selon t_2 puis selon t_1 afin d'obtenir le spectre en fréquence.

3. Résultats et discussion

a) Augmentation de la résolution

Les spectres 2D zoomés sur le précurseur dichargé de la substance P (m/z 674.3713) sont montrés sur la Figure 8. Tout d'abord, on note une amélioration de la résolution dans la dimension F1 quand le facteur de sous-échantillonnage diminue.

Cependant, à NUS 1/32 nous n'observons plus les 2^{ème} et 3^{ème} isotopes du précurseur. Le gain de résolution est tout aussi évident lorsque l'on observe les spectres du précurseur selon F1, montrés sur la Figure 9. Ceci montre clairement une diminution de la largeur à mi-hauteur du pic du précurseur en F1 quand le ratio NUS diminue. Notons que même à NUS 1/32, l'aspect du pic est bien conservé. Tous les spectres 2D possèdent aussi des spectres MS/MS nets permettant l'attribution de tous les fragments majoritaires théoriques (Figure 10). L'attribution complète des 6 analyses est disponible en annexe (Annexes 7 à 12). Nous pouvons remarquer que l'aspect du spectre MS/MS est bien conservé d'un échantillonnage à l'autre. Les variations d'intensités sont dues à une meilleure séparation des isotopes du précurseur quand le ratio NUS diminue.

b) Détermination d'un compromis

Les données permettant la comparaison de ces 6 analyses ont été répertoriées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : a) Durée de traitement des données selon les paramètres suivants : urQRd rang 49 et 1 itération, 2401 réinjections sur colonnes contenant du signal puis urQRd rang 7 et 1 itération, 7 réinjections aléatoires. b) Résolution en F1 du : précurseur de m/z 674.3713 ; Fragment 1 (c₄) m/z 496.3354 ; Fragment 2 (MH⁺) m/z 1347.7354. c) La liste complète des attributions de spectres est donnée en annexe (Annexes 7 à 12).

Taille en F1 (k)	Facteur NUS	Durée de traitement ^a	Résolution en F1 ^b			Nombre de fragments identifiés ^c	Intensités frags/prec (%)
			Précurseur	Frag.1	Frag.2		
2	-	1 h 18 m	176	180	178	13	65
4	1/2	1 h 34 m	325	348	335	20	65
8	1/4	2 h 14 m	687	626	626	24	75
16	1/8	3 h 42 m	1365	1258	1326	24	66
32	1/16	6 h 39 m	2795	2799	2830	30	63
64	1/32	12 h 17 m	4576	4528	5119	17	23

Etant donné que le nombre de points à reconstruire augmente quand le ratio NUS diminue, le temps de traitement des données se comporte de la même manière. Cette durée varie de 1h18 pour une analyse avec un échantillonnage uniforme à 12h17 pour une analyse avec un NUS 1/32. Cependant, ces analyses ont

été réalisées durant le même « temps machine ». Il est négligeable de consommer du temps offline afin de gagner en résolution selon F1. Cette résolution est de 176 pour une analyse avec un échantillonnage uniforme, et augmente de façon inversement proportionnelle avec le facteur NUS. Comme attendu, les fragments ont la même résolution en F1 que le précurseur, comme le montre la comparaison des valeurs de la résolution en F1 du précurseur et de deux fragments de haut et bas m/z , c_4 et MH^+ . Le point clé dans la détermination du meilleur NUS est le nombre de fragments identifiés ainsi que le pourcentage des intensités des fragments par rapport à celle du précurseur. On remarque que le nombre de fragments identifiés augmente jusqu'à NUS 1/16, mais qu'il chute ensuite à NUS 1/32. Le fait que cette intensité chute à NUS 1/32 témoigne d'une limite de l'algorithme lorsqu'il s'agit de reconstruire les données manquantes à partir d'un trop faible nombre de points échantillonnés. Le rapport de NUS 1/16 est l'échantillonnage avec lequel nous avons les meilleurs résultats pour une taille en F1 de 2k.

Afin de vérifier les données de ces 6 analyses, les spectres MSMS du précurseur monoisotopique, 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} isotopes ont été attribués et les intensités des massifs isotopiques des 10 fragments majoritaires (MH^+ , c_{10} , b_{10} , c_9 , z_9 , c_8 , c_7 , c_6 , c_5 , c_4) ont été comparées aux valeurs théoriques calculées avec le logiciel IsoPatrn. Les données concernant ces comparaisons sont disponibles en annexe (Annexes 13 à 16). Nous observons que jusqu'à NUS 1/4 inclus, les massifs isotopiques diffèrent complètement des valeurs théoriques. Etant donné que la résolution en F1 n'est pas suffisante pour séparer les isotopes du précurseur, plusieurs isotopes contribuent au même spectre MS/MS. Dans le cas de NUS 1/32, nous obtenons de la même manière des massifs isotopiques différents des massifs isotopiques théoriques, probablement à cause de l'intensité faible du signal des fragments due à un facteur de sous-échantillonnage trop important. Les meilleurs résultats proviennent de NUS 1/8 et 1/16. Dans tous les cas, nous n'obtenons jamais de massifs isotopiques corrects des spectres MS/MS du 3^{ème} isotope du précurseur, celui-ci étant systématiquement de très faible intensité. La Figure 11 témoigne de ce résultat sur le fragment c_7 de la substance P.

c) Echantillon d'huile de sésame

Nous avons réalisé un spectre FT-ICR 2D avec l'huile de sésame comme échantillon, complexé avec des ions Li^+ et fragmenté en IRMPD, donnant comme fragment principal la perte d'acide gras¹⁵⁶. Les résultats expérimentaux sont visibles

en Figure 12 et les analyses 1D MS/MS des précurseurs étudiés sont disponibles en annexe (Annexes 2 à 6) ainsi que la table des m/z théoriques (Annexe 17) pour comparaison. La perte de neutre est clairement visible sur le spectre 2D (Figure 12.a). La Figure 12.b montre un zoom sur les précurseurs et la Figure 12.c un zoom sur la ligne de perte de neutre. La différence entre la perte d'acide linoléique (L) ou d'acide oléique (O) se distingue par une différence de 2 hydrogènes. La Figure 12.d montre le profil en F1 du pic du précurseur de m/z 890,8. La largeur à mi-hauteur est de 0,44 Da correspondant à une résolution d'environ 2000 en F1. Quant aux spectres MS/MS, nous observons un seul pic dans le cas du précurseur de m/z 890,8 (Triglycéride symétrique OOO, Figure 12.e). En réalité, les pics les plus faibles sont dus à la contribution d'isotopes de précurseurs mal séparés, fait déjà discuté lors des analyses de la substance P. A m/z 888,8 (OLO ou OOL) nous observons deux pics majoritaires (Figure 12.f) correspondant à la perte de L et O. Nous observons la même chose à m/z 886,8 (LLO ou LOL, Figure 12.g). Finalement, dans le cas de m/z 884,8 (LLL), seule la perte de L est observée, caractéristique à nouveau d'un triglycéride symétrique.

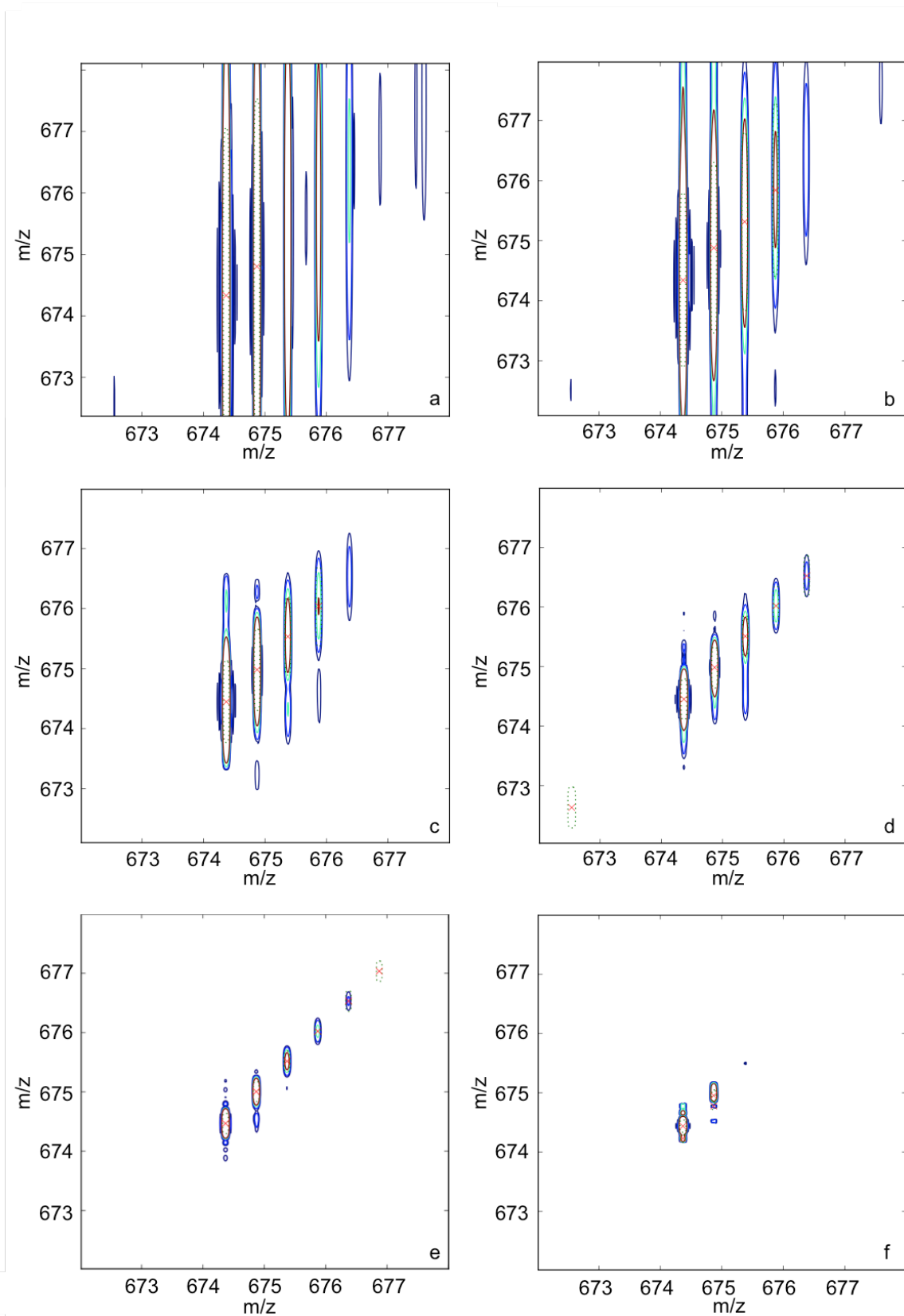


Figure 8 : Spectres FT-ICR MS 2D avec $2k \times 128k$ points de la substance P zoomés sur le massif isotopique du précurseur bi-charge de m/z 674.3713 pour le pic mono-isotopique à différents échantillonnages. a) acquisition uniforme (NUS 1) ; b) NUS 1/2 ; c) NUS 1/4 ; d) NUS 1/8 ; e) NUS 1/16 ; f) NUS 1/32.

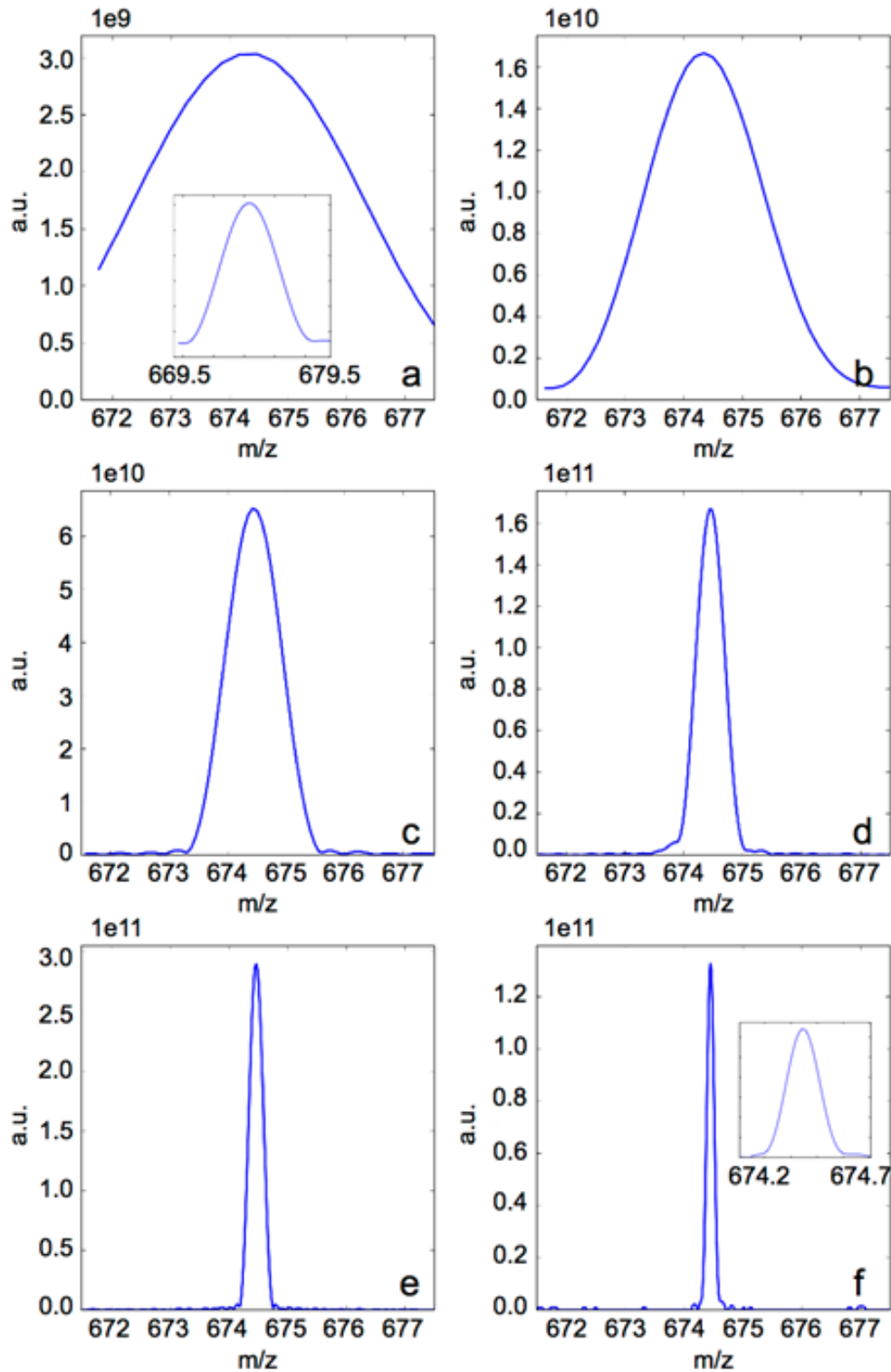


Figure 9 : Spectres en F1 du pic mono-isotopique du précurseur déchargé de la substance P à différents échantillonnages. a) acquisition uniforme (NUS 1) ; b) NUS 1/2 ; c) NUS 1/4 ; d) NUS 1/8 ; e) NUS 1/16 ; f) NUS 1/32.

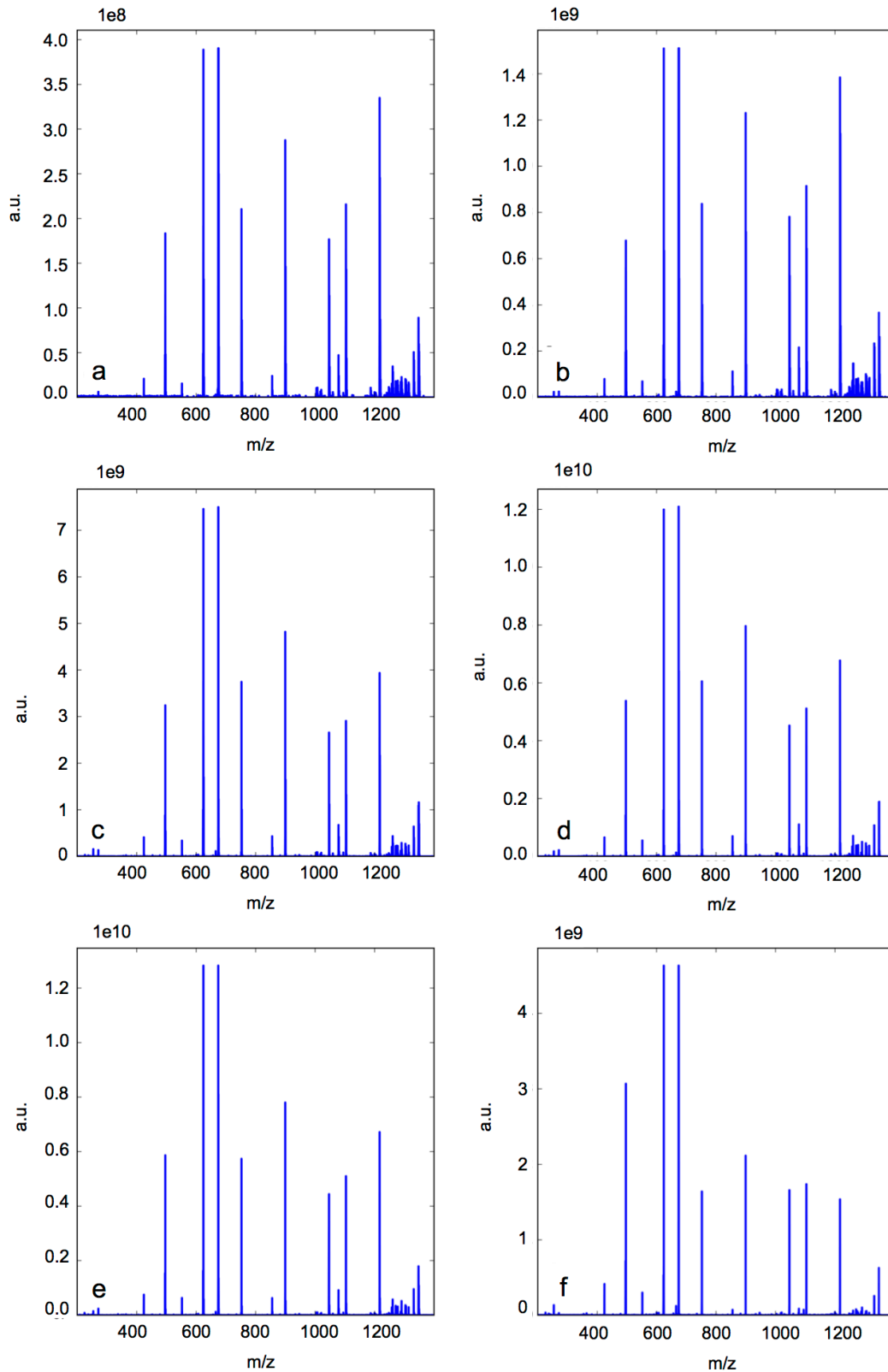


Figure 10 : Spectres MS/MS du précurseur chargé de la substance P normalisés sur le pic du fragment c_5 à différents échantillonnages. a) acquisition uniforme (NUS 1) ; b) NUS 1/2 ; c) NUS 1/4 ; d) NUS 1/8 ; e) NUS 1/16 ; f) NUS 1/32

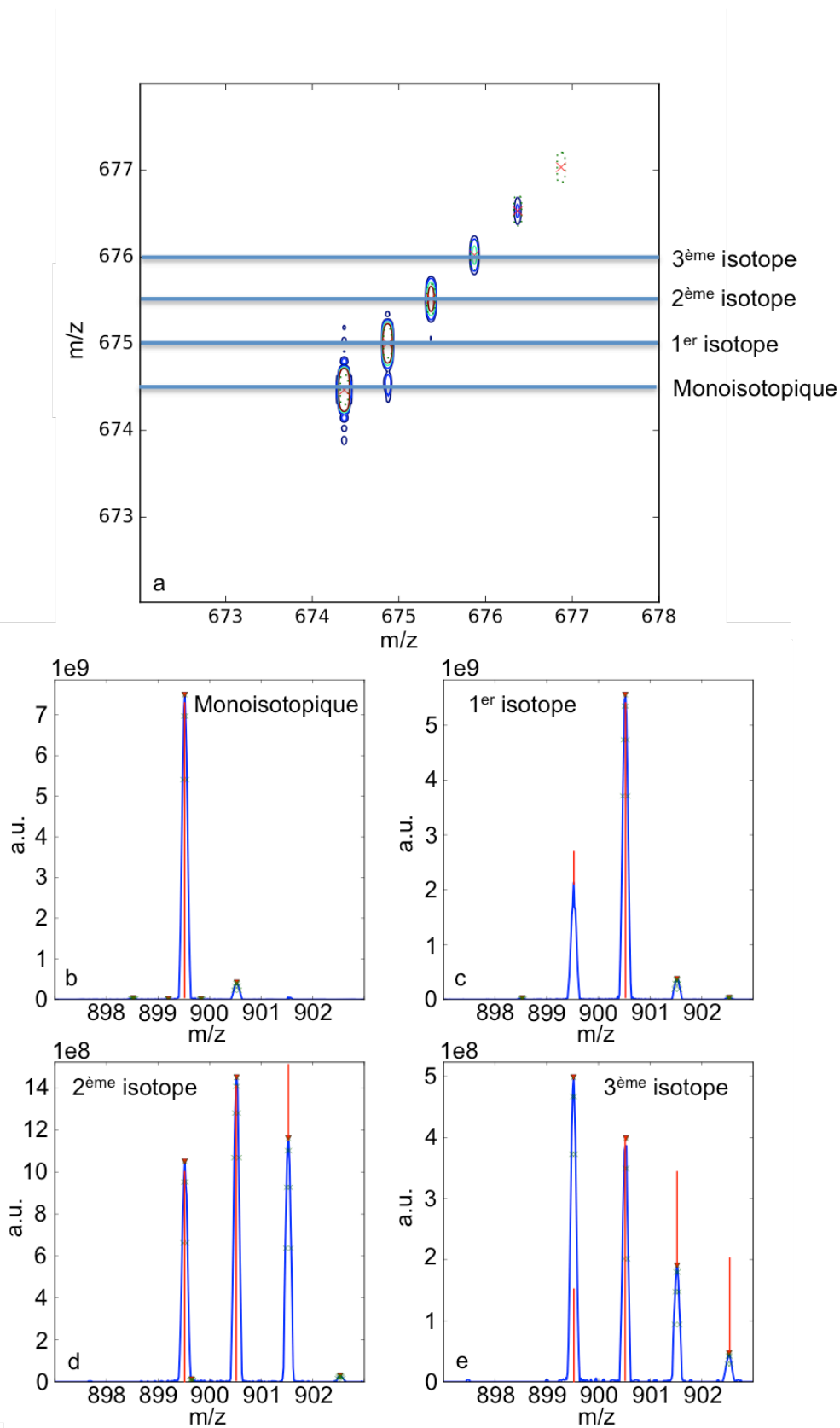


Figure 11 : a) Spectre 2D FT-ICR MS NUS 1/16 de la substance P zoomé sur le massif isotopique du précurseur chargé ; Spectres MS/MS zoomés sur le massif isotopique du fragment c₇ à partir du précurseur b) Mono-isotopique ; c) 1^{er} isotope ; d) 2^{ème} isotope ; e) 3^{ème} isotope. En bleu les spectres expérimentaux, en rouge les massifs isotopiques théoriques.

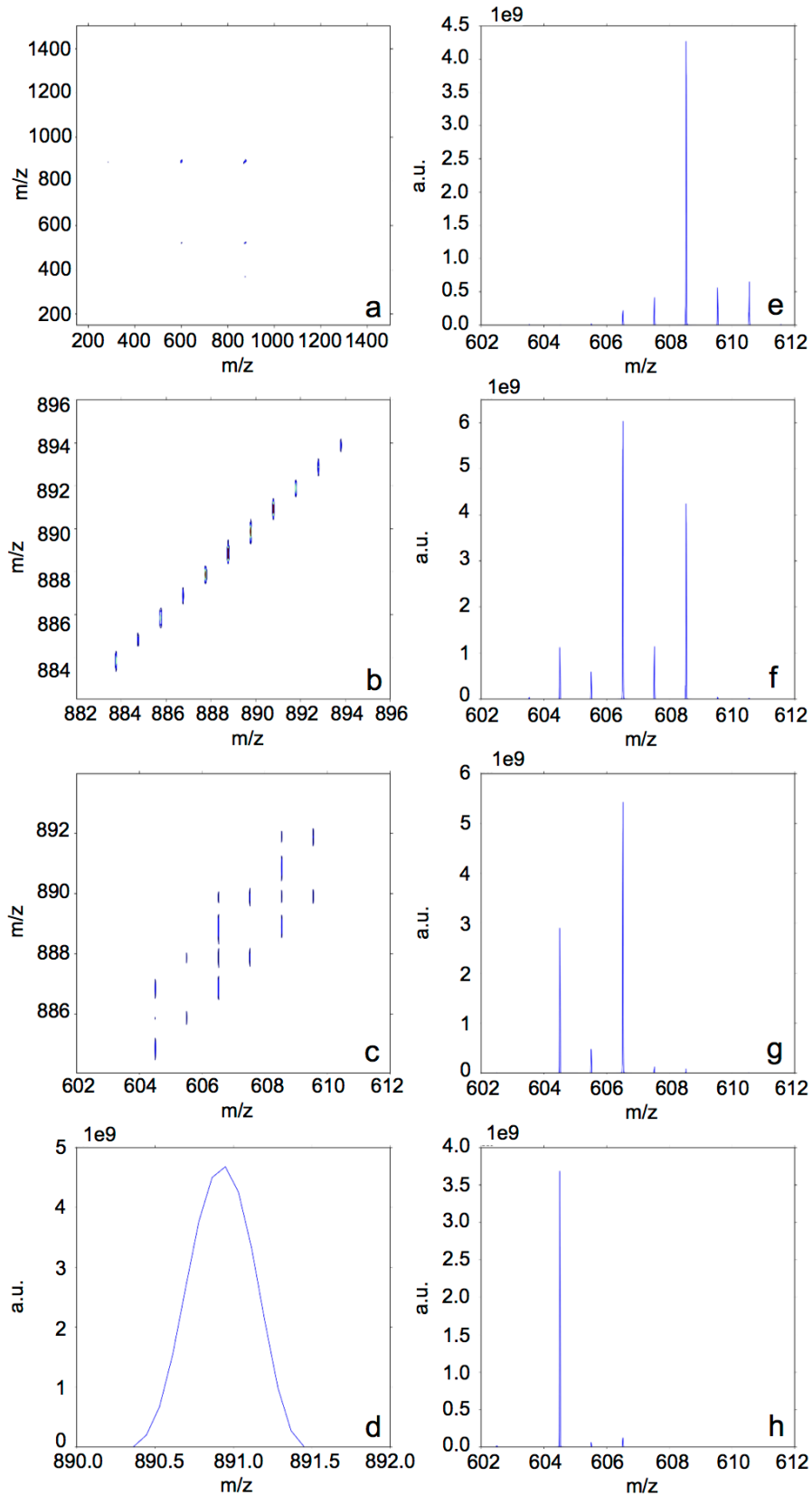


Figure 12 : Expérience 2D FT-ICR MS NUS 1/8 (64k x 512k) d'huile de sésame complexée avec Li^+ et fragmentée en IRMPD. a) Spectre 2D complet (zoom disponible en Annexe 1) ; b) Zoom sur les précurseurs ; c) Zoom sur la perte d'acide gras neutre ; d) Zoom en F1 du précurseur de m/z 890,8 (OOO) ; puis zoom F2 sur la perte d'acide gras à partir du précurseur de m/z : e) 890,8 (OOO) ; f) 888,8 (OLO ou OOL) ; g) 886,8 (LOL ou OLL) ; h) 884,8 (LLL).

4. Conclusions et perspectives

Nous avons appliqué pour la première fois un échantillonnage non uniforme (NUS) à une analyse FT-ICR MS 2D. Comme nous l'avons constaté, nous sommes capables d'effectuer un échantillonnage NUS 1/16 sans perte d'information tout en augmentant la résolution d'un facteur 16. La Figure 13 montre clairement que l'augmentation de la résolution en F1 évolue linéairement en fonction du facteur NUS appliqué jusqu'à NUS 1/16 mais diminue légèrement à NUS 1/32. Il est sans doute nécessaire d'optimiser le traitement des données afin de reconstruire de manière plus efficace le spectre 2D de cette analyse.

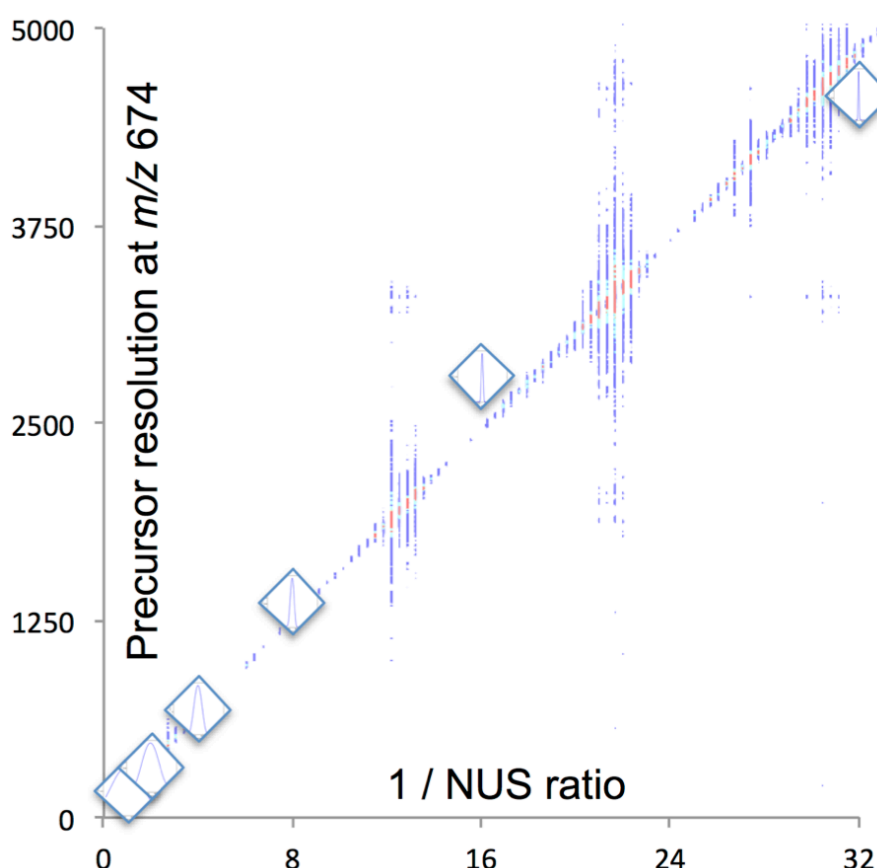


Figure 13 : Evolution de la résolution en F1 du précurseur en fonction de l'inverse du facteur de sous-échantillonnage utilisé.

Cette approche nous permet d'obtenir des résolutions en F1 atteignables jusqu'alors seulement en augmentant le temps d'analyse et donc la quantité d'échantillon consommé. Si nous optimisons le traitement du signal, il est en théorie possible de diminuer au maximum le facteur de sous-échantillonnage afin d'obtenir une résolution en F1 de type FT-ICR. Cela permettrait alors l'analyse d'échantillons très complexes pour lesquels la FT-ICR MS 1D est limitée pour obtenir des informations structurales.

Partie 2 : Comportement des ions au cours d'une séquence d'impulsions

1. Introduction

Bien que des études théoriques de mouvements d'ions dans une cellule ICR existent^{74-75, 157-160}, peu d'entre elles sont appliquées à des cas où les ions sont excités par une séquence de trois impulsions. S. Guan et P. R. Jones ont développé en 1989 les premières expressions des équations de mouvement des ions dans le cadre de l'analyse en spectrométrie de masse FT-ICR bidimensionnelle¹¹³. Dans la cellule ICR, le mouvement d'un ion de masse m et de charge q soumis à un champ magnétique statique B_0 selon l'axe z et à champ électrique E parallèle à l'axe x peut être décrit par les équations de Lorentz :

$$\frac{dv_x}{dt} = \left(\frac{q}{m}\right) E_x(t) + \omega_0 v_y \quad (1)$$

$$\frac{dv_y}{dt} = -\omega_0 v_x \quad (2)$$

$$\omega_0 = \frac{B_0 q}{m}$$

Où ω_0 est la fréquence cyclotronique de l'ion étudié. Dans de telles conditions, et si l'on néglige le mouvement de l'ion selon l'axe z , l'ion est sujet à une trajectoire circulaire dans un plan perpendiculaire au champ magnétique. Au cours de l'excitation (P_1, P_2, P_3), lorsque l'impulsion RF oscillante entre en résonance avec l'ion, c'est-à-dire lorsqu'il qu'il atteint la fréquence ω_0 de l'ion, le champ électrique est exprimé par :

$$E_x(t) = E_0 \sin \omega_0 t$$

Dans les intervalles sans champ électrique (t_1, t_m, t_2), E_0 est nul. En résolvant les équations (1) et (2) dans ces conditions, les vitesses en x et en y de l'ion pendant t_1 , t_m , et t_2 sont déterminées par les expressions :

$$v_x = v_{x0} \cos \omega_0 t + v_{y0} \sin \omega_0 t \quad (3)$$

$$v_y = -v_{x0} \sin \omega_0 t + v_{y0} \cos \omega_0 t \quad (4)$$

Et lorsqu'un champ électrique est appliqué pendant P_1, P_2, P_3 :

$$\begin{aligned} v_x &= v_{x0} \cos \omega_0 t + v_{y0} \sin \omega_0 t + V_0 \sin \omega_0 t & (5) \\ v_y &= -v_{x0} \sin \omega_0 t + v_{y0} \cos \omega_0 t + V_0 \cos \omega_0 t - V_0^* \sin \omega_0 t & (6) \end{aligned}$$

$$\text{Avec } V_0 = \frac{qE_0 t}{2m} \text{ et } V_0^* = \frac{qE_0}{2m\omega_0}$$

Le dernier terme de (6) peut être négligé dans le cas où la durée d'excitation est très grande devant la période de rotation de l'ion (V_0^* ne dépend pas de la durée de l'impulsion). S. Guan et P. R. Jones ont déterminé, en négligeant le dernier terme de (6), l'expression de la vitesse totale de l'ion durant t_m . Néanmoins, les conditions expérimentales actuelles de la FT-ICR MS 2D étant optimisées pour des impulsions courtes de l'ordre de grandeur de la période de rotation d'un ion, A. A. Sehgal *et al.*¹²⁰ ont repris ces équations sans négliger le dernier terme de (6). De plus, les vitesses en x et en y de l'ion ont été intégrées suivant le temps de l'intervalle concerné (P_1, t_1, P_2, t_m) pour obtenir la position exacte en x et en y , permettant ainsi de simuler correctement les trajectoires de l'ion. L'étude de A. A. Sehgal montre que dans le cas d'impulsions *non synchronisées*, ou non *matched*, c'est à dire d'impulsions de durées différentes d'un multiple entier de la période de l'ion, le centre de l'orbite de l'ion est décalé du centre de la cellule, générant une variation du rayon d'orbite par rapport au centre de la cellule. Dans le cas d'un ion ayant accumulé une phase durant t_1 opposée à celle de P_2 , sa désexcitation ne le ramène pas complètement au centre, ce qui diminue l'efficacité de la fragmentation et donc l'intensité des ions fragments observés. Néanmoins, pour simplifier les simulations, celles-ci ont été effectuées jusqu'à t_m , ne permettant pas d'observer le déplacement du centre dû à la troisième impulsion P_3 , qui, étant plus intense et plus longue que les deux premiers, a une influence prédominante sur le paquet d'ions et donc sur le signal généré. Il était aussi nécessaire de simuler la création d'ions fragments. La génération de fragments au centre de la cellule sous la forme d'un paquet est un cas exceptionnel. De plus, n'étant pas produits instantanément, mais plutôt tout le long de l'irradiation laser, ils ne sont pas regroupés en un seul paquet à la fin de t_m , ce qui génère une dispersion de phases. Déterminer leur distribution à la fin de t_m ainsi que leur évolution après P_3 et durant t_2 était donc une nécessité.

Mon objectif ici était tout d'abord de déterminer les expressions des équations de mouvement des ions précurseurs dans la cellule ICR tout au long de la séquence d'impulsions 2D afin de confirmer les résultats de A. A. Sehgal *et al.*¹²⁰, et d'observer le déplacement du centre de l'orbite des précurseurs après l'impulsion P_3 . L'objectif suivant était d'introduire la fragmentation dans mes simulations, en choisissant le modèle de fragmentation approprié ainsi qu'en déterminant les équations des vitesses de l'ion fragment qui résultent de celles du précurseur. Les simulations ont ensuite été développées à fin d'observer la distribution du nuage de fragments à la fin de t_m et son devenir pendant t_2 après l'excitation P_3 . Tous les calculs analytiques ont été réalisés d'abord à la main pour les vitesses jusqu'à t_2 , puis confirmés et étendus à l'intégration des vitesses pour déterminer les positions en x et en y des ions par le logiciel Mathematica. Les équations ainsi déterminées ont été transposées dans un code Python développé avec le logiciel Spyder afin de réaliser les simulations et les figures.

2. Equations de la trajectoire d'un précurseur au cours d'une séquence $P_1-t_1-P_2-t_m-P_3-t_2$

a) Impulsion P_1 avec $t_{pulse} = T_1$ et $E_x = E_1$

Pour simplifier les calculs, les mouvements selon l'axe z sont négligés, ainsi que les répulsions coulombiennes qui sont connues pour entraîner la perte de cohérence du paquet d'ions en perturbant la phase et le rayon d'orbite individuels des ions du paquet¹⁶¹. Il est aussi admis qu'au début de la séquence, les ions précurseurs sont concentrés au centre de la cellule et ont des vitesses initiales v_{x0} et v_{y0} nulles. En utilisant ces conditions initiales dans les équations (5) et (6), on obtient :

$$v_{xP1} = \frac{E_1 q T_1 \sin(T_1 \omega_p)}{2m_p} \quad (7)$$

$$v_{yP1} = \frac{E_1 q (T_1 \omega_p \cos(T_1 \omega_p) - \sin(T_1 \omega_p))}{2m_p \omega_p} \quad (8)$$

Avec m_p la masse du précurseur et ω_p sa fréquence cyclotronique. En intégrant les vitesses en x et en y durant P_1 selon T_1 , on obtient les coordonnées x_{P1} et y_{P1} de l'ion précurseur :

$$x_{P1} = \frac{E_1 q (\sin(T_1 \omega_p) - T_1 \omega_p \cos(T_1 \omega_p))}{2m_p \omega_p^2} \quad (9)$$

$$y_{P1} = \frac{E_1 q (T_1 \omega_p \sin(T_1 \omega_p) + 2 \cos(T_1 \omega_p) - 2)}{2m_p \omega_p^2} \quad (10)$$

b) Intervalle d'encodage t_1 avec $E_x = 0$

Durant cet intervalle, le champ électrique est nul. Les vitesses en x et en y sont calculées à partir des équations (3) et (4) en utilisant les vitesses (7) et (8) comme vitesses initiales. On a donc $v_{x0} = v_{xP1}$ et $v_{y0} = v_{yP1}$:

$$v_{xt1} = \frac{E_1 q [-\cos((t_1 - T_1)\omega_p) + \cos((t_1 + T_1)\omega_p) + 2 T_1 \omega_p \sin((t_1 + T_1)\omega_p)]}{4m_p \omega_p} \quad (11)$$

$$v_{yt1} = \frac{E_1 q [T_1 \omega_p \cos((t_1 + T_1)\omega_p) - \cos(t_1 \omega_p) \sin(T_1 \omega_p)]}{2m_p \omega_p} \quad (12)$$

En intégrant les vitesses durant l'Intervalle d'encodage en x et en y selon t_1 , on obtient les coordonnées x_{t1} et y_{t1} de l'ion précurseur. Cependant, même si v_{xt1} et v_{yt1} dépendent de v_{xP1} et v_{yP1} , l'intégration ne garde pas en mémoire la position à la fin de l'impulsion P_1 , soit (9) et (10). Il est nécessaire d'ajouter après intégration les positions finales x_{P1} et y_{P1} à x_{t1} et y_{t1} , soit (9) et (10) respectivement :

$$x_{t1} = \frac{E_1 q [-T_1 \omega_p \cos((t_1 + T_1)\omega_p) + \cos(t_1 \omega_p) \sin(T_1 \omega_p)]}{2m_p \omega_p^2} \quad (13)$$

$$y_{t1} = \frac{E_1 q [-4 - \cos((t_1 - T_1)\omega_p) + 4 \cos(T_1 \omega_p) + \cos((t_1 + T_1)\omega_p) + 2 T_1 \omega_p \sin((t_1 + T_1)\omega_p)]}{4m_p \omega_p^2} \quad (14)$$

c) Impulsion P_2 avec $t_{pulse} = T_2$ et $E_x = E_1$

Les vitesses en x et en y sont calculées à partir des équations (5) et (6) en utilisant les vitesses (11) et (12) comme vitesses initiales. On a donc $v_{x0} = v_{xt1}$ et $v_{y0} = v_{yt1}$. Comme mentionné auparavant, P_1 et P_2 ont une amplitude et une durée égales. Cependant, la détermination des coordonnées x et y nécessitant l'intégration des vitesses respectives selon la durée de l'intervalle concernée, nous avons besoin de séparer les variables de t_{pulse} pour P_1 et P_2 . Nous avons donc :

$$v_{xP2} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p} [-\cos((t_1 - T_1 + T_2)\omega_p) + \cos((t_1 + T_1 + T_2)\omega_p) + 2\omega_p(T_2 \sin(T_2\omega_p) + T_1 \sin((t_1 + T_1 + T_2)\omega_p))] \quad (15)$$

$$v_{yP2} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p} [2\omega_p(T_2 \cos(T_2\omega_p) + T_1 \cos((t_1 + T_1 + T_2)\omega_p)) - 2\sin(T_2\omega_p) + \sin((t_1 - T_1 + T_2)\omega_p) - \sin((t_1 + T_1 + T_2)\omega_p)] \quad (16)$$

En intégrant les vitesses en x et en y selon T_2 et en y ajoutant (13) et (14) respectivement, on obtient les coordonnées x_{P2} et y_{P2} de l'ion précurseur :

$$x_{P2} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p^2} [-2\omega_p(T_2 \cos(T_2\omega_p) + T_1 \cos((t_1 + T_1 + T_2)\omega_p)) + 2\sin(T_2\omega_p) - \sin((t_1 - T_1 + T_2)\omega_p) + \sin((t_1 + T_1 + T_2)\omega_p)] \quad (17)$$

$$y_{P2} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p^2} [-8 + 4\cos(T_1\omega_p) + 4\cos(T_2\omega_p) - \cos((t_1 - T_1 + T_2)\omega_p) + \cos((t_1 + T_1 + T_2)\omega_p) + 2T_2\omega_p \sin(T_2\omega_p) + 2T_1\omega_p \sin((t_1 + T_1 + T_2)\omega_p)] \quad (18)$$

d) Intervalle de fragmentation t_m avec $E_x = 0$

Durant cette période, le champ électrique est nul. Les vitesses en x et en y sont calculées à partir des équations (3) et (4) en utilisant les vitesses (15) et (16) comme vitesses initiales. On a donc $v_{x0} = v_{xP2}$ et $v_{y0} = v_{yP2}$. De plus, les vitesses ne sont plus intégrées suivant T_1 ni T_2 , donc afin de simplifier le calcul analytique on a $T_1 = T_2 = T_{P1P2}$:

$$v_{x_{tm}} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p} [-\cos((T_{P1P2} - t_m)\omega_p) + \cos((T_{P1P2} + t_m)\omega_p) - \cos((t_1 + t_m)\omega_p) + \cos((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m)\omega_p) + 2T_{P1P2}\omega_p(\sin((T_{P1P2} + t_m)\omega_p) + \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m)\omega_p))] \quad (19)$$

$$v_{y_{tm}} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p} [2\omega_p T_{P1P2}(\cos((T_{P1P2} + t_m)\omega_p) + \cos((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m)\omega_p)) - \sin((T_{P1P2} - t_m)\omega_p) - \sin((T_{P1P2} + t_m)\omega_p) + \sin((t_1 + t_m)\omega_p) - \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m)\omega_p)] \quad (20)$$

En intégrant les vitesses en x et en y selon t_m et en y ajoutant (17) et (18) respectivement, on obtient les coordonnées x_{tm} et y_{tm} de l'ion précurseur :

$$x_{tm} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p^2} \left[-2\omega_p T_{P1P2} \left(\cos \left((T_{P1P2} + t_m) \omega_p \right) + \cos \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m) \omega_p \right) \right) \right. \\ \left. + \sin \left((T_{P1P2} - t_m) \omega_p \right) + \sin \left((T_{P1P2} + t_m) \omega_p \right) - \sin \left((t_1 + t_m) \omega_p \right) \right. \\ \left. + \sin \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m) \omega_p \right) \right] \quad (21)$$

$$y_{tm} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p^2} \left[-8 + 8 \cos(T_{P1P2} \omega_p) - \cos \left((T_{P1P2} - t_m) \omega_p \right) + \cos \left((T_{P1P2} + t_m) \omega_p \right) \right. \\ \left. - \cos \left((t_1 + t_m) \omega_p \right) + \cos \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m) \omega_p \right) \right. \\ \left. + 2T_{P1P2} \omega_p \left(\sin \left((T_{P1P2} + t_m) \omega_p \right) + \sin \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m) \omega_p \right) \right) \right] \quad (22)$$

e) Impulsion P_3 avec $t_{pulse} = T_3$ et $E_x = E_3$

Les vitesses en x et en y sont calculées à partir des équations (5) et (6) en utilisant les vitesses (19) et (20) comme vitesses initiales. On a donc $v_{x0} = v_{xtm}$ et $v_{y0} = v_{ytm}$:

$$v_{xP3} = \frac{q}{4m_p \omega_p} \left[2E_3 T_3 \omega_p \sin(T_3 \omega_p) + E_1 \left(-\cos \left((t_1 + t_m + T_3) \omega_p \right) - \cos \left((T_{P1P2} - t_m - T_3) \omega_p \right) \right. \right. \\ \left. \left. + \cos \left((T_{P1P2} + t_m + T_3) \omega_p \right) + \cos \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3) \omega_p \right) \right. \right. \\ \left. \left. + 2T_{P1P2} \omega_p \left(\sin \left((T_{P1P2} + t_m + T_3) \omega_p \right) + \sin \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3) \omega_p \right) \right) \right] \quad (23)$$

$$v_{yP3} = \frac{q}{4m_p \omega_p} \left[2E_3 T_3 \omega_p \cos(T_3 \omega_p) - 2E_3 \sin(T_3 \omega_p) \right. \\ \left. + E_1 \left(2T_{P1P2} \omega_p \left(\cos \left((T_{P1P2} + t_m + T_3) \omega_p \right) + \cos \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3) \omega_p \right) \right) \right. \right. \\ \left. \left. + \sin \left((t_1 + t_m + T_3) \omega_p \right) - \sin \left((T_{P1P2} - t_m - T_3) \omega_p \right) \right. \right. \\ \left. \left. - \sin \left((T_{P1P2} + t_m + T_3) \omega_p \right) - \sin \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3) \omega_p \right) \right) \right] \quad (24)$$

En intégrant les vitesses en x et en y selon T_3 et en y ajoutant (21) et (22) respectivement, on obtient les coordonnées x_{P3} et y_{P3} de l'ion précurseur :

$$\begin{aligned}
x_{P3} = \frac{q}{4m_p\omega_p^2} & [-2E_3T_3\omega_p \cos(T_3\omega_p) + 2E_3 \sin(T_3\omega_p) \\
& - E_1 \left(2T_{P1P2}\omega_p \left(\cos \left((T_{P1P2} + t_m + T_3)\omega_p \right) + \cos \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3)\omega_p \right) \right) \right. \\
& - \sin \left((t_1 + t_m + T_3)\omega_p \right) - \sin \left((-T_{P1P2} + t_m + T_3)\omega_p \right) \\
& \left. + \sin \left((T_{P1P2} + t_m + T_3)\omega_p \right) + \sin \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3)\omega_p \right) \right)] \quad (25)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
y_{P3} = \frac{q}{4m_p\omega_p^2} & [-8E_1 - 4E_3 + 4E_3 \cos(T_3\omega_p) + 2E_3T_3\omega_p \sin(T_3\omega_p) \\
& + E_1 \left(2T_{P1P2}\omega_p \left(\sin \left((T_{P1P2} + t_m + T_3)\omega_p \right) + \sin \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3)\omega_p \right) \right) \right. \\
& - \cos \left((t_1 + t_m + T_3)\omega_p \right) - \cos \left((-T_{P1P2} + t_m + T_3)\omega_p \right) + 8 \cos(T_{P1P2}\omega_p) \\
& \left. + \cos \left((T_{P1P2} + t_m + T_3)\omega_p \right) + \cos \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3)\omega_p \right) \right)] \quad (26)
\end{aligned}$$

f) Intervalle de détection t_2

Durant cette période, le champ électrique est nul. Les vitesses en x et en y sont calculées à partir des équations (3) et (4) en utilisant les vitesses (23) et (24) comme vitesses initiales. On a donc $v_{x0} = v_{xP3}$ et $v_{y0} = v_{yP3}$:

$$\begin{aligned}
v_{xt2} = \frac{q}{4m_p\omega_p} & [-E_3 \cos((-T_3 + t_2)\omega_p) + E_3 \cos((T_3 + t_2)\omega_p) + 2E_3T_3\omega_p \sin((T_3 + t_2)\omega_p) \\
& + E_1 \left(-\cos \left((t_1 + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) - \cos \left((-T_{P1P2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) \right. \\
& + \cos \left((T_{P1P2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) + \cos \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) \\
& + 2T_{P1P2}\omega_p \left(\sin \left((T_{P1P2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) \right. \\
& \left. \left. + \sin \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) \right) \right)] \quad (27)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
v_{yt2} = \frac{q}{4m_p\omega_p} & [2E_3T_3\omega_p \cos((T_3 + t_2)\omega_p) - 2E_3 \cos(t_2\omega_p) \sin(T_3\omega_p) \\
& + E_1 \left(2T_{P1P2}\omega_p \left(\cos \left((T_{P1P2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) \right. \right. \\
& + \cos \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) \left. \right) + \sin \left((t_1 + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) \\
& + \sin \left((-T_{P1P2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) - \sin \left((T_{P1P2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) \\
& \left. - \sin \left((t_1 + 2T_{P1P2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p \right) \right)] \quad (28)
\end{aligned}$$

En intégrant les vitesses en x et en y selon t_2 et en y ajoutant (25) et (26) respectivement, on obtient les coordonnées x_{t2} et y_{t2} de l'ion précurseur :

$$\begin{aligned}
x_{t_2} = \frac{q}{4m_p \omega_p^2} & [-2E_3 T_3 \omega_p \cos((T_3 + t_2)\omega_p) + 2E_3 \cos(t_2 \omega_p) \sin(T_3 \omega_p) \\
& - E_1 (2T_{P_1 P_2} \omega_p (\cos((T_{P_1 P_2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p) \\
& + \cos((t_1 + 2T_{P_1 P_2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p)) + \sin((t_1 + t_m + T_3 + t_2)\omega_p) \\
& + \sin((-T_{P_1 P_2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p) - \sin((T_{P_1 P_2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p) \\
& - \sin((t_1 + 2T_{P_1 P_2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p))] \quad (29)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
y_{t_2} = \frac{q}{4m_p \omega_p^2} & [-8E_1 - 4E_3 + E_3 (4 \cos(T_3 \omega_p) - \cos((-T_3 + t_2)\omega_p) + \cos((T_3 + t_2)\omega_p) \\
& + 2T_3 \omega_p \sin((T_3 + t_2)\omega_p)) \\
& + E_1 (2T_{P_1 P_2} \omega_p (\sin((T_{P_1 P_2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p) \\
& + \sin((t_1 + 2T_{P_1 P_2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p)) - \cos((t_1 + t_m + T_3 + t_2)\omega_p) \\
& - \cos((-T_{P_1 P_2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p) + 8 \cos(T_{P_1 P_2} \omega_p) \\
& + \cos((T_{P_1 P_2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p) + \cos((t_1 + 2T_{P_1 P_2} + t_m + T_3 + t_2)\omega_p))] \quad (30)
\end{aligned}$$

3. Equations de la trajectoire d'un fragment au cours de t_m - P_3 - t_2

Mon objectif a été d'incorporer la fragmentation au modèle. Pour cela, étant donné que le fragment est formé sur la trajectoire du précurseur durant t_m , il est nécessaire de déterminer les vitesses et positions du précurseur pendant un intervalle $t_{beforefrag}$ abrégé t_{bf} jusqu'à un moment t_{frag} ; de celles-ci découlent les vitesses et positions du fragment de t_{frag} à la fin de t_m durant un intervalle notée $t_{afterfrag}$ abrégé t_{af} (Figure 14).

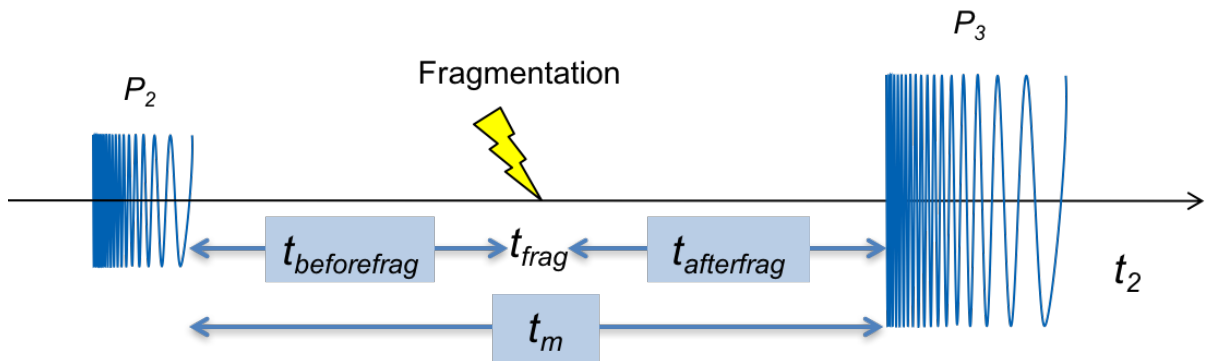


Figure 14 : Décomposition de t_m en deux intervalles $t_{beforefrag}$ et $t_{afterfrag}$.

a) Intervalle de fragmentation t_m

Considérons le cas d'un précurseur qui a été ramené après P_2 suffisamment proche du centre de la cellule pour avoir une orbite entièrement contenue dans le rayon du laser. Celui-ci va évoluer durant t_m jusqu'à t_{frag} pendant un temps t_{bf} . Il suffit alors de remplacer t_m par t_{bf} dans (19), (20), (21) et (22), on obtient donc les vitesses en x et en y durant t_{bf} :

$$v_{xtbf} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p} [-\cos((T_{P1P2} - t_{bf})\omega_p) + \cos((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) - \cos((t_1 + t_{bf})\omega_p) + \cos((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + 2T_{P1P2}\omega_p(\sin((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p))] \quad (31)$$

$$v_{ytbody} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p} [2\omega_p T_{P1P2} (\cos((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \cos((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)) - \sin((T_{P1P2} - t_{bf})\omega_p) - \sin((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \sin((t_1 + t_{bf})\omega_p) - \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)] \quad (32)$$

Ainsi que les positions x_{tbody} et y_{tbody} de l'ion précurseur :

$$x_{tbody} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p^2} [-2\omega_p T_{P1P2} (\cos((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \cos((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)) + \sin((T_{P1P2} - t_{bf})\omega_p) + \sin((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) - \sin((t_1 + t_{bf})\omega_p) + \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)] \quad (33)$$

$$y_{tbody} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p^2} [-8 + 8 \cos(T_{P1P2}\omega_p) - \cos((T_{P1P2} - t_{bf})\omega_p) + \cos((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) - \cos((t_1 + t_{bf})\omega_p) + \cos((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + 2T_{P1P2}\omega_p(\sin((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p))] \quad (34)$$

Lors de t_{frag} , un des ions du paquet de précurseurs a reçu suffisamment d'énergie au cours de t_{bf} pour se fragmenter. Le fragment de masse m_f et de fréquence ω_f produit à t_{frag} va hériter des vitesses et des positions en x et en y de son précurseur. Les conditions initiales dans (3) et (4) sont donc $v_{x0} = v_{xtbf}$ et $v_{y0} = v_{ytbody}$. Celui-ci va évoluer de t_{frag} à la fin de t_m durant un temps t_{af} . On obtient ainsi :

$$v_{xtaf} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p} [-\cos(t_{af}\omega_f + (-T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \cos(t_{af}\omega_f + (T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) - \cos(t_{af}\omega_f + (t_1 + t_{bf})\omega_p) + \cos(t_{af}\omega_f + (t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + 2T_{P1P2}\omega_p(\sin(t_{af}\omega_f + (T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \sin(t_{af}\omega_f + (t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p))] \quad (35)$$

$$v_{ytaf} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_p} [2T_{P1P2}\omega_p(\cos(t_{af}\omega_f + (T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \cos(t_{af}\omega_f + (t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)) + \sin(t_{af}\omega_f + (-T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) - \sin(t_{af}\omega_f + (T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \sin(t_{af}\omega_f + (t_1 + t_{bf})\omega_p) - \sin(t_{af}\omega_f + (t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)] \quad (36)$$

En intégrant les vitesses en x et en y selon t_{af} du fragment et en y ajoutant (33) et (34) respectivement, on obtient les coordonnées x_{taf} et y_{taf} de l'ion fragment :

$$x_{taf} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_f \omega_p^2} [(-2T_{P1P2}(\omega_f - \omega_p + \omega_p \cos(t_{af}\omega_f)) + \sin(t_{af}\omega_f))(\omega_p \cos((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \omega_p \cos((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)) + \omega_f(-\sin((t_1 + t_{bf})\omega_p) + \sin((T_{P1P2} - t_{bf})\omega_p) + \sin((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)) + \omega_p(-1 + \cos(t_{af}\omega_f))(-\sin((t_1 + t_{bf})\omega_p) + \sin((T_{P1P2} - t_{bf})\omega_p) + \sin((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)) - \omega_p \sin(t_{af}\omega_f)(\cos((t_1 + t_{bf})\omega_p) + \cos((T_{P1P2} - t_{bf})\omega_p)) - 2T_{P1P2}\omega_p(\sin((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p))] \quad (37)$$

$$y_{taf} = \frac{E_1 q}{4m_p \omega_f \omega_p^2} [-8\omega_f + 8\omega_f \cos(T_{P1P2}\omega_p) + \omega_p \sin(t_{af}\omega_f)(2T_{P1P2}\omega_p(\cos((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \cos((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)) + \sin((t_1 + t_{bf})\omega_p) - \sin((T_{P1P2} - t_{bf})\omega_p) - \sin((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) - \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)) + (\omega_f - \omega_p + \omega_p \cos(t_{af}\omega_f))(-\cos((t_1 + t_{bf})\omega_p) - \cos((T_{P1P2} - t_{bf})\omega_p) + \cos((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \cos((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + 2T_{P1P2}\omega_p(\sin((T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p) + \sin((t_1 + 2T_{P1P2} + t_{bf})\omega_p)))] \quad (38)$$

b) Excitation P_3 avec $t_{pulse} = T_3$ et $E_x = E_3$

Il est maintenant nécessaire d'établir les équations de mouvement des fragments après P_3 . Cependant, la charge du fragment est à prendre en compte. Pour simplifier les expressions des vitesses et des positions, on pose :

$$\frac{q}{m} = \frac{e \times z}{m} = \frac{e}{(m/z)}$$

On procède comme auparavant, et les vitesses en x et en y sont calculées à partir des équations (5) et (6) en utilisant les vitesses (35) et (36) comme vitesses initiales.

On a donc $v_{x0} = v_{xtaf}$ et $v_{y0} = v_{ytaf}$:

$$\begin{aligned} v_{xP3} = & \frac{e}{4(m/z)_f(m/z)_p\omega_p} [2E_3(m/z)_p T_3 \omega_p \sin(T_3 \omega_f) \\ & - E_1(m/z)_f \cos((T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf})\omega_p) \\ & - E_1(m/z)_f \cos((T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} - T_{P1P2})\omega_p) \\ & + E_1(m/z)_f \cos((T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\ & + E_1(m/z)_f \cos((T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\ & + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_p \sin((T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\ & + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_p \sin((T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p)] \end{aligned} \quad (39)$$

$$\begin{aligned} v_{yP3} = & \frac{e}{4(m/z)_f(m/z)_p\omega_f\omega_p} [2E_3(m/z)_p T_3 \omega_f \omega_p \cos(T_3 \omega_f) \\ & + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p \cos((T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\ & + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p \cos((T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\ & - 2E_3(m/z)_p \omega_p \sin(T_3 \omega_f) + E_1(m/z)_f \omega_f \sin((T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf}) \\ & + E_1(m/z)_f \omega_f \sin((T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} - T_{P1P2})\omega_p) \\ & - E_1(m/z)_f \omega_f \sin((T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\ & - E_1(m/z)_f \omega_f \sin((T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p)] \end{aligned} \quad (40)$$

En intégrant les vitesses en x et en y selon T_3 du fragment et en y ajoutant (37) et (38) respectivement, on obtient les coordonnées x_{P3} et y_{P3} de l'ion fragment :

$$\begin{aligned}
x_{P3} = & -\frac{e}{4(m/z)_f(m/z)_p\omega_f^2\omega_p^2} [2E_3(m/z)_p T_3 \omega_f \omega_p^2 \cos(T_3 \omega_f) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f (\omega_f - \omega_p) \omega_p \cos((T_{bf} + T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f^2 \omega_p \cos((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p) \\
& - 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p^2 \cos((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p^2 \cos((T_3 + T_{af}) \omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p^2 \cos((T_3 + T_{af}) \omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p) \\
& - 2E_3(m/z)_p \omega_p^2 \sin(T_3 \omega_f) + E_1(m/z)_f \omega_f^2 \sin((t_1 + T_{bf}) \omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((t_1 + T_{bf}) \omega_p) + E_1(m/z)_f \omega_f^2 \sin((T_{bf} - T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((T_{P1P2} - T_{bf}) \omega_p) - E_1(m/z)_f \omega_f^2 \sin((T_{bf} + T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((T_{P1P2} + T_{bf}) \omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f^2 \sin((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((T_3 + T_{af}) \omega_f + (t_1 + T_{bf}) \omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((T_3 + T_{af}) \omega_f + (T_{bf} - T_{P1P2}) \omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((T_3 + T_{af}) \omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2}) \omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((T_3 + T_{af}) \omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p)] \quad (41)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
y_{P3} = & \frac{e}{4(m/z)_f(m/z)_p\omega_f^2\omega_p^2} [-4(2E_1(m/z)_f \omega_f^2 + E_3(m/z)_p \omega_p^2) + 4E_3(m/z)_p \omega_p^2 \cos(T_3 \omega_f) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f^2 (8 \cos(T_{P1P2} \omega_p) - \cos((T_{P1P2} - T_{bf}) \omega_p)) \\
& + \omega_f (-E_1(m/z)_f \omega_f \cos((t_1 + T_{bf}) \omega_p) + E_1(m/z)_f \omega_p \cos((t_1 + T_{bf}) \omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_p \cos((T_{P1P2} - T_{bf}) \omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f (\omega_f - \omega_p) \cos((T_{bf} + T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \cos((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_p \cos((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_p \cos((T_3 + T_{af}) \omega_f + (t_1 + T_{bf}) \omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_p \cos((T_3 + T_{af}) \omega_f + (T_{bf} - T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_p \cos((T_3 + T_{af}) \omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_p \cos((T_3 + T_{af}) \omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + 2E_3(m/z)_p T_3 \omega_p^2 \sin(T_3 \omega_f) + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p \sin((T_{bf} + T_{P1P2}) \omega_p) \\
& - 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_p^2 \sin((T_{bf} + T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p \sin((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p) \\
& - 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_p^2 \sin((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_p^2 \sin((T_3 + T_{af}) \omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2}) \omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_p^2 \sin((T_3 + T_{af}) \omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \omega_p)] \quad (42)
\end{aligned}$$

c) Intervalle de détection t_2

Au cours de cet intervalle, le champ électrique est nul. Les vitesses en x et en y sont calculées à partir des équations (3) et (4) en utilisant les vitesses (39) et (40) comme vitesses initiales. On a donc $v_{x0} = v_{xP3}$ et $v_{y0} = v_{yP3}$:

$$\begin{aligned}
 v_{xt2} = \frac{e}{4(m/z)_f(m/z)_p\omega_f\omega_p} & [-E_3(m/z)_p\omega_p \cos((t_2 - T_3)\omega_f) + E_3(m/z)_p\omega_p \cos((t_2 + T_3) \\
 & + 2E_3(m/z)_pT_3\omega_f\omega_p \sin((t_2 + T_3)\omega_f) \\
 & + E_1(m/z)_f\omega_f (-\cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} - T_{P1P2})\omega_p) \\
 & + \cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
 & + 2T_{P1P2}\omega_p \cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \sin(T_{P1P2}\omega_p) \\
 & + 2T_{P1P2}\omega_p \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
 & + 2(T_{P1P2}\omega_p \cos(T_{P1P2}\omega_p) \\
 & - \sin(T_{P1P2}\omega_p)) \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p)] \quad (43)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 v_{yt2} = \frac{e}{4(m/z)_f(m/z)_p\omega_f\omega_p} & [2E_3(m/z)_pT_3\omega_f\omega_p \cos((t_2 + T_3)\omega_f) \\
 & + 2E_1(m/z)_fT_{P1P2}\omega_f\omega_p \cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
 & + 2E_1(m/z)_fT_{P1P2}\omega_f\omega_p \cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2}) \\
 & + E_3(m/z)_p\omega_p \sin((t_2 - T_3)\omega_f) - E_3(m/z)_p\omega_p \sin((t_2 + T_3)\omega_f) \\
 & + E_1(m/z)_f\omega_f \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf})\omega_p) \\
 & + E_1(m/z)_f\omega_f \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} - T_{P1P2})\omega_p) \\
 & - E_1(m/z)_f\omega_f \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
 & - E_1(m/z)_f\omega_f \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p)] \quad (44)
 \end{aligned}$$

En intégrant les vitesses du fragment en x et en y selon t_2 et en y ajoutant (41) et (42) respectivement, on obtient les coordonnées x_{t2} et y_{t2} de l'ion fragment :

$$\begin{aligned}
x_{t2} = & -\frac{e}{4(m/z)_f(m/z)_p\omega_f^2\omega_p^2} [2E_3(m/z)_p T_3 \omega_f \omega_p^2 \cos((t_2 + T_3)\omega_f) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f (\omega_f - \omega_p) \omega_p \cos((T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f^2 \omega_p \cos((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\
& - 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p^2 \cos((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p^2 \cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p^2 \cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\
& + E_3(m/z)_p \omega_p^2 \sin((t_2 - T_3)\omega_f) - E_3(m/z)_p \omega_p^2 \sin((t_2 + T_3)\omega_f) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f^2 \sin((t_1 + T_{bf})\omega_p) - E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((t_1 + T_{bf})\omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f^2 \sin((T_{P1P2} - T_{bf})\omega_p) + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((T_{P1P2} - T_{bf})\omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f^2 \sin((T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((T_{P1P2} + T_{bf})\omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f^2 \sin((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf})\omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} - T_{P1P2})\omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p)] \quad (45)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
y_{t2} = & \frac{e}{4(m/z)_f(m/z)_p\omega_f^2\omega_p^2} [-4(2E_1(m/z)_f \omega_f^2 + E_3(m/z)_p \omega_p^2) + 4E_3(m/z)_p \omega_p^2 \cos(T_3 \omega_f) \\
& - E_3(m/z)_p \omega_p^2 \cos((t_2 - T_3)\omega_f) + E_3(m/z)_p \omega_p^2 \cos((t_2 + T_3)\omega_f) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f^2 \cos((t_1 + T_{bf})\omega_p) + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \cos((t_1 + T_{bf})\omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f^2 (8 \cos(T_{P1P2} \omega_p) - \cos((T_{P1P2} - T_{bf})\omega_p)) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \cos((T_{P1P2} - T_{bf})\omega_p) + E_1(m/z)_f \omega_f^2 \cos((T_{P1P2} + T_{bf})\omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \cos((T_{P1P2} + T_{bf})\omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f^2 \cos((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \cos((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf})\omega_p) \\
& - E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} - T_{P1P2})\omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
& + E_1(m/z)_f \omega_f \omega_p \cos((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\
& + 2E_3(m/z)_p T_3 \omega_f \omega_p^2 \sin((t_2 + T_3)\omega_f) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f^2 \omega_p \sin((T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
& - 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p^2 \sin((T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f^2 \omega_p \sin((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\
& - 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p^2 \sin((t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p^2 \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (T_{bf} + T_{P1P2})\omega_p) \\
& + 2E_1(m/z)_f T_{P1P2} \omega_f \omega_p^2 \sin((t_2 + T_3 + T_{af})\omega_f + (t_1 + T_{bf} + 2T_{P1P2})\omega_p)] \quad (46)
\end{aligned}$$

4. Simulations de trajectoires

Les trajectoires des ions pour chaque Intervalle sont calculées à partir de leurs coordonnées x et y dont les équations ont été déterminées précédemment.

a) Cas du précurseur

1) Excitation P_1

Les précurseurs sont injectés dans la cellule ICR, sont regroupés au centre de la cellule et possèdent des vitesses initiales en x et en y nulles. Lors de la première impulsion d'excitation P_1 , ces ions vont acquérir une énergie cinétique proportionnelle à la durée et à l'amplitude de l'impulsion. Il en résulte une augmentation du rayon de leur orbite. La Figure 15 montre les trajectoires d'un paquet d'ions précurseurs de $m/z = 800$ ainsi que l'évolution de leur distance par rapport au centre de la cellule en fonction de la durée de l'impulsion, ceci pour quatre durées d'impulsions différentes. Les durées des impulsions sont exprimées en fonction de la période de révolution des ions, *synchronisées* quand $t_{P1} = nT_{ion}$ (cas b, c et d), et *non synchronisées* quand $t_{P1} \neq nT_{ion}$ (cas a). La première observation est que les ions montent sur orbite en suivant une spirale et que la distance par rapport au centre de la cellule qui résulte semble proportionnelle au temps d'excitation. Cependant, cette montée n'est pas linéaire, comme le montrent les figures de l'évolution de la distance du paquet par rapport au centre de la cellule en fonction du temps d'excitation. En effet, la spirale est écrasée, l'augmentation de cette distance atteint un seuil, puis la distance diminue légèrement avant de reprendre son augmentation, selon un comportement en escalier. Plus on augmente le temps d'excitation, plus ces oscillations deviennent négligeables et plus l'augmentation de la distance en fonction de la durée de l'impulsion devient linéaire.

2) Intervalle d'encodage t_1

Le rayon de l'orbite de l'ion a augmenté durant P_1 . Au cours de t_1 , aucune énergie n'est apportée à l'ion qui va décrire une trajectoire circulaire dans un plan perpendiculaire au champ magnétique à sa fréquence cyclotronique. Cependant, comme le montre la Figure 16, dans le cas d'impulsions *synchronisées* (c), le centre de l'orbite de l'ion est le centre de la cellule ICR, alors que dans le cas d'impulsions *non synchronisées* (a, b, d, e), le centre de l'orbite est décalé. Il en résulte une variation de la distance du paquet par rapport au centre de la cellule ICR. Plus le temps d'excitation est élevé, plus ce décalage du centre et la variation de la distance

par rapport au centre de la cellule qui en résulte devient faible par rapport au rayon de l'orbite (e). Cette variation de la distance par rapport au centre de la cellule oscille à la fréquence angulaire de l'ion. Le déplacement de centre peut être calculé à partir de l'équation¹²⁰ :

$$d_{t1} = \frac{E_0 q}{m_p \omega_p^2} (1 - \cos(\omega_p T_{P1P2})) \quad (47)$$

3) Excitation P_2

Après un intervalle d'évolution au cours de t_1 , le paquet d'ions va subir une deuxième impulsion $P_2 = P_1$. Dans le cas d'impulsions *synchronisées* (Figure 17), si le paquet d'ions est parfaitement en phase avec P_2 au moment de la deuxième excitation, son rayon d'orbite va être doublé. Au contraire, si le paquet d'ions a accumulé une phase opposée à celle de l'impulsion au moment de l'excitation, le paquet va être « désexcité » et revenir au centre de la cellule. Pour des différences de phase intermédiaires entre le paquet d'ions et l'impulsion P_2 , le rayon d'orbite résultant va fluctuer entre ces deux extrêmes. Le rayon d'orbite des précurseurs à la fin de P_2 , avec $P_1 = P_2$ peut être calculé par l'expression décrite par S. Guan et P. R. Jones¹¹³ :

$$r_{P2} = r_{P1} \sqrt{2(1 + \cos(\varphi_{ion} - \varphi_{pulse}))} \quad (48)$$

Si $\varphi_{ion} - \varphi_{pulse} = 2k\pi$, alors $r_{P2} = r_{P1} \sqrt{2(1 + \cos(0))} = 2r_{P1}$

Si $\varphi_{ion} - \varphi_{pulse} = (2k + 1)\pi$, alors $r_{P2} = r_{P1} \sqrt{2(1 + \cos(\pi))} = 0$

Dans le cas d'impulsions *non synchronisées*, le rayon exact à la fin de P_2 est calculé suivant l'expression :

$$r_{P2} = \sqrt{x_{P2}^2 + y_{P2}^2} \quad (49)$$

A. A. Sehgal *et al.*¹²⁰ ont montré qu'en fonction des durées des impulsions P_1 et P_2 , le centre de l'orbite était décalé suivant l'équation :

$$d_{tm} = \frac{2E_0 q}{m_p \omega_p^2} (1 - \cos(\omega_p T_{P1P2})) \quad (50)$$

Soit le double du déplacement de centre généré lors de P_1 . Cependant, même une désexcitation idéale ne ramène pas le paquet d'ions complètement au centre, et en

fonction des durées des impulsions, il est même possible que l'orbite du paquet d'ions précurseur soit en dehors du faisceau laser et qu'aucune fragmentation ne soit possible pendant l'intervalle t_m . La Figure 18 montre l'évolution de la distance du paquet d'ions par rapport au centre de la cellule après P_2 en fonction de la durée des impulsions d'encodage et de leur puissance. On peut observer que dans le cas d'une impulsion *synchronisées* (cas c), le paquet d'ions peut revenir au centre de la cellule comme montré précédemment, et que l'efficacité de fragmentation augmente quand on diminue l'amplitude des impulsions. Dans les cas d'impulsions *non synchronisées* (cas a et b), on remarque que le paquet d'ions n'est jamais désexcité à un rayon d'orbite nul. De la même manière, si l'on diminue l'amplitude des impulsions, il est possible d'augmenter l'efficacité de fragmentation.

4) Intervalle de fragmentation t_m

La distribution spatiale de l'amplitude du faisceau laser étant présumée gaussienne, l'énergie reçue par le paquet d'ions dépend de la distance à laquelle celui-ci se trouve par rapport au centre du laser, et donc par rapport au centre de la cellule. Cela signifie que même pour des impulsions qui ramènent le paquet d'ions partiellement vers le centre de la cellule mais laissent un rayon d'orbite non nul, le décalage du centre engendré par des impulsions *non synchronisées* va entraîner des cinétiques de fragmentation qui dépendent de la phase du paquet d'ions au cours de t_m . La Figure 19 montre l'évolution de la trajectoire d'un paquet d'ions lors de P_2 et t_m pour des impulsions *non synchronisées* (a et b) et pour des impulsions *synchronisées*. Dans le cas a), le paquet d'ions est quasiment déphasé de π par rapport à l'impulsion P_2 . Celui-ci va être désexcité jusqu'à un rayon d'orbite quasi nul, mais à cause du déplacement de centre de l'orbite, ce paquet se trouvera hors du laser et ne subira pas de fragmentation. En réalité, il est nécessaire dans ce cas d'exciter le paquet d'ions à un rayon d'orbite plus élevé pour qu'il puisse être fragmenté pendant t_m sur une partie de sa trajectoire (b). Donc même si le paquet d'ions n'est jamais parfaitement désexcité et ramené au centre de la cellule, celui-ci passe près du centre de la cellule, en fonction de la phase accumulée au cours de t_1 . Dans le cas d'impulsions *synchronisées* (c), une différence de phase proche de π avec P_2 va conduire à une désexcitation parfaite du paquet d'ions dont la trajectoire sera centrée sur le centre de la cellule. Le rayon d'orbite résultant sera suffisamment petit pour permettre la fragmentation, à une distance du centre du laser constante tout le long de la trajectoire.

5) Excitation P_3 et temps d'évolution t_2

Le paquet d'ions subit une excitation au cours de l'impulsion P_3 plus intense et plus longue que les précédentes, avec $E_3 \gg (E_1 = E_2)$ et $T_3 \gg T_{P_1P_2}$. La montée sur orbite se déroule de la même façon qu'au cours de l'impulsion P_1 . La Figure 20 montre la montée sur orbite et le déplacement du centre d'orbite en fonction de la durée des impulsions. Dans le cas a), aucune des impulsions n'est *synchronisée*, il en résulte un déplacement du centre généré par l'effet cumulatif des trois impulsions. Ce déplacement peut être calculé selon l'expression :

$$d_{t_2} = \frac{2E_1q(1 - \cos(\omega_p T_{P_1P_2})) + qE_3(1 - \cos(\omega_p T_3))}{m_p \omega_p^2} \quad (51)$$

On remarque que la variation de la distance du paquet d'ions par rapport au centre de la cellule est plus faible qu'au cours de P_1 . Il s'agit du même cas que dans la Figure 16.e, l'impulsion P_3 étant longue et le décalage ne dépendant que du cosinus de cette durée, il en résulte une variation qui devient négligeable lorsque la durée de l'impulsion est grande. Il est possible de voir les deux contributions au déplacement du centre avec les cas b) et c), où pour le cas b) seuls P_1 et P_2 ne sont pas *synchronisés*, et seulement P_3 dans le cas c). Comme démontré précédemment, dans le cas d'impulsions *synchronisées* d), le centre de l'orbite du paquet des ions précurseurs est le centre de la cellule et donc aucune variation de distance par rapport au centre n'est visible.

6) Discussion et perspectives

Les simulations réalisées montrent les trajectoires d'un paquet d'ions précurseurs tout le long de la séquence d'impulsions utilisée pour la FT-ICR MS 2D en fonction de la durée des impulsions et du temps d'encodage t_1 , dans le cas d'impulsions monochromatiques. Elles permettent de comprendre le comportement d'un paquet d'ions et les conditions requises pour améliorer l'efficacité de la fragmentation. Premièrement, l'augmentation de la distance du paquet d'ions par rapport au centre de la cellule au cours des excitations n'est pas linéaire mais procède en paliers, résultat aussi obtenu par A. A. Sehgal *et al.*¹²⁰, bien qu'il n'ait pas été discuté. Ce phénomène est constant et ne dépend pas de la durée des impulsions. Il devient donc de plus en plus négligeable quand la durée d'impulsion augmente. Une piste pour expliquer ce phénomène pourrait être suggérée par la

description de l'excitation par A. G. Marshall *et al.*⁷³ qui décomposent le champ électrique généré par les plaques en deux composants $E_L(t)$ et $E_R(t)$ qui tournent en sens opposés tel que :

$$E(t) = E_R(t) + E_L(t)$$

Où $E_R(t)$ est la composante radiofréquence du champ électrique qui tourne dans le même sens (horaire pour un anion, antihoraire pour un cation) et à la même fréquence que l'ion excité, et qui propulse l'ion de manière linéaire sur une orbite plus élevée ; tandis que $E_L(t)$ est la composante du champ électrique qui tourne dans le sens inverse de l'ion à une fréquence deux fois plus élevée et qui semble avoir des effets négligeables après plusieurs cycles d'excitation. S. Guan et P. R. Jones¹¹³ ont également conclu que V_0^* , qui ne dépend pas de la durée de l'impulsion, pouvait être négligé à des temps d'excitation d'au moins 10 fois la période de l'ion. La Figure 21 montre la dépendance du rayon d'orbite du paquet du précurseur en fonction du temps d'excitation P_1 . Il apparaît que lorsque nous ne négligeons pas V_0^* , soit l'influence de $E_L(t)$, le rayon de l'orbite du paquet d'ions décrit une montée par paliers dont la fréquence est deux fois plus élevée que celle de l'ion. Si au contraire nous négligeons V_0^* , le rayon d'orbite augmente de manière linéaire. Néanmoins, plus la durée de l'impulsion est grande, c'est-à-dire plus l'ion a un m/z faible, plus cette influence est négligeable.

Dans le cas d'impulsions de durées correspondant à un multiple entier de la période de l'ion, les orbites au cours des différents intervalles sans champ électrique restent centrées sur le centre de la cellule. Lors de déphasages proches de $n\pi$ entre le paquet d'ions et P_2 , le paquet est désexcité et retourne à proximité du centre de la cellule, et il va subir l'irradiation laser de manière équivalente tout le long de sa trajectoire. Dans le cas d'impulsions *non synchronisées*, le retour au centre n'est jamais possible, ce qui implique que la fragmentation ne pourra s'opérer que sur une partie de la trajectoire, diminuant ainsi l'efficacité de fragmentation. Il s'avère que l'utilisation d'impulsions de durées différentes d'un multiple entier de la période de l'ion a une incidence plus forte sur la fragmentation que sur les trajectoires durant t_2 . Plus l'impulsion est longue, plus le déplacement de centre est petit par rapport au rayon d'orbite généré. Néanmoins, cette variation de la distance par rapport au centre de la cellule génère une intensité de signal fluctuante lors de la détection, pouvant mener à l'apparition d'harmoniques sur le spectre bidimensionnel enregistré.

On peut donc en conclure que toutes ces variations sont induites par l'utilisation d'impulsions *non synchronisées*. La solution serait d'implémenter des *trains d'impulsions* dont chaque palier de fréquence serait *synchronisé* avec la période de l'ion en résonance. Cela conduirait à des trajectoires centrées et des fragmentations continues sur les paquets d'ions proches du centre à t_m . Cependant, plus l'ion a un rapport m/z élevé, plus sa période de rotation est grande, et donc plus la durée de l'impulsion nécessaire pour réaliser une impulsion *synchronisée* augmente. Le rayon d'orbite généré lors des excitations dépendant de la durée et de l'amplitude des impulsions, il en résulterait une diminution progressive de l'efficacité de fragmentation à hautes masses. Afin d'éviter ce phénomène, il est nécessaire d'adapter aussi la puissance de l'impulsion au paquet d'ions à exciter, et donc d'appliquer des impulsions d'amplitude inversement proportionnelle à leur durée. La Figure 22 témoigne de l'utilité d'une telle stratégie. En adaptant la puissance des impulsions au rapport m/z de l'ion à exciter, il est possible d'obtenir des rayons d'orbite moyens durant t_m , comparables à la taille du rayon à mi-hauteur du faisceau laser, augmentant ainsi la production de fragments, donc les informations structurales, tout en diminuant le bruit de scintillation.

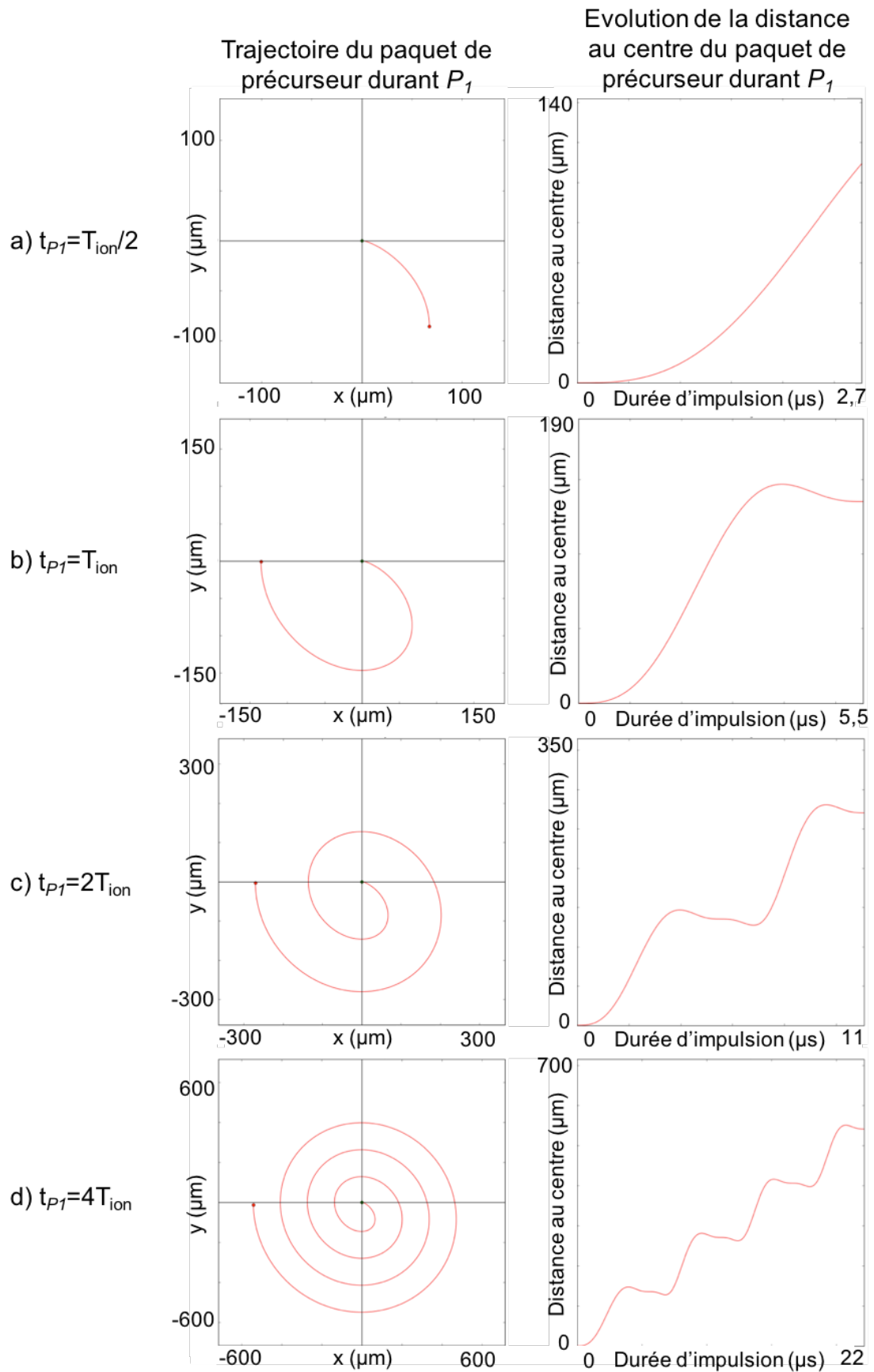


Figure 15 : Trajectoire d'un paquet d'ions précurseurs au cours de P_1 et évolution de la distance du paquet d'ions par rapport au centre de la cellule en fonction de la durée de P_1 .

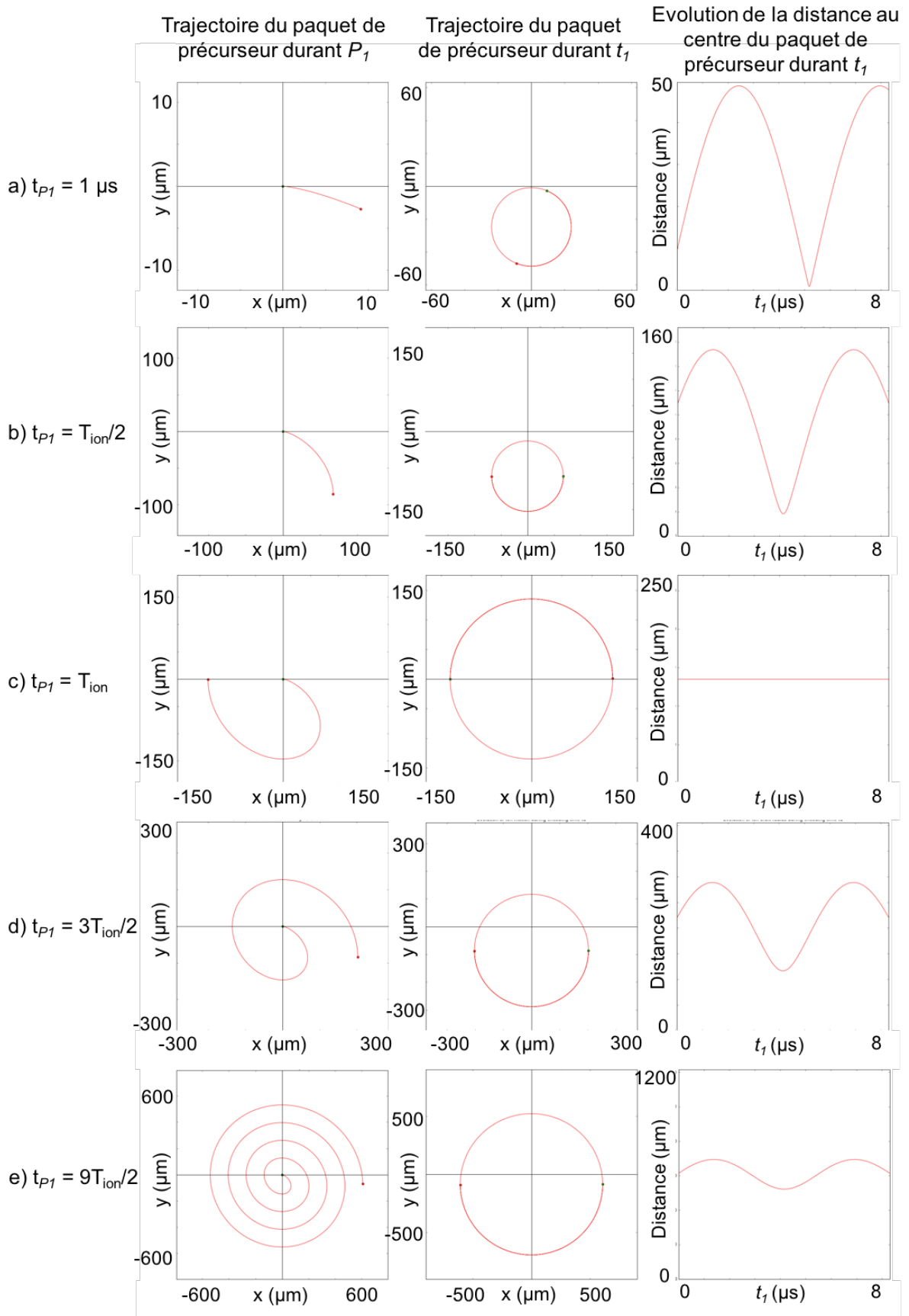


Figure 16 : Trajectoire d'un paquet d'ions précurseurs au cours de P_1 , t_1 et variation de la distance au centre du paquet au cours de t_1 en fonction de la durée de P_1 .

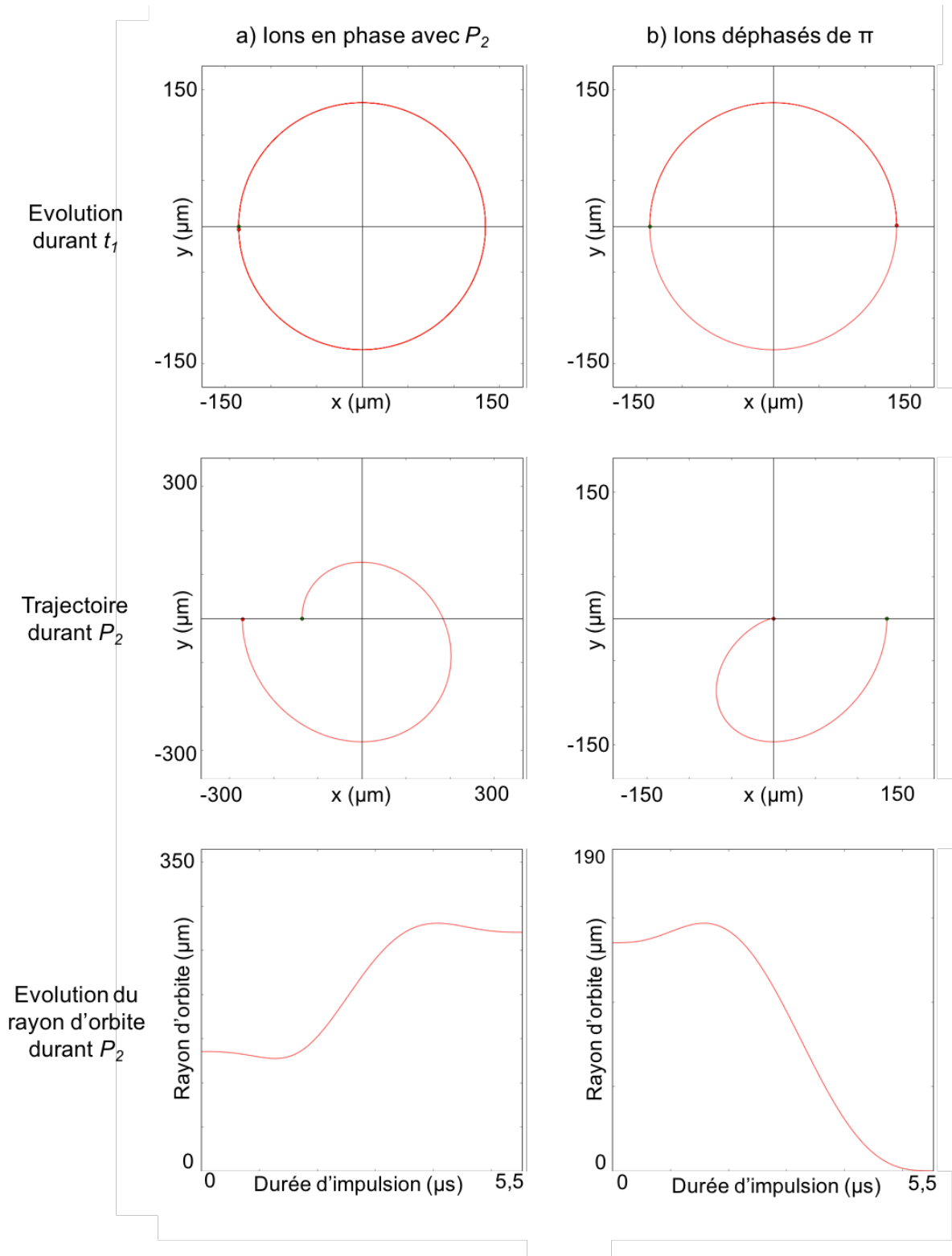


Figure 17 : Effet de P_2 sur l'orbite d'un paquet d'ions précurseurs dans le cas d'impulsions d'encodage synchronisées.

Modulation de la distance au centre du paquet de précurseur après P_2 en fonction de t_1

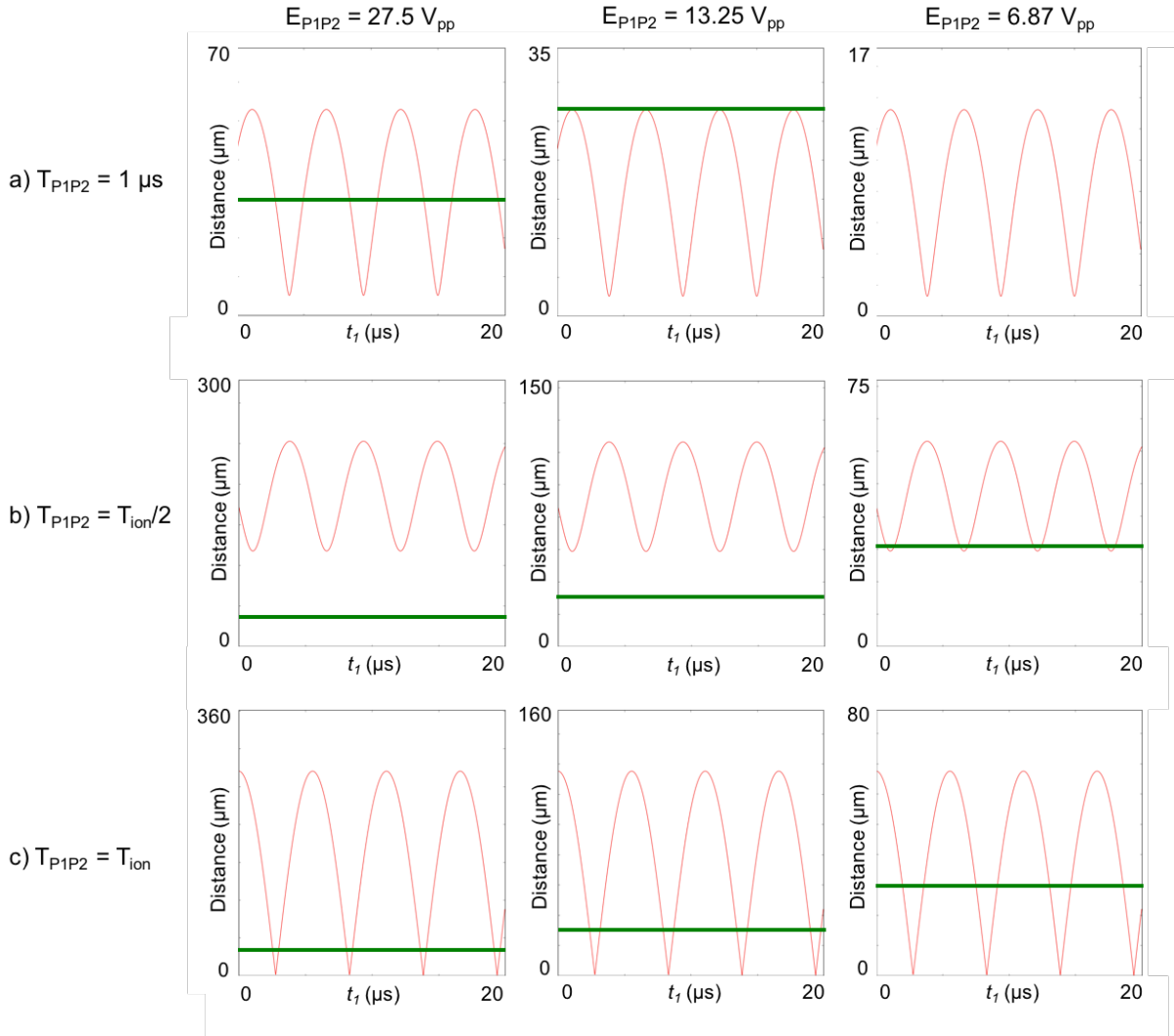


Figure 18 : Modulation de l'efficacité de la fragmentation au cours de t_m en fonction de t_1 pour différents temps et amplitudes des impulsions d'encodage. La ligne verte représente le rayon à mi-hauteur du faisceau laser IRMPD ($30 \mu m$).

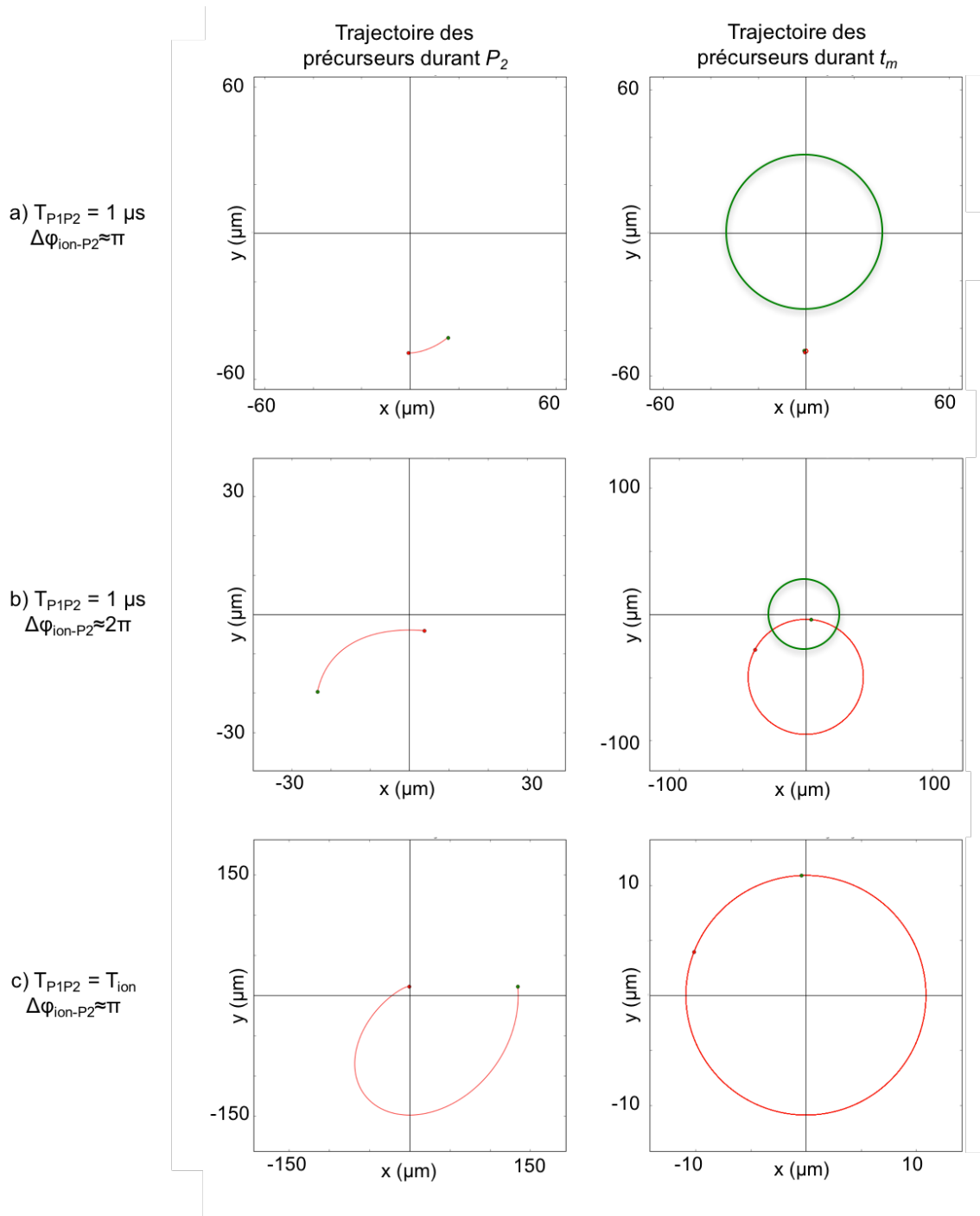


Figure 19 : Effet de P_2 sur l'orbite d'un paquet d'ions précurseurs au cours de t_m dans le cas d'impulsions d'encodage non synchronisées avec : a) un déphasage proche de π ou b) en pseudo-phase avec P_2 ; ou c) dans le cas d'impulsions d'encodage synchronisées et d'un déphasage proche de π avec P_2 . Le cercle vert symbolise la section à mi-hauteur du faisceau laser IRMPD.

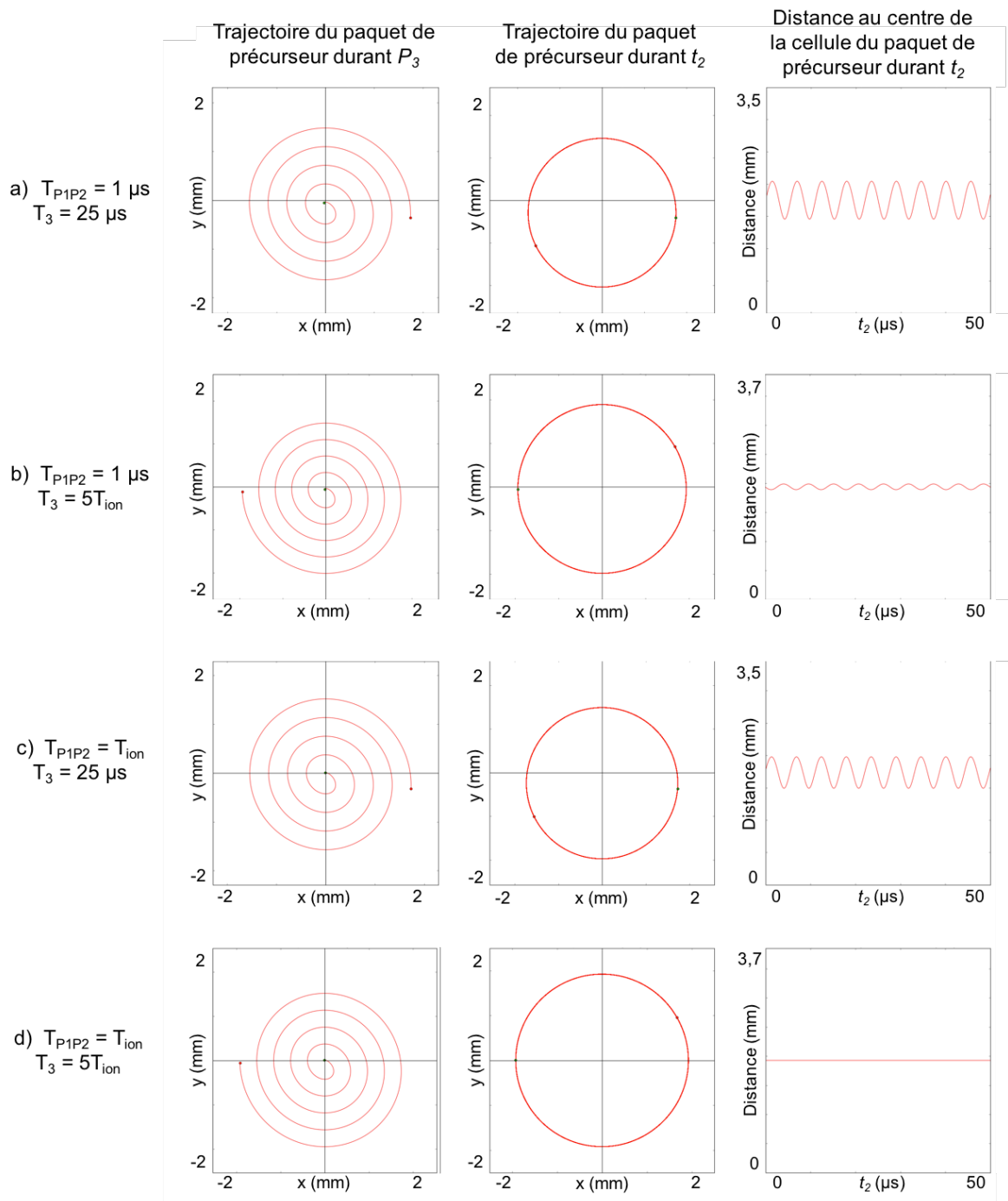
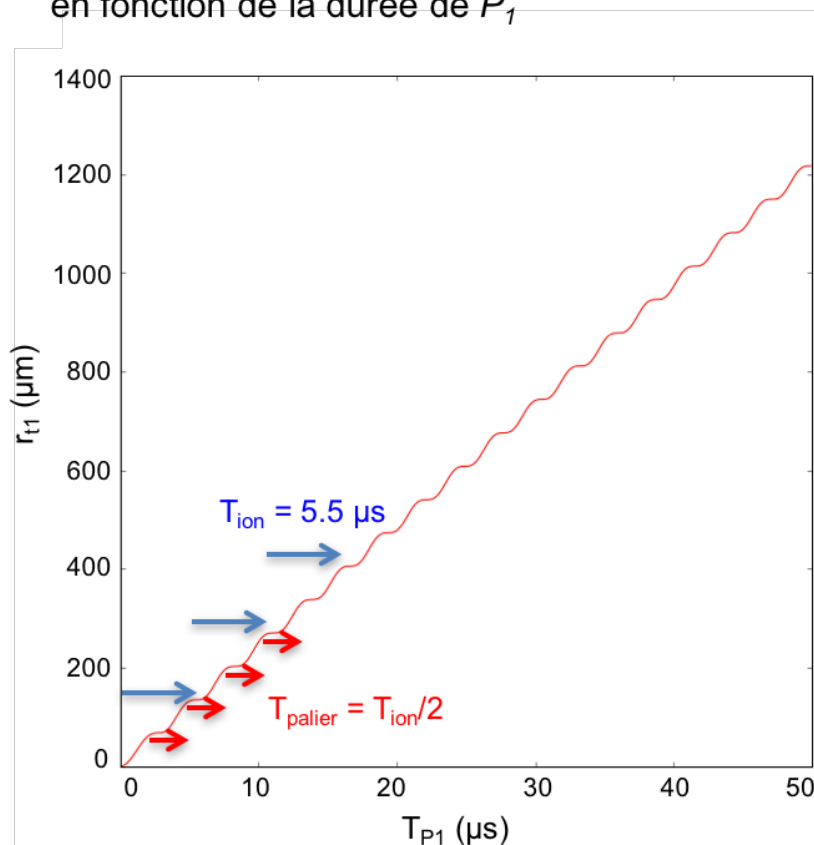


Figure 20 : Effet d'impulsions d'encodage et de P_3 sur la distance par rapport au centre du paquet d'ions précurseurs au cours de t_2 dans le cas de : a) P_1 , P_2 et P_3 non synchronisées ; b) P_1 et P_2 non synchronisées, P_3 synchronisées ; c) P_1 et P_2 synchronisées, P_3 non synchronisées ; d) P_1 , P_2 et P_3 synchronisées.

Rayon d'orbite des ions au cours de t_1
en fonction de la durée de P_1

a) Calcul exact
du rayon
d'orbite



b) Calcul
approximatif
du rayon d'orbite

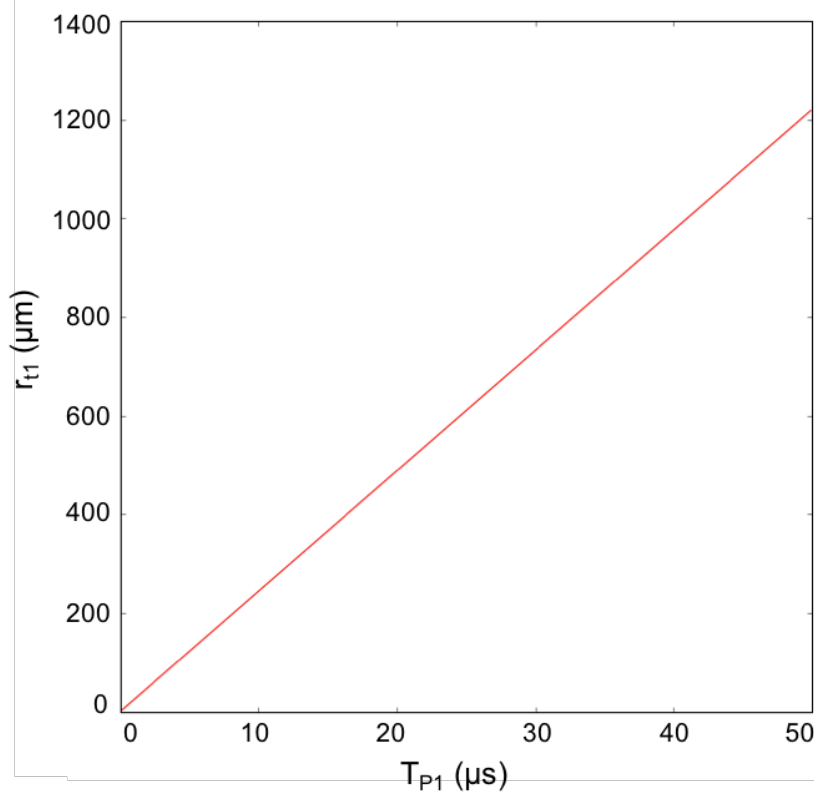


Figure 21 : Effet de P_1 sur le rayon d'orbite du paquet de ions précurseurs (m/z 800) au cours de t_1 dans le cas : a) du calcul exact et b) de l'approximation faite en négligeant V_0^* .

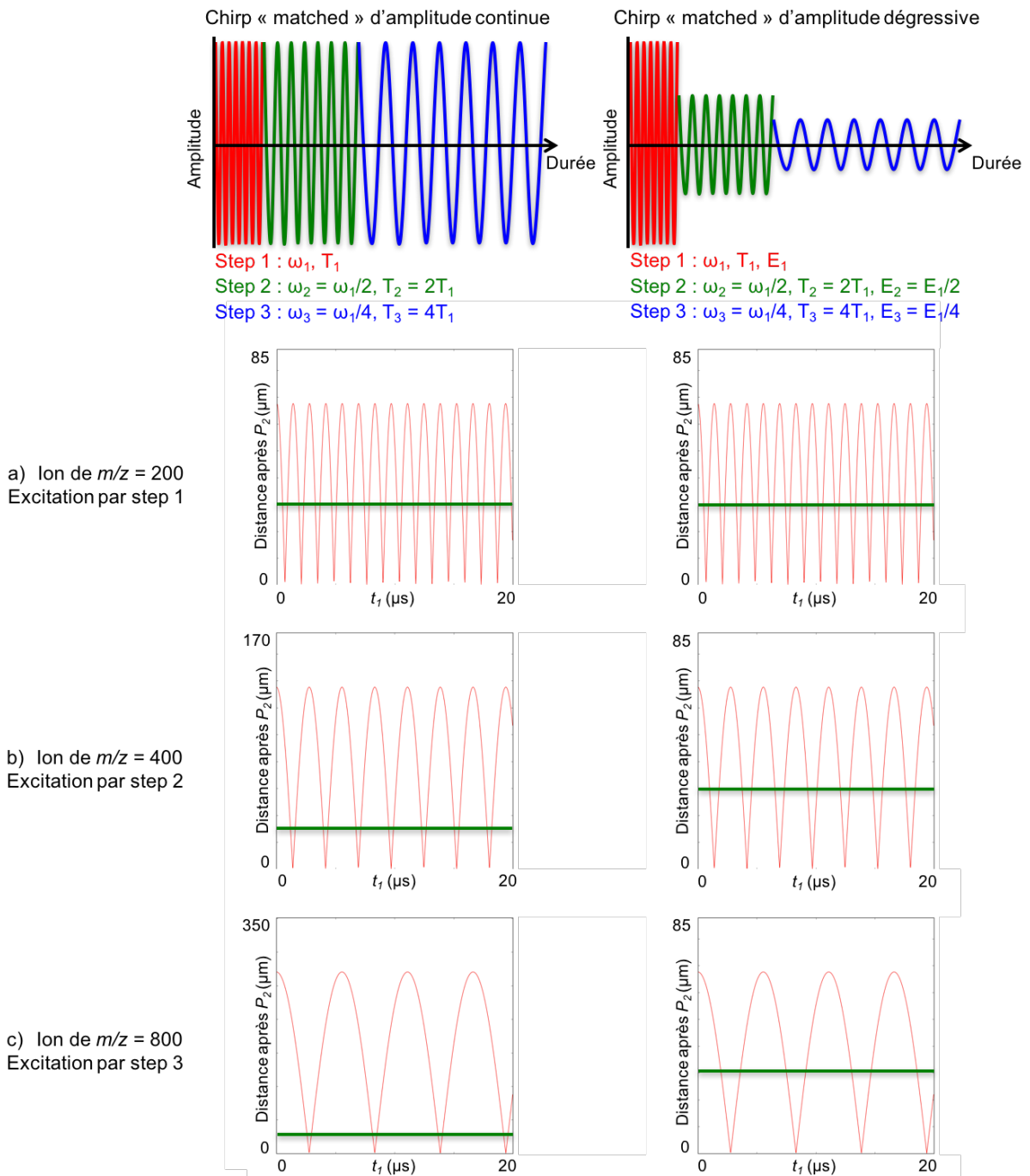


Figure 22 : Effet de trains d'impulsions synchronisés d'amplitude continue ou adaptée à la fréquence du pas sur l'efficacité de fragmentation au cours de t_m . La ligne verte représente le rayon à mi-hauteur du faisceau laser IRMPD. Les figures représentent la distance à laquelle est propulsé le paquet d'ion à la fin de P_2 en fonction de t_1 pour différents m/z .

b) Cas des fragments

Après avoir discuté du comportement des paquets d'ions précurseurs tout au long de la séquence d'impulsions, il est maintenant nécessaire d'étudier la manière dont ceux-ci se fragmentent durant t_m , de modéliser les trajectoires des fragments ainsi que leur distribution finale avant P_3 , puis d'observer l'effet de P_3 sur cette distribution et son comportement durant t_2 .

1) Production d'un fragment

Supposons un paquet d'ions précurseurs évoluant sans sortir du rayon du laser qui est irradié jusqu'à produire un ion fragment et une molécule neutre, désignés ci-après comme fragment et neutre, respectivement. En supposant qu'il n'y ait aucune variation de l'énergie cinétique de l'ion précurseur lors de l'irradiation, le fragment et le neutre vont hériter des vitesses en x et en y de leur ion précurseur au moment de leur production. On peut écrire :

$$E_{c,prec} = E_{c,neutre} + E_{c,frag}$$

Soit

$$\frac{1}{2}m_{prec}v_{prec}^2 = \frac{1}{2}(m_{neutre}v_{prec}^2 + m_{frag}v_{prec}^2)$$

Ce qui signifie que l'énergie cinétique du précurseur va être distribuée entre ses produits en fonction de leur masse. Le neutre, n'étant pas soumis à l'influence du champ magnétique, va être éjecté vers les parois de la cellule suivant une trajectoire rectiligne tangente à la trajectoire du précurseur en son point de production. Le fragment, possédant une charge, est soumis au champ magnétique et a une fréquence cyclotronique qui lui est propre. La Figure 23 montre les trajectoires simulées d'un précurseur et de la production soit d'un fragment ayant un m/z plus faible (a), soit d'un fragment ayant un m/z plus élevé (b). Ce dernier cas de figure peut se produire lorsqu'un précurseur multichargé produit deux fragments chargés, l'un ayant un m/z supérieur, et l'autre un m/z inférieur à celui du précurseur. Dans le cas d'un fragment ayant un rapport m/z plus faible, il possède une fréquence cyclotronique plus élevée que celle de son précurseur. Cependant, ayant hérité de sa vitesse, il en résulte une diminution du rayon de la trajectoire. Le cas inverse se produit pour un fragment ayant un m/z plus élevé, et donc une fréquence cyclotronique plus faible que celle de son précurseur. Ce fragment ayant hérité de la vitesse de son précurseur, il en résulte une augmentation du rayon de la trajectoire. L'augmentation ou la diminution du rayon de la trajectoire du fragment par rapport à

celui de son précurseur dépend du rapport entre leurs m/z , ce qui est représenté sur la Figure 24. On remarque que :

$$\frac{(m/z)_{frag}}{(m/z)_{prec}} = \frac{r_{orbite,frag}}{r_{orbite,prec}}$$

La Figure 25 montre les trajectoires et l'évolution de la position du paquet d'ions précurseurs ($m/z = 800$) et d'un ion fragment ($m/z = 700$). Ce fragment ayant une fréquence angulaire plus élevée que celle de l'ion précurseur, il en résulte une accumulation de phase plus rapide.

2) Distribution des fragments à la fin de t_m

Il est maintenant nécessaire de considérer la distribution du nuage d'ions fragments à la fin de t_m . Pour cela, nous devons établir un modèle de fragmentation qui est le plus en adéquation avec nos paramètres expérimentaux. Pour simplifier ces simulations, nous prendrons en compte un ion précurseur et un type d'ion fragment, dans le cas d'impulsions d'encodage « matched » selon la perspective discutée auparavant. Ces simulations sont également réalisées en utilisant un modèle de fragmentation linéaire, avec une fréquence de production de fragment fixe, et ce jusqu'à la fin de l'irradiation laser. Ceci permet de simplifier le modèle et d'avoir une meilleure vue d'ensemble sur le comportement du nuage d'ions.

La Figure 26 représente le paquet d'ions précurseurs ($m/z 800$) et la production de fragments ($m/z 700$) à une fréquence fixée à $\nu_{prod} = 10/T_{prec}$. Chaque fragment produit va évoluer sur une trajectoire différente à la même fréquence angulaire, et on observe l'évolution de la distribution du nuage d'ions fragments pendant une durée équivalente à deux périodes de rotation du paquet d'ions précurseurs. Cette distribution va dépendre du rayon d'orbite du fragment et donc du rapport entre les rapports m/z du fragment et du précurseur. En suivant ce modèle et en l'extrapolant jusqu'à la fin de t_m , on obtient la distribution finale des ions fragments juste avant P_3 (Figure 27). La fréquence de production d'ions fragments ν_{prod} a été augmentée pour une meilleure visualisation des résultats. On observe comme attendu que la distribution des fragments dépend du rapport entre les m/z du fragment et du précurseur. Le nombre de fragments tangents à la trajectoire semble être corrélé au dénominateur de la fraction irréductible de ce rapport. De plus, la distribution complète n'est obtenue qu'après un temps d'irradiation durant un nombre de tours du paquet de précurseurs égal au numérateur de cette fraction irréductible (Figure 28). Il s'agit du nombre de tours nécessaires pour que le précurseur se

synchronise avec le premier fragment produit. Passé ce délai, et dans le cas où la fréquence de production de fragment est fixe et que $T_{\text{prec}} = nT_{\text{prod}}$, le précurseur va produire à chaque fois un nouveau fragment qui aura la même trajectoire qu'un fragment déjà produit. Par exemple, dans le cas d'un précurseur de m/z 800 et d'un fragment de m/z 700, le rapport des m/z fragment sur parent est de 700/800 soit 7/8. Le numérateur représente le nombre de tours du précurseur dans le faisceau laser nécessaires à l'obtention de la distribution complète du nuage de fragments. Le dénominateur représente le nombre de fragments tangents à la trajectoire du parent après l'obtention de la distribution complète.

3) Influence de P_3 sur la distribution des fragments et précession au cours de t_2

Le nuage de fragments va maintenant subir l'effet de l'impulsion P_3 . Nous allons considérer deux cas possibles, c'est-à-dire soit une impulsion *synchronisée* conservant le centre d'orbite de l'ion excité, soit une impulsion *non synchronisée* entraînant un décalage de ce centre.

- **Cas d'une impulsion P_3 synchronisée avec $t_{\text{pulse}} = 10 T_{\text{frag}}$.** La Figure 29 montre la montée sur orbite ainsi que la distribution avant et après l'application de l'impulsion. Comme la durée de l'impulsion dépend de la période de l'ion et que son amplitude est constante, les ions de différents m/z ne sont pas envoyés à la même distance dans la cellule mais le centre de gravité de chaque distribution possède la même phase. On observe que la distribution n'est pas perturbée par l'impulsion, et que les ions conservent leur position à la fin de l'impulsion. Le nuage est donc propulsé tel quel sur orbite, et va ensuite tourner dans la cellule durant t_2 . Les Figures 30 à 33 montrent l'évolution de ce nuage au cours de t_2 pendant une durée égale à la période de l'ion fragment. On observe tout d'abord que la distribution tourne d'un angle égal à 2π fois le quotient entre les rapports m/z du fragment et du précurseur à chaque tour dans la cellule. En annotant 4 ions et en suivant leur évolution dans cette distribution, on se rend compte qu'ils reviennent bien à leur position de départ après un tour dans la cellule, témoignant d'une trajectoire circulaire. Cependant, leur centre d'orbite avant P_3 n'étant pas le même, et celui-ci étant conservé, ils ne possèdent pas tous le même centre d'orbite. Cela crée donc des trajectoires croisées, et donc une rotation de la distribution.

- **Cas d'une impulsion P_3 non synchronisée avec $t_{pulse} = 40 \mu s$.** La Figure 34 montre la montée sur orbite ainsi que la distribution avant et après l'application de l'impulsion. La distance à laquelle les ions sont propulsés ne dépendant pas de leur rapport m/z , ils sont tous envoyés à la même distance. Cependant, n'ayant pas tous la même période de rotation, le centre de gravité de leur distribution a une phase différente à la fin de l'impulsion. De plus, on observe que la distribution des ions s'est déplacée, résultant du fait qu'ils n'ont pas réalisé un nombre de tours entier lors de leur excitation. Cependant, même si la distribution a effectué une rotation, sa forme reste inchangée. Son évolution au cours de t_2 est visible sur les Figures 35 à 38. Le même phénomène de rotation s'applique à la distribution, ainsi que le retour à leur position d'origine pour tous les ions de la distribution après un tour dans la cellule. Chaque ion d'un même rapport m/z va subir l'impulsion *non synchronisée* de la même manière, signifiant que le déplacement du centre de l'orbite de ces ions sera le même. La distribution des centres d'orbite sera conservée mais décalée.

4) Discussion et perspectives

Les simulations réalisées montrent les trajectoires et la distribution du nuage d'ions fragments produits au cours de t_m puis pendant P_3 et t_2 , dans le cas d'impulsions P_1 et P_2 *synchronisées* avec la période du précurseur. Premièrement, dans le cas où la fragmentation ne perturbe pas l'énergie cinétique des ions précurseurs, les ions fragments héritent de la vitesse de leur précurseur, mais n'ayant pas la même fréquence de résonance cyclotronique, ils sont déviés sur une trajectoire tangente à la trajectoire des précurseurs en leur point de production. Le rayon d'orbite d'un fragment est modulé par le quotient entre les rapports m/z du fragment et du précurseur. On a :

$$f_{ion} \propto \left(\frac{z}{m}\right)_{ion} \text{ avec } T_{ion} = 1/f_{ion} \text{ donc } T_{ion} \propto \left(\frac{m}{z}\right)_{ion}$$

$$T_{ion} = P_{orbite,ion}/v_{ion} \text{ avec } P_{orbite,ion} = 2\pi r_{orbite,ion} \text{ donc } T_{ion} = 2\pi r_{orbite,ion}/v_{ion}$$

Avec $P_{orbite,ion}$ le périmètre de l'orbite de l'ion. Dans l'hypothèse où aucune énergie n'est apportée au système lors de la fragmentation, les vitesses des précurseurs et de leurs fragments sont égales et on a :

$$\frac{T_{frag}}{T_{prec}} = \frac{v_{ion} 2\pi r_{orbite,frag}}{v_{ion} 2\pi r_{orbite,prec}}$$

Donc

$$\frac{(m/z)_{frag}}{(m/z)_{prec}} = \frac{r_{orbite,frag}}{r_{orbite,prec}}$$

Deuxièmement, la distribution des ions au cours de t_m dépend aussi de ce rapport. Même si cela a été prouvé empiriquement, la preuve analytique reste toujours à définir. Troisièmement, nous avons démontré la conservation de la distribution de t_m à t_2 ainsi que la rotation de la distribution générée par les trajectoires circulaires croisées des fragments, dans le cas d'une impulsion P_3 *synchronisée* ou *non*. De la même manière, on remarque que cette distribution tourne sur elle-même d'un nombre de tours égal au quotient entre les rapports m/z du fragment et du précurseur, mais cela n'a pas encore été démontré analytiquement. Néanmoins, ces distributions ont été réalisées tout d'abord en envisageant des quotients simples entre les rapports m/z du fragment et du précurseur, dans le cas d'un modèle de fragmentation linéaire, et avec des impulsions P_1 et P_2 *synchronisées*. La Figure 39 montre des simulations de nuages de fragments à la fin de t_m dans le cas de la substance P, avec un précurseur (m/z 674,3713) et ses fragments c_4 (m/z 496,3354), c_5 (m/z 624,394, majoritaire), c_6 (m/z 752,4626), c_7 (m/z 899,521) et c_9 (m/z 1103,6109). Etant donné que les rapports de m/z fragment sur précurseur ne sont pas aussi simples que dans les cas précédents, l'obtention des distributions complètes nécessite un temps d'irradiation par le laser plus long. De plus, plus l'on prolonge cette irradiation, plus la distribution va remplir les espaces vides.

Pour le modèle de fragmentation, nous supposons plutôt que lors de l'irradiation, la fragmentation va suivre un modèle de probabilité de type sigmoïde. Il y a alors trois cas possibles (Figure 40) :

- Si l'irradiation est très intense, la sigmoïde possède une pente très élevée. Tout le paquet d'ions va être fragmenté jusqu'à ce qu'il n'y ait plus aucun précurseur. Les fragments produits seront aussi fragmentés à leur tour, et nous ne serons pas en mesure de réaliser un spectre bidimensionnel (cas a).

- Si l'irradiation est d'intensité moyenne, la sigmoïde possède une pente élevée, on a une fragmentation progressive du paquet d'ions et une production d'ions à fréquence variable. Peu de MS^n seront observés, mais l'ion précurseur ne sera plus présent à la fin de t_m (cas b).

- Si l'irradiation est d'intensité faible, la sigmoïde possède une pente douce, les fragments seront produits tout le long de la trajectoire du paquet d'ions précurseurs à une fréquence variable. Le paquet d'ions précurseurs sera toujours présent à la fin de t_m (cas c).

Dans les trois cas, une portion de la sigmoïde peut être considérée comme quasi-linéaire. Au laboratoire MSAP de l'université de Lille 1, lorsque nous réalisons des expériences 2D, nous ajustons l'intensité du laser afin d'avoir toujours 50% de parents et 50% de fragments pour des temps d'irradiation de l'ordre de la milliseconde. Nous réalisons cette configuration en 1D, donc les ions sont situés au centre de la cellule et donc au centre du laser, bénéficiant ainsi d'une irradiation maximale. Ce type de fragmentation doux s'approche du cas c. Il faudrait envisager lors des futurs travaux de changer le modèle linéaire pour ce modèle sigmoïde, avec une fréquence de fragmentation variant au cours de l'irradiation laser afin d'observer son influence sur la distribution du nuage résultante.

En réalisant des impulsions d'encodage *non synchronisées*, le paquet d'ions précurseurs va se trouver sur une orbite non centrée par rapport au centre de la cellule, ce qui va générer une intensité d'irradiation non constante et dépendante de la trajectoire du précurseur. Il serait donc intéressant de simuler cette fragmentation dans ce cas. Etant donné que nous pouvons calculer la position précise du paquet d'ions au cours de t_m , nous pouvons déterminer la distance $d_i(t)$ à laquelle celui-ci se trouve du centre de la cellule à l'instant t . Il est alors possible d'exprimer l'intensité du faisceau laser selon une loi gaussienne telle que :

$$I_{d(t)} = I_0 e^{-4 \ln 2 \left(\frac{d_i(t)}{FWHM} \right)^2}$$

Où I_0 est l'intensité du laser en son centre, FWHM sa largeur à mi-hauteur et $d_i(t)$ la distance à laquelle se situe le paquet d'ions par rapport au centre de la cellule telle que :

$$d_i(t) = \sqrt{x_i^2(t) + y_i^2(t)}$$

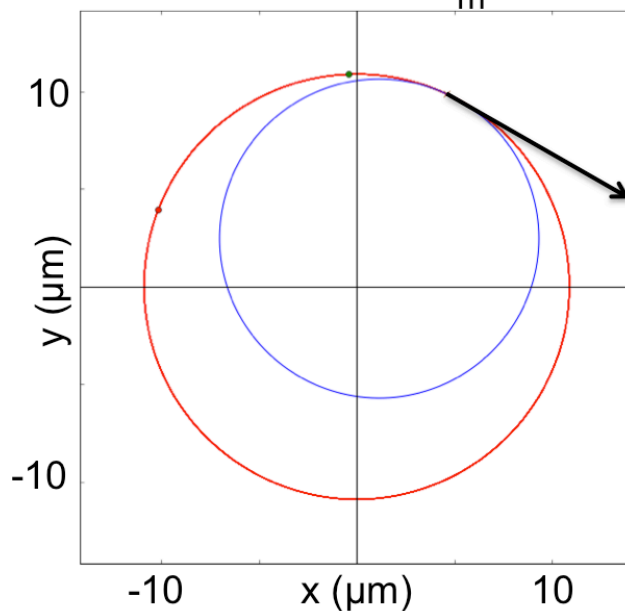
Où $x(t)$ et $y(t)$ sont les coordonnées du paquet d'ions au cours du temps.

Même si l'utilisation d'un modèle sigmoïde ou/et la prise en compte du décalage de centre va radicalement changer les distributions de fragments observées à la fin de t_m , celles-ci seront affectées de la même manière que précédemment par l'impulsion P_3 . Ainsi, les conclusions de nos simulations quant

aux rayons d'orbite des fragments, à la conservation de la distribution du nuage au cours de t_m jusqu'à la fin de P_3 , à la rotation de la distribution au cours de t_2 ou même aux trajectoires croisées des fragments peuvent être extrapolées à des cas plus réalistes.

Trajectoires du paquet de précurseurs et du fragment au cours de t_m

a) $(m/z)_{\text{frag}} < (m/z)_{\text{prec}}$



b) $(m/z)_{\text{frag}} > (m/z)_{\text{prec}}$

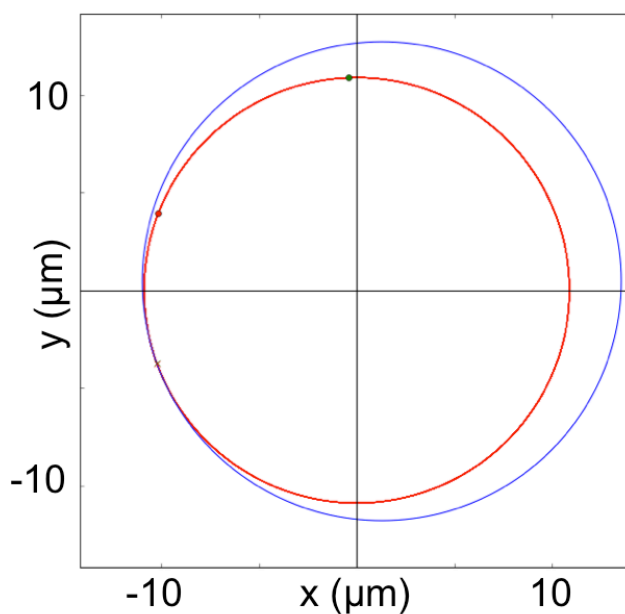


Figure 23 : Trajectoires du paquet de ions précurseurs (rouge) et d'un fragment produit (bleu) au cours de t_m dans le cas a) d'un fragment de m/z inférieur et b) de m/z supérieur au m/z du précurseur. La flèche noire représente la trajectoire d'éjection du neutre produit lors de la fragmentation.

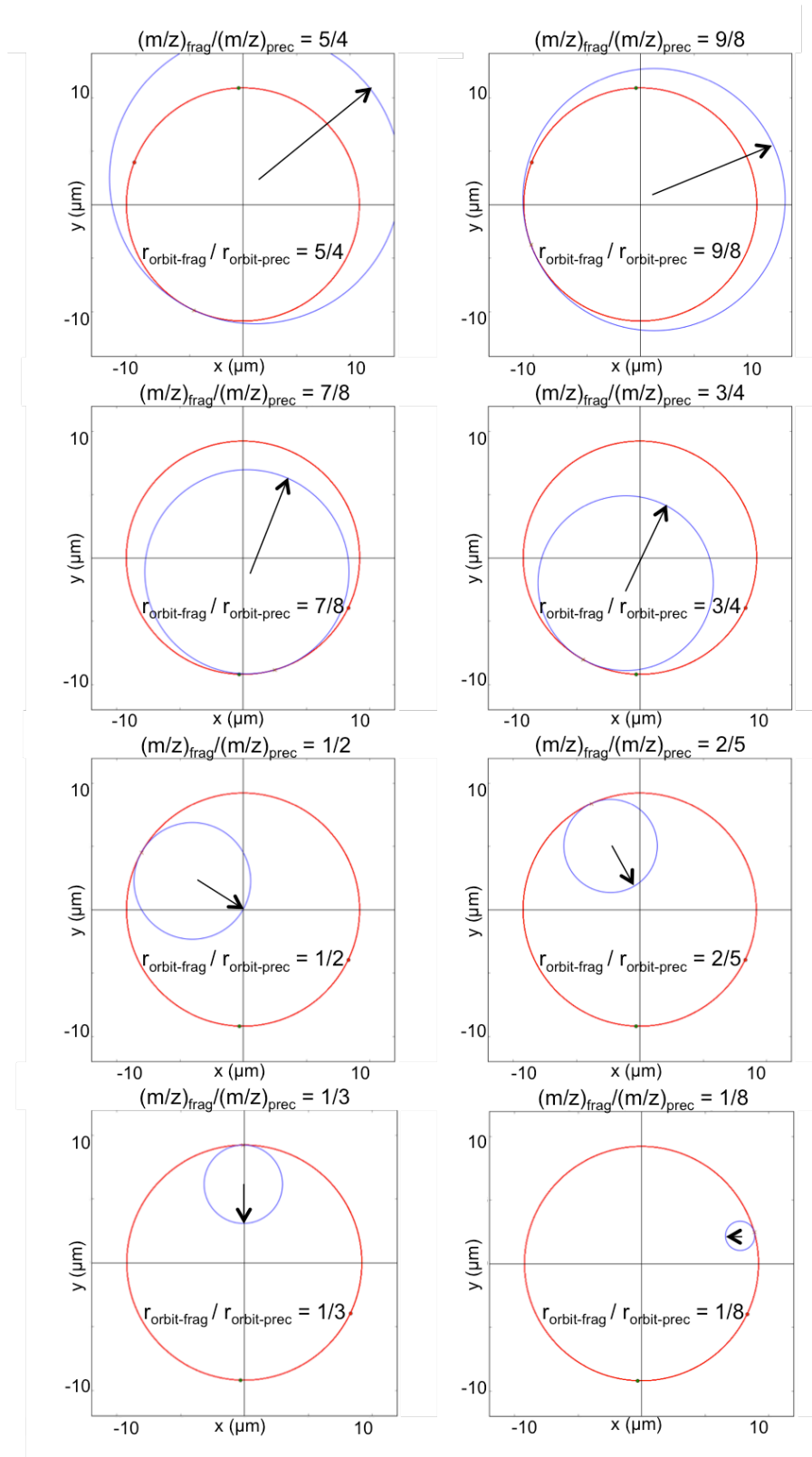


Figure 24 : Influence de la perte de masse sur le rayon de l'orbite du fragment. Trajectoires du paquet d'ions précurseurs (rouge) et d'un fragment produit (bleu) au cours de t_m dans le cas de différents rapports de m/z fragment sur parent. Les flèches noires représentent les rayons des orbites des ions fragments.

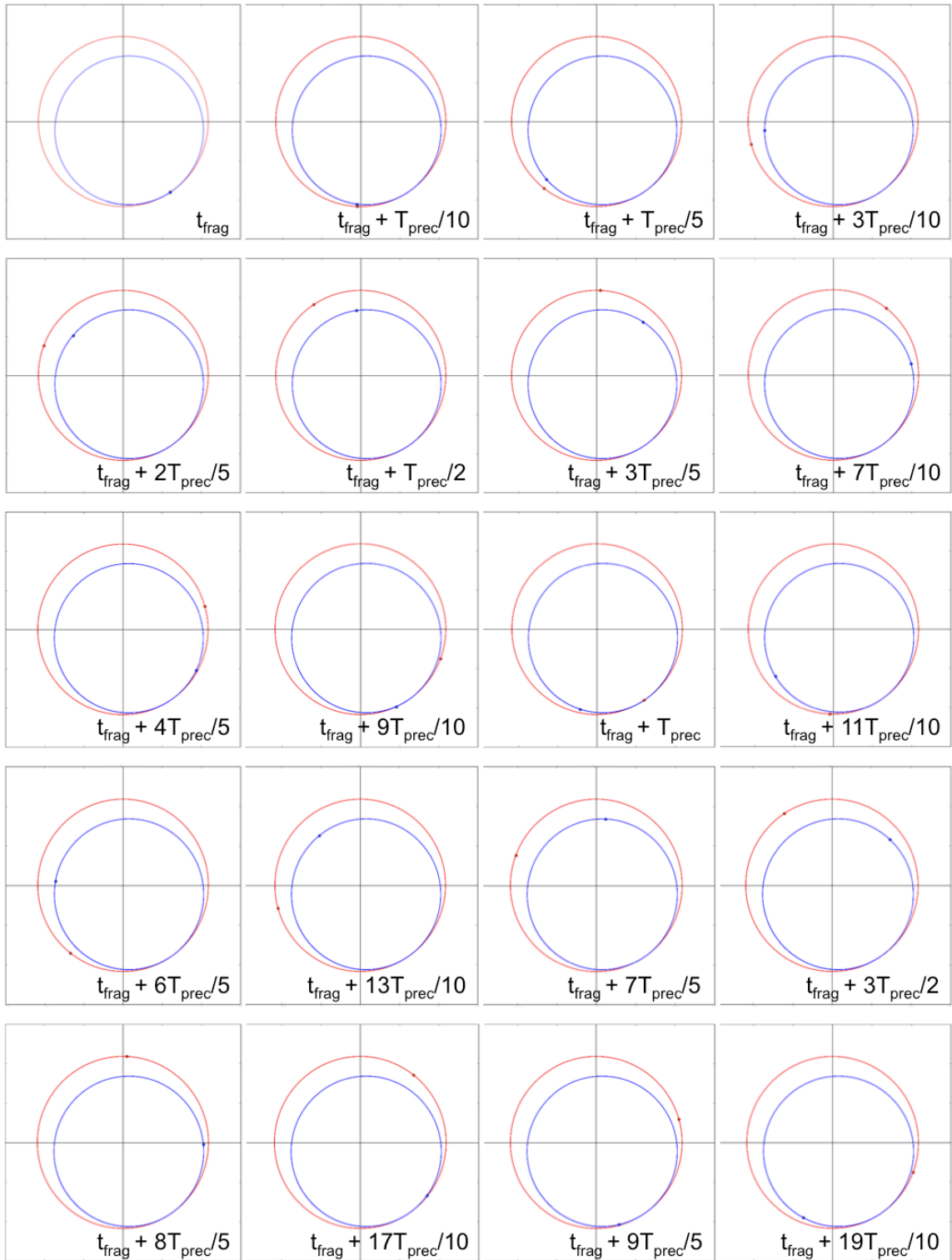


Figure 25 : Evolution du paquet de ions précurseurs (rouge) et d'un fragment (bleu) produit à t_{frag} . Les cercles représentent les trajectoires et les points les positions. Echelle arbitraire.

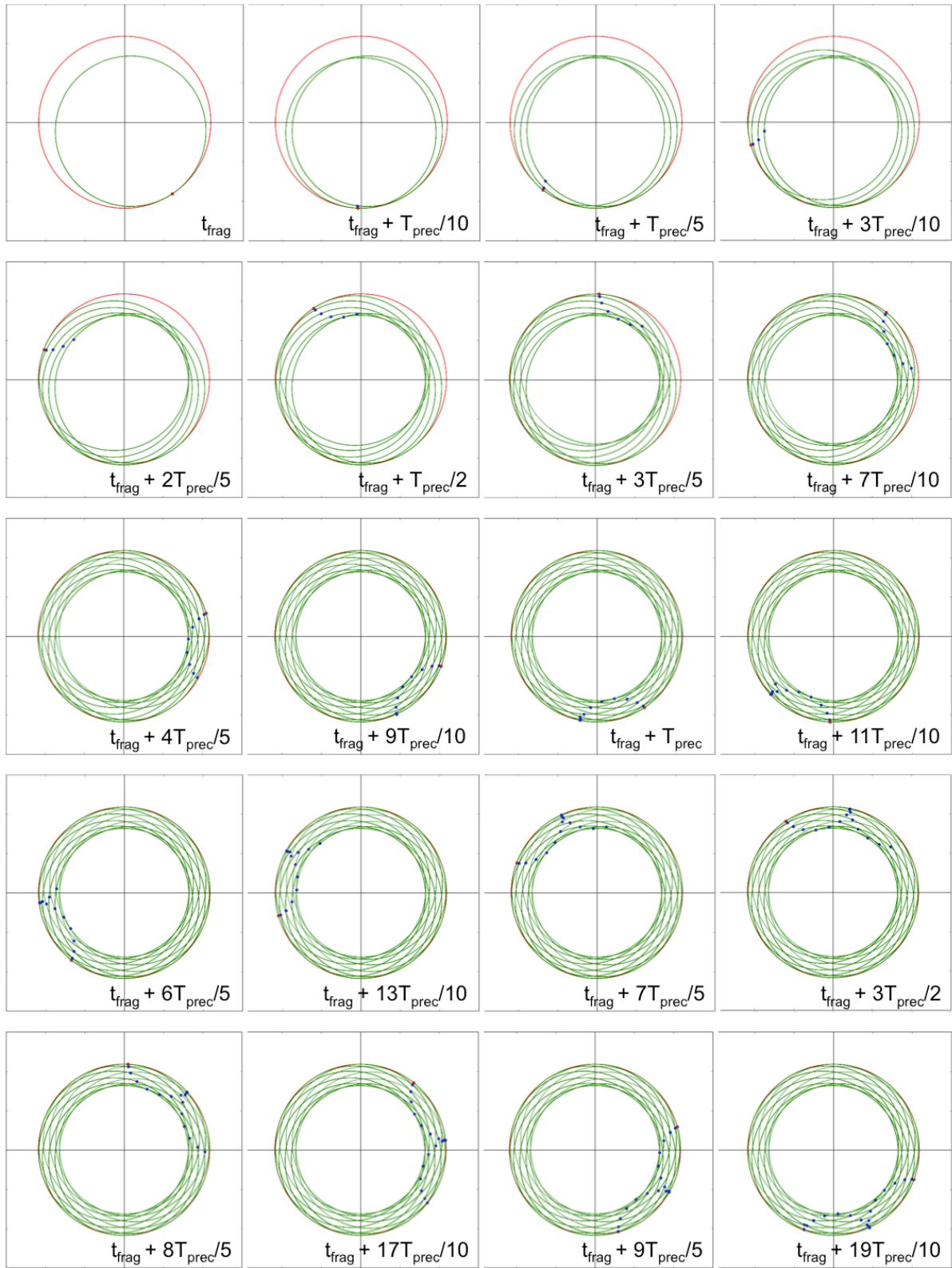


Figure 26 : Evolution du paquet de ions précurseurs (trajectoire et position en rouge) et d'un type de fragment (trajectoires en vert, position en bleu). Le paquet des précurseurs va produire un premier fragment à t_{frag} puis les suivants à une fréquence de $10/T_{prec}$. Echelle arbitraire.

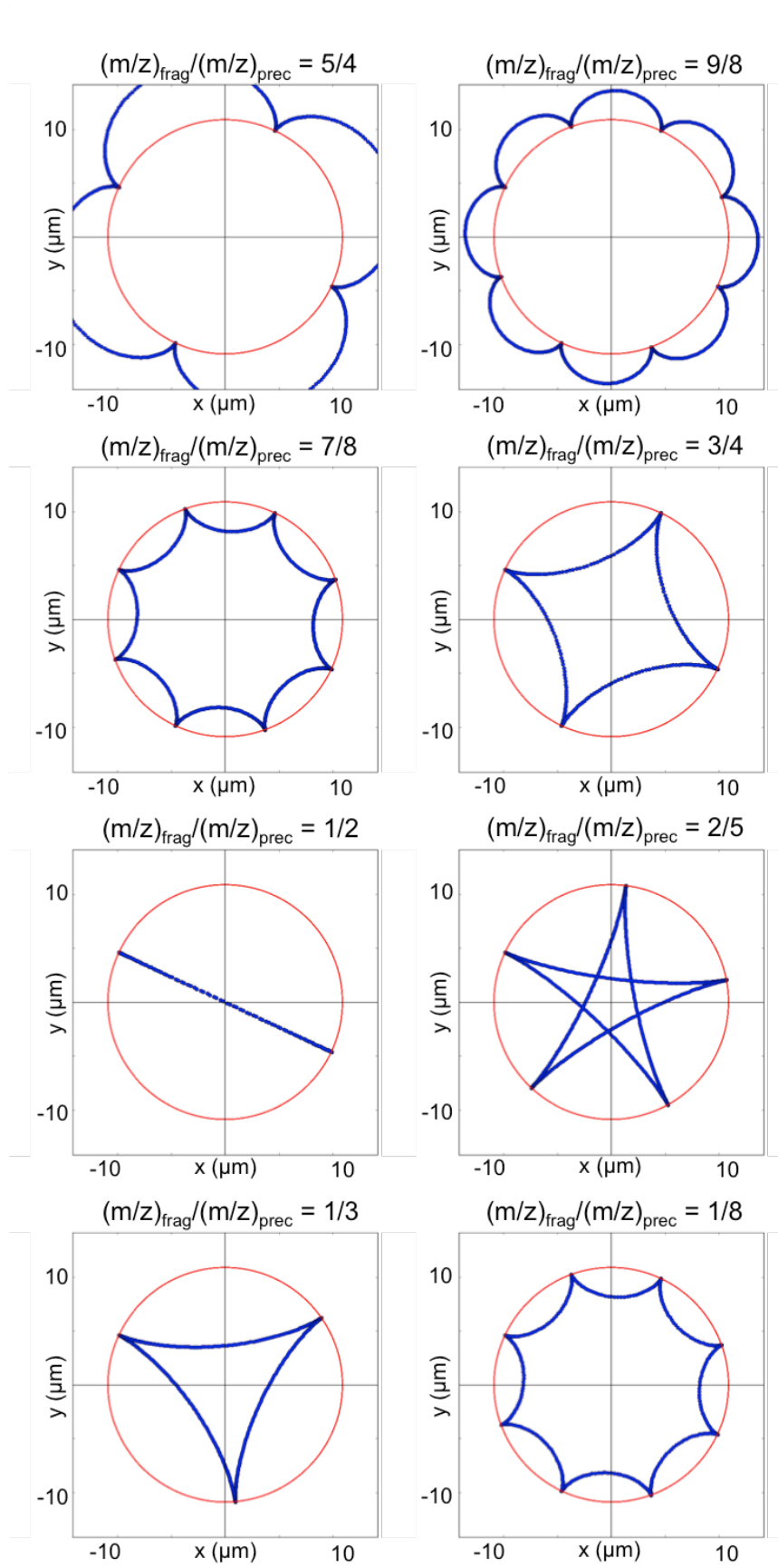


Figure 27 : Influence du rapport de m/z sur la distribution à la fin de t_m . En rouge la trajectoire du paquet des précurseurs, en bleu la position des ions fragments.

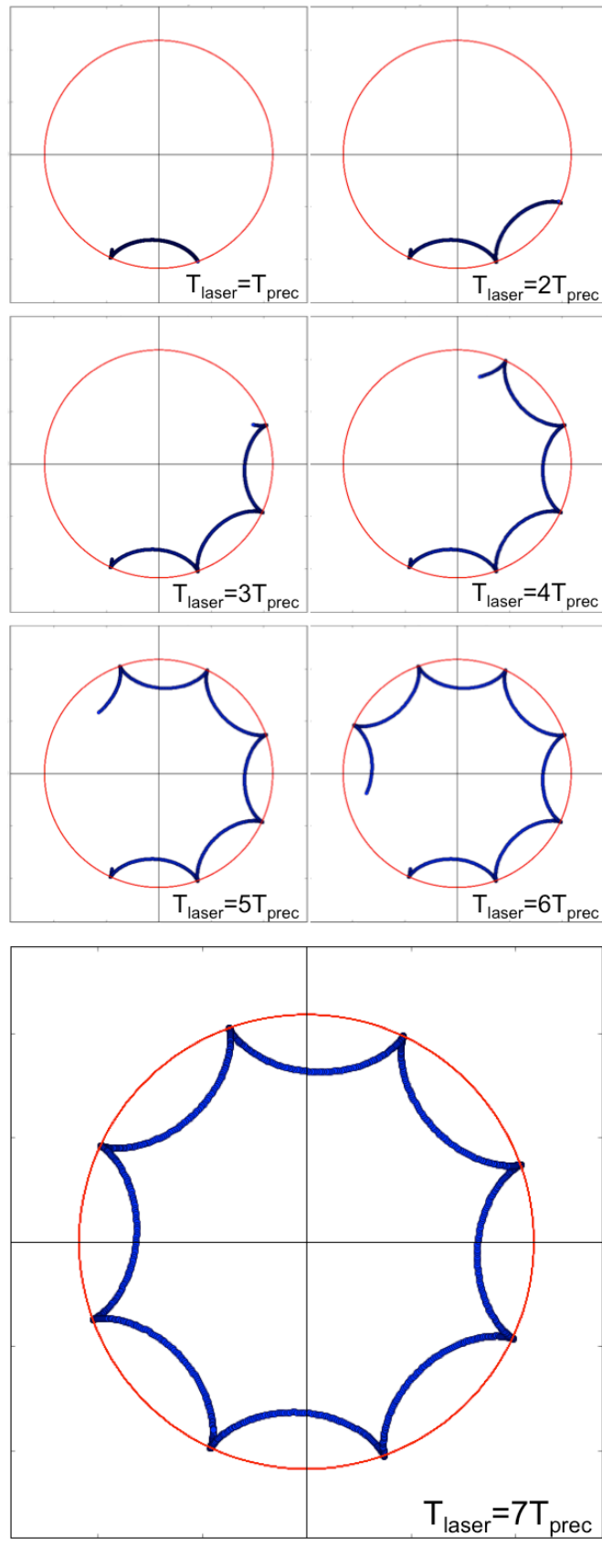


Figure 28 : Impact de la durée d'irradiation sur la distribution à la fin de t_m . En rouge la trajectoire du paquet des ions précurseurs, en bleu la position des ions fragments (m/z 700). Echelle arbitraire.

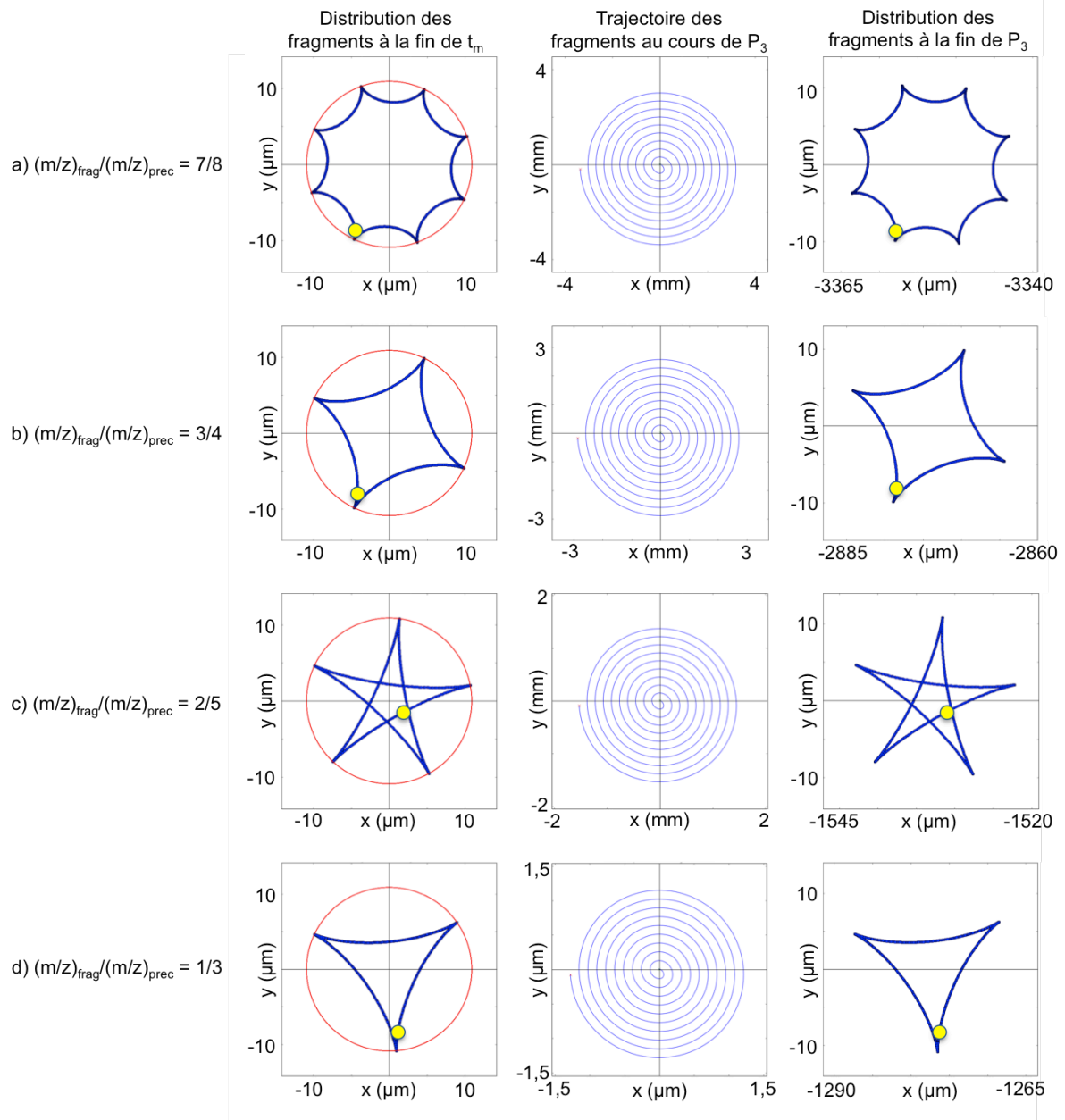


Figure 29 : Influence de P_3 sur la distribution du nuage de fragments dans le cas d'une impulsion synchronisée d'une durée $t_{P_3} = 10T_{frag}$. Le point jaune symbolise un fragment précis.

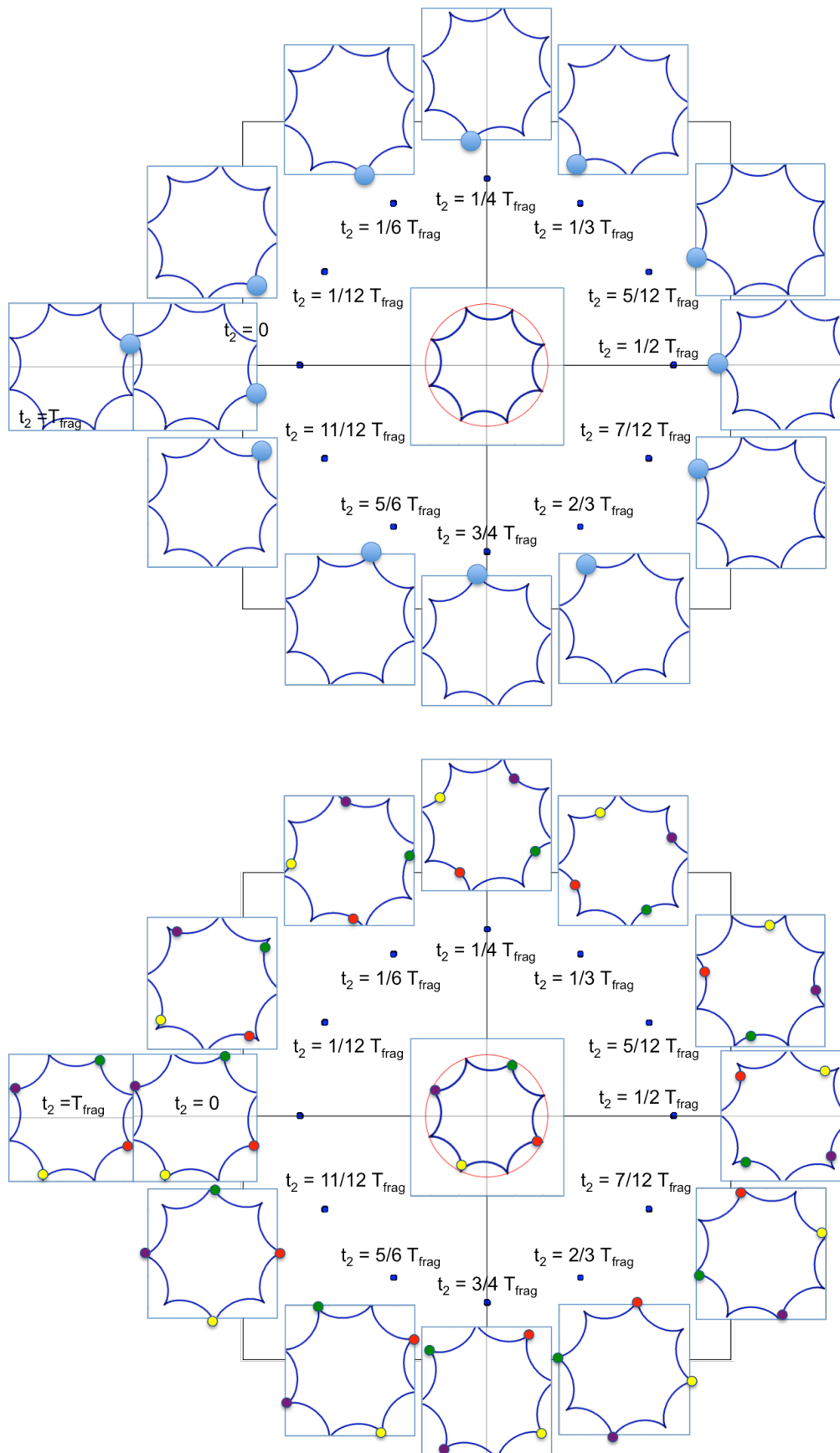


Figure 30 : Evolution des fragments de m/z 700 au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{\text{frag}}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 synchronisée. En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.

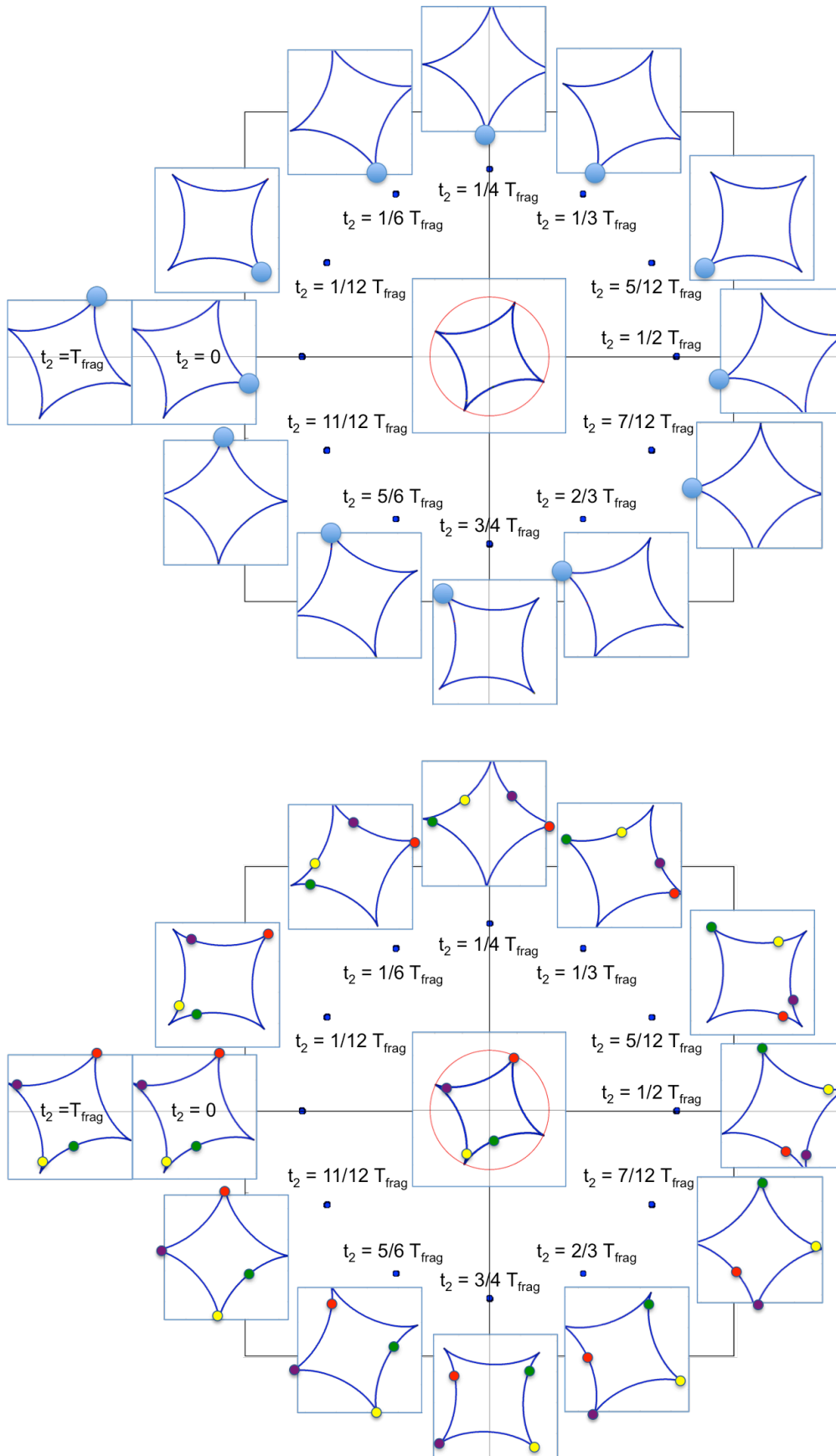


Figure 31 : Evolution des fragments de m/z 600 au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 synchronisée. En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.

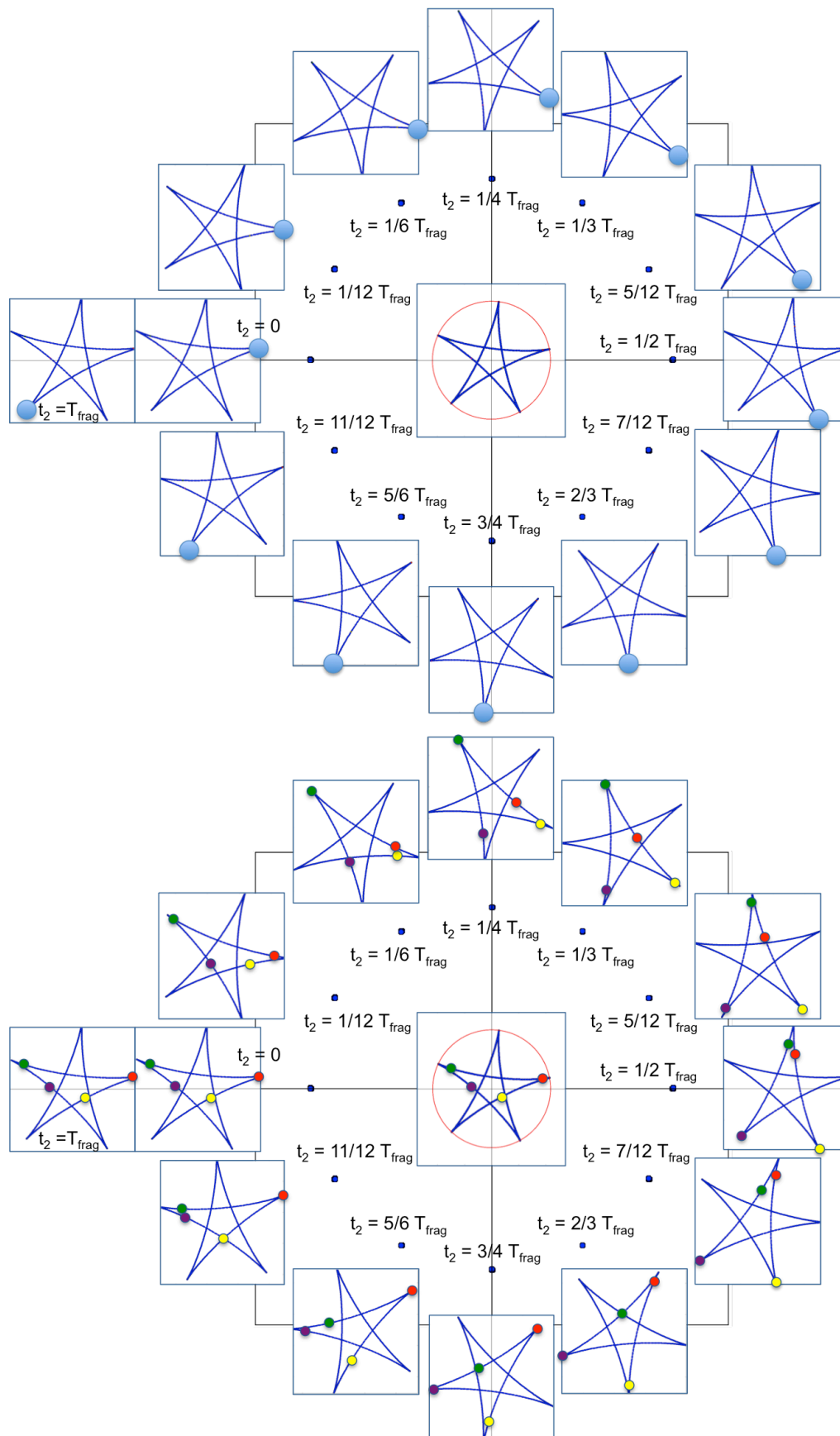


Figure 32 : Evolution de fragments de m/z 320 au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 synchronisée. En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.

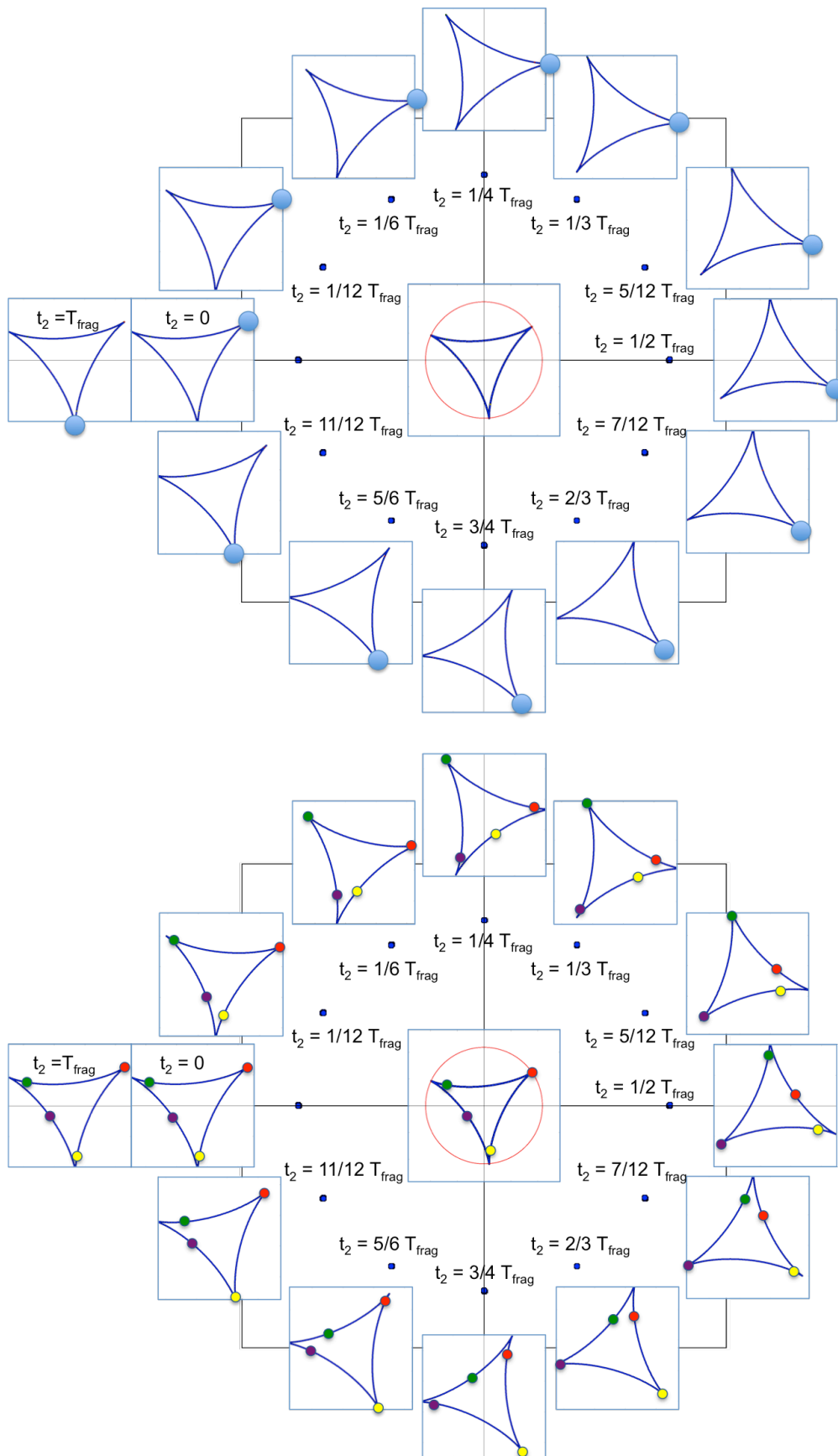


Figure 33 : Evolution des fragments de m/z 266,66 au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{\text{frag}}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 synchronisée. En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.

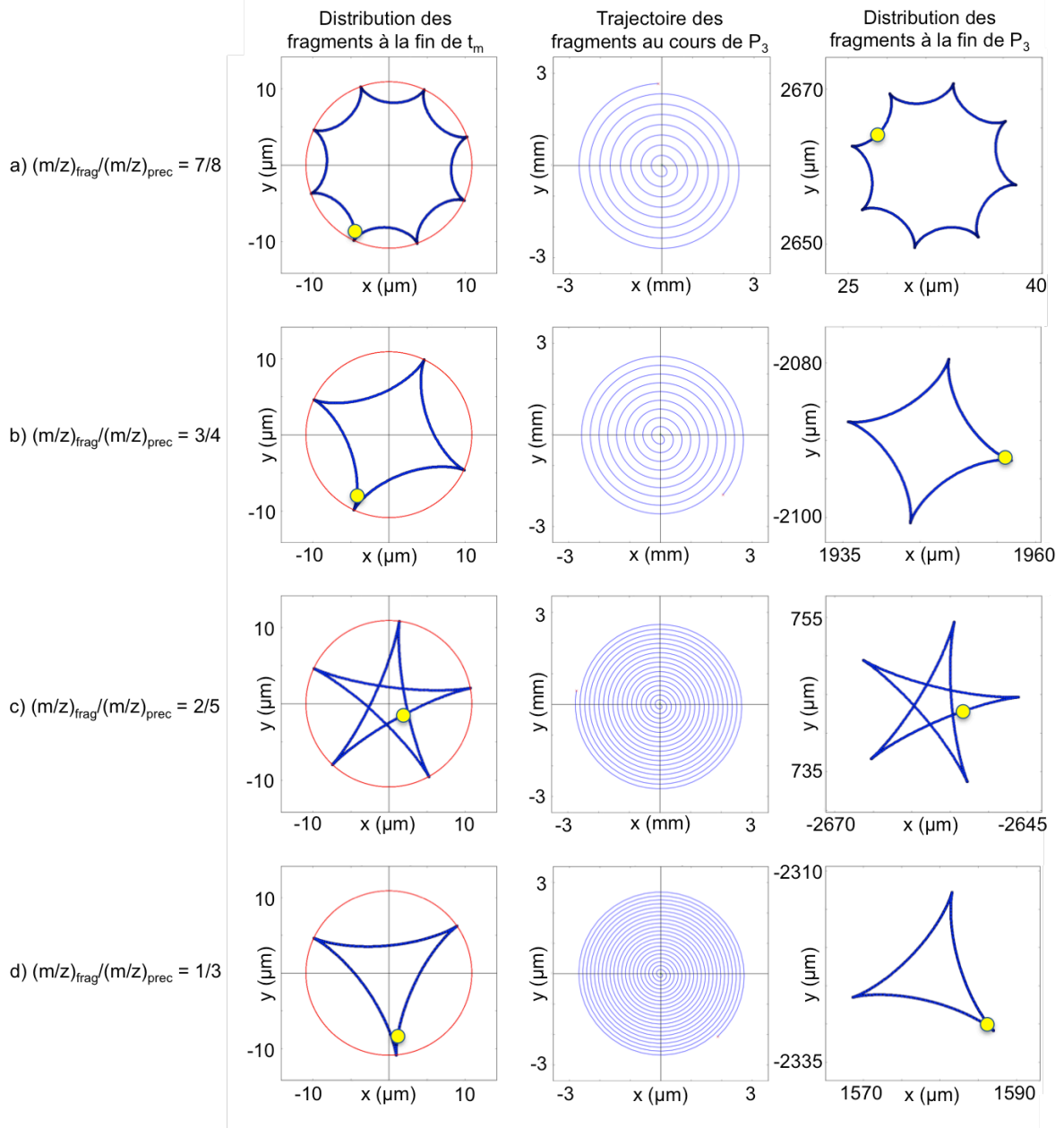


Figure 34 : Influence de P_3 sur la distribution du nuage de fragments dans le cas d'une impulsion non synchronisée d'une durée $t_{P_3} = 40 \mu\text{s}$. Le point jaune symbolise un fragment précis.

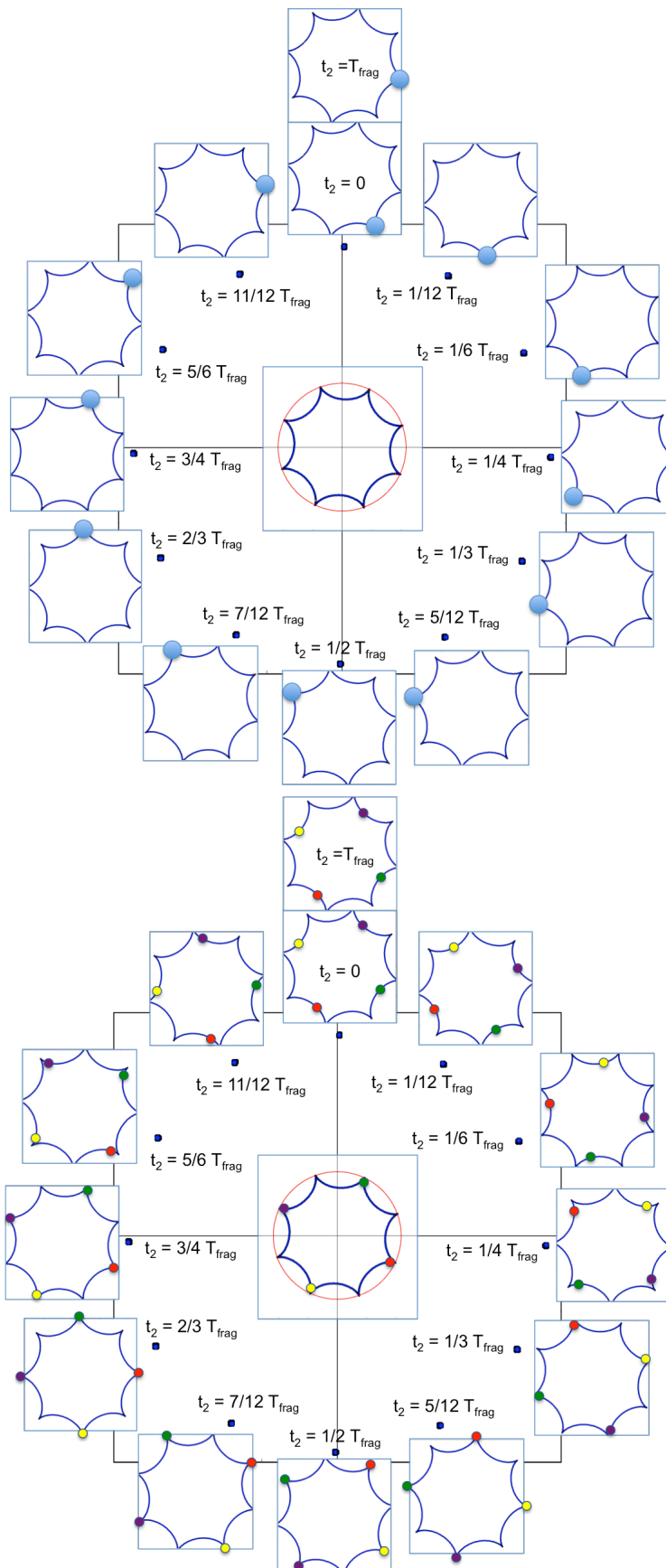


Figure 35 : Evolution des fragments de m/z 700 au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 non synchronisée. En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.

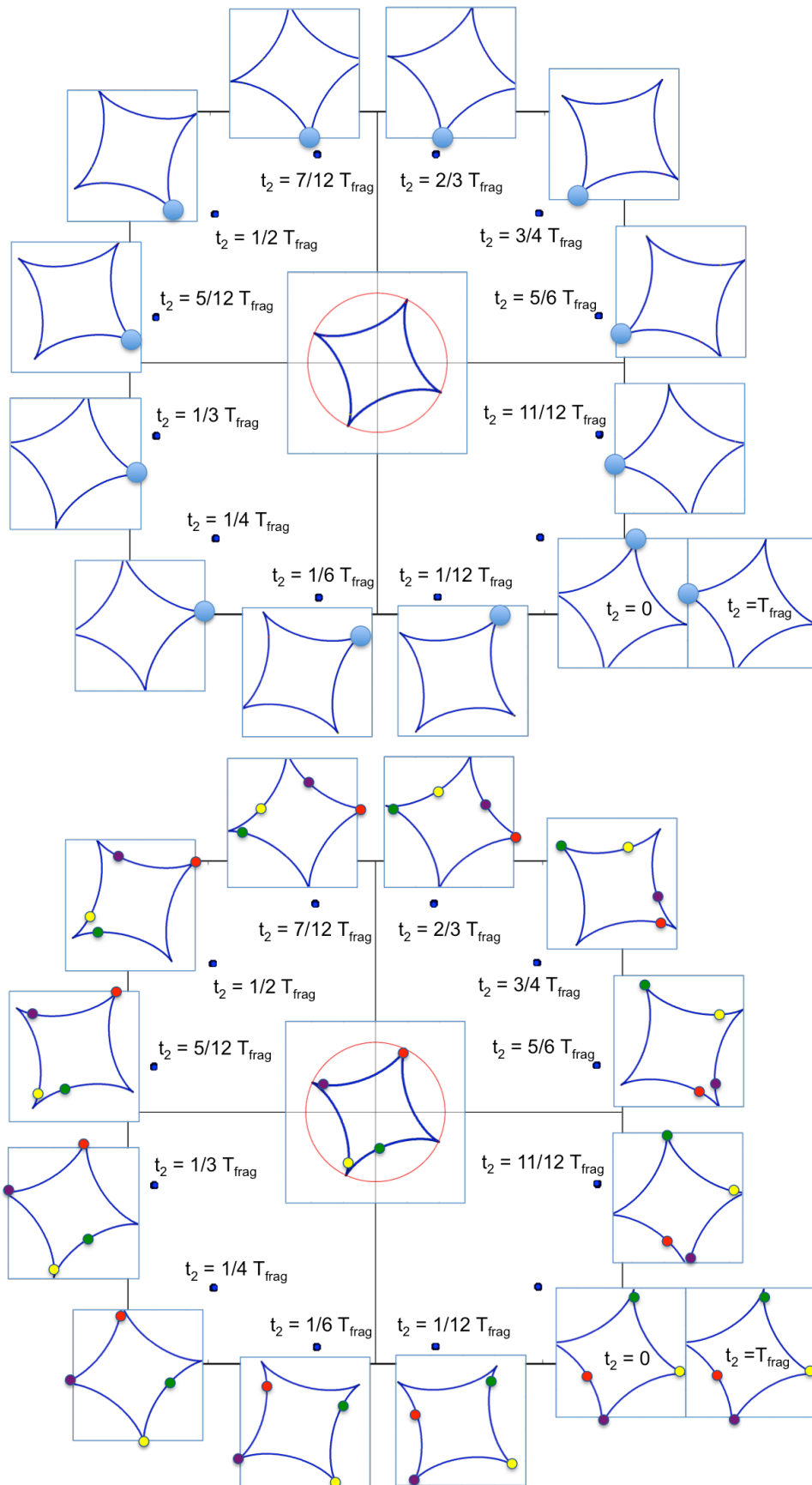


Figure 36 : Evolution des fragments de m/z 600 au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 non synchronisée. En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.

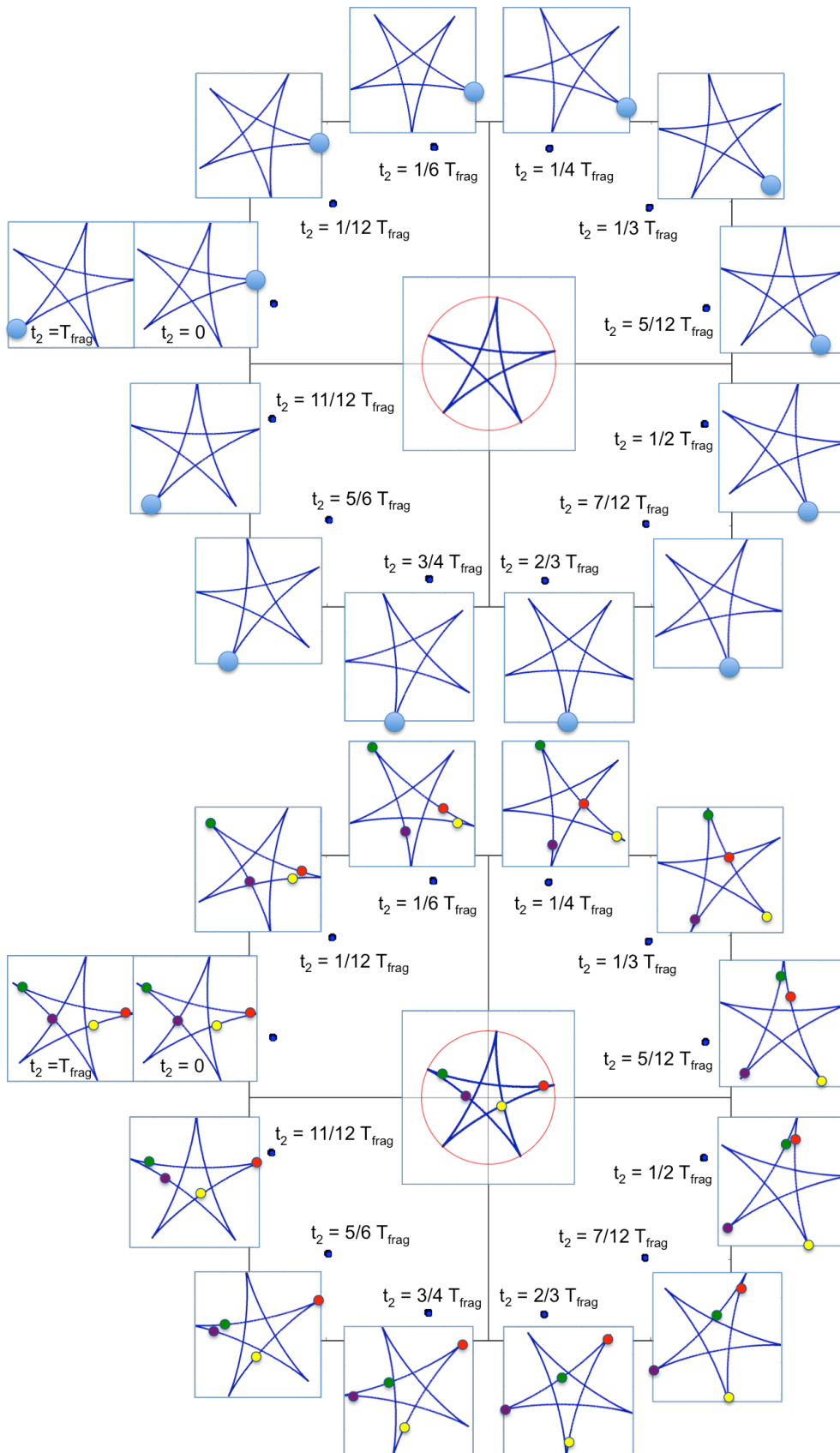


Figure 37 : Evolution des fragments de m/z 320 au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 non synchronisée. En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.

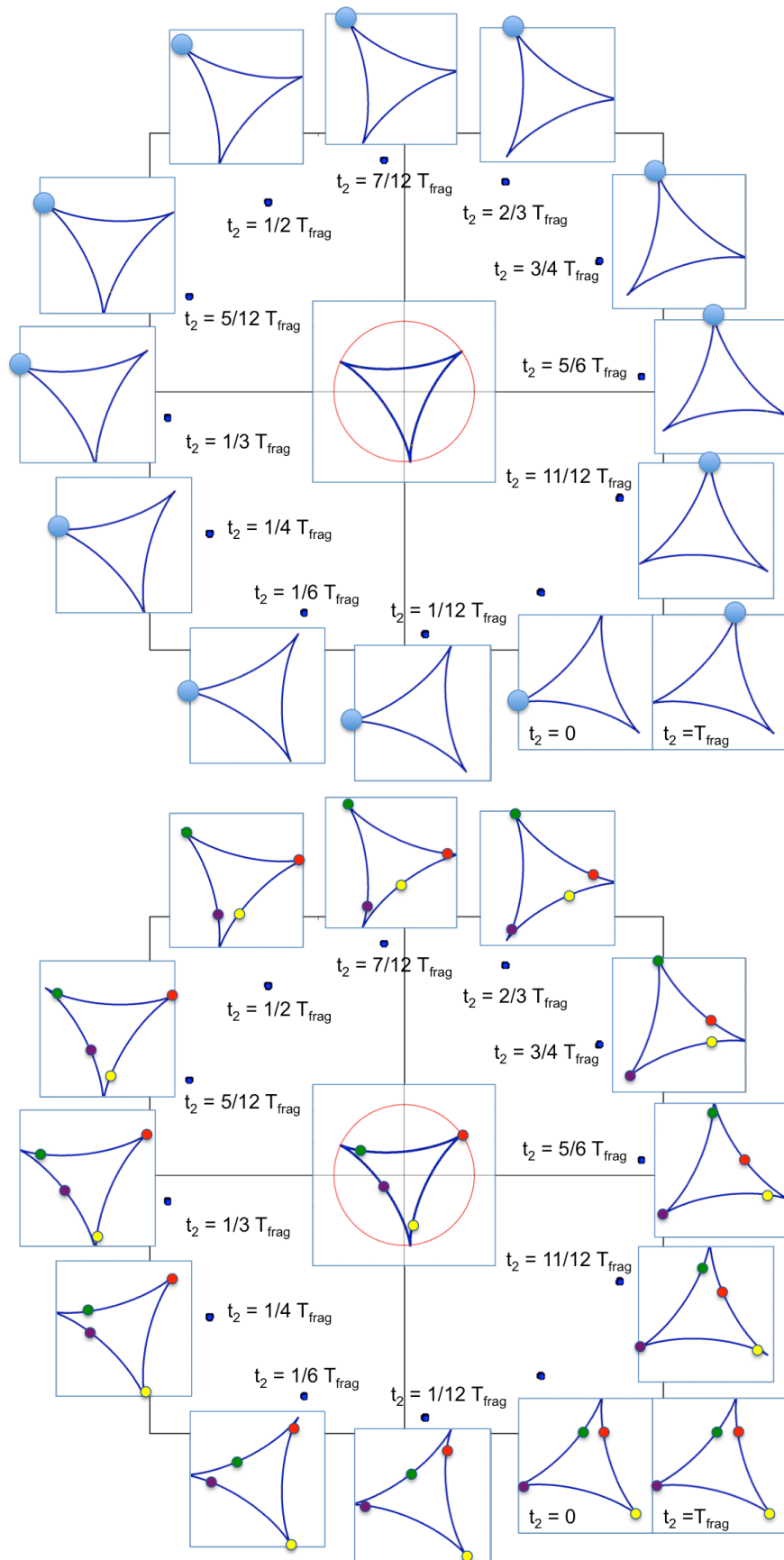


Figure 38 : Evolution des fragments de m/z 266,66 au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 non synchronisée. En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.

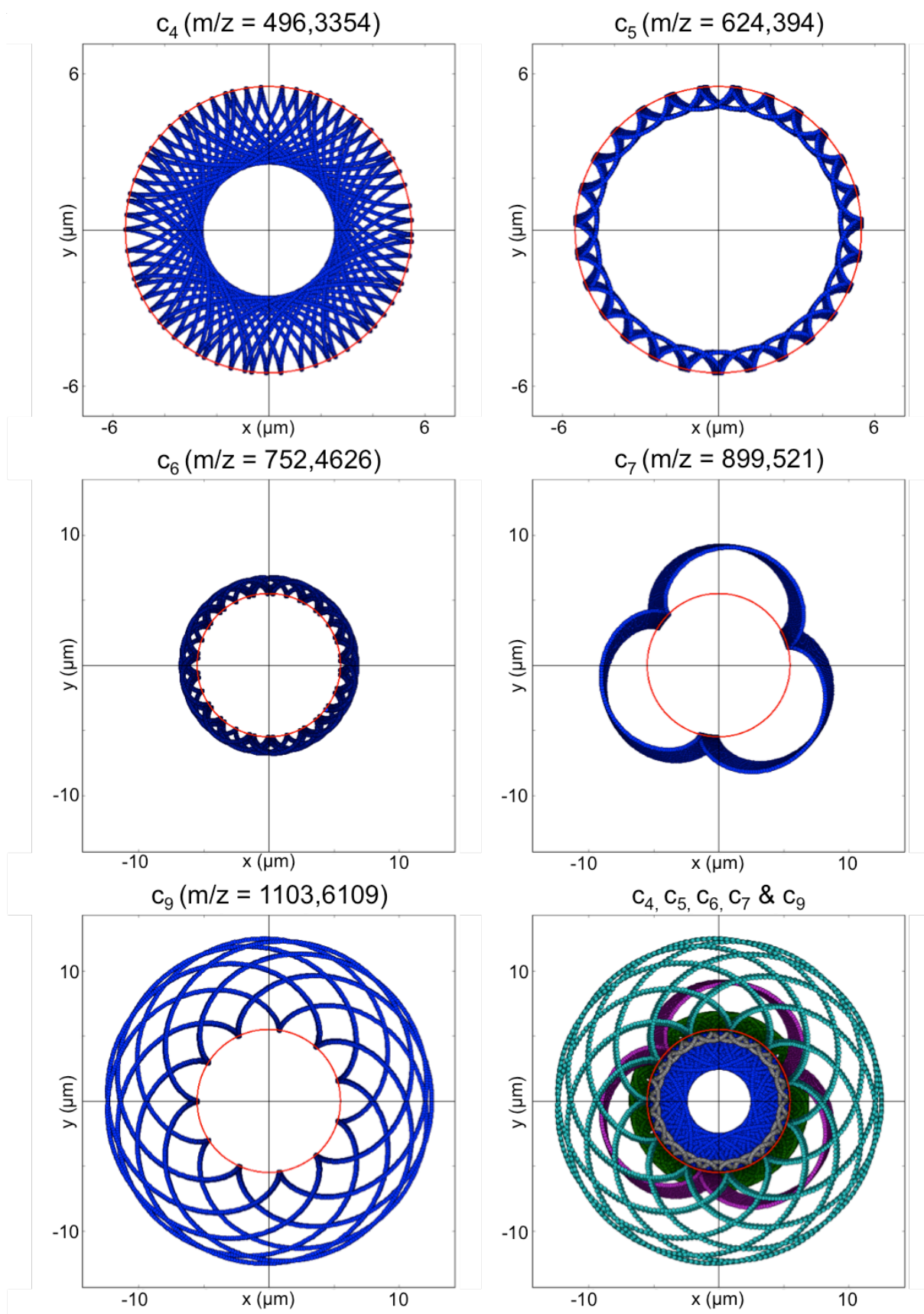
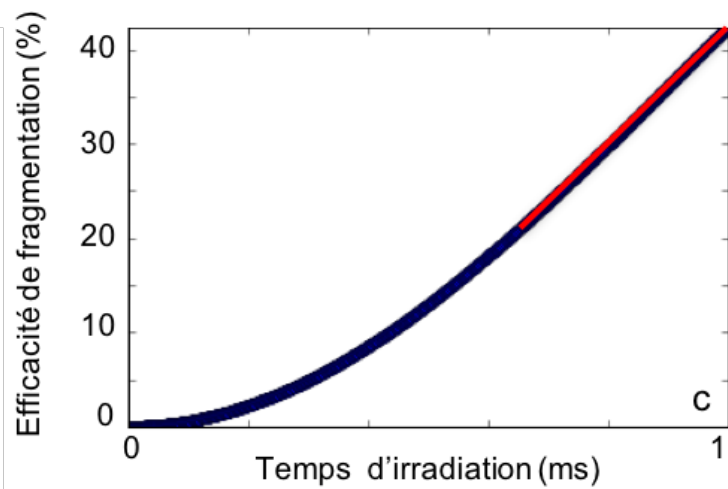
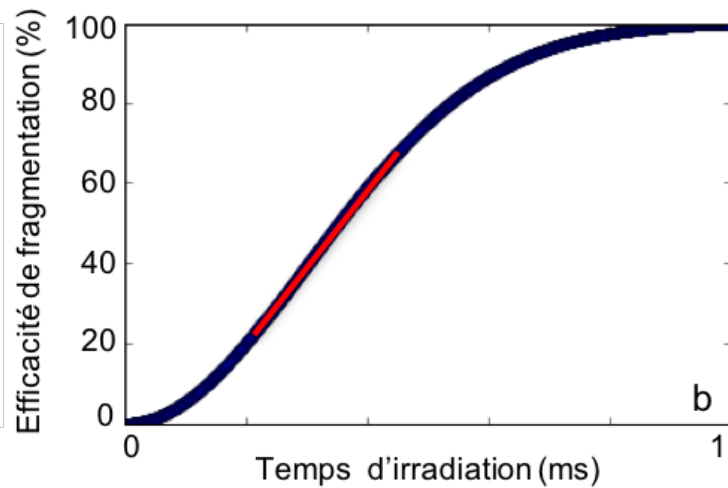
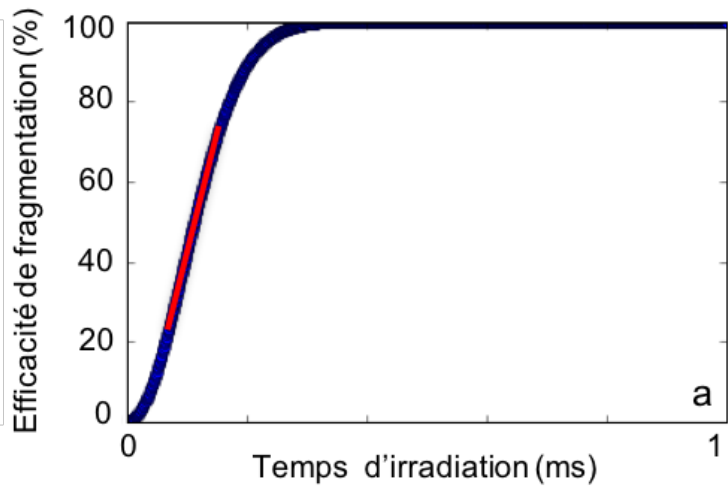


Figure 39 : Distribution à la fin de t_m des fragments majoritaires de la substance P.

Evolution de l'efficacité de fragmentation en fonction de la durée d'irradiation



Intensité laser décroissante

Figure 40 : Modèles sigmoïdes de la fragmentation à intensité laser décroissante. La ligne rouge symbolise la portion quasi-linéaire de la courbe.

5. Conclusions

Au cours de ce travail, nous avons simulé pour la première fois le comportement des ions précurseurs au cours de toute la séquence d'impulsions utilisée pour la FT-ICR MS 2D. L'utilisation d'impulsions d'encodage non « matched » mène à une perturbation de la fragmentation et donc à une diminution de l'intensité des fragments. Dans le cas de l'impulsion P_3 , ce type d'impulsion crée un décalage par rapport au centre de la cellule qui génère une variation de la distance entre le paquet d'ions et le centre de la cellule pouvant créer des harmoniques. Cette approche met en évidence l'intérêt de réaliser des *trains d'impulsions synchronisées* dont l'amplitude est adaptée à la fréquence d'excitation. Ceci constitue une perspective d'intérêt majeur pour les futures expériences 2D, permettant ainsi d'homogénéiser la fragmentation lors de t_m et de diminuer à la fois le bruit de scintillation et les harmoniques. La simulation d'une production de fragments est aussi un aspect qui n'avait encore jamais été traité dans le cas d'analyses FT-ICR MS 2D. Le changement de la trajectoire du fragment en une orbite circulaire tangente à la trajectoire du parent en son point de production est une conclusion inattendue. De plus, nous avons pu constater que la dernière excitation ne perturbe pas les distributions des fragments à la fin de t_m , que l'impulsion soit *synchronisée* ou non. La perspective de cette partie est maintenant de réaliser ces simulations avec des impulsions d'encodage *non synchronisées* et d'introduire un modèle de fragmentation sigmoïde. Ces résultats constituent une première approche de l'étude de la fragmentation et des distributions de fragments dans le cadre d'une analyse FT-ICR MS 2D.

Conclusions générales et perspectives

Nous avons vu dans la première partie de ce travail l'implémentation du NUS aux analyses FT-ICR MS 2D. Cette stratégie, bien que déjà connue en spectroscopie RMN, est nouvelle dans le domaine de la spectrométrie de masse. Grace aux efforts conjoints des trois équipes impliquées dans le projet ANR auquel cette thèse a été associée, la résolution a été augmentée d'un facteur 16 sans perte en temps d'analyse. Le gain de résolution dans la dimension indirecte ne serait rien sans la fiabilité des résultats. La comparaison entre les massifs isotopiques des fragments produits à partir des isotopes les plus lourds du précurseur et ceux calculés avec le logiciel IsoPatrn a confirmé l'intérêt du NUS pour des analyses FT-ICR MS 2D. Même si il n'est pas encore possible d'obtenir des massifs isotopiques corrects à partir du 3^{ème} isotope, en raison d'un signal trop faible, les résultats obtenus concernant les isotopes précédents sont très encourageants. Nous avons mis en évidence le facteur de sous-échantillonnage NUS 1/16 comme étant le meilleur compromis entre gain de résolution et signal-sur-bruit. Même si le traitement du signal est pour le moment très long, celui-ci peut être accéléré grâce à des serveurs plus puissants. Avec ce matériel à disposition, la vitesse de traitement des données nous permettrait de diminuer de façon significative ce facteur de sous-échantillonnage. Ce faisant, il serait théoriquement possible d'atteindre une résolution de celle obtenue avec un analyseur FT-ICR dans la dimension indirecte. Ces travaux et leurs perspectives pavent la route vers une révolution en matière d'analyse d'échantillons complexes, permettant l'élucidation des structures des molécules aux m/z trop proches pour être isolées.

Dans la seconde partie de ce travail, les équations décrivant le comportement des ions précurseurs jusqu'à leur détection dans le cadre d'une séquence de trois impulsions ont été établies pour la première fois. La mise en évidence du déplacement du centre de l'orbite des précurseurs par l'impulsion P_3 pouvant générer des fluctuations du signal met l'accent sur l'importance de réaliser des *trains d'impulsions synchronisées* d'amplitude adaptée à la fréquence. Cette approche inédite pourrait diminuer l'apparition d'harmoniques sur le spectre 2D et permettrait ainsi une fragmentation constante sur la trajectoire des paquets d'ions précurseurs lors de t_m . Ces travaux constituent une extension des travaux réalisés par A. A. Sehgal *et al.*¹²⁰ et ouvrent la voie vers une nouvelle méthode d'excitation en FT-ICR MS 2D. La description de la fragmentation dans la théorie de la FT-ICR MS 2D par

les équations des trajectoires des ions fragments découlant de celles de leurs ions précurseurs est aussi un travail innovant. Le changement de trajectoire de l'ion fragment au moment de sa production est un résultat évident. Lors de sa production, l'ion fragment, héritant de la vitesse de son ion précurseur, va évoluer sur une orbite d'un rayon augmenté ou diminué par rapport à celui de l'orbite de son ion précurseur en fonction de son m/z . Ainsi, si le m/z du fragment est plus élevé que celui de son précurseur, le rayon d'orbite résultant est augmenté. Dans le cas contraire, il est diminué. Nous avons aussi démontré à l'aide de simulations la distribution du nuage des fragments produits dans le cadre d'un modèle de fragmentation linéaire. Pour un précurseur donné, la distribution du nuage des fragments produits dépend de leur m/z . De plus, la distribution du nuage n'est pas affectée par l'impulsion P_3 , et sa rotation observée au cours de t_2 s'effectue autour de multiples centres d'orbites qui génèrent des trajectoires circulaires croisées d'ions fragments. Ces résultats constituent une première approche théorique de la fragmentation en FT-ICR MS 2D et permettent une meilleure compréhension des micro-événements surgissant au sein de la cellule ICR. Il est maintenant nécessaire de remplacer le modèle linéaire par un modèle sigmoïde dans le but d'observer son incidence sur la distribution des nuages d'ions fragments.

Une perspective possible serait de transposer la « RMN 2D en spectre unique » développée par P. Pelupessy¹⁶², à la FT-ICR MS 2D. Lors de cette expérience, l'échantillon est placé dans un champ magnétique non-uniforme avec un gradient le long de l'axe du champ magnétique. Le signal dépendant de t_1 devient alors également dépendant de la position du noyau dans le gradient. Une possibilité est donc d'ajouter à la cellule ICR un gradient de champ magnétique suivant l'axe z . L'accumulation de la phase des ions dépendrait dans ce cas non seulement de t_1 , mais aussi de la tranche de champ magnétique dans laquelle ils se trouvent. En créant une distribution homogène suivant l'axe z , il serait possible de désexciter lors de l'impulsion P_2 des ions de m/z différents pour un même t_1 , ce qui permettrait ainsi d'obtenir après l'impulsion P_3 les informations structurales des molécules de l'échantillon avec un seul et même scan. La difficulté majeure ici est de créer une distribution homogène qui serait stable suivant l'axe z . En effet, si l'on augmente la tension entre les plaques de piégeage pour créer la distribution, la fréquence de piégeage des ions sera elle aussi augmentée, conduisant ainsi à une oscillation des ions dans le gradient. De plus, les fragments produits posséderont une fréquence de

piégeage différente de celle de leur parent, compliquant ainsi la génération de spectres MS/MS.

Les récents résultats présentés dans ce manuscrit contribuent à l'augmentation de la résolution dans la dimension indirecte ainsi qu'à la mise en évidence des évènements tenant place à proximité du centre de la cellule. Ces développements permettent à la fois de rendre la FT-ICR MS 2D viable, mais aussi d'acquérir les connaissances nécessaires à son amélioration.

Table des Figures

Figure 1 : Représentation schématique du fonctionnement d'un spectromètre de masse.....	1
Figure 2 : Séquence d'impulsions FT-ICR 2D MS originale avec $P_1 = P_2 = P_3$	12
Figure 3 : Spectre FT-ICR MS 2D d'acquisition 2k (F1) x 128k (F2) de la substance P à 1 pmol.μL ⁻¹ par FT-ICR Solarix 7T avec une cellule harmonisée. 45 minutes d'acquisition, résolution F1 = 150 à m/z = 674,3713, taille du fichier 4 Go.....	16
Figure 4 : Exemple d'échantillonnage non uniforme. En rouge les points de la FID échantillonnés, en noir les points « sautés ».	21
Figure 5 : Distribution de l'aléatoire (a) et des gaps (b) donnée par l'algorithme « uniform » dans le cas d'une acquisition physique de 2048 points NUS 1/4....	24
Figure 6 : Distribution de l'aléatoire (a) et des gaps (b) donnée par l'algorithme «very_uniform » dans le cas d'une acquisition physique de 2048 points NUS 1/4	25
Figure 7 : Séquence d'impulsion 2D FT-ICR MS. Les impulsions $P_1 = P_2$ ont chacune une durée totale de 723 μs, soit 0,5 μs par pas de fréquence. Ces impulsions ont été réglées afin d'observer un rapport d'intensités fragments/précurseur de 50%. L'impulsion P_3 utilise les paramètres expérimentaux habituels pour l'excitation (100 V _{pp} d'amplitude et 20 μs par pas de fréquence).....	26
Figure 8 : Spectres FT-ICR MS 2D avec 2k*128k points de la substance P zoomés sur le massif isotopique du précurseur bi-charge de m/z = 674.3713 pour le pic mono-isotopique à différents échantillonnages. a) acquisition uniforme (NUS 1) ; b) NUS 1/2 ; c) NUS 1/4 ; d) NUS 1/8 ; e) NUS 1/16 ; f) NUS 1/32.	30
Figure 9 : Spectres en F1 du pic mono-isotopique du précurseur dichargé de la substance P à différents échantillonnages. a) acquisition uniforme (NUS 1) ; b) NUS 1/2 ; c) NUS 1/4 ; d) NUS 1/8 ; e) NUS 1/16 ; f) NUS 1/32.....	31
Figure 10 : Spectres MS/MS du précurseur dichargé de la substance P normalisés sur le pic du fragment c ₅ à différents échantillonnages. a) acquisition uniforme (NUS 1) ; b) NUS 1/2 ; c) NUS 1/4 ; d) NUS 1/8 ; e) NUS 1/16 ; f) NUS 1/32 ...	32
Figure 11 : a) Spectre 2D FT-ICR MS NUS 1/16 de la substance P zoomé sur le massif isotopique du précurseur dichargé ; Spectres MS/MS zoomés sur le massif isotopique du fragment c ₇ à partir du précurseur b) Mono-isotopique ; c) 1 ^{er} isotope ; d) 2 ^{ème} isotope ; e) 3 ^{ème} isotope. En bleu les spectres expérimentaux, en rouge les massifs isotopiques théoriques.....	33

Figure 12 : Expérience 2D FT-ICR MS NUS 1/8 (64k x 512k) d'huile de sésame complexée avec Li^+ et fragmentée en IRMPD. a) Spectre 2D complet (zoom disponible en annexe Figure A1) ; b) Zoom sur les précurseurs ; c) Zoom sur la perte d'acide gras neutre ; d) Zoom en F1 du précurseur de $m/z = 890,8$ (OOO) ; puis zoom F2 sur la perte d'acide gras à partir du précurseur de $m/z =$: e) 890,8 (OOO) ; f) 888,8 (OLO ou OOL) ; g) 886,8 (LOL ou OLL) ; h) 884,8 (LLL).....	34
Figure 13 : Evolution de la résolution en F1 du précurseur en fonction de l'inverse du facteur de sous-échantillonnage utilisé.	35
Figure 14 : Décomposition de t_m en deux intervalles $t_{\text{beforefrag}}$ et $t_{\text{afterfrag}}$	43
Figure 15 : Trajectoire d'un paquet d'ions précurseurs au cours de P_1 et évolution de la distance du paquet d'ions par rapport au centre de la cellule en fonction de la durée de P_1	56
Figure 16 : Trajectoire d'un paquet d'ions précurseurs au cours de P_1 , t_1 et variation de la distance au centre du paquet au cours de t_1 en fonction de la durée de P_1	57
Figure 17 : Effet de P_2 sur l'orbite d'un paquet d'ions précurseurs dans le cas d'impulsions d'encodage « matched ».	58
Figure 18 : Modulation de l'efficacité de la fragmentation au cours de t_m en fonction de t_1 pour différents temps et amplitudes des impulsions d'encodage. La ligne verte représente le rayon à mi-hauteur du faisceau laser IRMPD ($30 \mu\text{m}$).....	59
Figure 19 : Effet de P_2 sur l'orbite d'un paquet d'ions précurseurs au cours de t_m dans le cas d'impulsions d'encodage non « matched » avec : a) un déphasage proche de π ou b) en pseudo-phase avec P_2 ; ou c) dans le cas de pulses d'encodage « matched » et d'un déphasage proche de π avec P_2 . Le cercle vert symbolise la section à mi-hauteur du faisceau laser IRMPD.....	60
Figure 20 : Effet d'impulsions d'encodage et de P_3 sur la distance par rapport au centre du paquet d'ions précurseurs au cours de t_2 dans le cas de : a) P_1 , P_2 et P_3 non « matched » ; b) P_1 et P_2 non « matched », P_3 « matched » ; c) P_1 et P_2 « matched », P_3 non « matched » ; d) P_1 , P_2 et P_3 « matched ».....	61
Figure 21 : Effet de P_1 sur le rayon d'orbite du paquet de ions précurseurs ($m/z = 800$) au cours de t_1 dans le cas : a) du calcul exact et b) de l'approximation faite en négligeant V_0^*	62
Figure 22 : Effet d'impulsions chirp « matched » d'amplitude continue ou adaptée à la fréquence du pas sur l'efficacité de fragmentation au cours de t_m . La ligne verte représente le rayon à mi-hauteur du faisceau laser IRMPD. Les figures	

représentent la distance à laquelle est propulsé le paquet d'ion à la fin de P_2 en fonction de t_1 pour différents m/z	63
Figure 23 : Trajectoires du paquet de ions précurseurs (rouge) et d'un fragment produit (bleu) au cours de t_m dans le cas a) d'un fragment de m/z inférieur et b) de m/z supérieur au m/z du précurseur. La flèche noire représente la trajectoire d'éjection du neutre produit lors de la fragmentation.	71
Figure 24 : Influence de la perte de masse sur le rayon de l'orbite du fragment. Trajectoires du paquet d'ions précurseurs (rouge) et d'un fragment produit (bleu) au cours de t_m dans le cas de différents rapports de m/z fragment sur parent. Les flèches noires représentent les rayons des orbites des ions fragments.....	72
Figure 25 : Evolution du paquet de ions précurseurs (rouge) et d'un fragment (bleu) produit à t_{frag} . Les cercles représentent les trajectoires et les points les positions. Echelle arbitraire.	73
Figure 26 : Evolution du paquet de ions précurseurs (trajectoire et position en rouge) et d'un type de fragment (trajectoires en vert, position en bleu). Le paquet des précurseurs va produire un premier fragment à t_{frag} puis les suivants à une fréquence de $10/T_{prec}$. Echelle arbitraire.	74
Figure 27 : Influence du rapport de m/z sur la distribution à la fin de t_m . En rouge la trajectoire du paquet des précurseurs, en bleu la position des ions fragments.	75
Figure 28 : Impact de la durée d'irradiation sur la distribution à la fin de t_m . En rouge la trajectoire du paquet des ions précurseurs, en bleu la position des ions fragments ($m/z = 700$). Echelle arbitraire.	76
Figure 29 : Influence de P_3 sur la distribution du nuage de fragments dans le cas d'une impulsion « matched » d'une durée $t_{P3} = 10T_{frag}$. Le point jaune symbolise un fragment précis.	77
Figure 30 : Evolution des fragments de $m/z = 700$ au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 « matched ». En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.	78
Figure 31 : Evolution des fragments de $m/z = 600$ au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 « matched ». En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.	79
Figure 32 : Evolution de fragments de $m/z = 320$ au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3	

« matched ». En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.	80
Figure 33 : Evolution des fragments de $m/z = 266,66$ au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 « matched ». En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.	81
Figure 34 : Influence de P_3 sur la distribution du nuage de fragments dans le cas d'une impulsion non « matched » d'une durée $t_{P_3} = 40 \mu s$. Le point jaune symbolise un fragment précis.	82
Figure 35 : Evolution des fragments de $m/z = 700$ au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 non « matched ». En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.	83
Figure 36 : Evolution des fragments de $m/z = 600$ au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 non « matched ». En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.	84
Figure 37 : Evolution des fragments de $m/z = 320$ au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 non « matched ». En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis.	85
Figure 38 : Evolution des fragments de $m/z = 266,66$ au cours de t_2 pendant une durée $t = T_{frag}$ et suivi de leur distribution (zoom) dans le cas d'une impulsion P_3 non « matched ». En haut : le point bleu symbolise une position dans la distribution. En bas : les points symbolisent la position de 4 fragments précis..	86
Figure 39 : Distribution à la fin de t_m des fragments majoritaires de la substance P.	87
Figure 40 : Modèles sigmoïdes de la fragmentation à intensité laser décroissante. La ligne rouge symbolise la portion quasi-linéaire de la courbe.	88

Références

1. Thomson, J. J., XIX. Further experiments on positive rays. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* **1912**, 24 (140), 209-253.
2. Thomson, J. J., Bakerian lecture: Rays of positive electricity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character* **1913**, 89 (607), 1-20.
3. Biemann, K., The application of mass spectrometry in organic chemistry: determination of the structure of natural products. *Angewandte Chemie International Edition* **1962**, 1 (2), 98-111.
4. Caileux, A.; Bouchara, J.; Daniel, V.; Chabasse, D.; Allain, P., Gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile organic compounds produced by some micromycetes. *Chromatographia* **1992**, 34 (11), 613-617.
5. Aebersold, R.; Goodlett, D. R., Mass spectrometry in proteomics. *Chemical reviews* **2001**, 101 (2), 269-296.
6. Baldwin, M. A., Protein identification by mass spectrometry issues to be considered. *Molecular & Cellular Proteomics* **2004**, 3 (1), 1-9.
7. Han, X.; Aslanian, A.; Yates, J. R., Mass spectrometry for proteomics. *Current opinion in chemical biology* **2008**, 12 (5), 483-490.
8. Bouclon, J.; Le Danvic, C.; Guettier, E.; Bray, F.; Tokarski, C.; Rolando, C.; Nagnan-Le Meillour, P., Identification of post-translational modifications on Odorant-Binding Protein isoforms from pig olfactory secretome by high-resolution mass spectrometry: O-beta-N-acetylglucosaminylation and phosphorylation. *Frontiers in Ecology and Evolution* **2017**, 5, 142.
9. Dettmer, K.; Aronov, P. A.; Hammock, B. D., Mass spectrometry-based metabolomics. *Mass spectrometry reviews* **2007**, 26 (1), 51-78.
10. Gowda, G. N.; Djukovic, D., Overview of mass spectrometry-based metabolomics: opportunities and challenges. *Mass Spectrometry in Metabolomics: Methods and Protocols* **2014**, 3-12.
11. Marshall, A. G.; Rodgers, R. P., Petroleomics: Chemistry of the underworld. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2008**, 105 (47), 18090-18095.
12. Santos, J. M.; Galaverna, R. d. S.; Pudenzi, M. A.; Schmidt, E. M.; Sanders, N. L.; Kurulugama, R. T.; Mordehai, A.; Stafford, G. C.; Wisniewski, A.; Eberlin, M. N., Petroleomics by ion mobility mass spectrometry: resolution and characterization

of contaminants and additives in crude oils and petrofuels. *Analytical Methods* **2015**, 7 (11), 4450-4463.

13. Dempster, A., A new method of positive ray analysis. *Physical Review* **1918**, 11 (4), 316.

14. Pflüger, T.; Dorn, A.; Wolf, A. Electron impact ionization studies of small rare gas clusters. Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Germany, 2012.

15. Ralph, J.; Hatfield, R. D., Pyrolysis-GC-MS characterization of forage materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1991**, 39 (8), 1426-1437.

16. Daferera, D. J.; Ziogas, B. N.; Polissiou, M. G., GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, 48 (6), 2576-2581.

17. Curran, A. M.; Rabin, S. I.; Prada, P. A.; Furton, K. G., Comparison of the volatile organic compounds present in human odor using SPME-GC/MS. *Journal of chemical ecology* **2005**, 31 (7), 1607-1619.

18. Schauer, N.; Steinhauser, D.; Strelkov, S.; Schomburg, D.; Allison, G.; Moritz, T.; Lundgren, K.; Roessner-Tunali, U.; Forbes, M. G.; Willmitzer, L., GC-MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples. *FEBS letters* **2005**, 579 (6), 1332-1337.

19. Jonsson, P.; Johansson, A. I.; Gullberg, J.; Trygg, J.; Grung, B.; Marklund, S.; Sjöström, M.; Antti, H.; Moritz, T., High-throughput data analysis for detecting and identifying differences between samples in GC/MS-based metabolomic analyses. *Analytical chemistry* **2005**, 77 (17), 5635-5642.

20. Munson, M. S.; Field, F.-H., Chemical ionization mass spectrometry. I. General introduction. *Journal of the American Chemical Society* **1966**, 88 (12), 2621-2630.

21. Ruiz-Matute, A.; Hernandez-Hernandez, O.; Rodriguez-Sanchez, S.; Sanz, M.; Martinez-Castro, I., Derivatization of carbohydrates for GC and GC-MS analyses. *Journal of Chromatography B* **2011**, 879 (17), 1226-1240.

22. Karas, M.; Bachmann, D.; Hillenkamp, F., Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules. *Analytical chemistry* **1985**, 57 (14), 2935-2939.

23. Tanaka, K.; Waki, H.; Ido, Y.; Akita, S.; Yoshida, Y.; Yoshida, T.; Matsuo, T., Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry* **1988**, 2 (8), 151-153.

24. Karas, M.; Hillenkamp, F., Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Analytical chemistry* **1988**, *60* (20), 2299-2301.
25. Krüger, R.; Pfenninger, A.; Fournier, I.; Glückmann, M.; Karas, M., Analyte incorporation and ionization in matrix-assisted laser desorption/ionization visualized by pH indicator molecular probes. *Analytical chemistry* **2001**, *73* (24), 5812-5821.
26. Jaskolla, T. W.; Karas, M., Compelling evidence for lucky survivor and gas phase protonation: the unified MALDI analyte protonation mechanism. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2011**, *22* (6), 976-988.
27. Karas, M.; Krüger, R., Ion formation in MALDI: the cluster ionization mechanism. *Chemical reviews* **2003**, *103* (2), 427-440.
28. Lu, I.-C.; Lee, C.; Lee, Y.-T.; Ni, C.-K., Ionization mechanism of matrix-assisted laser desorption/ionization. *Annual Review of Analytical Chemistry* **2015**, *8*, 21-39.
29. Kaufmann, R., Matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI) mass spectrometry: a novel analytical tool in molecular biology and biotechnology. *Journal of biotechnology* **1995**, *41* (2-3), 155-175.
30. Chaurand, P.; Luetzenkirchen, F.; Spengler, B., Peptide and protein identification by matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI) and MALDI-post-source decay time-of-flight mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1999**, *10* (2), 91-103.
31. Yamashita, M.; Fenn, J. B., Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme. *The Journal of Physical Chemistry* **1984**, *88* (20), 4451-4459.
32. Iribarne, J.; Thomson, B., On the evaporation of small ions from charged droplets. *The Journal of Chemical Physics* **1976**, *64* (6), 2287-2294.
33. Siu, K.; Guevremont, R.; Le Blanc, J.; O'brien, R.; Berman, S., Is droplet evaporation crucial in the mechanism of electrospray mass spectrometry? *Journal of Mass Spectrometry* **1993**, *28* (5), 579-584.
34. Li, W.; Hendrickson, C. L.; Emmett, M. R.; Marshall, A. G., Identification of intact proteins in mixtures by alternated capillary liquid chromatography electrospray ionization and LC ESI infrared multiphoton dissociation Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Analytical chemistry* **1999**, *71* (19), 4397-4402.
35. Peng, J.; Elias, J. E.; Thoreen, C. C.; Licklider, L. J.; Gygi, S. P., Evaluation of multidimensional chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC/LC-

- MS/MS) for large-scale protein analysis: the yeast proteome. *Journal of proteome research* **2003**, 2 (1), 43-50.
36. Dempster, A. J., The properties of slow canal rays. *Physical review* **1916**, 8 (6), 651.
37. Mattauch, J.; Herzog, R., Über einen neuen Massenspektrographen. *Zeitschrift für Physik A Hadrons and Nuclei* **1934**, 89 (11), 786-795.
38. Stephens, W., A Pulsed Mass Spectrometer with Time Dispersion. *Phys. Rev.* **1946**, 69, 691.
39. Vestal, M.; Juhasz, P.; Martin, S., Delayed extraction matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1995**, 9 (11), 1044-1050.
40. Mamyrin, B.; Karataev, V.; Shmikk, D.; Zagulin, V., The mass reflectron, a new non-magnetic time-of-flight mass spectrometer with high resolution. *Zh. Eksp. Teor. Fiz* **1973**, 64, 82-89.
41. Paul, W.; Steinwedel, H., Ein neues massenspektrometer ohne magnetfeld. *Zeitschrift für Naturforschung A* **1953**, 8 (7), 448-450.
42. Mathieu, É., Mémoire sur le mouvement vibratoire d'une membrane de forme elliptique. *Journal de mathématiques pures et appliquées* **1868**, 13, 137-203.
43. Perry, R. H.; Cooks, R. G.; Noll, R. J., Orbitrap mass spectrometry: instrumentation, ion motion and applications. *Mass spectrometry reviews* **2008**, 27 (6), 661-699.
44. Kingdon, K., A method for the neutralization of electron space charge by positive ionization at very low gas pressures. *Physical Review* **1923**, 21 (4), 408.
45. Makarov, A. A., Mass spectrometer. Google Patents: 1999.
46. Makarov, A., Electrostatic axially harmonic orbital trapping: a high-performance technique of mass analysis. *Analytical chemistry* **2000**, 72 (6), 1156-1162.
47. Hu, Q.; Noll, R. J.; Li, H.; Makarov, A.; Hardman, M.; Graham Cooks, R., The Orbitrap: a new mass spectrometer. *Journal of mass spectrometry* **2005**, 40 (4), 430-443.
48. Scigelova, M.; Makarov, A., Orbitrap mass analyzer—overview and applications in proteomics. *Proteomics* **2006**, 6 (S2), 16-21.
49. Michalski, A.; Damoc, E.; Hauschild, J.-P.; Lange, O.; Wieghaus, A.; Makarov, A.; Nagaraj, N.; Cox, J.; Mann, M.; Horning, S., Mass spectrometry-based proteomics

using Q Exactive, a high-performance benchtop quadrupole Orbitrap mass spectrometer. *Molecular & Cellular Proteomics* **2011**, *10* (9), M111. 011015.

50. Nagaraj, N.; Kulak, N. A.; Cox, J.; Neuhauser, N.; Mayr, K.; Hoerning, O.; Vorm, O.; Mann, M., System-wide perturbation analysis with nearly complete coverage of the yeast proteome by single-shot ultra HPLC runs on a bench top Orbitrap. *Molecular & Cellular Proteomics* **2012**, *11* (3), M111. 013722.

51. Koulman, A.; Woffendin, G.; Narayana, V. K.; Welchman, H.; Crone, C.; Volmer, D. A., High-resolution extracted ion chromatography, a new tool for metabolomics and lipidomics using a second-generation orbitrap mass spectrometer. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2009**, *23* (10), 1411-1418.

52. Schuhmann, K.; Herzog, R.; Schwudke, D.; Metelmann-Strupat, W.; Bornstein, S. R.; Shevchenko, A., Bottom-up shotgun lipidomics by higher energy collisional dissociation on LTQ Orbitrap mass spectrometers. *Analytical chemistry* **2011**, *83* (14), 5480-5487.

53. Schuhmann, K.; Almeida, R.; Baumert, M.; Herzog, R.; Bornstein, S. R.; Shevchenko, A., Shotgun lipidomics on a LTQ Orbitrap mass spectrometer by successive switching between acquisition polarity modes. *Journal of Mass Spectrometry* **2012**, *47* (1), 96-104.

54. Kamleh, A.; Barrett, M.; Wildridge, D.; Burchmore, R.; Scheltema, R.; Watson, D., Metabolomic profiling using Orbitrap Fourier transform mass spectrometry with hydrophilic interaction chromatography: a method with wide applicability to analysis of biomolecules. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2008**, *22* (12), 1912-1918.

55. Lu, W.; Clasquin, M. F.; Melamud, E.; Amador-Noguez, D.; Caudy, A. A.; Rabinowitz, J. D., Metabolomic analysis via reversed-phase ion-pairing liquid chromatography coupled to a stand alone orbitrap mass spectrometer. *Analytical chemistry* **2010**, *82* (8), 3212-3221.

56. Zhang, T.; Creek, D. J.; Barrett, M. P.; Blackburn, G.; Watson, D. G., Evaluation of coupling reversed phase, aqueous normal phase, and hydrophilic interaction liquid chromatography with Orbitrap mass spectrometry for metabolomic studies of human urine. *Analytical chemistry* **2012**, *84* (4), 1994-2001.

57. McLafferty, F. W., Tandem mass spectrometry. *Science* **1981**, 280-287.

58. Sleno, L.; Volmer, D. A., Ion activation methods for tandem mass spectrometry. *Journal of mass spectrometry* **2004**, *39* (10), 1091-1112.

59. Wells, J. M.; McLuckey, S. A., Collision-induced dissociation (CID) of peptides and proteins. *Methods in enzymology* **2005**, *402*, 148-185.
60. Mann, M.; Ong, S.-E.; Grønborg, M.; Steen, H.; Jensen, O. N.; Pandey, A., Analysis of protein phosphorylation using mass spectrometry: deciphering the phosphoproteome. *Trends in biotechnology* **2002**, *20* (6), 261-268.
61. Cantin, G. T.; Yates, J. R., Strategies for shotgun identification of post-translational modifications by mass spectrometry. *Journal of chromatography A* **2004**, *1053* (1), 7-14.
62. Zubarev, R. A.; Kelleher, N. L.; McLafferty, F. W., Electron capture dissociation of multiply charged protein cations. A nonergodic process. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120* (13), 3265-3266.
63. McLafferty, F. W.; Horn, D. M.; Breuker, K.; Ge, Y.; Lewis, M. A.; Cerda, B.; Zubarev, R. A.; Carpenter, B. K., Electron capture dissociation of gaseous multiply charged ions by Fourier-transform ion cyclotron resonance. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2001**, *12* (3), 245-249.
64. Zubarev, R. A., Electron-capture dissociation tandem mass spectrometry. *Current opinion in biotechnology* **2004**, *15* (1), 12-16.
65. Kelleher, N. L.; Zubarev, R. A.; Bush, K.; Furie, B.; Furie, B. C.; McLafferty, F. W.; Walsh, C. T., Localization of labile posttranslational modifications by electron capture dissociation: the case of γ -carboxyglutamic acid. *Analytical chemistry* **1999**, *71* (19), 4250-4253.
66. Mann, M.; Jensen, O. N., Proteomic analysis of post-translational modifications. *Nature biotechnology* **2003**, *21* (3), 255-261.
67. Little, D. P.; Speir, J. P.; Senko, M. W.; O'Connor, P. B.; McLafferty, F. W., Infrared multiphoton dissociation of large multiply charged ions for biomolecule sequencing. *Analytical Chemistry* **1994**, *66* (18), 2809-2815.
68. Håkansson, K.; Cooper, H. J.; Emmett, M. R.; Costello, C. E.; Marshall, A. G.; Nilsson, C. L., Electron capture dissociation and infrared multiphoton dissociation MS/MS of an N-glycosylated tryptic peptide to yield complementary sequence information. *Analytical chemistry* **2001**, *73* (18), 4530-4536.
69. Comisarow, M. B.; Marshall, A. G., Fourier transform ion cyclotron resonance spectroscopy. *Chemical physics letters* **1974**, *25* (2), 282-283.
70. Lawrence, E. O.; Livingston, M. S., The production of high speed light ions without the use of high voltages. *Physical Review* **1932**, *40* (1), 19.
71. Wilson, M. N., Superconducting magnets. **1983**.

72. Guan, S.; Marshall, A. G., Ion traps for Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: principles and design of geometric and electric configurations. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1995**, *146*, 261-296.
73. Marshall, A. G.; Hendrickson, C. L.; Jackson, G. S., Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: a primer. *Mass Spectrom Rev* **1998**, *17* (1), 1-35.
74. Brown, L. S.; Gabrielse, G., Geonium theory: Physics of a single electron or ion in a Penning trap. *Reviews of Modern Physics* **1986**, *58* (1), 233.
75. Dunbar, R. C.; Chen, J. H.; Hays, J. D., Magnetron motion of ions in the cubical ICR cell. *International journal of mass spectrometry and ion processes* **1984**, *57* (1), 39-56.
76. Hopf, F. A.; Shea, R. F.; Scully, M. O., Theory of optical free-induction decay and two-photon superradiance. *Physical Review A* **1973**, *7* (6), 2105.
77. Schweikhard, L.; Guan, S.; Marshall, A. G., Quadrupolar excitation and collisional cooling for axialization and high pressure trapping of ions in Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *International journal of mass spectrometry and ion processes* **1992**, *120* (1-2), 71-83.
78. Marshall, A. G.; Hendrickson, C. L., Fourier transform ion cyclotron resonance detection: principles and experimental configurations. *International Journal of Mass Spectrometry* **2002**, *215* (1), 59-75.
79. Marshall, A. G.; Roe, D. C., Theory of Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectroscopy: Response to frequency-sweep excitation. *The Journal of Chemical Physics* **1980**, *73* (4), 1581-1590.
80. Heck, A. J.; Derrick, P. J., Ultrahigh mass accuracy in isotope-selective collision-induced dissociation using correlated sweep excitation and sustained off-resonance irradiation: A Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry case study on the $[M+2H]^2+$ ion of bradykinin. *Analytical chemistry* **1997**, *69* (17), 3603-3607.
81. De Koning, L.; Nibbering, N.; Van Orden, S.; Laukien, F., Mass selection of ions in a Fourier transform ion cyclotron resonance trap using correlated harmonic excitation fields (CHEF). *International journal of mass spectrometry and ion processes* **1997**, *165*, 209-219.
82. Heck, A. J.; de Koning, L. J.; Pinkse, F. A.; Nibbering, N. M., Mass-specific selection of ions in Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometry.

Unintentional off-resonance cyclotron excitation of selected ions. *Rapid communications in mass spectrometry* **1991**, 5 (9), 406-414.

83. Zhang, H.; Cui, W.; Wen, J.; Blankenship, R. E.; Gross, M. L., Native electrospray and electron-capture dissociation in FTICR mass spectrometry provide top-down sequencing of a protein component in an intact protein assembly. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2010**, 21 (12), 1966-1968.

84. Marshall, A. G.; Wang, T. C. L.; Ricca, T. L., Tailored excitation for Fourier transform ion cyclotron mass spectrometry. *Journal of the American Chemical Society* **1985**, 107 (26), 7893-7897.

85. Guan, S.; Marshall, A. G., Stored waveform inverse Fourier transform (SWIFT) ion excitation in trapped-ion mass spectrometry: Theory and applications. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1996**, 157, 5-37.

86. Chen, L.; Marshall, A. G., Stored waveform simultaneous mass-selective ejection/excitation for Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *International journal of mass spectrometry and ion processes* **1987**, 79 (1), 115-125.

87. Noest, A. J.; Kort, C., Aspects of FT-ICR software—III: Chirp Excitation. *Computers & Chemistry* **1983**, 7 (2), 81-86.

88. Marshall, A. G.; Wang, T.-C. L.; Ricca, T. L., Ion cyclotron resonance excitatio/de-excitation: A basis for Stochastic fourier transform ion cyclotron mass spectrometry. *Chemical physics letters* **1984**, 105 (2), 233-236.

89. Kendrick, E., A Mass Scale Based on CH₂= 14.0000 for High Resolution Mass Spectrometry of Organic Compounds. *Analytical Chemistry* **1963**, 35 (13), 2146-2154.

90. Hughey, C. A.; Hendrickson, C. L.; Rodgers, R. P.; Marshall, A. G.; Qian, K., Kendrick mass defect spectrum: a compact visual analysis for ultrahigh-resolution broadband mass spectra. *Analytical Chemistry* **2001**, 73 (19), 4676-4681.

91. Marshall, A. G.; Rodgers, R. P., Petroleomics: the next grand challenge for chemical analysis. *Accounts of Chemical Research* **2004**, 37 (1), 53-59.

92. Rabi, I. I.; Zacharias, J. R.; Millman, S.; Kusch, P., A New Method of Measuring Nuclear Magnetic Moment. *Physical Review* **1938**, 53 (4), 318-318.

93. Rabi, I.; Millman, S.; Kusch, P.; Zacharias, J., The Magnetic Moments of Li 6 3, Li 7 3 and F 19 9. *Physical Review* **1938**, 53 (6), 495.

94. Rabi, I. I.; Millman, S.; Kusch, P.; Zacharias, J. R., The molecular beam resonance method for measuring nuclear magnetic moments. the magnetic moments of li 6 3, li 7 3 and f 19 9. *Physical review* **1939**, 55 (6), 526.

95. Bloch, F., Nuclear induction. *Physical review* **1946**, 70 (7-8), 460.
96. Aue, W.; Bartholdi, E.; Ernst, R. R., Two-dimensional spectroscopy. Application to nuclear magnetic resonance. *The Journal of Chemical Physics* **1976**, 64 (5), 2229-2246.
97. Ernst, R. R.; Bodenhausen, G.; Wokaun, A., Principles of nuclear magnetic resonance in one and two dimensions. **1987**.
98. Nagayama, K.; Kumar, A.; Wüthrich, K.; Ernst, R., Experimental techniques of two-dimensional correlated spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **1980**, 40 (2), 321-334.
99. Rance, M.; Sørensen, O.; Bodenhausen, G.; Wagner, G.; Ernst, R.; Wüthrich, K., Improved spectral resolution in COSY 1H NMR spectra of proteins via double quantum filtering. *Biochemical and biophysical research communications* **1983**, 117 (2), 479-485.
100. Bodenhausen, G.; Ruben, D. J., Natural abundance nitrogen-15 NMR by enhanced heteronuclear spectroscopy. *Chemical Physics Letters* **1980**, 69 (1), 185-189.
101. Bax, A.; Summers, M. F., Proton and carbon-13 assignments from sensitivity-enhanced detection of heteronuclear multiple-bond connectivity by 2D multiple quantum NMR. *Journal of the American Chemical Society* **1986**, 108 (8), 2093-2094.
102. Jeener, J.; Meier, B.; Bachmann, P.; Ernst, R., Investigation of exchange processes by two-dimensional NMR spectroscopy. *The Journal of chemical physics* **1979**, 71 (11), 4546-4553.
103. Pfändler, P.; Bodenhausen, G.; Rapin, J.; Houriet, R.; Gäumann, T., Two-dimensional Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Chemical physics letters* **1987**, 138 (2-3), 195-200.
104. Pfaendler, P.; Bodenhausen, G.; Rapin, J.; Walser, M. E.; Gaeumann, T., Broad-band two-dimensional Fourier transform ion cyclotron resonance. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, 110 (17), 5625-5628.
105. Bensimon, M.; Zhao, G.; Gäumann, T., A method to generate phase continuity in two-dimensional Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Chemical Physics Letters* **1989**, 157 (1-2), 97-100.
106. McLafferty, F. W.; Stauffer, D. B.; Loh, S. Y.; Williams, E. R., Hadamard transform and "no-peak" enhancement in measurement of tandem Fourier transform mass spectra. *Analytical Chemistry* **1987**, 59 (17), 2212-2213.

107. Williams, E. R.; Loh, S. Y.; McLafferty, F. W.; Cody, R. B., Hadamard transform measurement of tandem Fourier-transform mass spectra. *Analytical chemistry* **1990**, *62* (7), 698-703.
108. Ross III, C. W.; Guan, S.; Grosshans, P. B.; Ricca, T. L.; Marshall, A. G., Two-dimensional Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry/mass spectrometry with stored-waveform ion radius modulation. *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115* (17), 7854-7861.
109. van der Rest, G.; Marshall, A. G., Noise analysis for 2D tandem Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry* **2001**, *210*, 101-111.
110. Ross, C. W., 3rd; Simonsick, W. J., Jr.; Aaserud, D. J., Application of stored waveform ion modulation 2D-FTICR MS/MS to the analysis of complex mixtures. *Anal Chem* **2002**, *74* (18), 4625-33.
111. Reiger, S., Starlight scintillation and atmospheric turbulence. *The Astronomical Journal* **1963**, *68*, 395.
112. Morris, G. A., Systematic sources of signal irreproducibility and t1 noise in high-field NMR spectrometers. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **1992**, *100* (2), 316-328.
113. Guan, S.; Jones, P. R., A theory for two-dimensional Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *The Journal of Chemical Physics* **1989**, *91* (9), 5291-5295.
114. van Agthoven, M. A.; Delsuc, M.-A.; Rolando, C., Two-dimensional FT-ICR/MS with IRMPD as fragmentation mode. *International Journal of Mass Spectrometry* **2011**, *306* (2), 196-203.
115. van Agthoven, M. A.; Chiron, L.; Coutouly, M. A.; Delsuc, M. A.; Rolando, C., Two-dimensional ECD FT-ICR mass spectrometry of peptides and glycopeptides. *Anal Chem* **2012**, *84* (13), 5589-95.
116. Cadzow, J. A., Signal enhancement-a composite property mapping algorithm. *IEEE Transactions on Acoustics, Speech, and Signal Processing* **1988**, *36* (1), 49-62.
117. Brissac, C.; Malliavin, T. E.; Delsuc, M. A., Use of the Cadzow procedure in 2D NMR for the reduction of t 1 noise. *Journal of biomolecular NMR* **1995**, *6* (4), 361-365.
118. van Agthoven, M. A.; Coutouly, M. A.; Rolando, C.; Delsuc, M. A., Two-dimensional Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: reduction

of scintillation noise using Cadzow data processing. *Rapid Commun Mass Spectrom* **2011**, 25 (11), 1609-16.

119. van Agthoven, M. A.; Chiron, L.; Coutouly, M.-A.; Sehgal, A. A.; Pelupessy, P.; Delsuc, M.-A.; Rolando, C., Optimization of the discrete pulse sequence for two-dimensional FT-ICR mass spectrometry using infrared multiphoton dissociation. *International Journal of Mass Spectrometry* **2014**, 370, 114-124.

120. Sehgal, A. A.; Pelupessy, P.; Rolando, C.; Bodenhausen, G., Theory for spiralling ions for 2D FT-ICR and comparison with precessing magnetization vectors in 2D NMR. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2016**, 18 (13), 9167-9175.

121. Makhoul, J., Linear prediction: A tutorial review. *Proceedings of the IEEE* **1975**, 63 (4), 561-580.

122. Koehl, P., Linear prediction spectral analysis of NMR data. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **1999**, 34 (3), 257-299.

123. Barkhuijsen, H.; De Beer, R.; Bovee, W.; Van Ormondt, D., Retrieval of frequencies, amplitudes, damping factors, and phases from time-domain signals using a linear least-squares procedure. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **1985**, 61 (3), 465-481.

124. Marion, D.; Bax, A., Baseline correction of 2D FT NMR spectra using a simple linear prediction extrapolation of the time-domain data. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **1989**, 83 (1), 205-211.

125. Zhu, G.; Bax, A., Improved linear prediction of damped NMR signals using modified "forward-backward" linear prediction. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **1992**, 100 (1), 202-207.

126. Golub, G. H.; Reinsch, C., Singular value decomposition and least squares solutions. *Numerische mathematik* **1970**, 14 (5), 403-420.

127. Kumaresan, R.; Tufts, D., Estimating the parameters of exponentially damped sinusoids and pole-zero modeling in noise. *IEEE Transactions on Acoustics, Speech, and Signal Processing* **1982**, 30 (6), 833-840.

128. Reynolds, W. F.; Yu, M.; Enriquez, R. G.; Leon, I., Investigation of the Advantages and Limitations of Forward Linear Prediction for Processing Data 2D Sets. *Magnetic resonance in chemistry* **1997**, 35 (505), 519.

129. Stern, A. S.; Li, K.-B.; Hoch, J. C., Modern spectrum analysis in multidimensional NMR spectroscopy: comparison of linear-prediction extrapolation and maximum-entropy reconstruction. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124 (9), 1982-1993.

130. Ernst, R. R.; Anderson, W. A., Application of Fourier transform spectroscopy to magnetic resonance. *Review of Scientific Instruments* **1966**, 37 (1), 93-102.
131. Barna, J. C.; Laue, E. D., Conventional and exponential sampling for 2D NMR experiments with application to a 2D NMR spectrum of a protein. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **1987**, 75 (2), 384-389.
132. Barna, J.; Laue, E.; Mayger, M.; Skilling, J.; Worrall, S., Exponential sampling, an alternative method for sampling in two-dimensional NMR experiments. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **1987**, 73 (1), 69-77.
133. Marvasti, F., *Nonuniform sampling: theory and practice*. Springer Science & Business Media: 2012.
134. Rovnyak, D.; Frueh, D. P.; Sastry, M.; Sun, Z.-Y. J.; Stern, A. S.; Hoch, J. C.; Wagner, G., Accelerated acquisition of high resolution triple-resonance spectra using non-uniform sampling and maximum entropy reconstruction. *Journal of Magnetic Resonance* **2004**, 170 (1), 15-21.
135. Hyberts, S. G.; Arthanari, H.; Wagner, G., Applications of non-uniform sampling and processing. In *Novel sampling approaches in higher dimensional NMR*, Springer: 2011; pp 125-148.
136. Thiele, C. M.; Bermel, W., Speeding up the measurement of one-bond scalar (1 J) and residual dipolar couplings (1 D) by using non-uniform sampling (NUS). *Journal of Magnetic Resonance* **2012**, 216, 134-143.
137. Mayzel, M.; Rosenlöw, J.; Isaksson, L.; Orekhov, V. Y., Time-resolved multidimensional NMR with non-uniform sampling. *Journal of biomolecular NMR* **2014**, 58 (2), 129-139.
138. Aoto, P. C.; Fenwick, R. B.; Kroon, G. J.; Wright, P. E., Accurate scoring of non-uniform sampling schemes for quantitative NMR. *Journal of Magnetic Resonance* **2014**, 246, 31-35.
139. Hyberts, S. G.; Takeuchi, K.; Wagner, G., Poisson-gap sampling and forward maximum entropy reconstruction for enhancing the resolution and sensitivity of protein NMR data. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, 132 (7), 2145-2147.
140. Kazimierczuk, K.; Zawadzka, A.; Koźmiński, W.; Zhukov, I., Random sampling of evolution time space and Fourier transform processing. *Journal of biomolecular NMR* **2006**, 36 (3), 157-168.

141. Barna, J. C.; Laue, E. D.; Mayger, M. R.; Skilling, J.; Worrall, S. J., Reconstruction of phase-sensitive two-dimensional nuclear-magnetic-resonance spectra using maximum entropy. Portland Press Limited: 1986.
142. Hoch, J. C.; Maciejewski, M. W.; Mobli, M.; Schuyler, A. D.; Stern, A. S., Nonuniform sampling and maximum entropy reconstruction in multidimensional NMR. *Accounts of chemical research* **2014**, *47* (2), 708-717.
143. Orekhov, V. Y.; Jaravine, V. A., Analysis of non-uniformly sampled spectra with multi-dimensional decomposition. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy* **2011**, *59* (3), 271-292.
144. Holland, D. J.; Bostock, M. J.; Gladden, L. F.; Nietlispach, D., Fast multidimensional NMR spectroscopy using compressed sensing. *Angewandte Chemie* **2011**, *123* (29), 6678-6681.
145. Kazimierczuk, K.; Orekhov, V. Y., Accelerated NMR spectroscopy by using compressed sensing. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50* (24), 5556-5559.
146. Stern, A. S.; Hoch, J. C., A new approach to compressed sensing for NMR. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2015**, *53* (11), 908-912.
147. Qu, X.; Mayzel, M.; Cai, J. F.; Chen, Z.; Orekhov, V., Accelerated NMR Spectroscopy with Low-Rank Reconstruction. *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54* (3), 852-854.
148. Billeter, M.; Orekhov, V., *Novel sampling approaches in higher dimensional NMR*. Springer Science & Business Media: 2012; Vol. 316.
149. Gerchberg, R., Super-resolution through error energy reduction. *Journal of Modern Optics* **1974**, *21* (9), 709-720.
150. Papoulis, A., A new algorithm in spectral analysis and band-limited extrapolation. *IEEE Transactions on Circuits and systems* **1975**, *22* (9), 735-742.
151. Chiron, L.; van Agthoven, M. A.; Kieffer, B.; Rolando, C.; Delsuc, M.-A., Efficient denoising algorithms for large experimental datasets and their applications in Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2014**, *111* (4), 1385-1390.
152. Hokfelt, T.; Kellerth, J. O.; Nilsson, G.; Pernow, B., Substance P: localization in the central nervous system and in some primary sensory neurons. *Science* **1975**, *190* (4217), 889-890.

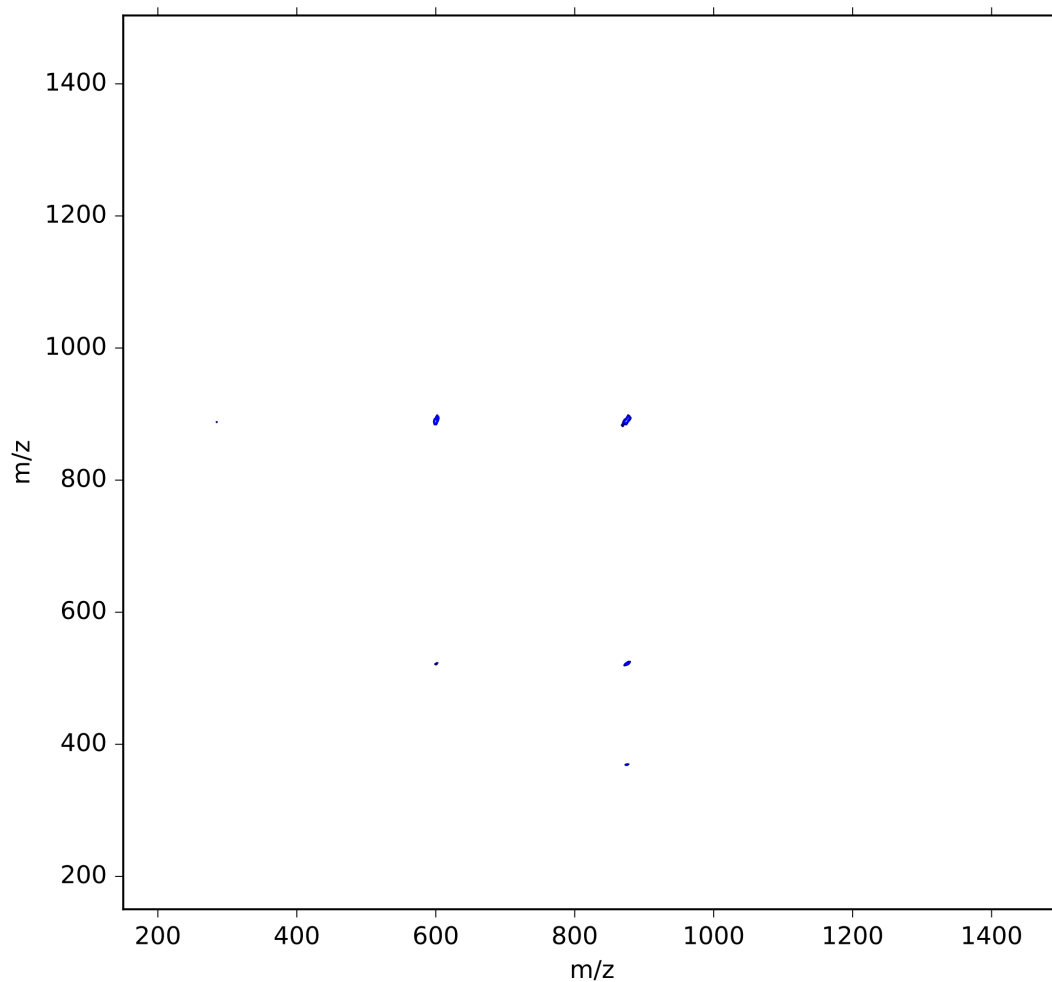
153. Lembeck, F.; Holzer, P., Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilation and neurogenic plasma extravasation. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* **1979**, 310 (2), 175-183.
154. Nikolaev, E. N.; Boldin, I. A.; Jertz, R.; Baykut, G., Initial experimental characterization of a new ultra-high resolution FTICR cell with dynamic harmonization. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2011**, 22 (7), 1125-1133.
155. Caravatti, P.; Allemann, M., The 'infinity cell': A new trapped-ion cell with radiofrequency covered trapping electrodes for Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry* **1991**, 26 (5), 514-518.
156. Garnier, N.; Rolando, C.; Høtje, J. M.; Tokarski, C., Analysis of archaeological triacylglycerols by high resolution nanoESI, FT-ICR MS and IRMPD MS/MS: application to 5th century BC–4th century AD oil lamps from Olbia (Ukraine). *International Journal of Mass Spectrometry* **2009**, 284 (1), 47-56.
157. Nikolaev, E.; Gorshkov, M., Dynamics of ion motion in an elongated cylindrical cell of an ICR spectrometer and the shape of the signal registered. *International journal of mass spectrometry and ion processes* **1985**, 64 (2), 115-125.
158. Kofel, P.; Allemann, M.; Kellerhals, H.; Wanczek, K., Coupling of axial and radial motions in ICR cells during excitation. *International journal of mass spectrometry and ion processes* **1986**, 74 (1), 1-12.
159. Gorshkov, M. V.; Nikolaev, E. N., Optimal cyclotron radius for high resolution FT-ICR spectrometry. *International journal of mass spectrometry and ion processes* **1993**, 125 (1), 1-8.
160. Nikolaev, E. N.; Kostyukevich, Y. I.; Vladimirov, G. N., Fourier transform ion cyclotron resonance (FT ICR) mass spectrometry: Theory and simulations. *Mass spectrometry reviews* **2016**, 35 (2), 219-258.
161. Chen, S. P.; Comisarow, M. B., Simple physical models for coulomb-induced frequency shifts and coulomb-induced inhomogenous broadening for like and unlike ions in fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry* **1991**, 5 (10), 450-455.
162. Pelupessy, P., Adiabatic single scan two-dimensional NMR spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, 125 (40), 12345-12350.

Annexes

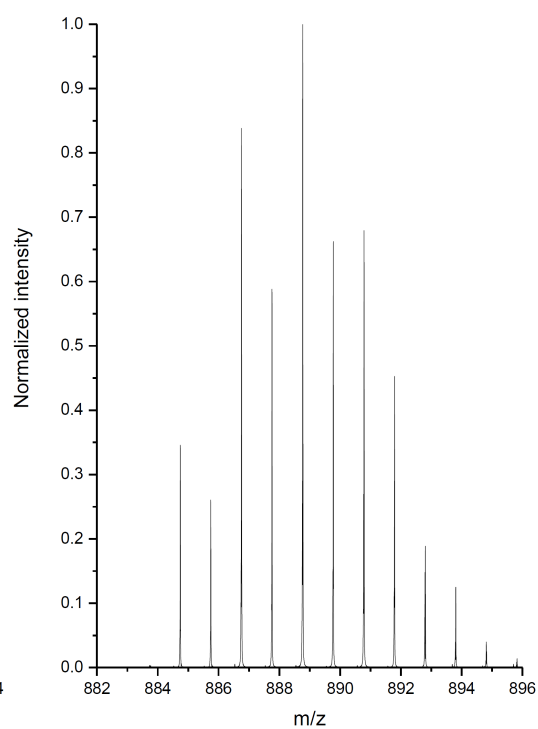
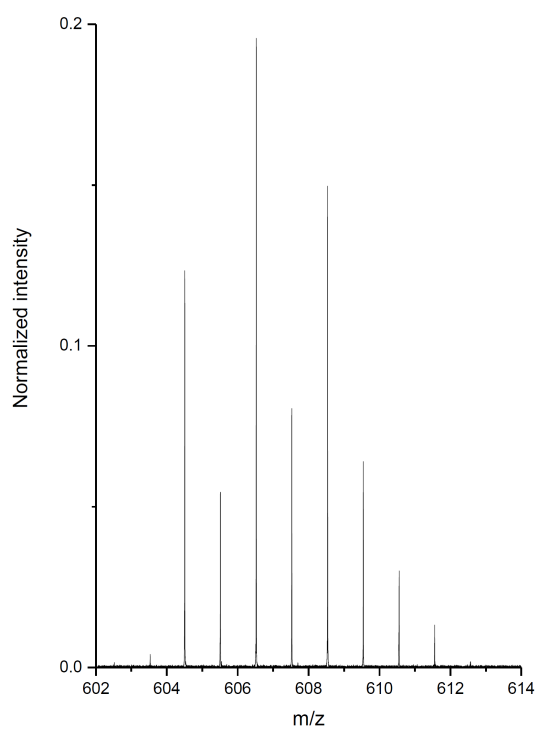
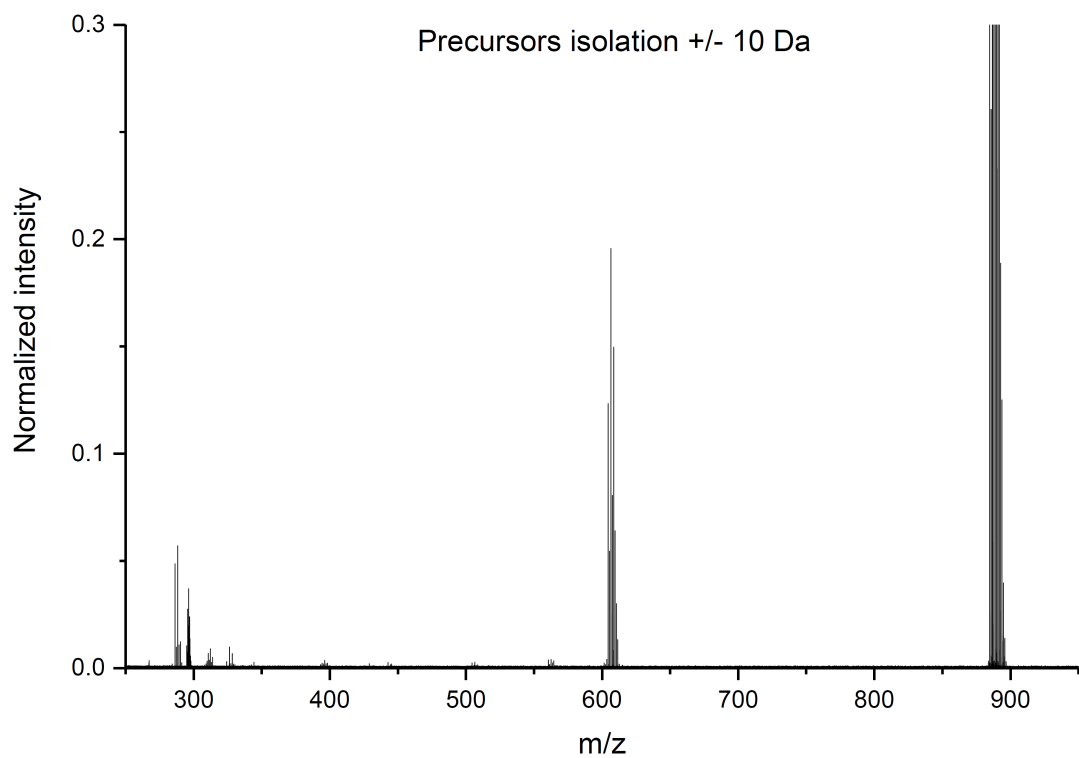
Table des annexes

Annexe 1 : Spectre FT-ICR 2D MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD.....	113
Annexe 2 : Spectre FT-ICR MS/MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD : en haut le spectre MS complet ; en bas à droite un zoom sur le précurseur ; en bas à gauche un zoom sur les fragments correspondant à la perte d'un acide gras neutre. Pas d'isolation de précurseurs (sélection par le quadripôle ± 10 m/z).....	114
Annexe 3 : Spectre FT-ICR MS/MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD : en haut le spectre MS complet ; en bas à droite un zoom sur le précurseur ; en bas à gauche un zoom sur les fragments correspondant à la perte d'un acide gras neutre. Isolation du précurseur m/z = 890,8 (sélection par le quadripôle $\pm 0,5$ m/z).....	115
Annexe 4 : Spectre FT-ICR MS/MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD : en haut le spectre MS complet ; en bas à droite un zoom sur le précurseur ; en bas à gauche un zoom sur les fragments correspondant à la perte d'un acide gras neutre. Isolation du précurseur m/z = 888,8 (sélection par le quadripôle $\pm 0,5$ m/z).....	116
Annexe 5 : Spectre FT-ICR MS/MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD : en haut le spectre MS complet ; en bas à droite un zoom sur le précurseur ; en bas à gauche un zoom sur les fragments correspondant à la perte d'un acide gras neutre. Isolation du précurseur m/z = 886,8 (sélection par le quadripôle $\pm 0,5$ m/z).....	117
Annexe 6 : Spectre FT-ICR MS/MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD : en haut le spectre MS complet ; en bas à droite un zoom sur le précurseur ; en bas à gauche un zoom sur les fragments correspondant à la perte d'un acide gras neutre. Isolation du précurseur m/z = 884,8 (sélection par le quadripôle $\pm 0,5$ m/z).....	118
Annexe 7 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition uniforme.	119
Annexe 8 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition NUS 1/2.....	122

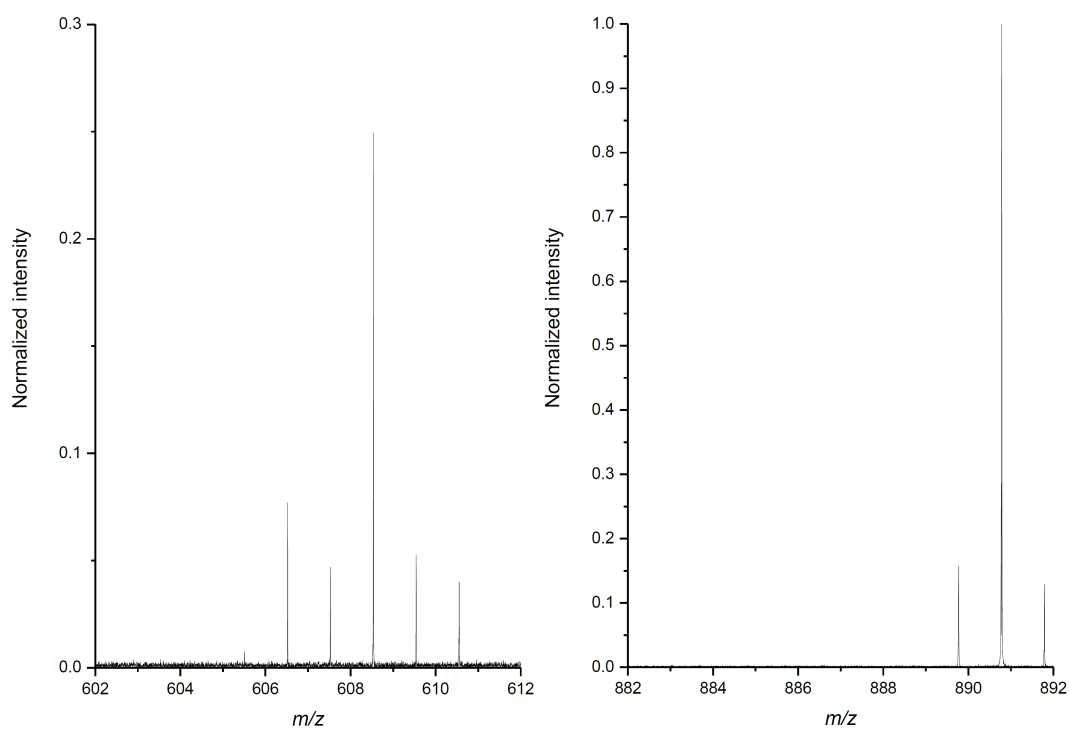
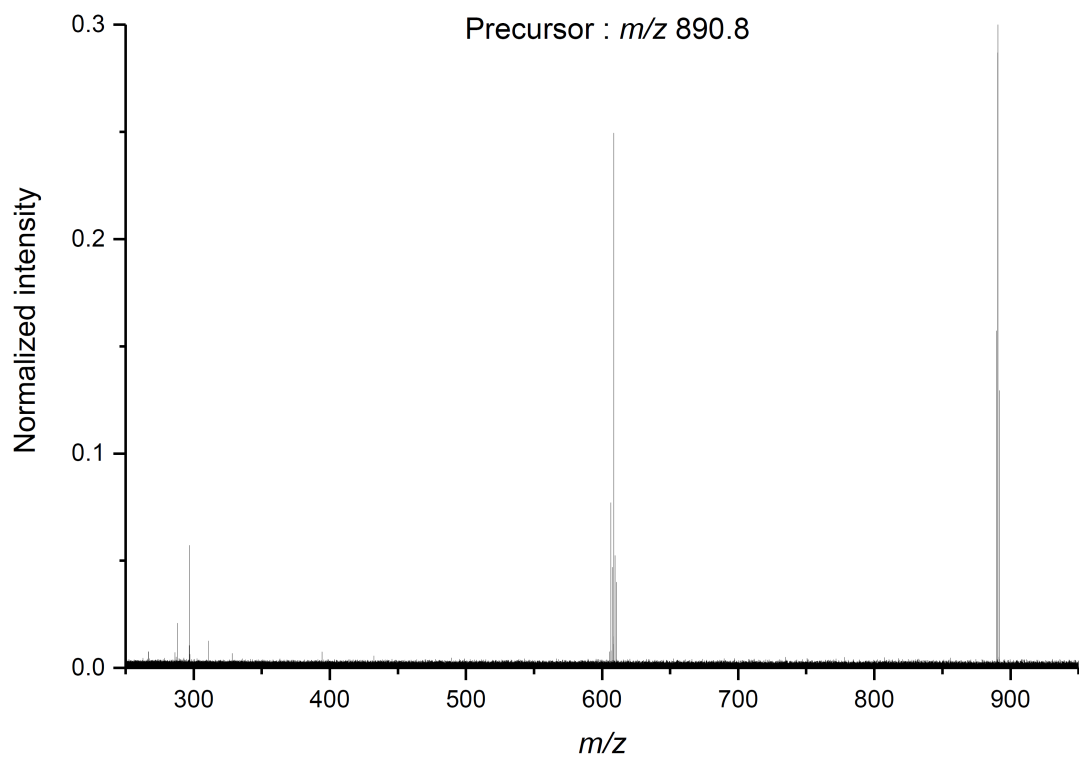
Annexe 9 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition NUS 1/4.....	127
Annexe 10 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition NUS 1/8.....	133
Annexe 11 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition NUS 1/16.....	138
Annexe 12 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition NUS 1/32.....	144
Annexe 13 : Distribution isotopique des 10 fragments majeurs du précurseur monoisotopique comparée à la distribution isotopique théorique calculée avec le logiciel IsoPatrn (massifs les plus proches en vert, massifs incorrects en rouge).	146
Annexe 14 : Distribution isotopique des 10 fragments majeurs du 1 ^{er} isotope du précurseur comparée à la distribution isotopique théorique calculée avec le logiciel IsoPatrn (massifs les plus proches en vert, massifs incorrects en rouge).	148
Annexe 15 : Distribution isotopique des 10 fragments majeurs du 2 ^{ème} isotope du précurseur comparée à la distribution isotopique théorique calculée avec le logiciel IsoPatrn (massifs les plus proches en vert, massifs incorrects en rouge).	150
Annexe 16 : Distribution isotopique des 10 fragments majeurs du 3 ^{ème} isotope du précurseur comparée à la distribution isotopique théorique calculée avec le logiciel IsoPatrn (massifs les plus proches en vert, massifs incorrects en rouge).	152
Annexe 17 : Fragmentation théorique des triglycérides majeurs de l'huile de sésame complexée avec ⁶ Li ⁺ et fragmentée par IRMPD.....	154



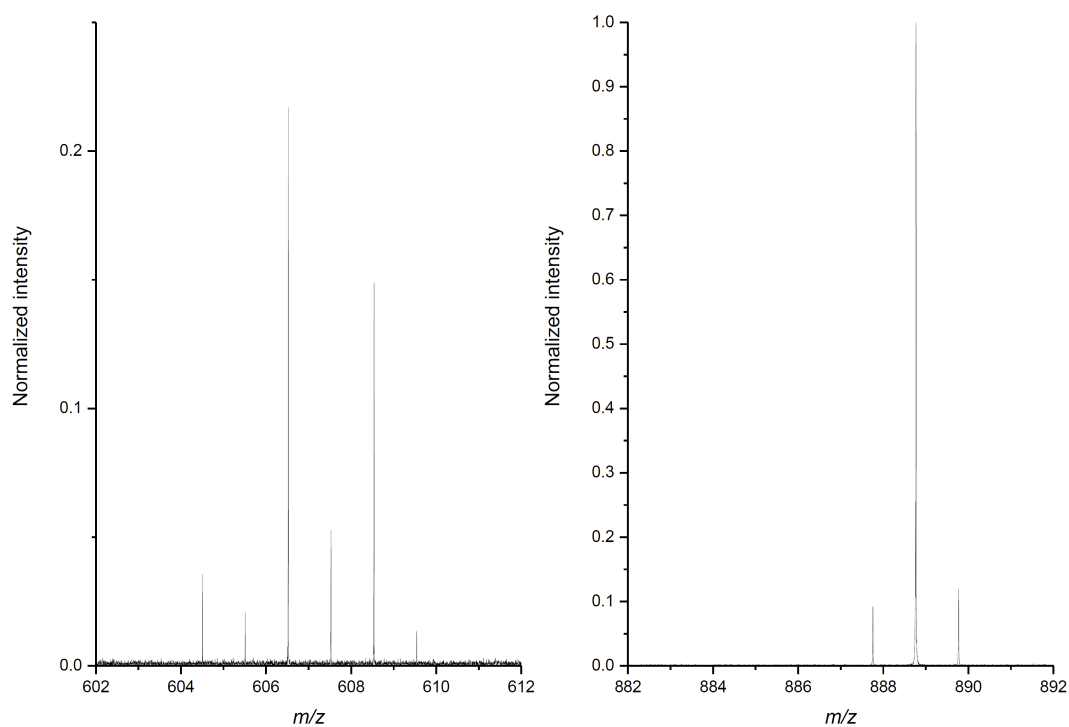
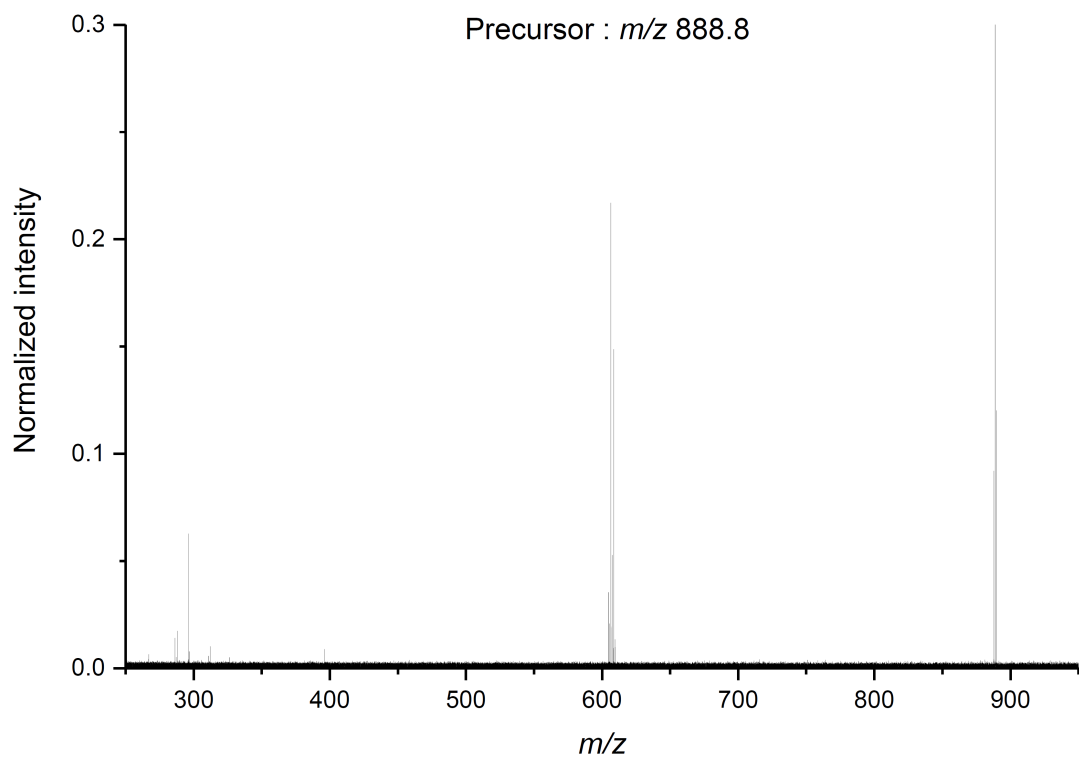
Annexe 1 : Spectre FT-ICR 2D MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD.



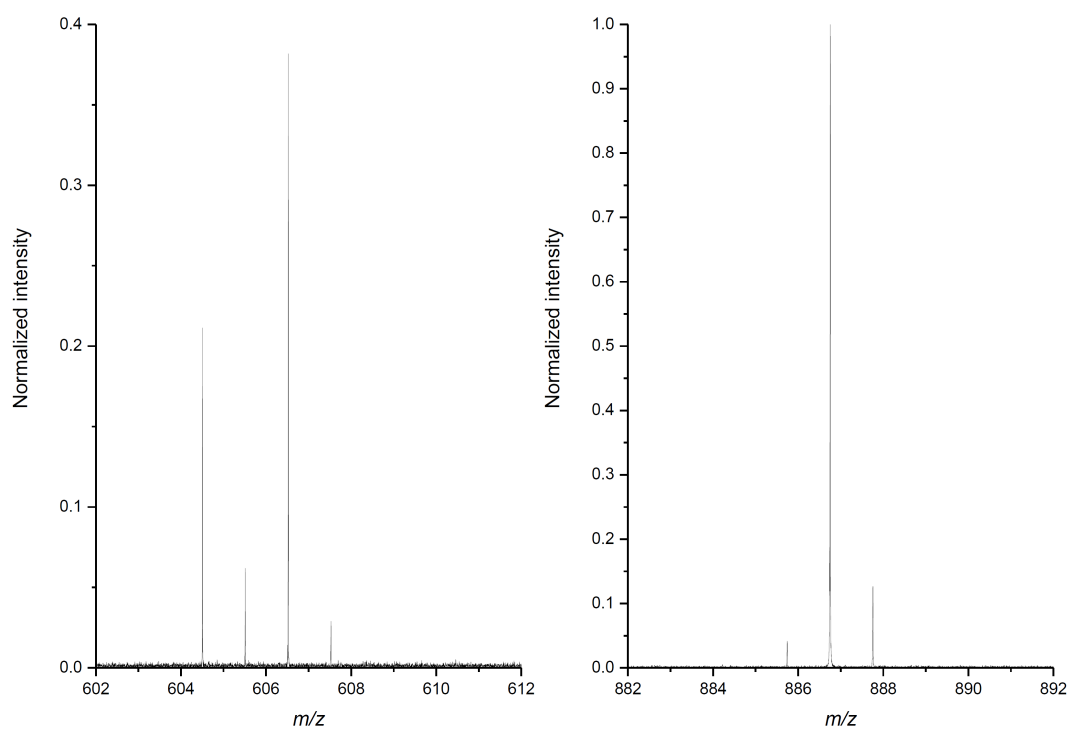
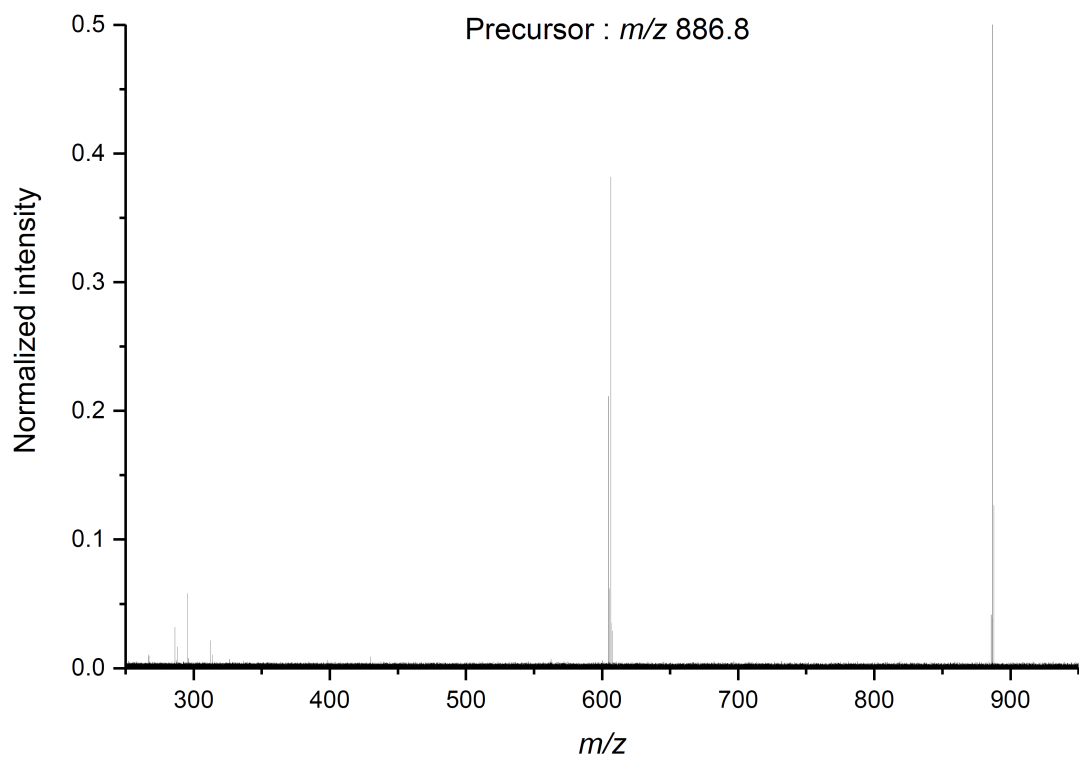
Annexe 2 : Spectre FT-ICR MS/MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD : en haut le spectre MS complet ; en bas à droite un zoom sur le précurseur ; en bas à gauche un zoom sur les fragments correspondant à la perte d'un acide gras neutre. Pas d'isolation de précurseurs (sélection par le quadripôle ± 10 m/z).



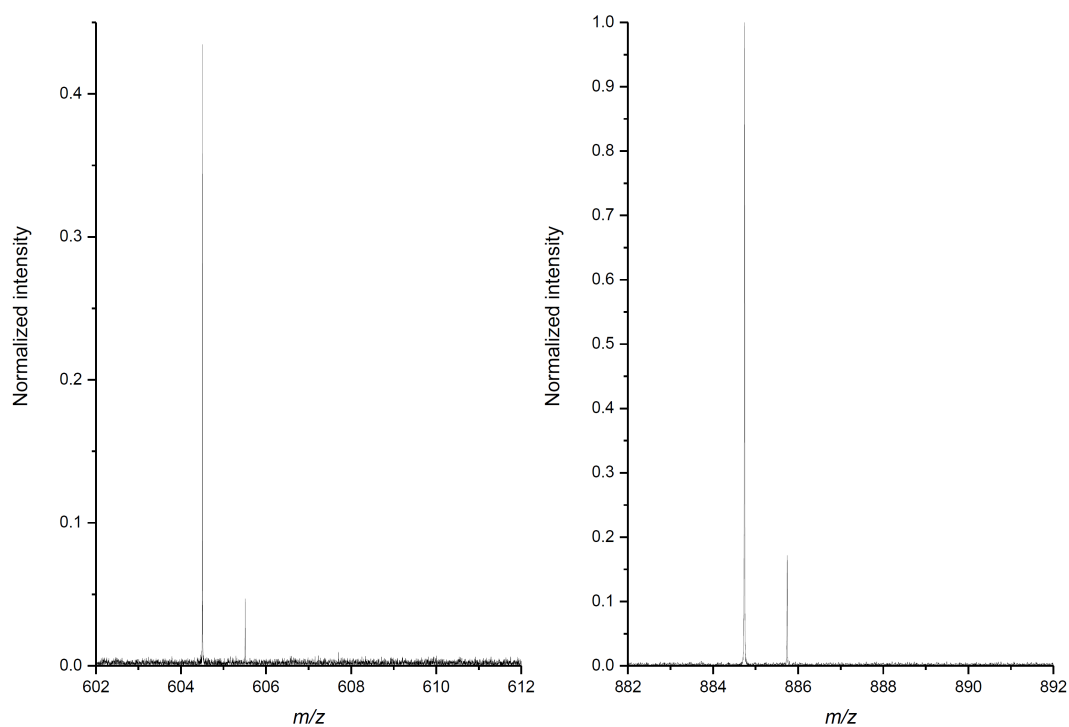
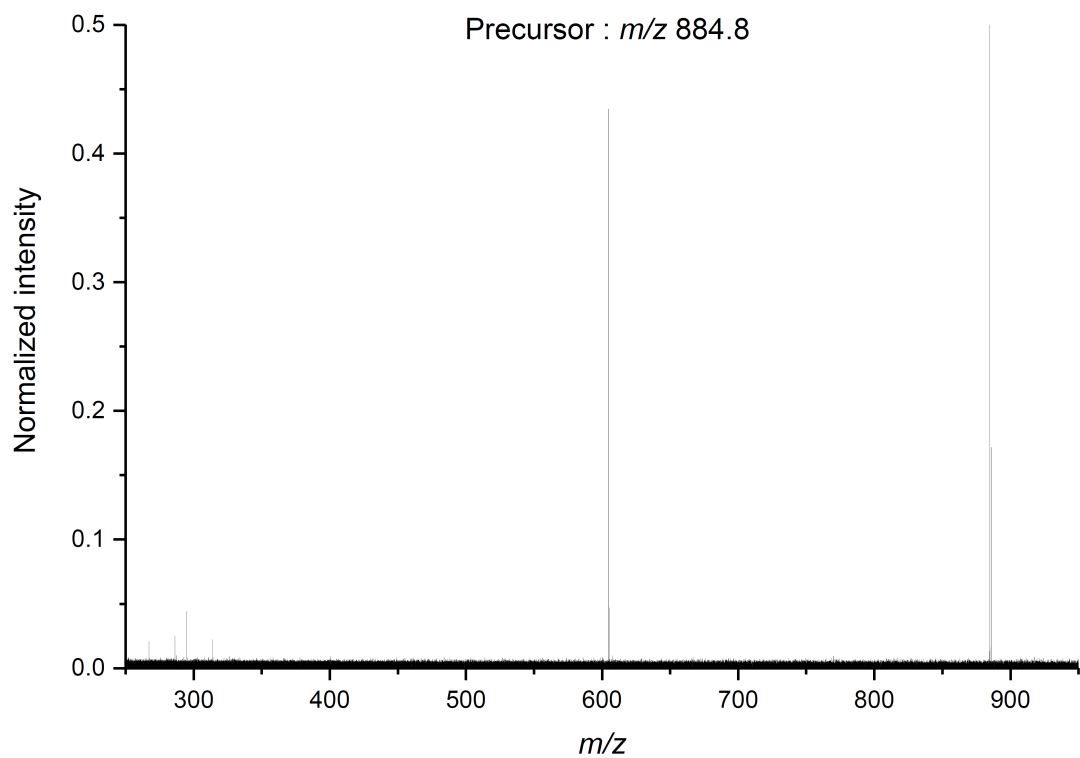
Annexe 3 : Spectre FT-ICR MS/MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD : en haut le spectre MS complet ; en bas à droite un zoom sur le précurseur ; en bas à gauche un zoom sur les fragments correspondant à la perte d'un acide gras neutre. Isolation du précurseur $m/z = 890,8$ (sélection par le quadripôle $\pm 0,5 m/z$).



Annexe 4 : Spectre FT-ICR MS/MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD : en haut le spectre MS complet ; en bas à droite un zoom sur le précurseur ; en bas à gauche un zoom sur les fragments correspondant à la perte d'un acide gras neutre. Isolation du précurseur $m/z = 888,8$ (sélection par le quadripôle $\pm 0,5 m/z$).



Annexe 5 : Spectre FT-ICR MS/MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD : en haut le spectre MS complet ; en bas à droite un zoom sur le précurseur ; en bas à gauche un zoom sur les fragments correspondant à la perte d'un acide gras neutre. Isolation du précurseur $m/z = 886,8$ (sélection par le quadripôle $\pm 0,5 m/z$).



Annexe 6 : Spectre FT-ICR MS/MS de l'huile de sésame complexée avec des ions ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD : en haut le spectre MS complet ; en bas à droite un zoom sur le précurseur ; en bas à gauche un zoom sur les fragments correspondant à la perte d'un acide gras neutre. Isolation du précurseur $m/z = 884,8$ (sélection par le quadripôle $\pm 0,5 m/z$).

Annexe 7 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition uniforme.

		Acquisition uniforme (NUS 1)							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
1350.75922	MH ⁺ (+3)	1350.7557	-0.00352	-2.6		2.38E+07	6.08	26.67%	5624
1349.75128	MH ⁺ (+2)	1349.7562	0.00492	3.6		5.13E+07	13.11	57.50%	5581
1348.74334	MH ⁺ (+1)	1348.7466	0.00326	2.4		5.97E+07	15.27	66.98%	5548
1347.7354	MH ⁺	1347.7421	0.0067	5.0		8.91E+07	22.80	100.00%	5595
1333.73272	MH ⁺ -NH3 (+3)	1333.7286	-0.00412	-3.1		1.73E+07	4.43		5823
1332.72478	MH ⁺ -NH3 (+2)	1332.7249	0.00012	0.1		4.17E+07	10.66		5686
1331.71684	MH ⁺ -NH3 (+1)	1331.7236	0.00676	5.1		5.05E+07	12.93		5676
					1315.6942	1.50E+07	3.84		5805
					1314.6936	1.67E+07	4.27		6039
					1306.7248	1.43E+07	3.65		5914
					1305.7246	1.93E+07	4.94		6010
					1304.7313	1.66E+07	4.24		6118
1291.67294	m10 (+1)	1291.7237	0.05076	39.3		1.71E+07	4.37		6201
1290.665	m10	1290.7197	0.0547	42.4		2.29E+07	5.85		5931
					1289.6829	1.07E+07	2.75		5866
					1288.7291	1.33E+07	3.41		5689
					1287.7329	1.74E+07	4.45		5920
					1278.704	1.38E+07	3.53		6228
					1277.7109	1.87E+07	4.79		5944
1275.6905	m5 / m6	1275.7063	0.0158	12.4		1.17E+07	2.98		5935
					1274.7214	1.72E+07	4.40		5905
					1273.689	1.39E+07	3.54		6479
					1271.7236	1.24E+07	3.17		6309

		Acquisition uniforme (NUS 1)							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
					1270.7166	1.81E+07	4.63		6166
					1262.6656	1.06E+07	2.72		5869
					1261.659	2.86E+07	7.31		5831
					1260.6585	3.46E+07	8.86		6094
					1258.7077	1.21E+07	3.09		6158
					1257.7092	1.54E+07	3.94		6151
					1247.662	1.16E+07	2.96		6183
1219.71872	c10 (+3)	1219.7077	-0.01102	-9.0		1.99E+07	5.10	5.94%	6355
1218.71078	c10 (+2)	1218.7051	-0.00568	-4.7		8.81E+07	22.52	26.27%	6101
1217.70284	c10 (+1)	1217.7021	-0.00074	-0.6		2.46E+08	62.84	73.28%	6172
1216.6949	c10	1216.6996	0.0047	3.9		3.35E+08	85.75	100.00%	6174
					1186.6354	1.07E+07	2.74		6490
1105.62678	c9 (+2)	1105.6195	-0.00728	-6.6		4.40E+07	11.25	20.37%	6798
1104.61884	c9 (+1)	1104.6166	-0.00224	-2.0		1.43E+08	36.63	66.31%	6811
1103.6109	c9	1103.6143	0.0034	3.1		2.16E+08	55.24	100.00%	6819
1079.57074	z9 (+1)	1079.5652	-0.00554	-5.1		2.42E+07	6.19	50.94%	7021
1078.5628	z9	1078.5659	0.0031	2.9		4.75E+07	12.14	100.00%	7009
1048.60528	c8 (+2)	1048.5957	-0.00958	-9.1		3.42E+07	8.75	19.36%	7365
1047.59734	c8 (+1)	1047.594	-0.00334	-3.2		1.14E+08	29.09	64.34%	7209
1046.5894	c8	1046.5924	0.003	2.9		1.77E+08	45.22	100.00%	7226
					1007.5232	1.09E+07	2.78		8016
					1004.5563	1.05E+07	2.68		8002
901.53688	c7 (+2)	901.5272	-0.00968	-10.7		3.78E+07	9.67	13.15%	8438
900.52894	c7 (+1)	900.5251	-0.00384	-4.3		1.46E+08	37.43	50.88%	8378
899.521	c7	899.5219	0.0009	1.0		2.88E+08	73.57	100.00%	8372
					855.5069	2.41E+07	6.16		8901
754.46848	c6 (+2)	754.458	-0.01048	-13.9		1.74E+07	4.46	8.27%	10296

		Acquisition uniforme (NUS 1)							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
753.46054	c6 (+1)	753.454	-0.00654	-8.7		8.66E+07	22.14	41.09%	9994
752.4526	c6	752.4522	-0.0004	-0.5		2.11E+08	53.88	100.00%	10006
676.38718	MH2+ (+4)	676.3739	-0.01328	-19.6		5.72E+07	14.63		10383
675.88321	MH2+ (+3)	675.8727	-0.01051	-15.6		2.53E+08	64.67		10840
					675.6692	1.39E+07	3.56		9786
675.37924	MH2+ (+2)	675.3719	-0.00734	-10.9		8.44E+08	215.77		10935
674.87527	MH ²⁺ (+1)	674.8711	-0.00417	-6.2		2.00E+09	511.66		10998
674.3713	MH ²⁺	674.3699	-0.0014	-2.1		3.09E+09	789.17		11120
					674.294	4.26E7	10.90		17233
					673.513	1.07E+07	2.75		15794
626.40988	c5 (+2)	626.3981	-0.01178	-18.8		2.28E+07	5.84	5.84%	12439
625.40194	c5 (+1)	625.3958	-0.00614	-9.8		1.33E+08	33.90	33.90%	12014
624.394	c5	624.3929	-0.0011	-1.8		3.91E+08	100.00	100.00%	11976
623.3862	c5 (-1)	623.3854	-0.0008	-1.3		4.94E+07	12.64		11915
552.3091	c9 ²⁺	552.3133	0.0042	7.6		1.55E+07	3.96		13142
497.34334	c4 (+1)	497.3372	-0.00614	-12.3		4.83E+07	12.36	26.35%	15032
496.3354	c4	496.3338	-0.0016	-3.2		1.83E+08	46.91	100.00%	15191
495.3276	c4 (-1)	495.3259	-0.0017	-3.4		4.75E+07	12.15		15255
					424.2523	2.08E+07	5.32		17995

Annexe 8 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition NUS 1/2.

		Acquisition NUS 1/2							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
1351.74322	MH ⁺ (+4)	1351.7581	0.01488	11.0		2.58E+07	1.70	7.03%	6279
1350.73528	MH ⁺ (+3)	1350.7575	0.02222	16.5		1.00E+08	6.60	27.30%	5648
1349.72734	MH ⁺ (+2)	1349.7545	0.02716	20.1		2.63E+08	17.32	71.64%	5592
1348.7194	MH ⁺ (+1)	1348.7626	0.0432	32.0		9.74E+07	6.42	26.55%	5418
1347.7116	MH ⁺	1347.7411	0.0295	21.9		3.67E+08	24.18	100.00%	5562
1334.71672	MH+ -NH3 (+4)	1334.7255	0.00878	6.6		2.22E+07	1.46		9651
1333.70878	MH+ -NH3 (+3)	1333.728	0.01922	14.4		7.92E+07	5.22		5997
1332.70084	MH ⁺ -NH3 (+2)	1332.7248	0.02396	18.0		2.18E+08	14.39		5657
1331.6929	MH ⁺ -NH3 (+1)	1331.7237	0.0308	23.1		2.33E+08	15.37		5700
					1316.7246	1.36E+07	0.89		10832
					1316.6158	1.46E+07	0.96		7740
					1315.7047	8.48E+07	5.59		7147
					1314.698	8.10E+07	5.34		5764
					1307.7076	1.35E+07	0.89		7779
					1306.7385	6.97E+07	4.60		8669
					1305.7215	9.31E+07	6.14		5746
					1304.7709	9.14E+07	6.02		8382
					1303.7257	1.00E+08	6.61		5765
					1301.7556	1.46E+07	0.96		10765
1293.68882	m10 (+3)	1293.6811	-0.00772	-6.0		2.28E+07	1.50		10299
1292.68088	m10 (+2)	1292.6975	0.01662	12.9		4.17E+07	2.75		8513
1291.67294	m10 (+1)	1291.723	0.05006	38.8		6.60E+07	4.35		5918
1290.665	m10	1290.7237	0.0587	45.5		5.69E+07	3.75		5848
					1289.7971	2.83E+07	1.87		11205
					1289.7046	2.68E+07	1.76		5397

		Acquisition NUS 1/2							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
					1289.6371	3.11E+07	2.05		11241
					1288.7439	6.53E+07	4.30		10021
					1285.6974	1.20E+07	0.79		9354
1279.72226	m5 / m6 (+4)	1279.7019	-0.02036	-15.9		2.25E+07	1.48		9152
1278.71432	m5 / m6 (+3)	1278.7084	-0.00592	-4.6		5.77E+07	3.80		3537
1277.70638	m5 / m6 (+2)	1277.6931	-0.01328	-10.4		8.21E+07	5.41		5842
1276.69844	m5 / m6 (+1)	1276.7129	0.01446	11.3		2.24E+07	1.47		7522
1275.6905	m5 / m6	1275.726	0.0355	27.8		7.66E+07	5.05		5560
1274.72448	m11 (+2)	1274.7359	0.01142	9.0		6.00E+07	3.95		5812
1273.71654	m11 (+1)	1273.6908	-0.02574	-20.2		4.94E+07	3.26		4693
1272.7086	m11	1272.7151	0.0065	5.1		1.31E+07	0.87		8175
					1271.7174	6.14E+07	4.05		9343
					1270.7111	7.87E+07	5.19		6925
					1262.6357	5.22E+07	3.44		11306
					1261.6619	1.47E+08	9.70		5884
					1260.6585	1.47E+08	9.66		5995
					1258.69	7.33E+07	4.83		10007
					1257.7071	6.60E+07	4.35		6032
					1249.6948	4.17E+07	2.75		10055
					1248.6352	3.97E+07	2.61		10510
					1241.6911	1.76E+07	1.16		10841
					1240.638	1.58E+07	1.04		10431
					1233.678	1.20E+07	0.79		8864
1219.71872	c10 (+3)	1219.7057	-0.01302	-10.7		6.07E+07	4.00	4.38%	5852
1218.71078	c10 (+2)	1218.7069	-0.00388	-3.2		3.12E+08	20.55	22.51%	6064
					1217.9406	1.87E+07	1.23		10208
1217.70284	c10 (+1)	1217.7026	-0.00024	-0.2		1.14E+09	75.28	82.43%	6154

		Acquisition NUS 1/2							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
1216.6949	c10	1216.6996	0.0047	3.9		1.39E+09	91.31	100.00%	6231
					1216.4428	1.27E+07	0.84		8905
					1204.6508	1.52E+07	1.00		9810
1200.67634	b10 (+1)	1200.6672	-0.00914	-7.6		1.38E+07	0.91	56.88%	10063
1199.6684	b10	1199.6905	0.0221	18.4		2.43E+07	1.60	100.00%	8019
1191.6343	y10	1191.6095	-0.0248	-20.8		1.04E+07	0.68		11666
					1187.6884	2.74E+07	1.81		9018
					1186.6212	3.37E+07	2.22		11162
1106.63472	c9 (+3)	1106.6109	-0.02382	-21.5		3.15E+07	2.08	3.45%	11935
1105.62678	c9 (+2)	1105.6203	-0.00648	-5.9		1.56E+08	10.26	17.01%	6678
					1104.8139	1.18E+07	0.78		12921
1104.61884	c9 (+1)	1104.6168	-0.00204	-1.8		6.44E+08	42.45	70.40%	6804
1103.6109	c9	1103.6149	0.004	3.6		9.15E+08	60.30	100.00%	6709
1094.5815	y9	1094.5753	-0.0062	-5.7		1.88E+07	1.24		9444
1080.55474	z9 (+1)	1080.5557	0.00096	0.9		1.23E+07	0.81	9.71%	6211
1079.5468	z9	1079.5658	0.019	17.6		1.27E+08	8.34	100.00%	6785
1078.539	y9 -NH3 (+1)	1078.5656	0.0266	24.7		2.17E+08	14.33		6932
					1060.5735	1.47E+07	0.97		12752
					1059.5873	2.81E+07	1.85		13769
1049.61322	c8 (+3)	1049.6193	0.00608	5.8		1.89E+07	1.25	2.42%	9455
1048.60528	c8 (+2)	1048.596	-0.00928	-8.8		1.27E+08	8.35	16.22%	7281
1047.59734	c8 (+1)	1047.5941	-0.00324	-3.1		5.26E+08	34.67	67.33%	7242
1046.5894	c8	1046.5924	0.003	2.9		7.81E+08	51.48	100.00%	7079
					1021.53	1.64E+07	1.08		7155
					1020.5428	3.53E+07	2.32		14511
					1018.5504	1.07E+07	0.71		8611
					1008.5569	2.11E+07	1.39		11590

		Acquisition NUS 1/2							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
					1007.5164	2.50E+07	1.64		9734
					1007.4699	2.23E+07	1.47		11519
					1005.5475	2.37E+07	1.56		4584
					1004.5826	3.44E+07	2.27		10111
					1004.4933	2.61E+07	1.72		12541
					946.5182	1.07E+07	0.70		8889
902.54482	c7 (+3)	902.5243	-0.02052	-22.7		1.88E+07	1.24	1.53%	12735
901.53688	c7 (+2)	901.5294	-0.00748	-8.3		1.42E+08	9.36	11.54%	8479
900.52894	c7 (+1)	900.5242	-0.00474	-5.3		7.16E+08	47.21	58.21%	8320
899.521	c7	899.5219	0.0009	1.0		1.23E+09	81.11	100.00%	8413
					856.5093	4.87E+07	3.21		9408
					855.5079	1.13E+08	7.42		8574
754.46848	c6 (+2)	754.4585	-0.00998	-13.2		6.49E+07	4.27	7.75%	10067
753.46054	c6 (+1)	753.4545	-0.00604	-8.0		4.02E+08	26.50	48.01%	9933
752.4526	c6	752.4525	-1E-04	-0.1		8.37E+08	55.19	100.00%	9976
751.4448	c6 (-1)	751.4238	-0.021	-27.9		2.45E+07	1.62		13194
676.38718	MH ²⁺ (+4)	676.3713	-0.01588	-23.5		7.03E+07	4.63		10838
675.88321	MH ²⁺ (+3)	675.8712	-0.01201	-17.8		5.16E+08	34.02		11099
					675.6994	1.89E+07	1.24		16604
					675.6646	2.17E+07	1.43		12371
					675.636	1.48E+07	0.98		22276
					675.5551	1.35E+07	0.89		19818
675.37924	MH ²⁺ (+2)	675.3721	-0.00714	-10.6		2.59E+09	170.71		10892
					675.2299	3.08E+07	2.03		17706
					675.1908	2.22E+07	1.47		20636
					675.1592	2.08E+07	1.37		20501
					675.1224	2.29E+07	1.51		17941

		Acquisition NUS 1/2							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
					675.0871	2.75E+07	1.81		19322
					675.0517	3.15E+07	2.08		20482
674.87527	MH ²⁺ (+1)	674.871	-0.00427	-6.3		8.32E+09	548.37		10999
674.3713	MH ²⁺	674.3698	-0.0015	-2.2		1.65E+10	1086.59		11186
					674.2937	2.30E+08	15.17		17226
					673.8217	2.07E+07	1.36		22124
					673.6689	1.16E+07	0.77		20532
					673.5557	2.42E+07	1.60		17517
					673.4858	1.58E+07	1.04		21134
					673.4136	1.43E+07	0.94		19065
					665.86	2.50E+07	1.65		14273
626.40988	c5 (+2)	626.3982	-0.01168	-18.6		7.90E+07	5.20	5.20%	12452
625.40194	c5 (+1)	625.3953	-0.00664	-10.6		6.38E+08	42.02	42.02%	11768
624.394	c5	624.3929	-0.0011	-1.8		1.52E+09	100.00	100.00%	11892
623.3862	c5 (-1)	623.3851	-0.0011	-1.8		2.28E+08	15.02		12083
607.3675	b5	607.3685	0.001	1.6		1.18E+07	0.78		16895
					606.3847	1.02E+07	0.67		13898
					553.3202	1.72E+07	1.13		9261
552.3091	c9 ²⁺	552.3124				6.91E+07	4.55		12798
497.34334	c4 (+1)	497.3366				2.03E+08	13.39	29.97%	14964
496.3354	c4	496.3338				6.78E+08	44.69	100.00%	15045
495.3276	c4 (-1)	495.3258				1.96E+08	12.90		15126
					425.2555	1.19E+07	0.79		17691
					425.2504	1.27E+07	0.84		27752
					424.2523	7.94E+07	5.23		18031
254.1612	b2	254.158				2.36E+07	1.56		43673

Annexe 9 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition NUS 1/4.

		Acquisition NUS 1/4							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
1350.75922	MH ⁺ (+3)	1350.7823	0.02308	17.1		4.25E+07	0.57	3.67%	6602
1349.75128	MH ⁺ (+2)	1349.7531	0.00182	1.3		6.98E+08	9.29	60.21%	5216
1348.74334	MH ⁺ (+1)	1348.752	0.00866	6.4		1.16E+09	15.43	100.00%	5549
1347.7354	MH ⁺	1347.7399	0.0045	3.3		1.09E+09	14.52	94.07%	5642
1333.70878	MH ⁺ -NH3 (+2)	1333.7235	0.01472	11.0		2.71E+07	0.36		9496
1332.70084	MH ⁺ -NH3 (+1)	1332.7256	0.02476	18.6		4.04E+08	5.38		5880
1331.6929	MH ⁺ -NH3 +1)	1331.7234	0.0305	22.9		6.40E+08	8.52		5600
					1315.7342	8.74E+07	1.16		9077
					1314.6967	2.34E+08	3.11		6011
					1306.7347	4.48E+07	0.60		5641
					1305.7159	2.08E+08	2.77		5674
					1304.8106	7.42E+07	0.99		10477
					1304.7242	7.16E+07	0.95		3936
					1304.655	7.38E+07	0.98		8940
					1303.7287	2.71E+08	3.60		6193
					1302.7097	1.22E+07	0.16		5591
					1301.76	2.65E+07	0.35		11136
					1293.6652	1.39E+07	0.18		5437
1291.67294	m10 (+1)	1291.719	0.04606	35.7		1.54E+08	2.06		5917
1290.665	m10	1290.7158	0.0508	39.4		2.90E+08	3.86		6075
					1288.7777	6.05E+07	0.81		9934
					1287.72	1.21E+08	1.61		7454
					1285.7249	1.79E+07	0.24		7575
					1284.785	1.90E+07	0.25		10800
					1284.7399	1.95E+07	0.26		9155

		Acquisition NUS 1/4							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
					1277.7069	2.25E+08	3.00		5172
					1275.7257	1.49E+08	1.99		5277
					1274.7228	2.31E+08	3.07		5061
					1273.7233	1.10E+08	1.47		10303
					1271.7506	5.98E+07	0.80		8867
					1270.7075	2.22E+08	2.96		8390
					1261.6633	2.84E+08	3.78		5897
					1260.6609	4.34E+08	5.78		5850
					1258.6982	8.76E+07	1.17		9052
1257.6647	m7 / m8	1257.7056	0.0409	32.5		2.05E+08	2.73		6337
					1256.6642	3.06E+07	0.41		3754
					1253.6746	2.24E+07	0.30		8697
					1249.7288	4.60E+07	0.61		10544
					1249.6575	4.35E+07	0.58		6747
					1248.6563	4.56E+07	0.61		6277
					1247.7053	6.77E+07	0.90		8264
					1244.6608	1.05E+07	0.14		5974
					1243.6635	1.36E+07	0.18		8010
					1240.6756	4.08E+07	0.54		11159
					1232.6385	2.10E+07	0.28		8529
1219.71872	c10 (+3)	1219.7192	0.00048	0.4		2.67E+07	0.36	0.68%	8116
1218.71078	c10 (+2)	1218.7243	0.01352	11.1		6.05E+07	0.81	1.53%	6680
					1217.9511	4.52E+07	0.60		10681
1217.70284	c10 (+1)	1217.7036	0.00076	0.6		2.17E+09	28.83	54.93%	6263
1216.6949	c10	1216.7004	0.0055	4.5		3.94E+09	52.49	100.00%	6346
					1204.6614	1.58E+07	0.21		5045
					1203.6667	3.28E+07	0.44		9223

		Acquisition NUS 1/4							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
					1201.5976	2.12E+07	0.28		12527
1199.6684	b10	1199.6611	-0.0073	-6.1		5.20E+07	0.69	100.00%	7388
					1199.6062	5.14E+07	0.68		11753
1191.6343	y10	1191.6314	-0.0029	-2.4		2.39E+07	0.32		11079
1189.6187	Y10	1189.5942	-0.0245	-20.6		2.02E+07	0.27		12043
					1187.6551	2.83E+07	0.38		7021
					1187.592	2.86E+07	0.38		6917
					1186.6438	7.15E+07	0.95		6128
1105.62678	c9 (+2)	1105.6286	0.00182	1.6		4.41E+07	0.59	1.52%	12330
1104.61884	c9 (+1)	1104.6182	-0.00064	-0.6		1.32E+09	17.60	45.42%	6848
1103.6109	c9	1103.6155	0.0046	4.2		2.91E+09	38.76	100.00%	6761
					1094.5723	8.48E+07	1.13		11108
1086.5843	b9	1086.6056	0.0213	19.6		1.21E+07	0.16		11373
1080.55474	z9 (+1)	1080.5792	0.02446	22.6		1.01E+08	1.34	23.94%	7990
1079.5468	z9	1079.5719	0.0251	23.2		4.22E+08	5.61	100.00%	7126
1078.539	y9 -NH3	1078.567	0.028	26.0		6.81E+08	9.07		7325
					1077.5488	2.81E+07	0.37		8645
					1060.5639	1.91E+07	0.25		10567
					1059.6058	6.34E+07	0.84		10408
1048.60528	c8 (+2)	1048.6195	0.01422	13.6		3.63E+07	0.48	1.36%	13822
1047.59734	c8 (+1)	1047.5961	-0.00124	-1.2		1.12E+09	14.90	42.10%	6845
1046.5894	c8	1046.5928	0.0034	3.2		2.66E+09	35.38	100.00%	7082
					1045.5602	1.71E+07	0.23		13182
					1031.5934	1.08E+07	0.14		11273
					1031.5673	1.04E+07	0.14		8226
1029.5629	b8	1029.5628	-1E-04	-0.1		1.28E+07	0.17		9330
					1022.4944	2.09E+07	0.28		12924

		Acquisition NUS 1/4							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
					1021.558	2.36E+07	0.31		11830
					1021.5293	2.54E+07	0.34		14780
					1020.5387	7.89E+07	1.05		12957
					1018.5376	1.12E+07	0.15		14941
					1017.5768	4.90E+07	0.65		11215
					1008.5495	2.98E+07	0.40		12031
					1008.4955	4.00E+07	0.53		14737
					1007.4909	8.87E+07	1.18		13064
					1005.5373	3.26E+07	0.43		12994
					1004.5154	8.79E+07	1.17		12983
					1003.5646	2.33E+07	0.31		10688
					1002.5885	1.17E+07	0.16		9756
					986.5795	1.57E+07	0.21		15189
					946.5152	2.84E+07	0.38		9160
					933.5082	2.28E+07	0.30		12497
					933.4852	2.37E+07	0.32		14957
901.53688	c7 (+2)	901.5363	-0.00058	-0.6		5.69E+07	0.76	1.18%	10434
900.52894	c7 (+1)	900.5243	-0.00464	-5.2		1.65E+09	21.93	34.16%	8059
899.521	c7	899.5222	0.0012	1.3		4.82E+09	64.20	100.00%	8673
					898.5481	2.66E+07	0.35		16299
882.4944	b7	882.497	0.0026	2.9		1.98E+07	0.26		12773
					857.5131	2.02E+07	0.27		17775
					856.5111	1.88E+08	2.50		8789
					855.5066	4.33E+08	5.77		7993
					839.4859	1.15E+07	0.15		14241
754.46848	c6 (+2)	754.4635	-0.00498	-6.6		3.55E+07	0.47	0.95%	14141
753.46054	c6 (+1)	753.4547	-0.00584	-7.8		1.01E+09	13.43	26.90%	9388

		Acquisition NUS 1/4							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
752.4526	c6	752.4523	-0.0003	-0.4		3.75E+09	49.92	100.00%	10309
					751.4332	9.42E+07	1.25		18598
735.426	b6	735.4223	-0.0037	-5.0		1.60E+07	0.21		11465
					734.4389	1.12E+07	0.15		19195
					708.4366	1.53E+07	0.20		10885
					675.9396	1.77E+07	0.24		22212
675.88321	MH ²⁺ (+3)	675.883	-0.00021	-0.3		3.98E+08	5.29		12605
675.37924	MH ²⁺ (+2)	675.3747	-0.00454	-6.7		1.23E+09	16.39		12050
					675.2992	5.62E+07	0.75		14473
					675.2242	5.96E+07	0.79		22180
					675.0785	3.83E+07	0.51		19150
					675.0439	4.31E+07	0.57		22097
					675.0153	9.90E+07	1.32		17928
674.87527	MH ²⁺ (+1)	674.8711	-0.00417	-6.2		1.55E+10	206.69		10934
					674.7019	8.41E+07	1.12		18827
674.3713	MH ²⁺	674.3697	-0.0016	-2.4		5.48E+10	729.56		11305
					673.5938	2.64E+07	0.35		22483
					665.8588	1.16E+08	1.54		16486
					656.852	1.89E+07	0.25		10169
626.40988	c5 (+2)	626.3998	-0.01008	-16.1		4.54E+07	0.60	0.60%	14813
625.40194	c5 (+1)	625.3952	-0.00674	-10.8		1.71E+09	22.74	22.74%	11525
624.394	c5	624.3925	-0.0015	-2.4		7.51E+09	100.00	100.00%	12048
623.3862	c5 (-1)	623.3841	-0.0021	-3.4		1.02E+09	13.51		12400
607.3675	b5	607.3701	0.0026	4.3		3.36E+07	0.45		12786
					606.3779	3.43E+07	0.46		12604
					600.337	3.26E+07	0.43		21645

		Acquisition NUS 1/4							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
552.3091	c9 ²⁺	552.3125	0.0034	6.2	553.323	3.34E+07	0.44		19855
						3.38E+08	4.50		12399
					524.3035	1.64E+07	0.22		18518
497.34334	c4 (+1)	497.3365	-0.00684	-13.8		5.42E+08	7.21	16.71%	14872
496.3354	c4	496.3334	-0.002	-4.0		3.24E+09	43.19	100.00%	15255
495.3276	c4 (-1)	495.3256	-0.002	-4.0		8.82E+08	11.74		15291
479.3089	b4	479.3065	-0.0024	-5.0		1.20E+07	0.16		20506
					478.3209	2.02E+07	0.27		20610
					453.3268	2.16E+07	0.29		30506
					425.2538	3.07E+07	0.41		28387
					424.2521	4.09E+08	5.45		17663
382.2561	b3	382.2523	-0.0038	-9.9		1.17E+07	0.16		32853
					364.2445	2.20E+07	0.29		24399
					354.1759	1.01E+07	0.13		13291
					271.1864	1.35E+08	1.79		28639
					270.1801	1.57E+07	0.21		55436
					254.159	1.58E+08	2.10		46992
					243.1451	1.17E+07	0.16		56376
					243.1433	1.22E+07	0.16		53572
					237.1329	2.04E+07	0.27		28226
					226.153	1.28E+07	0.17		42999
					226.1177	3.02E+07	0.40		55868

Annexe 10 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition NUS 1/8.

		Acquisition NUS 1/8							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
1350.73528	MH ⁺ (+3)	1350.7586	0.02332	17.3		5.53E+07	0.46	2.93%	8950
1349.72734	MH ⁺ (+2)	1349.7526	0.02526	18.7		1.93E+08	1.60	10.23%	6044
1348.7194	MH ⁺ (+1)	1348.7468	0.0274	20.3		1.89E+09	15.63	100.00%	6405
1347.7116	MH ⁺	1347.7353	0.0237	17.6		1.88E+09	15.51	99.27%	5432
1332.70084	MH ⁺ -NH3 (+2)	1332.7177	0.01686	12.7		9.83E+07	0.81		5781
1331.6929	MH ⁺ -NH3 (+1)	1331.7191	0.0262	19.7		1.07E+09	8.88		5097
					1314.6827	3.71E+08	3.07		5290
					1305.7188	3.46E+08	2.86		3458
					1303.7219	4.55E+08	3.77		6133
					1301.7091	2.56E+07	0.21		7279
					1292.6791	4.01E+07	0.33		5703
					1292.6191	3.86E+07	0.32		8043
					1291.7399	4.65E+07	0.38		5893
1290.665	m10	1290.7155	0.0505	39.1		5.03E+08	4.16		5864
					1289.7092	7.47E+07	0.62		7230
					1287.7523	1.31E+08	1.08		7475
					1284.7133	2.65E+07	0.22		9156
					1277.6968	3.95E+08	3.26		5570
					1275.8314	2.33E+07	0.19		10992
					1274.7155	3.76E+08	3.11		7731
					1273.6571	1.03E+08	0.85		6408
					1270.8003	1.43E+08	1.18		8836
					1261.6745	6.51E+07	0.54		6734
					1260.6532	7.12E+08	5.89		5624
1257.68854	m7 / m8 (+1)	1257.6984	0.00986	7.8		3.45E+08	2.86		6517

		Acquisition NUS 1/8							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
1256.6806	m7 / m8	1256.6752	-0.0054	-4.3		3.49E+07	0.29		5937
					1253.6683	3.59E+07	0.30		11462
					1249.6591	6.51E+07	0.54		7063
					1247.6373	9.27E+07	0.77		9836
					1245.6728	1.14E+07	0.09		8823
					1243.6301	2.11E+07	0.17		7504
					1240.6966	3.71E+07	0.31		7600
					1234.6647	1.03E+07	0.09		11611
					1232.6586	2.55E+07	0.21		9607
					1221.6584	1.12E+07	0.09		9984
1219.71872	c10 (+3)	1219.7007	-0.01802	-14.8		1.88E+07	0.16	0.28%	5436
1218.71078	c10 (+2)	1218.6971	-0.01368	-11.2		1.03E+08	0.85	1.52%	10800
1217.70284	c10 (+1)	1217.7046	0.00176	1.4		4.63E+08	3.83	6.83%	7139
1216.6949	c10	1216.6969	0.002	1.6		6.77E+09	56.03	100.00%	6005
1215.6871	c10 (-1)	1215.7119	0.0248	20.4		1.13E+07	0.09		7608
					1204.5967	1.76E+07	0.15		10107
					1203.6956	4.04E+07	0.33		11413
					1202.6042	1.30E+07	0.11		11495
					1201.6269	1.96E+07	0.16		9581
1199.6684	b10	1199.6606	-0.0078	-6.5	1206.6233	8.18E+07	0.68	100.00%	6849
1191.6343	y10	1191.648	0.0137	11.5	1204.5992	2.30E+07	0.19		9841
					1189.5943	2.81E+07	0.23		11076
					1186.6805	7.20E+07	0.60		10487
					1130.5868	1.49E+07	0.12		8685
					1115.595	1.36E+07	0.11		9200
1105.62678	c9 (+2)	1105.6082	-0.01858	-16.8		6.01E+07	0.50	1.18%	10851
1104.61884	c9 (+1)	1104.6186	-0.00024	-0.2		3.09E+08	2.56	6.04%	7212

		Acquisition NUS 1/8							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
1103.6109	c9	1103.6116	0.0007	0.6		5.11E+09	42.28	100.00%	7059
1094.5815	y9	1094.5972	0.0157	14.3		9.62E+07	0.80		4389
1086.5843	b9	1086.5921	0.0078	7.2		1.99E+07	0.16		7163
1080.55474	z9 (+1)	1080.5743	0.01956	18.1		4.41E+07	0.37	12.54%	7246
1079.5468	z9	1079.5726	0.0258	23.9		3.52E+08	2.91	100.00%	8070
1078.539	y9 -NH3	1078.5639	0.0249	23.1		1.11E+09	9.17		6758
					1077.5503	4.54E+07	0.38		10778
					1059.6222	5.44E+07	0.45		9163
1048.60528	c8 (+2)	1048.6207	0.01542	14.7		3.65E+07	0.30	0.80%	7250
1047.59734	c8 (+1)	1047.5975	0.00016	0.2		2.72E+08	2.25	6.00%	7987
1046.5894	c8	1046.5891	-0.0003	-0.3		4.54E+09	37.52	100.00%	7230
					1045.5734	1.67E+07	0.14		8728
					1031.5601	1.23E+07	0.10		6914
1029.5629	b8	1029.5535	-0.0094	-9.1		1.77E+07	0.15		5447
					1022.5303	2.11E+07	0.17		10126
					1020.534	7.58E+07	0.63		7679
					1017.5276	6.29E+07	0.52		11825
					1007.523	1.02E+08	0.84		7343
					1004.5405	1.05E+08	0.86		10189
					1003.591	3.05E+07	0.25		6904
					1002.5843	1.58E+07	0.13		9168
					1002.5623	1.62E+07	0.13		13765
					986.5592	1.91E+07	0.16		12036
					948.4899	1.03E+07	0.09		6812
					946.5148	4.74E+07	0.39		12802
					933.5014	3.14E+07	0.26		11781

		Acquisition NUS 1/8							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
901.53688	c7 (+2)	901.5465	0.00962	10.7		4.73E+07	0.39	0.59%	14269
900.52894	c7 (+1)	900.5236	-0.00534	-5.9		4.21E+08	3.49	5.29%	9091
899.521	c7	899.5189	-0.0021	-2.3		7.97E+09	65.91	100.00%	8819
898.5132	c7 (-1)	898.5151	0.0019	2.1		3.53E+07	0.29		12954
882.4944	b7	882.4897	-0.0047	-5.3		2.60E+07	0.22		11123
		881.4993			1002.5702	1.21E+07	0.10		8408
		856.5139			986.5576	1.58E+08	1.31		10173
		855.505			953.474	7.07E+08	5.85		9532
		839.4869			949.4714	1.62E+07	0.13		12990
		756.423			948.4947	1.74E+07	0.14		16047
753.46054	c6 (+1)	753.4533	-0.00724	-9.6		2.44E+08	2.02		10976
					752.5488	4.73E+07	0.39		13158
752.4526	c6	752.4491	-0.0035	-4.7		6.10E+09	50.46		9503
751.4448	c6 (-1)	751.4458	0.001	1.3		9.21E+07	0.76		12462
735.426	b6	735.4233	-0.0027	-3.7		2.59E+07	0.21		12265
					734.4453	1.49E+07	0.12		10881
					708.4362	1.45E+07	0.12		17089
					676.0145	4.22E+07	0.35		21322
675.88321	MH ²⁺ (+3)	675.8779	-0.00531	-7.9		4.30E+08	3.55		17571
675.37924	MH ²⁺ (+2)	675.3719	-0.00734	-10.9		1.95E+09	16.16		11135
					675.2866	3.26E+07	0.27		19683
674.87527	MH ²⁺ (+1)	674.8719	-0.00337	-5.0		6.48E+09	53.63		11097
674.3713	MH ²⁺	674.3685	-0.0028	-4.2		9.66E+10	799.28		11100
					665.8543	1.31E+08	1.09		10274
					656.8515	2.77E+07	0.23		11928
625.40194	c5 (+1)	625.3958	-0.00614	-9.8		3.78E+08	3.13	3.13%	12287

		Acquisition NUS 1/8							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
624.394	c5	624.3911	-0.0029	-4.6		1.21E+10	100.00	100.00%	11133
623.3862	c5 (-1)	623.3831	-0.0031	-5.0		1.60E+09	13.27		12028
607.3675	b5	607.3585	-0.009	-14.8		4.79E+07	0.40		18771
					606.3813	4.76E+07	0.39		17155
600.3378	b10 ²⁺	600.3361	-0.0017	-2.8		3.98E+07	0.33		12591
					591.3329	1.17E+07	0.10		17672
					581.388	1.25E+07	0.10		16613
					565.3529	1.46E+07	0.12		9542
552.3091	c9 ²⁺	552.3113	0.0022	4.0		5.49E+08	4.54		13308
						2.14E+07	0.18		25938
497.34334	c4 (+1)	497.3368	-0.00654	-13.2		1.51E+08	1.25	2.79%	15367
496.3354	c4	496.3327	-0.0027	-5.4		5.40E+09	44.63	100.00%	15176
495.3276	c4 (-1)	495.3247	-0.0029	-5.9		1.43E+09	11.85		14865
479.3089	b4	479.3045	-0.0044	-9.2		1.42E+07	0.12		16520
					478.3238	2.74E+07	0.23		23433
					453.3272	2.15E+07	0.18		24574
					424.2516	6.58E+08	5.44		17498
382.2561	b3	382.2544	-0.0017	-4.4		1.25E+07	0.10		14865
					364.2426	2.99E+07	0.25		21816
					356.2756	1.57E+07	0.13		29498
					354.1753	1.37E+07	0.11		27820
					254.1598	1.76E+08	1.45		38773
					243.1436	1.34E+07	0.11		34591
					237.1329	2.95E+07	0.24		36946
					226.1536	1.61E+07	0.13		26690
					226.1169	3.59E+07	0.30		22630

Annexe 11 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition NUS 1/16.

		Acquisition NUS 1/16							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
1350.75922	MH ⁺ (+3)	1350.7732	0.01398	10.3		6.95E+07	0.53	3.88%	8726
1349.75128	MH ⁺ (+2)	1349.7442	-0.00708	-5.2		2.26E+08	1.74	12.64%	5959
1348.74334	MH ⁺ (+1)	1348.7251	-0.01824	-13.5		1.10E+09	8.44	61.27%	7561
1347.7354	MH ⁺	1347.7285	-0.0069	-5.1		1.79E+09	13.78	100.00%	5930
					1332.7259	1.06E+08	0.81		6567
					1331.6975	9.63E+08	7.40		8392
					1314.6991	2.92E+08	2.24		4059
					1305.6985	3.29E+08	2.53		9032
					1303.7216	3.66E+08	2.82		7426
					1301.7689	2.84E+07	0.22		6812
1292.68088	m10 (+2)	1292.7054	0.02452	19.0		5.63E+07	0.43		7582
1291.67294	m10 (+1)	1291.7178	0.04486	34.7		6.22E+07	0.48		7433
1290.665	m10	1290.7165	0.0515	39.9		5.22E+08	4.01		6673
					1289.6997	7.37E+07	0.57		8829
					1288.6217	2.46E+07	0.19		10769
					1287.7334	1.26E+08	0.97		5805
					1284.7216	2.62E+07	0.20		7464
					1277.6856	3.19E+08	2.45		5414
					1273.6741	1.05E+08	0.81		7738
					1267.6417	1.01E+07	0.08		4692
					1261.6548	7.88E+07	0.61		7983
					1260.6905	5.33E+08	4.10		7126
					1260.6249	5.74E+08	4.42		7702
1256.6806	m7 / m8	1256.6645	-0.0161	-12.8		3.88E+07	0.30		10208
					1253.6656	3.13E+07	0.24		6038

		Acquisition NUS 1/16							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	$\frac{\Delta m}{m/z}$ (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
1247.648	m1	1247.6341	-0.0139	-11.1	1249.6546	6.29E+07	0.48		4681
						7.99E+07	0.61		4000
					1245.6803	1.23E+07	0.09		3308
1242.7106	da11	1242.6789	-0.0317	-25.5	1243.6456	2.36E+07	0.18		6069
						1.13E+07	0.09		11495
					1240.6667	4.00E+07	0.31		7393
					1234.6392	1.49E+07	0.11		8307
					1233.6611	1.05E+07	0.08		11171
					1232.6602	2.53E+07	0.19		6864
					1221.6463	1.07E+07	0.08		6815
1218.71078	c10 (+2)	1218.7157	0.00492	4.0		1.46E+08	1.12	2.18%	7739
					1218.6737	1.42E+08	1.09		8872
1217.70284	c10 (+1)	1217.7054	0.00256	2.1		6.19E+08	4.76	9.21%	6576
1216.6949	c10	1216.6959	0.001	0.8		6.72E+09	51.63	100.00%	7351
1215.6871	c10 (-1)	1215.7121	0.025	20.6		1.31E+07	0.10		9039
					1214.5869	1.18E+07	0.09		12089
					1204.6139	1.86E+07	0.14		5466
					1203.6833	3.59E+07	0.28		5962
					1202.6111	1.83E+07	0.14		7238
					1201.6415	2.00E+07	0.15		8033
						7.72E+07	0.59		6393
1199.6684	b10	1199.6534	-0.015	-12.5		7.72E+07	0.59	100.00%	6393
1191.6343	y10	1191.6341	-0.0002	-0.2		2.58E+07	0.20		8167
					1190.6127	1.12E+07	0.09		10371
1189.6187	Y10	1189.6169	-0.0018	-1.5		2.46E+07	0.19		7323
					1186.6432	7.28E+07	0.56		7359
1182.6418	b10 -NH3	1182.6463	0.0045	3.8		1.15E+07	0.09		8418
					1175.6546	1.05E+07	0.08		7483

		Acquisition NUS 1/16							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	$\frac{\Delta m}{m/z}$ (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
					1130.5706	1.21E+07	0.09		6584
					1115.5856	1.27E+07	0.10		6489
1105.62678	c9 (+2)	1105.6236	-0.00318	-2.9		8.01E+07	0.62	1.57%	9852
1104.61884	c9 (+1)	1104.6057	-0.01314	-11.9		4.37E+08	3.36	8.56%	8750
1103.6109	c9	1103.6189	0.008	7.2		5.11E+09	39.29	100.00%	4334
1094.5815	y9	1094.5842	0.0027	2.5		9.38E+07	0.72		8602
1086.5843	b9	1086.5743	-0.01	-9.2		2.04E+07	0.16		6743
1080.55474	z9 (+1)	1080.5669	0.01216	11.3		5.58E+07	0.43	22.71%	7209
1079.5468	z9	1079.5548	0.008	7.4		2.46E+08	1.89	100.00%	11808
1078.539	y9 -NH3	1078.5744	0.0354	32.8		9.19E+08	7.07		8813
					1078.541	9.10E+08	7.00		9628
					1077.5539	4.04E+07	0.31		7199
					1076.5687	1.05E+07	0.08		11154
					1059.6037	5.40E+07	0.41		8847
1048.60528	c8 (+2)	1048.5967	-0.00858	-8.2		6.57E+07	0.51	1.47%	6417
1047.59734	c8 (+1)	1047.5926	-0.00474	-4.5		3.64E+08	2.80	8.14%	6494
1046.5894	c8	1046.5847	-0.0047	-4.5		4.47E+09	34.38	100.00%	6060
1045.5816	c8 (-1)	1045.5655	-0.0161	-15.4		1.79E+07	0.14		9950
		1031.5697				1.38E+07	0.11		8239
1029.5629	b8	1029.5469	-0.016	-15.5		1.65E+07	0.13		5966
					1022.508	2.28E+07	0.18		9829
					1020.5408	7.93E+07	0.61		6350
					1018.5474	1.02E+07	0.08		6943
					1017.5569	4.98E+07	0.38		6906
					1008.5141	3.63E+07	0.28		13427
					1007.5142	1.02E+08	0.78		8556
					1004.5365	1.02E+08	0.78		8814

		Acquisition NUS 1/16							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	$\frac{\Delta m}{m/z}$ (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
					1003.5787	3.02E+07	0.23		8145
					1002.5745	1.46E+07	0.11		12134
					986.5629	1.67E+07	0.13		4578
					948.4683	1.30E+07	0.10		9513
					946.5087	4.24E+07	0.33		6732
					933.5037	2.86E+07	0.22		8970
901.53688	c7 (+2)	901.5276	-0.00928	-10.3		7.17E+07	0.55	0.91%	7079
900.52894	c7 (+1)	900.5219	-0.00704	-7.8		5.27E+08	4.05	6.72%	6798
899.521	c7	899.514	-0.007	-7.8		7.85E+09	60.35	100.00%	7901
898.5132	c7 (-1)	898.5212	0.008	8.9		2.98E+07	0.23		7965
882.4944	b7	882.4995	0.0051	5.8		2.52E+07	0.19		8027
					881.5042	1.40E+07	0.11		8401
					856.5054	1.29E+08	0.99		11618
					855.508	6.28E+08	4.83		7647
					839.4769	1.77E+07	0.14		11158
					756.4249	1.55E+07	0.12		12427
754.46848	c6 (+2)	754.4619	-0.00658	-8.7		3.23E+07	0.25	0.56%	14269
753.46054	c6 (+1)	753.4509	-0.00964	-12.8		3.30E+08	2.54	5.74%	11078
					752.5445	2.25E+07	0.17		18925
752.4526	c6	752.4512	-0.0014	-1.9		5.75E+09	44.19	100.00%	7787
751.4448	c6 (-1)	751.4433	-0.0015	-2.0		8.68E+07	0.67		13408
735.426	b6	735.423	-0.003	-4.1		2.70E+07	0.21		13692
					734.4391	1.53E+07	0.12		6477
					708.4339	1.65E+07	0.13		9577
676.38718	MH ²⁺ (+4)	676.3765	-0.01068	-15.8		5.69E+07	0.44		13396
675.88321	MH ²⁺ (+3)	675.883	-0.00021	-0.3		2.37E+08	1.82		18422

		Acquisition NUS 1/16							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
675.37924	MH ²⁺ (+2)	675.3728	-0.00644	-9.5		1.37E+09	10.54		14366
674.87527	MH ²⁺ (+1)	674.8711	-0.00417	-6.2		8.17E+09	62.78		11027
674.3713	MH ²⁺	674.3681	-0.0032	-4.7		1.03E+11	788.56		11235
					665.8561	1.21E+08	0.93		9610
					656.8522	2.21E+07	0.17		12971
626.40988	c5 (+2)	626.3964	-0.01348	-21.5		4.12E+07	0.32	0.32%	12769
625.40194	c5 (+1)	625.3945	-0.00744	-11.9		5.85E+08	4.50	4.50%	13415
624.394	c5	624.3919	-0.0021	-3.4		1.30E+10	100.00	100.00%	12121
623.3862	c5 (-1)	623.3877	0.0015	2.4		1.63E+09	12.53		16889
607.3675	b5	607.3631	-0.0044	-7.2		4.50E+07	0.35		14039
					606.3811	4.16E+07	0.32		12603
600.3378	b10 ²⁺	600.335	-0.0028	-4.7		3.73E+07	0.29		13169
					591.3325	1.02E+07	0.08		7666
					581.3827	1.20E+07	0.09		12289
					565.3537	1.51E+07	0.12		14300
					553.3213	1.42E+07	0.11		18529
552.3091	c9 ²⁺	552.3118	0.0027	4.9		6.30E+08	4.84		15475
					524.3027	1.93E+07	0.15		10975
497.34334	c4 (+1)	497.3358	-0.00754	-15.2		2.17E+08	1.67	3.68%	15860
496.3354	c4	496.3323	-0.0031	-6.2		5.89E+09	45.30	100.00%	13462
495.3276	c4 (-1)	495.3243	-0.0033	-6.7		1.55E+09	11.88		14581
479.3089	b4	479.3064	-0.0025	-5.2		1.57E+07	0.12		20530
					478.3212	2.43E+07	0.19		15080
					453.3274	1.99E+07	0.15		24174
					424.2513	7.54E+08	5.80		17256
382.2561	b3	382.2543	-0.0018	-4.7		1.24E+07	0.10		27383

		Acquisition NUS 1/16							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	$\frac{\Delta m}{m/z}$ (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
254.1612	b2	254.1592	-0.002	-7.9	364.2428	2.74E+07	0.21		19818
					356.2749	1.17E+07	0.09		29183
					354.1741	1.43E+07	0.11		24575
						1.45E+08	1.12		31040
237.1346	b2 -NH3	237.1326	-0.002	-8.4	243.1436	1.43E+07	0.11		29220
						2.73E+07	0.21		37061
					226.1528	1.53E+07	0.12		36350
					226.1169	3.40E+07	0.26		34814
					224.7898	8.19E+07	0.63		31193

Annexe 12 : Interprétation du spectre MS/MS du précurseur monoisotopique de la substance P dans le cas d'une acquisition NUS 1/32.

		Acquisition NUS 1/32							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
					1314.6906	3.08E+07	0.7		9444
					1303.689	4.19E+07	0.9		9128
					1301.7581	1.45E+07	0.3		6521
					1287.7194	4.70E+07	1.0		6914
					1273.6736	4.62E+07	1.0		7159
					1260.7161	5.33E+07	1.2		10760
					1260.6594	5.97E+07	1.3		9347
					1256.6544	1.63E+07	0.4		6237
					1253.6858	1.14E+07	0.2		2774
					1203.6823	1.57E+07	0.3		7045
1199.6684	b10	1199.6668	-0.0016	-1.3		4.01E+07	0.9	100.00%	6561
					1191.6266	1.22E+07	0.3		7703
					1189.6136	1.02E+07	0.2		8583
1103.6109	c9	1103.6289	0.018	16.3		1.75E+09	37.8	100.00%	10093
1094.5815	y9	1094.5715	-0.01	-9.1		7.20E+07	1.6		8447
1086.5843	b9	1086.5778	-0.0065	-6.0		1.16E+07	0.3		7073
1077.539	y9 -NH3	1077.5548	0.0158	14.7		3.46E+07	0.7		6490
1046.5894	c8	1046.6326	0.0432	41.3		1.27E+09	27.5	100.00%	12186
1029.5629	b8	1029.5549	-0.008	-7.8	1274.7263	1.28E+07	0.3		7373
					1020.5309	3.54E+07	0.8		9253
					1017.5446	2.79E+07	0.6		9293
					1003.5788	1.63E+07	0.4		9726
					986.5473	1.05E+07	0.2		11345
					946.5158	3.14E+07	0.7		9048
					933.5107	1.38E+07	0.3		9647

		Acquisition NUS 1/32							
<i>m/z</i> théorique	Attribution	<i>m/z</i> attribué	Δm	Δm (ppm)	<i>m/z</i> non attribué	Intensité relative	Normalisé	Rapport isotopique	Résolution
899.521	c7	899.5228	0.0018	2.0		1.74E+09	37.5	100.00%	8171
882.4944	b7	882.4895	-0.0049	-5.6		1.88E+07	0.4		9051
					855.5016	7.09E+07	1.5		11205
752.4526	c6	752.4437	-0.0089	-11.8		1.64E+09	35.4	100.00%	6466
735.426	b6	735.4215	-0.0045	-6.1		1.73E+07	0.4		10080
674.3713	MH ²⁺	674.3678	-0.0035	-5.2		7.41E+10	1600.1		10170
					665.8546	1.21E+08	2.6		12197
					656.8511	2.23E+07	0.5		8415
624.394	c5	624.4026	0.0086	13.8		4.63E+09	100.0	100.00%	20318
623.3862	c5 (-1)	623.3809	-0.0053	-8.5		5.29E+08	11.4		21488
607.3675	b5	607.3631	-0.0044	-7.2		3.07E+07	0.7		13984
					606.3798	2.65E+07	0.6		13143
600.3378	b10 ²⁺	600.3353	-0.0025	-4.2		3.47E+07	0.7		14710
					552.3167	2.99E+08	6.5		19802
496.3354	c4	496.3304	-0.005	-10.1		3.09E+09	66.7	100.00%	21188
495.3276	c4 (-1)	495.3246	-0.003	-6.1		7.27E+08	15.7		20347
					478.3232	1.60E+07	0.3		18950
					424.2501	4.16E+08	9.0		23187
					364.2433	2.44E+07	0.5		26919
					354.1745	1.46E+07	0.3		19945
254.1612	b2	254.1592	-0.002	-7.9		1.33E+08	2.9		30816
					243.1432	1.02E+07	0.2		30073
237.1346	b2 -NH3	237.1328	-0.0018	-7.6		2.02E+07	0.4		30311
					226.1528	1.34E+07	0.3		41377
					226.1169	3.35E+07	0.7		29131

Annexe 13 : Distribution isotopique des 10 fragments majeurs du précurseur monoisotopique comparée à la distribution isotopique théorique calculée avec le logiciel IsoPatrn (massifs les plus proches en vert, massifs incorrects en rouge).

Parent	Isotope du fragment	NUS 1		NUS 1/2		NUS 1/4		NUS 1/8		NUS 1/16		NUS 1/32		Rapport isotopique théorique %
		Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	
MH ⁺	Mono	8.91E+07	100.00%	3.67E+08	100.00%	1.09E+09	93.97%	1.88E+09	99.47%	1.79E+09	100.00%	0	0.00%	100
	1 st	5.97E+07	67.00%	9.74E+07	26.54%	1.16E+09	100.00%	1.89E+09	100.00%	1.10E+09	61.39%	0	0.00%	0
	2 nd	5.13E+07	57.58%	2.63E+08	71.66%	6.98E+08	60.17%	1.93E+08	10.21%	2.26E+08	12.61%	0	0.00%	0
	3 rd	2.38E+07	26.71%	1.00E+08	27.25%	4.25E+07	3.66%	5.53E+07	2.93%	6.95E+07	3.88%	0	0.00%	0
c10	Mono	3.35E+08	100.00%	1.39E+09	100.00%	3.94E+09	100.00%	6.77E+09	100.00%	6.72E+09	100.00%	0	0.00%	100
	1 st	2.46E+08	73.43%	1.14E+09	82.01%	2.17E+09	55.08%	4.63E+08	6.84%	6.19E+08	9.21%	0	0.00%	0
	2 nd	8.81E+07	26.30%	3.12E+08	22.45%	6.05E+07	1.54%	1.03E+08	1.52%	1.46E+08	2.17%	0	0.00%	0
	3 rd	1.99E+07	5.94%	6.07E+07	4.37%	2.67E+07	0.68%	1.88E+07	0.28%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
b10	Mono	0.00E+00	0.00%	2.43E+07	100.00%	5.20E+07	100.00%	8.18E+07	100.00%	7.72E+07	100.00%	4.01E+07	100.00%	100
	1 st	0.00E+00	0.00%	1.38E+07	56.79%	2.12E+07	0.00%	2.03E+07	24.82%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
	2 nd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	2.12E+07	0.00%	1.95E+07	23.84%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	1.30E+07	15.89%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
c9	Mono	2.16E+08	100.00%	9.15E+08	100.00%	2.91E+09	100.00%	5.11E+09	100.00%	5.11E+09	100.00%	1.75E+09	100.00%	100
	1 st	1.43E+08	66.20%	6.44E+08	70.38%	1.32E+09	45.36%	3.09E+08	6.05%	4.37E+08	8.55%	0	0.00%	0
	2 nd	4.40E+07	20.37%	1.56E+08	17.05%	4.41E+07	1.52%	6.01E+07	1.18%	8.01E+07	1.57%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	3.15E+07	3.44%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
z9	Mono	4.75E+07	100.00%	1.27E+08	100.00%	4.22E+08	100.00%	3.52E+08	100.00%	2.46E+08	100.00%	0	0.00%	100
	1 st	2.42E+07	50.95%	1.23E+08	96.85%	1.01E+08	23.93%	4.41E+07	12.53%	5.58E+07	22.68%	0	0.00%	0
	2 nd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0

Parent	Isotope du fragment	NUS 1		NUS 1/2		NUS 1/4		NUS 1/8		NUS 1/16		NUS 1/32		Rapport isotopique théorique %
MONO		Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	
c8	Mono	1.77E+08	100.00%	7.81E+08	100.00%	2.66E+09	100.00%	4.54E+09	100.00%	4.47E+09	100.00%	1.27E+09	100.00%	100
	1 st	1.14E+08	64.41%	5.26E+08	67.35%	1.12E+09	42.11%	2.72E+08	5.99%	3.64E+08	8.14%	0	0.00%	0
	2 nd	3.42E+07	19.32%	1.27E+08	16.26%	3.63E+07	1.36%	3.65E+07	0.80%	6.57E+07	1.47%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	1.89E+07	2.42%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
C7	Mono	2.88E+08	100.00%	1.23E+09	100.00%	4.82E+09	100.00%	7.97E+09	100.00%	7.85E+09	100.00%	1.74E+09	100.00%	100
	1 st	1.46E+08	50.69%	7.16E+08	58.21%	1.65E+09	34.23%	4.21E+08	5.28%	5.27E+08	6.71%	0	0.00%	0
	2 nd	3.78E+07	13.13%	1.42E+08	11.54%	5.69E+07	1.18%	4.73E+07	0.59%	7.17E+07	0.91%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	1.88E+07	1.53%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
c6	Mono	2.11E+08	100.00%	8.37E+08	100.00%	3.75E+09	100.00%	6.10E+09	100.00%	5.75E+09	100.00%	1.64E+09	100.00%	100
	1 st	8.66E+07	41.04%	4.02E+08	48.03%	1.01E+09	26.93%	2.43E+08	3.98%	3.30E+08	5.74%	0	0.00%	0
	2 nd	1.74E+07	8.25%	6.49E+07	7.75%	3.55E+07	0.95%	0.00E+00	0.00%	3.23E+07	0.56%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
c5	Mono	3.91E+08	100.00%	1.52E+09	100.00%	7.51E+09	100.00%	1.21E+10	100.00%	1.30E+10	100.00%	4.63E+09	100.00%	100
	1 st	1.33E+08	34.02%	6.38E+08	41.97%	1.71E+09	22.77%	3.78E+08	3.12%	5.85E+08	4.50%	0	0.00%	0
	2 nd	2.28E+07	5.83%	7.90E+07	5.20%	4.54E+07	0.60%	0.00E+00	0.00%	4.12E+07	0.32%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
c4	Mono	1.83E+08	100.00%	6.78E+08	100.00%	3.24E+09	100.00%	5.40E+09	100.00%	5.89E+09	100.00%	3.09E+09	100.00%	100
	1 st	4.83E+07	26.39%	2.03E+08	29.94%	5.42E+08	16.73%	1.51E+08	2.80%	2.17E+08	3.68%	0	0.00%	0
	2 nd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0

Annexe 14 : Distribution isotopique des 10 fragments majeurs du 1^{er} isotope du précurseur comparée à la distribution isotopique théorique calculée avec le logiciel IsoPatrn (massifs les plus proches en vert, massifs incorrects en rouge).

Parent 1 ^{er} isotope	Isotope du fragment	NUS 1		NUS 1/2		NUS 1/4		NUS 1/8		NUS 1/16		NUS 1/32		Rapport isotopique théorique %
		Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	
MH ⁺	Mono	8.31E+07	100.00%	2.79E+08	100.00%	5.16E+08	43.00%	3.79E+08	16.92%	1.69E+08	6.60%	0	0.00%	0.015
	1 st	5.67E+07	68.23%	5.96E+07	21.36%	1.04E+09	86.67%	2.06E+09	91.96%	1.92E+09	75.00%	1.31E+08	100.00%	100
	2 nd	5.05E+07	60.77%	2.34E+08	83.87%	1.20E+09	100.00%	2.24E+09	100.00%	2.56E+09	100.00%	0	0.00%	0
	3 rd	2.58E+07	31.05%	1.28E+08	45.88%	2.60E+08	21.67%	2.21E+08	9.87%	3.85E+08	15.04%	0	0.00%	0
c10	Mono	3.10E+08	32.33%	1.06E+09	89.83%	1.76E+09	48.22%	1.83E+09	27.94%	9.42E+08	12.96%	0	0.00%	9.535
	1 st	2.47E+08	25.76%	1.18E+09	100.00%	3.65E+09	100.00%	6.55E+09	100.00%	7.27E+09	100.00%	8.60E+08	100.00%	100
	2 nd	9.59E+08	100.00%	4.27E+08	36.19%	6.46E+08	17.70%	3.68E+08	5.62%	7.61E+08	10.47%	0	0.00%	0
	3 rd	2.39E+07	2.49%	1.09E+08	9.24%	2.14E+07	0.59%	1.02E+08	1.56%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
b10	Mono	0.00E+00	0.00%	1.96E+07	100.00%	2.53E+07	87.85%	1.32E+07	36.26%	1.84E+07	48.81%	0	0.00%	10.16
	1 st	0.00E+00	0.00%	1.42E+07	72.45%	2.88E+07	100.00%	3.64E+07	100.00%	3.77E+07	100.00%	1.22E+07	100.00%	100
	2 nd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	1.47E+07	38.99%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	2.40E+07	63.66%	0	0.00%	0
c9	Mono	1.99E+08	100.00%	6.85E+08	100.00%	1.33E+09	60.18%	1.69E+09	42.46%	8.50E+08	18.93%	0	0.00%	21.659
	1 st	1.42E+08	71.36%	6.58E+08	96.06%	2.21E+09	100.00%	3.98E+09	100.00%	4.49E+09	100.00%	3.27E+08	100.00%	100
	2 nd	4.79E+07	24.07%	2.14E+08	31.24%	3.35E+08	15.16%	1.63E+08	4.10%	3.99E+08	8.89%	0	0.00%	0
	3 rd	1.00E+07	5.03%	5.33E+07	7.78%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	3.23E+07	0.72%	0	0.00%	0
z9	Mono	4.36E+07	100.00%	1.58E+08	100.00%	3.48E+08	52.65%	4.70E+08	37.30%	1.70E+08	12.59%	0	0.00%	22.984
	1 st	2.47E+07	56.65%	1.40E+08	88.61%	6.61E+08	100.00%	1.26E+09	100.00%	1.35E+09	100.00%	0	0.00%	100
	2 nd	0.00E+00	0.00%	2.87E+07	18.16%	2.09E+08	31.62%	3.23E+08	25.63%	4.44E+08	32.89%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	1.09E+07	6.90%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	2.93E+07	2.17%	0	0.00%	0

Parent	Isotope du fragment	NUS 1		NUS 1/2		NUS 1/4		NUS 1/8		NUS 1/16		NUS 1/32		Rapport isotopique théorique %
1 ^{er} isotope		Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	
c8	Mono	1.62E+08	100.00%	5.82E+08	100.00%	1.21E+09	65.05%	1.64E+09	48.24%	7.67E+08	20.18%	0	0.00%	26.863
	1 st	1.13E+08	69.75%	5.33E+08	91.58%	1.86E+09	100.00%	3.40E+09	100.00%	3.80E+09	100.00%	2.67E+08	100.00%	100
	2 nd	3.73E+07	23.02%	1.72E+08	29.55%	2.71E+08	14.57%	1.25E+08	3.68%	3.19E+08	8.39%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	3.15E+07	5.41%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	2.34E+07	0.62%	0	0.00%	0
C7	Mono	2.64E+08	100.00%	8.76E+08	100.00%	2.40E+09	87.27%	3.77E+09	76.01%	2.01E+09	36.09%	0	0.00%	52.553
	1 st	1.44E+08	54.55%	7.09E+08	80.94%	2.75E+09	100.00%	4.96E+09	100.00%	5.57E+09	100.00%	3.05E+08	100.00%	100
	2 nd	4.12E+07	15.61%	1.89E+08	21.58%	3.26E+08	11.85%	1.29E+08	2.60%	3.82E+08	6.86%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	3.61E+07	4.12%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	3.16E+07	0.57%	0	0.00%	0
c6	Mono	1.91E+08	100.00%	5.65E+08	100.00%	2.07E+09	100.00%	3.52E+09	100.00%	2.39E+09	70.09%	0	0.00%	91.29
	1 st	8.51E+07	44.55%	3.89E+08	68.85%	1.67E+09	80.68%	3.03E+09	86.08%	3.41E+09	100.00%	1.63E+08	100.00%	100
	2 nd	1.91E+07	10.00%	8.34E+07	14.76%	1.51E+08	7.29%	6.72E+07	1.91%	1.79E+08	5.25%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	1.16E+07	2.05%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	1.27E+07	0.37%	0	0.00%	0
c5	Mono	3.53E+08	100.00%	9.94E+08	100.00%	4.62E+09	100.00%	8.42E+09	100.00%	7.44E+09	100.00%	0	0.00%	100
	1 st	1.29E+08	36.54%	6.03E+08	60.66%	2.87E+09	62.12%	5.07E+09	60.21%	5.72E+09	76.88%	4.57E+08	100.00%	78.898
	2 nd	2.42E+07	6.86%	1.03E+08	10.36%	2.09E+08	4.52%	1.02E+08	1.21%	2.39E+08	3.21%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	1.12E+07	1.13%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
c4	Mono	1.65E+08	100.00%	4.39E+08	100.00%	2.12E+09	100.00%	3.87E+09	100.00%	3.90E+09	100.00%	0	0.00%	100
	1 st	4.68E+07	28.36%	1.87E+08	42.60%	9.25E+08	43.63%	1.60E+09	41.34%	1.76E+09	45.13%	5.08E+08	100.00%	56.073
	2 nd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	3.43E+07	1.62%	0.00E+00	0.00%	2.11E+07	0.54%	0	0.00%	0
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0

Annexe 15 : Distribution isotopique des 10 fragments majeurs du 2^{ème} isotope du précurseur comparée à la distribution isotopique théorique calculée avec le logiciel IsoPatrn (massifs les plus proches en vert, massifs incorrects en rouge).

Parent 2 ^{ème} isotope	Isotope du fragment	NUS 1		NUS 1/2		NUS 1/4		NUS 1/8		NUS 1/16		NUS 1/32		Rapport isotopique théorique %
		Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	
MH ⁺	Mono	7.71E+07	100.00%	2.13E+08	100.00%	3.44E+07	5.21%	1.57E+08	31.78%	1.63E+08	18.38%	0	0.00%	0
	1 st	5.35E+07	69.39%	7.11E+07	33.38%	3.58E+08	54.24%	3.36E+08	68.02%	4.57E+08	51.52%	0	0.00%	0.024
	2 nd	4.86E+07	63.04%	1.89E+08	88.73%	6.60E+08	100.00%	2.48E+08	50.20%	8.87E+08	100.00%	0	0.00%	100
	3 rd	2.59E+07	33.59%	1.26E+08	59.15%	5.19E+08	78.64%	4.94E+08	100.00%	8.22E+08	92.67%	0	0.00%	0
c10	Mono	2.87E+08	100.00%	8.09E+08	76.32%	9.83E+08	65.97%	4.97E+08	39.76%	7.87E+08	39.75%	0	0.00%	18.099
	1 st	2.38E+08	82.93%	1.06E+09	100.00%	1.49E+09	100.00%	5.04E+08	40.32%	1.24E+09	62.63%	0	0.00%	17.571
	2 nd	9.63E+07	33.55%	4.41E+08	41.60%	1.22E+09	81.88%	1.25E+09	100.00%	1.98E+09	100.00%	0	0.00%	100
	3 rd	2.51E+07	8.75%	1.28E+08	12.08%	2.27E+08	15.23%	9.59E+07	7.67%	9.38E+07	4.74%	0	0.00%	0
b10	Mono	0.00E+00	0.00%	1.55E+07	100.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	1.43E+07	76.88%	0	0.00%	18.39
	1 st	0.00E+00	0.00%	1.28E+07	82.58%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	1.63E+07	87.63%	0	0.00%	18.707
	2 nd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	1.86E+07	100.00%	0	0.00%	100
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0
c9	Mono	1.84E+08	100.00%	5.19E+08	88.87%	1.07E+08	11.92%	3.61E+08	55.45%	5.61E+08	50.54%	0	0.00%	26.118
	1 st	1.37E+08	74.46%	5.84E+08	100.00%	8.98E+08	100.00%	3.42E+08	52.53%	9.33E+08	84.05%	0	0.00%	39.497
	2 nd	4.82E+07	26.20%	2.19E+08	37.50%	6.28E+08	69.93%	6.51E+08	100.00%	1.11E+09	100.00%	0	0.00%	100
	3 rd	1.07E+07	5.82%	6.07E+07	10.39%	7.12E+07	7.93%	0.00E+00	0.00%	3.18E+07	2.86%	0	0.00%	0
z9	Mono	4.00E+07	100.00%	1.19E+08	92.97%	4.63E+07	16.59%	1.18E+08	56.73%	1.28E+04	0.00%	0	0.00%	5.296
	1 st	2.42E+07	60.50%	1.28E+08	100.00%	2.79E+08	100.00%	1.21E+08	58.17%	3.02E+08	71.90%	0	0.00%	34.661
	2 nd	0.00E+00	0.00%	3.43E+07	26.80%	2.49E+08	89.25%	2.08E+08	100.00%	4.20E+08	100.00%	0	0.00%	100
	3 rd	0.00E+00	0.00%	1.40E+07	10.94%	4.88E+07	17.49%	0.00E+00	0.00%	4.97E+07	11.83%	0	0.00%	0

Parent	Isotope du fragment	NUS 1		NUS 1/2		NUS 1/4		NUS 1/8		NUS 1/16		NUS 1/32		Rapport isotopique théorique %
2 ^{ème} isotope		Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	
c8	Mono	1.50E+08	100.00%	4.43E+08	94.06%	1.23E+08	16.44%	3.13E+08	59.73%	5.07E+08	53.76%	0	0.00%	31.337
	1 st	1.09E+08	72.67%	4.71E+08	100.00%	7.48E+08	100.00%	3.03E+08	57.82%	8.51E+08	90.24%	0	0.00%	49.075
	2 nd	3.75E+07	25.00%	1.76E+08	37.37%	5.11E+08	68.32%	5.24E+08	100.00%	9.43E+08	100.00%	0	0.00%	100
	3 rd	0.00E+00	0.00%	4.10E+07	8.70%	3.76E+07	5.03%	0.00E+00	0.00%	2.85E+07	3.02%	0	0.00%	0
C7	Mono	2.42E+08	100.00%	6.44E+08	100.00%	4.18E+08	36.03%	5.64E+08	100.00%	1.03E+09	70.07%	0	0.00%	60.421
	1 st	1.38E+08	57.02%	6.16E+08	95.65%	1.16E+09	100.00%	5.12E+08	90.78%	1.47E+09	100.00%	0	0.00%	93.416
	2 nd	4.13E+07	17.07%	1.91E+08	29.66%	6.16E+08	53.10%	5.54E+08	98.23%	1.19E+09	80.95%	0	0.00%	100
	3 rd	0.00E+00	0.00%	4.21E+07	6.54%	6.50E+07	5.60%	0.00E+00	0.00%	2.85E+07	1.94%	0	0.00%	0
c6	Mono	1.74E+08	100.00%	4.00E+08	100.00%	5.15E+08	71.63%	2.69E+08	97.46%	9.24E+08	98.30%	0	0.00%	81.43
	1 st	8.15E+07	46.84%	3.34E+08	83.50%	7.19E+08	100.00%	1.76E+08	63.77%	9.40E+08	100.00%	0	0.00%	100
	2 nd	1.95E+07	11.21%	8.20E+07	20.50%	2.93E+08	40.75%	2.76E+08	100.00%	5.61E+08	59.68%	0	0.00%	64.522
	3 rd	2.00E+07	11.49%	1.38E+07	3.45%	4.09E+08	56.88%	0.00E+00	0.00%	1.64E+07	1.74%	0	0.00%	0
c5	Mono	3.22E+08	100.00%	6.89E+08	100.00%	1.50E+09	100.00%	4.08E+08	100.00%	2.70E+09	100.00%	0	0.00%	100
	1 st	1.24E+08	38.51%	5.11E+08	74.17%	1.32E+09	88.00%	0.00E+00	0.00%	1.95E+09	72.22%	0	0.00%	97.866
	2 nd	2.40E+07	7.45%	1.03E+08	14.95%	3.97E+08	26.47%	0.00E+00	0.00%	7.72E+08	28.59%	0	0.00%	45.728
	3 rd	0.00E+00	0.00%	1.19E+07	1.73%	2.30E+07	1.53%	0.00E+00	0.00%	1.63E+07	0.60%	0	0.00%	0
c4	Mono	1.50E+08	100.00%	3.01E+08	100.00%	8.08E+08	100.00%	6.32E+08	100.00%	1.41E+09	100.00%	0	0.00%	100
	1 st	4.45E+07	29.67%	1.56E+08	51.83%	4.60E+08	56.93%	3.67E+08	58.07%	6.38E+08	45.25%	0	0.00%	74.904
	2 nd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	6.10E+07	7.55%	3.89E+07	6.16%	5.48E+07	3.89%	0	0.00%	24.758
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	0

Annexe 16 : Distribution isotopique des 10 fragments majeurs du 3^{ème} isotope du précurseur comparée à la distribution isotopique théorique calculée avec le logiciel IsoPatrn (massifs les plus proches en vert, massifs incorrects en rouge).

Parent 3 ^{ème} isotope	Isotope du fragment	NUS 1		NUS 1/2		NUS 1/4		NUS 1/8		NUS 1/16		NUS 1/32		Rapport isotopique théorique %
		Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	
MH ⁺	Mono	6.10E+07	100.00%	1.20E+08	100.00%	2.45E+07	7.78%	9.50E+07	20.56%	9.49E+07	40.04%	0	0.00%	0
	1 st	4.48E+07	73.44%	7.13E+07	59.42%	5.86E+07	18.60%	3.08E+08	66.67%	1.79E+08	75.53%	0	0.00%	0
	2 nd	4.21E+07	69.02%	1.08E+08	90.00%	2.13E+08	67.62%	3.15E+08	68.18%	2.37E+08	100.00%	0	0.00%	0.033
	3 rd	2.40E+07	39.34%	1.02E+08	85.00%	3.15E+08	100.00%	4.62E+08	100.00%	1.35E+08	56.96%	0	0.00%	100
c10	Mono	2.25E+08	100.00%	4.63E+08	61.00%	6.32E+07	10.97%	5.09E+08	60.17%	3.90E+08	96.53%	0	0.00%	3.854
	1 st	2.08E+08	92.44%	7.59E+08	100.00%	2.60E+08	45.14%	8.46E+08	100.00%	4.04E+08	100.00%	0	0.00%	46.912
	2 nd	9.02E+07	40.09%	3.96E+08	52.17%	5.76E+08	100.00%	6.28E+08	74.23%	2.71E+08	67.08%	0	0.00%	24.715
	3 rd	2.57E+07	11.42%	1.39E+08	18.31%	3.92E+08	68.06%	5.95E+08	70.33%	2.84E+08	70.30%	0	0.00%	100
b10	Mono	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	4.182
	1 st	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	47.598
	2 nd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	26.297
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	100
c9	Mono	1.43E+08	100.00%	2.92E+08	70.87%	8.39E+07	28.63%	3.65E+08	69.92%	2.66E+08	65.84%	0	0.00%	12.209
	1 st	1.18E+08	82.52%	4.12E+08	100.00%	1.95E+08	66.55%	5.22E+08	100.00%	2.91E+08	72.03%	0	0.00%	66.585
	2 nd	4.50E+07	31.47%	1.94E+08	47.09%	2.93E+08	100.00%	3.85E+08	73.75%	1.47E+08	36.39%	0	0.00%	55.219
	3 rd	1.10E+07	7.69%	6.32E+07	15.34%	1.10E+08	37.54%	9.64E+07	18.47%	4.04E+08	100.00%	0	0.00%	100
z9	Mono	3.07E+07	100.00%	6.65E+07	72.92%	2.13E+07	17.90%	1.06E+08	62.72%	7.72E+07	88.33%	0	0.00%	1.229
	1 st	2.16E+07	70.36%	9.12E+07	100.00%	3.86E+07	32.44%	1.69E+08	100.00%	8.74E+07	100.00%	0	0.00%	10.694
	2 nd	0.00E+00	0.00%	3.67E+07	40.24%	1.19E+08	100.00%	1.49E+08	88.17%	7.57E+07	86.61%	0	0.00%	46.41
	3 rd	0.00E+00	0.00%	1.66E+07	18.20%	5.84E+07	49.08%	6.59E+07	38.99%	2.41E+07	27.57%	0	0.00%	100

Parent	Isotope du fragment	NUS 1		NUS 1/2		NUS 1/4		NUS 1/8		NUS 1/16		NUS 1/32		Rapport isotopique théorique %
3 ^{ème} isotope		Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	Intensité	Rapport isotopique %	
c8	Mono	1.16E+08	100.00%	2.54E+08	77.20%	7.60E+07	31.28%	3.59E+08	84.27%	2.60E+08	100.00%	0	0.00%	17.777
	1 st	9.48E+07	81.72%	3.29E+08	100.00%	1.86E+08	76.54%	4.26E+08	100.00%	2.44E+08	93.85%	0	0.00%	80.115
	2 nd	3.52E+07	30.34%	1.55E+08	47.11%	2.43E+08	100.00%	3.22E+08	75.59%	1.30E+08	50.00%	0	0.00%	68.676
	3 rd	0.00E+00	0.00%	4.38E+07	13.31%	6.40E+07	26.34%	9.09E+07	21.34%	4.17E+07	16.04%	0	0.00%	100
c7	Mono	1.87E+08	100.00%	3.46E+08	83.37%	1.95E+08	58.38%	8.14E+08	100.00%	5.05E+08	100.00%	0	0.00%	37.531
	1 st	1.19E+08	63.64%	4.15E+08	100.00%	3.34E+08	100.00%	7.48E+08	91.89%	3.83E+08	75.84%	0	0.00%	100
	2 nd	3.84E+07	20.53%	1.65E+08	39.76%	3.05E+08	91.32%	4.66E+08	57.25%	1.90E+08	37.62%	0	0.00%	86.978
	3 rd	0.00E+00	0.00%	4.42E+07	10.65%	9.54E+07	28.56%	8.24E+07	10.12%	4.67E+07	9.25%	0	0.00%	67.464
c6	Mono	1.32E+08	100.00%	1.98E+08	90.00%	2.10E+08	78.07%	6.85E+08	100.00%	3.86E+08	100.00%	0	0.00%	56.47
	1 st	6.96E+07	52.73%	2.20E+08	100.00%	2.69E+08	100.00%	5.07E+08	74.01%	2.48E+08	64.25%	0	0.00%	100
	2 nd	1.77E+07	13.41%	6.85E+07	31.14%	1.59E+08	59.11%	2.92E+08	42.63%	9.71E+07	25.16%	0	0.00%	72.335
	3 rd	0.00E+00	0.00%	1.49E+08	67.73%	0.00E+00	0.00%	3.80E+07	5.55%	2.12E+07	5.49%	0	0.00%	34.411
c5	Mono	2.43E+08	100.00%	3.28E+08	100.00%	5.02E+08	94.72%	1.56E+09	100.00%	7.95E+08	100.00%	0	0.00%	73.667
	1 st	1.05E+08	43.21%	3.28E+08	100.00%	5.30E+08	100.00%	9.95E+08	63.78%	4.58E+08	57.61%	0	0.00%	100
	2 nd	2.19E+07	9.01%	8.68E+07	26.46%	2.30E+08	43.40%	4.53E+08	29.04%	1.54E+08	19.37%	0	0.00%	57.959
	3 rd	0.00E+00	0.00%	1.09E+07	3.32%	3.86E+07	7.28%	4.33E+07	2.78%	2.45E+07	3.08%	0	0.00%	20.003
c4	Mono	1.14E+08	100.00%	1.38E+08	100.00%	2.66E+08	100.00%	6.84E+08	100.00%	3.09E+08	100.00%	0	0.00%	98.253
	1 st	3.74E+07	32.81%	9.67E+07	70.07%	1.99E+08	74.81%	4.07E+08	59.50%	1.13E+08	36.57%	0	0.00%	100
	2 nd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	3.54E+07	13.31%	4.33E+07	6.33%	2.22E+07	7.18%	0	0.00%	44.152
	3 rd	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0.00E+00	0.00%	0	0.00%	10.77

Annexe 17 : Fragmentation théorique des triglycérides majeurs de l'huile de sésame complexée avec ${}^6\text{Li}^+$ et fragmentée par IRMPD.

Nom	Formule abrégée	Formule chimique	<i>m/z</i> complexé avec ${}^6\text{Li}^+$	Perte d'acide oléique (-O) ^a		Perte d'acide linoléique (-L) ^b	
				Formule chimique	<i>m/z</i> complexé avec ${}^6\text{Li}^+$	Formule chimique	<i>m/z</i> complexé avec ${}^6\text{Li}^+$
Trioléine	OOO	$\text{C}_{57}\text{H}_{104}\text{O}_6$	890.798	$\text{C}_{39}\text{H}_{70}\text{O}_4$	608.542	-	-
	OOL or OLO	$\text{C}_{57}\text{H}_{102}\text{O}_6$	888.782	$\text{C}_{39}\text{H}_{68}\text{O}_4$	606.526	$\text{C}_{39}\text{H}_{70}\text{O}_4$	608.542
	OLL or LOL	$\text{C}_{57}\text{H}_{100}\text{O}_6$	886.767	$\text{C}_{39}\text{H}_{66}\text{O}_4$	604.511	$\text{C}_{39}\text{H}_{68}\text{O}_4$	606.526
Trilinoléine	LLL	$\text{C}_{57}\text{H}_{98}\text{O}_6$	884.751	-	-	$\text{C}_{39}\text{H}_{66}\text{O}_4$	604.511

^aO : acide oléique ($\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$)

^bL : acide linoléique ($\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$)

Résumé

La spectrométrie de masse fournit deux types d'informations : la masse moléculaire des molécules présentes dans un mélange, en une première expérience (MS), puis leurs structures après isolation suivie de fragmentation, obtenues une à une (MS/MS). La spectrométrie de masse FT-ICR bidimensionnelle permet d'obtenir toutes ces informations en une seule expérience, sans isolation, quelle que soit la complexité de l'échantillon. Le prix à payer est une faible résolution dans la dimension indirecte, pouvant être améliorée par une augmentation du temps d'analyse, mais qui semblait limiter cette technique à une simple curiosité scientifique.

Le premier objectif est d'implémenter l'échantillonnage non uniforme (NUS) en FT-ICR MS 2D. Cette technique consiste en l'acquisition aléatoire du même nombre de points dans la dimension indirecte que lors d'une acquisition uniforme, mais sur une plage de t_1^{max} plus grande. Les points manquants sont ensuite reconstruits par des algorithmes, entraînant une augmentation significative de la résolution du signal sans perte de temps sur le spectromètre. La première étape est de créer un algorithme générant un échantillonnage aléatoire de distribution uniforme pour une couverture optimale de la plage de t_1^{max} . Les algorithmes de reconstruction ayant des difficultés à reconstituer des signaux de faible intensité quand le nombre de points non échantillonnés augmente, la deuxième étape est de déterminer le facteur de sous-échantillonnage optimal afin d'obtenir le bon compromis entre résolution et signal-sur-bruit. La troisième étape est de réaliser des spectres MS/MS ayant des massifs isotopiques corrects pour des fragments produits à partir des isotopes les plus lourds.

Le deuxième objectif est de décrire le comportement des ions dans la cellule ICR en fonction des impulsions RF utilisées à partir des équations de Lorentz. Dans une première partie, le but est d'établir les équations qui régissent le mouvement des ions précurseurs jusqu'à leur détection. Ensuite, il s'agit d'introduire la fragmentation et de déterminer les solutions analytiques décrivant le mouvement des fragments. La dernière étape est de simuler le comportement des ions précurseurs tout au long de la séquence d'impulsions ainsi que celui des nuages de fragments, de leur formation à leur détection.

Mots Clés

Spectrométrie de masse, FT-ICR, bidimensionnel, échantillonnage non uniforme, trajectoires d'ions, simulations

Abstract

Mass spectrometry provide two kinds of information: the molecular mass of molecules present in a mixture, obtained all at once (MS), and structure through isolation and fragmentation, obtained one by one (MS/MS). Two-dimensional FT-ICR MS allows simultaneous parallel acquisition of structural information without isolation, regardless of the number of molecules. Nevertheless, the low resolution in the indirect dimension, which could be improved by increasing the acquisition time, seemed to limit this method to a simple curiosity.

The first objective is to implement non-uniform-sampling (NUS) in 2D FT-ICR MS. This method consist in the random acquisition of the same number of points in the indirect dimension as in uniform acquisition, but over a wider t_1^{max} range. Processing algorithms then reconstruct skipped points, and the result is an increase of signal resolution without wasting analysis time. The first step is to create an algorithm that can generate random sampling with a uniform distribution for an optimal coverage of the t_1^{max} range. Processing algorithms may have trouble to reconstruct small peaks when the number of skipped points increases. The second step is to choose the under-sampling ratio for the best compromise between the gain in resolution and the signal-to-noise ratio. The third and last step is to obtain MS/MS spectra with corrects isotopic patterns for fragments produced from heavy isotopes.

The second objective is to improve the understanding of ion motions in ICR cells depending on the RF pulses by using Lorentz equations. The first goal is to determine the equations governing precursors motions until their detection. Then the fragmentation will be introduced and analytical solutions describing fragments motions will be established. The last step is to simulate the trajectories of precursors throughout the entire pulse sequence as well as the behavior of fragments clouds, from their formation to detection.

Keywords

Mass spectrometry, FT-ICR, two-dimensional, non-uniform sampling, ion motions, simulations