

## *Chapitre III. Les méthodes couplées : CG/MS. LC/MS*

### **III.1-CG/MS**

#### **III.1.1-Introduction**

La **chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse** (en anglais **Gas chromatography-mass spectrometry** ou **GC-MS**) est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, pour la séparation des composés d'un échantillon, et de la spectrométrie de masse, pour la détection et l'identification des composés en fonction de leur rapport masse sur charge.

Cette technique permet d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances présentes en très petites quantités, voire en traces. Les applications de la GC-MS comprennent le dosage de médicaments ou de stupéfiants, l'analyse environnementale, la médecine légale et l'identification de toutes substances inconnues même sous forme de traces. La GC-MS est d'ailleurs présentée comme étant la référence absolue des analyses en médecine légale.

#### **III.1.2-Conception**



**Fig.III.1 : Schéma de l'appareil de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse**

L'intérieur d'un GC-MS, avec la colonne de chromatographie en phase gazeuse dans le four sur la droite.

Une unité GC-MS est composée de deux blocs principaux : un chromatographe en phase gazeuse et un spectromètre de masse. Le chromatographe en phase gazeuse utilise une colonne capillaire qui dépend des dimensions de la colonne (longueur, diamètre, épaisseur du film) ainsi que des propriétés de la phase (par exemple 5 % polyphényl siloxane).

## Chapitre III. Les méthodes couplées : CG/MS. LC/MS

La différence des propriétés chimiques entre les différentes molécules dans un échantillon les sépare quand celui-ci se déplace le long de la colonne. Les molécules prennent différents temps (appelé temps de rétention) pour sortir (éluer) du chromatographe en phase gazeuse, ce qui permet au spectromètre de masse en aval de capturer, ioniser, accélérer, dévier et de détecter les molécules ionisées séparément. Le spectromètre de masse brise pour cela chaque molécule en fragments ionisés et détecte ces fragments en fonction de leur rapport masse sur charge. Ces deux composantes utilisées ensemble, permettent l'identification d'une substance à un degré beaucoup plus fin que chaque unité utilisée séparément.

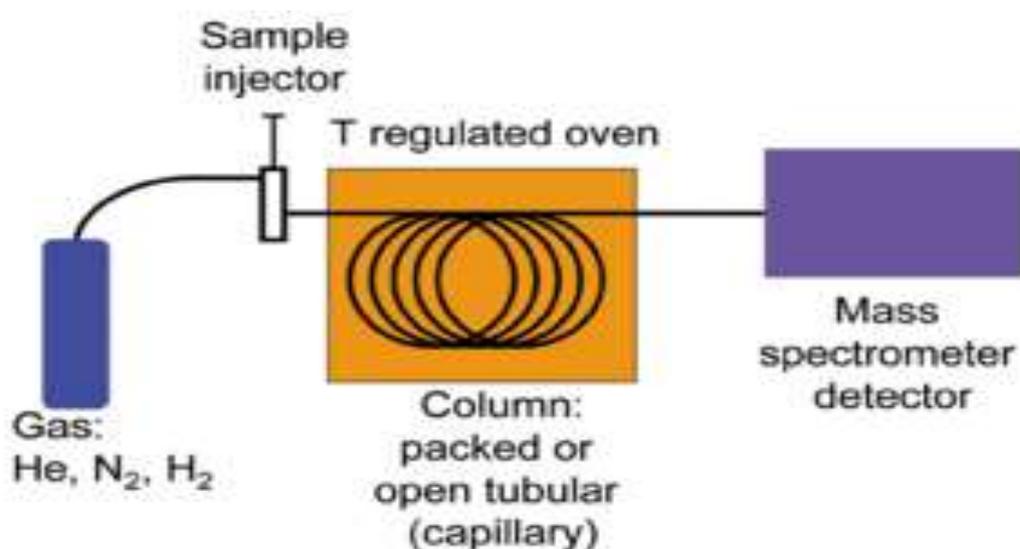


Fig.III.1.2 ; GC-MS schématique

### III.1.3-Principe de base

#### a-Introduction de l'échantillon

Dans un premier temps, cette technique démarre comme une chromatographie en phase gazeuse normale.

Une fois l'échantillon séparées, ces différentes composantes sont détectées en sortie de colonne par un détecteur, le spectromètre de masse. Les composantes sont alors introduites directement dans ce dernier qui est relié au chromatographe.

#### b-Ionisation

Une fois à l'intérieur de l'appareil, une source ionise et vaporise les différentes molécules. La source la plus utilisée est l'[ionisation](#) électronique (EI).

Un courant s'écoule au travers de la source ce qui induit perpendiculairement un courant électronique entre un filament chaud (la cathode) et une anode. Les molécules sont alors bombardées par des électrons libres émis par ce filament. L'interaction des électrons et de ces molécules neutres génère des ions moléculaires chargés positivement. Les molécules qui ne

## *Chapitre III. Les méthodes couplées : CG/MS. LC/MS*

sont pas ionisées sont éloignées de la source par le vide poussé. Les ions moléculaires produits dans la source sont maintenant accélérés et focalisés.

### **c-Séparation des ions**

Il s'agit maintenant de l'étape de séparation des [ions](#) qui se fait dans l'analyseur de masse à quadripôle. Sous l'effet d'un [champ magnétique](#), les ions vont osciller le long de l'axe des  $z$  du filtre quadripolaire à une tension continue (U) et une tension alternative (V) réglées par l'appareil afin que seuls les ions de [rapport masse sur charge](#) ( $m/z$ ) choisis puissent traverser le filtre quadripolaire et se rendre jusqu'au détecteur.

### **d-Détection des ions**

La dernière étape est la détection des ions. À ce moment-là, les ions sont récoltés sur un multiplicateur d'électrons. D'une part, le détecteur convertit les ions en signal électrique (plus il y a d'ions, plus le courant est important). D'autre part, le détecteur amplifie le signal obtenu ce qui permet le traitement informatique, c'est-à-dire l'obtention de spectre

## **III.2-LC/MS**

### **III.2.1-Principe**

La CL-SM combine le pouvoir séparateur de la CLHP sur les matériaux de masse moléculaire élevée aux capacités du SM à détecter et à confirmer de façon sélective l'identité des molécules.

La CL-SM utilise un système de CLHP, mais au moment où les phases mobiles du liquide quittent la colonne, l'échantillon est vaporisé sous forme de micro-gouttelettes. Celles-ci s'évaporent rapidement et libèrent des molécules ionisées de l'analyte qui sont ensuite séparées dans le SM. L'atomisation ou la nébulisation supplémentaire peut contribuer à améliorer la qualité des pulvérisations à haut débit en utilisant un gaz inerte à haut débit, comme l'azote.

### **III.2.2-Application**

Les principaux domaines d'applications sont la recherche pharmaceutique, l'analyse environnementale, les essais alimentaires et la médecine légale.

Analyse de l'eau, du sol, recherche de pesticides, polluants, etc. Pharmaceutique : Recherche d'impuretés, caractérisation structurale, analyse métabolique, etc. Métabolisme / Toxicologie : Etude du métabolisme, détection de drogues, quantification, identification de métabolites, etc. Contrôle qualité : Contrôle qualité d'oligonucléotides, recherche d'impuretés, Protéines recombinantes, etc.

## *Chapitre III. Les méthodes couplées : CG/MS. LC/MS*

### **III.3-Avantages**

En comparaison avec les techniques seules, les techniques couplées ont les avantages suivants:

- analyse plus rapide et plus précise ;
- degré d'automatisation plus élevé ;
- meilleure reproductibilité ;
- réduction de la contamination grâce à son système fermé ;
- séparation et quantification réalisée simultanément et sur le même échantillon.



LC-MS / Chromatographe liquide couplé à un spectromètre de masse - Oleotek