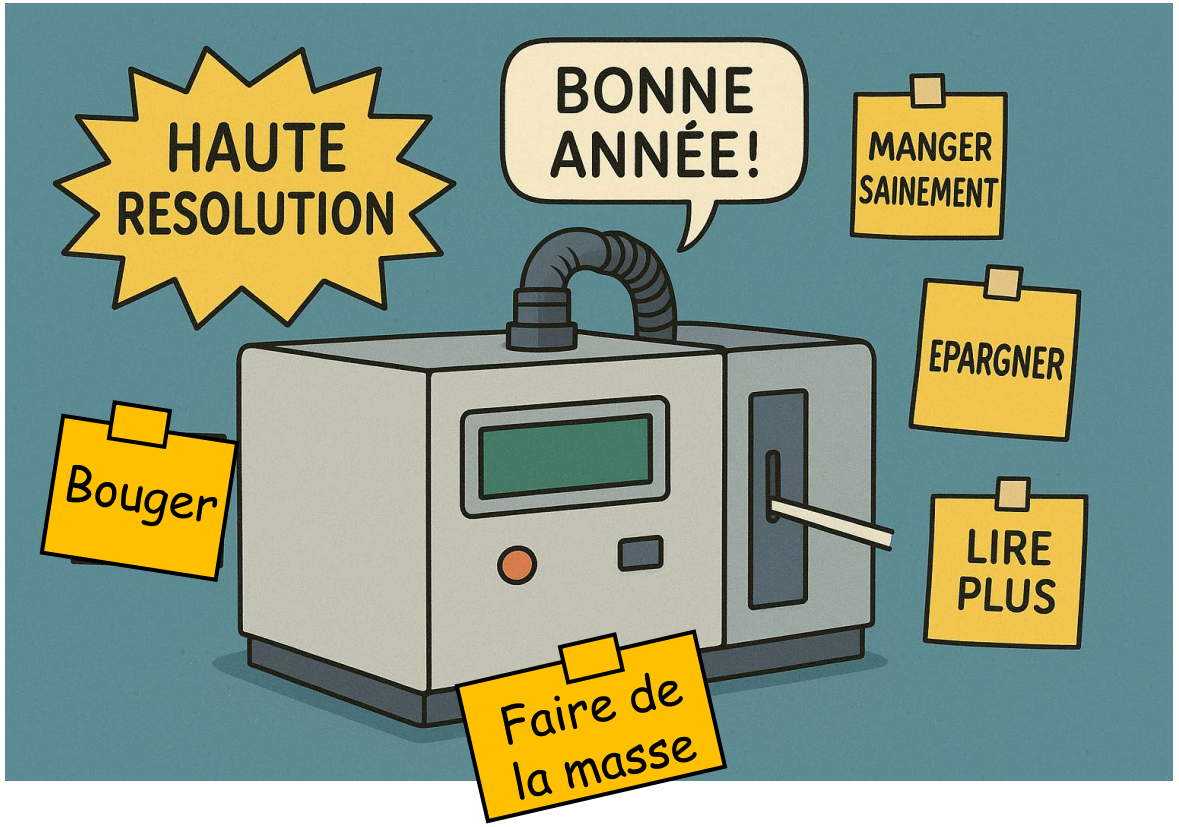
Nos bonnes résolutions en masse

Laure Menin
Villars, le 2/10/2025



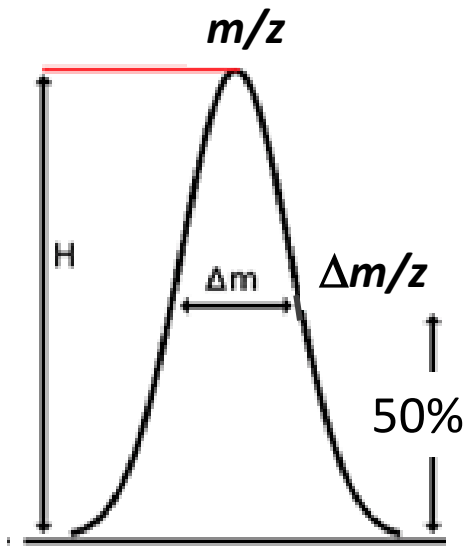
EPFL
Centre de compétences
Chimie et Toxicologie Analytiques

La résolution

- La **résolution** est définie par

$$R = \frac{m/z}{\Delta m/z\ (50\%)}$$

Elle est précisée à une *m/z* donnée



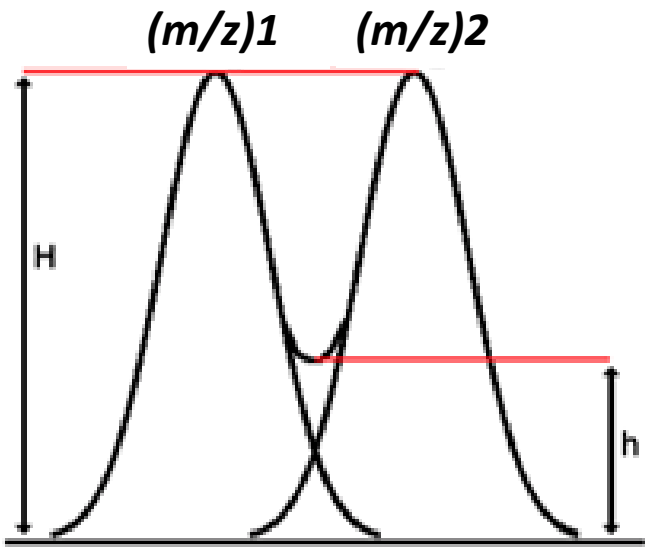
- Le **pouvoir de résolution** est la capacité à séparer 2 pics

Il est au minimum de

$$R = \frac{m/z*}{(m/z)2-(m/z)1}$$

** de l'un des 2 pics*

~ 2x pour une séparation vallée à vallée

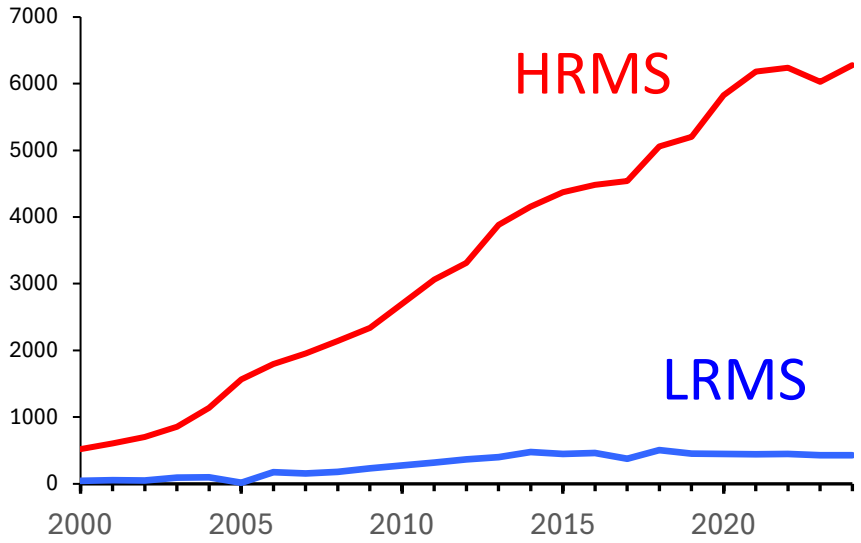


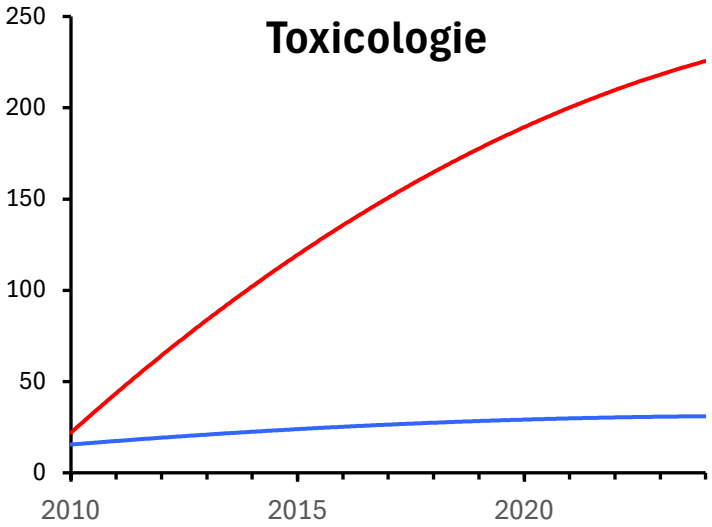
LR, HR et UHR

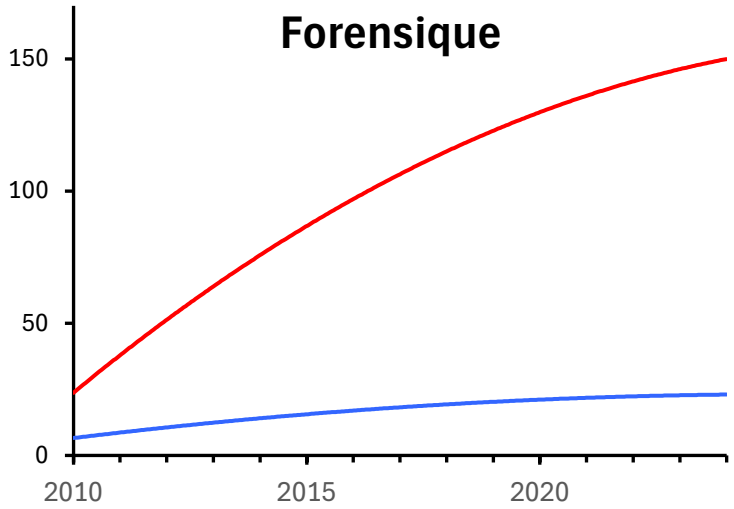
m/z	Résolution (Δm, Da) 1	0.1	0.02	0.005	0.001
100	100	1'000	5'000	20'000	100'000
500	500	5'000	25'000	100'000	500'000
1000	1'000	10'000	50'000	200'000	1'000'000
	Basse (<5K)		Haute 10-500K		Ultra Haute > 500K
	LRMS		**HRMS**		**UHRMS**

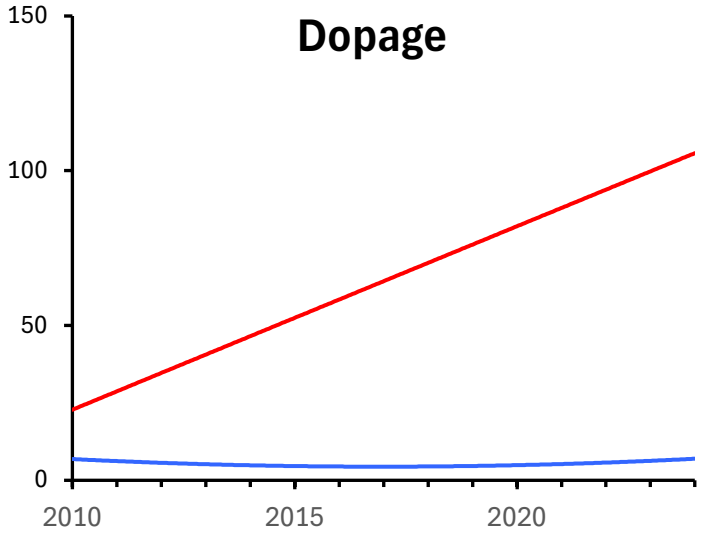
Quelques chiffres

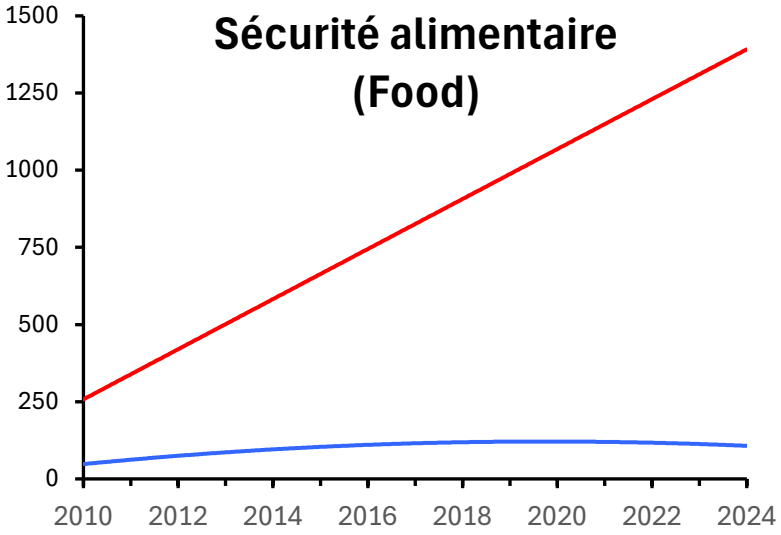
Nombre d'entrées PubMed



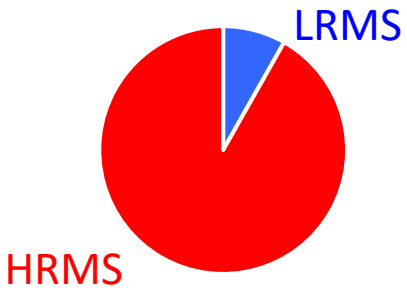








Nombre total depuis 1965



LRMS: Low-resolution Mass Spectrometry

HRMS: High-resolution Mass Spectrometry

Applications de la haute-résolution

- Précision en masse

$$\text{ppm} = \frac{m_{\text{mesurée}} - m_{théorique}}{m_{théorique}} x\ 10\text{^}6$$

- Séparation de molécules isobariques
- Accès au nombre de charges
- Réduction des interférences
- Analyse de matrices complexes sans séparation préalable
- Structure isotopique fine

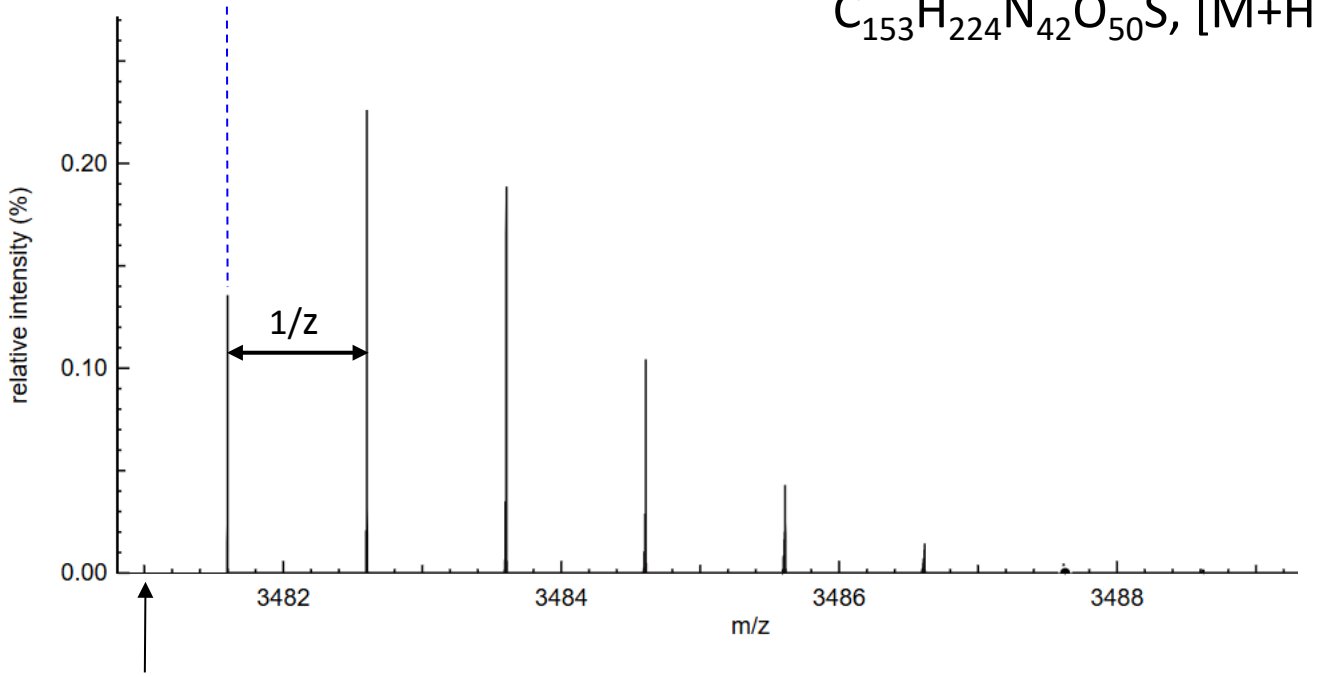
Distribution isotopique

Ensemble des isotopologues avec leur masse et leur abondance relative

Masse de l'isotope majoritaire pour chaque élément

Masse monoisotopique
3481.5997 *m/z*

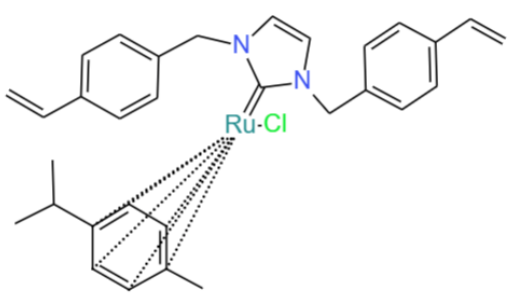
Glucagon
$C_{153}H_{224}N_{42}O_{50}S$, $[M+H]^+$



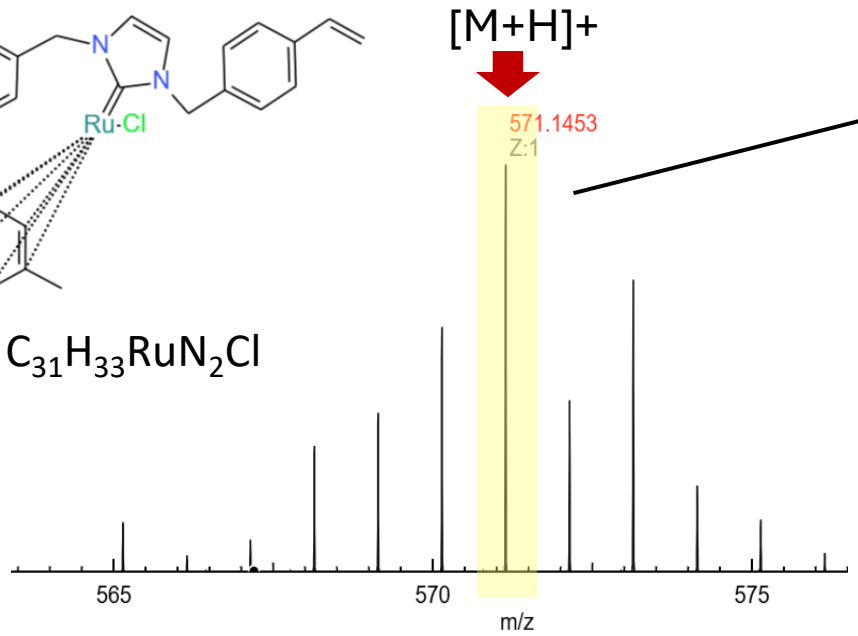
Masse nominale
3481 *m/z*

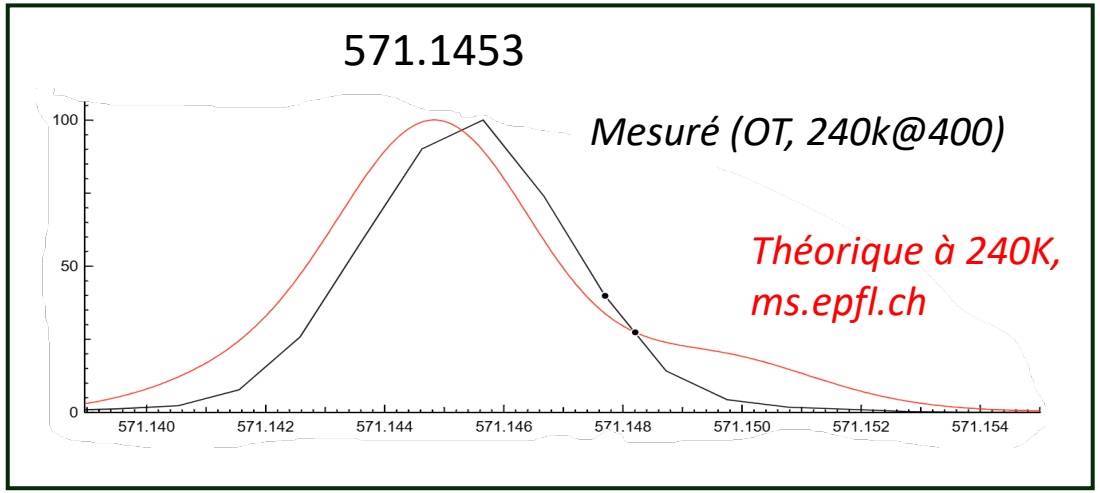
masse entière arrondie la plus proche de l'isotope majoritaire pour chaque élément

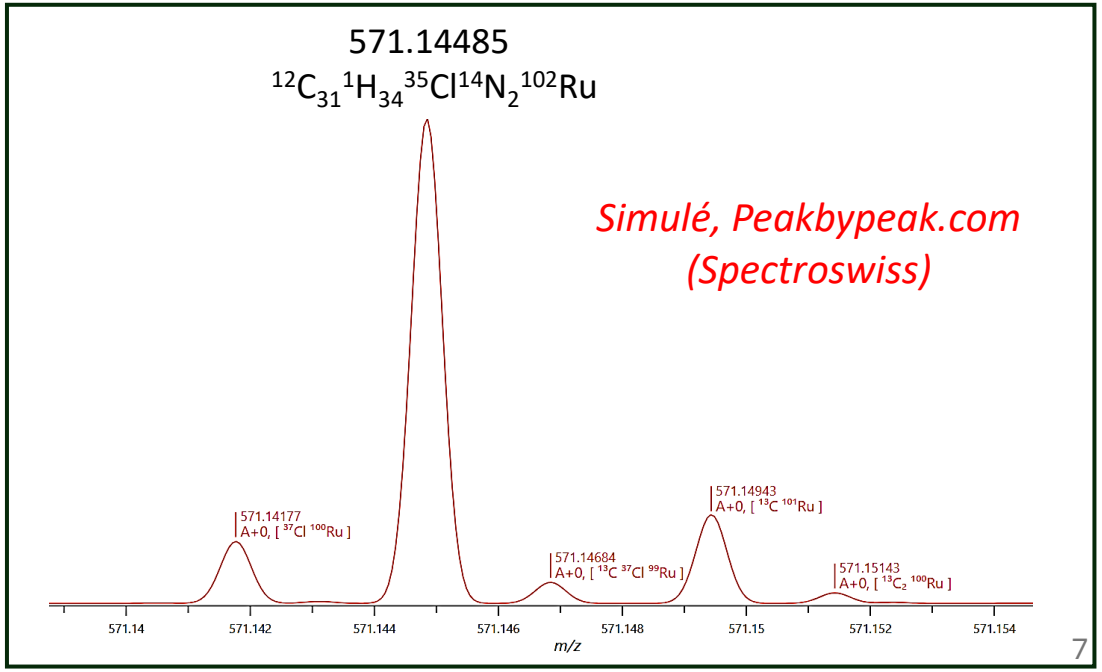
https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1351/PAC-REC-06-04-06/html



$C_{31}H_{33}RuN_2Cl$



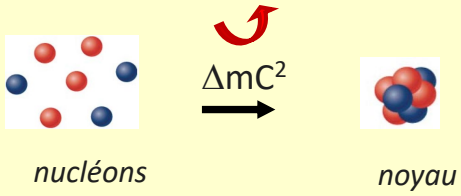




- ✓ Masse monoisotopique théorique: $[M+H]^+$ 571.1448
- ✓ Le pic à 571.1453 *m/z* contient de nombreux isotopologues

Défaut de masse

réaction exothermique
(libère de l'énergie: perte de masse)



la masse finale plus faible que la somme des masses de chaque nucléon

- Caractéristique de chaque élément

- La différence de masse entre les isotopes de l'élement

  ✓ n'est pas celle d'un neutron (1.0086 Da)

  ✓ n'est pas la même d'un élément à l'autre

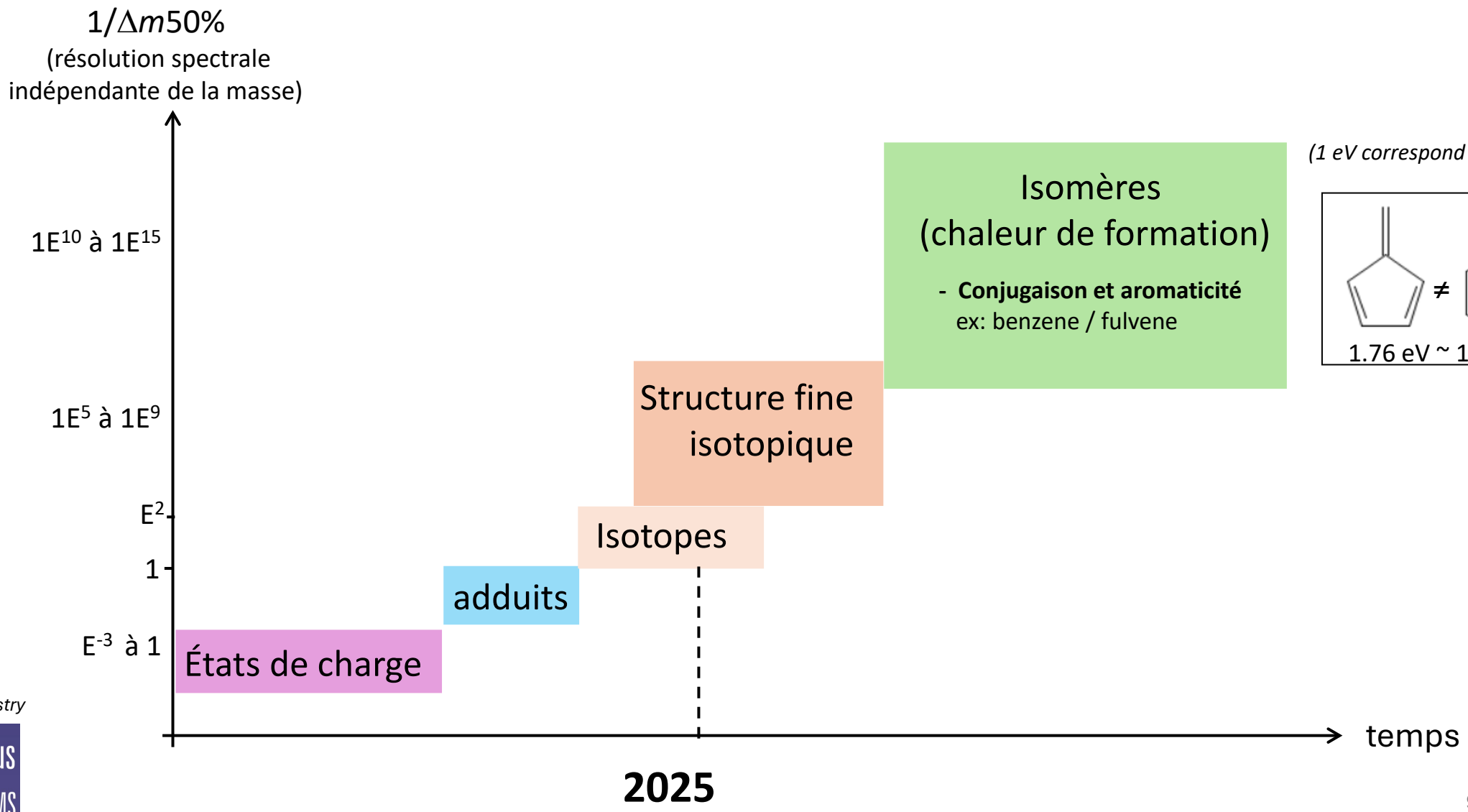
ΔMass ($^{2}H - ^{1}H$)= 1.00628 Da

Δ Mass ($^{13}C - ^{12}C$) = 1.003355 Da

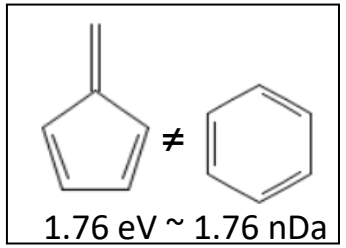
Δ Mass ($^{15}N - ^{14}N$) = 0.997035 Da

- Le nombre d'isotopologues atteint des chiffres gigantesques
  Ex: 45696 isotopologues pour $C_{31}H_{33}RuN_2Cl$

Les paliers de Résolution



(1 eV correspond à ~1 nDa)

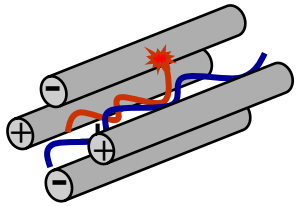


Adapté de A. Marshall, 2002, Analytical chemistry

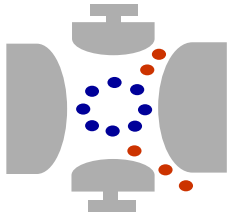
Scaling MS Plateaus with High-Resolution FT-ICRMS

Analyseurs en masse

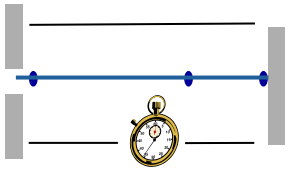
Quadrupole (Q)



Trappe à ions (IT)



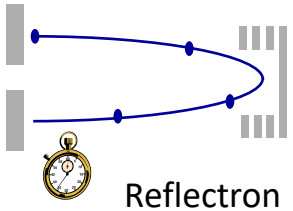
Time-of-flight (TOF)
Linéaire



< 5K

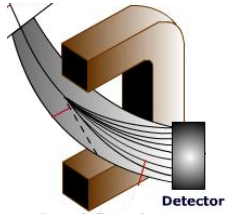
>10K

Time-of-flight (TOF)

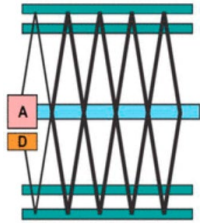


Reflectron

Secteurs magn.

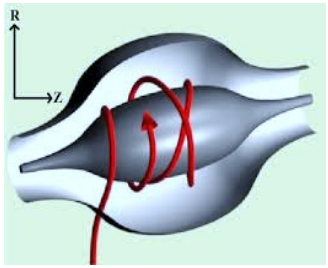


MRT

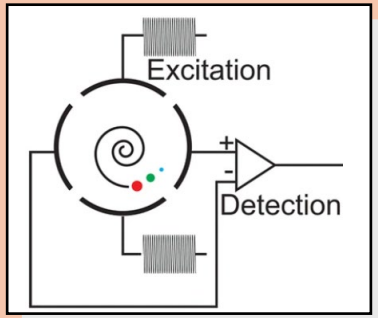


>500K

Orbitrap (OT)



Ion Cyclotron Resonance (ICR)



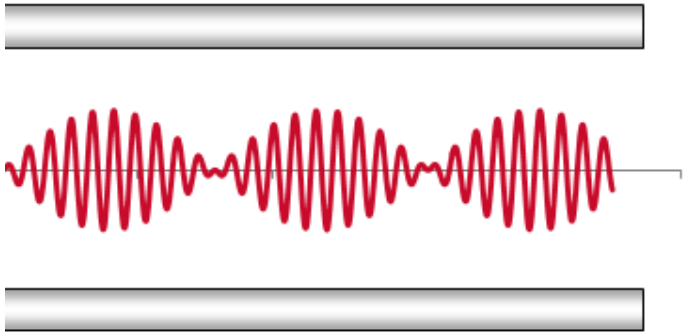
Le plus souvent combinés

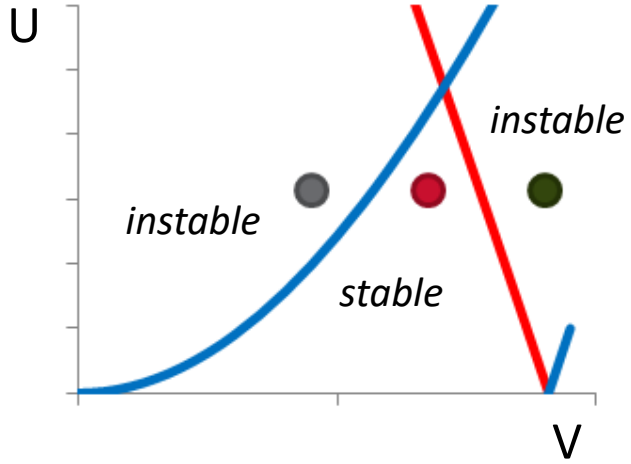
Basse	Haute	Ultra

Quadrupole, principe

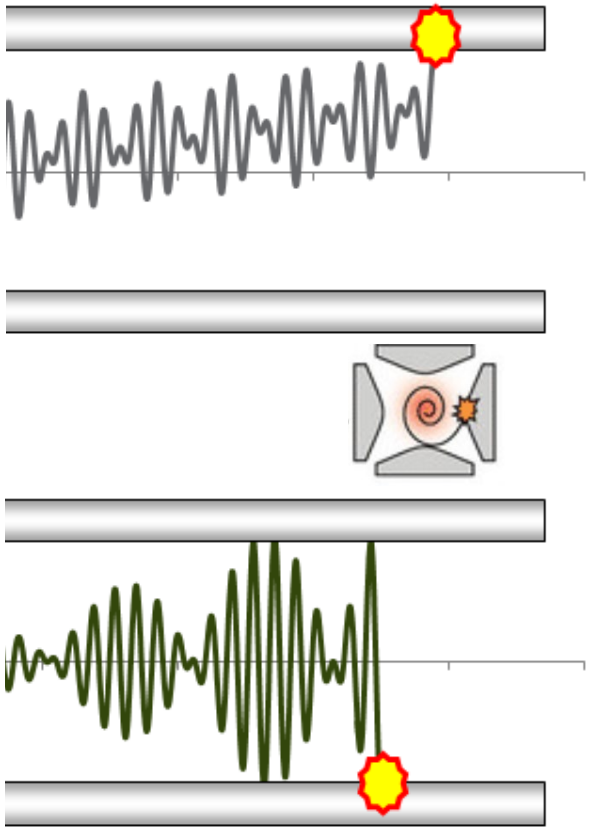
Champ électrique généré entre 4 poles
par une superposition de tensions RF (V) et DC (U)

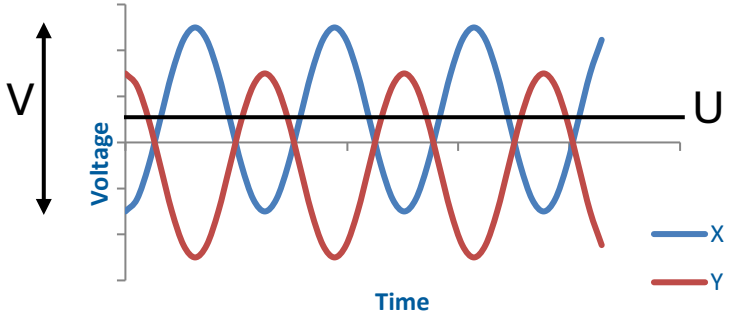
m/z transmis





m/z perdus

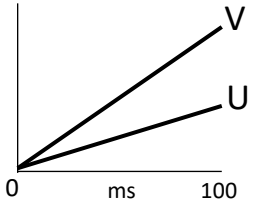


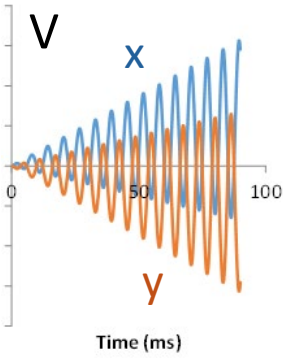


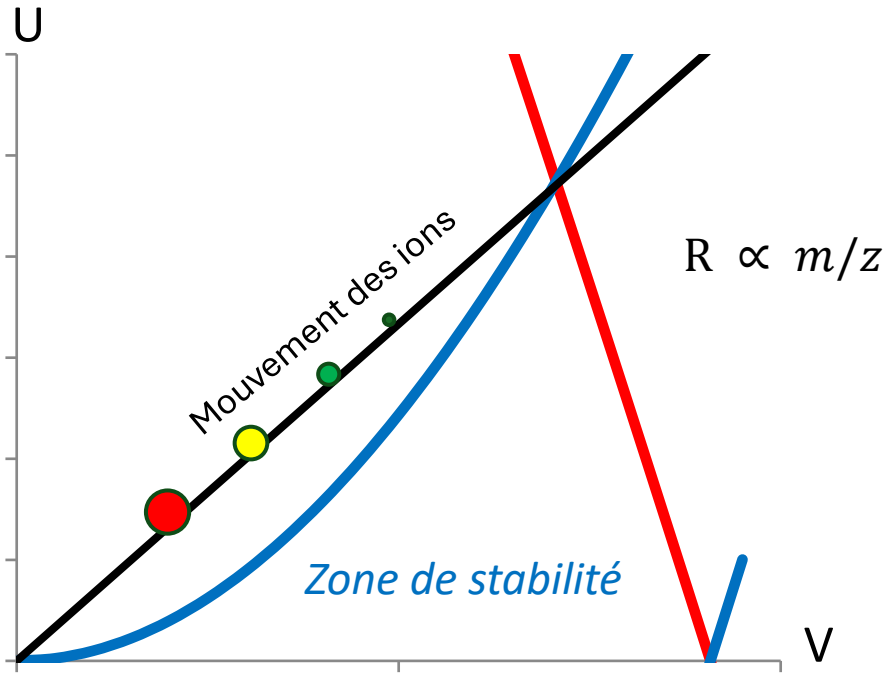
Seuls les ions dont le m/z satisfait aux conditions de stabilité pour les valeurs de U et V appliquées sont transmis

Modes d'acquisition: full scan et filtre

Full scan: U/V constant

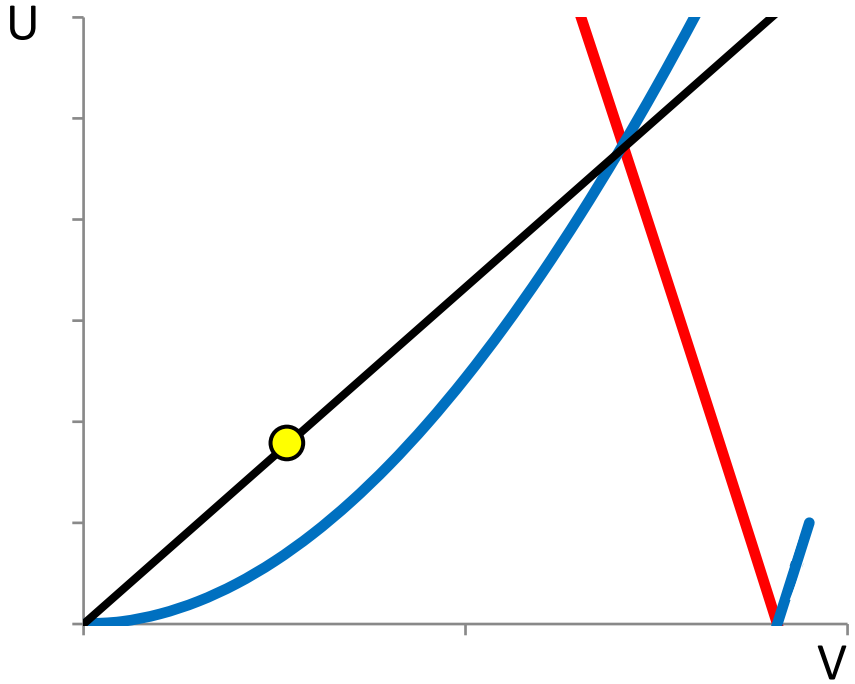




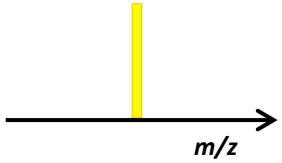


Ions stabilités l'un après l'autre

Filtre de masse: RF et DC fixes



Mode SIM (ou SIR)



Seul ○ est transmis

- En modulant U/V, on peut **élargir ou rétrécir** la gamme de *m/z* transmis: plus la pente est élevée plus la fenêtre est sélective
- La résolution augmente avec *m/z*

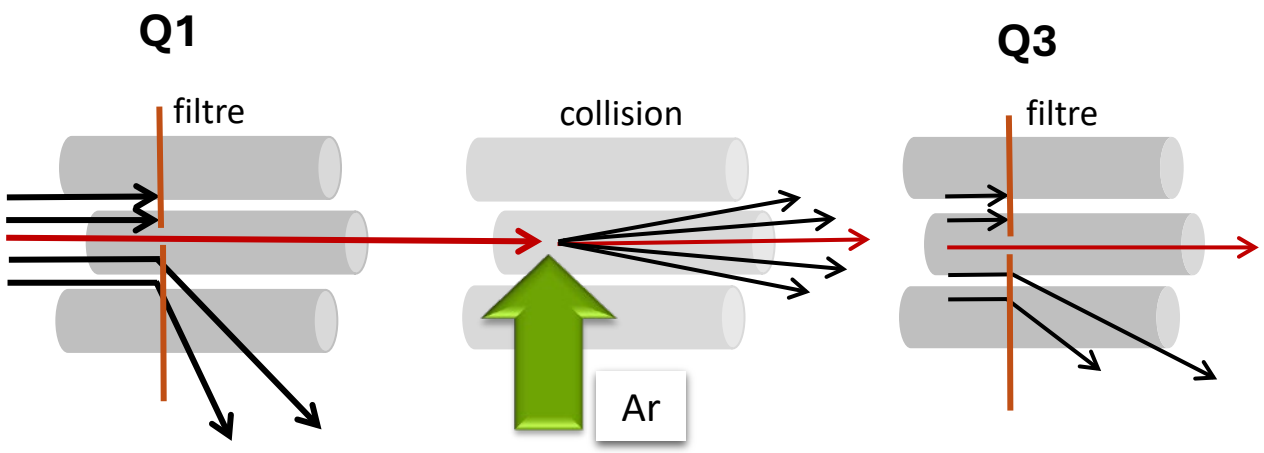
Quadrupole

- Résolution < 1000
- Gamme: 10-2000 *m/z*
  (jusqu'à 32'000 *m/z*)
- **Simple** quadrupole:
  - Identification (précision ±0.1 *m/z*)
  - Suivi de réactions

Information limitée (masse nominale)
Interférences et fausses identifications

- Bon marché, robuste

- **Triple** quadrupoles:

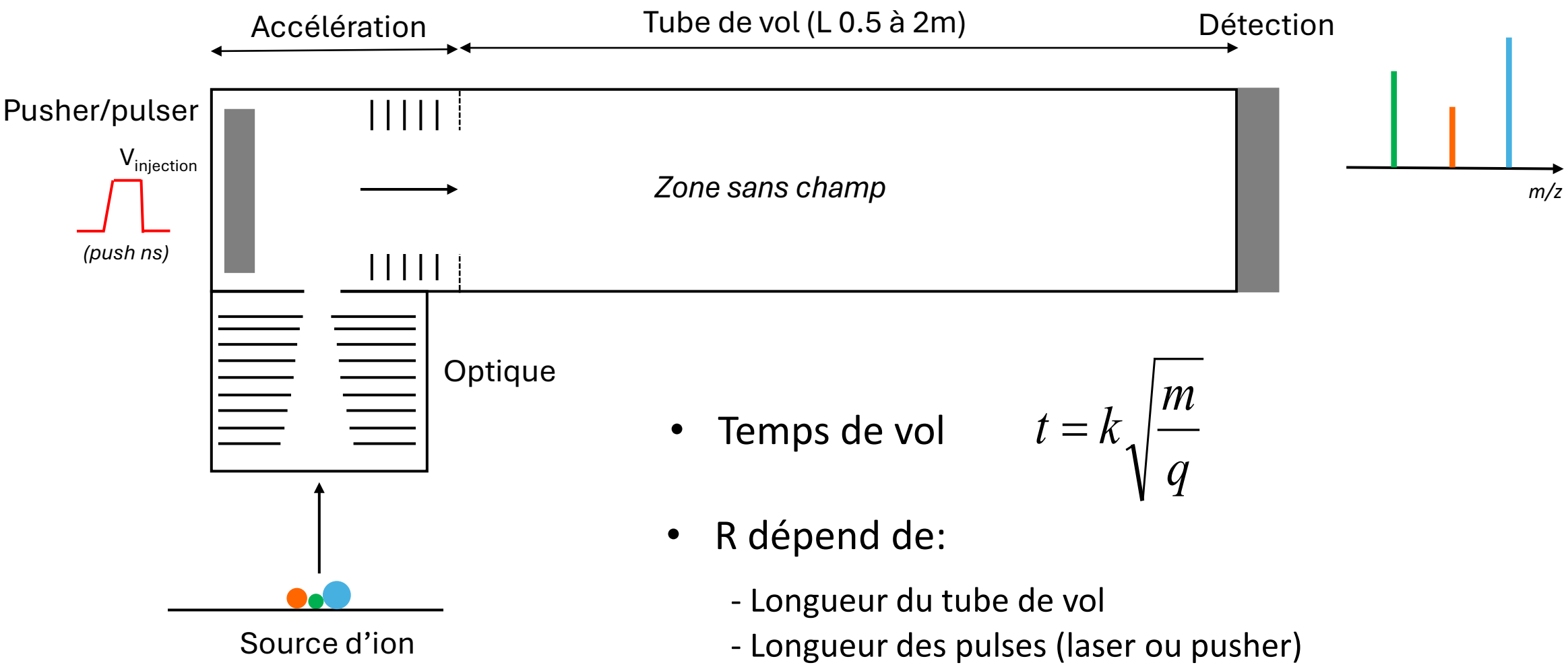


SRM/MRM

- Rapidité (0.5-10 ms par transition)
- Gain en sélectivité et sensibilité

Reste la référence pour la quantification **ciblée** dans des matrices complexes

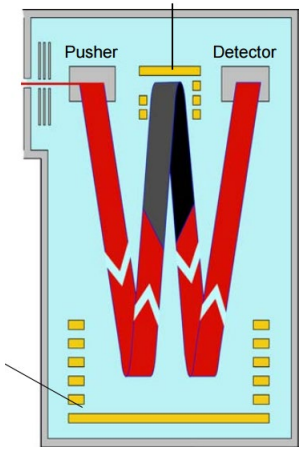
TOF (Time of Flight), principe



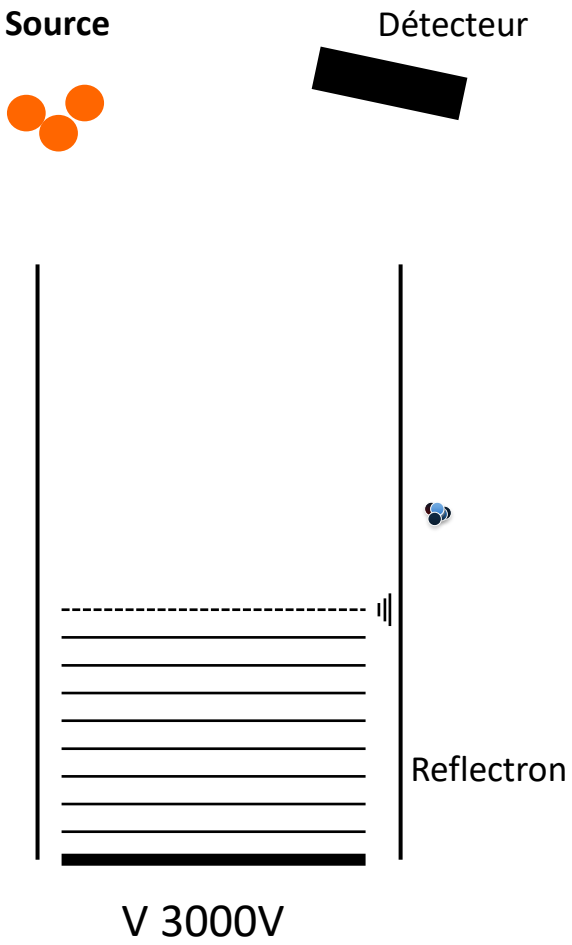
- Temps de vol $t = k\sqrt{\frac{m}{q}}$
- R dépend de:
  - Longueur du tube de vol
  - Longueur des pulses (laser ou pusher)
  - Dispersion en énergie cinétique des ions
- En mode linéaire, R est limitée

Reflectron / miroir d'ions

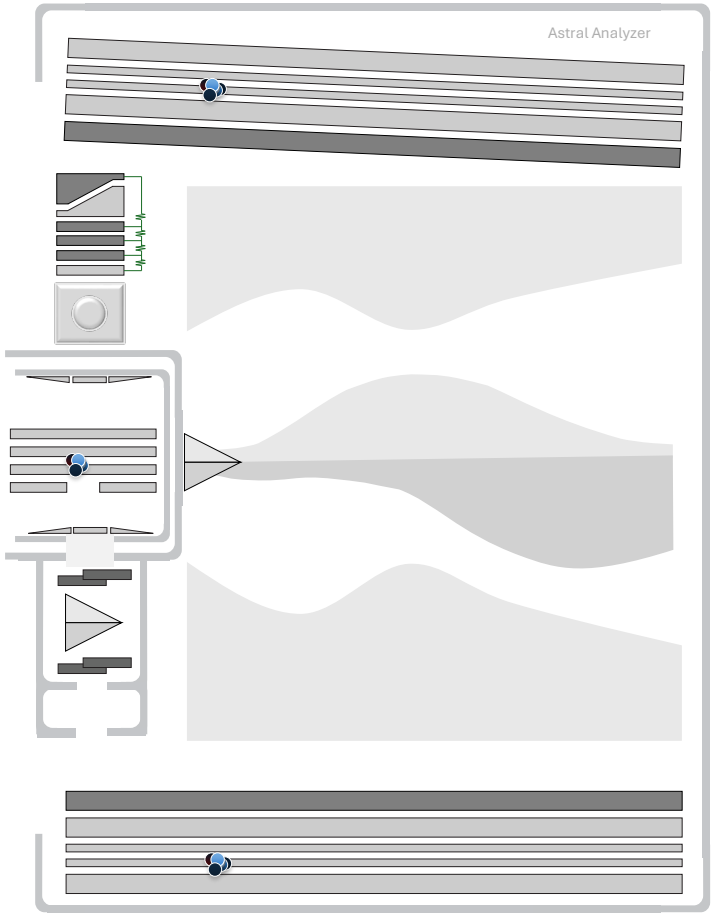
- Compense la dispersion spatiale et temporelle
- Apporte un gain en résolution (~ 20-60K)
- Mode V puis W



Single-Reflectron

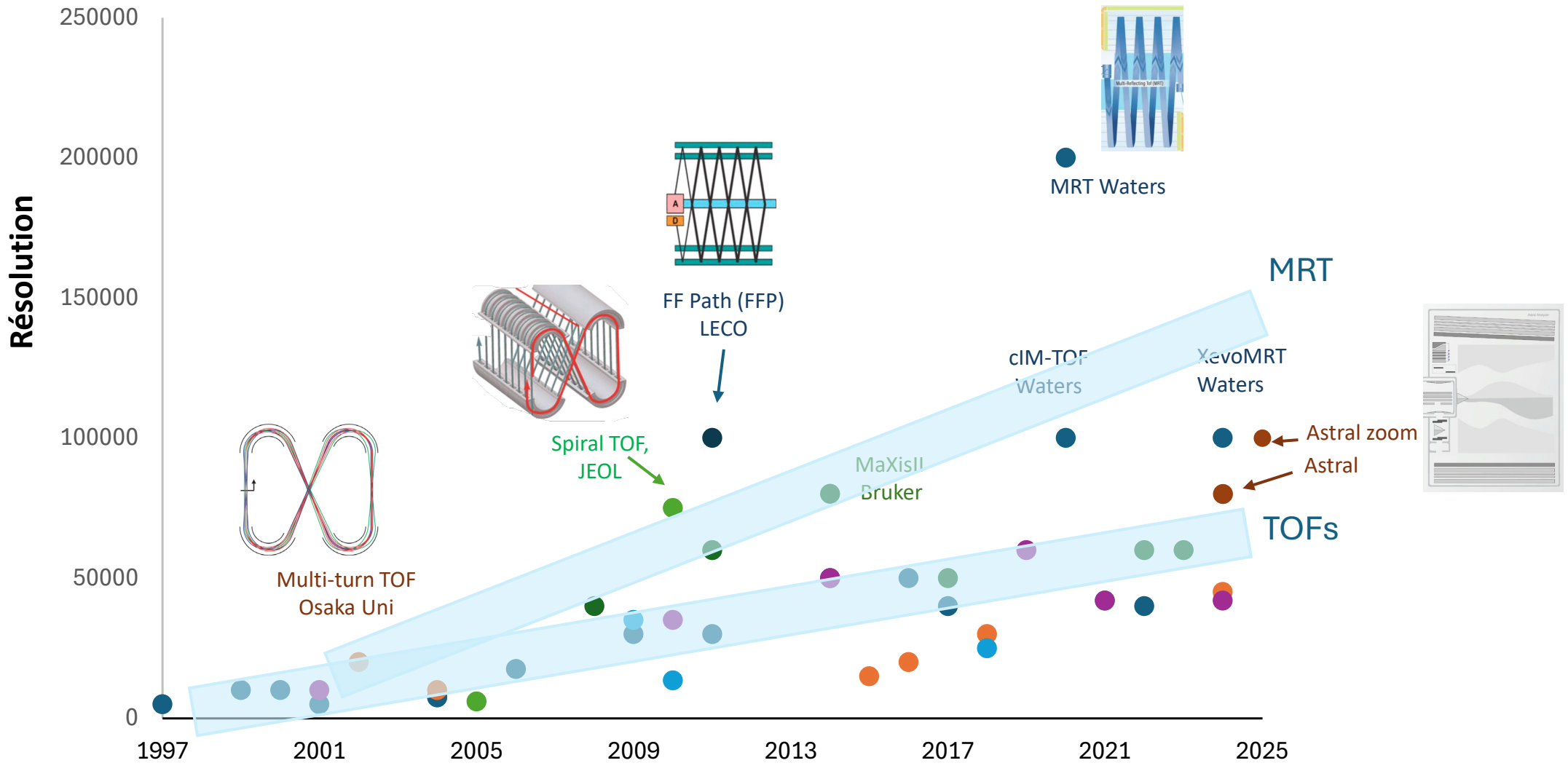


Multi-Reflectron
R≥80K



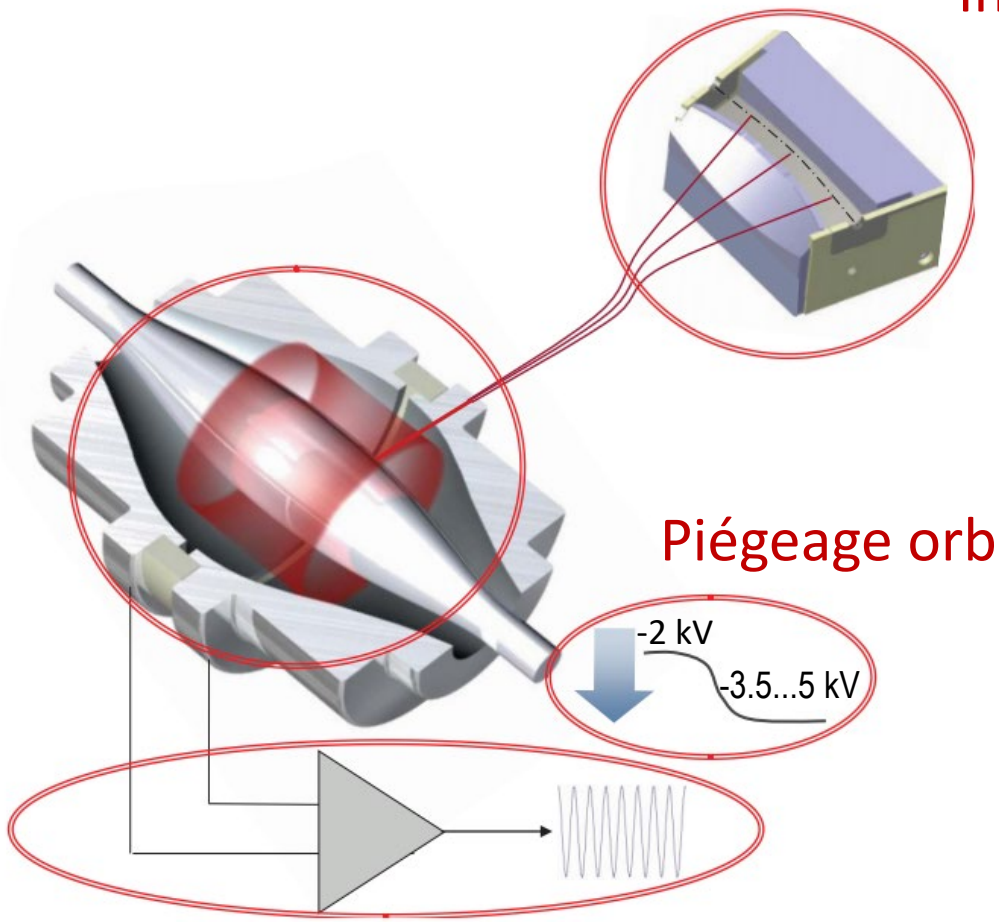
Source: ThermoFisher

Evolution des TOFs & MRTs commerciaux



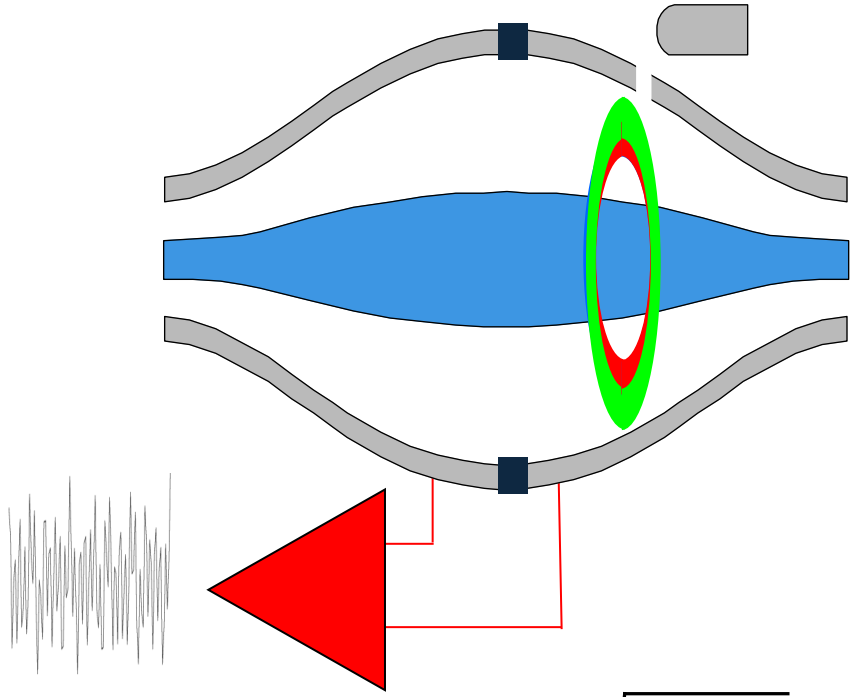
Orbitrap, principe

Injection (C-Trap)



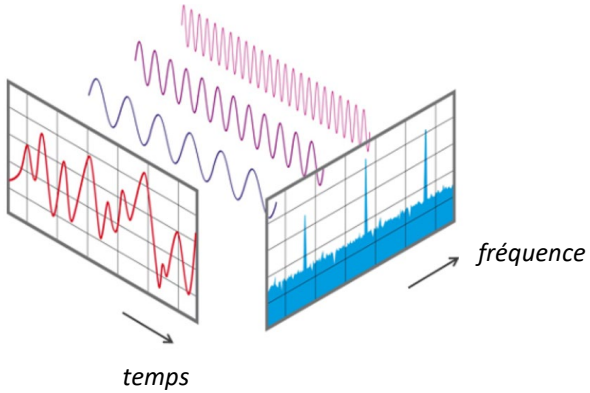
Piégeage orbital

Détection du courant induit



$$\omega = \sqrt{\frac{k}{m/z}}$$

$$H(f) = \int_{-\infty}^{\infty} h(t) e^{-j2\pi ft} dt$$

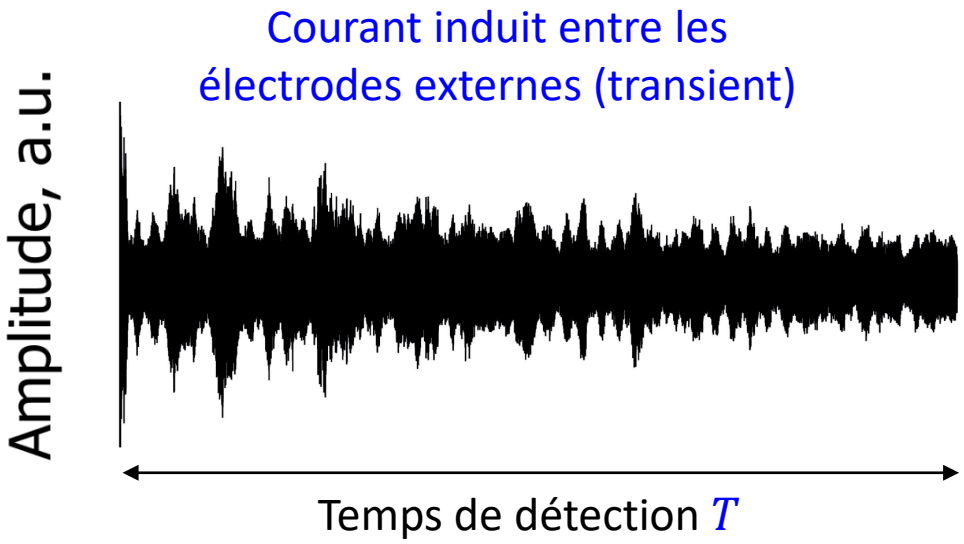


Orbitrap, résolution

$$R \propto f \cdot T$$

La Résolution dépend de:

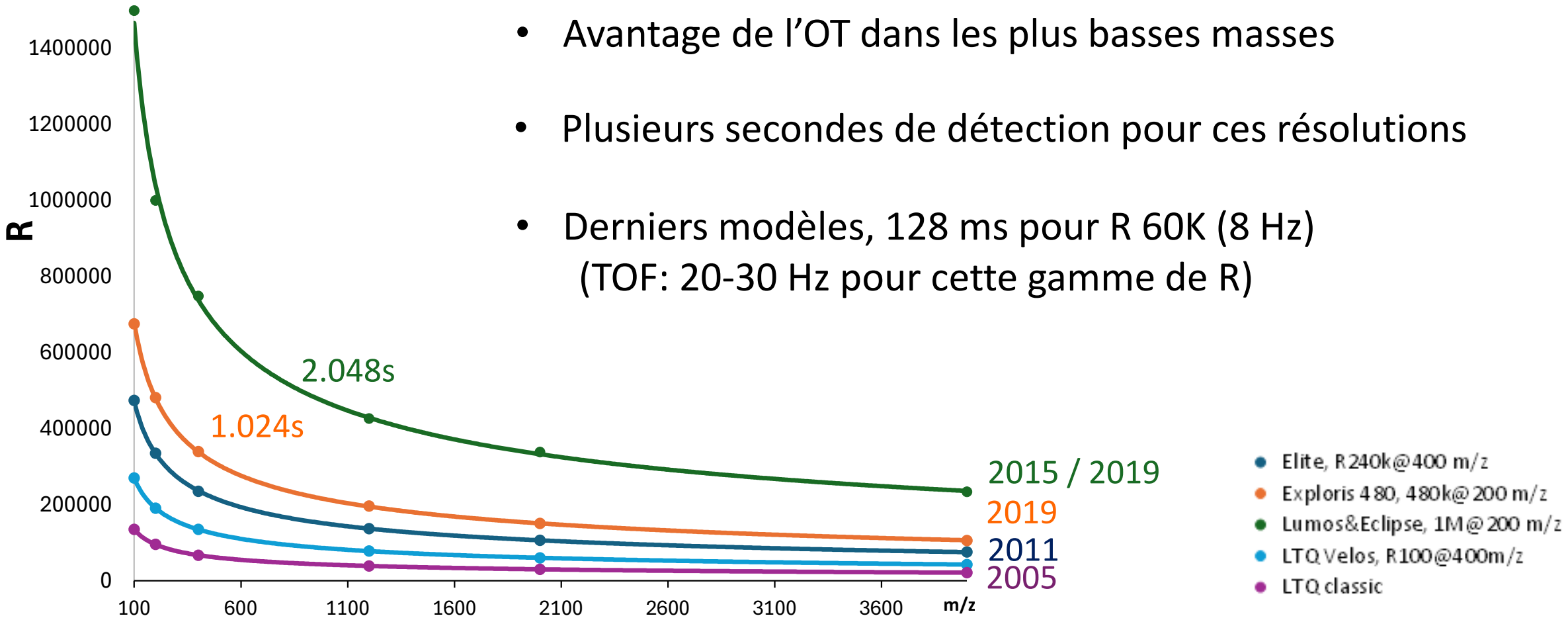
- Fréquence d'oscillation f fonction de:
  - *m/z* (plus élevée pour les plus petites masses)
  - Taille de la cellule (30 ou 20 mm)
  - Voltage de l'électrode interne (3.5 à 5kV)
- Temps d'observation T du signal



Source: Y. Tsybin

Makarov et al., JASMS, (2009) 20, 1391-1396

Orbitrap: résolution en fonction de m/z



- Avantage de l'OT dans les plus basses masses
- Plusieurs secondes de détection pour ces résolutions
- Derniers modèles, 128 ms pour R 60K (8 Hz)
  (TOF: 20-30 Hz pour cette gamme de R)

Résolution en fonction de *m/z* selon les analyseurs

- **TOF**

$$R\ constante = \frac{t}{2\Delta t} \quad , \quad t = k\sqrt{\frac{m}{z}}$$

- **OT**

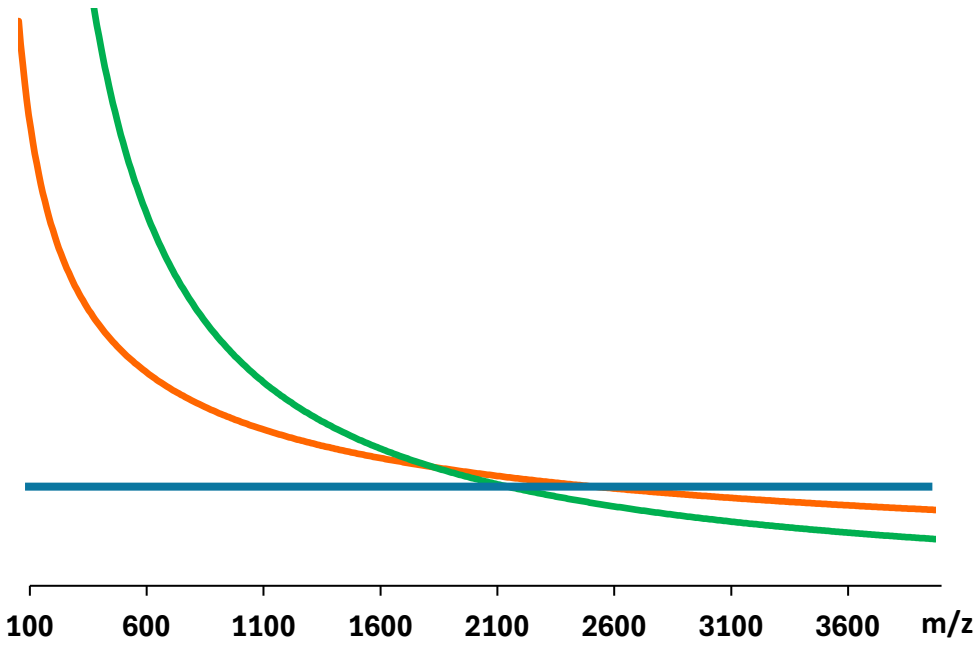
$$R \propto \frac{1}{\sqrt{m/z}}$$

(signaux plus difficiles à différencier à haute masse)

- **ICR**

$$R \propto \frac{1}{m/z}$$

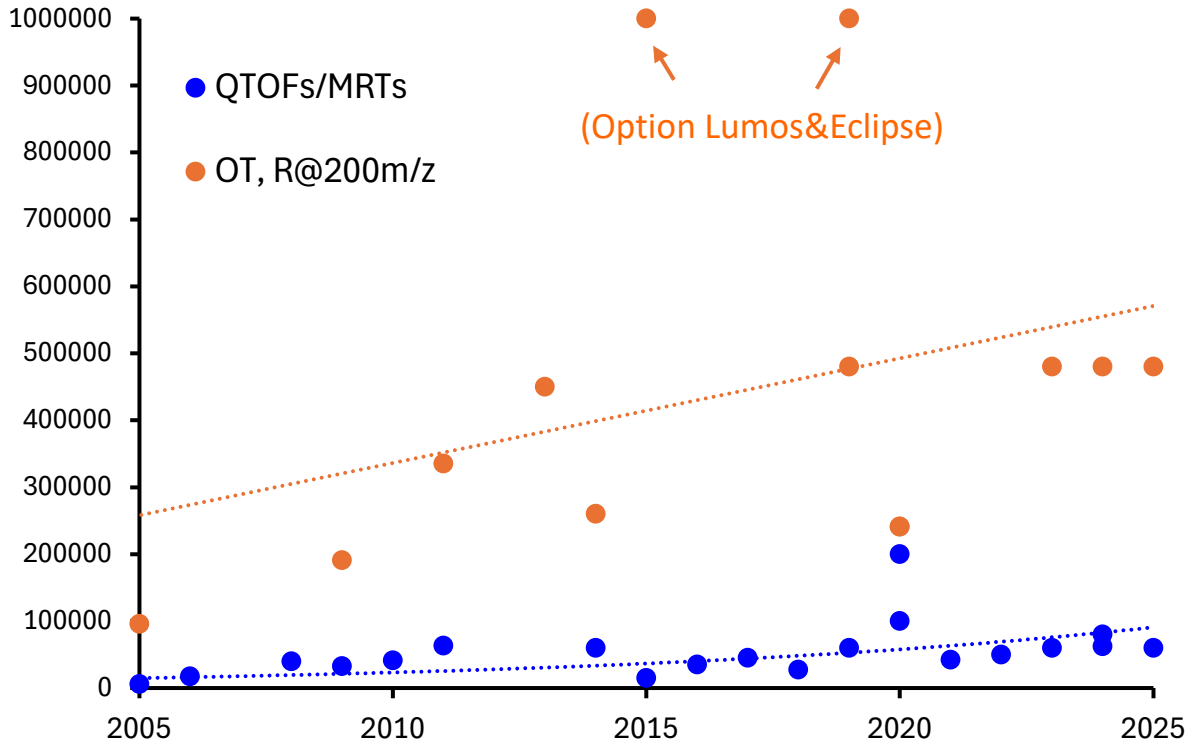
*(R **diminue** plus vite avec m/z que pour l'OT)*



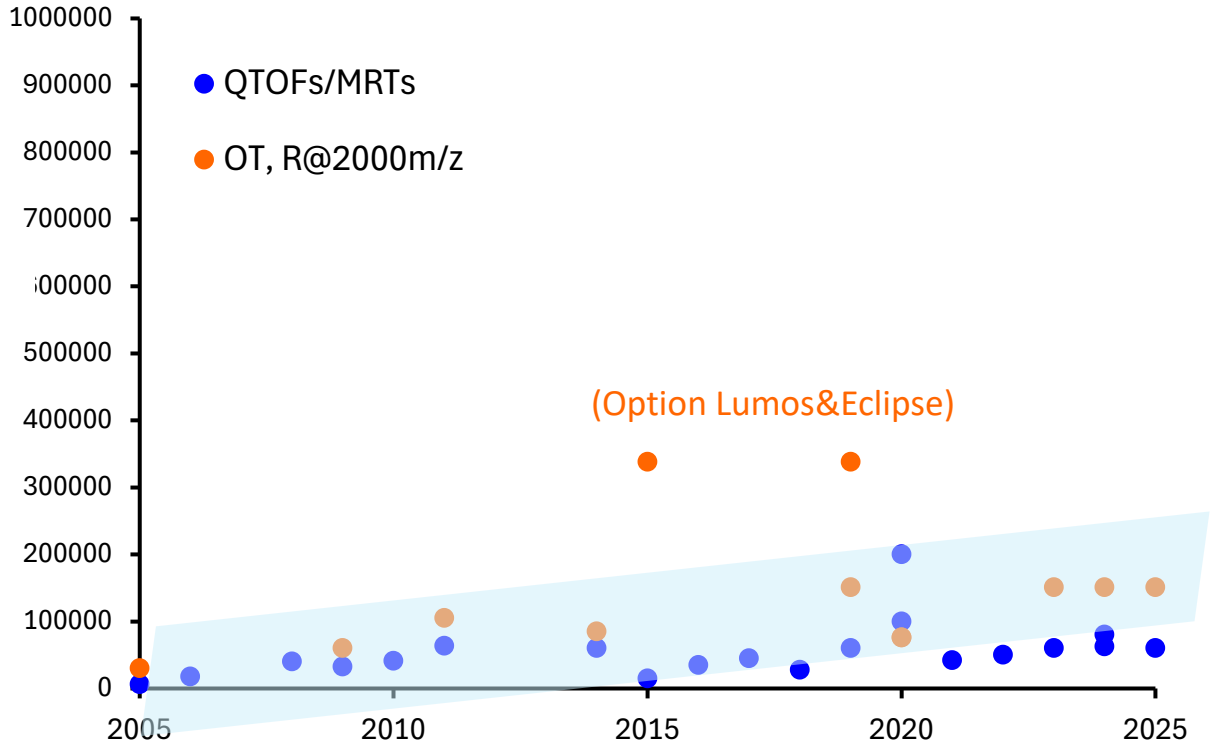
TOFs avantageux en résolution pour les plus hautes masses

Résolution: évolution comparée TOF/MRT et OT

R@200*m/z*



R@2000*m/z*



Caractéristiques principales des analyseurs

- La résolution et comment elle varie en fonction de *m/z*
- La précision: liée à la résolution et la calibration
- La gamme de *m/z* transmise
- La vitesse et les modes d'aquisition
- Le cout: achat, entretien et analyse

Avantage de la HRMS

- **En un seul run:**
  - Monitoring d'un nombre illimité de cibles en même temps
  - Quantification des analytes cibles (dont ceux qui se fragmentent mal)
  - Screening non ciblé
  - Analyse retrospective des données archivées
- **Vérification simultanée**:
  - De la masse exacte du précurseur (spectre full scan MS1)
  - Du profil isotopique
  - Des fragments MS2 à haute résolution
- **Différenciation de**:
  - Composés isobariques (y compris coélués, sauf coalescence)
  - Interférences provenant de matrices complexes

Développements liés à la HRMS

- **Nombreuses stratégies d'acquisition:**
  - Modes MSE, AIF, DDA, AquireX ...
  - Mode PRM: ciblé, combine la spécificité de la HRMS avec la sensibilité du SRM
  - Modes DIA/SWATH: analyses non ciblées
- **Nouveau modes de séparation**: mobilité ionique (IMS) avec la dimension CCS (Å)
- **Logiciels**:
  - Traitement des données de plus en plus automatisés
  - Bibliothèques étendues (MS/MS + CCS) pour identification orthogonale renforcée
- **Sensibilité**: performance de plus en plus proche des triple quadrupoles

Quelle bonne résolution alors ?

Tout dépend du but de l'analyse, de la complexité de l'échantillon, mais aussi de l'instrument disponible

- Pour une confirmation de formule brute dans un échantillon peu complexe, 20K suffit si l'instrument est correctement calibré

- Une réso >50K se justifie en cas de spectres complexes, d'espèces multichargées, de mélanges d'adduits ($M^{+\cdot}$/ $[M+H]^+$) et pour l'accès à la structure fine...

- La tendance actuelle est de combiner les techniques et fonctionalités en un seul instrument: tribrides, mobilité ionique...

- Prix à payer de la haute résolution
  - Taille des fichiers et ressources informatiques (2-10 Go/run avec l'IM)
  - Calibration et entretiens plus réguliers
  - Coûts (achat, opérateur, entretien et analyse)

Utilisez nos outils avancés MSTools gratuits pour l'analyse de vos spectres HRMS

MSTools

https://www.ms.epfl.ch

Merci à mon équipe

Spectrométrie de masse

Laure Menin

Daniel Ortiz

Natalia Gasilova

Marziyeh Komeili

Cheminformatique

Luc Patiny

Analyses élémentaires

Annabelle Coquoz

Rémy Fontaine

EPFL

Centre de compétences
Chimie et Toxicologie
Analytiques