

ACADEMIE DE MONTPELLIER
UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER
MASTER
STATISTIQUE POUR LES SCIENCES DE LA VIE

MÉMOIRE sur le stage :

Développement d'outils d'analyses
pour les données de PTR-ToF-MS

Du 1^{er} mars au 31 août 2021
au Centre d'Écologie Fonctionnelle & Évolutive
sous la direction de N. Barthes et J.-M. Roger
par :

JORIS HUGUENIN

soutenu le 10 septembre 2021, devant la commission d'examen :

J.-N. BACRO
C. REYNES
R. SABATIER

Professeur
Maître de Conférence
Professeur



École Pratique
des Hautes Études



l'institut Agro
agriculture • alimentation • environnement



À travers ce rapport, je dédicace cette année de M2 à Thomas M. Kyle, lauréat du prix Ignobel 1991 pour la découverte de l'élément le plus lourd de l'Univers : l'Administratium. Je salue les efforts cumulés mis en oeuvre pour honorer le trentième anniversaire de ce prix et remercie ceux qui ont su faire preuves de patience.



<https://www.cefe.cnrs.fr/fr/>

CEFE : Centre Écologie Fonctionnelle et Évolutive

PACE : Plateforme d'Analyse Chimique en Écologie

Table des matières

Table des matières	v
Remerciements	vii
Introduction générale	1
1 Le métier d'ingénieur de plateforme	3
1.1 Contexte	3
1.2 Science ouverte	4
1.3 Plan d'expérience en écologie chimique	5
Détection des traces d'un complément alimentaire	6
Caractérisation de COV de l'amandier	7
Étude de l'émission journalière des lavandes et des figuiers	8
1.4 Conclusion partielle	9
2 Présentation de la PTR-ToF-MS	11
2.1 Une brève histoire de la PTR-ToF-MS	11
2.2 Instrumentation générale	12
présentation des spectres	13
2.3 Rival ou allié de la GC-MS ?	13
2.4 package proVOC	13
3 Méthodes Multivariées	15
3.1 Plan	15
bourgeon	15
lavande	15
Glossaire	17
Bibliographie	19
Table des figures	23

Remerciements

Merci à tous

Introduction générale

À l'instar de l'année 2021, ce stage de M2 a été un peu particulier. Lors de l'élaboration du sujet en janvier, nous avons proposé un sujet résolument tourné vers l'analyse de données. Il s'est avéré que mon temps de stage s'est réparti différemment. Le sujet du stage a évolué afin de mieux couvrir l'ensemble du travail effectué durant ces mois. Le chapitre 1 rend compte de ces aspects en détaillant le contexte de ce stage, l'ouverture qui a été amorcée afin de rendre compatible le travail de la plateforme avec les orientations publiques vers la science ouverte et de la relation entre les analystes et les praticiens.

Le chapitre 2 est dédié à l'instrument de mesure principalement utilisé lors du stage. Le PTR-ToF-MS analyse les molécules volatiles. Après une présentation de cette technique et de notre appareil, je détaillerais les données récupérées ainsi que le package R que j'ai écrit pour procéder à l'analyse. Nous ferons un comparatif entre cette technique et la GC-MS qui est régulièrement utilisé en parallèle.

Enfin, le chapitre 3 détaille les opérations mathématiques utilisées pour l'analyse des données. Je développerais les choix fait quand aux prétraitements et à l'alignement des spectres. Je présenterais également les algorithmes implémentés dans le package, en particulier celui de la MCR-ALS.

À la fin de ce rapport se trouve un glossaire des termes techniques et des acronymes. Avant celui-ci, je livre une conclusion générale sur ce stage ainsi que sur le travail qu'il reste à accomplir. Un soin particulier a été apporté à la découpe des chapitres. Bien que la mode des rapports et articles scientifiques soit au storytelling¹, les trois chapitres suivant peuvent se lire dans l'ordre d'intérêt du lecteur.

¹mode que j'ai toutefois essayé de respecter.

Le métier d'ingénieur de plateforme

1.1 Contexte

Depuis le 04 novembre 2019, j'occupe un poste d'ingénieur affecté à la Plateforme d'Analyses Chimiques en Écologie (PACE). La PACE, créée en 2000, est spécialisée dans l'analyse chimique pour la communauté de recherche liée à l'écologie, l'environnement et la biodiversité. La PACE comporte six permanents et un CDD. Cette plateforme est un service mutualisé du LabEx CeMEB depuis 2011. L'unité de rattachement est le Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive de Montpellier (CEFE UMR5175 du CNRS). Cette unité mixte possède quatre tutelles ; le CNRS, l'Université de Montpellier (UM), l'École Pratique des Hautes Etudes (EPHE) et l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD), ainsi que trois partenaires ; l'Université Paul Valéry Montpellier 3 (UPVM3), SupAgro Montpellier et l'INRAE. À ce titre, bien que rattachée au CEFE, la PACE accueille des projets de recherche issus des 12 unités du CeMEB (850 personnels permanents) mais aussi de toute la communauté académique nationale ou internationale.

L'Université de Montpellier a été porteuse d'un projet GEPETOs dont l'objet était de financer un projet CPER (Contrat Plan Etat Région) mobilisant des financements FEDER pour l'achat d'un spectromètre de masse en temps réel permettant d'atteindre des mesures de cinétique fine, abrégé en PTR-ToF-MS (Proton Transfert Reaction Time of Flight Mass Spectrometry) pour la PACE. Le chapitre 2 revient en détail sur cet instrument. Ce projet GEPETOs comporte une part dédiée au recrutement d'un ingénieur d'étude devant bénéficier d'une formation en double compétence de niveau Master 2. Avec mes responsables hiérarchiques nous avons choisi le M2 SSV qui me permettait de renforcer mes connaissances statistiques. Le stage du second semestre c'est donc effectué sur la plateforme PACE.

Plusieurs étapes ont été définies pour l'ensemble du contrat :

- mise en place des procédures de recueil et de contrôle des données ;
- adaptation des méthodes d'analyse mathématiques pour répondre aux besoins spécifiques du PTR-ToF-MS ;
- organisation de la mise en forme et du stockage des données ;
- assurer la maintenance des bases de données contenant les data produites par l'instrument et les résultats des analyses.

Il était prévu que le point 2 soit particulièrement mis en avant lors de ce stage. En réalité

l'ensemble des points ci-dessus a été mobilisé. Cette introduction du contexte me permet de décrire l'état d'esprit général lié à ce stage. Effectué sur mon lieu de travail, il y avait une dualité entre la nécessité d'encadrer les utilisateurs de la plateforme et la possibilité offerte d'un temps de réflexion et d'exploration. La première modalité imposait le tempo, du pragmatisme et un calendrier à respecter. Ce printemps-été 2021 était particulièrement attendu pour deux raisons. Il fallait en quelque sorte rattraper le travail qui n'avait pu être effectué lors du confinement général du printemps 2020. De plus, les possibilités de l'appareil commençaient à être connues et celui-ci est beaucoup demandé. De plus, l'intitulé initiale de ce stage était "*Analyse descriptive des données PTR-TOF-MS des COV émis lors du cycle larvaire de la guêpe de l'amande* (*Eurytoma amygdali*). Je devais accompagner une doctorante dans son travail d'analyse. Nous avons commencé les expériences dès février lors de la période de fleuraison des amandiers. Après deux mois d'expériences, la quantité de données recueillies était particulièrement importante. La doctorante, ayant commencé sa thèse en janvier et après avoir fait les expériences avec le timing imposé par la nature, a pu reprendre un rythme normal de thèse et se plonger dans la bibliographie.

De mon côté, j'ai participé à la mise en place d'autres expériences sur lesquelles nous reviendront dans ce rapport. J'ai également pu prendre du recul sur mon activité et la repenser afin qu'elle cadre avec la politique actuellement de science ouverte. Ce stage m'a ainsi permis d'orienter les outils numériques que je mettais à disposition des chercheurs vers une science reproduisible.

1.2 Science ouverte

Durant cette période de stage, le gouvernement français a mis en place le Deuxième Plan pour la science ouverte qui définit les actions mises en place sur la période 2021-2024. Le plan est détaillé dans ce [document](#) dont je recommande vivement la lecture. Ce guide de route possède les défauts propres à l'époque¹. Ceci étant, à l'échelle de la communauté scientifique française, ce plan permettra une large diffusion du savoir et de la culture scientifique grâce à des actions regroupées dans quatre axes :

- généraliser l'accès ouvert aux publications ;
 - généraliser l'obligation de publication en accès ouvert des articles et livres issus de recherches financées par appel à projets sur fonds publics ;
 - soutenir des modèles économiques d'édition en accès ouvert sans frais de publication pour les auteurs ;
 - favoriser le [multilinguisme](#)² et la circulation des savoirs scientifiques par la traduction des publications des chercheurs français ;
- structurer, partager et ouvrir les données de la recherche ;
 - mettre en œuvre l'obligation de diffusion des données de recherche financées sur fonds publics ;
 - créer Recherche Data Gouv, la plateforme nationale fédérée des données de la recherche ;

¹pêle-mêle l'utilisation abondante de mots valises, la volonté de récompenser les bons élèves par des badges et des prix ou encore permettre la libre exploitation de la recherche publique à des entreprises qui ne respectent pas leur devoir fiscal

²Découvrir l'étrangeté d'une pensée en langue étrangère constitue une expérience hermétique fondamentale, étant donné qu'une telle rencontre peut déclencher un processus qui contribue à augmenter l'incertitude positive et à remettre en cause les convictions propres pour construire ainsi une barrière contre l'ethnocentrisme dans la pensée scientifique. HAMEL [Ham13]

- promouvoir l'adoption d'une politique de données sur l'ensemble du cycle des données de la recherche, pour les rendre faciles à trouver, accessibles, interopérables et réutilisables (FAIR) ;
- ouvrir et promouvoir les codes sources produits par la recherche ;
 - valoriser et soutenir la diffusion sous licence libre des codes sources issus de recherches financées sur fonds publics ;
 - mettre en valeur la production des codes sources de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation ;
 - définir et promouvoir une politique en matière de logiciels libres ;
- transformer les pratiques pour faire de la science ouverte le principe par défaut.
 - développer et valoriser les compétences de la science ouverte tout au long du parcours des étudiants et des personnels de la recherche ;
 - valoriser la science ouverte et la diversité des productions scientifiques dans l'évaluation des chercheurs et enseignants-chercheurs, des projets et des établissements de recherche ;
 - tripler le budget de la science ouverte en s'appuyant sur le Fonds national pour la science ouverte et le Programme d'investissements d'avenir

Les axes concernant le code et les données me concerne directement. Par mon travail, je produit des données ainsi que le code permettant l'analyse de celle-ci par mes collaborateurs. Le code est écrit en langage R sous la forme d'un package, *proVOC*, déposé sur [gitHub](#). Il génère un workflow qui sauvegarde les paramètres et les données utilisés lors de l'analyse. Le dépôt sur un git permet l'ouverture de ce code. Il est toutefois prévu d'effectuer une migration sur gitLab afin de favoriser l'utilisation des logiciels libres.

Par ailleurs, je souhaite développer un module permettant de convertir les data machines dans un format adapté à la futur plateforme Recherche Data Gouv. Ce module facilitera la production de *data paper* dont j'ai découvert l'existence au cours des [journées casuHAL 2021](#). Grâce à deux demi-journées de formation sur Rmardown et sur la création de package, j'ai pu intégrer la génération de rapport automatisé dans le package³ qui est un premier pas vers l'écriture automatisé des data paper.

J'ai également découvert et testé les packages et templates permettant de créer sous R un document découpé en chapitre. J'utilisais déjà Rmarkdown depuis un certains temps mais le passage à [Bookdown](#) et [memoiR](#) a demandé un temps d'adaptation plus long que prévu. Ceci étant, ça n'a pas été en vain puisque j'ai eu plusieurs retours enthousiastes de collègues en vu d'une formation sur ces packages. J'envisage, une fois ce rapport terminé, de développer un clone de memoiR (avec l'accord de l'auteur) sur le style de [EcoFoG](#) afin de mettre à disposition aux membres du CEFÉ un templates clé en main. Ceci permettra de favoriser l'écriture de rapport par des logiciels libres et d'améliorer la reproductibilité de la science.

1.3 Plan d'expérience en écologie chimique

Le chapitre suivant décrit la technique de la PTR-ToF-MS. Nous avons ici juste besoin de savoir que cette technique analyse en continu les molécules volatiles émises par l'échantillon. L'instrument ne peut analyser qu'un échantillon à la fois mais plusieurs peuvent se succéder au sein de séquence.

³<https://daranzolin.github.io/2021-03-03-automated-rmarkdown/>

Durant la période de stage, j'ai accompagné plusieurs séries d'expériences. Les modèles biologiques analysés varient à chaque expérience. Les plans d'expériences ont été conçus en dialoguant avec les utilisateurs. Bien souvent, ils avaient en tête l'expérience qui répondait le mieux possible à leur question biologique. J'anticipais les incohérences techniques et j'optimisais les paramètres de l'instrument. Avec le recul, je me suis rendu compte que mes connaissances acquises en cours de recueil planifié de données n'étaient pas pleinement exploitées.

Un des problèmes principaux est dû à la contamination de la ligne et de l'instrument par l'échantillon précédent. Nous pouvons analyser ces expériences pour repérer les erreurs commises.

Détection des traces d'un complément alimentaire

Cette expérience avait pour objectif de mesurer la diffusion de l'odeur de nourriture (pour des poules) dans quatre sites d'un mésocosme constitué de deux compartiments. La figure 1.1 illustre cette prise de mesure. Les sites étaient localisés dans la mangeoire (s1, compartiment 1), au centre du compartiment 1 (s2), à la jonction des deux compartiments (s3, côté comportement 2, figure 1.1) et au fond du compartiment 2 (s4). La nourriture au sein de la mangeoire était soit de la nourriture témoin (T) soit dopée par de l'huile essentiel (A et B). Il y avait 5 mésocosmes pour chaque modalité.



FIG. 1.1 : PTR-ToF-MS relié à l'un des quatre site de mesure d'un mésocosme

Dans la théorie d'une expérience totalement randomisée, il aurait fallut définir l'ordre aléatoire de chacune des 60 acquisitions⁴. Dans la pratique, cette expérience nécessitait de déplacer l'instrument d'un mésocosme à l'autre entre chaque acquisition. Cette manipulation

⁴5 (mésocosmes) x 3 (modalité) x 4 (site d'acquisition) = 60

aurait drastiquement augmenté la durée de l'expérience. Nous avons donc tiré au hasard l'ordre de passage de chaque mésocosme, effectué un blanc et les acquisitions sur les quatre sites de mesures puis terminé par un nouveau blanc.

Il aurait été juste de tirer au hasard l'ordre de passage des sites. Pour autant, nous avons opté pour une hypothèse forte de commencer par le site le plus éloigné de la mangeoire (s4, s3, s2, s1) afin que les potentielles traces ne soient pas contaminées par une odeur plus forte. Dans les faits, nous laissions assez de temps entre deux mesures pour renouveler plusieurs fois le volume d'analyse à l'intérieur de l'instrument ce qui permettait d'isoler les mesures. Après coup, je pense qu'il aurait été bon de procédé malgré tout à une randomisation de l'ordre des sites au sein d'un mésocosme.



FIG. 1.2 : Sonde à proximité de la mangeoire

Nous avions également une seule journée pour effectuer l'ensemble des acquisitions, ce qui a été juste suffisant. Nous n'avons pas pu effectuer de répétition sur un même échantillon. L'analyse des data a été effectué par le post-doc en charge de l'expérience. Je n'ai pas de retour sur des potentiels contaminations intra et inter échantillons.

Bien que la réalisation de cette expérience est statistiquement discutable, elle a été réalisé en tout début de la période de stage et m'a permit la réflexion sur comment intégrer mieux la planification d'expérience.

Caractérisation de COV de l'amandier

Ce travail s'inscrit dans la première année d'un projet de thèse et consistait à analyser les COV émis par les différents organes (bourgeon, fleur, feuille, fruit) des amandiers. Pour

des raisons de calendrier, j'ai aidé à la mise en place des expériences début février puis à la formation de la doctorante. Une fois cette dernière autonome avec l'instrument, j'ai peu assisté au suivi de l'expérience. J'ai toutefois soumis l'idée de suivre le débourrement d'une fleure avec le PTR-ToF-MS.

Nous avons suivi durant un week-end les COVs émis par un bourgeon que nous avons isolé du reste de la plante. Ce bourgeons avait été sélectionné car il était proche de la floraison. Ainsi, nous avons pu recueillir les odeurs émises avant, pendant et après le débourrage. Cependant, nous n'avons pu obtenir qu'une seule unité expérimentale pour cette expérience. Par ailleurs, nous avions filmé le bourgeons durant l'expérience mais la caméra s'est éteinte après quelques heures. Ainsi, nous n'avons pas de témoin validant l'heure de phénomène. Les données techniques et les résultats de l'analyse sont détaillés à la section 3.1. Nous retenterons probablement cette expérience en février 2022 sur plusieurs unités expérimentales, en privilégiant une série de photo plutôt qu'un film.

Cette expérience a permis de mettre en avant les capacités de l'appareil et a fait germer plusieurs idées. Nous avons fait plusieurs réunions préparatoires pour mettre en œuvre l'une d'elles. Nous souhaitons analyser la réponse chimique d'une fleure après la diffusion du bruit de son pollinisateur.

Étude de l'émission journalière des lavandes et des figuiers

L'expérience sur les lavandes présentée ici s'inscrit dans un cadre expérimentale plus vaste s'intéressant aux phénomènes liés à l'ozonation. Je ne reviendrais pas dans ce rapport sur la partie ozonée. Cependant, nous nous sommes intéressé aux variations journalières dans des conditions non ozonée (plantes témoins). Nous avons mis en place quatre chambres de mesure permettant chacune soit d'isoler un plant de lavande soit d'être un blanc. Ces chambre de mesure sont des cylindres en plastiques, ventilé, de volume équivalent et relié chacun à un flux d'air propre d'un débit de 5 litres/min. La longueur et le volume des lignes reliant les chambres à l'instrument de mesure n'étaient pas identique. Nous avons lancé des acquisitions sur les quatre chambres en série durant 48h. Nous avons répété ce processus deux fois, pour obtenir neuf plants au total dans notre plan d'expérience. Pour les lavandes, il n'y avait qu'une modalité (plante témoin). Toutefois, un des quatre moteurs permettant la ventilation à l'intérieur de la chambre ne fonctionnait pas. Nous avons décidé que cette chambre serait le blanc. Là encore, cette décision est critiquable. D'un côté, il fallait que le moteur HS soit celui de la chambre "blanc" afin de ne pas créer artificiellement les modalités "plante témoin ventilée" et "plante témoin non-ventilée". D'un autre côté, nous comparons un blanc non-ventilé à des plantes ventilées. Au regard de débit d'air pure de 5L/min, nous avons jugé ce biais négligeable. En revanche, nous aurions pu, au prix de quelques branchements et rebranchements supplémentaires, déplacer le moteur défectueux d'une chambre à l'autre entre les répétitions. Ceci aurait permis de mieux répartir l'erreur expérimentale due aux lignes de mesure. Ceci étant, les résultats présentés dans la section 3.1 sont satisfaisant.

Quelques jours après l'expérience avec les lavandes, nous avons réutilisé le même dispositif avec des figuiers. Le temps d'analyse a été augmenté pour passer à 5 jours. La chambre "blanc" est resté la même (non ventilée). Cette fois, les plantes étaient soit "polinisées" soit "non-polenisées" (témoin). Nous avons décalé la plante témoin d'une chambre à chaque répétition malgré qu'un statisticien puriste aurait probablement tiré au sort à chaque répétition, au risque de tomber trois fois sur la même chambre. Je n'ai pas aidé à l'analyse de cette expérience et ne peut pas me prononcer sur la pertinence des choix effectués.

1.4 Conclusion partielle

J'ai commencé ce métier en novembre 2019. En raison des conditions sanitaires et de la formation continue en M2 SSV, j'ai une vision légèrement biaisée d'une année "standard" sur ce poste. Pour autant, je pense avoir trouvé le bon équilibre entre d'un côté le développement d'outils numériques résolument orienté utilisateurs et qui entre dans le Deuxième Plan national pour la science ouverte et de l'autre côté l'accompagnement des utilisateurs de la conception de leurs expériences à l'acquisition.

Le temps annuel consacré à chacune de ces facettes est plutôt équilibré bien que les saisons chaudes soient bien évidemment plutôt dédiées au terrain. Après ces quelques descriptions d'expériences, je propose une description plus détaillée de l'instrument PTR-ToF-MS et de son environnement dans le champs de la spectroscopie de masse, chapitre 2, mais un lecteur pressé de connaître les conclusions de ces expériences peut sauter au chapitre 3.

Présentation de la PTR-ToF-MS

De très nombreux projets de recherches issus du CeMEB nécessitent l'analyse de Composés Organiques Volatiles (COV ou VOC en anglais) aussi communément appelés “odeurs”. Les COVs sont omniprésents dans la nature et permettent, avec les autres sens, une organisation du vivant en agissant comme vecteurs d'informations de la médiation chimique. Par l'acquisition d'un PTR-ToF-MS, la communauté souhaitait lever trois verrous techniques :

- l'appareil permet un fonctionnement en flux continu avec une résolution temporelle très fine (fréquence d'analyse allant jusqu'à 10 scans par seconde), permettant ainsi le suivi des cinétiques d'émissions de COV. Cet instrument simplifie drastiquement et affine les expériences cinétiques effectué par des mesures ponctuelles de GC-MS ;
- le PTR-ToF-MS possède une excellente résolution en masse qui facilite l'identification des molécules. Un spectre est composé de plus de 140 000 mesures de masses couvrant une large gamme des masses des COV biologiques (de 70 à 500 m/z). L'appareil possède donc une résolution environ mille fois supérieure par rapport à un simple quadripôle (PTR-MS) qui fournit des m/z à l'unité de masse atomique (uma ou Dalton Da) ;
- le seuil de détection extrêmement bas, de l'ordre du ppt (part per trillion), permet une sensibilité adaptée à la mesure de trace.

2.1 Une brève histoire de la PTR-ToF-MS

Durant la décennie 1990, le *Institut für Ionenphysik der Leopold-Franzens-Universität* d'Innsbruck en Autriche développe un nouvel instrument pour l'analyse chimique des gaz. En travaillant avec la *Universitätsklinik für Innere Medizin*, l'équipe menée par Lindinger développe un spectromètre en phase gazeuse qui ionise les molécules grâce à un gaz neutre ([LLA91] et [LHP93]). Ils comprennent rapidement l'avantage d'utiliser un proton (apporté à la réaction sous la forme H_3O^+) par rapport aux ions Kr^+ et Xe^+ . Ils publient une sorte de preuve de concept en 1994 [Lag+94] et détaillent plus finement l'instrumentation et les réactions chimiques [Han+95]¹. En 1998 sort l'article qui fait désormais référence, [LHJ98], signé par le trio Lindinger, Hansel et Jordan (et sa version courte [LJ98]).

¹avec des remerciements incroyables

Ionicon commercialise la même année le premier PTR-MS. Cette technique se déploie rapidement dans les sciences de l'atmosphère, médicales et biotech ([BA01]) permettant la détection de traces de COV. Rapide et sensible, la PTR-MS élimine les désavantages de la GC-MS. Cependant, la PTR-MS détecte de la masse nominale des ions. Un échantillon complexe peut contenir plusieurs ions isobares². Il convient alors de gagner en résolution de masse et séparer ces isobares. [Jor+09] revient sur les tentatives les plus concluantes ([Bla+04], [Enn+05], [Ino+06] et [Tan+07]) avant de proposer son approche : la PTR-ToF-MS. Développé en collaboration avec la précédente équipe, le minutieux article de [GMH10] conclu superbement la vingtaine d'années de développement nécessaire à cette technique. Les années suivantes permettront simplement une amélioration des différentes parties de l'instrument.

Par ailleurs, c'est au tour des mathématiciens d'apporter leur contribution et en particulier à l'équipe de Cappellin avec deux articles. Le premier, [Cap+10], permet de mieux estimer la masse exacte de chaque ion détecté. Le seconde, [Cap+11], offre une méthodologie détaillée de l'utilisation du PTR-TOF-MS de l'acquisition à la fin de l'analyse. Puis en 2015, [Hol15] propose un logiciel pour l'analyse des data mais cette tentative n'a pas été suivi par la communauté d'utilisateur. Il existe désormais un nombre important d'articles utilisant la PTR-TOF-MS. Bien entendu, des outils commun de chimiométries ont été utilisés pour renforcer les résultats, [Deu+19]. Mais cela sera abordé dans le chapitre suivant.

Par ailleurs, je suppose que la prochaine avancée majeure viendra d'une technologie permettant de discriminer les isomères³ [Cla+21]⁴. Par exemple, cela permettrait de séparer les différents monoterpènes. Actuellement, ce désavantage est combler par le couplage de la PTR-TOF-MS avec une seconde technique d'analyse chimique. Ce court historique montre toutefois que la collaboration entre physiciens, chimistes, biologistes et mathématiciens est fructueuse et promis à un bel avenir.

2.2 Instrumentation générale

Comme nous l'avons vu précédemment, le PTR-TOF-MS est conçu pour analyser finement la masse moléculaire des échantillons. Pour cela l'instrument aspire un débit d'air constant de 100 ml/min⁵. Cet *air in* sur la figure #schema_vocus peut être diluée par un gaz propre (pour éviter la saturation) ou étalon (pour la calibration) puis est injecté dans le réacteur (*FIMR* pour *focusing ion-molecule reactor*). Dans cette chambre, des ions H⁺ sont également injecté à débit constant afin d'ioniser les molécules de l'échantillon (*Proton-Transfer-Reaction*). Il est important de comprendre que, contrairement à une ionization par électron⁶, il n'y a quasiment pas de fragmentation moléculaire. En revanche les ions ont "une masse molaire de plus"(un proton) que les molécules initiales. Par exemple, le linalol, un COV fortement produit par la lavande, a une masse molaire de 154,249 g/mol mais sera détecté à 155,256 g/mol. Par ailleurs, le nombre d'ions MH⁺ dépend du taux de protonation de la molécule M. Sous forme d'ions, l'échantillon peut être focalisé par un champ électromagnétique généré par un quadripôle et envoyé dans la partie TOF.

blablabla tof

Pour une compréhension plus exhaustive, je recommande la lecture des articles de HANSEL et al. [Han+95] pour la partie PTR-MS, de GRAUS et al. [GMH10] pour la partie TOF et de

²molécules possédant un nombre de nucléons identique.

³molécules partageant la même formule brute mais avec une stéréochimie différente.

⁴si un mémoire de master permettait la science fiction, j'aurais évidemment développé quelques idées à propos de capteurs de champs électromagnétiques ou de spectromètres optiques à la place des capteurs MS actuels.

⁵ou sccm, pour *standard cubic centimeters per minute*

⁶comme c'est le cas avec la GC-MS

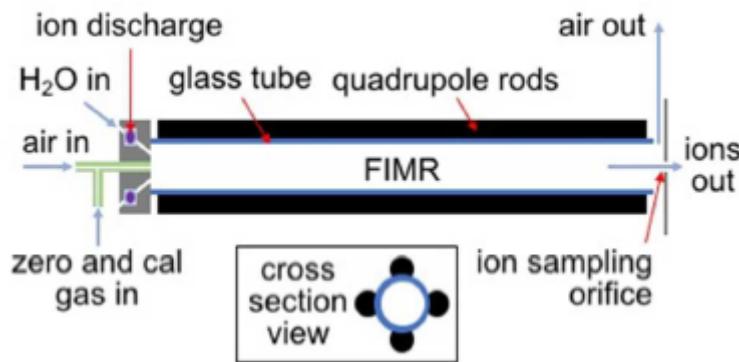


FIG. 2.1 : Schéma de la chambre d'ionisation (Reprinted with permission from KRECHMER et al. [Kre+18]. Copyright 2021 American Chemical Society.)

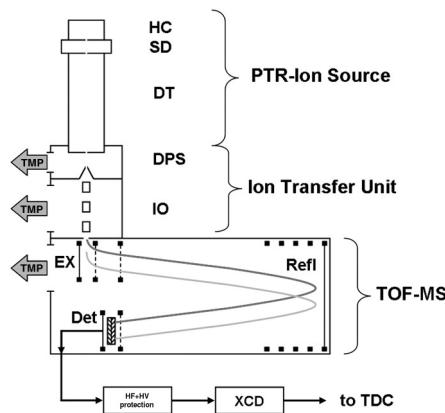


FIG. 2.2 : Schéma de la colonne TOF et du détecteur MS (Reproduit de l'article GRAUS et al. [GMH10], consultable ici : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044030510001005#fig1>

KRECHMER et al. [Kre+18] spécifique à l'instrument utilisé au CEFE.

présentation des spectres

tailles des matrix

2.3 Rival ou allié de la GC-MS ?

2.4 package proVOC

- explication général
- science reproductible
- analyse AUC
- spectre circulaire
- regression linéaire

2. PRÉSENTATION DE LA PTR-ToF-MS

- rapport automatique

C H A P I T R E

3

Méthodes Multivariées

3.1 Plan

bourgeon

blabla voir le détail section 1.3

lavande

blabla voir le détail section 1.3

Méthodes multivariées

- ACP
- MCR
- ICA

Glossaire

CEFE (UMR 5175) : Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive. Laboratoire d'accueil situé sur le site de la DR13 du CNRS, route de Mende à Montpellier.

COV (ou VOC) : Composé Organique Volatile. Molécules produites par des systèmes biologique et analyse par le PTR-ToF-MS.

GC-MS : Gaz Chromatographie Mass Spectroscopy. Autre méthode d'analyse des VOC, moins sensible mais plus discriminante que la PTR-TOF-MS.

PACE : Plateforme d'Analyse Chimique en Écologie. Plateforme situé au sein de l'UMR 5175.

PTR-ToF-MS : Proton Transfert Reaction Time of Flight Mass Spectroscopy. Acronyme utilisé pour l'instrument de mesure (le PTR-ToF-MS) et pour la méthode d'analyse (la PTR-ToF-MS). Par abus de langage, l'acronyme PTR-MS est régulièrement utilisé.

Bibliographie

- [BA01] L. BABCOCK et N. ADAMS. *Advances in Gas Phase Ion Chemistry, Volume 4 - 1st Edition.* 1^{re} éd. T. 4. 2001. URL : <https://www-elsevier-com.inee.bib.cnrs.fr/books/advances-in-gas-phase-ion-chemistry/babcock/978-0-444-50929-1> (visité le 12/08/2021) (cf. p. 12).
- [Bla+04] R. S. BLAKE, C. WHYTE, C. O. HUGHES, A. M. ELLIS et P. S. MONKS. « Demonstration of proton-transfer reaction time-of-flight mass spectrometry for real-time analysis of trace volatile organic compounds ». eng. In : *Anal Chem* 76.13 (juill. 2004), p. 3841-3845. DOI : [10.1021/ac0498260](https://doi.org/10.1021/ac0498260) (cf. p. 12).
- [Cap+10] L. CAPPELLIN, F. BIASIOLI, A. FABRIS, E. SCHUHFRIED, C. SOUKOULIS, T. D. MÄRK et F. GASPERI. « Improved mass accuracy in PTR-TOF-MS : Another step towards better compound identification in PTR-MS ». en. In : *International Journal of Mass Spectrometry* 290.1 (fév. 2010), p. 60-63. DOI : [10.1016/j.ijms.2009.11.007](https://doi.org/10.1016/j.ijms.2009.11.007). URL : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1387380609003571> (visité le 03/05/2021) (cf. p. 12).
- [Cap+11] L. CAPPELLIN, F. BIASIOLI, P. M. GRANITTO, E. SCHUHFRIED, C. SOUKOULIS, F. COSTA, T. D. MÄRK et F. GASPERI. « On data analysis in PTR-TOF-MS : From raw spectra to data mining ». en. In : *Sensors and Actuators B : Chemical* 155.1 (juill. 2011), p. 183-190. DOI : [10.1016/j.snb.2010.11.044](https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.11.044). URL : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400510009135> (visité le 03/05/2021) (cf. p. 12).
- [Cla+21] M. S. CLAFLIN, D. PAGONIS, Z. FINEWAX, A. V. HANDSCHY, D. A. DAY, W. L. BROWN, J. T. JAYNE, D. R. WORSNAP, J. L. JIMENEZ, P. J. ZIEMANN, J. de GOUW et B. M. LERNER. « An in situ gas chromatograph with automatic detector switching between PTR- and EI-TOF-MS : isomer-resolved measurements of indoor air ». In : *Atmospheric Measurement Techniques* 14.1 (2021), p. 133-152. DOI : [10.5194/amt-14-133-2021](https://doi.org/10.5194/amt-14-133-2021). URL : <https://amt.copernicus.org/articles/14/133/2021/> (cf. p. 12).
- [Deu+19] Z. DEUSCHER, I. ANDRIOT, E. SÉMON, M. REPOUX, S. PREYS, J.-M. ROGER, R. BOULANGER, H. LABOURÉ et J.-L. LE QUÉRÉ. « Volatile compounds profiling by using proton transfer reaction-time of flight-mass spectrometry (PTR-ToF-MS). The case study of dark chocolates organoleptic differences ». en. In : *J Mass Spectrom* 54.1 (jan. 2019), p. 92-119. DOI : [10.1002/jms.4317](https://doi.org/10.1002/jms.4317). URL : <http://doi.wiley.com/10.1002/jms.4317> (visité le 17/05/2021) (cf. p. 12).
- [ENN+05] C. J. ENNIS, J. C. REYNOLDS, B. J. KEELY et L. J. CARPENTER. « A hollow cathode proton transfer reaction time of flight mass spectrometer ». en. In : *International Journal of Mass Spectrometry* 247.1 (déc. 2005), p. 72-80. DOI : [10.1016/j.ijms.2005.09.008](https://doi.org/10.1016/j.ijms.2005.09.008). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1387380605002472> (visité le 12/08/2021) (cf. p. 12).

- [GMH10] M. GRAUS, M. MÜLLER et A. HANSEL. « High resolution PTR-TOF : Quantification and formula confirmation of VOC in real time ». en. In : *J Am Soc Mass Spectrom* 21.6 (juin 2010), p. 1037-1044. DOI : [10.1016/j.jasms.2010.02.006](https://doi.org/10.1016/j.jasms.2010.02.006). URL : <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jasms.8b03774> (visité le 03/05/2021) (cf. p. 12, 13).
- [Ham13] R. HAMEL. « L'anglais, langue unique pour les sciences ? Le rôle des modèles plurilingues dans la recherche, la communication scientifique et l'enseignement supérieur ». In : *Synergies Europe* 8 (jan. 2013), p. 53-66 (cf. p. 4).
- [Han+95] A. HANSEL, A. JORDAN, R. HOLZINGER, P. PRAZELLER, W. VOGEL et W. LINDINGER. « Proton transfer reaction mass spectrometry : on-line trace gas analysis at the ppb level ». en. In : *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*. Honour Biography David Smith 149-150 (nov. 1995), p. 609-619. DOI : [10.1016/0168-1176\(95\)04294-U](https://doi.org/10.1016/0168-1176(95)04294-U). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016811769504294U> (visité le 12/08/2021) (cf. p. 11, 12).
- [Hol15] R. HOLZINGER. « PTRwid : A new widget tool for processing PTR-TOF-MS data ». en. In : *Atmos. Meas. Tech.* 8.9 (sept. 2015), p. 3903-3922. DOI : [10.5194/amt-8-3903-2015](https://doi.org/10.5194/amt-8-3903-2015). URL : <https://amt.copernicus.org/articles/8/3903/2015/> (visité le 17/05/2021) (cf. p. 12).
- [Ino+06] S. INOMATA, H. TANIMOTO, N. AOKI, J. HIROKAWA et Y. SADANAGA. « A novel discharge source of hydronium ions for proton transfer reaction ionization : design, characterization, and performance ». en. In : *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 20.6 (2006). _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/rcm.2405>. URL : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/rcm.2405> (visité le 12/08/2021) (cf. p. 12).
- [Jor+09] A. JORDAN, S. HAIDACHER, G. HANEL, E. HARTUNGEN, L. MÄRK, H. SEEHAUSER, R. SCHOTTKOWSKY, P. SULZER et T. MÄRK. « A high resolution and high sensitivity proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometer (PTR-TOF-MS) ». en. In : *International Journal of Mass Spectrometry* 286.2-3 (sept. 2009), p. 122-128. DOI : [10.1016/j.ijms.2009.07.005](https://doi.org/10.1016/j.ijms.2009.07.005). URL : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1387380609002371> (visité le 30/04/2021) (cf. p. 12).
- [Kre+18] J. KRECHMER, F. LOPEZ-HILFIKER, A. KOSS, M. HUTTERLI, C. STOERMER, B. DEMING, J. KIMMEL, C. WARNEKE, R. HOLZINGER, J. JAYNE, D. WORSNUP, K. FUHRER, M. GONIN et J. de GOUW. « Evaluation of a New Reagent-Ion Source and Focusing Ion-Molecule Reactor for Use in Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry ». In : *Anal. Chem.* 90.20 (oct. 2018). Publisher : American Chemical Society, p. 12011-12018. DOI : [10.1021/acs.analchem.8b02641](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b02641). URL : <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b02641> (visité le 13/08/2021) (cf. p. 13).
- [Lag+94] A. LAGG, J. TAUCHER, A. HANSEL et W. LINDINGER. « Applications of proton transfer reactions to gas analysis ». en. In : *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* 134.1 (juin 1994), p. 55-66. DOI : [10.1016/0168-1176\(94\)03965-8](https://doi.org/10.1016/0168-1176(94)03965-8). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0168117694039658> (visité le 12/08/2021) (cf. p. 11).
- [LLA91] W. LINDINGER, K. LEITER et M. ANDRIOLLO. « Industrial Multicomponent Gas Analysis ». In : *Ionen-Technik GmbH* 20.7 (1991), p. 24-25 (cf. p. 11).

- [LHJ98] W. LINDINGER, A. HANSEL et A. JORDAN. « On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) medical applications, food control and environmental research ». en. In : *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* 173.3 (fév. 1998), p. 191-241. DOI : [10.1016/S0168-1176\(97\)00281-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1176(97)00281-4). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168117697002814> (visité le 12/08/2021) (cf. p. 11).
- [LHP93] W. LINDINGER, J. HIRBER et H. PARETZKE. « An ion/molecule-reaction mass spectrometer used for on-line trace gas analysis ». en. In : *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* 129 (nov. 1993), p. 79-88. DOI : [10.1016/0168-1176\(93\)87031-M](https://doi.org/10.1016/0168-1176(93)87031-M). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016811769387031M> (visité le 12/08/2021) (cf. p. 11).
- [LJ98] W. LINDINGER et A. JORDAN. « Proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) : on-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels ». en. In : *Chem. Soc. Rev.* 27.5 (jan. 1998). Publisher : The Royal Society of Chemistry, p. 347-375. DOI : [10.1039/A827347Z](https://doi.org/10.1039/A827347Z). URL : <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/1998/cs/a827347z> (visité le 30/04/2021) (cf. p. 11).
- [Tan+07] H. TANIMOTO, N. AOKI, S. INOMATA, J. HIROKAWA et Y. SADANAGA. « Development of a PTR-TOFMS instrument for real-time measurements of volatile organic compounds in air ». en. In : *International Journal of Mass Spectrometry* 263.1 (mai 2007), p. 1-11. DOI : [10.1016/j.ijms.2007.01.009](https://doi.org/10.1016/j.ijms.2007.01.009). URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1387380607000231> (visité le 12/08/2021) (cf. p. 12).

Table des figures

1.1 PTR-ToF-MS relié à l'un des quatre site de mesure d'un mésocosme	6
1.2 Sonde à proximité de la mangeoire	7
2.1 Schéma de la chambre d'ionisation (Reprinted with permission from KRECHMER et al. [Kre+18]. Copyright 2021 American Chemical Society.)	13
2.2 Schéma de la colonne TOF et du détecteur MS (Reproduit de l'article GRAUS et al. [GMH10], consultable ici : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044030510001005#fig1)	13

Abstract English abstract, on the last page. This is a bookdown template based on LaTeX memoir class.

Keywords Chimiometrie, PTR-ToF-MS, Spectroscopy, Environnent.

Résumé Résumé en Français

Mots-Clés Chimiométrie, PTR-ToF-MS, Spectroscopie, Environnement.

