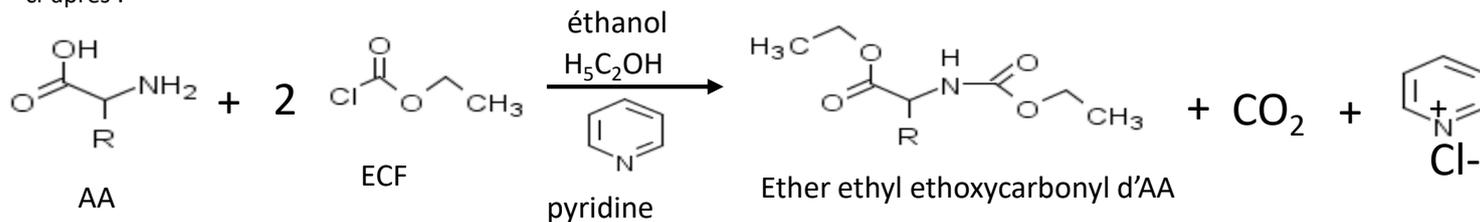


# Séparation et identification des acides aminés en GC-IRMS

Note technique réalisée par L.LOUIS (IE)

**Introduction :** L'étude des acides aminés (A.A.) en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de ratio isotopique (GC-IRMS) nécessite une dérivation afin de rendre ces composés volatils, plus stables et ainsi améliorer leur comportement chromatographique. L'objectif de ce travail est de séparer et d'identifier seize A.A. types afin d'analyser en IRMS des échantillons réels.

**Matériel et Méthodes :** Lors de la dérivation par éthylchloroformate (ECF), les groupements amines et carboxyles des A.A. réagissent avec ECF pour former les éthers *N*(O,S)-éthyl ethoxycarbonyl, induit par la pyridine. La réaction chimique mise en œuvre est détaillée ci-après :



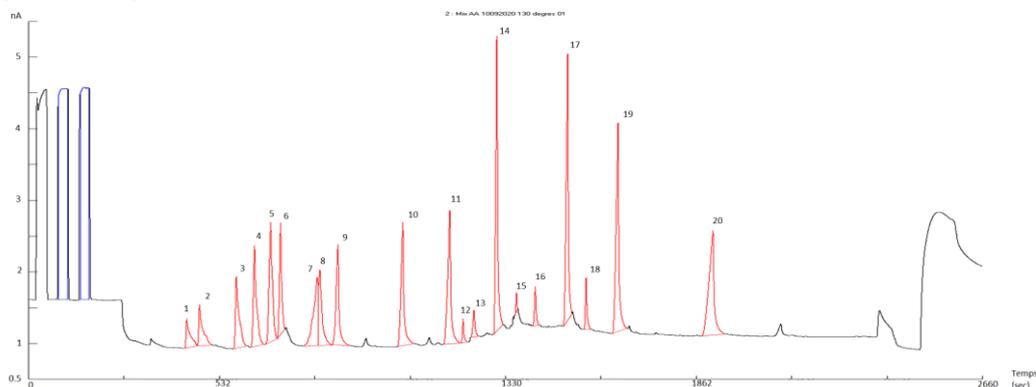
Cette étape de dérivation est effectuée par nos collègues d'AgroParisTech au sein de l'UMR Physiologie de la nutrition et du comportement alimentaire (PNCA). Dans le pôle IC de SILVATECH l'échantillon est injecté en GC Agilent 7860A (photo1) dans un injecteur à 250 °C (Splitless) afin de traverser une colonne chromatographique Rxi-17 de marque Restek (L=30m, di=0,25mm, ef = 0,25µm). Un débit constant de 1mL/min est imposé à la colonne chromatographique. Les rampes de température utilisées sont les suivantes : 1 min à 130 degrés, puis la colonne subit une première rampe de température à 4°C/min jusqu'à atteindre 200°C. Après une minute de stabilisation à 200°C une deuxième rampe à 25°C/min est réalisée jusqu'à atteindre 270°C pendant 15 minutes. Soit un temps d'analyse chromatographique de 37mn18s.

Une fois les échantillons séparés, ils traversent un four rempli de chrome à 1050 °C afin d'être transformés en gaz élémentaire de type H<sub>2</sub> (photo1) et ainsi être détecté en IRMS.

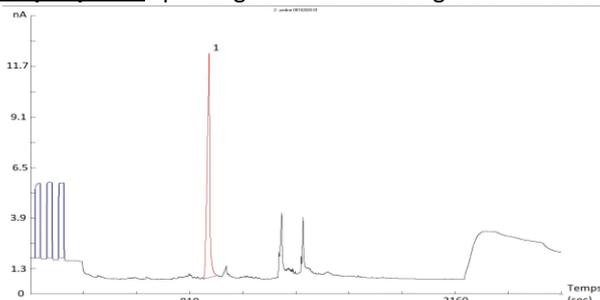


**Photo 1 :** Chromatographie en phase gazeuse couplée à un module de combustion

**Résultats :** Les seize A.A. ont été injectés en une fois (graphique1), puis injectés individuellement (graphique2) dans le but de les identifier individuellement. Les meilleures conditions chromatographiques afin de séparer distinctement ces 16 composés sont celles présentées plus haut.



**Graphique 1 :** Spectrogramme du mélange de seize acides aminés



**Graphique 2 :** Spectrogramme de la proline

**Conclusion :** La sérine et la thréonine ne sont pas séparées distinctement. Lorsque l'on nous enverra des échantillons il faudra vérifier qu'il n'y ait pas ces deux composés dans l'échantillon. Sinon nous pourrions quand même donner une valeur isotopique commune à ces deux composés. Concernant le reste des A.A nous pouvons les analyser sur des échantillons réels grâce à ce protocole.