

Analyse non ciblée en GC/MS, identification et validation automatique de candidats par MS et Indices de Rétention



Damien Steyer^a, Arnaud Steyer^b, Nathalie Brignier^a, Céline Leitao^a, Eric Marchioni^c

^aTWISTAROMA, 74, route du Rhin 67400 Illkirch France, ^bImpasse du Massillon 59100 Roubaix
^cEquipe de Chimie Analytique des Molécules BioActives, UMR 7178 – Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien Université de Strasbourg - Faculté de Pharmacie 74, route du Rhin 67400 Illkirch France

Damien.steyer@twistaroma.fr

Introduction : Parmi les nombreux outils dont dispose le chercheur pour réaliser des profils métaboliques, la GC/MS s'est imposée comme une solution très efficace. Les nombreuses bases de données spectrales (NIST, GOLM) permettent de proposer des candidats pour chaque pic intégré. Cependant l'identification par spectrométrie de masse ne suffit pas à identifier un candidat. La confirmation du ou des candidats identifiés peut être réalisée par l'utilisation des Indices de Rétention (RI).

Matériel et Méthodes : La base de données TWISTAROMA exploreur contient plus de 20 000 indices de KOVATS de plusieurs milliers de molécules sur différentes colonnes (DB-1, DB-5 et DB-WAX pour la majorité) (fig 1) compilées à partir de plus de 1900 publications sur 135 matrices alimentaires différentes. Les analyses GC/MS obtenues par déconvolution via le logiciel Unknown Analysis[®] d'Agilent[®] sont exportées en fichier .csv (fig2). Un programme en ligne lié à la base de données permet de charger le fichier .csv et de faire correspondre à chaque candidat un indice de KOVATS. Une fois cette opération réalisée, les composés les mieux identifiés (Identification >97%), servent de témoin pour obtenir l'équation $RI=f(\text{Temps de Rétention})$ et ainsi obtenir les indices de rétention expérimentaux de chaque candidat.

Pour chaque candidat putatif on dispose alors d'un $R_i^{\text{expérimental}}$ et d'un $R_i^{\text{théorique}}$. En appliquant une tolérance (20 à 30) il est possible de valider ou refuser l'identification du candidat identifié par Spectrométrie de Masse.

Un fichier Excel[®] dédié permet alors d'interpréter les données automatiquement et de générer des rapports d'identification dans lequel les composés peuvent être exprimés en surface de pic ou en équivalent témoin interne si celui-ci est présent.

Résultats : Le temps moyen d'analyse d'un échantillon est de 15 à 20 min avec 200 à 400 pics identifiés et confirmés (contre plusieurs heures précédemment). L'analyse simultanée de nombreux échantillons conduit à un gain de temps encore plus important, jusqu'à 90 échantillons (90 000 lignes) ont déjà été traités.

Des matrices aussi variées que la bière, le champagne, le houblon, la pomme, le pain, la poudre de pavot, l'urine de souris, les biocarburants ou des extraits d'algues ont déjà été analysées par cette approche et permis la découverte de nouvelles molécules volatiles non identifiées dans la bibliographie existante.

Des données complémentaires tels que le seuils de perception, la toxicité et l'odeur sont ajoutées au rapport.

Conclusion : Cette approche permet d'analyser tous types de fichiers GC/MS au format .D et/ou .NetCDF. Grâce à la grande exhaustivité de la base de données de TWISTAROMAexplorer, la double identification MS et RI permet d'analyser tous types de matrices et d'en identifier les composés en quelques minutes.

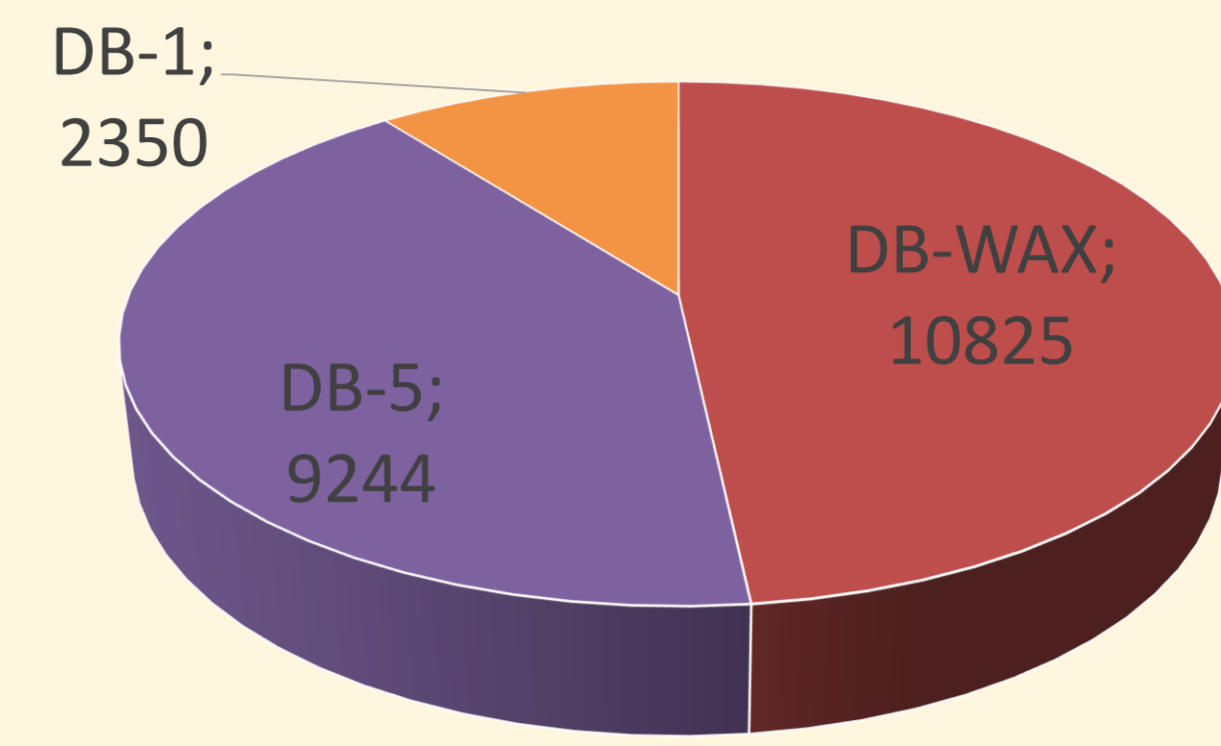


Fig 1: Nombres et répartitions des indices de KOVATS dans la base de données de TWISTAROMA

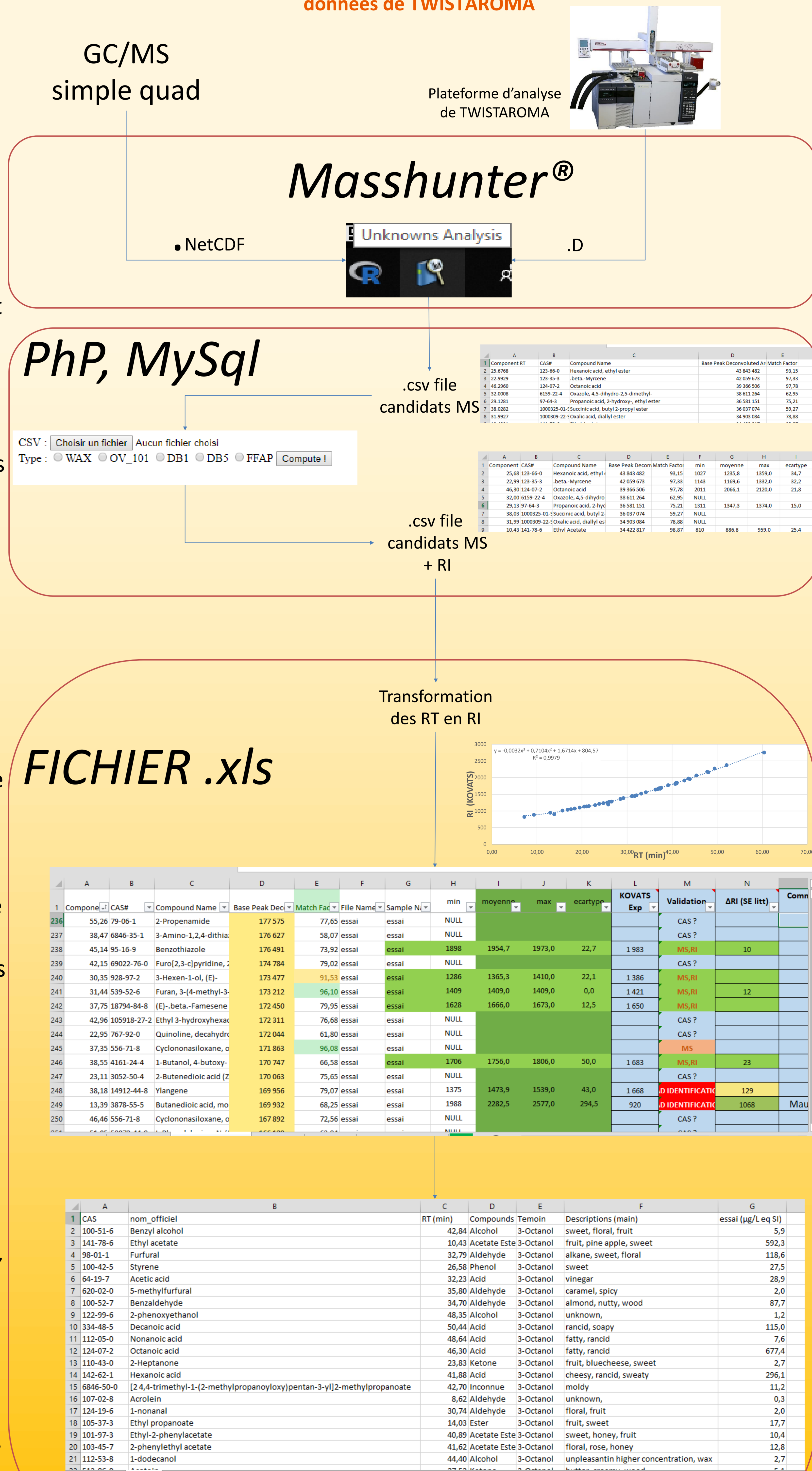


Fig 2: Processus d'identification et de validation des composés par GC/MS via les outils développés par TWISTAROMA