



HAL
open science

Développement d'une méthode LC x SFC -MS/MS hors ligne pour l'analyse de phytostérols issus des microalgues

Magali Batteau, Florian Delrue, René de Vaumas, Karine Faure

► To cite this version:

Magali Batteau, Florian Delrue, René de Vaumas, Karine Faure. Développement d'une méthode LC x SFC -MS/MS hors ligne pour l'analyse de phytostérols issus des microalgues. SEP2023, Mar 2023, Paris, France. hal-04241379

HAL Id: hal-04241379

<https://hal.science/hal-04241379>

Submitted on 13 Oct 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Magali Batteau¹, Florian Delrue², René de Vaumas³, Karine Faure¹

¹ Institut des Sciences Analytiques, CNRS UMR 5280 5, rue de la Doua, 69100 Villeurbanne

² MicroAlgae Processes Platform–CEA, CEA Tech Région Sud, 13108 Saint-Paul-lez-Durance

³ Extrasynthèse, Impasse Jacquard, 69730 Genay

Contexte

Industrie des nutraceutiques

- Recherche de nouvelles sources de lipides bioactifs

Culture des microalgues

- Accès à des phytostérols peu présents dans les plantes terrestres

Phytostérols

- Régulation du taux de cholestérol
- Fabrication de nombreuses hormones (stéroïdes, vitamine D)

Les phytostérols sont des composés analogues à haute valeur ajoutée qui se différencient par le nombre et la position d'insaturations dans le cycle ou sur la chaîne latérale. Cette grande similitude structurale avec un certain nombre d'isomères de position rend la séparation et l'identification relativement difficile.

Une méthode bidimensionnelle hors-ligne couplée à la spectrométrie de masse est nécessaire pour la séparation et l'identification des phytostérols.



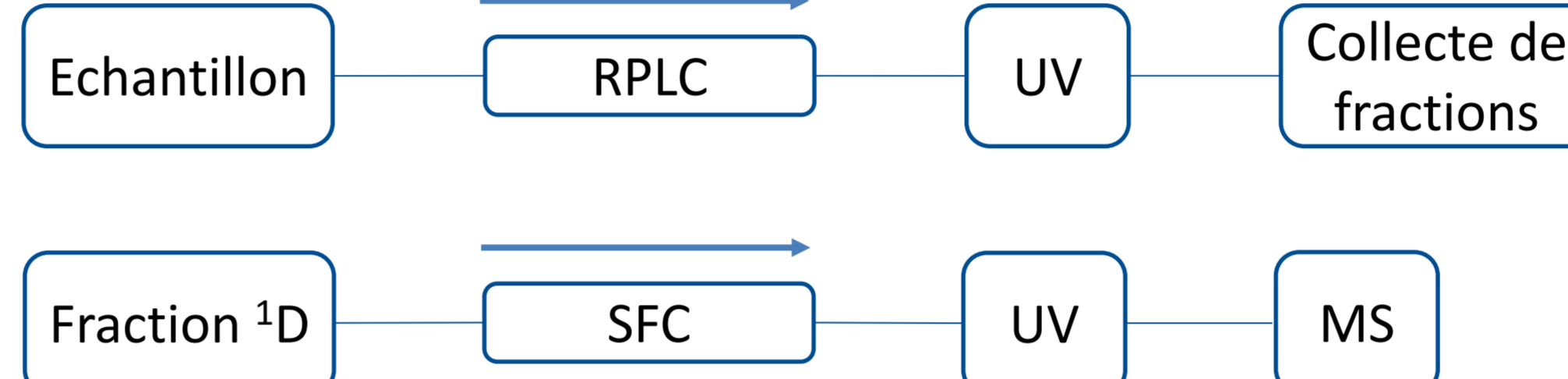
Objectif

Développer une méthode selon les critères suivants :

- Séparation de molécules neutres
- Séparation de composés analogues / isomères de position (grand degré d'orthogonalité et sélectivité suffisante)
- Mise en œuvre de la détection MS/MS

LC x SFC – MS/MS hors ligne

=> Stratégie

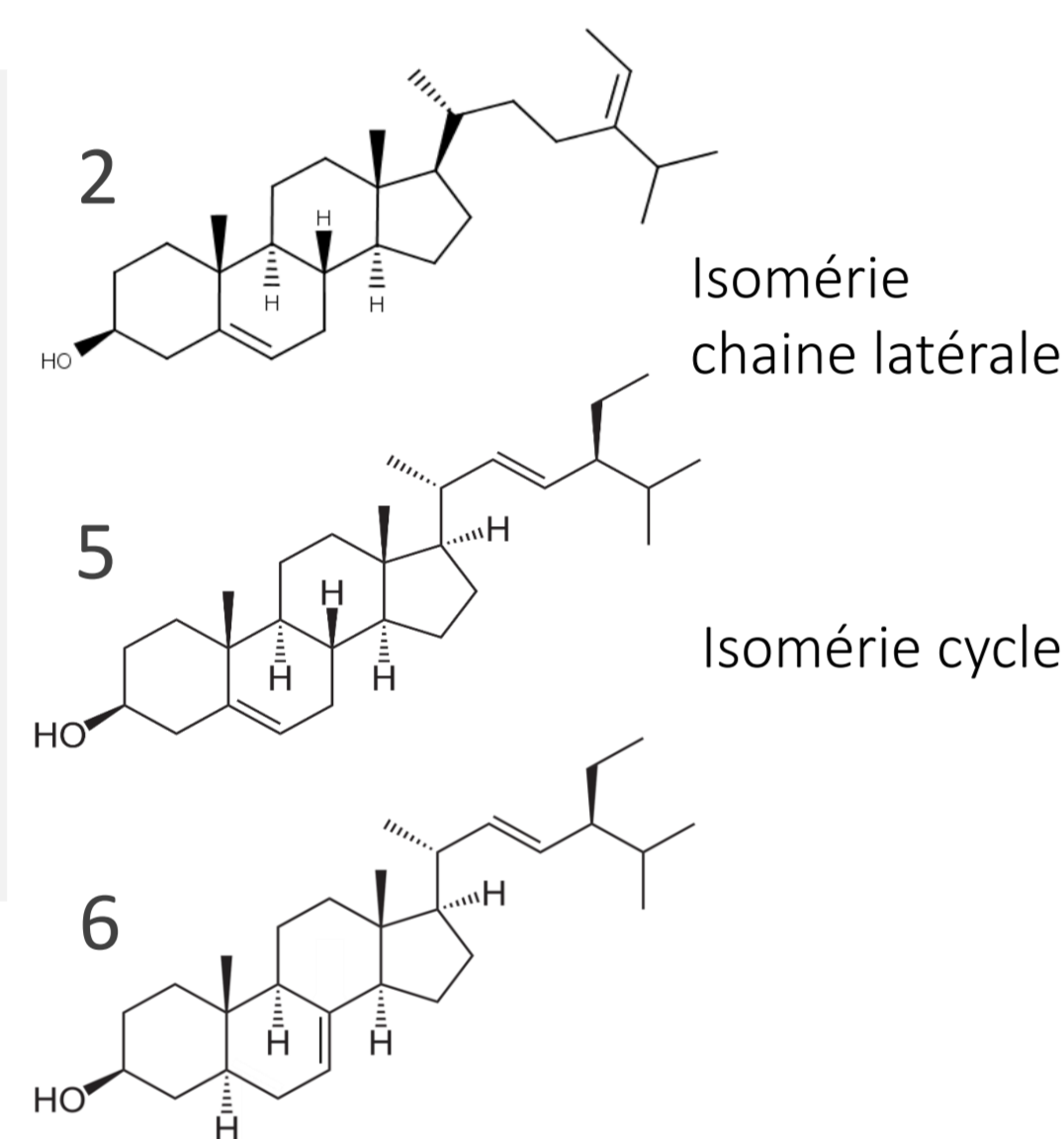


Préparation d'échantillon



standards

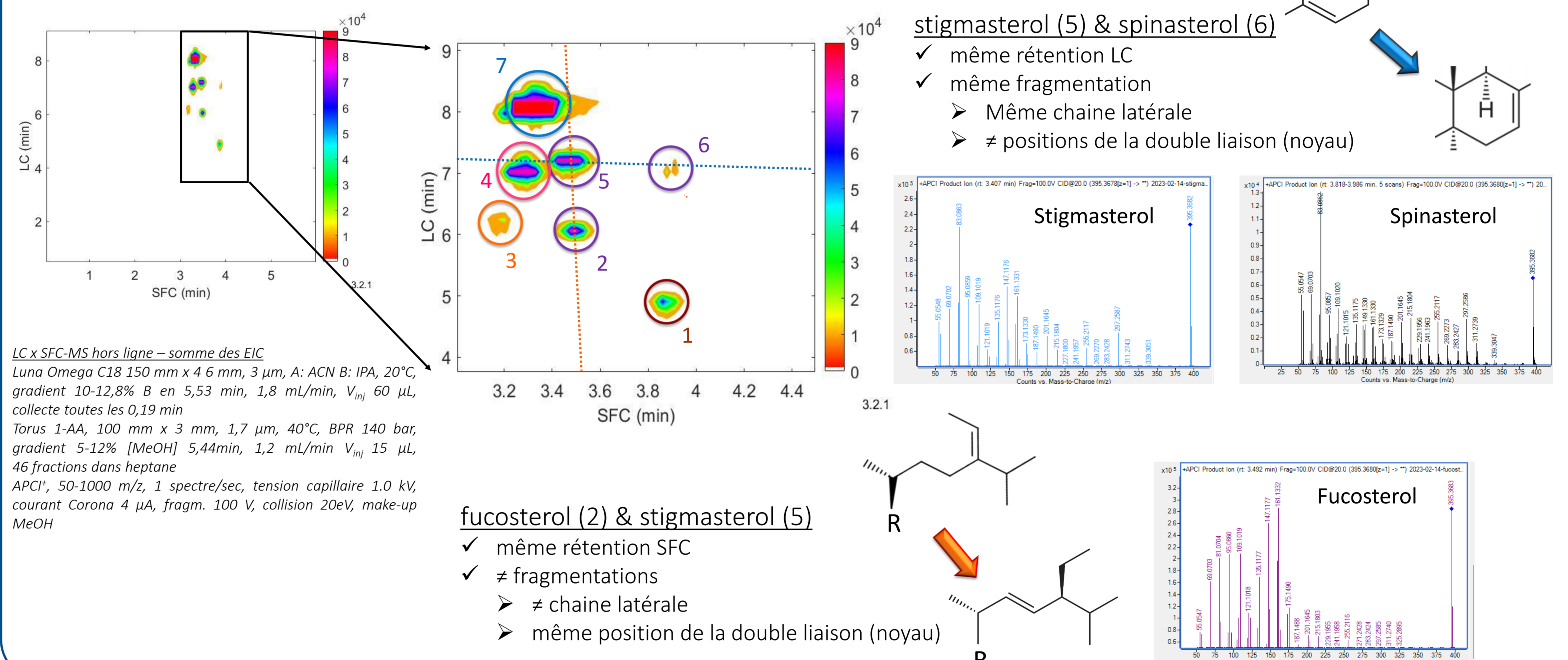
- ergosterol
- fucosterol
- cholesterol
- campesterol
- stigmasterol
- spinasterol
- sitosterol



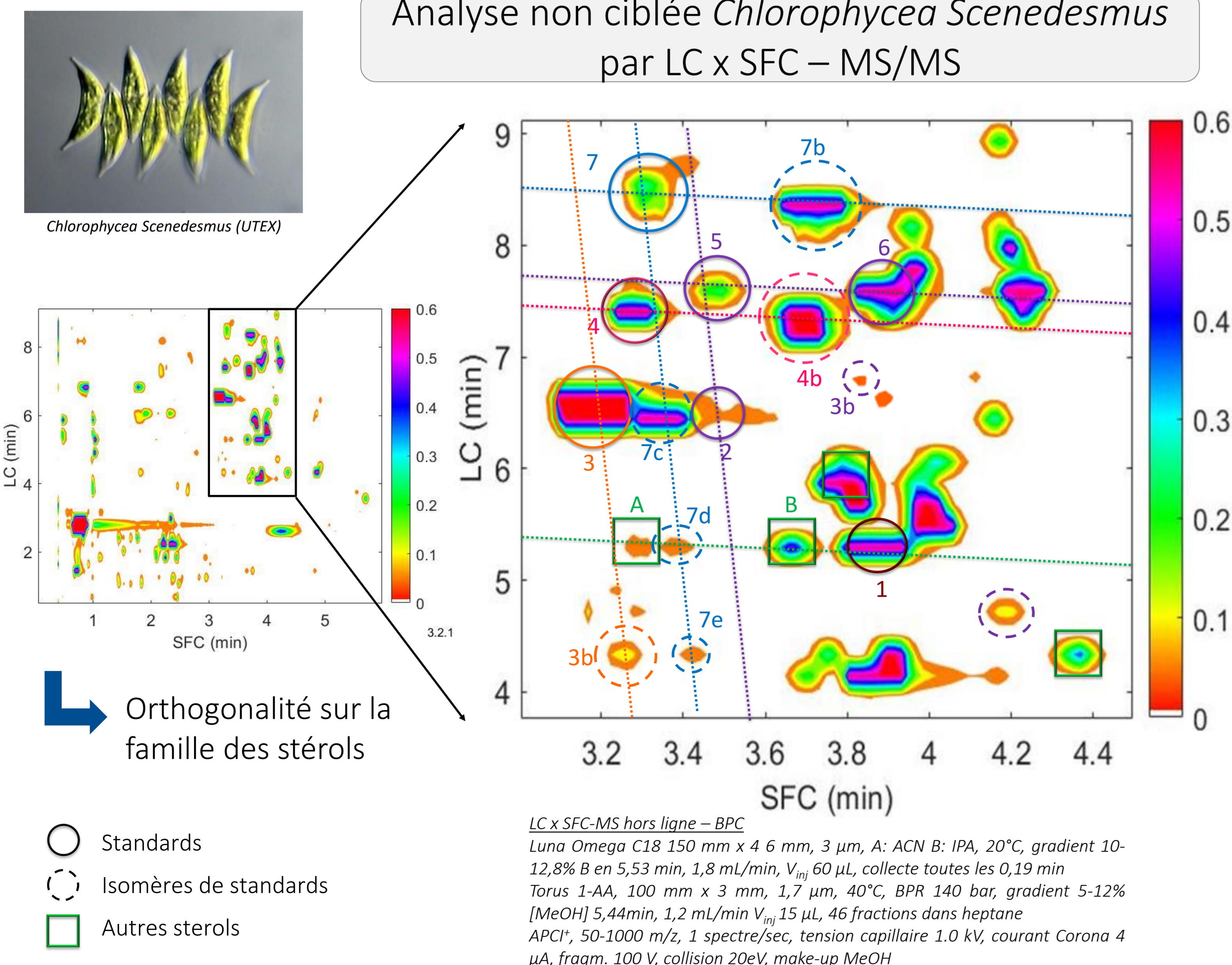
Identification

- ¹tr ± 0.19 min (modulation)
- ²tr ± 4 s (3σ)
- Exact mass ± 10ppm
- Fragmentation MS/MS

Analyse ciblée des standards par LC x SFC – MS/MS

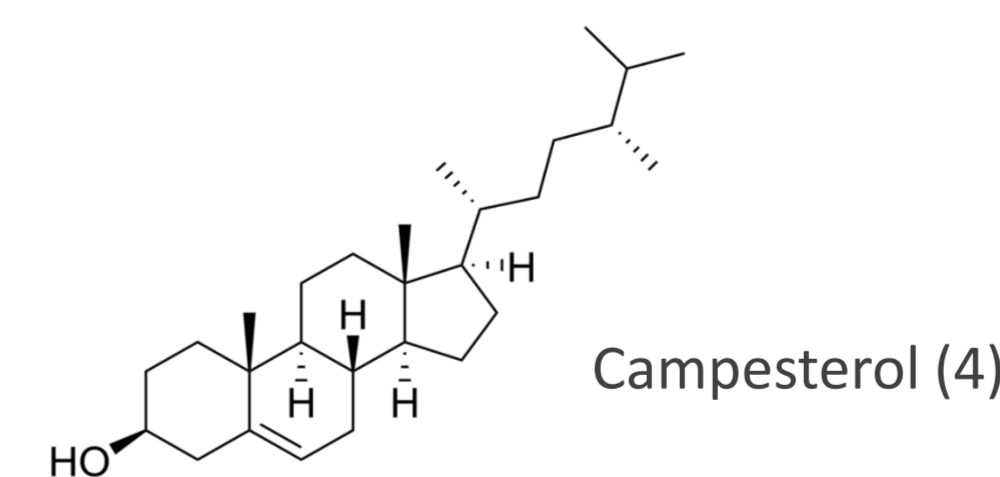


Analyse non ciblée *Chlorophyceae Scenedesmus* par LC x SFC – MS/MS



Stérols inconnus : proposition de candidats

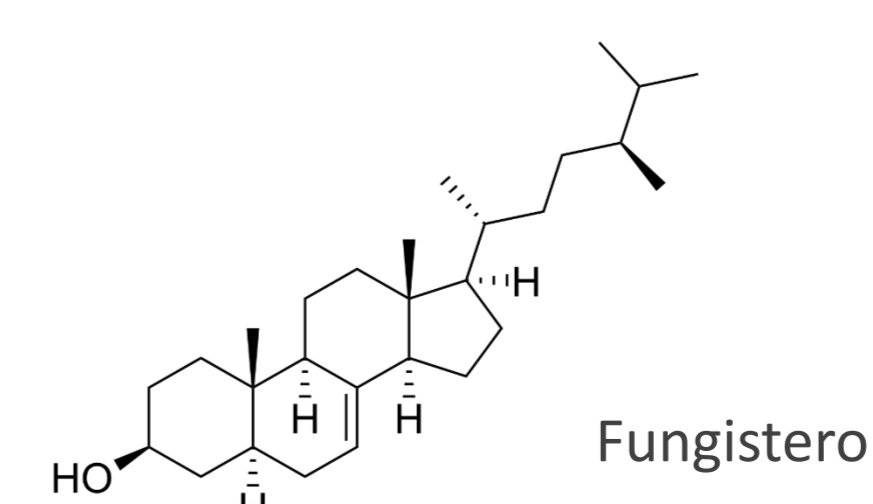
Campesterol (4) : 16 isomères cités dans la littérature



Détection d'un isobare (4b)

- ✓ même rétention LC
- ✓ même fragmentation
- même chaîne latérale
- ≠ positions de la double liaison (noyau)

➡ 1 seul isomère répond à ces critères



Conclusion

- ✓ Séparation de phytostérols (molécules neutres, composés analogues avec nombreux isomères de position)
- ✓ Bonne orthogonalité des mécanismes de séparation utilisés en mode selective comprehensive
- ✓ Etablissement d'une liste de suspects pour les isomères des standards

Détection de 7 molécules cibles, 7 isomères de ces molécules et de 4 autres stérols