

Préparation des échantillons pour analyses isotopiques par spectrométrie de masse isotopique (IRMS)

Le Plateau d'Isotopie de Normandie dispose d'équipement de spectrométrie de masse isotopique comprenant deux spectromètres de masse : IsoPrime (Elementar) et Horizon (NU Instruments) chacun étant couplé à un analyseur élémentaire EA3000 (EuroVector).

Peuvent être quantifiés les contenus élémentaires en N, C et/ou S ainsi que les ratio isotopiques $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ et $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ sur des échantillons solides, liquides (quelques centaines de μL maximum puis séchés) mais également gazeux ($^{13}\text{CO}_2$).

Peuvent être effectuées simultanément les analyses élémentaires et isotopiques N et C, ou N, C et S.

Quantité d'échantillon requis pour une analyse optimale

La précision analytique en particulier pour l'enrichissement isotopique est affectée par la quantité d'éléments (N, C ou S) de l'échantillon. En trop faible quantité, l'analyse isotopique est moins précise. Si l'échantillon contient trop de N, C ou S ou s'il très enrichi en isotopes il y a risque de saturation des détecteurs ou de contamination entre échantillons. Quelques règles simples permettent de s'assurer de conditions optimales d'analyses :

- La quantité optimale d'élément doit être comprise entre 40 et 100 μg N et entre 400 et 1200 μg C (faire le calcul préférentiellement avec l'azote car pour une double analyse C et N, le carbone peut être accessoirement dilué durant l'analyse).
- l'analyse peut cependant se faire entre 10 et 150 μg de N et entre 50 et 2500 μg de C, mais requière des réglages spécifiques. Il faut donc s'assurer que tous les échantillons d'une série d'analyses soient relativement proches en terme de teneur en N ou en C total (dans le cas contraire, nous le spécifier autant que possible). Pour des échantillons plus faibles, les analyses sont possibles mais présenteront un écart type plus important.
- Pour des échantillons fortement enrichis en isotopes, il est nécessaire de diminuer la taille de l'échantillon pour éviter une saturation des détecteurs des isotopes lourds. Par exemple, pour un excès isotopique ^{15}N attendu d'environ 2%, il faudra au maximum 70 μg de N par échantillon ; pour un excès isotopique ^{15}N attendu de 4%, peser une quantité d'échantillon pour avoir 50 μg de N au maximum. Au maximum, un excès isotopique ^{15}N maximum de 10% peut être mesuré.

Pour toute information ou conseil supplémentaire et notamment pour les analyses du Soufre, d'échantillons gazeux ou liquides, contacter platin.ibfa@unicaen.fr

Préparation et conditionnement des échantillons pour analyse

Préparation :

Les échantillons **secs** doivent être encapsulés dans des capsules d'étain.

Les petits échantillons tels que disques foliaires, organismes de petites tailles, racines de plantules qui sont d'une taille proche de la masse optimale à analyser peuvent être encapsulés entiers.

Les échantillons initialement de grosse taille (gramme et au delà) dont seule une petite partie (quelques mg) sera analysée, devront être préalablement homogénéisés par un broyage très fin.

PLATIN' : Plateau d'Isotopie de Normandie

UMR INRA-UCBN 950 **Écophysiologie Végétale, Agronomie & nutrition NCS**

Institut de Biologie Fondamentale et Appliquée,

Université de Caen, Esplanade de la Paix - CS 14032, 14032 Caen Cedex 5, France

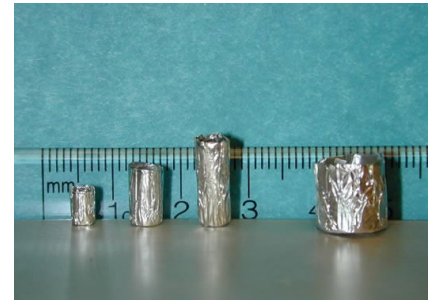
☎ 33 (0)2 31 56 56 53 Fax 33 (0)2 31 56 53 60

Email : alain.ourry@unicaen.fr - <http://w3.rennes.inra.fr/umreva/>

Conditionnement en capsules d'étain

Les capsules existent en différentes tailles, toujours choisir la plus petite possible selon la taille d'échantillon. Différents modèles existent tels que :

- des capsules de 3.5x5 mm pour des échantillons végétaux ou animaux (0,5 à 2 mg de matière sont généralement nécessaires)
- des capsules de 8x5 mm pour des sols, sédiments ou filtres (10 à 20 mg).



L'encapsulation a pour objectif de sceller l'échantillon dans une capsule et d'en évacuer le maximum d'atmosphère tout en évitant des contaminations entre échantillons. L'encapsulation doit se faire à l'aide de pinces (ne pas toucher avec les doigts) devant par ailleurs être nettoyées entre chaque échantillon. La pesée doit être précise ($\pm 1 \mu\text{g}$), pour la quantification élémentaire mais cela n'a pas d'impact sur le ratio isotopique.

Fermer tout d'abord en pinçant le haut de la capsule pour chasser l'air, puis replier la capsule sur elle-même et la tasser dans les 2 sens afin d'obtenir un échantillon compact, de forme sphérique ou cubique de 5mm de côté maximum. Ne pas faire de disques plats ou allongés. Vérifier que les capsules sont bien fermées, aucune trace de poudre ne doit s'échapper.

L'organisation des échantillons en microplaques pour l'analyse

Les réglages des spectromètres de masse sont optimisés en fonction du type d'échantillon (taille, niveau d'enrichissement), il est donc nécessaire de les regrouper par types d'échantillons. Eviter par exemple d'analyser un échantillon fortement marqué puis un échantillon proche de l'abondance isotopique naturelle. Pour cela :

- Placer les échantillons dans des microplaques 96 puits.
 - Organiser les échantillons en plaçant les non-enrichis en début de plaque, puis dans un ordre croissant d'enrichissement autant que possible.
 - Séparer les types d'échantillons très différents (ex : sol et plante)
 - Enregistrer les noms d'échantillons et les masses correspondantes dans le fichier « liste échantillons ».
- Compléter les renseignements demandés : intitulé abrégé de l'expérimentation, isotope(s) à analyser, description du matériel, composition élémentaire approximative, ordre de grandeur de l'enrichissement attendu.
- Nommer chaque plaque avec un code spécifique. Indiquer ce code sur la plaque **et** sur le fichier correspondant.

L'envoi des échantillons

Prendre garde que les petits échantillons restent bien à leur emplacement pendant le transport. Pour cela intercaler un carton ou du parafilm entre la boîte et le couvercle. Scotcher le couvercle. Vérifier en agitant la boîte que les échantillons restent en place et que les capsules en étain ne sont pas percées.

Envoyer par email le fichier « liste échantillons » (fichier liste échantillons.doc joint) à platin.ibfa@unicaen.fr

Envoyer un bon de commande (nous contacter pour obtenir un devis) et, en cas de première demande, une fiche client (fichier Fiche client.doc joint)

PLATIN' : Plateau d'Isotopie de Normandie