

L'analyse non ciblée de micropolluants : état de l'art et perspectives pour OPUR

A. Bressy, J. Le Roux, C. Soares-Pereira,
E. Caupos et R. Moilleron

Séminaire thématique OPUR, 22 juin 2016

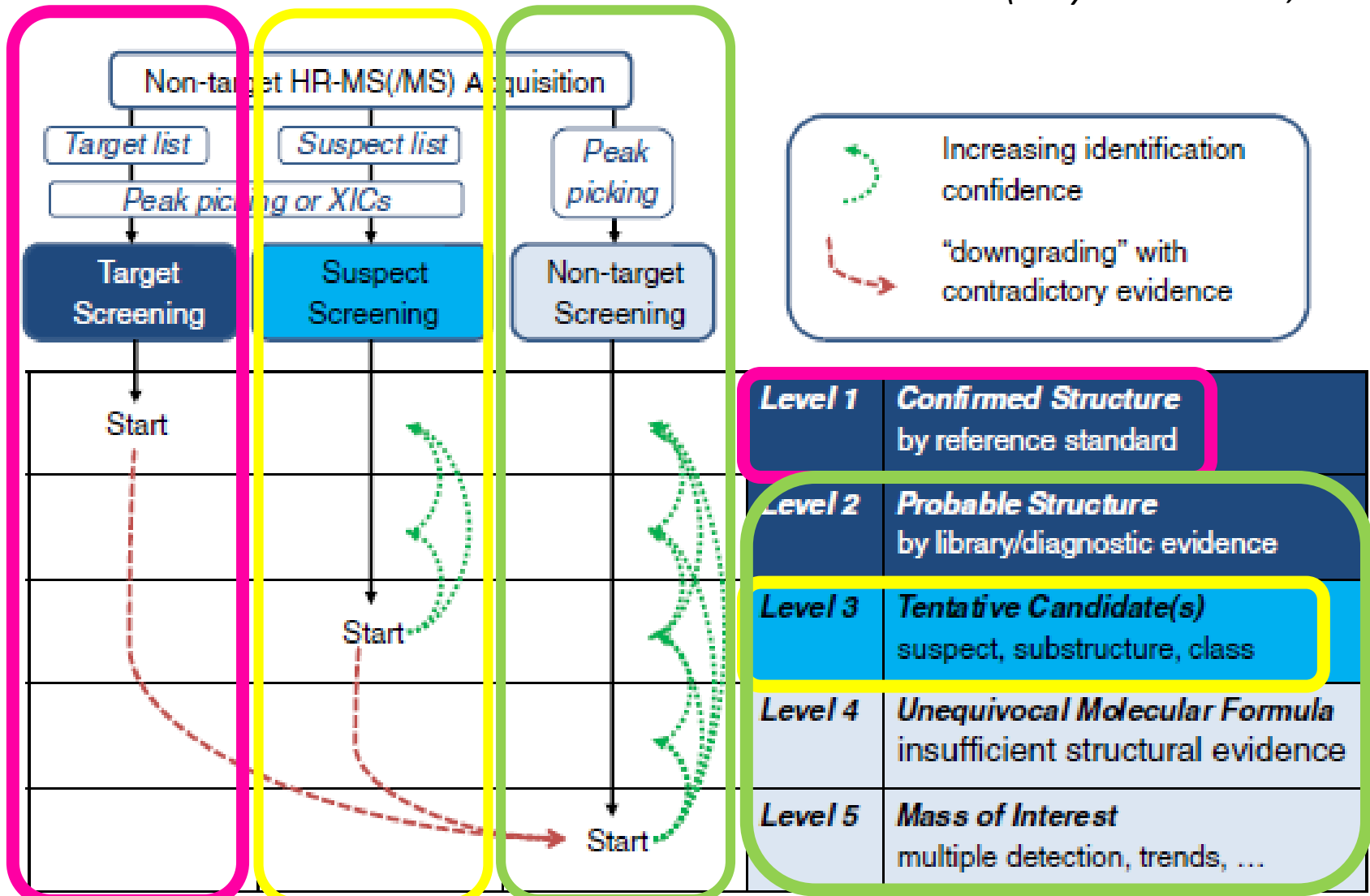
Micropolluants : devenir et méthodes innovantes de suivi

Problématique

- Méthodes analytiques **ciblées**
 - Extraction sélective et quantitative
 - Analyse sélective et sensible
 - Quantification de traces
- On ne trouve que ce que l'on cherche
 - Substances émergentes ?
 - Métabolites et produits de dégradation ?
 - Comparaison de sites sur la base d'une concentration
 - Effets ?
 - Mélange de substances ?

Le screening non ciblé

(Schymanski et al., 2015)



Screening non ciblé dans la littérature du domaine de l'eau

- **Applications de screening non ciblé utilisant le GC-TOF**

- **Eaux urbaines** : 36 composés identifiés seulement 4 confirmés (Jernberg *et al.*, 2013)

- **Eau de mer** : 25 composés organiques détectés (Serrano *et al.*, 2011)

- **Applications de screening non ciblé utilisant le LC-QTOF**

- **Eaux usées** : au moins 10 % des composés identifiés et confirmés (Müller *et al.*, 2011)

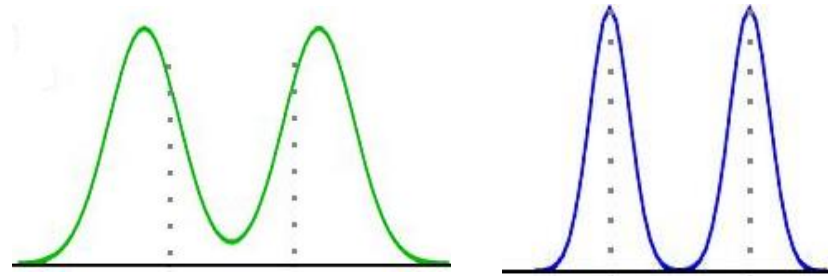
- **Eaux usées** : détection de 11 nouvelles substances (Gómez-Ramos *et al.*, 2011)

- **Applications de screening non ciblé utilisant le LC-LTQ(FT)-orbitrap**

- **Lixiviats décharge, eaux souterraines** : détection de 16 composés pharmaceutiques sur 27, détection de présence de drogues (Hogenboom *et al.*, 2009)

Moyens nécessaires

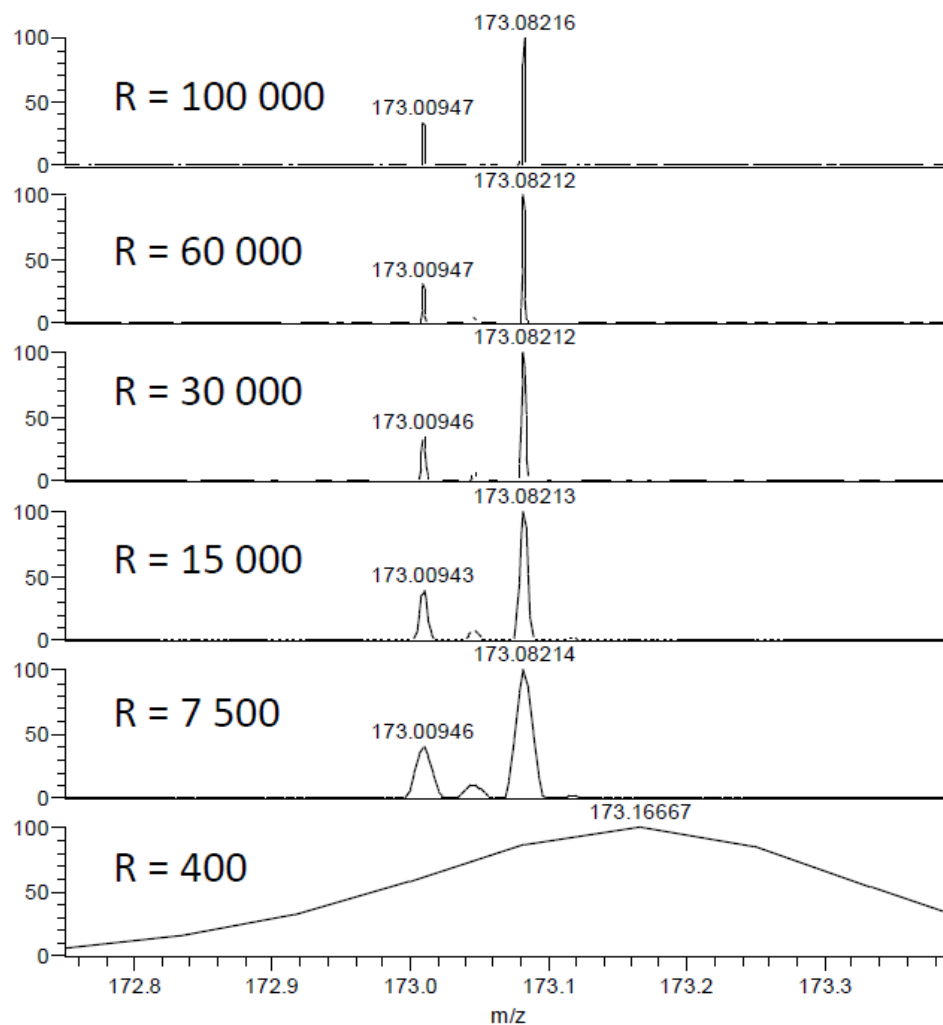
- Balayage complet = full scan
- Très bonne sensibilité de l'appareil
- Fort pouvoir de résolution
- Forte précision de masse



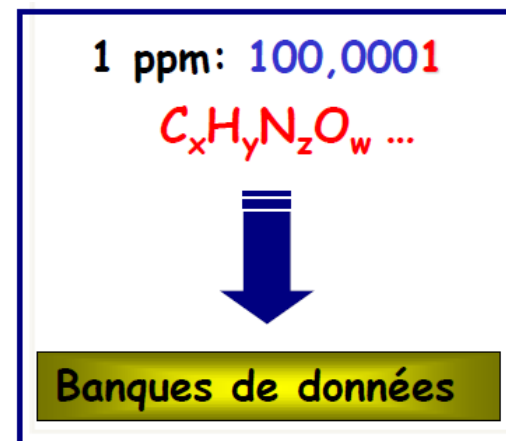
Spectrométrie de masse haute résolution

Apport de la haute résolution

- Résolution



- Précision



Déterminer la **formule brute** du composé, même si l'échantillon n'est pas suffisamment pur pour une microanalyse élémentaire.

Apport de la haute résolution

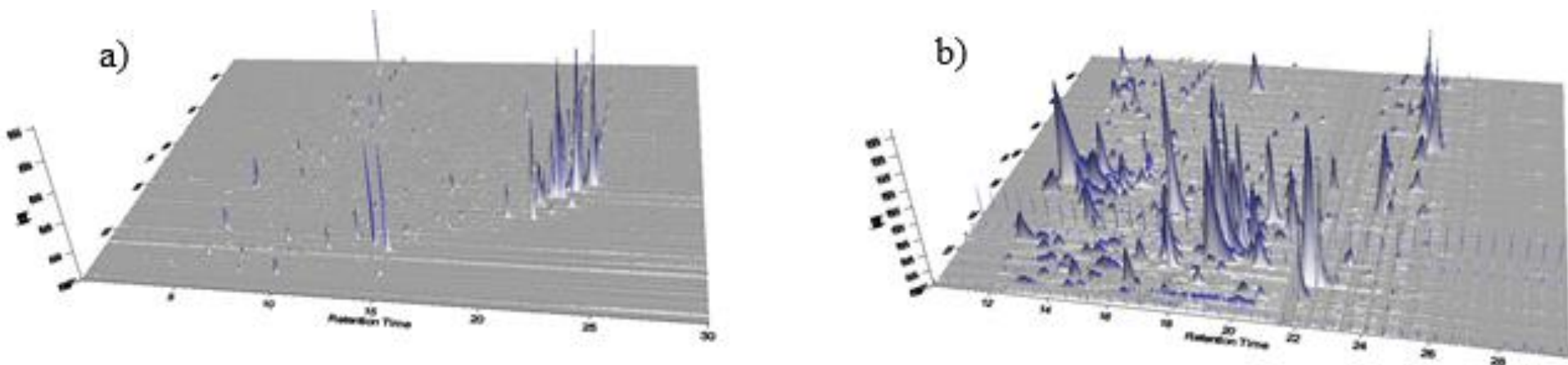
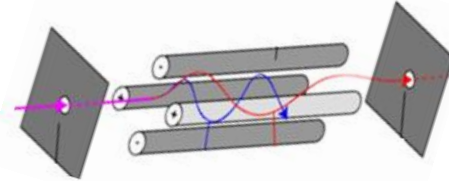


Figure 18 : Chromatogrammes 3D d'un échantillon d'eau de ruissellement analysé par a) LC/MSMS et b) nanoLC/QTOF

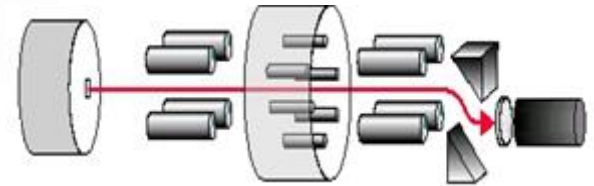
Les différents analyseurs MS

- Basse résolution

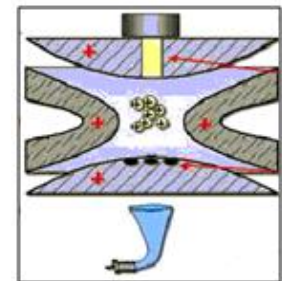
- Le quadripôle : sélectif m/z



- Le triple quadripôle : fragmentation des ions



- La trappe d'ions : mode MS^n = obtention de plusieurs générations d'ions



Temps de vol (TOF ou Q-TOF)

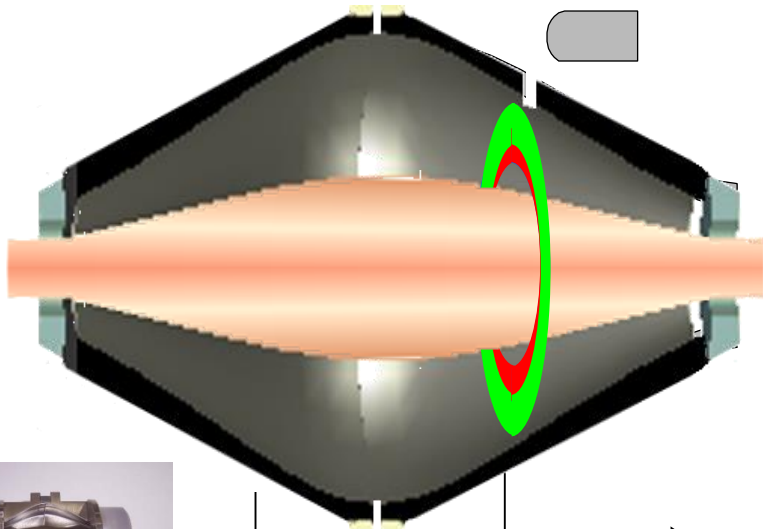


- Accélération des ions à la sortie de la source (tension)
- Arrivée tube du TOF = vide
- Vol jusqu'à la sortie de TOF et mesure du temps de vol
- Durée de vol dépend de m/z

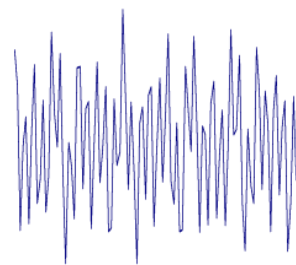
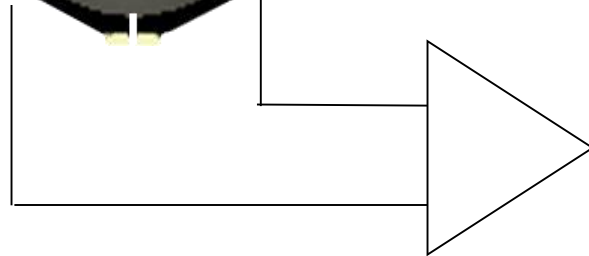
$$\frac{m}{z} = t^2 \times Cte$$

Meilleure séparation pour des masses très proches qu'en basse résolution
Gamme dynamique s'étend de $10^2 - 10^3$ – screening Full scan
Précision en masse à 3 ppm – possibilité masses > 300kDa

Orbitrap, Q-Orbitrap ou LTQ-Orbitrap



- Une électrode creuse, à l'intérieur de laquelle est placée coaxialement une électrode en forme de fuseau
- Les ions sont piégés par un champs électrostatique
- Trajectoire circulaire et axiale
- Transformée de Fourier : fréquences individuelles des ions de différents m/z



$$\omega = \sqrt{\frac{k}{m/z}}$$

Meilleure séparation pour des masses très proches qu'en basse résolution
Gamme dynamique s'étend de $10^3 - 10^4$ – screening Full scan
Précision en masse à 2-5 ppm

Méthodologie

Extraction non sélective

Résines Chromabond (HR-X, -XAW, -XCW) ;
Oasis HLB, Isolute ENV+ ...

Extraction et pré-concentration des
molécules

Analyse en GC ou LC / HRMS

GC-TOF, LC-QTOF, LC-Orbitrap

Séparation et détection des ions

Déconvolution des spectres

Mzmine, Agilent Masshunter, Waters Unifi,
SpectralWorks AnalyzerPro...

Extraction et caractérisation des pics (t_R , m/z ,
I etc.)

Traitement des données

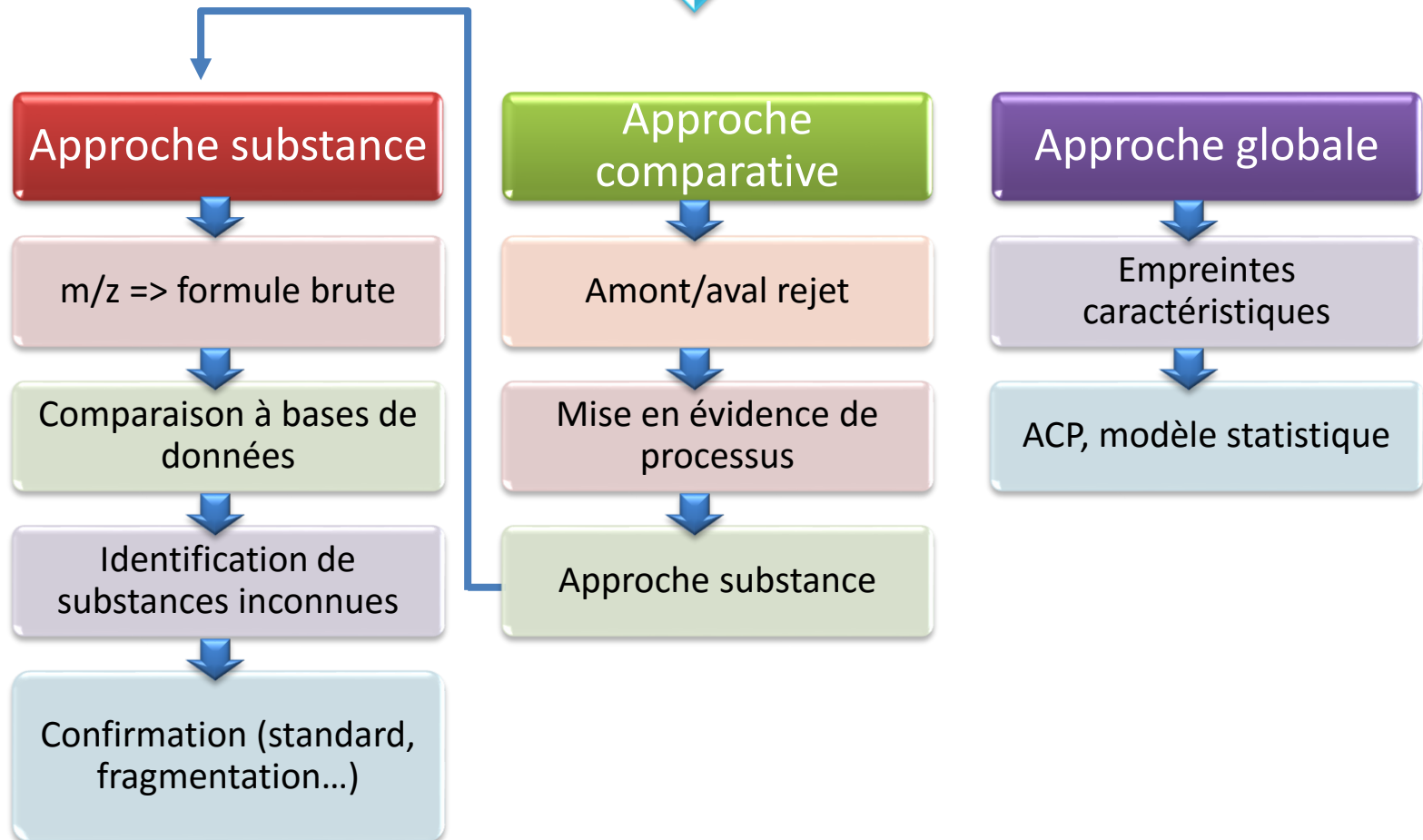
Approche substance

Approche comparative

Approche globale

Méthodologie

Traitement des données



Exemple d'approche substance

(Schymanski et al., 2015)

- 17 laboratoires ont analysé le même échantillon

Table 4 Results summary for LC-HRMS participants,

Participant	Quantified target (Level 1)	Semi/non-quantified target (Level 2)	Identified non-target (Level 2-3)	Isomer identification (Level 4)	Non-target peaks remaining (Level 5)	Non-target peaks remaining (Level 5)
			Count	Count	Count	Count
1	25	–	1	–	6,776	6,776
2	92	14	–	40	8,535	8,535
3	–	4	–	–	–	–
4	125	43	1	9	–	–
5	18	5	–	–	17	17
6	53	7	–	–	712	712
7	–	–	–	–	3,174	3,174
8	–	–	–	–	30	30
9	68	4	–	14	3,174	3,174
10	1	11	–	–	3	3
11	–	4	–	–	–	–
12	4	–	2	3	26	26
13	–	9	–	12	–	–
14	23	53	–	–	–	–
15	33	13	–	–	8	8
16	9	–	26	–	57	57
17	–	7	–	–	–	–
			2		133	
			2		1,649	
			–		273	
			–		3	
			–		–	

Exemple d'approche substance

(Schymanski et al., 2015)

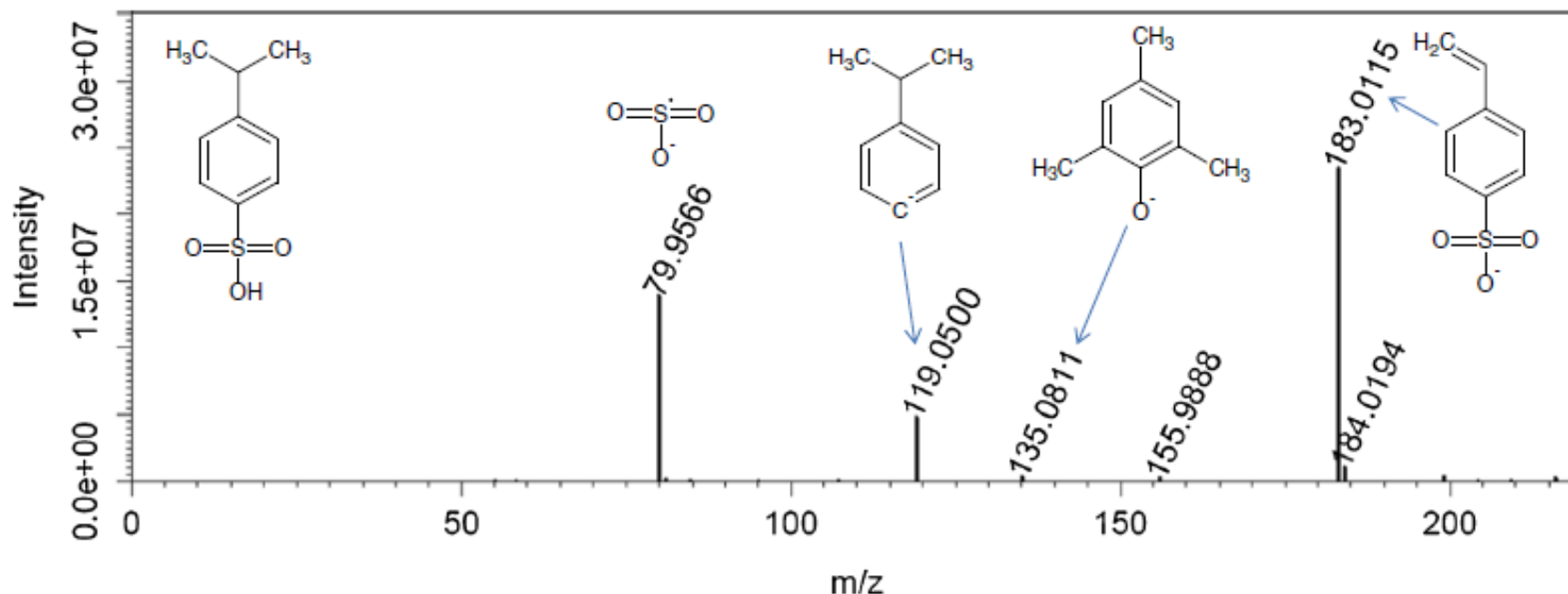
- 2 labos : pic à 6,15 min, $m/z=199,0428$
 - $C_9H_{12}SO_3 \Rightarrow$ 135 candidats dans ChemSpider

Bases de données de spectres de masse,
dépend de l'ionisation

- GC/MS : base de données existent
- LC/MS : dépend de l'appareil

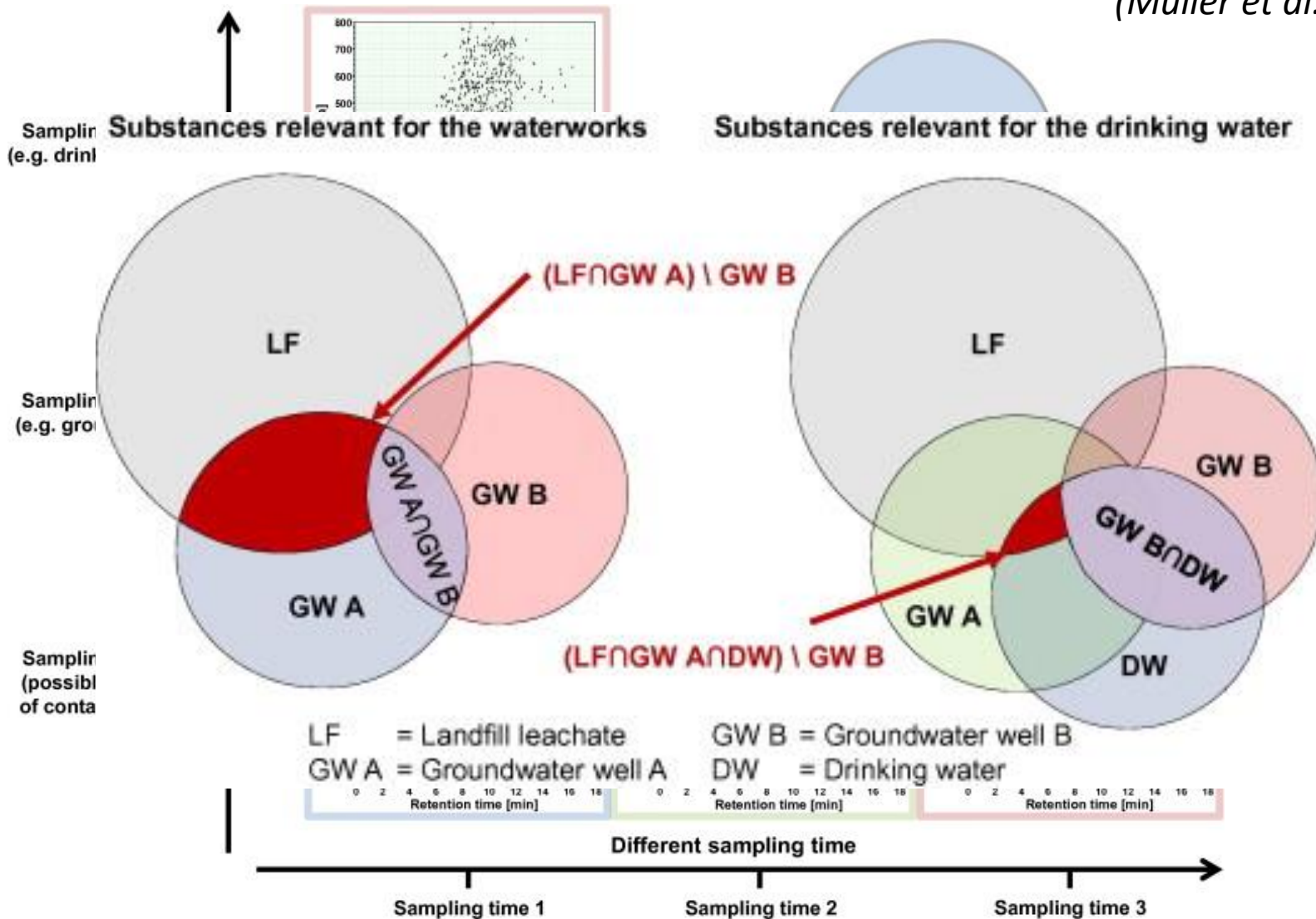
Analyses structurales

- Fragmentation
- Adduits



Exemple d'approche comparative

(Müller et al., 2011)



Premiers travaux dans OPUR

- Stages :
 - Aurélie Blanc (2013)
 - Amina Azzaoui et Clarisse Gayen (2016)
- Actions
 - Étude bibliographique
 - Développement d'une méthode d'extraction
 - Application en basse résolution
 - Tests de différents logiciels (libres) de déconvolution du signal et d'analyse statistique

Premiers travaux dans OPUR

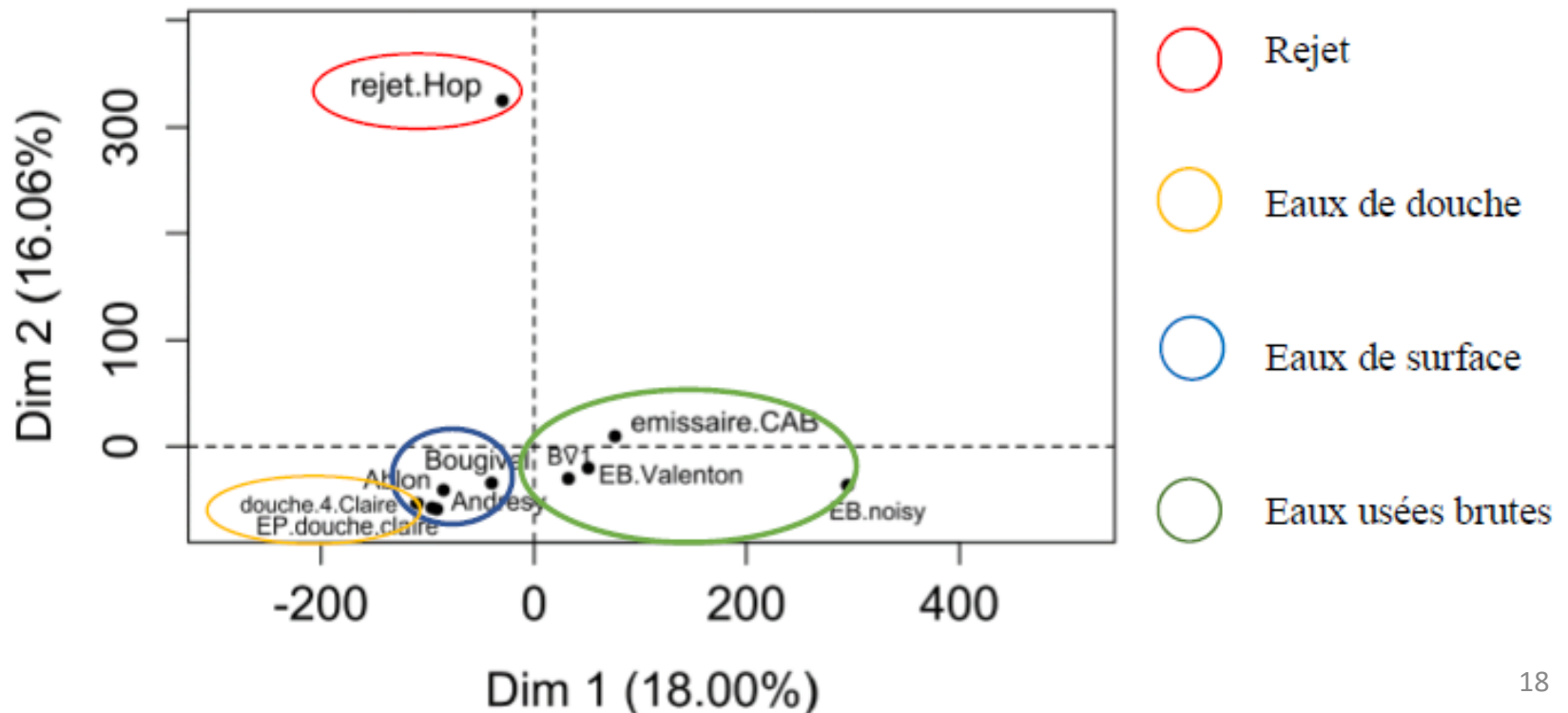
- Développement d'une méthode d'extraction
 - pH=2
 - Oasis HLB
 - 3 ml de DCM, 5 ml d'AcEt et 5 ml de MeOH
- Perspectives
 - Test de plusieurs phases SPE
 - Couplages de plusieurs cartouches en parallèle/série
 - Utilisation d'échantillonneurs passifs intégratifs

Approche globale : Comparaison d'empreintes en basse résolution

(Azzaoui & Gayen, 2016)

- Analyse en composante principale
 - Eaux grises, brutes domestiques, hôpital, rejets STEP, eaux de surface

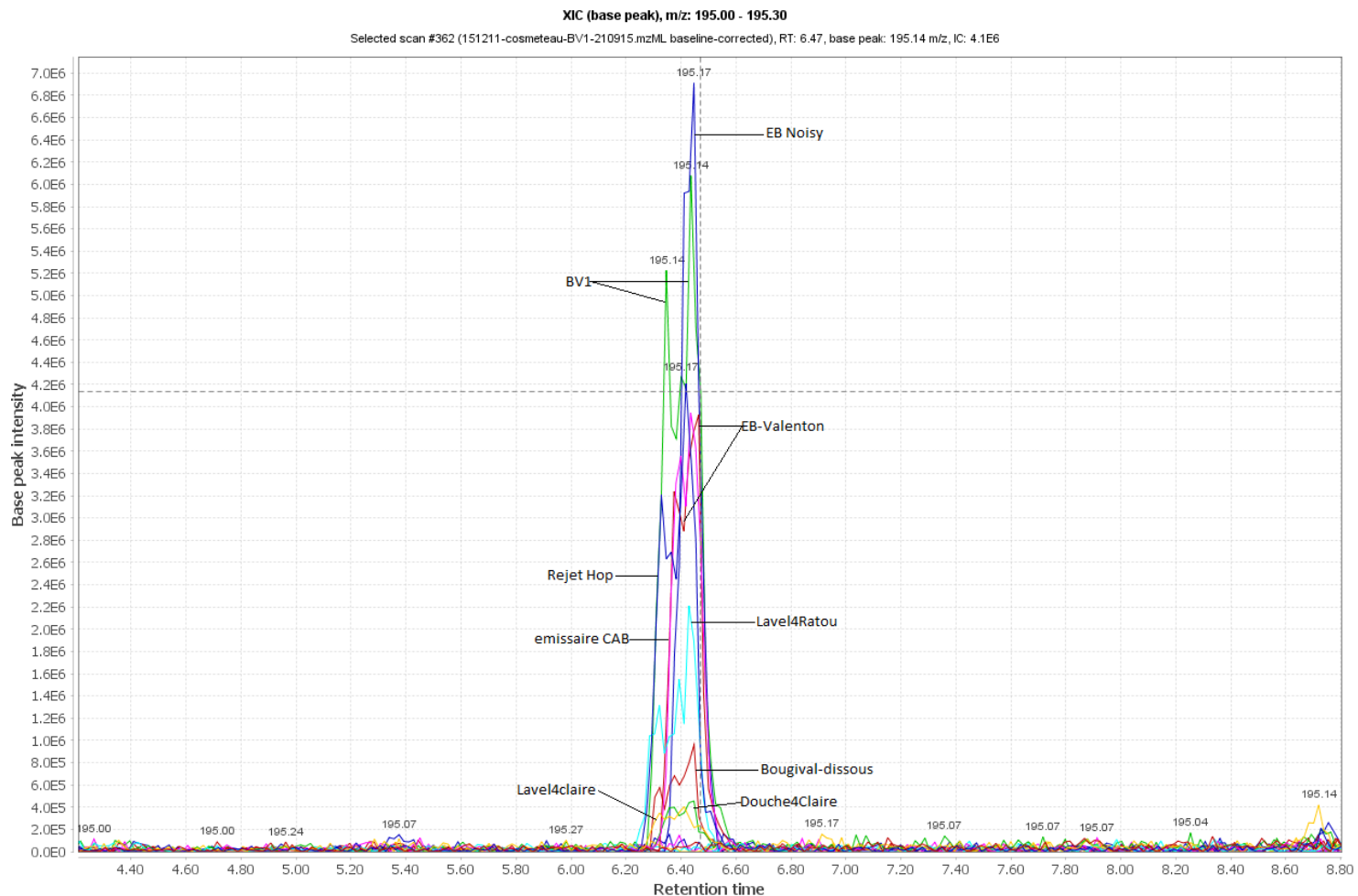
Individuals factor map (PCA)



Identification de substances en basse résolution

(Azzaoui & Gayen, 2016)

- Identification de la caféine (m/z , t_R , I)



Identification de substances en basse résolution

(Azzaoui & Gayen, 2016)

- Détection de molécules dont la masse correspond à des substances cibles (médicaments, pesticides...)

MAIS

- Pas de confirmation possible du fait de l'imprécision sur la masse

Perspectives pour OPUR

- Achat d'un **LC/Q-TOF** par la plate-forme PRAMMICS de l'OSU Effluve [octobre 2016]
 - Mobilité ionique
 - Mécanisme de séparation unique des ions gazeux par leur taille, forme et charge
- Développement d'une **méthode de screening multi-matrices** (projet ScreenAtm'Eau financé par l'OSU en collaboration avec le LISA) [2017]

- Approche **substances émergentes**

- Découverte de molécules d'intérêt, de métabolites et produits de transformations
- Compréhension des processus de transformation

- Approche **opérationnelle par empreintes**

- Efficacité de procédés
- Qualité d'effluents
- Modèles statistiques (gestion)