

Fractionnement d'une eau résiduaire urbaine pour la caractérisation de micropolluants organiques par spectrométrie de masse haute résolution

Nina Huynh, Julien Le Roux, Régis Moilleron

Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains



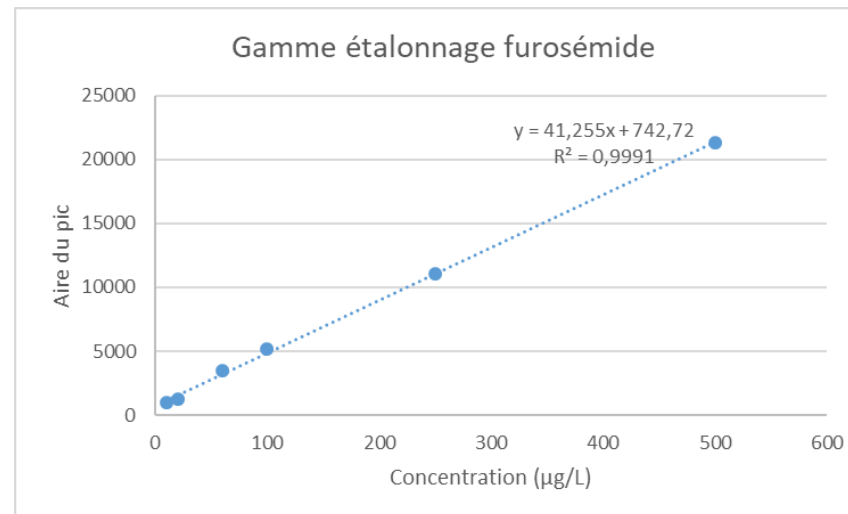
L'analyse non-ciblée



Analyses ciblées :

- Liste de composés à rechercher préétablie, basées sur des molécules connues et disponibles
- Méthodes de préparation et d'analyse optimisées sur ces composés

➔ On ne trouve que ce que l'on cherche, ce que l'on connaît et qu'on possède « known known »



QUANTIFICATION

L'analyse non-ciblée



Analyses en mode suspect :

- Liste préétablie, mais sur des composés qui ne sont pas forcément disponibles
- On cherche à analyser un ensemble plus large de molécules en se basant sur des hypothèses concernant l'échantillon

➔ On ne trouve que ce que l'on cherche, ce que l'on soupçonne :
« Known unknown »

| Molécule | Sc1 | Sc1d | Sc2 | Sc2d | V01 | V01d | V02 | V02d |
|-------------------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
| 4-Aminoantipyrine | N | N | N | N | O | O | O | N |
| Acetaminophen | O | O | O | O | O | O | O | O |
| Aciclovir | O | O | O | O | O | O | O | N |
| Aténolol | N | N | N | N | N | N | N | O |
| Atorvastatin | O | O | O | O | N | N | N | N |
| Bezafibrate | N | O | N | N | O | N | O | N |
| Canrenone | N | O | N | O | O | O | O | O |
| Clopidogrel | N | N | N | N | O | O | O | N |
| Codeine | O | O | O | O | O | N | O | O |
| Dicyclanil | O | O | O | N | O | O | O | O |
| Doxepin | N | N | N | N | O | O | O | O |
| Enrofloxacin | O | O | O | N | N | N | N | N |

DÉTECTION
(absence / présence)

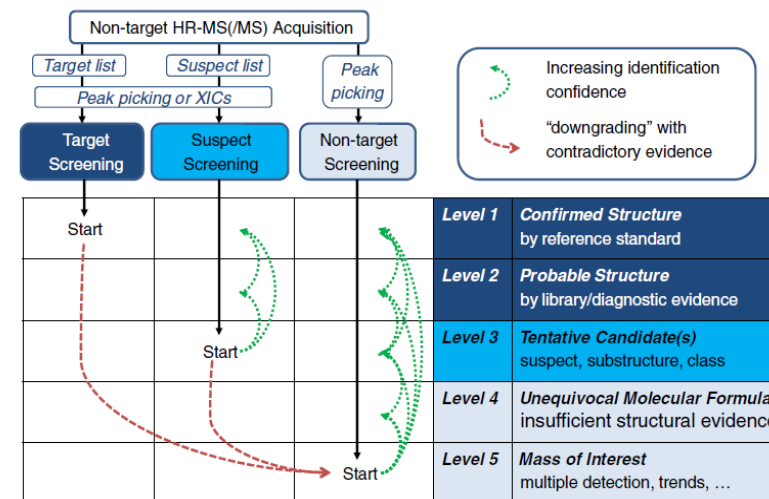
L'analyse non-ciblée



Analyses non-ciblées :

- Pas de liste de composés préétablie
- On cherche à analyser l'ensemble des substances présentes dans l'échantillon

➔ On cherche à identifier ce que l'on observe
« unknown unknown »



IDENTIFICATION

Mise en œuvre de l'analyse non-ciblée

Méthode classique la plus fréquente

- Extraction sur phase solide avec une cartouche dite universelle (de type HLB)

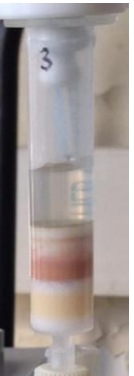


- Analyse sur une colonne chromatographique de type C18

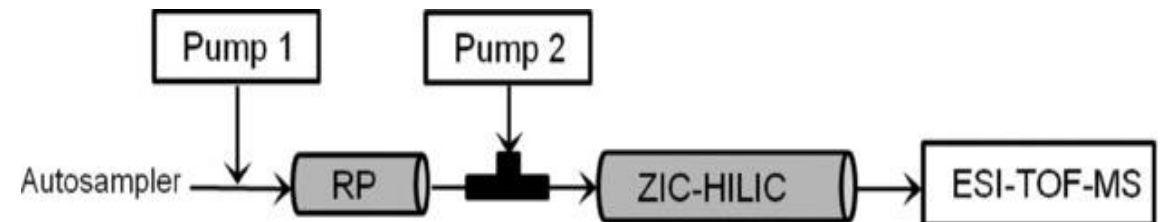


Optimisations proposées

- Extraction sur phase solide avec un mélange de phase commerciales (HLB, ENV+, XAW, XCW) Singer et al., Environmental Science and Technology, 2016.



- Analyse sur une combinaison de colonnes chromatographiques



Greco et al., Journal of Separation Science, 2013.

Objectifs

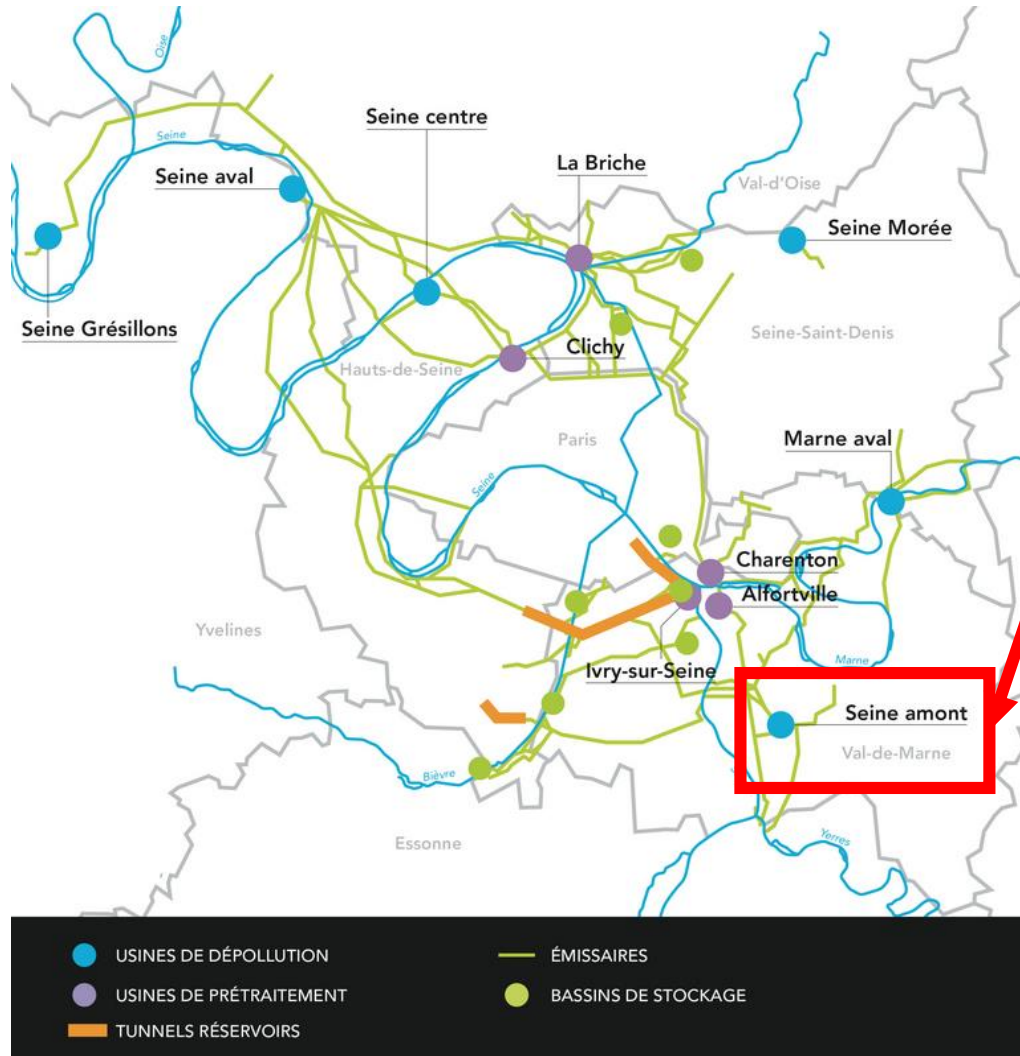
➔ Comparer « l'exhaustivité » de différentes méthodes d'extraction, de séparation et de détection

- Fractionner un échantillon d'eau urbaine par le biais de différentes méthodes et de différents supports de préparation
- Comparer différentes colonnes chromatographiques

➔ Caractériser les molécules organiques détectées en fonction des propriétés physico-chimiques de chaque fraction

- Comparer les fractions en termes de polarité, hydrophobicité etc.

Type d'échantillon



Echantillon 1 = effluent de la station



Chloration

Echantillon 2 = effluent de la station chloré

Extraction et fractionnement



Pour chaque échantillon
(avant et après oxydation)

Échantillon « brut »
=
sans étape de
préparation



Extraction sur phase solide
8 cartouches différentes

Séparation en fonction de la polarité et
en fonction de l'acidité

- HLB
- ENV+
- C18
- XAW
- XCW
- ENVI-Carb
- Coconut Charcoal
- DPA-6S

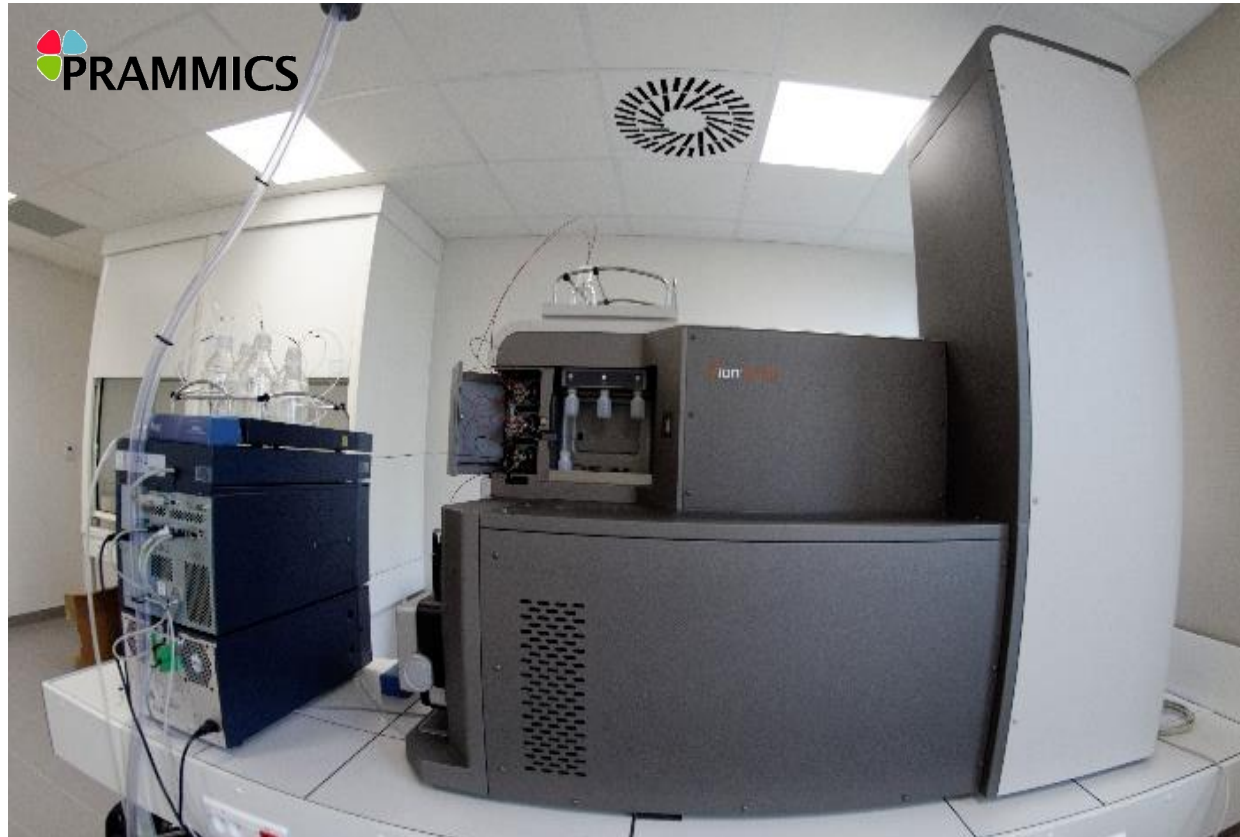


- DAX8
- XAD4
- AGMP1

Fractionnement sur résines
2 résines macroporeuses et 1 résine ionique

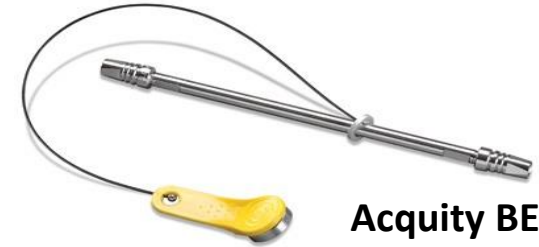
Séparation en fonction de
l'hydrophobicité

Analyse



UPLC – IMS – Qtof

Analyses en ESI+ et ESI-, avec triplicat d'injection et acquisition en HDMSe



Acquity BEH C18

- Chromatographie en phase inverse
- La plus couramment utilisée



Hypercarb

- Phase stationnaire en carbone graphite
- Proche de la chromatographie en phase inverse
- Réputée pour les composés polaires en matrice aqueuse

Traitement des données

UNIFI[®]
SCIENTIFIC INFORMATION SYSTEM

Détection et
déconvolution
des pics

Annotation

Alignement sur
tous les
échantillons

Remplissage des
valeurs
manquantes

Export des données
pré-traitées

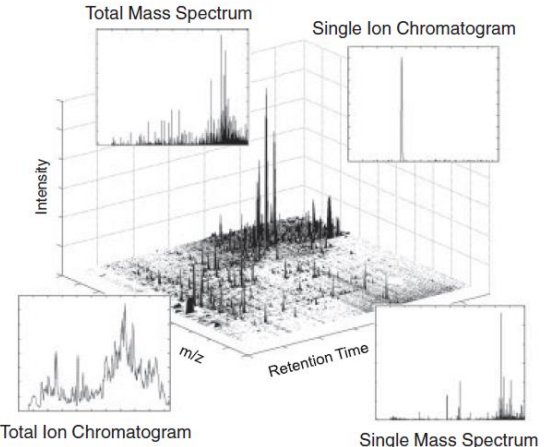
R[®] Studio[®]

Filtration des pics
non présents dans
tous les réplicatas

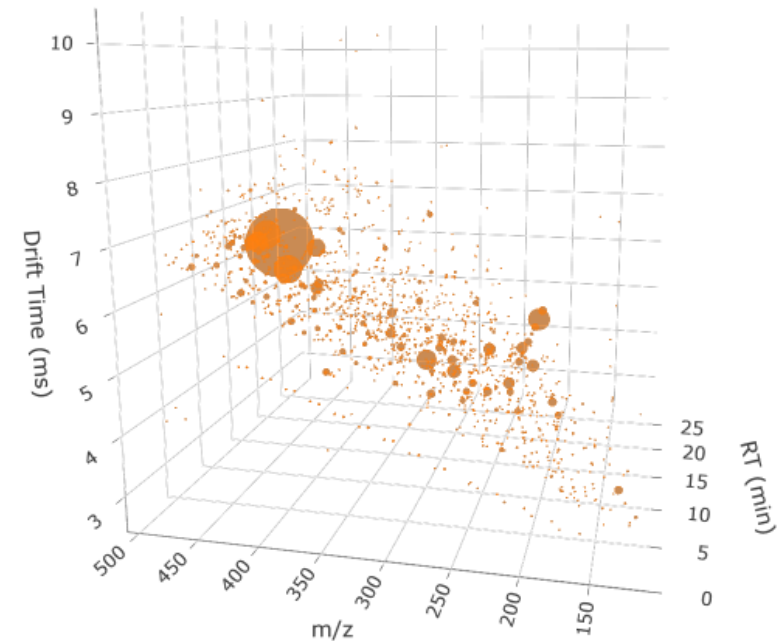
Comparaison
d'empreintes

Caractérisation
globale

- RT moyen
- m/z moyen
- Nombre de pics



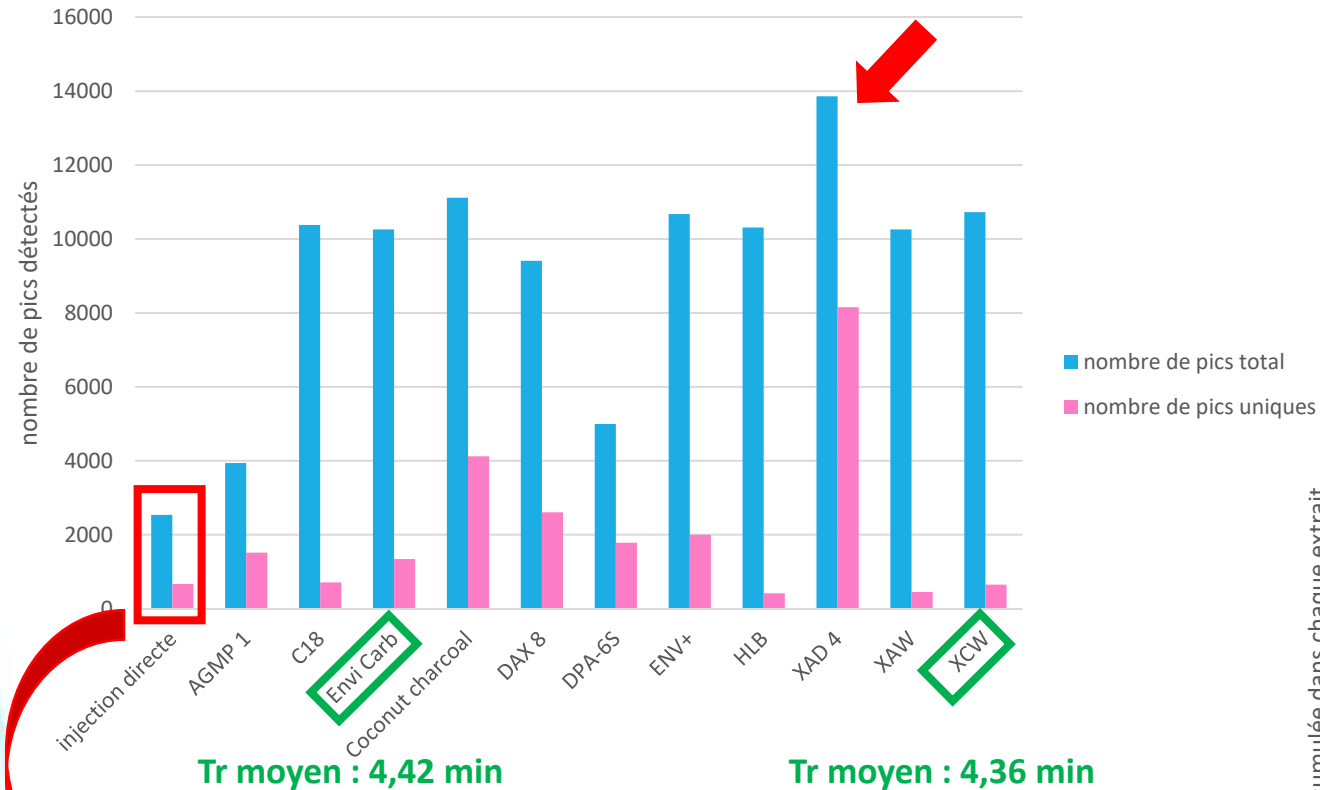
Boccard, Veuthey et Rudaz, *Journal of Separation Sciences*, 2010



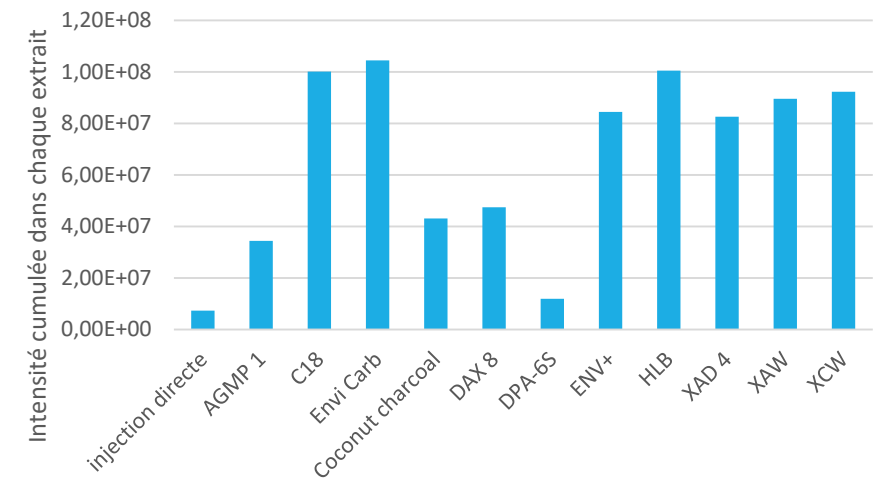
Comparaison de différents extraits

Différents extraits d'un même échantillon analysés sur colonne C18 en ESI+

Nombre de pics détectés dans chaque extrait

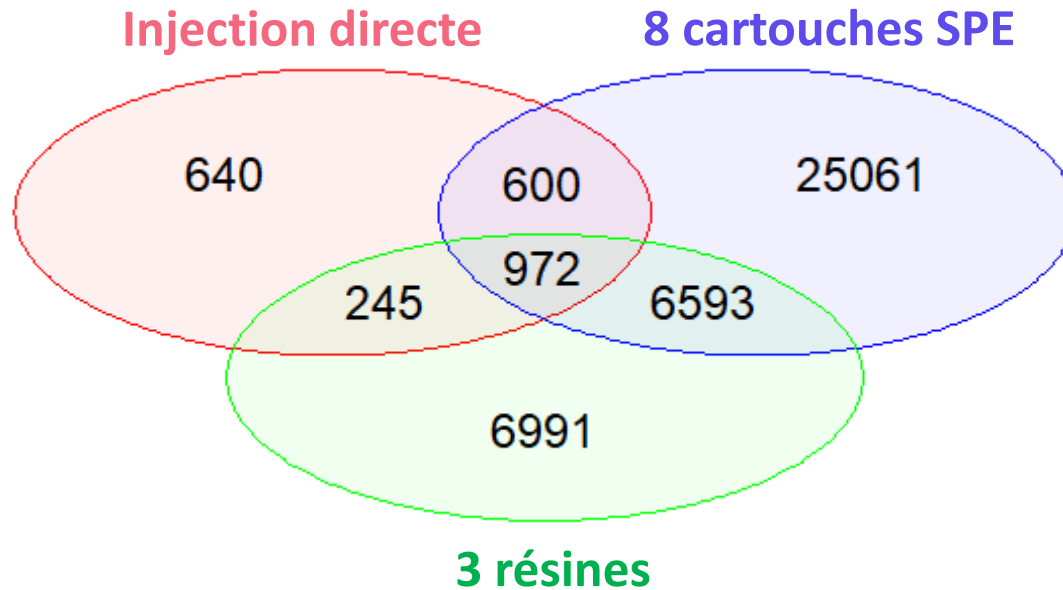


Intensité totale de chaque fraction



Comparaison de méthodes de préparation

Différents extraits d'un même échantillon analysés sur colonne C18 en ESI+



3 % de recouvrement entre les 3 méthodes

93 % de pics supplémentaires détectés grâce à la préconcentration

Temps de préparation et
volume d'échantillon
nécessaire

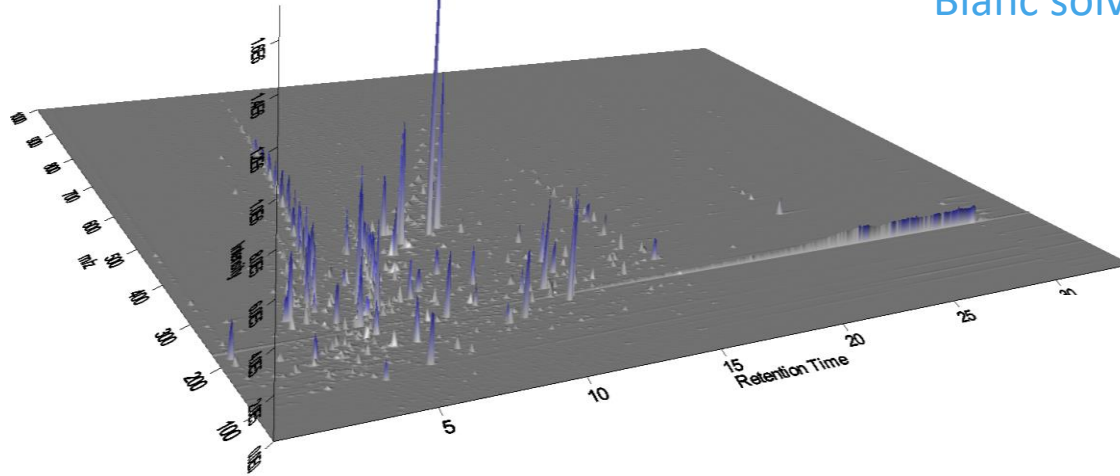


- 2 % de pics spécifiques à l'injection directe
- 61 % de pics spécifiques à la SPE
- 17 % de pics spécifiques au fractionnement sur résines

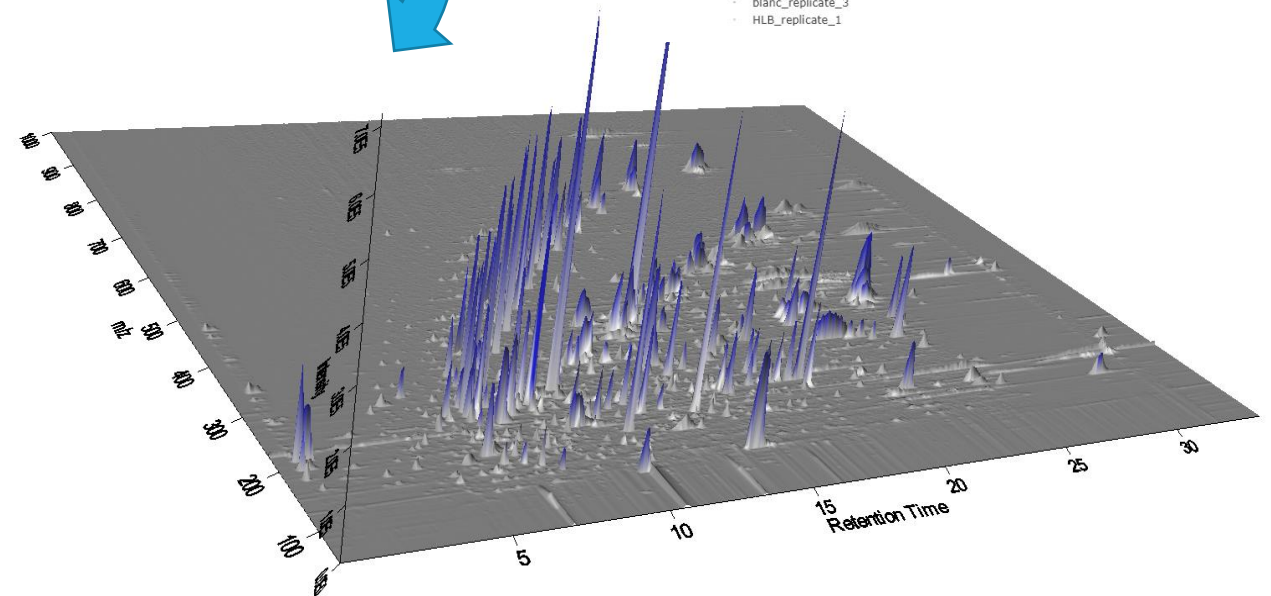
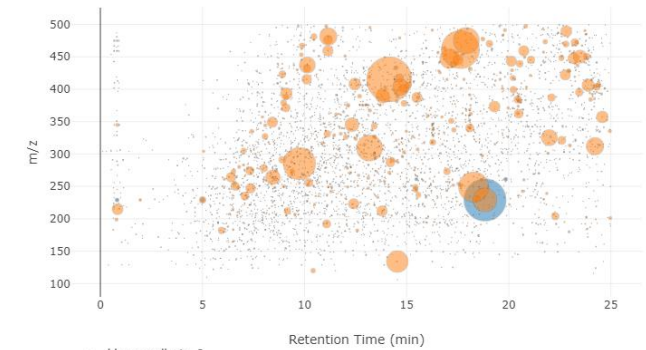
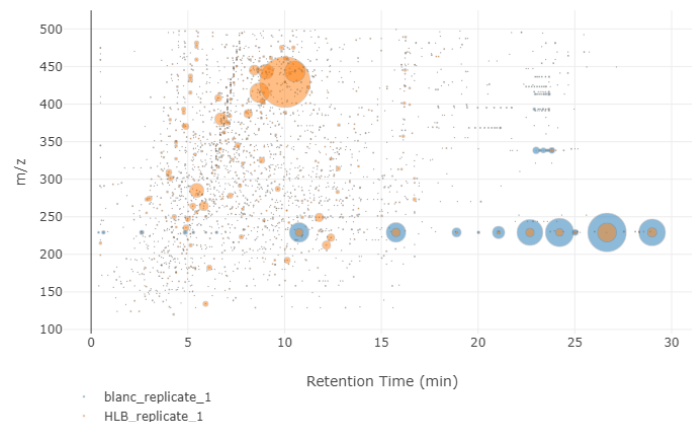
Comparaison de différentes colonnes chromatographiques

Analyse d'un même extrait (HLB) sur deux colonnes différentes en ESI+

Blanc solvant vs extrait



Analyse sur colonne C18 en ESI+



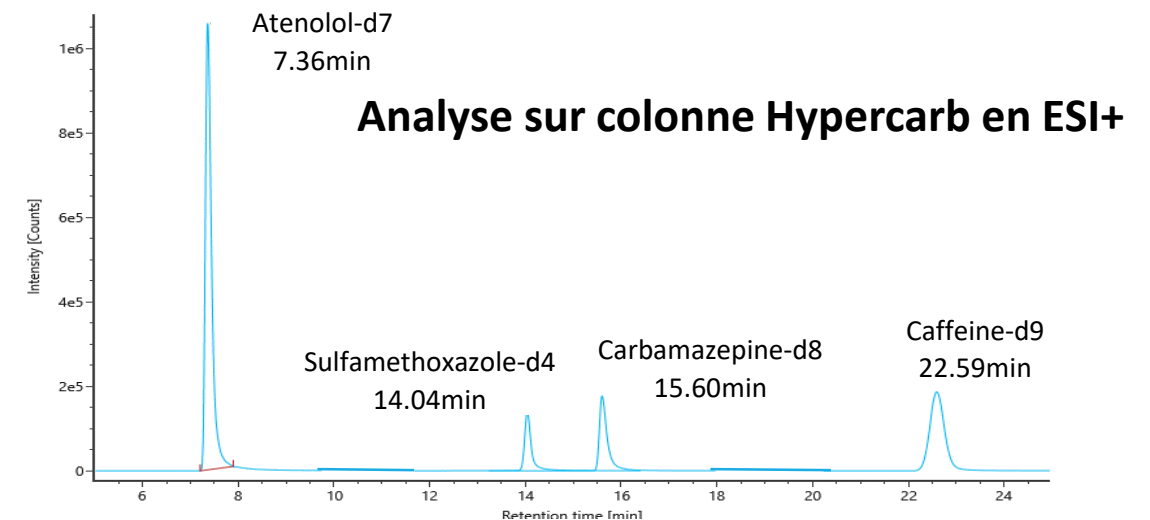
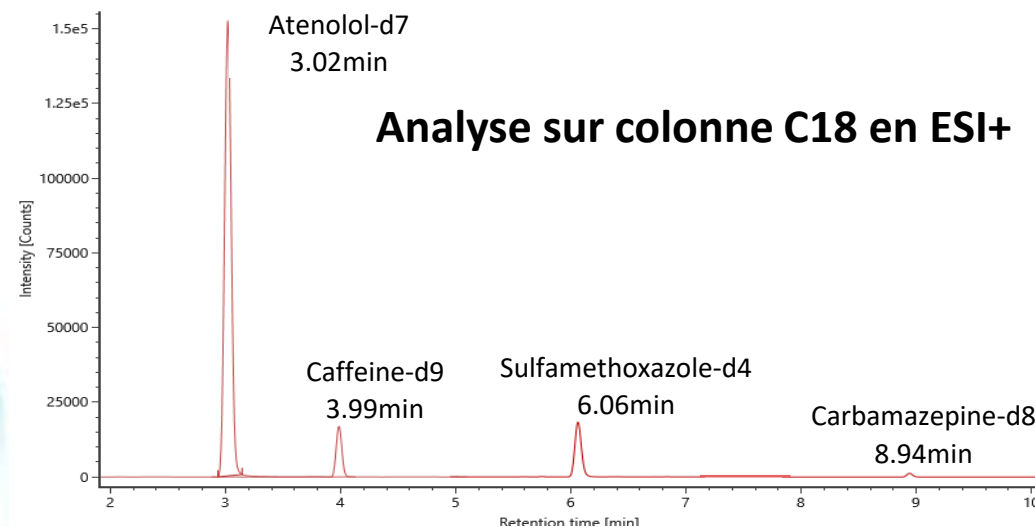
Analyse sur colonne Hypercarb en ESI+

Comparaison de différentes colonnes chromatographiques

Question : Y a-t-il des molécules communes aux 2 colonnes ou sont-elles complètement différentes ?

- Tentative d'identification des masses communes (proportion de masses communes)
- Perspective : comparer les RT de ces masses communes

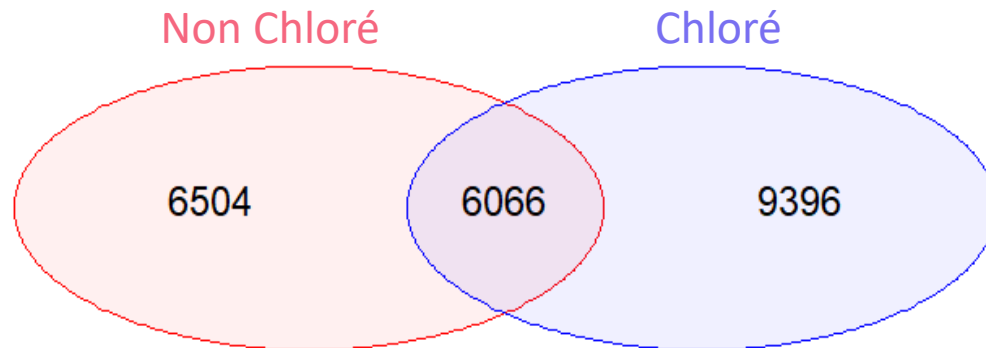
Observations sur des molécules connues:



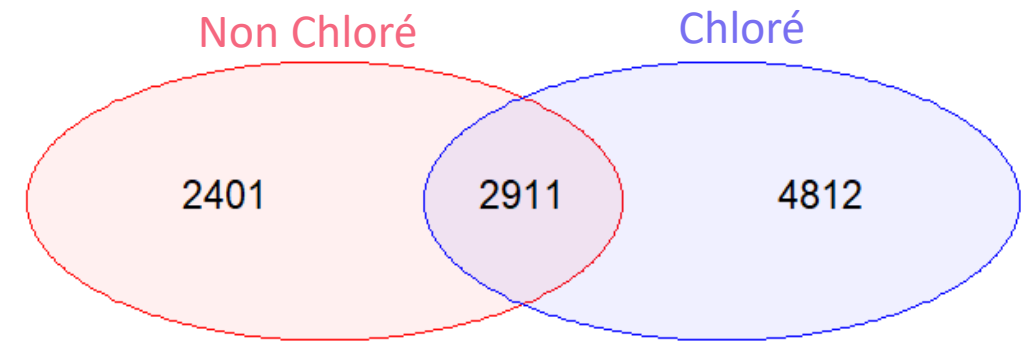
Augmentation du temps de rétention pour ces molécules relativement polaires, notamment pour la caféine (log Kow = -0,99)

Impact de la chloration sur les fractions

Toutes les fractions analysées sur les deux colonnes en mode ESI-



Colonne C18



Colonne Hypercarb



Plus de pics formés que de pics éliminés par la chloration

| | Colonne C18 | | | Colonne Hypercarb | | |
|--------------------------------|------------------------|----------|--------------------|------------------------|----------|--------------------|
| | Spécifiques non chloré | Communs | Spécifiques chloré | Spécifiques non chloré | Communs | Spécifiques chloré |
| Temps de rétention moyen (min) | 7,6 | 7,7 | 7,6 | 10,3 | 10,3 | 8,88 |
| m/z moyen | 323,3542 | 317,2281 | 318,1129 | 312,8265 | 306,9712 | 308,7356 |

Conclusion & Perspectives

Multiplication
des étapes de
préparation



Multiplication
des méthodes
d'analyse



Vision plus
complète de
la diversité
d'un
échantillon

En particulier dans le cas de la chloration d'un effluent de STEU :

Cartouches SPE Isolute
ENV+ et ENVI-Carb

-> **molécules formées
après chloration**

Complémentarité des
colonnes C18 et Hypercarb

-> **1 % de masses communes**

Une SPE unique sur une phase
HLB analysée sur colonne C18
(ESI+ et ESI-) ne donne que 10 %
des informations recueillies ici

Analyser ces
échantillons sur une
3eme colonne
chromatographique
(HILIC)



Caractériser de manière
plus précise les
différences entre les
colonnes



Comparer les
observations effectuées
sur la chloration avec
un autre procédé
d'oxydation



Merci pour votre attention

Avez-vous des questions?

Remerciements :

