

LC-MS/MS : Target analysis et screening LC-MS

Substance	PEST max	WOMV max	WOMV GSchV	Substance	PEST max	WOMV max	WOMV GSchV
Prix en Fr.	600.-	700.-	350.-	Prix en Fr.	600.-	700.-	350.-
Médicaments				Autres ingrédients actifs et métabolites des pesticides			
Acetyl-Sulfaméthoxazole ²				Terbutylazine déséthyl			
Amisulpride				Désisopropylatrazine			
Aténolol				Desmétryne			
Azithromycine				Desphényl-chloridazone			
Bézafibrate				Diazinon			
Candésartan				Dichlorprop			
Carbamazépine				Diffubenzuron			
Citalopram				Diméthachlore ESA			
Clarithromycine ²				Diméthachlore OXA			
Diclofénac				Diméthénamide ESA			
Hydrochlorothiazide				Diméthoate			
Irbésartan				Diuron			
Acide méfénamique				Époxiconazole			
Métoprolol				Éthofumesate ²			
Naproxène				Fluométuron			
Sotalol				Imidaclopride			
Sulfaméthazine				Iprovalicarb			
Sulfaméthoxazole				Irgarol			
Triméthoprime				Isochloridazone			
Venlafaxine				Isoproturon			
Produits de contraste				Isoproturon-desméthyl			
Acide diatrizoïque				Linuron			
Iohexol ²				MCPA			
Iomeprol				Mécoprop			
Iopamidol				Mésotrione			
Iopromide				Métalaxyl			
Produits industriels				Métamitron			
Benzotriazole ²				Métamitron-desamino			
Estrone				Métazachlore			
Tolyltriazole				Métazachlore ESA			
Triclosan				Métazachlore OXA			
5,6-Diméthylbenzotriazole				Méthoxyfénozide			
Édulcorant artificiel				Chloridazon-méthyl-desphényl			
Acésulfame				Métolachlore			
Cyclamate				Métolachlore-ESA			
Saccharine				Métolachlore-NOA			
Sucralose ³				Métolachlore-OXA			
Ingrédients actifs des pesticides et métabolites				Métribuzine			
Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique				Monuron			
2,6-Dichlorobenzamide				Napropamide			
Alachlore				Nicosulfuron ¹			
ESA Alachlore				Norflurazon			
OXA Alachlore				Oxadixyl			
Amétryne				Penconazole			
Atrazine				Pirimicarbe			
Azoxystrobine				Prométryne			
Bentazone				Propamocarbe			
Boscalid				Propazine			
Bromacil				Propazine-2-hydroxy			
Carbendazime				Propiconazole			
Chloridazone				Pyriméthanil			
Chlorpyrifos ^{*1}				Simazine			
Chlorpyrifos-méthyl				Sulcotrione			
Métabolite du chlorothalonil R417888				Tebuconazole			
Métabolite du chlorothalonil R471811				Terbutryne			
Métabolite du chlorothalonil SYN507900				Terbutylazine			
Chlortoluron				Terbutylazine SYN 545666 (LM6)			
Cyanazine				Terbutylazine-2-hydroxy			
Cyproconazole				Terbutylazine-déséthyl-2-hydroxy			
Cyprodinil				Thiacloprid			
DEET				Thiacloprid-amide			
Déséthylatrazine				Thiaméthoxame			

Le seuil de quantification (SQ) pour le programme d'analyses **PESTmax** est de 0.02 µg/L.
 Le SQ pour les programmes d'analyses **WOMVmax** et **WOMVGSchV** est de 0.01 µg/L.
 Pour cette substance * le SQ est supérieure à la valeur de l'exigence spécifique de l'OEaux.
 Autres SQ spécifiques : ¹ 0.005 µg/L, ² 0.02 µg/L, ³ 0.05 µg/L.

Le terme de «micropolluants» désigne les composés organiques et inorganiques d'origine anthropique présents dans les eaux souterraines ou de surface à des concentrations très basses, du microgramme au nanogramme par litre. Par exemple, les antibiotiques, les analgésiques (p. ex. le diclofénac) et les édulcorants (p. ex. l'acésulfame) proviennent de la médecine humaine et des ménages. Les additifs anticorrosifs (p. ex. benzotriazole) proviennent de l'industrie. L'agriculture est la principale source de produits phytosanitaires (pesticides).

Analyse des micropolluants

Les micropolluants organiques sont généralement polaires et donc facilement solubles dans l'eau. Afin de les détecter à l'état de traces dans l'eau, la meilleure méthode consiste à coupler la détection par spectrométrie de masse (MS) après la chromatographie liquide (LC). Dans la technique LC-MS/MS, deux spectromètres de masse sont connectés en série. Cela permet d'atteindre un seuil de quantification très bas. Pour trouver et quantifier une substance cible, il est indispensable de l'avoir à disposition en état pure. A partir de cette substance de référence pure, les séries de dilution pour la quantification peuvent être préparées.

Programmes d'analyse avec «target analysis»

Bachema AG a élaboré différents programmes pour la détermination quantitative des micropolluants dans l'eau. Le programme d'analyse **PESTmax** comprend les substances pesticides et les produits de transformation pertinents pour les eaux souterraines qui ont été validés dans notre laboratoire (y compris 3 métabolites de chlorothalonil). Le tableau ci-contre énumère les substances actuellement représentées.

Les deux programmes d'analyses **WOMVMax** et **WOMVGSchV** contiennent des micropolluants qui sont pertinents pour les eaux de surface. Le programme d'analyse **WOMVGSchV** contient les micropolluants organiques qui ont une valeur d'exigence pour les eaux de surface selon l'ordonnance sur la protection des eaux (OEaux), annexe 2.



Screening LC-MS

En plus de l'analyse ciblée (target analysis) des micropolluants, Bachema AG propose également de screening LC-MS en dehors du domaine d'accréditation de Bachema AG. On en utilise un spectromètre de masse à haute résolution qui, en déterminant les masses moléculaires exactes, est capable de détecter non seulement un grand nombre de composés connus, mais aussi des substances précédemment inconnues. La mesure simultanée des spectres de fragments MS/MS permet d'identifier des substances inconnues. Dans le cadre de screening LC-MS, les échantillons peuvent être soumis à un dépistage des substances suspectes (suspect-screening) ou des substances inconnues (non-target-screening). Les deux méthodes ne sont pas quantitatives par rapport à l'analyse ciblée, mais elles permettent d'augmenter le nombre de substances qui peuvent être étudiées.

Les possibilités des screening suspect et non-target sont très diverses. Pour éviter de se perdre dans le «jungle de substances», l'objectif de l'enquête doit être clairement formulé avant de commencer l'analyse. Par exemple, on pourrait comparer deux échantillons (dont l'un étant une référence), sans vouloir identifier chaque substance.

Si on désire d'identifier des substances individuelles qui causent des signaux LC-MS/MS, il faut définir à l'avance les critères de sélection, parce qu'il ne serait jamais possible d'évaluer tous les signaux d'un «run» de LC-MS/MS dans un délai raisonnable.

Exemples de critères de sélection :

- les signaux les plus intenses dans un chromatogramme
- signaux qui se produisent dans un échantillon mais pas dans un autre
- uniquement les composés halogénés

Champ d'application de screening LC-MS

Un screening LC-MS pourrait être utilisé pour rechercher des substances polaires et ionisables dans une grande variété d'échantillons d'eau (p. ex. des eaux souterraines, des eaux de surface, des eaux usées purifiées), mais aussi dans des extraits aqueux des solides. On pourrait ainsi détecter des substances qui présentent généralement les caractéristiques suivantes :

Target analysis	Suspect screening	Non-target screening
Recherche de substances cibles et quantification	Recherche de substances suspectées d'être présentes dans l'échantillon	Recherche de substances inconnues
Détermination des concentrations de micropolluants (par exemple les pesticides) dans les eaux souterraines, les eaux de surface ou les eaux usées (au moyen de série de dilutions standard avec la substance de référence).	Les échantillons d'eau peuvent être analysés pour de nombreuses substances en raison de leur masse moléculaire précisément déterminable (même après, lorsque la mesure a déjà eu lieu). Selon le problème, des listes de substances comprenant des dizaines ou des centaines de substances peuvent être utilisées. Les résultats positifs peuvent être confirmés et quantifiés par une mesure ultérieure des normes de référence.	Quelles sont les substances à l'origine des plus grands signaux? Analyse comparative : quelles sont les substances présentes dans un échantillon mais pas dans l'autre (par exemple, avant et après le rejet des eaux usées)? Analyses répétées sur une période prolongée : comment la composition des polluants change-t-elle?

- poids moléculaire entre 100 et 1000 g/mol
- composés polaires à moyennement polaires (ca. $-2 < \log K_{ow} < 5$),
- non volatile
- ionisable par méthode d'électrospray, c'est-à-dire des composants avec au moins un hétéroatome N, O, S, P dans la structure (il y a toutefois des exceptions).

Évaluation du suspect screening

Dans le cadre d'un «suspect screening», des substances suspectées sont recherchées dans l'échantillon. Dans le cas où l'on s'attend à ce que certaines substances soient présentes dans un échantillon, on peut les rechercher au moyen de leur formule de somme chimique par leur masse exacte, même en analysant plusieurs centaines de substances. Si des substances suspectées sont trouvées lors de cette première étape, elles sont considérées comme n'étant pas encore identifiées de manière fiable : ces substances sont classées au niveau d'identification 3 (voir schéma d'identification). En continuant les travaux d'analyse on améliore le niveau d'identification pour chaque substance suspectée, jusqu'à l'identification non ambiguë (niveau 1), ce qui ne peut être atteint qu'au moyen de la substance pure de référence.

Évaluation du non-target screening

Dans le cadre d'un «non-target screening», le HRMS-fullscan cherche automatiquement les signaux qui se produisent dans

une fenêtre de temps de rétention, préalablement définie dans un échantillon contaminé. Des centaines ou des milliers de signaux peuvent être générés. Le nombre de signaux correspond au nombre de substances détectées. Les premières données d'une analyse LC-MS se présentent sous la forme d'une liste de signaux, chacun étant caractérisé par sa masse exacte, son temps de rétention et son intensité. Pour générer cette liste, une évaluation approfondie par un analyste expérimenté est nécessaire, car ce processus ne peut être que partiellement automatisé. L'évaluation comprend de nombreuses étapes afin de garantir une bonne qualité des données.

En principe, chaque signal de cette liste reçoit le niveau d'identification 5. Le niveau d'identification peut cependant être amélioré par des travaux d'analyses supplémentaires. En cadre de ces travaux, tous les signaux reçus avec ces deux méthodes de screening peuvent être comparés avec une base de données de spectres MS/MS. Une base de données contenant plusieurs milliers de substances est à disposition pour Bachema AG. En cas de comparaison positive avec cette base de données, il est possible, pour une petite partie de tous les signaux, d'obtenir le niveau d'identification 2. Ce niveau 2 correspond à une très bonne identification d'une substance – mais pas encore à une identification unique.

Prix en Fr.

LC-MS-Screening 200.- / h selon prestation

Schéma d'identification de screening target, suspect et non-target (dérivé de Schymanski et al. 2015 Anal Bioanal Chem)

	Niveau	Identification	Résultat à atteindre	Est réalisé par
Target analysis Suspect screening Non-target screening	1	maximal	Structure confirmé	Comparaison avec le standard de la substance de référence
	2		Structure probable	Comparaison avec des bibliothèques MS/MS
	3		Structure possible	Comparaison avec des bases de données de substances
	4		Formule moléculaire	Analyse de spectres HRMS et MS/MS
	5	minimal	Masse moléculaire	HRMS-Fullscan