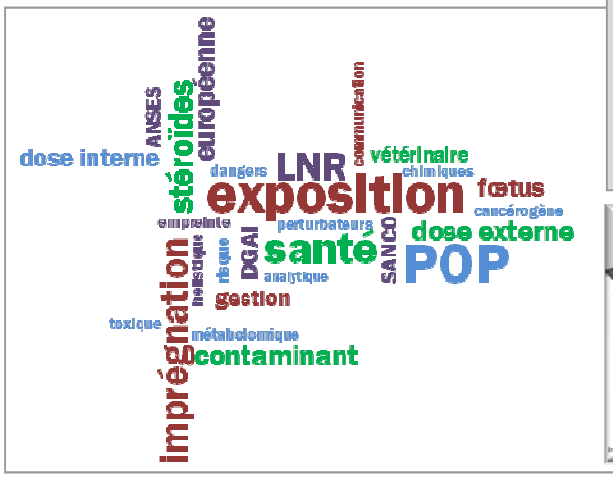
14 Juin 2017

ESTIVALE ROCCH - Ifremer Nantes

Analyse des polluants

QUALITÉ DES RÉSULTATS D'ANALYSES

APPROCHES ET CHALLENGES



P. MARCHAND

Laboratoire d'Étude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA)
USC INRA 1329, Oniris, LUNAM Université
BP 50707, 44307 Nantes Cedex 3, France - www.laberca.org

DEUX STRATEGIES S'IMPOSENT AUJOURD'HUI

APPROCHES CIBLEES

Approches avec *a priori*

- Liste bien établie de composés connus

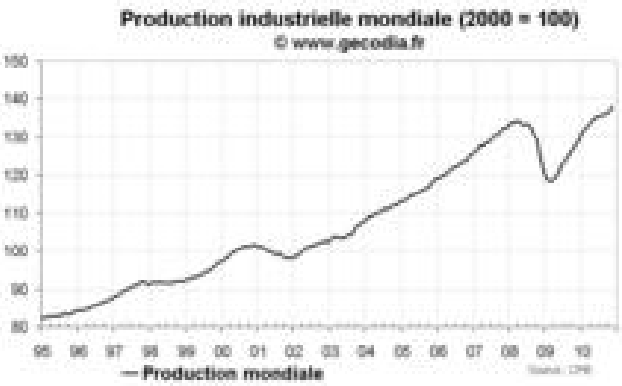
APPROCHES NON CIBLEES

Approches sans *a priori*

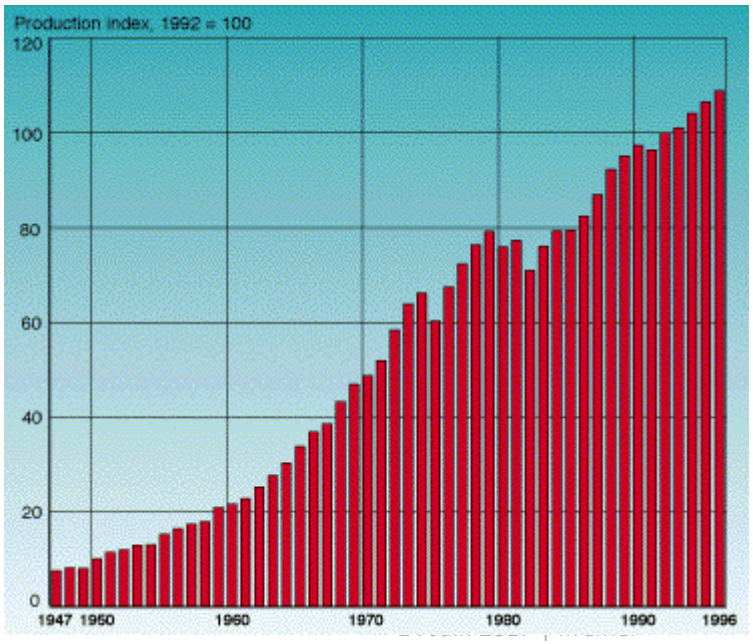
- Liste ouverte de composés sur la base d'une propriété commune
- …ou sans aucun *a priori*

Propriétés des méthodes de mesure

- Production industrielle mondiale



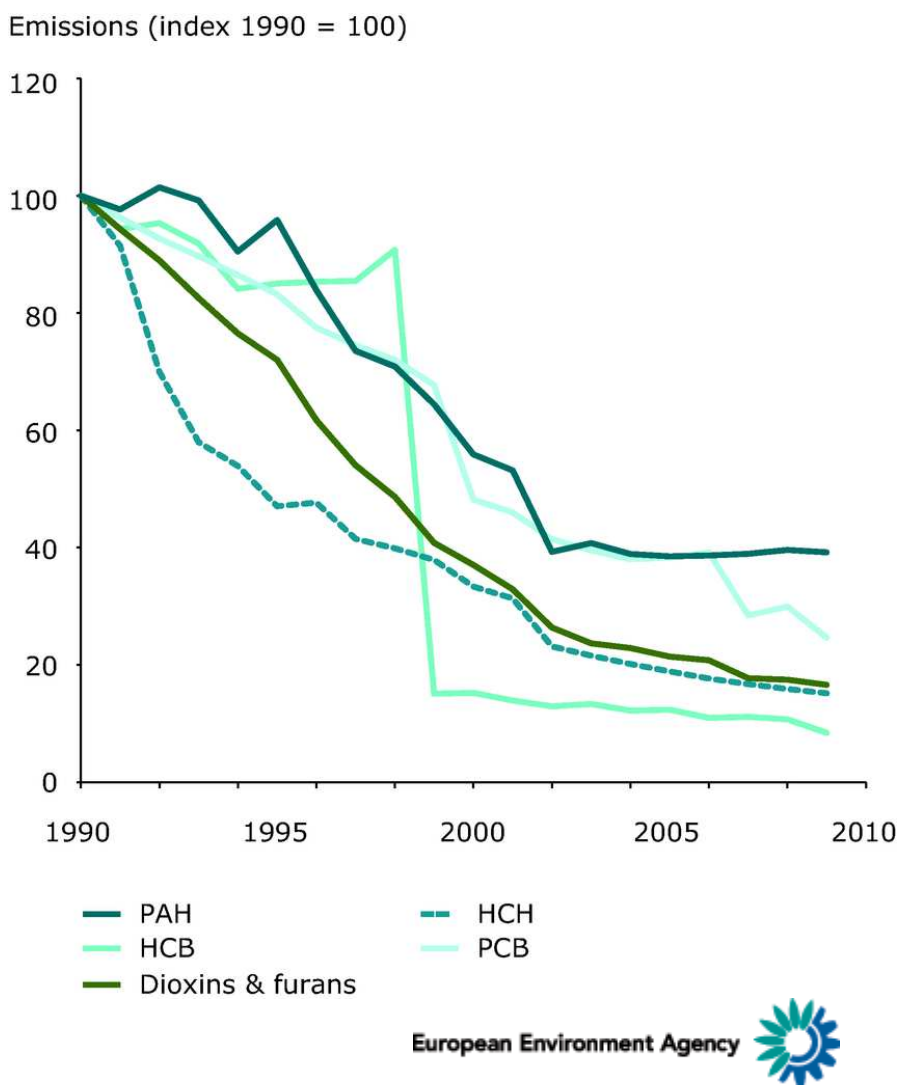
- Production mondiale substances chimiques



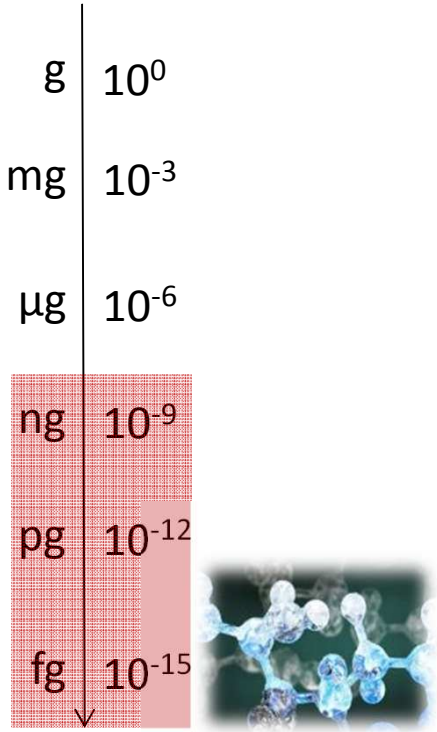
SENSIBILITE

g	10^{0}
mg	10^{-3}
µg	10^{-6}
ng	10^{-9}
pg	10^{-12}
fg	10^{-15}

Propriétés des méthodes de mesure



SENSIBILITE



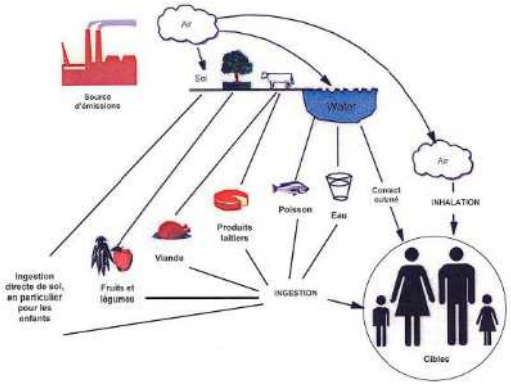
Propriétés des méthodes de mesure

- Identification non ambiguë

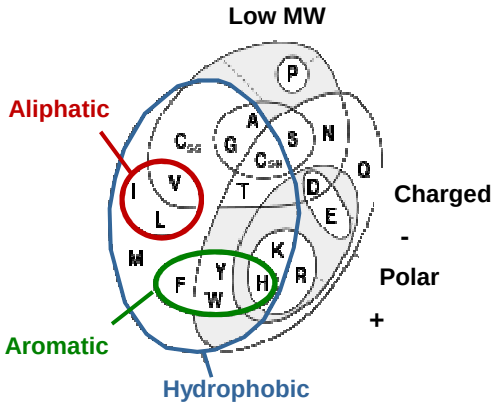
SELECTIVITE

- Précises et justes

- Applicable à des matrices différentes



- Applicables à des composés différents



Quels sont les leviers?

- A partir de quantités d'échantillons parfois faibles, il faut:

  - **Doser plusieurs familles en même temps (nous)**
  - **Limiter la contamination croisée (nous et vous)**
  - **Concentrer au maximum l'extrait pour abaisser les LOQ (nous)**

Quels sont les leviers?

- **Doser plusieurs familles en même temps (nous)**
- **Limiter la contamination croisée (nous et vous)**
- **Concentrer au maximum l'extrait pour abaisser les LOQ (nous)**

Nécessité d'extraire, purifier et concentrer les analytes cibles avant caractérisation

Nécessité d'extraire, purifier et concentrer les analytes cibles avant caractérisation

Perspectives : automatiser la préparation d'échantillons et rechercher de nombreuses familles sur une même prise d'essai

Extraction : SpeedExtractor (**BUCHI**)

+

Purification : Autosym **(MIURA -SHIMADZU)**

1 Silice/nitrate d'argent à 10% (w/w)

2 Silice/H_2SO_4 à 44% (w/w)

3 Charbon

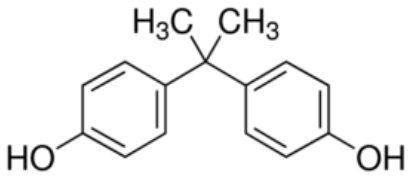
4 Alumine

Quels sont les leviers?

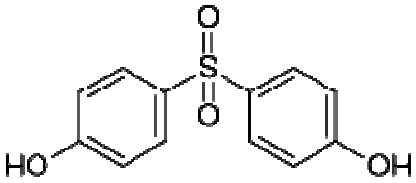
- Doser plusieurs familles en même temps (nous)
- **Limiter la contamination croisée (nous et vous)**
- Concentrer au maximum l'extrait pour abaisser les LOQ (nous)

Caractérisation des sources de contamination dans le laboratoire

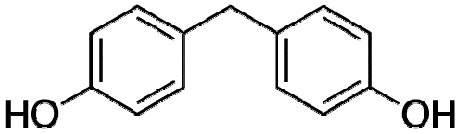
Molécules recherchées



Bisphénol A
2,2-bis(4-hydroxyphenyl)-propane)



Bisphénol S
4,4'-sulfonyldiphenol



Bisphénol F
4,4'-dihydroxydiphenylmethane

Sources

<u>BPA</u> : Plastiques de type polycarbonate , résines époxy, antioxydant dans les PVC, inhibiteur de fin de polymérisation, papiers thermiques.

<u>BPS</u> : Papiers thermiques, biberons, résines phénoliques et boites de conserves.

<u>BPF</u> : Résines époxy, papiers thermiques, revêtements.

Matrice analysée

Urines, volume de 2 mL

Protocole analytique utilisé

Urines

↓

Séparation en deux fractions

↙ ↘

Fractions Libres (5 mL)

Fractions Totales (2 mL)

Dopé avec standards marqués $^{13}C_{12}$

↓

Hydrolyse enzymatique

↓

SPE HR-X (500 mg)

↓

SPE MIP (mg)

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Ajout étalon externe

↓

Évaporation sous un flux d'azote

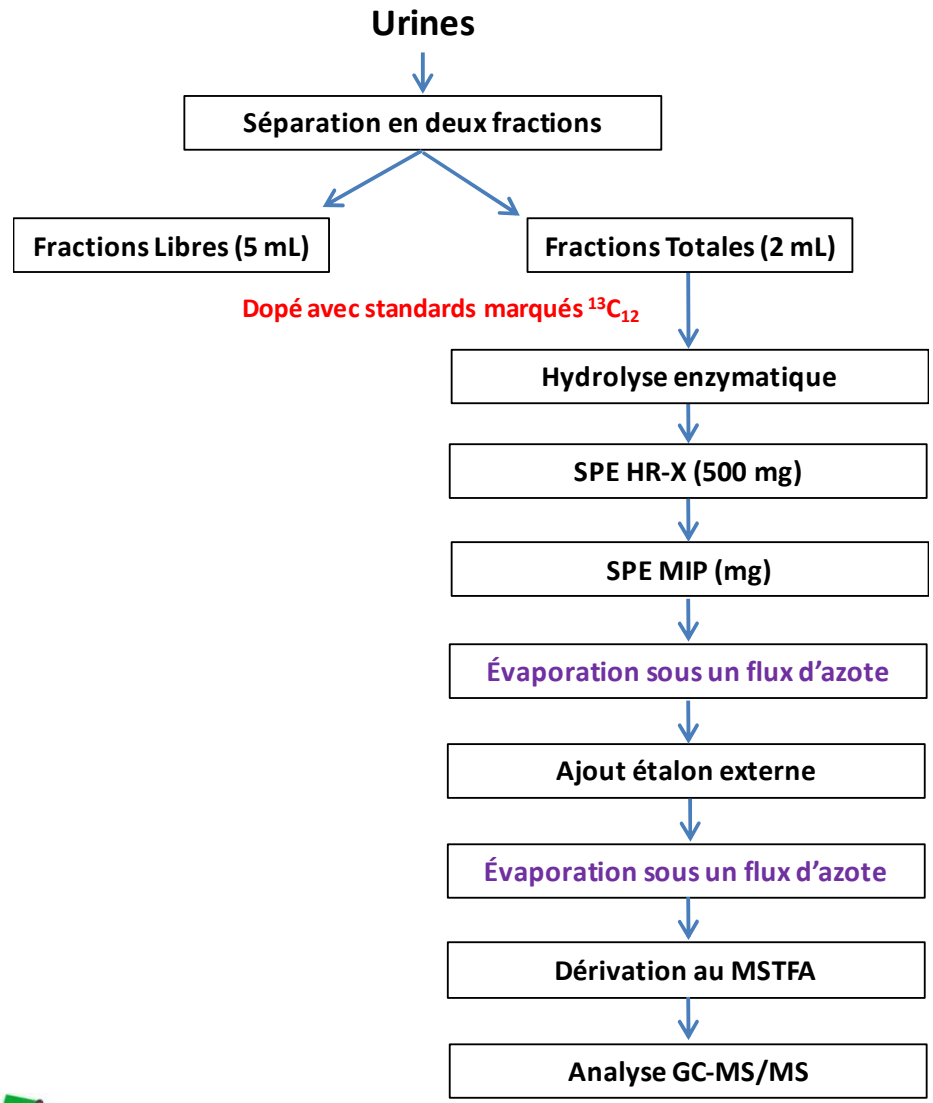
↓

Dérivation au MSTFA

↓

Analyse GC-MS/MS

Protocole analytique utilisé



Sources de contaminations

Protocole analytique utilisé

Urines

↓

Séparation en deux fractions

Fractions Libres (5 mL)

Fractions Totales (2 mL)

Dopé avec standards marqués $^{13}C_{12}$

↓

Hydrolyse enzymatique

↓

SPE HR-X (500 mg)

↓

SPE MIP (mg)

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Ajout étalon externe

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Dérivation au MSTFA

↓

Analyse GC-MS/MS

Sources de contaminations

Protocole analytique utilisé

Urines

↓

Séparation en deux fractions

Fractions Libres (5 mL)

Fractions Totales (2 mL)

Dopé avec standards marqués $^{13}C_{12}$

↓

Hydrolyse enzymatique

↓

SPE HR-X (500 mg)

↓

SPE MIP (mg)

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Ajout étalon externe

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Dérivation au MSTFA

↓

Analyse GC-MS/MS

Sources de contaminations

Protocole analytique utilisé

Urines

↓

Séparation en deux fractions

Fractions Libres (5 mL)

Fractions Totales (2 mL)

Dopé avec standards marqués $^{13}C_{12}$

↓

Hydrolyse enzymatique

↓

SPE HR-X (500 mg)

↓

SPE MIP (mg)

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Ajout étalon externe

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Dérivation au MSTFA

↓

Analyse GC-MS/MS

Sources de contaminations

Protocole analytique utilisé

Urines

↓

Séparation en deux fractions

Fractions Libres (5 mL)

Fractions Totales (2 mL)

Dopé avec standards marqués $^{13}C_{12}$

↓

Hydrolyse enzymatique

↓

SPE HR-X (500 mg)

↓

SPE MIP (mg)

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Ajout étalon externe

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Dérivation au MSTFA

↓

Analyse GC-MS/MS

Sources de contaminations

Protocole analytique utilisé

Urines

↓

Séparation en deux fractions

Fractions Libres (5 mL)

Fractions Totales (2 mL)

Dopé avec standards marqués $^{13}C_{12}$

↓

Hydrolyse enzymatique

↓

SPE HR-X (500 mg)

↓

SPE MIP (mg)

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Ajout étalon externe

↓

Évaporation sous un flux d'azote

↓

Dérivation au MSTFA

↓

Analyse GC-MS/MS

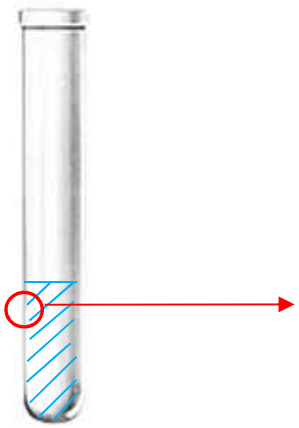
Sources de contaminations

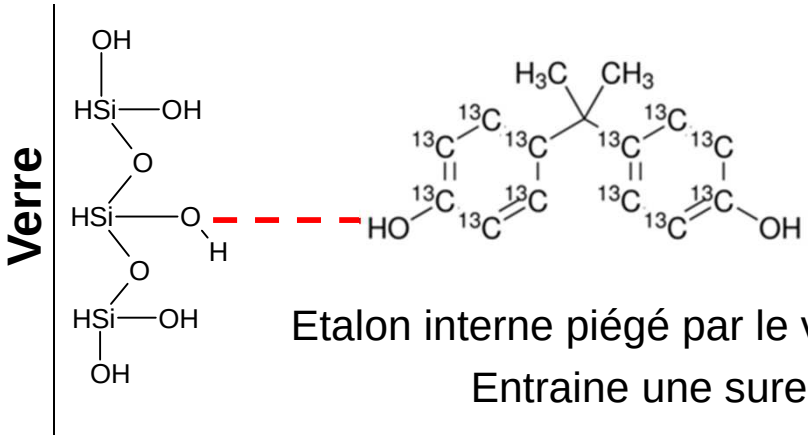
I/ Décontamination de la verrerie

Verrerie présente tout au long du protocole

Passage au four à 400℃ → décontamination totale

II/ Contamination indirecte

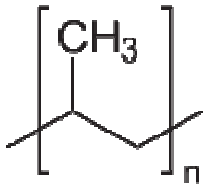




Etalon interne piégé par le verre

Entraine une surestimation de la contamination

Remplacer le verre par du polypropylène



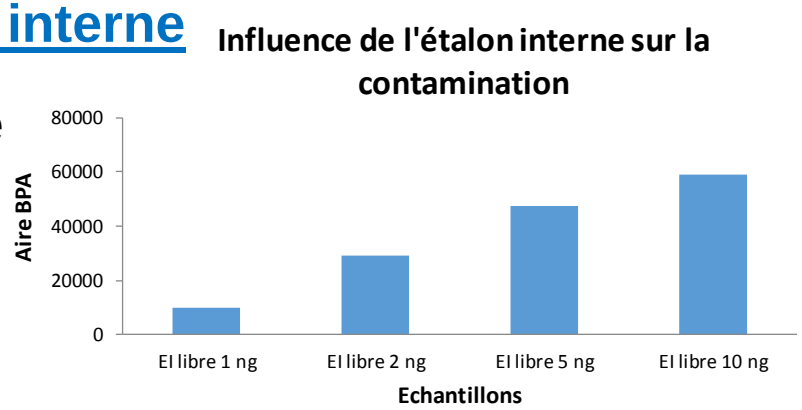
III/ Contamination apportée par l'étalon interne

Etalon interne utilisé : BPA marqué au carbone 13

III/ Contamination apportée par l'étalon interne

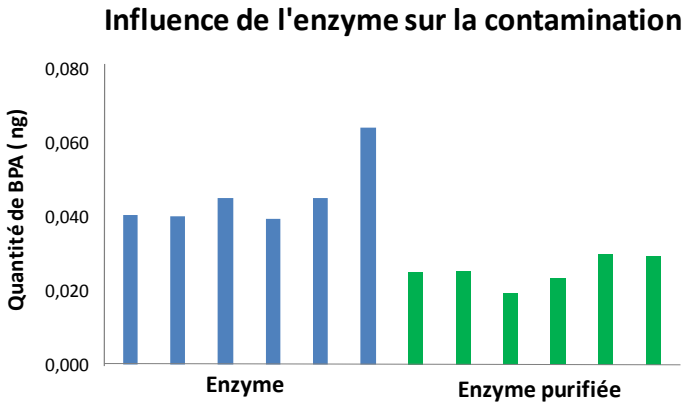
Etalon interne utilisé : BPA marqué au carbone

Abaisser la concentration de l'étalon interne



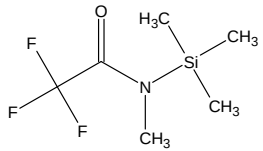
IV/ Contamination apportée par l'enzyme

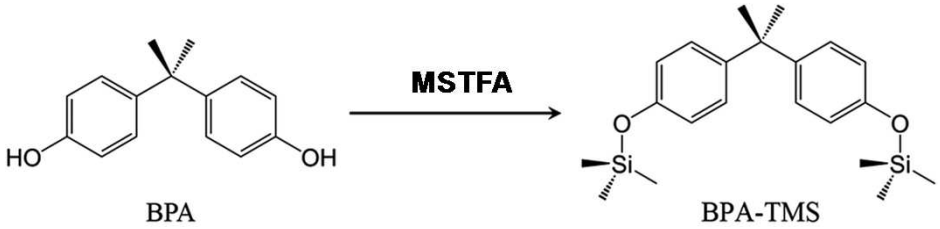
Enzyme utilisée : Suc d'Helix pomatia β-glucuronidase / arylsulfatase → **Enzyme purifiée testé :** Abalonase purified enzymatic formula, β-glucuronidase

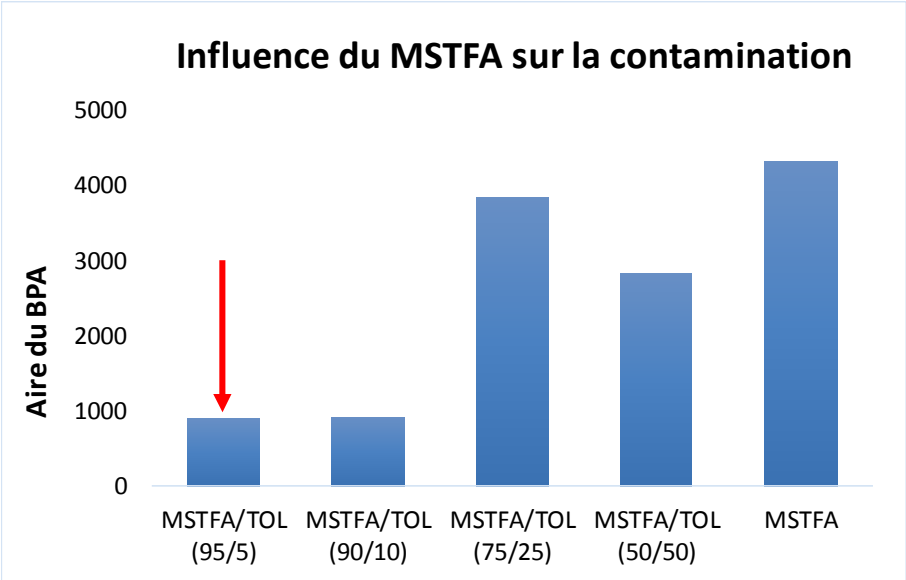


V/ Contamination apportée par le dérivant

MSTFA : N-Méthyl-N-triméthylsilyl-trifluoroacétamide







MSTFA / Toluène 95/5
Même capacité de dérivation
Contamination réduite

VI/ Contamination apportée lors de l'évaporation

Générateur d'azote

VI/ Contamination apportée lors de l'évaporation

Générateur d'azote

Bouteille d'azote **alpha gaz 1**

Pureté : 99,999 %

Bouteille d'azote **alpha gaz 2**

Pureté : 99,9999 %

VI/ Contamination apportée lors de l'évaporation

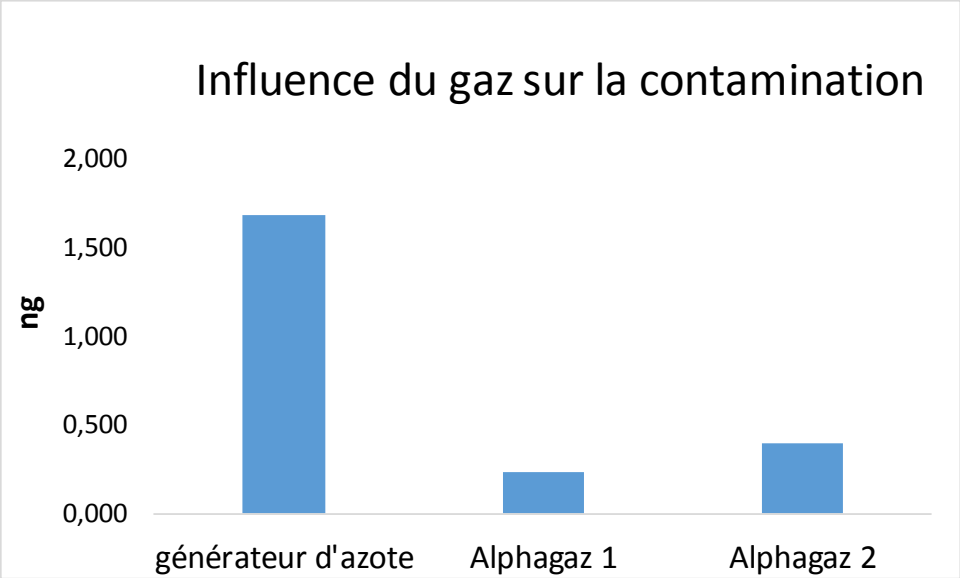
Générateur d'azote

Bouteille d'azote **alpha gaz 1**

Pureté : 99,999 %

Bouteille d'azote **alpha gaz 2**

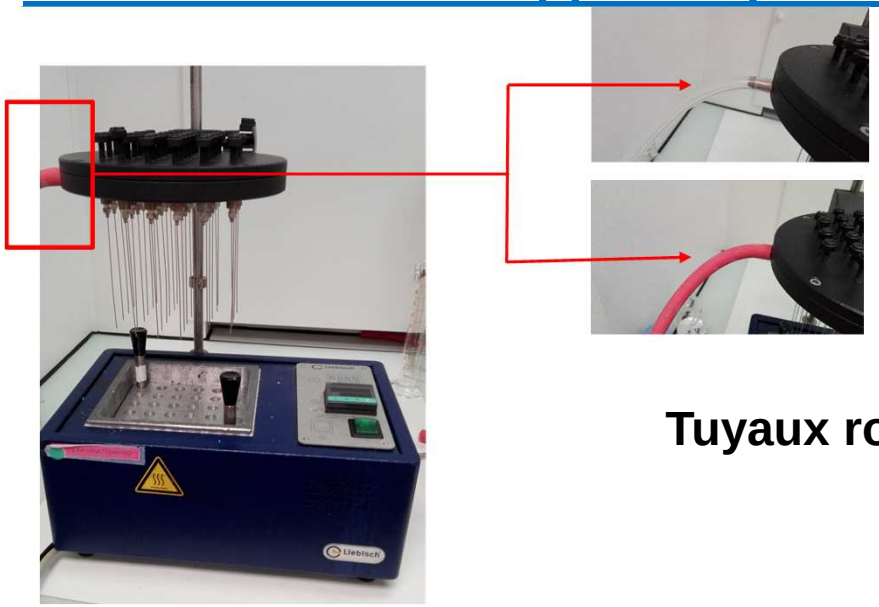
Pureté : 99,9999 %



Utilisation de bouteille d'azote

→ Diminution contamination

VII/ Contamination apportée par les tuyaux d'azote



Tuyaux rouge relargue deux fois moins de BPA

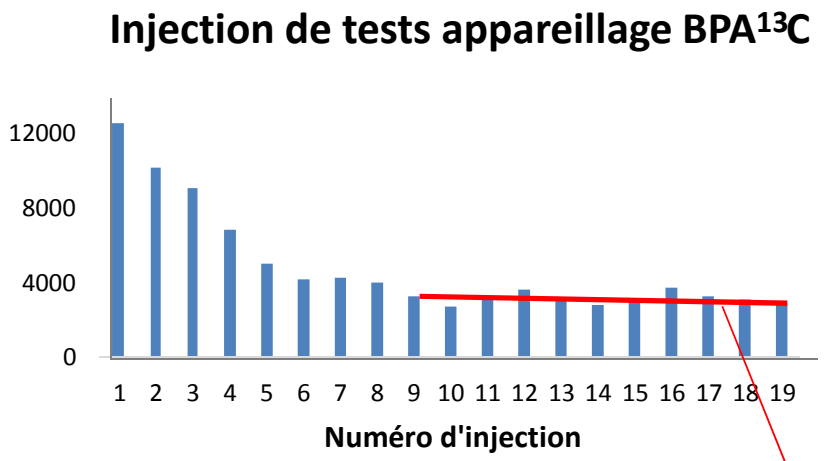
VIII/ Contamination croisée lors de l'évaporation

L'ajout d'aluminium permet d'éviter les contaminations d'un échantillon à l'autre

IX/ Contamination apportée lors de l'injection

Utilisation d'un test appareillage : solution de ^{13}C BPA de solution connue de 1 pg/µL

Injection de ces tests pour contrôler la contamination du BPA



Obtention d'une valeur moyenne qu'il est possible de retrancher au blanc

Quels sont les leviers?

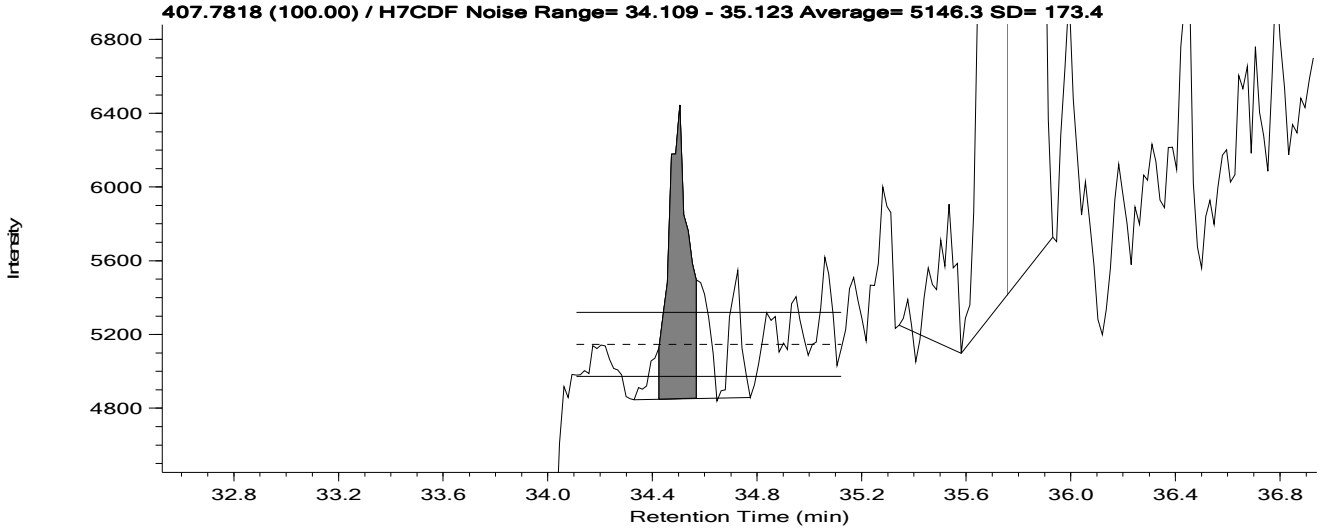
- Doser plusieurs familles en même temps (nous)
- Limiter la contamination croisée (nous et vous)
- **Concentrer au maximum l'extrait pour abaisser les LOQ (nous)**

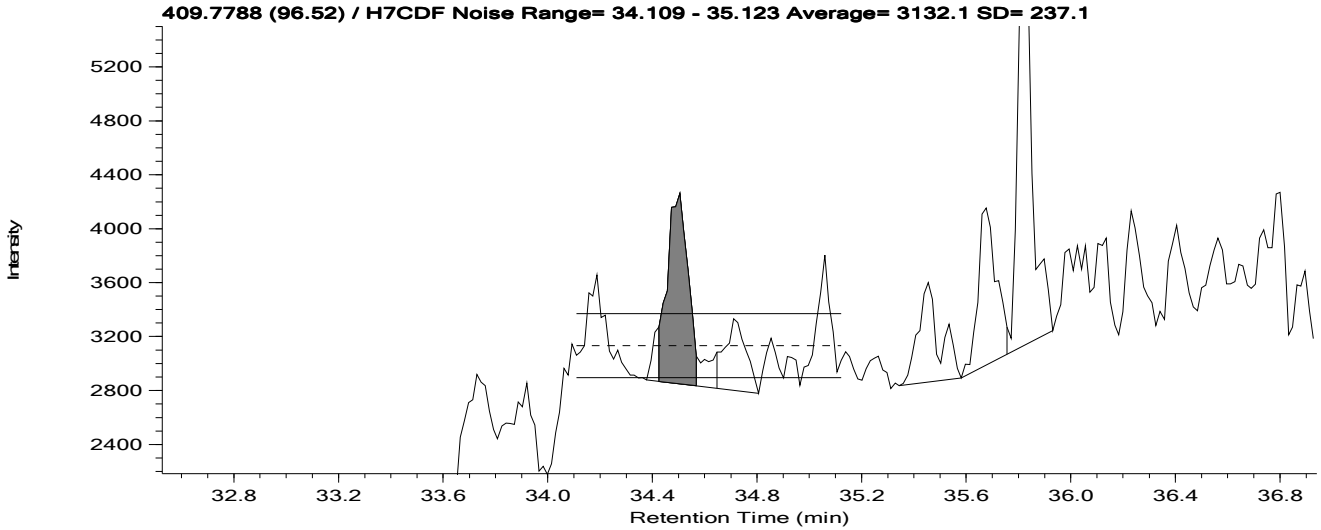
Comment gérer le signal

DQ Noise View JEOL DioK V4.02 2015/03/12 16:13:05 Page 1

DqData: 800-2-diox-020215 (EPA-1613, DB-5MS), Injection= 14.2327-23 (UNK)

Original: 800-2-diox-020215001.mfl, InjectionNo= 26, Sample= 14.2327-23, Date= <Date>

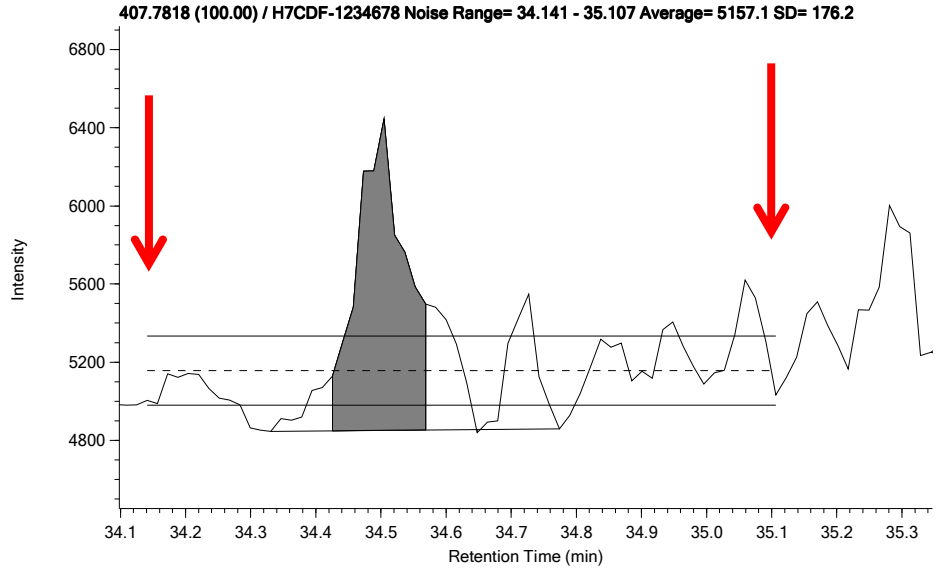




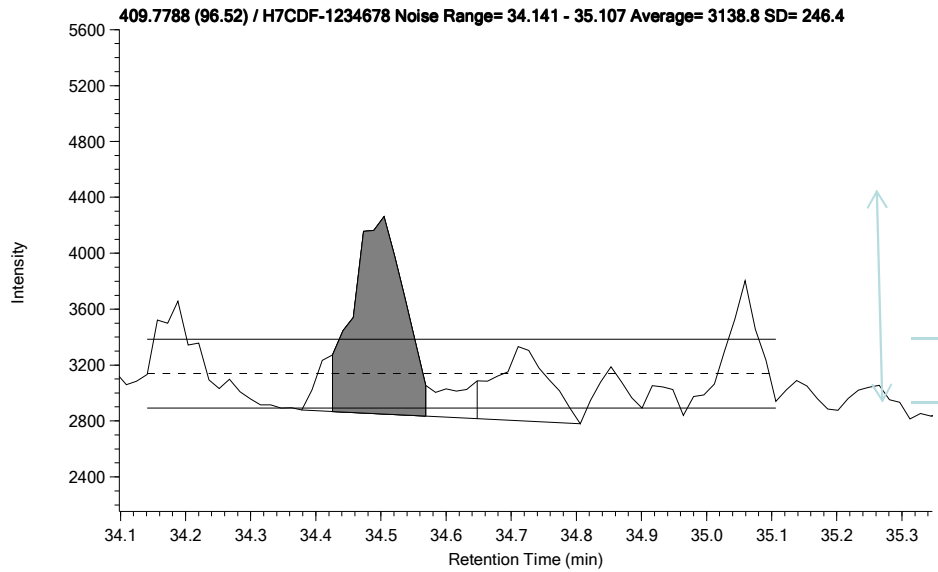
DQ Noise View JEOL DioK V4.02 2015/03/04 16:44:04 Page 1

DqData: 800-2-diox-020215 (EPA-1613, DB-5MS), Injection= 14.2327-23 (UNK)

Original: 800-2-diox-020215001.mfl, InjectionNo= 26, Sample= 14.2327-23, Date= <Date>



S/N= 4.6



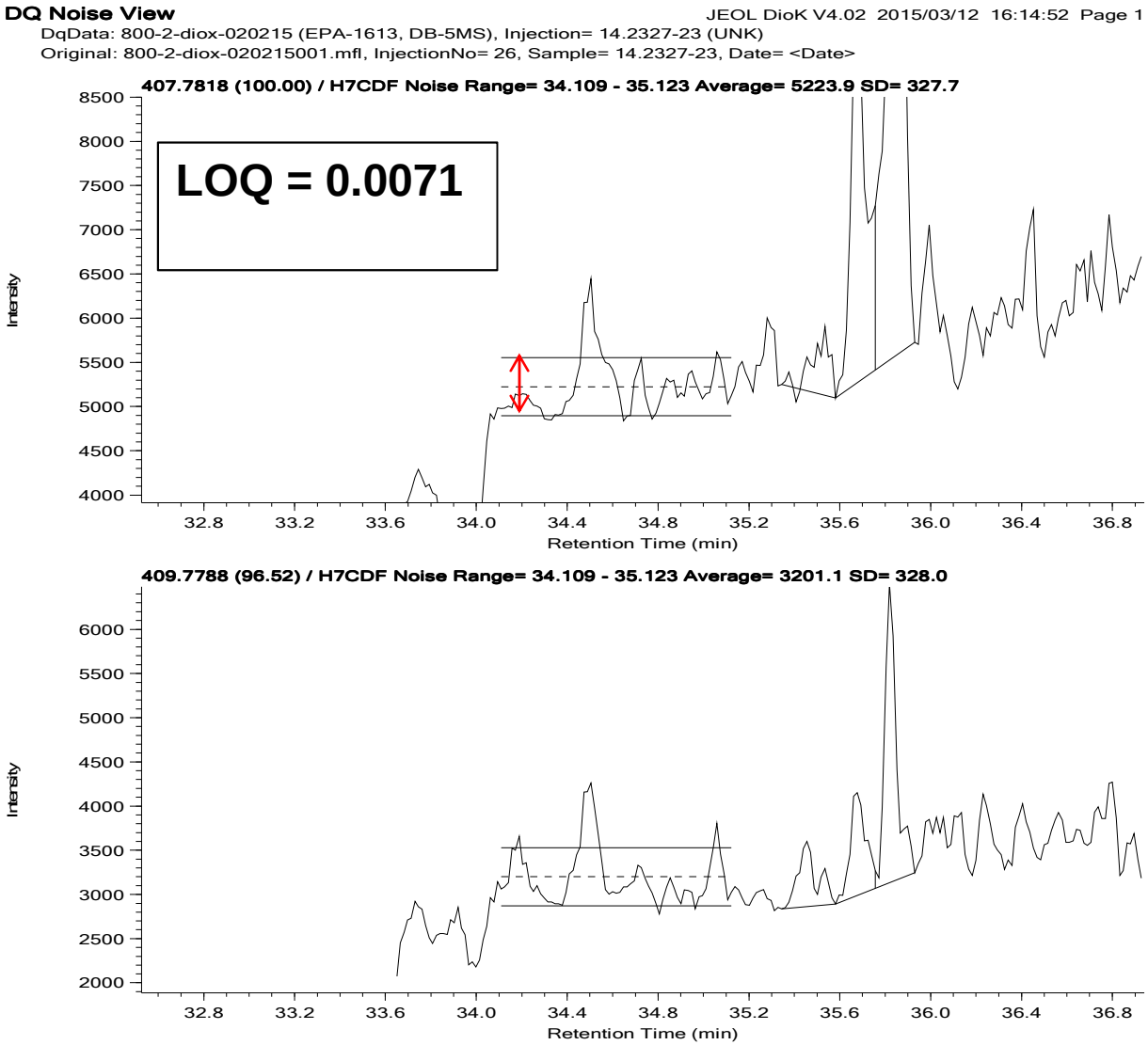
S/N_{mean} = 4.2 (3.8)

C = 0.0094

LOQ =0.0062

$LOQ_{calculated}$=0.0067 (0.0074)

S/N= 3


DQ Noise View
JEOL DioK V4.02 2015/03/12 16:14:52 Page 1
DqData: 800-2-diox-020215 (EPA-1613, DB-5MS), Injection= 14.2327-23 (UNK)
Original: 800-2-diox-020215001.mfl, InjectionNo= 26, Sample= 14.2327-23, Date= <Date>
407.7818 (100.00) / H7CDF Noise Range= 34.109 - 35.123 Average= 5223.9 SD= 327.7
LOQ = 0.0071
Intensity
Retention Time (min)
409.7788 (96.52) / H7CDF Noise Range= 34.109 - 35.123 Average= 3201.1 SD= 328.0
Intensity
Retention Time (min)

BLANC POUR PCDD/F exprimé en pg/µL

		260115	260115	260115d	260115e	020215	020215b	020215c	020215d	020215EIL	020215EIL	090215 EIL	090215 EIL	090215	090215b	090215d	160215	160215b	190215	240215
Compoun	Isomer	bl buchi poissons 3	bl miura	bl poissons 4	bl poissons 5	bl poissons 6	bl poissons 7	bl poissons 8	bl miura	Blc colonne EIL	Blanc buchi EIL	Blanc colonne EIL	Blanc buchi EIL	bl buchi biomonitor	Bl Buchi Silure	Blans buchi silure 2	bl buchi	Blanc buchi biomonitor	bl buchi ENTPE	bl buch
		800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2	800-2
T4CDD	2378	0,0027	0,0018	0,0008	ND	ND	ND	0,0022	ND	ND	ND	0,0011	0,0007	ND	ND	ND	ND	0,0021	ND	0,001
P5CDD	12378	0,0018	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0063	ND	ND	0,0024	ND	ND	ND	ND	0,0026	0,0019	ND	ND
H6CDD	123478	0,0012	0,0023	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0008	0,0016	ND	ND	ND	0,0034	0,0022	ND	ND
H6CDD	123678	0,0026	0,0025	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0037	ND	ND	ND	0,003	0,0031	ND	0,003
H6CDD	123789	0,0019	ND	ND	ND	ND	ND	0,0037	0,0059	ND	ND	ND	0,0017	ND	ND	ND	ND	0,0024	ND	ND
H7CDD	1234678	0,0074	0,0026	0,0152	0,0164	0,0134	0,017	0,0114	ND	0,0136	0,0098	0,0055	0,0389	0,0193	0,0046	0,0054	0,0047	0,0084	0,0071	0,007
O8CDD	12346789	0,0204	ND	0,0257	0,0582	0,039	0,0521	0,0246	ND	0,0244	0,024	0,0193	0,1602	0,0315	0,0221	0,0148	0,0186	0,0235	0,0178	0,011
T4CDF	2378	0,0737	0,0013	0,0086	ND	ND	0,0051	0,002	0,0025	ND	ND	0,0042	0,0012	0,0023	ND	0,0033	0,0028	0,0034	0,0046	0,001
P5CDF	12378	0,0045	ND	ND	0,0069	ND	ND	ND	ND	0,0045	ND	0,0028	0,0018	0,0011	ND	ND	0,0015	0,001	ND	0,001
P5CDF	23478	0,0066	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0029	ND	0,0022	ND	ND	0,0022	0,003	0,0032	0,001
H6CDF	123478	0,0041	ND	0,0041	ND	ND	ND	0,0027	ND	0,0048	0,0034	0,0029	0,0034	0,0049	ND	0,0051	0,0037	0,0031	0,0043	0,003
H6CDF	123678	0,0033	ND	0,0051	ND	ND	ND	0,001	ND	0,0034	0,0028	0,0016	0,0019	0,0007	ND	0,0027	0,0012	0,0014	0,0037	0,002
H6CDF	123789	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0014	ND	ND	ND	0,001	ND	0,0017	ND	ND	0,0018	ND	ND	0,000
H6CDF	234678	0,0015	ND	0,0021	ND	0,0078	ND	0,0035	ND	ND	ND	0,0017	ND	0,0018	ND	ND	0,0019	0,0013	ND	0,001
H7CDF	1234678	0,0045	0,0024	0,0047	ND	ND	ND	0,003	ND	ND	ND	0,0045	0,0067	0,0095	ND	0,0033	0,0052	0,0048	0,0049	0,005
H7CDF	1234789	ND	0,0067	ND	ND	ND	ND	0,0025	ND	ND	ND	0,0013	0,0016	0,0031	0,0021	0,003	0,0016	0,0027	0,0028	0,001
O8CDF	12346789	0,0088	0,0097	0,0122	ND	ND	0,0153	0,0077	ND	0,0178	ND	0,0086	0,0114	0,0178	0,0172	0,0134	0,0121	0,0192	0,0097	0,009
		OK																		

BLANC POUR PCB exprimé en pg/µL

	260115	260115	260115b	260115b	260115c	260115d	020215	020215b	020215c	020215EIL	020215EIL	090215 EIL	090215 EIL	090215	090215c	090215f	160215b	160215b	160215c
Isomer	bl buchi poissons 3	bl miura	bl miura2	bl poissons 4	bl poissons 5	bl poissons 6	bl poissons 7	bl poissons 8	bl miura	Blc colonne EIL	Blanc buchi EIL	Blanc colonne EIL	Blanc buchi EIL	bl buchi biomonitor	Bl Buchi Silure	Blans buchi silure 2	Blanc buchi	Blanc buchi biomonitor	bl buchi ENTPE
	700	700	700	700	700	700	700	700	700	700	700	700	700	700	700	700		700	700
#28	0,0963	0,2395	0,354	0,0529	0,0661	0,1489	0,1907	0,1224	0,7449	0,0988	0,1644	0,0395	0,0796	0,8389	0,1382	0,3516	0,3161	0,1613	0,0908
#52	0,0782	0,1588	0,1499	0,0546	0,1329	0,1643	ND	0,0461	0,9118	0,1368	0,1533	0,0184	0,097	0,9719	0,0748	0,6237	0,1731	0,1554	0,0814
#101	0,1554	0,0572	0,1388	0,1125	0,2685	0,1915	0,2071	0,0822	ND	0,2615	0,182	0,0625	0,0936	0,9868	0,194	0,8297	0,4036	0,3509	0,0985
#123	ND	ND	ND	0,0027	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0101	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
#118	0,0892	0,0567	0,0957	0,0717	0,2787	0,1854	0,0527	0,0686	0,0954	0,1444	0,1	0,021	0,0677	0,7567	0,1535	0,3983	0,3574	0,1515	0,0477
#114	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0051	0,0107	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
#105	0,0218	0,0212	0,0394	0,015	0,0725	0,0341	ND	0,0208	0,0217	0,0406	0,0423	0,0115	0,0329	0,1666	0,0809	0,1106	0,0805	0,0253	ND
#153	0,3273	0,148	0,2492	0,272	0,5867	0,5768	0,2831	0,1726	ND	0,3424	0,3316	0,0498	0,1868	2,5629	0,7323	1,7872	0,9705	0,6219	0,2798
#138	0,1582	0,0651	0,1314	0,1256	0,5744	0,3992	0,1283	0,1011	0,1546	0,1578	0,1489	0,0208	0,1156	1,2322	0,3363	0,6568	0,7701	0,3376	0,1321
#167	ND	ND	ND	ND	0,0187	0,0195	ND	0,013	ND	ND	ND	ND	ND	0,0652	ND	0,0428	0,0329	ND	0,0177
#156	0,0201	ND	0,023	0,0058	0,0413	0,0188	ND	0,0121	0,017	ND	0,0123	ND	0,0143	0,0783	ND	0,0553	0,0636	0,0179	0,0176
#157	ND	ND	0,0076	ND	0,0092	0,0115	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0261	ND	0,0136	0,0121	ND	ND
#180	0,0846	0,0665	0,1053	0,0576	0,2718	0,209	0,1171	0,0477	ND	0,0589	0,1252	ND	0,0509	0,8658	0,2763	0,3114	0,6247	0,3186	0,1711
#189	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0028	0,0737	ND	ND
	OK				OK									OK pour échantillons extraits au buchi		ok			

Listes des molécules à quantifier

liste HAP sanitaire	*liste 3 HAP*	*liste complémentaire*	**analyses Laberca**
Benzo(b)fluoranthène	Anthracène	Naphtalène	
Benz[a]anthracene	Fluoranthène	Benzo(b)fluoranthène	
Benzo(a)pyrène	Benzo(a)pyrène	Benzo(k)fluoranthène	
Chrysene	Benzo(g,h,i)pérylène	Acenaphthylene	
	Indeno(1,2,3-cd)pyrène	Acenaphthene	
	Phenanthrene	Fluorene	
	Benz[a]anthracene	Dibenz[a,h]anthracene	
	Chrysene		
	Pyrene		
7PCDD/10PCDF			
PCB-DL+PCB-NDL	*liste 3 PCB*		*liste complémentaire*
	28, 52, 101, 138, 153, 180		77, 81, 126, 169,
	105, 118, 156		114, 123, 157, 167, 189
	liste 3 PBDE		*liste complémentaire*
	28, 47, 99, 100, 153, 154		197, 206, 207, 209
	183, (66, 85), **49**		
	pp'DDT, pp'DDD, pp'DDE,	analyse LEAV	
	αHCH, γHCH		
			MBT, DBT, TBT
	Hexachlorobenzène		
	Trichlorobenzènes		
	Pentachlorobenzène		
	liste MEDPOL		*liste complémentaire*
	Aldrine		Endrine
	Dieldrine		Isodrine
			Alachlore
			Atrazine
			Diuron
			Isoproturon
			Simazine
			Trifluraline
			Chlorfenvinphos
			Chlorpyrifos (éthylchlorpyrif
			Endosulfan (3)
			Pentachlorophénol
			Nonylphénols (4-nonylphén
			Octylphénol (4-(1,1', 3,3' -
			tétraméthylbutyl)-phénol))
			Chloro-alcanes (C10-13)
			Hexachlorobutadiène
			Benzène
			tétrachlorure de carbone
			1,2-dicholoroéthane
			Dichlorométhane
			Trichloroéthylène
			Trichlorométhane
			Dicofol
			Quinoxyfène

http://www.laberca.org
http://www.saraf-educ.org

And you for your attention !