

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

Programmes	PEST Max	WOMV Max	WOMV GSchV	Programmes	PEST Max	WOMV Max	WOMV GSchV		
Substances	Prix en Fr.	600.-	700.-	350.-	Substances	Prix en Fr.	600.-	700.-	350.-
<b>Médicaments</b>				<b>Substances actives des pesticides et métabolites (suite)</b>					
Acétylsulfaméthoxazole <sup>2</sup>				Déséthyl-terbuthylazine					
Amisulpride				Désisopropyl-Atrazine					
Aténolol				Desmétryne					
Azithromycine				Desphényl-chloridazone					
Bézafibrate				Diazinon					
Candésartan				Dichlorprop					
Carbamazépine				Diffubenzuron					
Citalopram				Diméthachlore ESA					
Clarithromycine <sup>2</sup>				Diméthachlore OXA					
Diclofénac				Diméthénamide ESA					
Hydrochlorothiazide				Diméthoate					
Irbésartan				Diuron					
Acide méfénamique				Epoxiconazole					
Métoprolol				Éthofumesate <sup>2</sup>					
Naproxène				Fluométuron					
Sotalol				Imidaclopride					
Sulfaméthazine				Iprovalicarbe					
Sulfaméthoxazole				Irgarol					
Triméthoprime				Iso-chloridazone					
Venlafaxine				Isoproturon					
<b>Produits de contraste</b>				Isoproturon-desméthyl					
Acide diatrizoïque				Linuron					
Iohexol <sup>2</sup>				MCPA					
Ioméprol				Mécoprop					
Iopamidol				Mésotriène					
Iopromide				Métalaxyl					
<b>Produits industriels</b>				Métamitron					
Benzotriazole <sup>2</sup>				Métamitron-désamino					
Estrone				Métazachlore					
Tolyltriazole				Métazachlore ESA					
Triclosan				Métazachlore OXA					
5,6-Diméthylbenzotriazole				Méthoxyfenozid					
<b>Édulcorant artificiel</b>				Méthyl-desphénylchloridazon					
Acésulfame				Métolachlore					
Cyclamate				Métolachlore ESA					
Saccharine				Métolachlore NOA					
Sucralose <sup>3</sup>				Métolachlore OXA					
<b>Substances actives des pesticides et métabolites</b>				Métribuzine					
Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique				Monuron					
2,6-Dichlorobenzamide				Napropamide					
Alachlore				Nicosulfuron <sup>1</sup>					
Alachlore ESA				Norflurazone					
Alachlore OXA				Oxadixyl					
Amétryne				Penconazole					
Atrazine				Pirimicarbe					
Azoxystrobine				Prométryne					
Bentazone				Propamocarbe					
Boscalid				Propazine					
Bromacil				Propazine-2-hydroxy					
Carbendazime				Propiconazole					
Chloridazone				Pyriméthanol					
Chlorpyrifos <sup>1</sup>				Simazine					
Chlorpyrifos-méthyl				Sulcotriène					
Métabolite du chlorothalonil R417888				Tébuconazole					
Métabolite du chlorothalonil R471811				Terbutryn					
Métabolite du chlorothalonil SYN507900				Terbuthylazin					
Chlortoluron				Terbuthylazine SYN 545666 (LM6)					
Cyanazine				Terbuthylazine-2-hydroxy					
Cyproconazole				Terbuthylazine-déséthyl-2-hydroxy					
Cyprodinil				Thiaclopride					
DEET				Thiaclopride-amide					
Déséthyl-atrazine				Thiaméthoxam					

Le seuil de quantification (SQ) pour le programme d'analyse **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 : <sup>1</sup> 0.005 µg/L, <sup>2</sup> 0.02 µg/L, <sup>3</sup> 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 (par exemple le diclofénac) et les édulcorants (par exemple l'acésulfame) proviennent de la médecine humaine et des ménages. Les additifs anticorrosifs (par exemple 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 méthode de choix est la séparation par chromatographie liquide (LC) suivie d'une détection par spectrométrie de masse (MS).

## Programmes d'analyse avec «target analysis»

La recherche d'une certaine substance cible et sa quantification («target analysis») n'est possible que si cette substance est disponible sous forme pure, de sorte que la série de dilutions pour la quantification puisse être préparée à partir de celle-ci. 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). Voir les cellules bleues de la colonne «**PestMax**» du tableau ci-contre.

Les deux programmes d'analyses **WOMVMax** et **WOMVGSchV** visent à analyser les micropolluants importants pour les eaux de surface. Le programme **WOMVGSchV** analyse les substances qui ont une valeur d'exigence pour les eaux de surface selon l'annexe 2 de l'OEaux. Le programme **WOMVMax** contient encore d'autres substances qui sont importantes dans ce contexte. Toute la liste ci-contre de 120 substances peut par ailleurs être mesurée dans le programme d'analyse: **MV-Max** à CHF 1000.-.

D'autres substances sont ajoutées en continu, dont l'importance pour l'environnement fait l'objet de discussions. Par conséquent, nous développons des méthodes d'analyse sur demande et les intégrons dans les programmes d'analyses correspondants. Les substances dont la méthode d'analyse est en cours de validation peuvent également être mesurées sur demande en dehors de la portée de l'accréditation selon la norme SN EN ISO/IEC 17025.

## 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. Sans vouloir connaître chaque substance, on peut se faire une «idée» de la contamination générale. 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 diazines 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). La poursuite du travail d'analyse permet d'améliorer le degré d'identification pour chaque substance suspecte jusqu'à l'identification unique (niveau 1), qui ne peut être obtenue qu'à l'aide de la substance de référence pure.

## Évaluation du non-target screening

Dans le cadre d'un «non-target screening», le HRMS-fullscan cherche automatique-

ment 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 : tous les signaux reçus 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.

Screening LC-MS	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		
Targetanalysis	Suspect-screening	Non-target-screening	1	maximale	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	minimale	Masse moléculaire	HRMS-Fullscan