

Caractérisation d'un pilote de traitement tertiaire par une approche globale basée sur la spectrométrie de masse haute résolution



Emmanuelle VULLIET

Institut des Sciences Analytiques – UMR 5280

Contexte

Activités anthropiques responsables d'une contamination généralisée de l'environnement

- 135 millions de substances organiques ou inorganiques connues et enregistrées (CAS)
- 35 millions sont disponibles commercialement
- 60 000 sont incluses dans des produits de consommation courante

STEP représentent une source jugée importante de rejets de micropolluants dans les milieux aquatiques

Diminution de la présence de micropolluants dans les milieux récepteurs

- interdiction ou réduction de l'usage de certaines substances
- augmentation de l'efficacité des ouvrages d'assainissement existants
- évolution des ouvrages vers la mise en place d'un traitement tertiaire

Objectif

Investigations des performances d'un pilote tertiaire



Evaluation de la qualité des eaux réellement traitées par le pilote



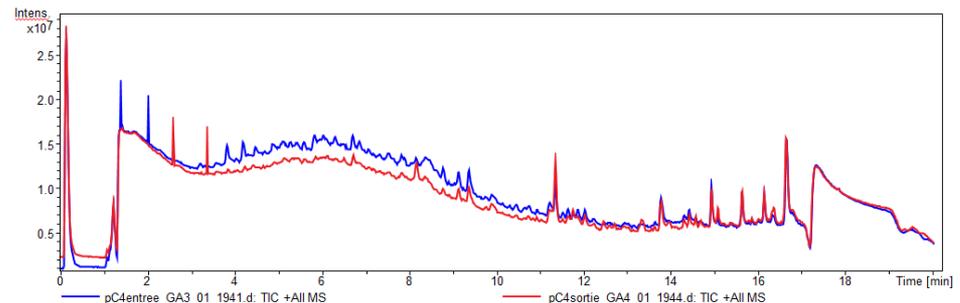
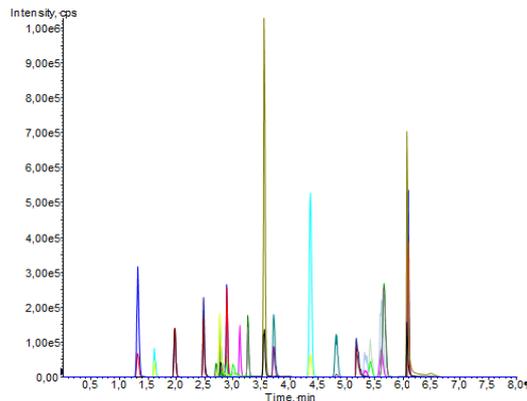
LC-MS/MS (QqQ)

Quantification de traces
de composés d'intérêt
prédéfinis

LC-HRMS (QToF)

Screening de suspects
base de données

Screening non ciblé
2 approches de retraitement

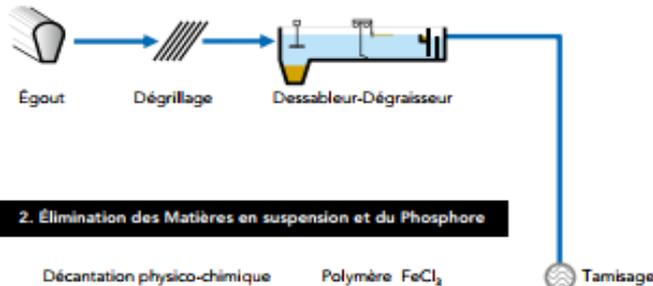


Présentation du pilote CarboPlus®

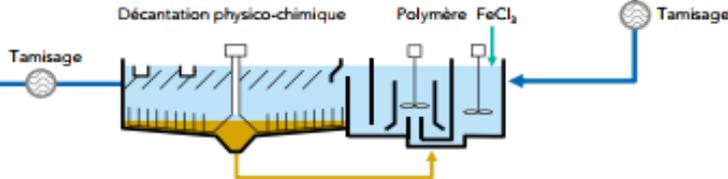
STEP Seine-Centre (Colombes, 92)

900 000 EH

1. Prétraitement

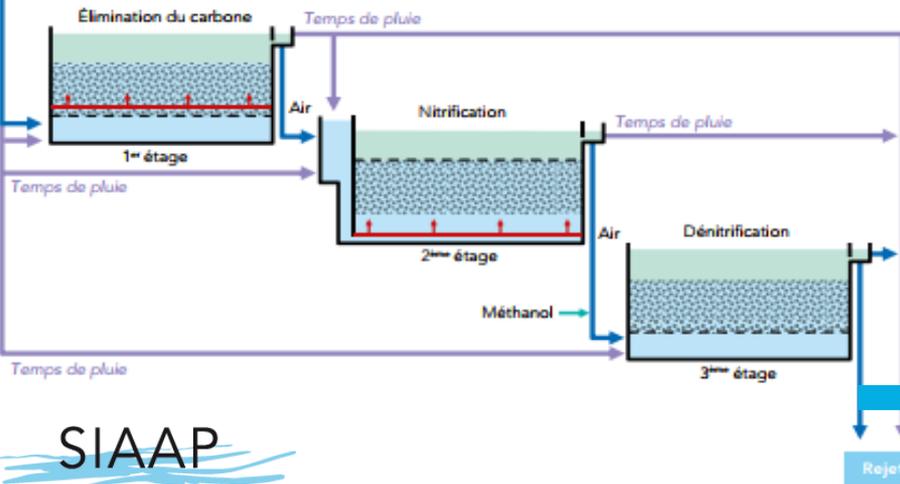


2. Élimination des Matières en suspension et du Phosphore



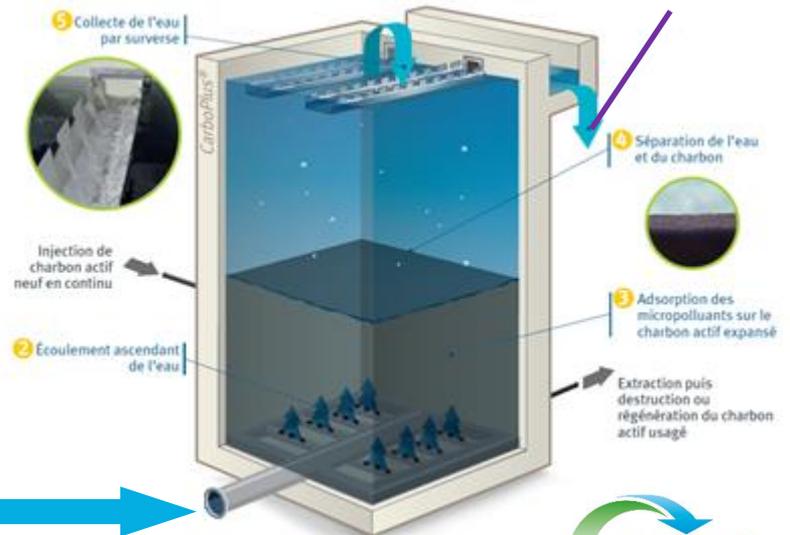
3. Élimination du Carbone et de l'Azote

Temps sec / Temps de pluie



Prélèvement 24h Entrée/Sortie du pilote
8 campagnes (C1 à C8) sur 4 mois

Sortie de l'eau traitée



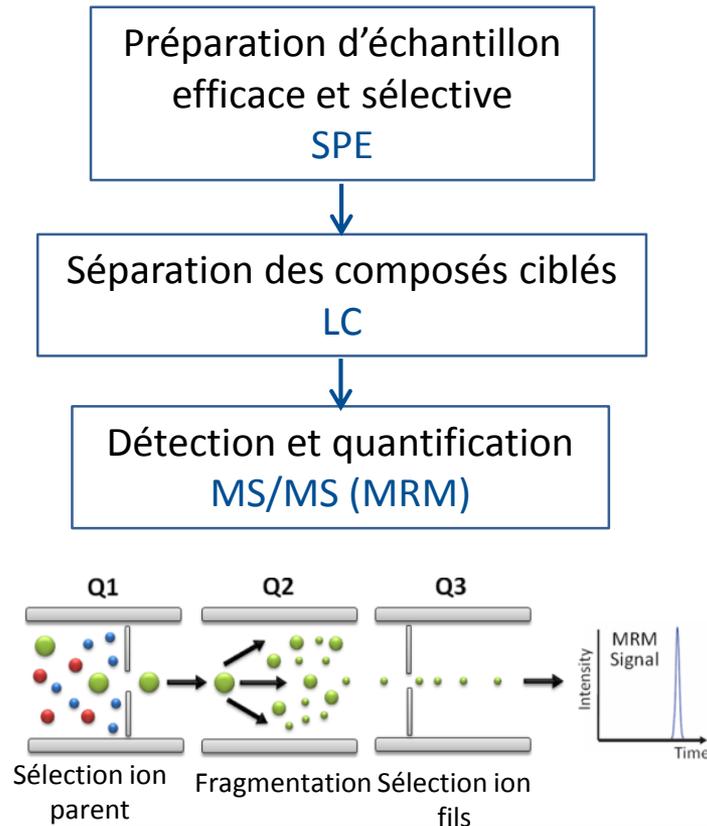
Entrée du pilote

Quantification de 28 composés d'intérêt émergent

Recherche de sélectivité et sensibilité

Composés visés:

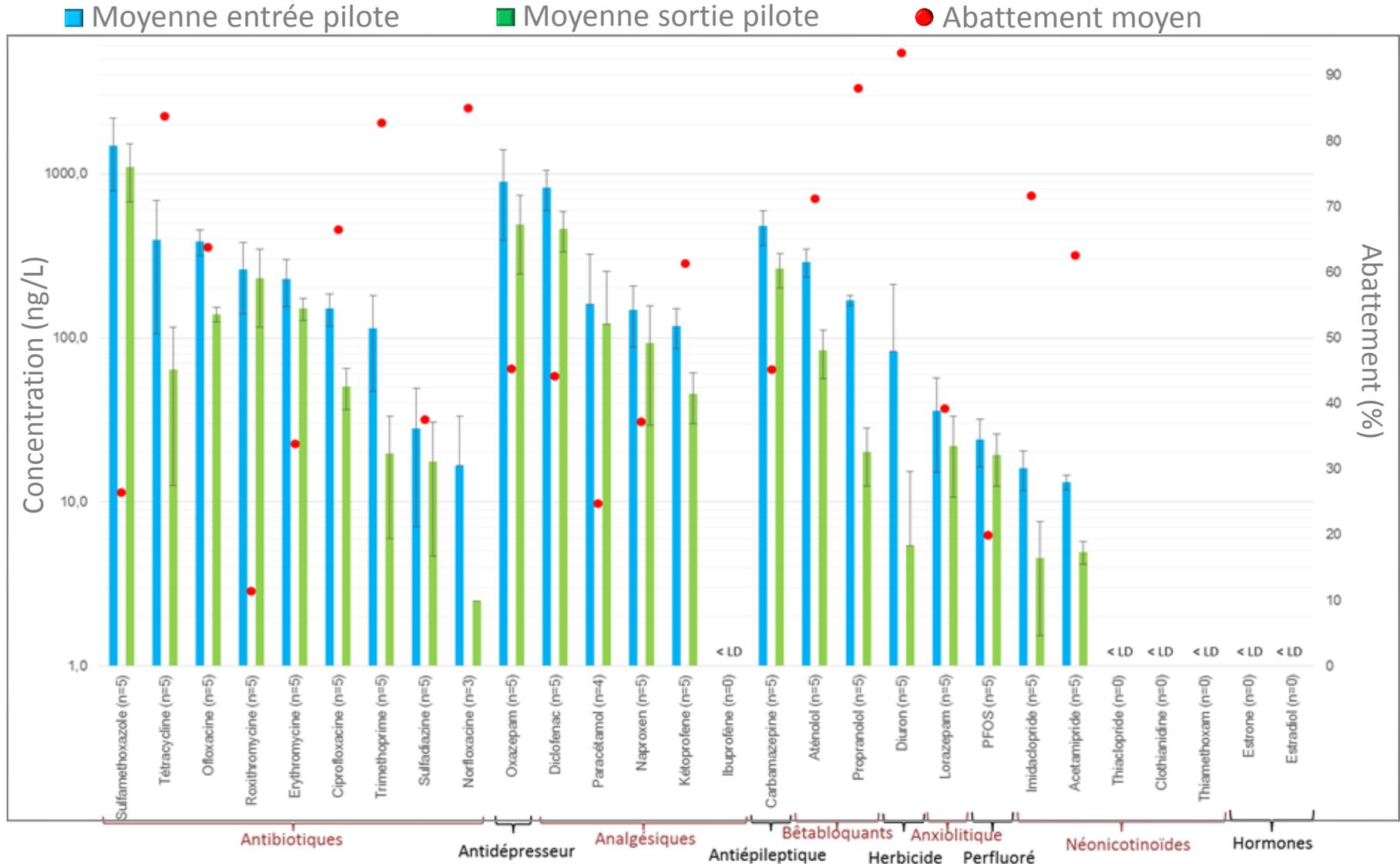
- 20 médicaments
- 5 pesticides
- 2 estrogènes
- PFOS



	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)	Entrée C6 (ng/L)	Sortie C6 (ng/L)	Abattement (%)
Paracétamol	0,5	0,5	407,8	255,2	37
Naproxène	0,5	2,0	186,3	89,6	52
Diuron	0,5	1,0	10,2	< LOD	100
Carbamazépine	0,1	1,0	474,0	257,2	46
Sulfadiazine	0,5	1,0	16,4	9,4	43
Sulfaméthoxazole	0,5	1,0	2431,0	1614,1	34
Kétoprofène	0,1	1,0	169,4	60,5	64
Propranolol	0,1	1,5	159,5	22,6	85
Aténolol	0,5	1,0	324,4	109,1	66
Oxazépam	0,5	2,0	657,5	344,7	47
Triméthoprim	0,5	2,0	223,6	45,0	79
Diclofénac	0,1	0,5	922,7	535,4	42
Norfloxacine	3,0	5,0	< LOD	< LOD	/
Ciprofloxacine	7,0	35,0	203,4	57,5	71
Ofloxacine	0,5	1,0	378,8	138,8	63
Tétracycline	5,5	22,0	229,7	114,7	50
Erythromycine	1,0	4,0	189,0	134,3	28
Roxithromycine	0,1	0,5	260,2	275,5	-5
Lorazépam	0,1	1,5	22,7	14	38
Acétamipride	0,1	1	15	5,8	61
Thiaclopride	2	2,5	< LOD	< LOD	/
Clothianidine	0,2	3	< LOD	< LOD	/
Imidaclopride	0,2	2	11,4	< LOD	100
Thiaméthoxam	0,3	0,5	< LOD	< LOD	/
Ibuprofène	2	6	< LOD	< LOD	/
Estrone	1,5	2,5	< LOD	< LOD	/
17β-Estradiol	5	7	< LOD	< LOD	/
PFOS	0,3	0,5	18,1	11	39

Quantification de 28 composés d'intérêt émergent

Evaluation et suivi de l'efficacité du pilote sur la base de données quantitatives



Analyse non ciblée par LC-HRMS

Processus analytique

- Filtration
- Double extraction SPE : HRX et Cunax2
- Pool des 2 extraits
- Évaporation et reprise dans l'eau
- Congélation 48h



Préparation d'échantillon



Analyse



Retraitement des données



Couplage LC-HRMS

U3000 (Thermofisher Scientific®), MAXIS Plus (Bruker®)

- Colonne : Acclaim RSLC C18 (2,1x100mm, 2,2µm)
- Phases mobiles : A : eau/MeOH (90/10) +5mM NH₄OH +0,01% HCOOH
B : MeOH +5mM NH₄OH +0,01% HCOOH
- Ionisation ESI+, ESI-
- Analyses en mode MS, AutoMSMS et bbCID de 80 à 1000 Da
- QC intra- et inter- séquences, blancs analytiques, triplicats d'injection



Objectif

Investigations des performances d'un pilote tertiaire



Evaluation de la qualité des eaux réelles traitées par le pilote



LC-MS/MS (QqQ)

Quantification ciblée
d'une liste de composés
d'intérêt prédéfinis

LC-HRMS (QToF)

Screening de suspects
base de données

Screening non ciblé
2 approches de retraitement

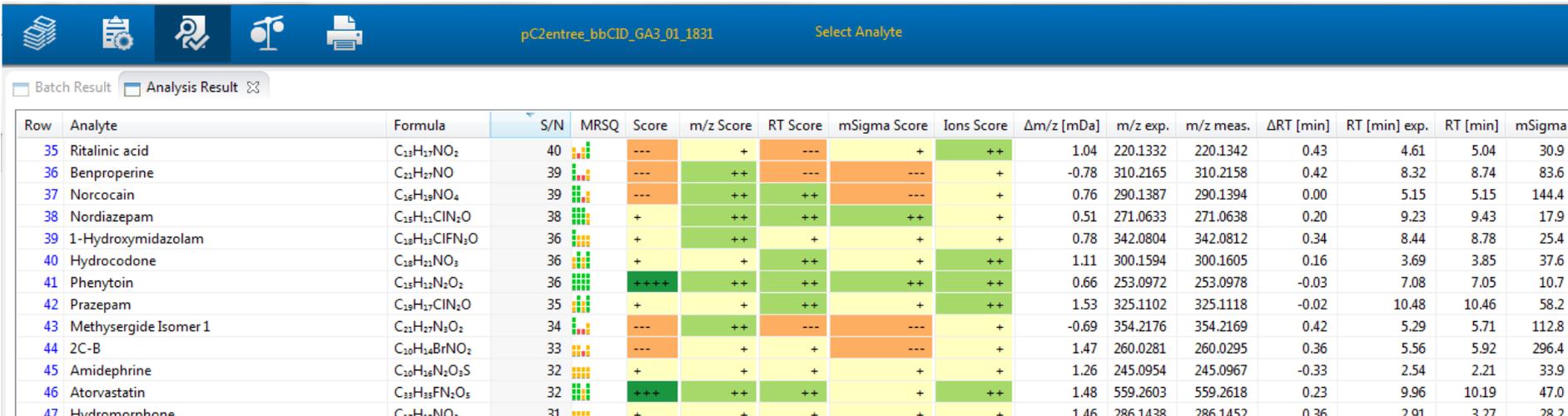
Screening de suspects

Recherche en base de données Bruker® en mode ESI et ESI-

- PesticideScreener 2.0
 - ToxScreener 2.0
- } 2500 substances pharmaceutiques et pesticides

Critères d'identification de niveau de confiance 2* :

Précision en masse, temps de rétention et profil isotopique sur l'ion parent et les ions fragments



The screenshot shows the Bruker software interface with a table of search results. The table has 17 columns: Row, Analyte, Formula, S/N, MRSQ, Score, m/z Score, RT Score, mSigma Score, Ions Score, Δm/z [mDa], m/z exp., m/z meas., ΔRT [min], RT [min] exp., RT [min], and mSigma. The results are sorted by m/z Score, with the highest score (47) at the top. The table includes 17 rows of data for various analytes such as Ritalinic acid, Benproperine, Norcocain, Nordiazepam, 1-Hydroxyimidazolam, Hydrocodone, Phenytoin, Prazepam, Methysergide Isomer 1, 2C-B, Amidephrine, Atorvastatin, and Hydromorphone.

Row	Analyte	Formula	S/N	MRSQ	Score	m/z Score	RT Score	mSigma Score	Ions Score	Δm/z [mDa]	m/z exp.	m/z meas.	ΔRT [min]	RT [min] exp.	RT [min]	mSigma
35	Ritalinic acid	C ₁₃ H ₁₇ NO ₂	40		---	+	---	+	++	1.04	220.1332	220.1342	0.43	4.61	5.04	30.9
36	Benproperine	C ₂₁ H ₂₇ NO	39		---	++	---	---	+	-0.78	310.2165	310.2158	0.42	8.32	8.74	83.6
37	Norcocain	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	39		---	++	++	---	+	0.76	290.1387	290.1394	0.00	5.15	5.15	144.4
38	Nordiazepam	C ₁₅ H ₁₁ ClN ₂ O	38		+	++	++	++	+	0.51	271.0633	271.0638	0.20	9.23	9.43	17.9
39	1-Hydroxyimidazolam	C ₁₈ H ₁₃ ClFN ₃ O	36		+	++	+	+	+	0.78	342.0804	342.0812	0.34	8.44	8.78	25.4
40	Hydrocodone	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	36		+	+	++	+	++	1.11	300.1594	300.1605	0.16	3.69	3.85	37.6
41	Phenytoin	C ₁₅ H ₁₁ N ₂ O ₂	36		++++	++	++	++	++	0.66	253.0972	253.0978	-0.03	7.08	7.05	10.7
42	Prazepam	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ O	35		+	+	++	+	++	1.53	325.1102	325.1118	-0.02	10.48	10.46	58.2
43	Methysergide Isomer 1	C ₂₁ H ₂₇ N ₅ O ₂	34		---	++	---	---	+	-0.69	354.2176	354.2169	0.42	5.29	5.71	112.8
44	2C-B	C ₁₀ H ₁₄ BrNO ₂	33		---	+	+	---	+	1.47	260.0281	260.0295	0.36	5.56	5.92	296.4
45	Amidephrine	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₂ S	32		+	+	+	+	+	1.26	245.0954	245.0967	-0.33	2.54	2.21	33.9
46	Atorvastatin	C ₃₃ H ₃₈ FN ₂ O ₅	32		+++	++	++	+	++	1.48	559.2603	559.2618	0.23	9.96	10.19	47.0
47	Hydromorphone	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	31		+	+	+	+	+	1.46	286.1438	286.1452	0.36	2.91	3.27	28.2

* Schymanski, E. L. et al. Analytical and Bioanalytical Chemistry 407, 6237–6255 (2015)

Screening de suspects

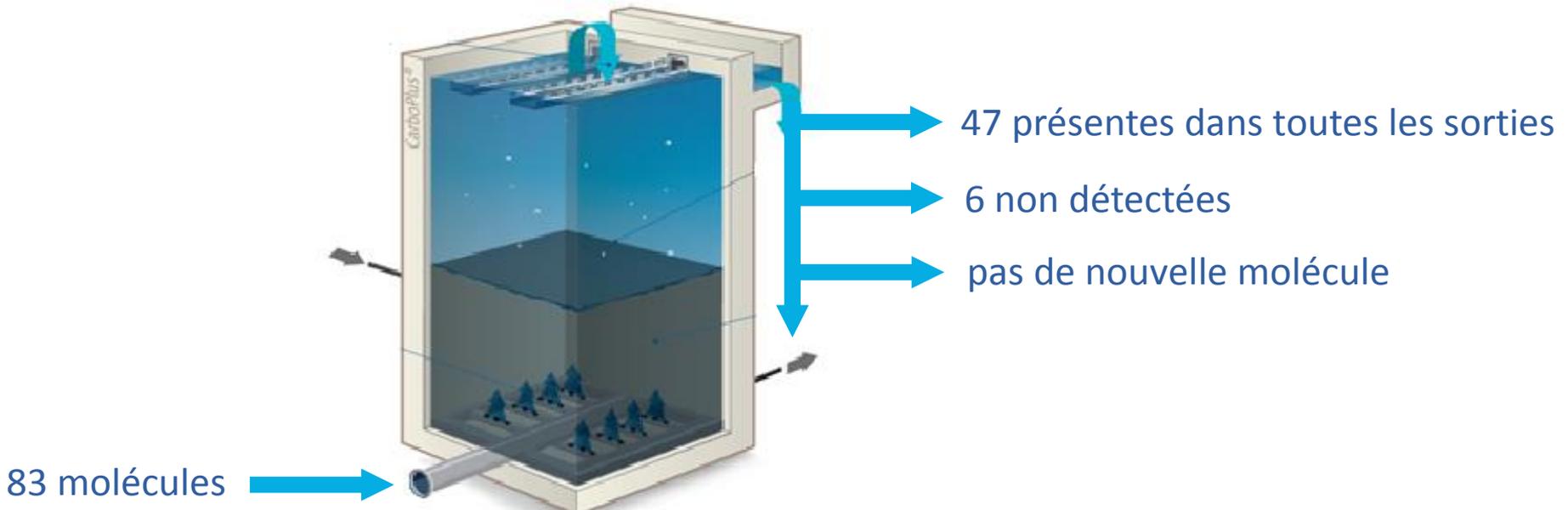
83 molécules identifiées

52 médicaments natifs: antihypertenseurs, antidépresseurs, analgésiques, antalgiques, antifongiques, bêta-bloquants, anxiolytiques, AINS, antiviraux

9 métabolites de médicaments

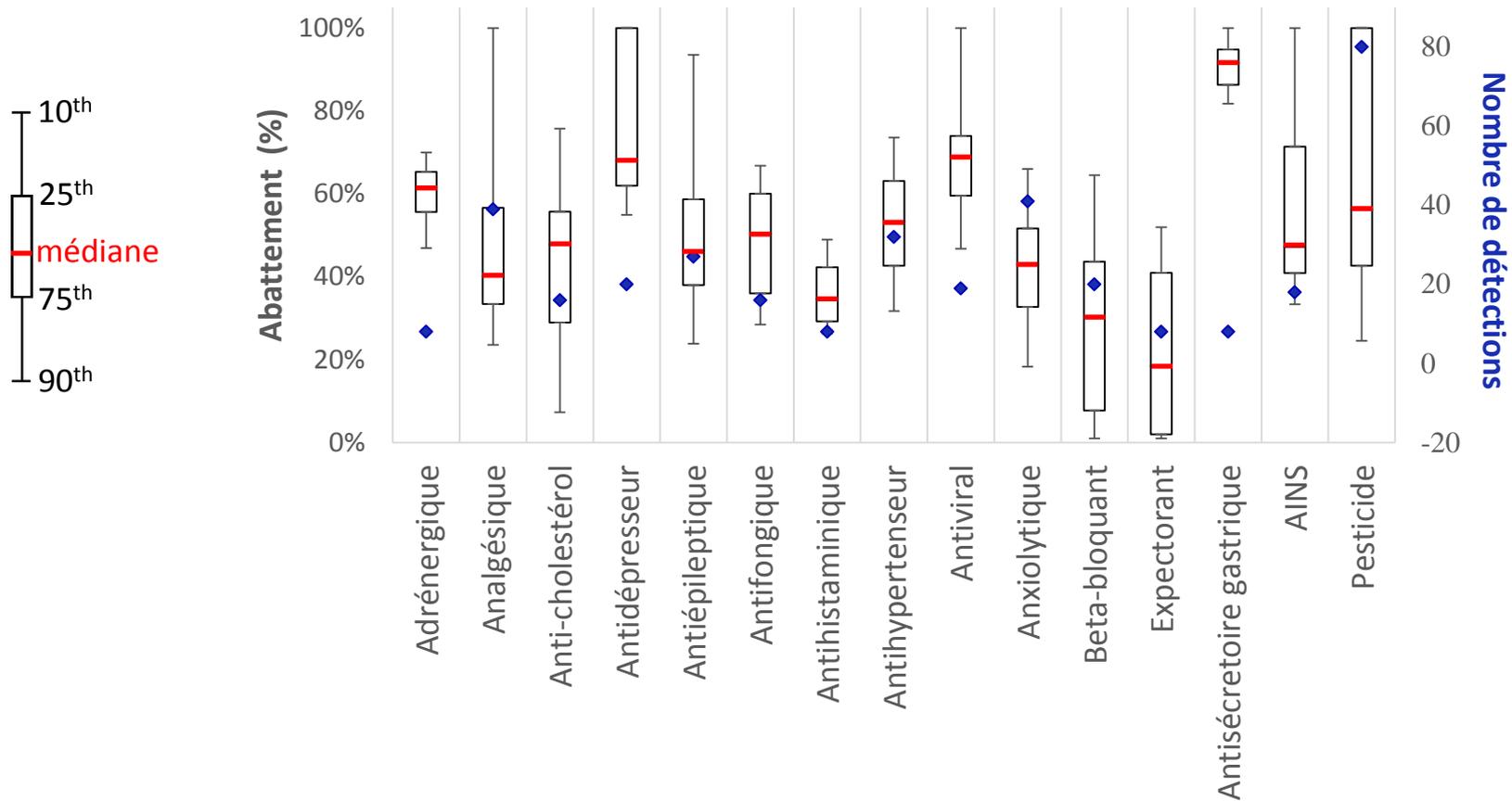
11 métabolites de drogues illicites

11 pesticides



Screening de suspects

83 molécules identifiées



- Grande disparité dans l'abattement des principales familles de médicaments et pesticides
- Intérêt du pilote pour améliorer l'abattement d'une grande variété de molécules

Objectif

Investigations des performances d'un pilote tertiaire



Evaluation de la qualité des eaux réelles traitées par le pilote



LC-MS/MS (QqQ)

Quantification ciblée
d'une liste de composés
d'intérêt prédéfinis

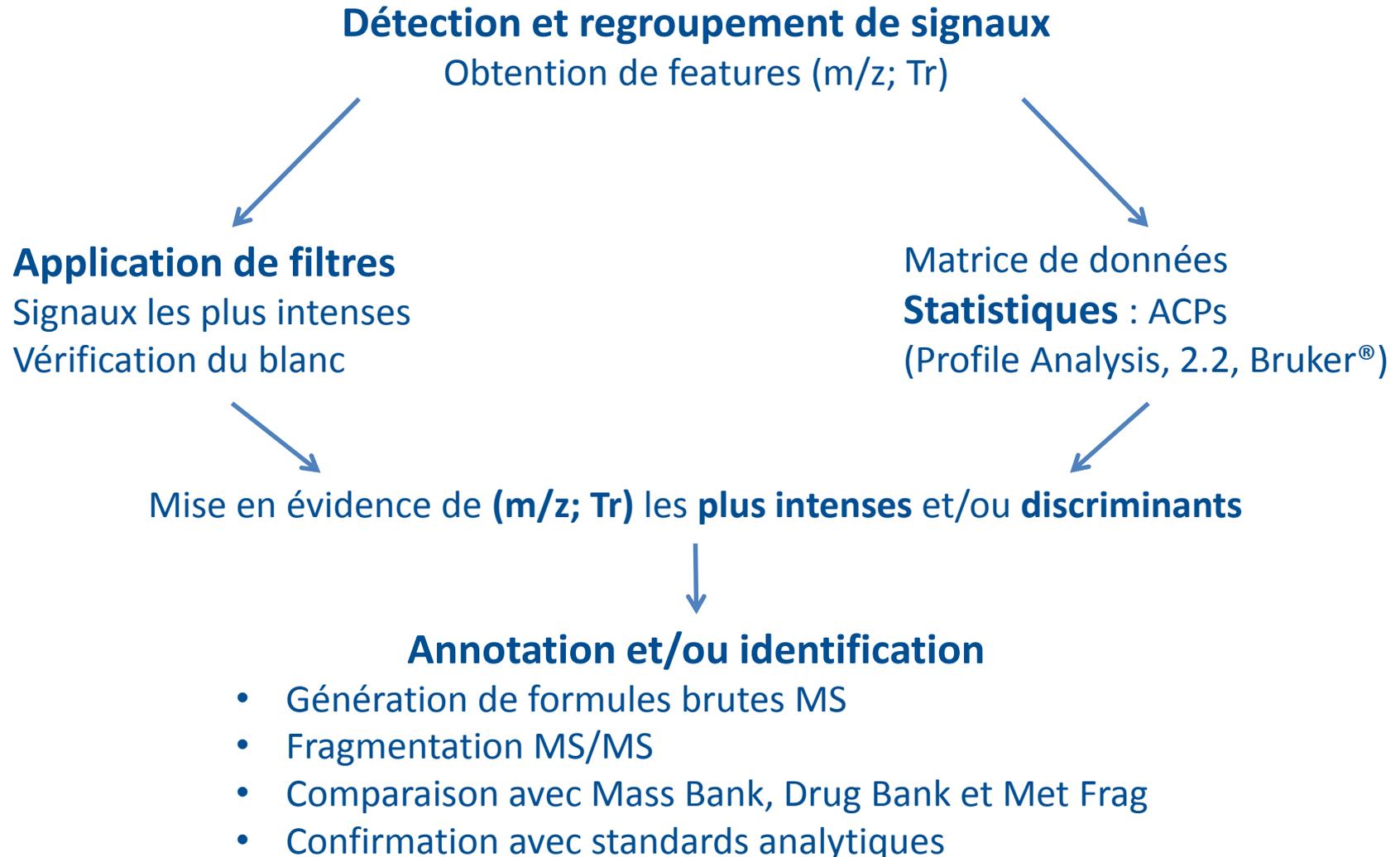
LC-HRMS (QToF)

Screening de suspects
base de données

Screening non ciblé
2 approches de retraitement

Screening non ciblé

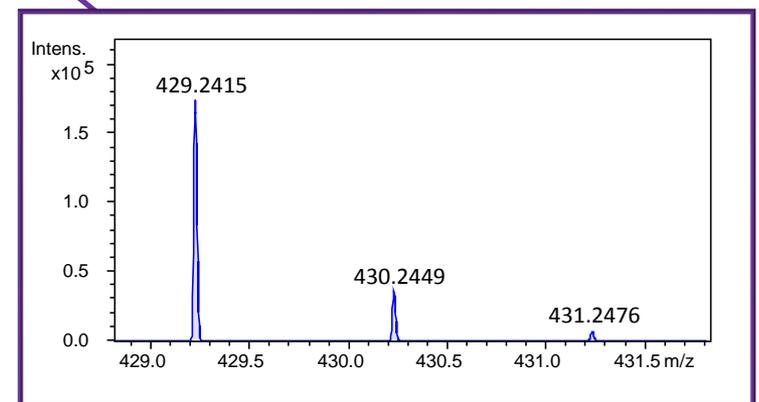
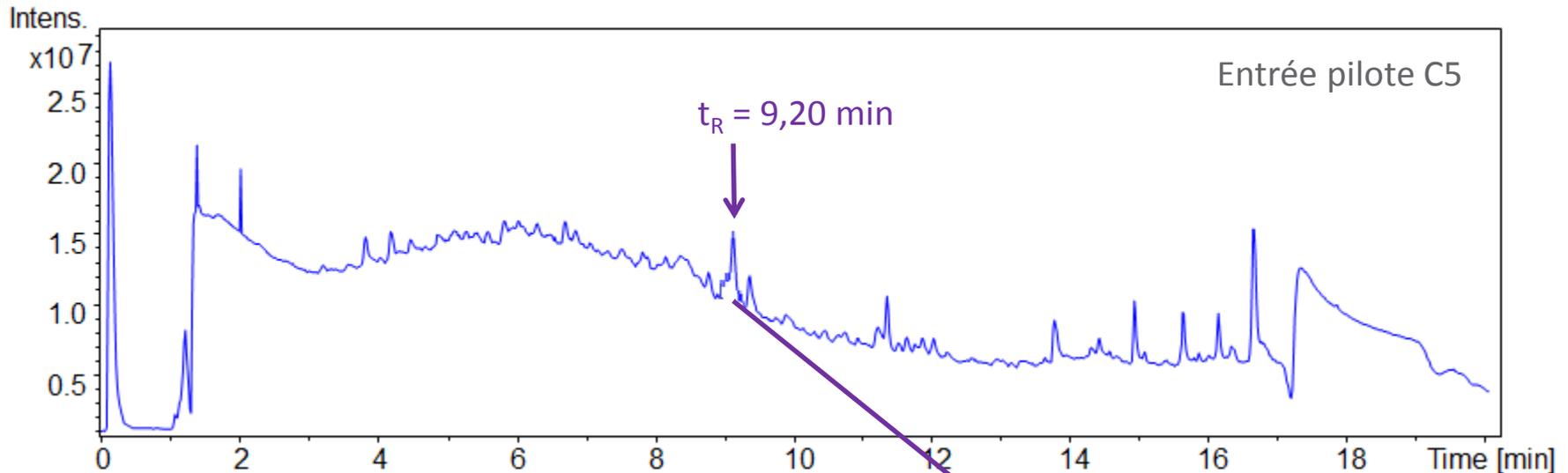
2 stratégies de retraitement



Screening non ciblé

Application de filtres: signaux les plus intenses

Exemple: identification de l'irbesartan niveau 1*



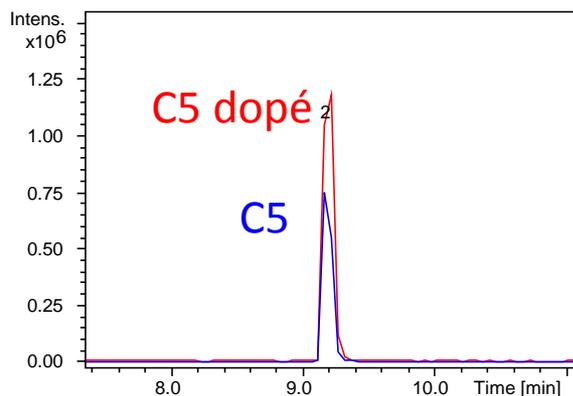
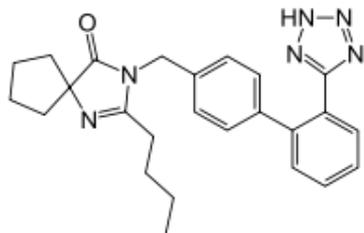
Formule brute	Masse Exacte Théorique	Masse Exacte Expérimentale	t_R (min)	Erreur (mDa)	Erreur (ppm)	mSigma
C ₂₅ H ₂₈ N ₆ O	429.2397	429.2415	9.20	-1.7	-4.0	0.9

* Schymanski, E. L. et al. Analytical and Bioanalytical Chemistry 407, 6237–6255 (2015)

Screening non ciblé

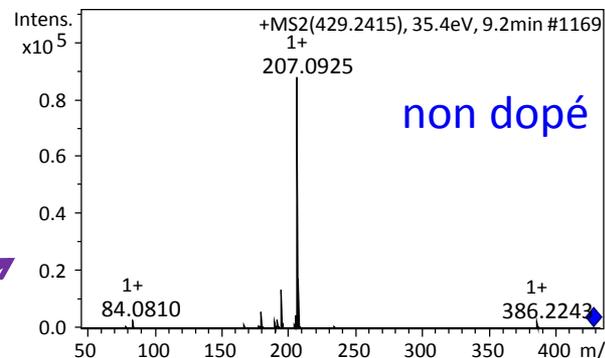
Application de filtres: signaux les plus intenses

Exemple: identification de l'irbesartan niveau 1*



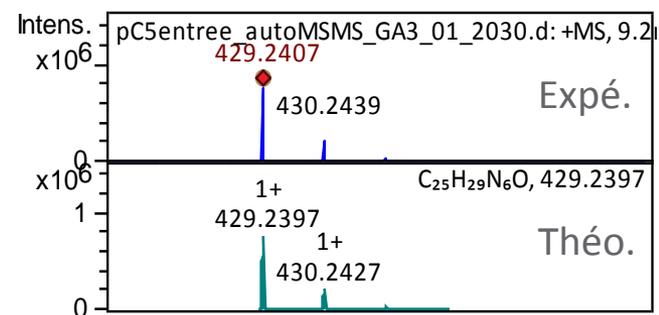
EIC m/z 429,2397

Spectre MS/MS



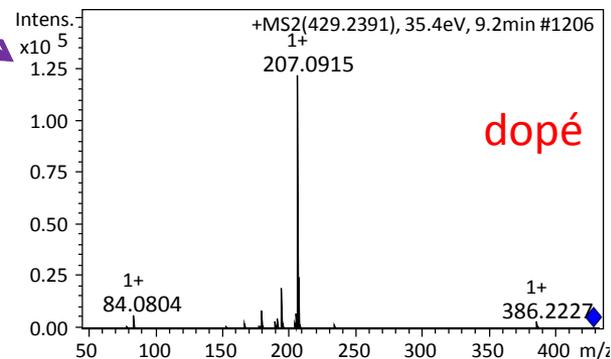
non dopé

Profil isotopique

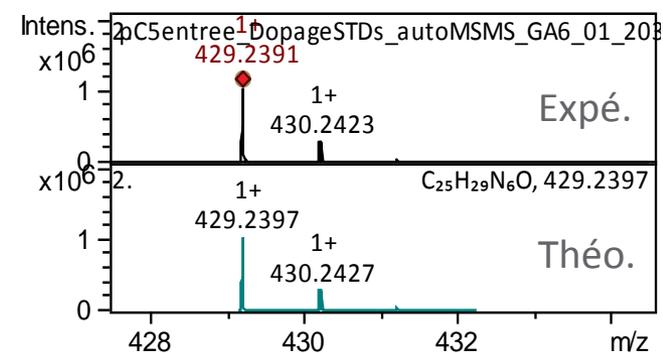


Expé.

Théo.



dopé



Expé.

Théo.

* Schymanski, E. L. et al. Analytical and Bioanalytical Chemistry 407, 6237–6255 (2015)

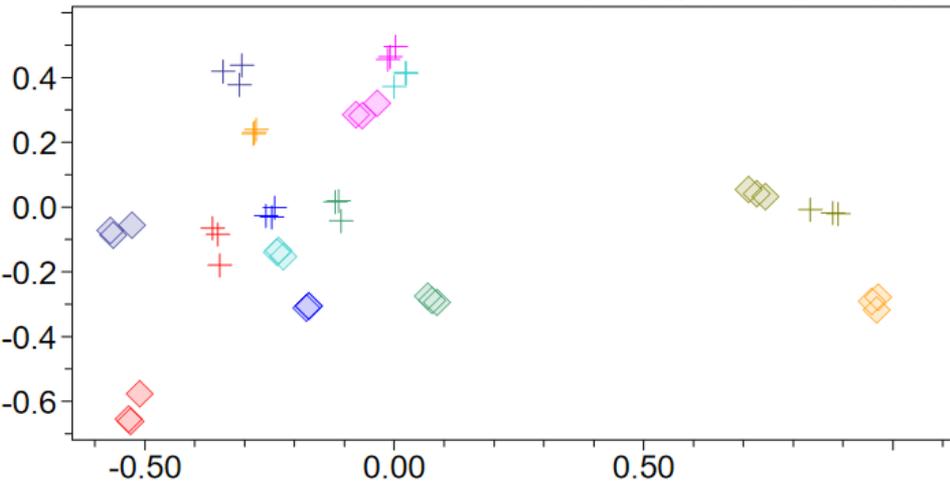
Screening non ciblé

Analyse en Composantes Principales

8 campagnes: 16 échantillons analysés en mode ESI (+)

Scores

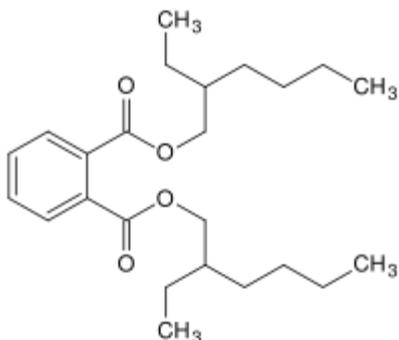
PC1: 36.2% - PC2: 15.6%



● C1 ● C2 ● C3 ● C4 ● C5 ● C6 ● C7 ● C8

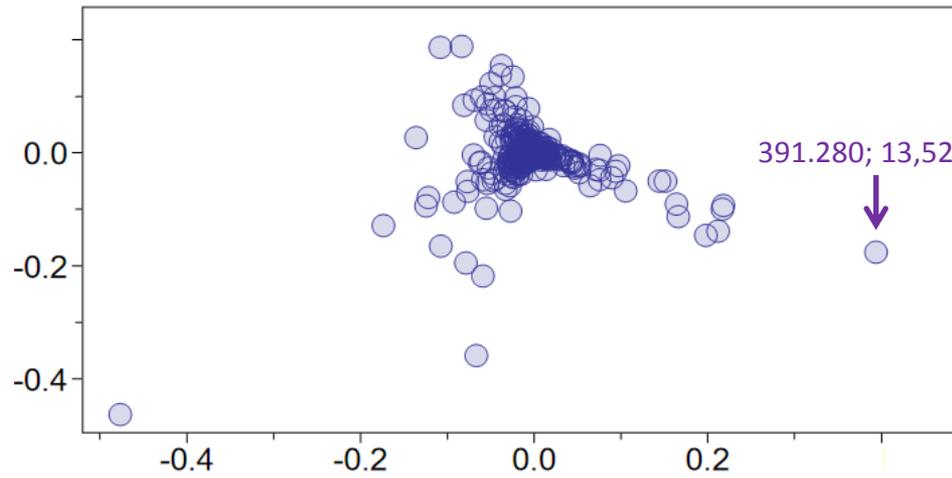
+ : entrée

◇ : sortie



di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)

Loadings



couple (m/z ; t_R) discriminant
391,280 ; 13,52

← Identification niveau 2

Screening non ciblé

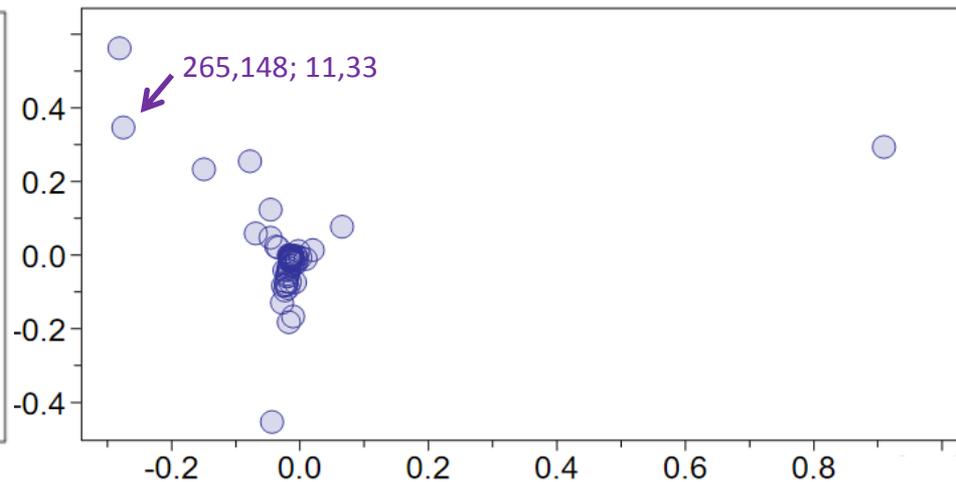
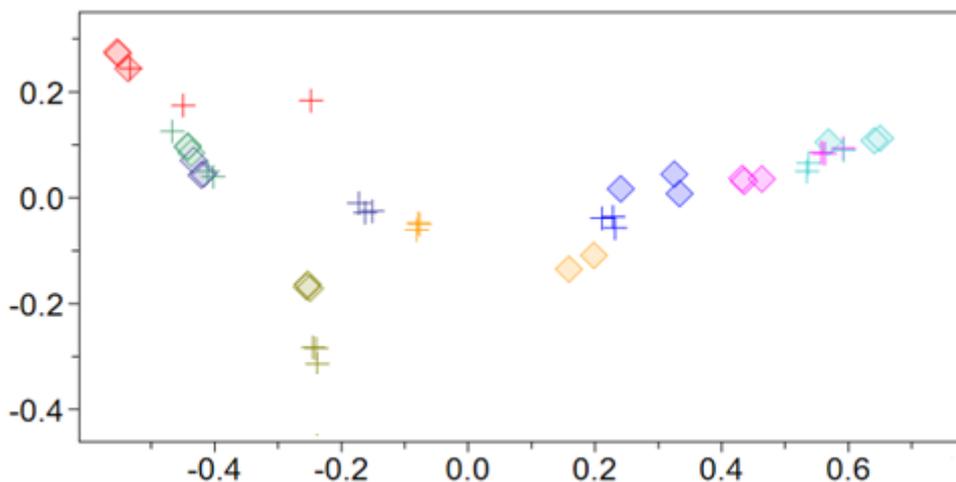
Analyse en Composantes Principales

8 campagnes: 16 échantillons analysés en mode ESI (-)

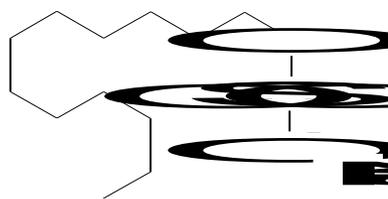
Scores

PC1: 69,5% - PC2: 12,5%

Loadings



● C1 ● C2 ● C3 ● C4 ● C5 ● C6 ● C7 ● C8 + : entrée ◇ : sortie



Sodium dodecylsulfate (SDS)

← Identification niveau 1

6 couples (m/z ; t_R)

283,265 ; 14,81

255,233 ; 14,39

207,139 ; 10,25

265,148 ; 11,33

339,234 ; 13,32

96,969 ; 1,18

Screening non ciblé

Bilan des identifications

7 composés au niveau 2

Anhydride phtalique }
Di-(2-ethylhexyl) phthalate } contamination lors du prélèvement
Lidocaïne et son métabolite 3-hydroxymonoethyl glycinexylidide
Oseltamivir
Oléamide
Erucamide

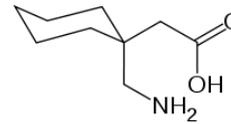


Screening non ciblé

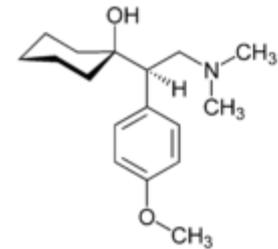
Bilan des identifications

14 composés au niveau 1

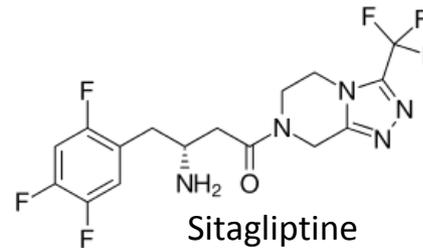
Gabapentine	antiépileptique
Venlafaxine	antidépresseur
Abacavir	anti-HIV
Abacavir Carboxylate	métabolite anti-HIV
Sphingosine	alcool gras
Bestatine	antileucémique
Sitagliptine	antidiabétique
Céliprolol	antihypertenseur
Losartan	antihypertenseur
Irbesartan	antihypertenseur
Valsartan	antihypertenseur
Olmesartan	antihypertenseur
Telmisartan	antihypertenseur
SDS	tensioactif



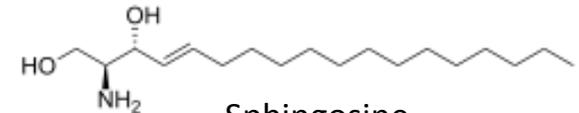
Gabapentine
 $C_9H_{17}NO_2$



Venlafaxine
 $C_{17}H_{27}NO_2$



Sitagliptine
 $C_{16}H_{15}F_6N_5O$



Sphingosine
 $C_{18}H_{37}NO_2$

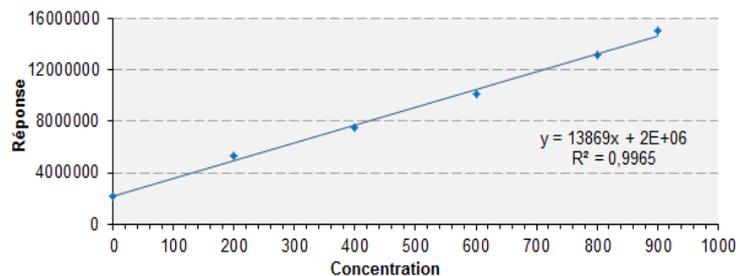
Screening non ciblé

Quantification rétrospective

13 composés quantifiés

Gabapentine
Venlafaxine
Abacavir
Abacavir Carboxylate
Sphingosine
Bestatine
Sitagliptine
Céliprolol
Losartan
Irbesartan
Valsartan
Olmesartan
Telmisartan

- Ajouts dosés d'un des échantillons (QC) → droite de calibration
- Analyse rétrospective des données des 13 composés *via* DataAnalysis
- Pondération par la valeur moyenne obtenue *via* QC inter-séquences

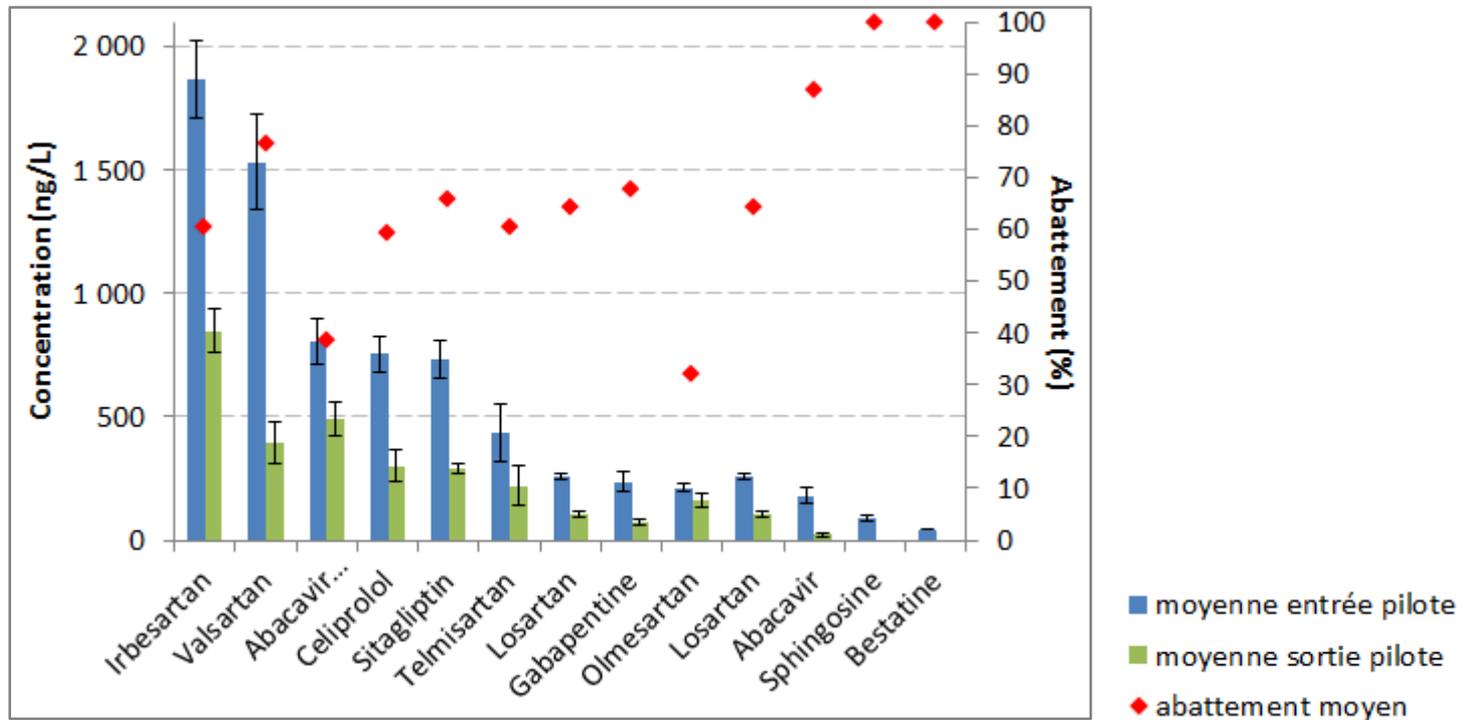


LOD - ng/L	LOQ - ng/L	Linéarité
1,1	4,2	0,9999
1,1	4,2	0,9978
0,4	1,2	0,9994
0,1	0,2	0,9956
1,4	4,7	0,9999
0,6	1,9	0,9942
0,3	0,9	0,9994
1,5	5,2	0,9987
8,2	27,4	0,9998
7,4	24,8	0,9933
1,8	5,9	0,9915
4,3	14,4	0,9990
8,8	29,3	0,9978

Screening non ciblé

Quantification rétrospective

13 composés quantifiés



- Présence d'antihypertenseurs sartans en forte teneur en entrée du pilote, modérément abattus par le pilote
- Intérêt du pilote pour sphingosine, bestatine

De nombreuses informations obtenues pour évaluer l'efficacité du pilote

- Globalement: peu de variabilité entre les différentes campagnes, peu de discrimination entrée/sortie
- Intérêt du pilote pour abattre des molécules encore présentes après le traitement biologique; cependant l'abattement n'est souvent pas total
- Plusieurs molécules d'intérêt identifiées voire quantifiées

Une quantité de données considérable apportée par la LC-HRMS

Des inconvénients et freins

- contraintes du work-flow analytique
- identification dépendante des bases de données encore peu renseignées
- faible inter-opérabilité des différents types de spectromètres de masse
- retraitement des données très chronophage

De nombreuses informations obtenues pour évaluer l'efficacité du pilote

- Globalement: peu de variabilité entre les différentes campagnes, peu de discrimination entrée/sortie
- Intérêt du pilote pour abattre des molécules encore présentes après le traitement biologique; cependant l'abattement n'est souvent pas total
- Plusieurs molécules d'intérêt identifiées voire quantifiées

Une quantité de données considérable apportée par la LC-HRMS

Des inconvénients et freins

- contraintes du work-flow analytique
- identification dépendante des bases de données encore peu renseignées
- faible inter-opérabilité des différents types de spectromètres de masse
- retraitement des données très chronophage



Audrey Buleté
Alexandre Bergé
Aurélie Fildier



Romain Mailler
Vincent Rocher



Yves Coquet
Fabrice Nauleau



Johnny Gaspéri
Ronan Guillosoou
Julien le Roux

Merci !