

inrs

Métabolites des HAP Recueil & analyses

C. Champmartin, F. Jeandel,
M. Lafontaine & P. Simon

inrs

Principales techniques analytiques utilisées

CPG

Gaz → Injecteur → Colonne → Détecteur → Chromatogramme

- Ionisation de flamme
- Photométrie de flamme
- Capture d'électron
- Spectrométrie de masse

CLHP

Pompe → Injecteur → Colonne → Détecteur → Chromatogramme

- UV-visible
- Fluorescence
- Electrochimie
- Spectrométrie de masse

Autres techniques : EC, CCM, CPS

inrs

Traitements "classiques" des échantillons

Extractions "off-line"

Percolation Lavage Éluion

■ interférents
 ◆ métabolite

S = métabolite
 S_{ϕ} aqueuse
 S_{ϕ} organique

inrs

Schématisation du principe de la purification par SPE

■ interférents
 ◆ métabolite

inrs

Inconvénients du traitement classique et solution

- Purification imparfaite
- Manipulation, main d'œuvre
(Source de pertes & Coût)
- Temps

SOLUTION !

Traitement en ligne (Injection directe)
avec

Utilisation des propriétés des φ stationnaires

⇓

Mise en œuvre chromatographie multidimensionnelle
(technique de commutation de colonnes)

5

inrs

Commutation de colonnes : les éléments
(schéma de montage sommaire)

Effluent

Enceinte thermostatée

Pompe 2 Eluant 2

Acquisition des données

Détecteur

Effluent

Effluent

Pompe 1 Eluant 1

Effluent

∇ — Vanne
 C 1, C 2, C 3 — Colonnes de purification
 C 4 — Colonne analytique

Nombre variable

ϵ_0 Eluant 1 < ϵ_0 Eluant 2 (ϵ_0 = force éluante)

6

inrs

Commutation de colonnes : les combinaisons
(Illustration des multiples possibilités)

Effluent

Pompe 2 Eluant 2

Acquisition des données

Détecteur

Effluent

Effluent

Pompe 1 Eluant 1

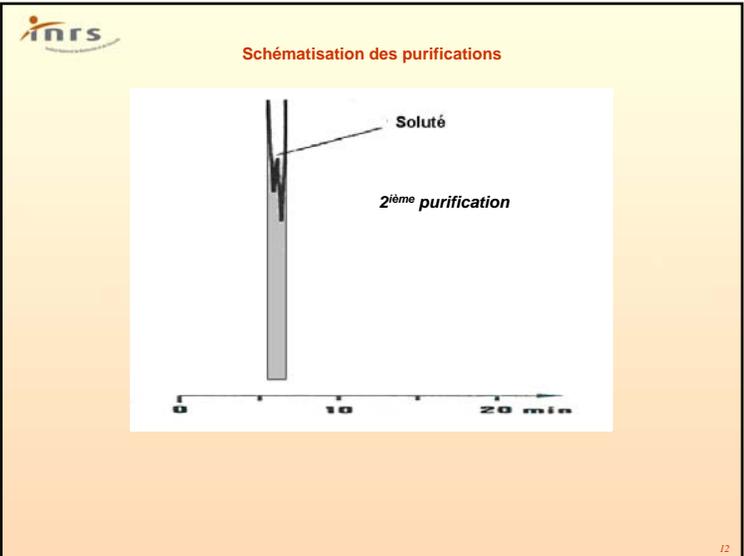
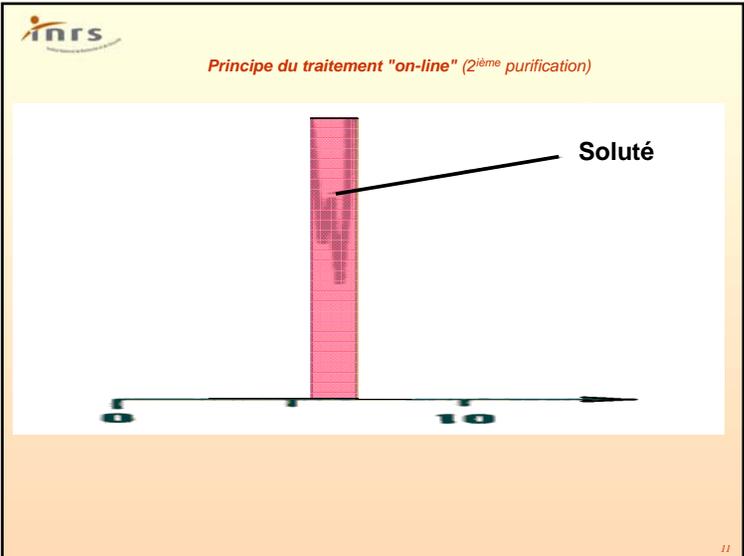
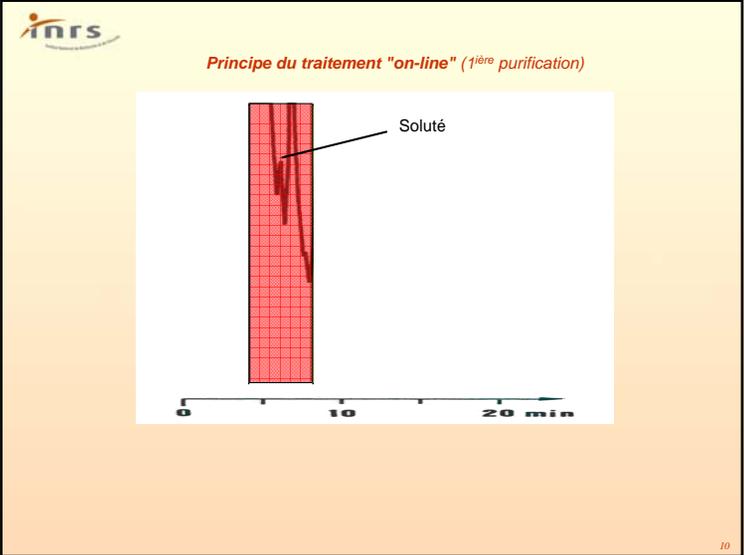
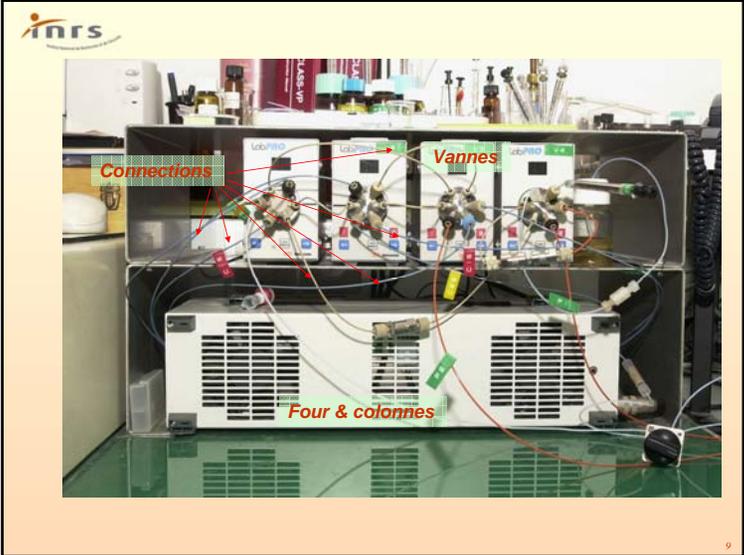
∇ — Vanne
 C 1, C 2, C 3 — Colonnes de purification
 C 4 — Colonne analytique

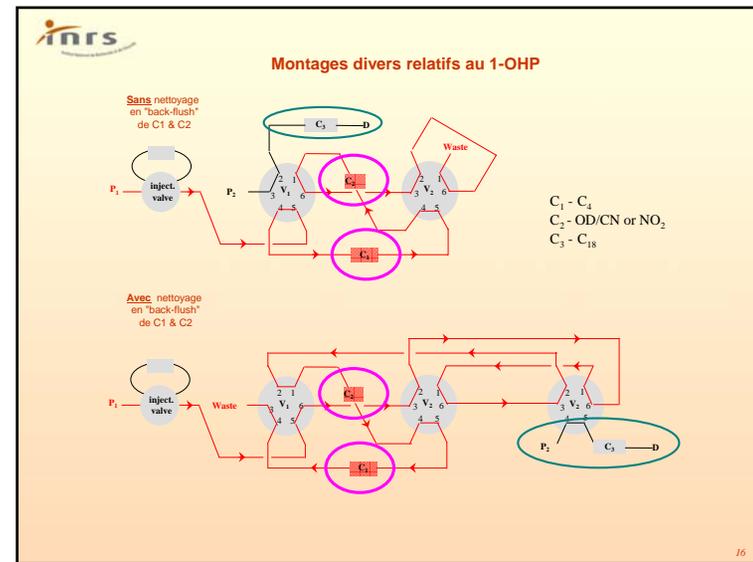
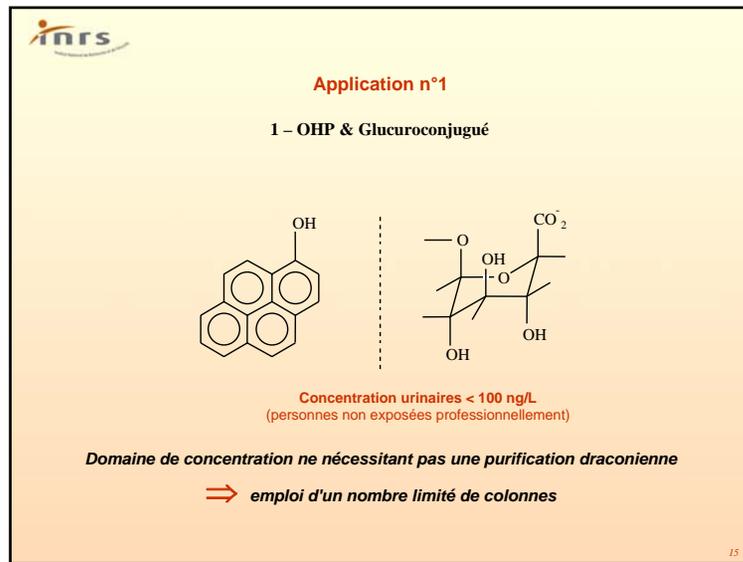
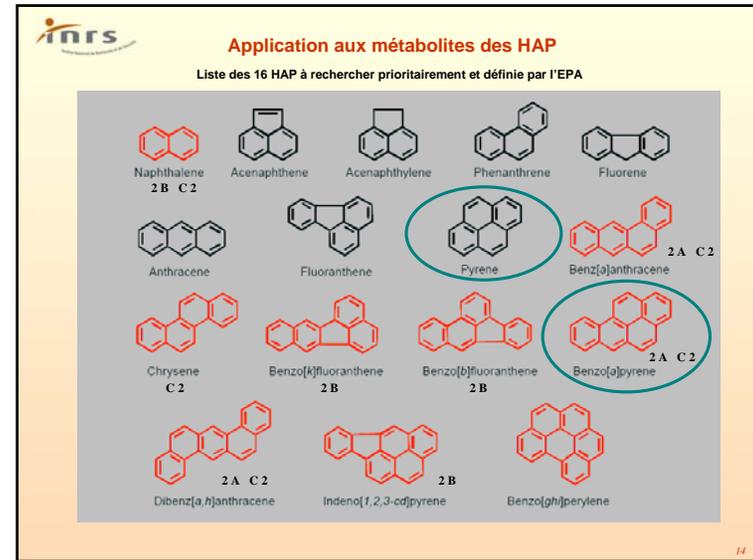
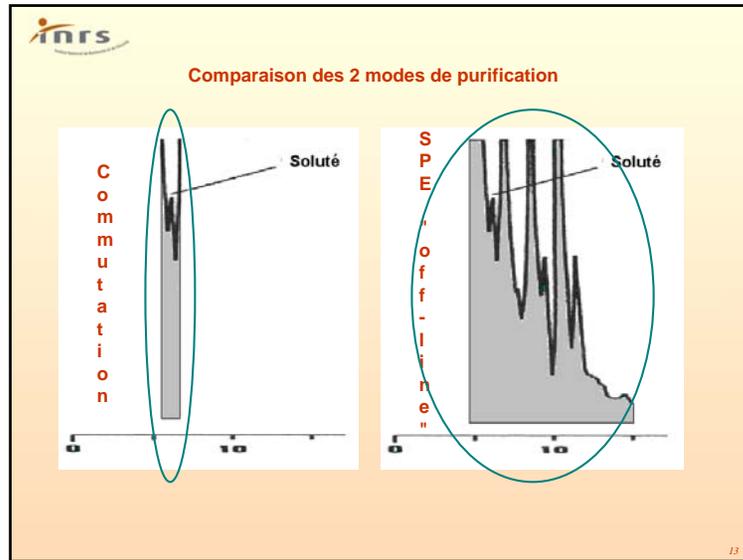
Nombre variable

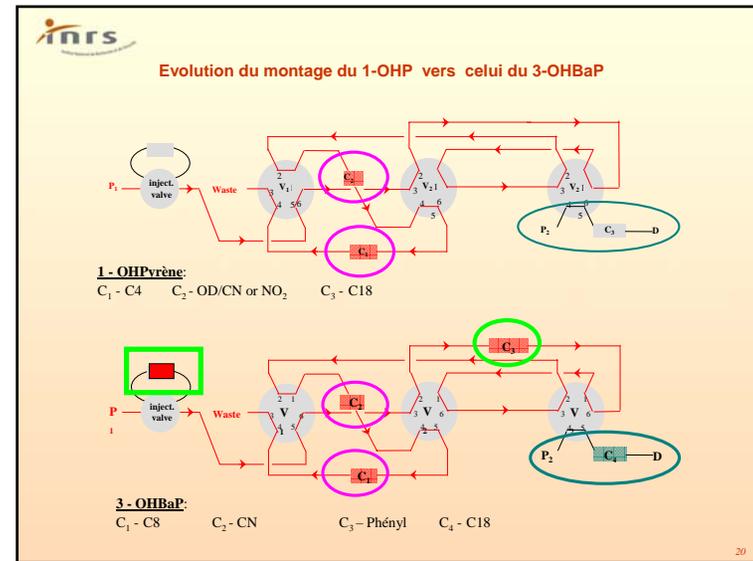
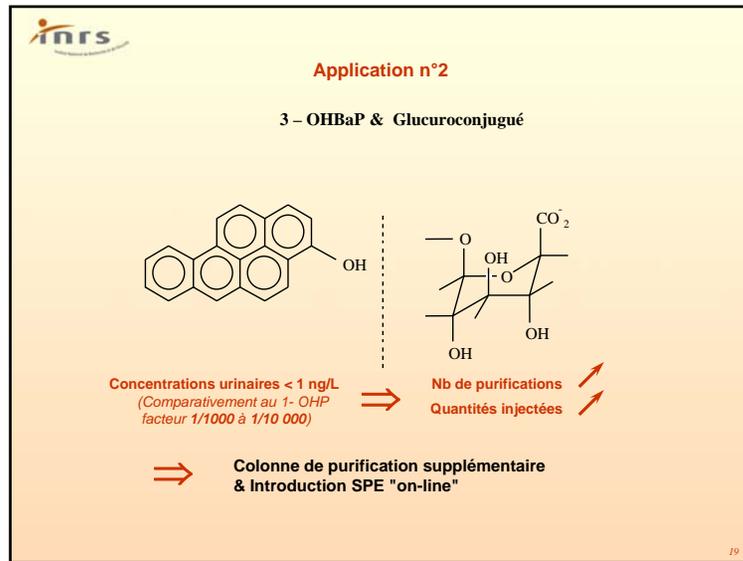
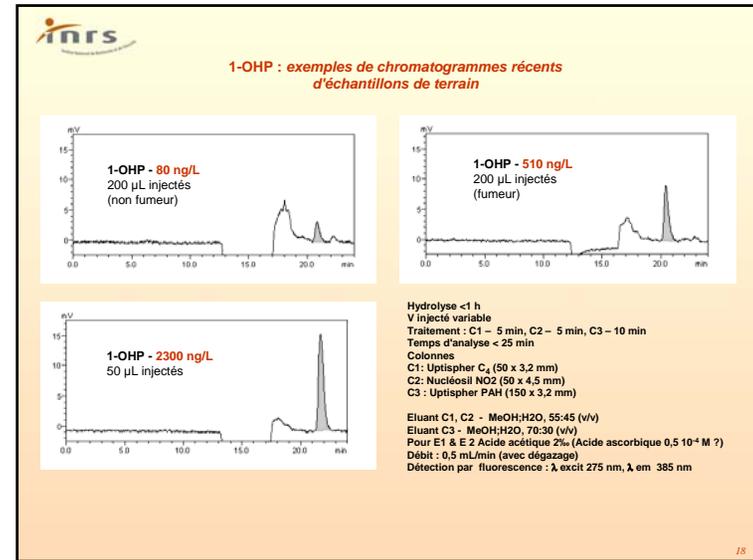
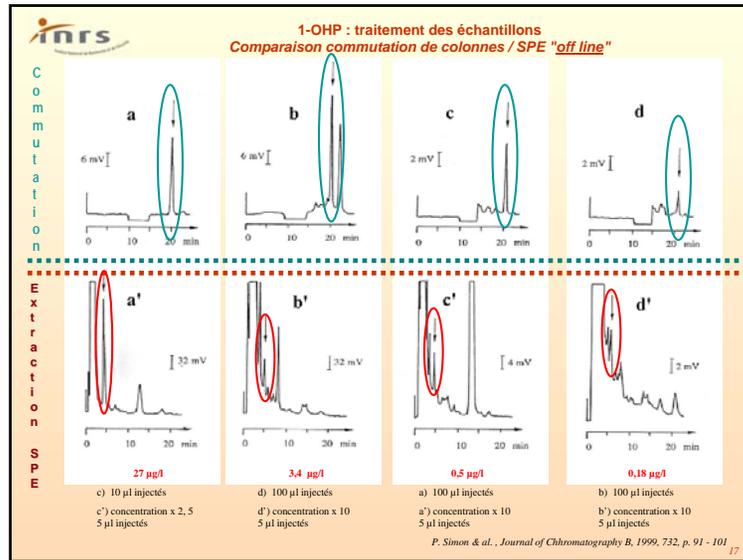
ϵ_0 Eluant 1 < ϵ_0 Eluant 2 (ϵ_0 = force éluante)

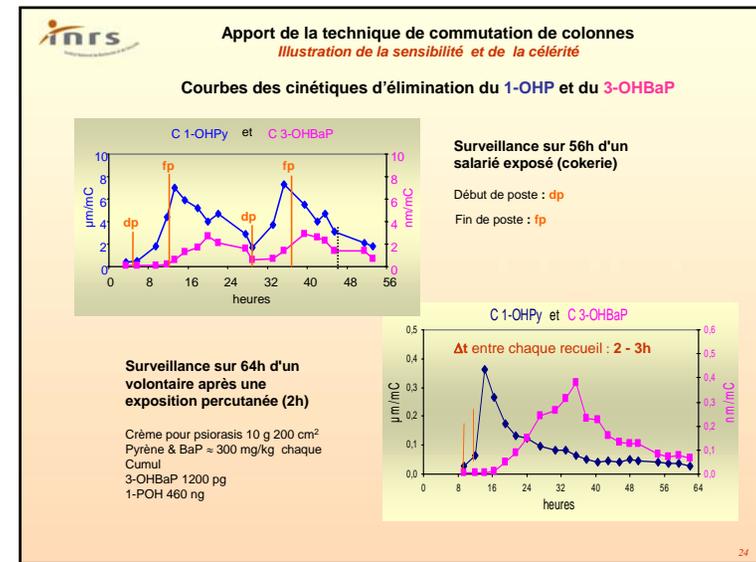
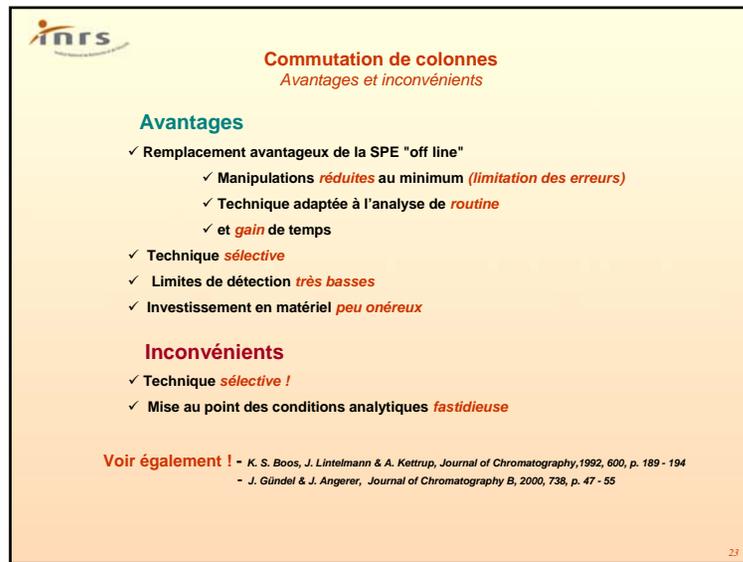
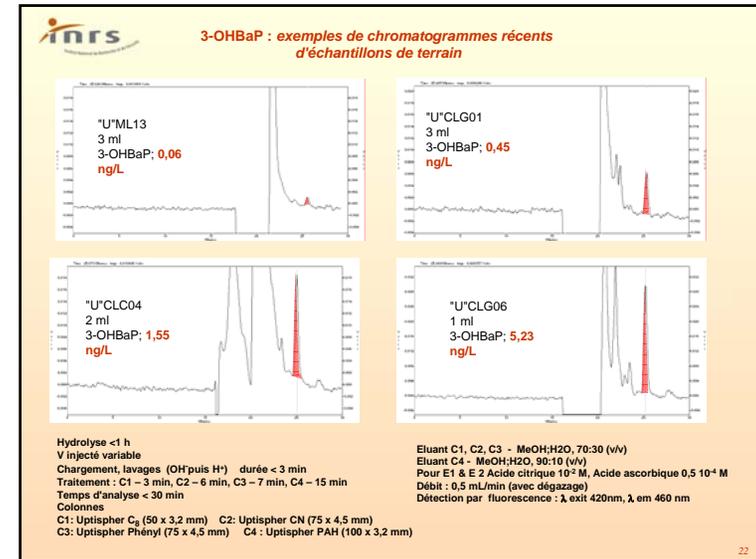
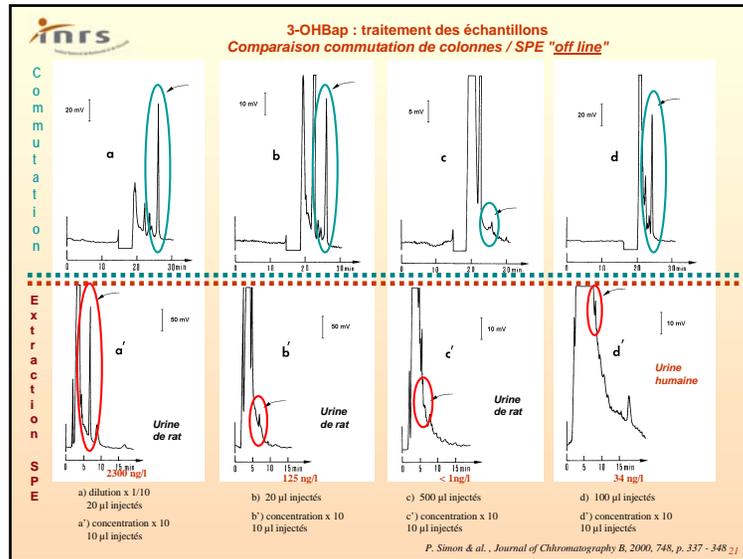
7











3-OHBaP & conjugués
Acquis et questionnements
 (10 000 analyses)

- Présence 3-OHBaP libre < 12% (90% des cas)
- Forte adsorption sur sédiments (> 70%)
- Ultra-sons non destructeurs du 3-OHBaP (à confirmer)
- Hydrolyse rapide (< 1h)

Importance de la phase stationnaire:

- Influence sur l'intensité du signal (facteur 1 à 3)
- Influence sur la sélectivité

Stabilité aléatoire, dépendante :

- du spécimen d'urine
- du lot de solvant
- du temps d'hydrolyse (pertes possibles, 20 à 50 % en 8h)

- acide ascorbique (indispensable)
 voir M. Bouchard, C. Dodd & C. Viau, Journal of Toxicology 1994, 18, p. 261-264

- dégazage, élimination O₂ (nécessaire)
 voir M. O. James & al, Drug Metabolism & Disposition 2001, 29, p. 721 -728

25

Le recueil, le transport et la conservation

L'objectif :

- ✓ s'affranchir de la réfrigération & du transport de liquide
- ✓ effectuer un pré-traitement (concentration & pré-purification)
- ✓ préserver les métabolites

Développement d'un outil alternatif au flaconnage

Dispositif validé pour :

- les métabolites du
 - Pyrène
 - BaP
- En cours: métabolites du
 - Naphthalène



Avantages

- Stockage à θ ambiante
- Préservation des métabolites
- Élimination de la chaîne du froid
- Délais d'acheminement avant analyse accrus (jusqu'à 1 mois)
- Absorbant (in situ)
- Stockage & transport facilités
- Sélectivité

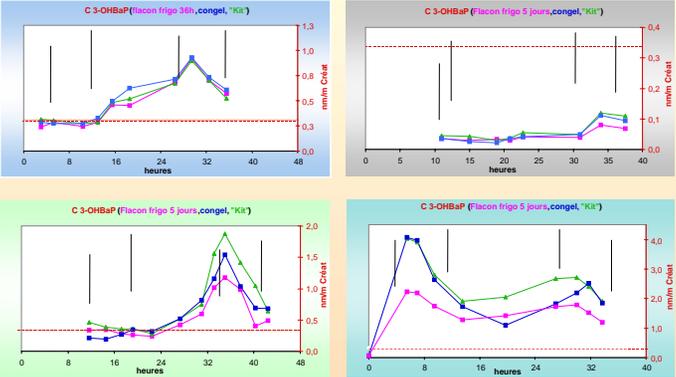
Inconvénients

- Duplication des imprégnations

(URIPREL® : commercialisation en cours)

26

Comparaison cartouches / flacons (réfrigérateur & congélation)
 Suivi de 40 échantillons (4 salariés)



Cartouches ————
 Flacons (réfrigérateur) ————
 Flacons (congélateur) ————

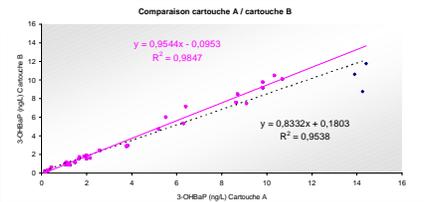
Décongélation ?
 Hydrolyse ? O₂ ?
 Désorption ?

Origine et raison des pertes non clairement élucidées

27

Vieillesse : comparaison Cartouche A / Cartouche B
 (n = 43)

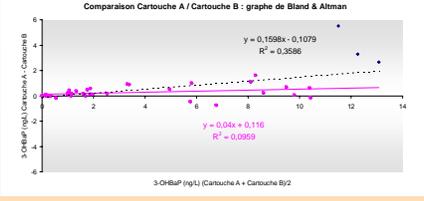
Comparaison cartouche A / cartouche B



Cartouche A :
 - 15 jours à température ambiante

Cartouche B :
 - 15 jours à température ambiante
 - 1 mois au réfrigérateur
 - 18 mois au congélateur

Comparaison Cartouche A / Cartouche B : graphe de Bland & Altman



Pertes sur Cartouche B

15% en moyenne

5% après suppression des 3 points extrêmes

28

