

L. Ferey<sup>1,2,3</sup>, N. Delaunay<sup>1</sup>, D. N. Rutledge<sup>2</sup>, A. Huertas<sup>4</sup>, Y. Raoul<sup>3</sup>, P. Gareil<sup>1</sup>, I. Rivals<sup>5</sup>, J. Vial<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Physicochimie des Electrolytes, Colloïdes et Sciences Analytiques (PECSA), UMR 7195 CNRS/EPCI/UPMC, 75005 Paris

<sup>2</sup>Equipe Ingénierie Analytique pour la Qualité des Aliments (IAQA), UMR 1145 AgroParisTech/INRA, 75005 Paris

<sup>3</sup>Sofiprotéol, 75008 Paris

<sup>4</sup>Lesieur, 92665 Asnières sur Seine

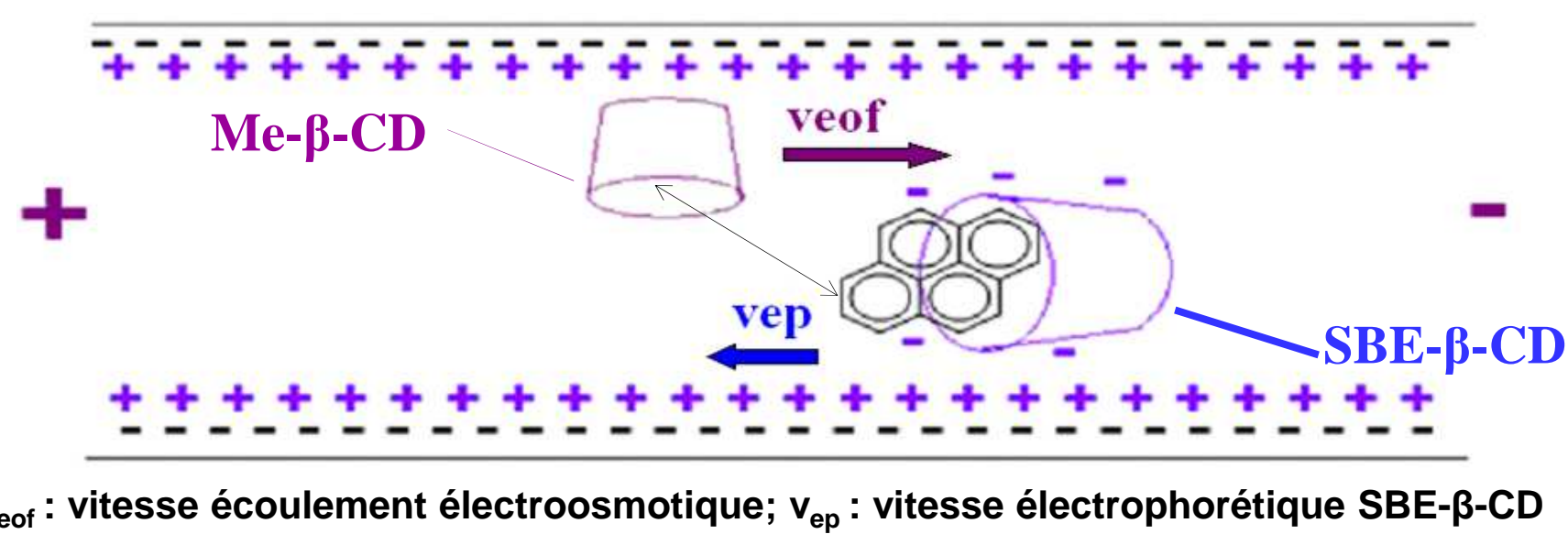
<sup>5</sup>Equipe de Statistique Appliquée, EPCI ParisTech, 75005 Paris

ludivine.ferey@agroparistech.fr ou nathalie-delaunay@chimie-paristech.fr

## INTRODUCTION

Contaminants de notre environnement et de notre alimentation, les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont classés comme polluants prioritaires par l'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (US-EPA) et l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA). La quantification de ces composés à l'état de traces dans des matrices environnementales et alimentaires complexes requiert donc le développement de méthodes d'analyse rapides, sélectives et sensibles. L'électrophorèse capillaire (EC) reconnue pour ses grandes efficacités de séparation, sa faible consommation de solvant et sa possible transposition au format des microsystèmes, a été évaluée. En suivant une approche monovariée, une nouvelle méthode de séparation des HAP par EC utilisant un système dual de cyclodextrines (CD) constitué d'une CD anionique (sulfobutyléthér-β-CD, SBE-β-CD) et d'une CD neutre (méthyl-β-CD, Me-β-CD), et couplée à une détection de fluorescence induite par laser (LIF) a tout d'abord été développée [1]. Afin d'optimiser davantage la sélectivité de cette méthode, des approches multivariées basées sur les plans d'expériences ont été suivies. Pour la première fois, les séparations de deux mélanges d'HAP d'intérêt environnemental et agroalimentaire : les 8 HAP communs aux listes US-EPA et EFSA et 19 HAP également listés par ces deux organismes et fluorescents dans nos conditions de détection, ont été optimisées.

## PRINCIPE DE LA SÉPARATION



HAP séparés en fonction de leurs différences de constantes de complexation avec les deux CD.

## CONDITIONS EXPÉRIMENTALES

- Agilent Technologies EC, capillaires silice 50 μm d.i. x 49 cm (détection à 33,5 cm).
- Détecteur LIF : Picometrics, Evolution avec Laser He-Cd (λ<sub>exc</sub> = 325 nm, PMT = 750 V, RT : 0,2 s).
- Electrolytes préparés à partir de 3 solutions mères : tétraborate de sodium décahydraté 10 mM avec urée 2,5 M, SBE-β-CD (DS 6,2) 100 mM et Me-β-CD (DS 12,6) 100 mM.
- Mélanges standards de HAP dans 1:9 (v/v) ACN/Electrolyte : DBaHP : 60 ppb, ANT : 350 ppb, DBaHA : 100 ppb, ACP : 2 ppm, PHE : 1 ppm, CHR : 200 ppb, BaA : 100 ppb, MCH : 30 ppb, BkFA : 100 ppb, DBaIP : 100 ppb, FA : 100 ppb, BaP : 100 ppb, Pyr : 100 ppb, BfFA : 150 ppb, BbFA : 100 ppb, IP : 350 ppb, DBaIP : 32 ppb, BghiP : 100 ppb, DBaEP : 100 ppb, ombelliférone : 160 ppb (EI).
- Injections hydrodynamiques en appliquant 20 mbars pendant 5 s.
- Analyse des données sous JMP 10.0 et Matlab 8.0.

## PLAN D'EXPÉRIENCES

### Choix des facteurs

- 5 mM < [SBE-β-CD] < 15 mM
- 5 mM < [Me-β-CD] < 40 mM
- 10 % < MeOH < 25 %

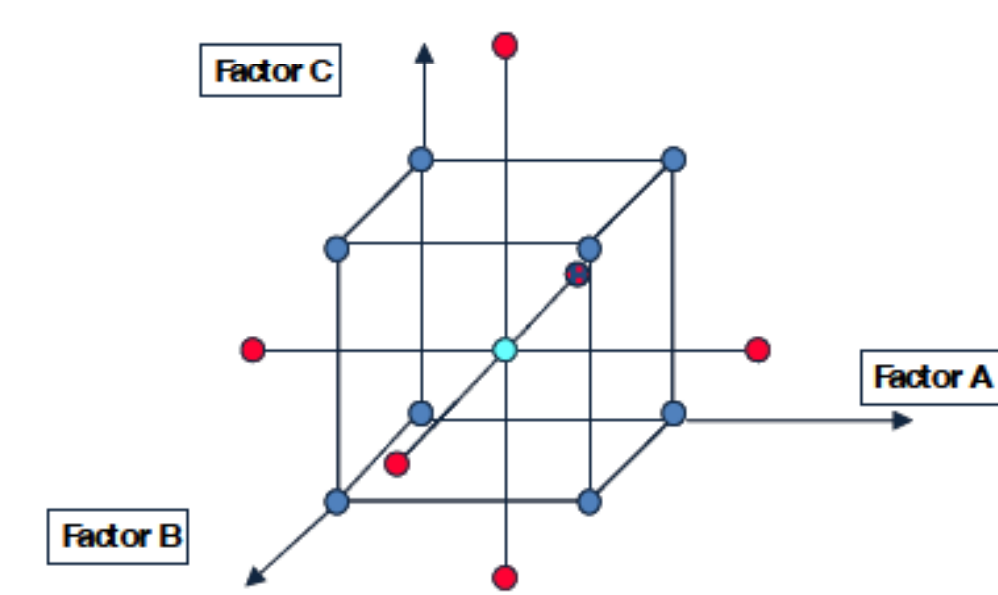
Facteurs fixés : T = 25°C, [borate] = 10 mM, [urée] = 600 mM, L<sub>cap</sub> = 49 cm et ΔV = 14 kV (pas d'effet Joule quel que soit l'électrolyte)

### Choix des réponses

- Temps de migration normalisés de début et de fin de pic : **optimisation de la séparation**
- Temps de migration du dernier HAP : **temps d'analyse**

### Type de plan

Composite centré à 3 facteurs



Facteurs étudiés sur 5 niveaux (-1,6, -1, 0, +1, +1,6)

## SÉPARATION DES 8 HAP

**Objectif 1 :** développer une méthode de criblage rapide pour l'analyse des 8 HAP communs aux 2 listes

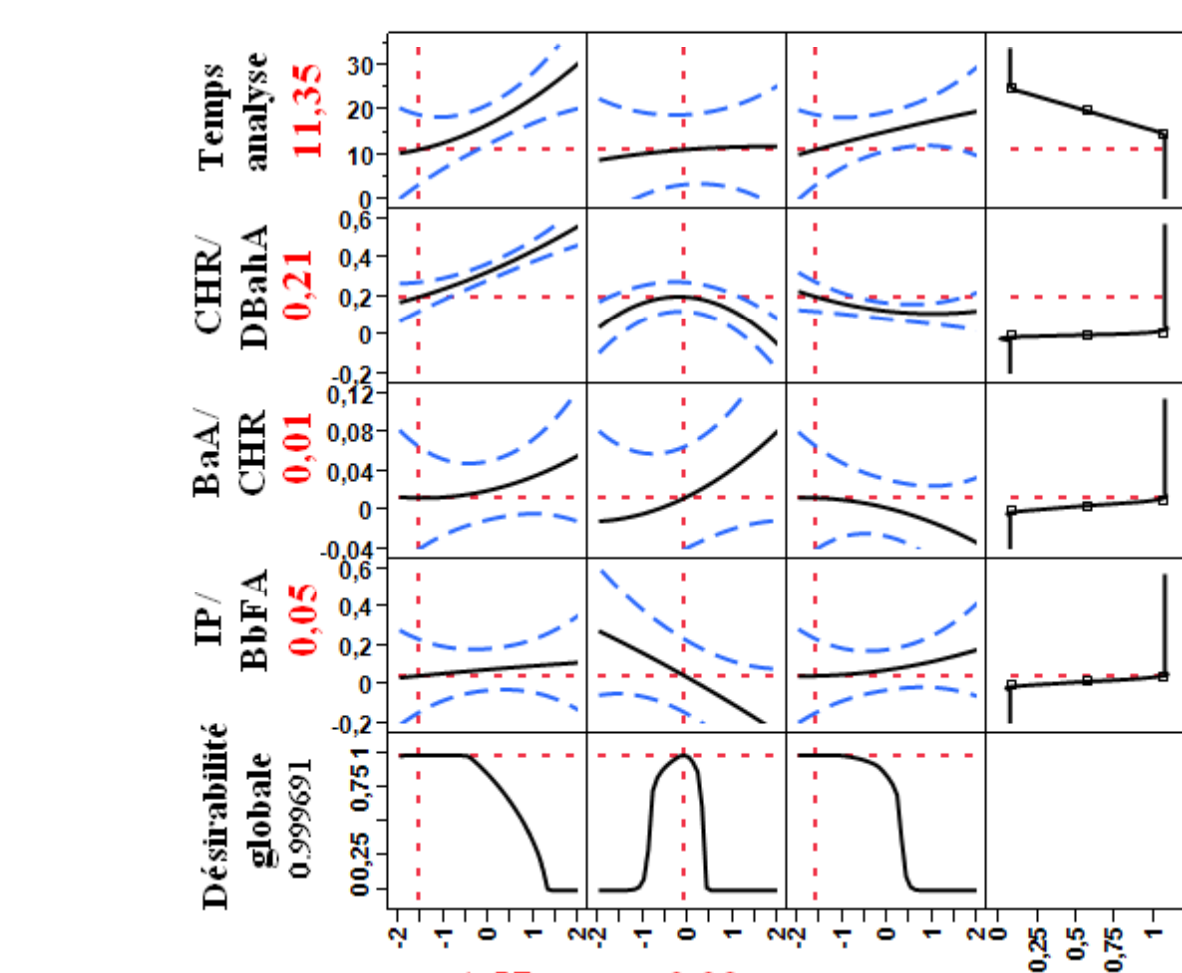
- 8 HAP : même ordre de migration → **approche classique d'optimisation** sous JMP

### Analyse de la désirabilité

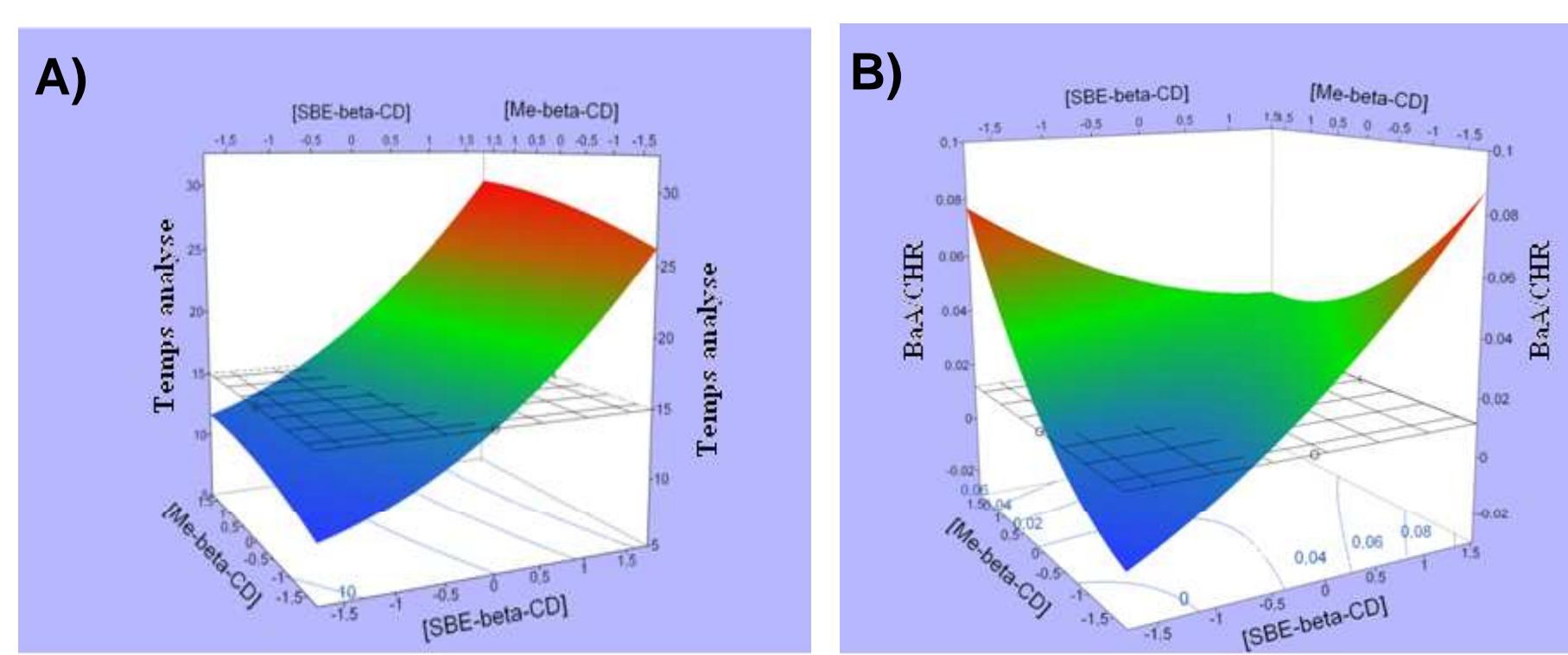
**Analyse multicritère :** écarts maximums entre le temps de fin et le temps de début normalisés de 2 pics consécutifs en un temps d'analyse minimum

- analyse de la désirabilité avec fonctions de Derringer

Désirabilité de 1 pour la majorité des réponses exceptés le temps d'analyse et 3 paires critiques : DBaH/CHR, CHR/BaA et BbFA/IP



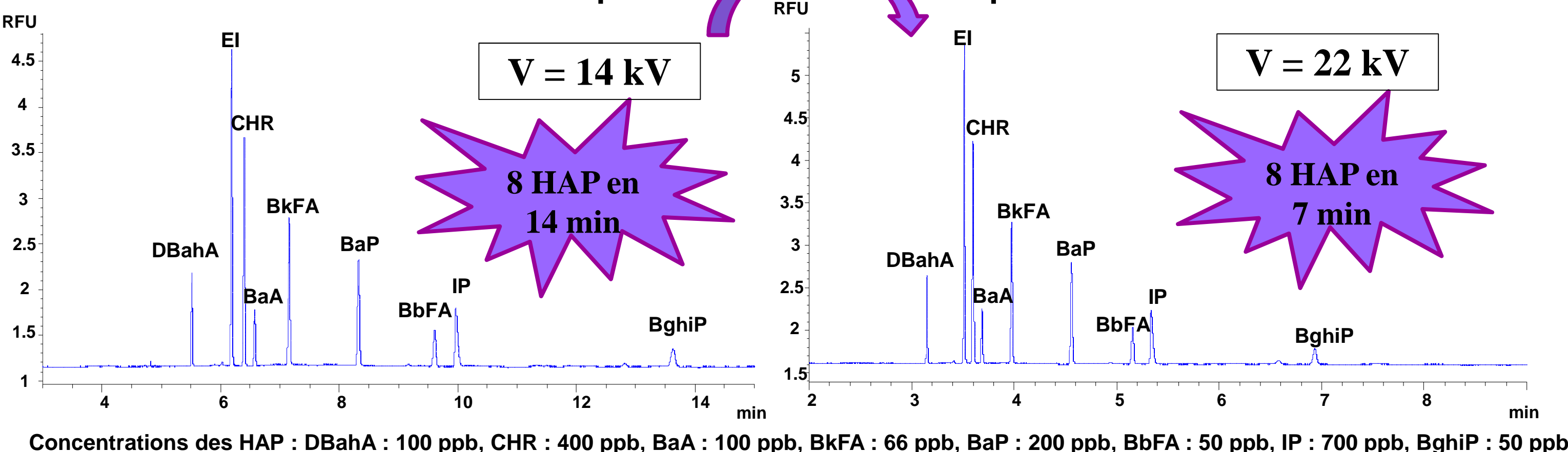
Profil de prévision de JMP. 3 premières lignes : 4 réponses d'intérêt avec leur fonction de désirabilité individuelle en dernière colonne. Dernière ligne : désirabilité globale en fonction des 3 facteurs représentés en valeurs codées optimales dans les 3 premières colonnes. Valeurs sous la désirabilité globale et chaque réponse : valeurs prédites au point optimum



Conditions optimales prédites : SBE-β-CD 5,3 mM, Me-β-CD 21,5 mM et %MeOH 10,3%

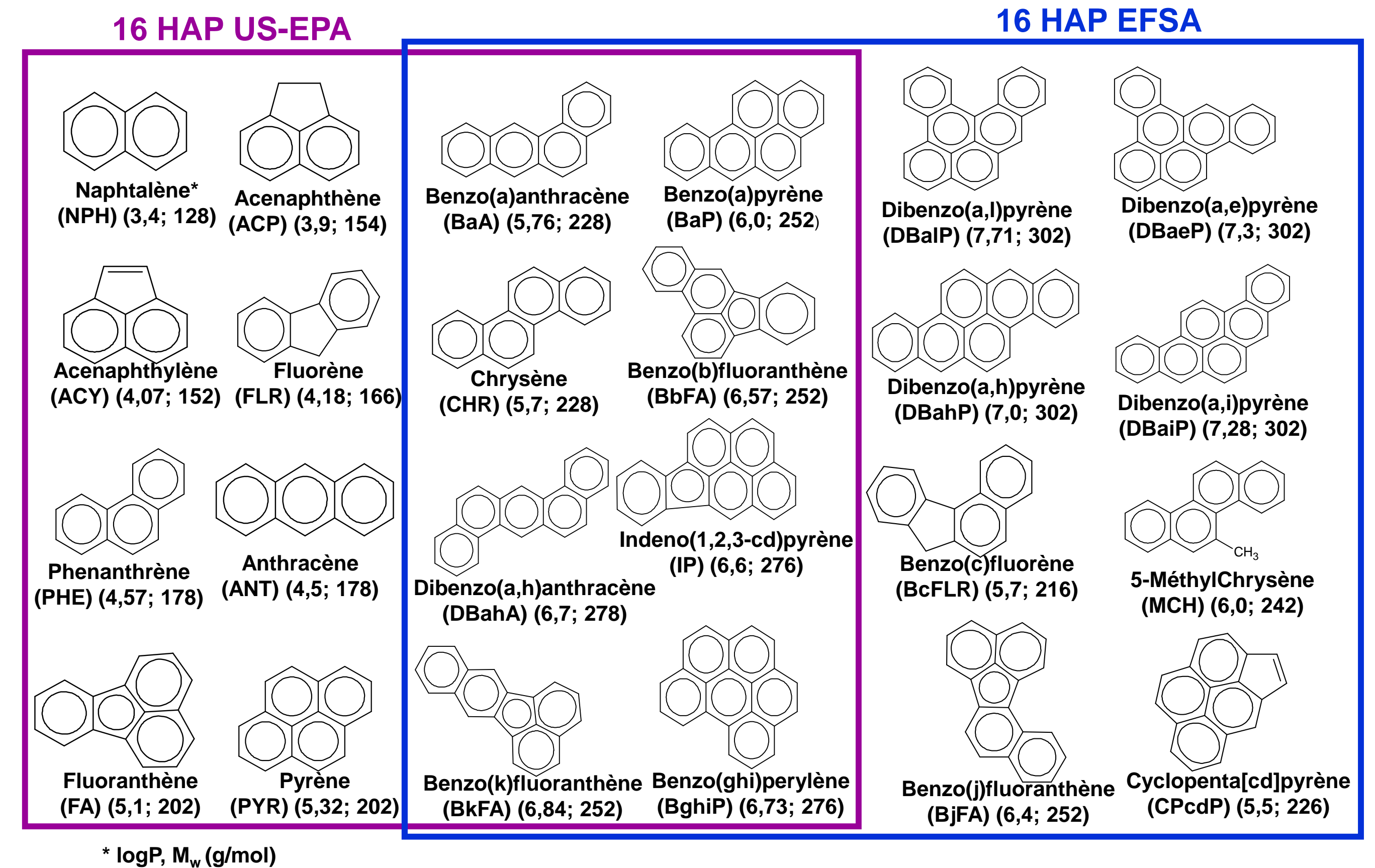
### Validation expérimentale

#### Optimisation tension de séparation



8 HAP séparés avec retour à la ligne de base en moins de 8 min

## HAP ÉTUDIÉS

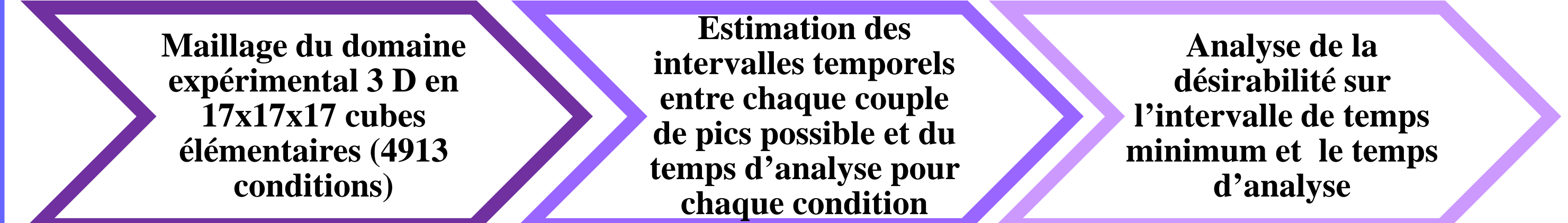


## SÉPARATION DES 19 HAP

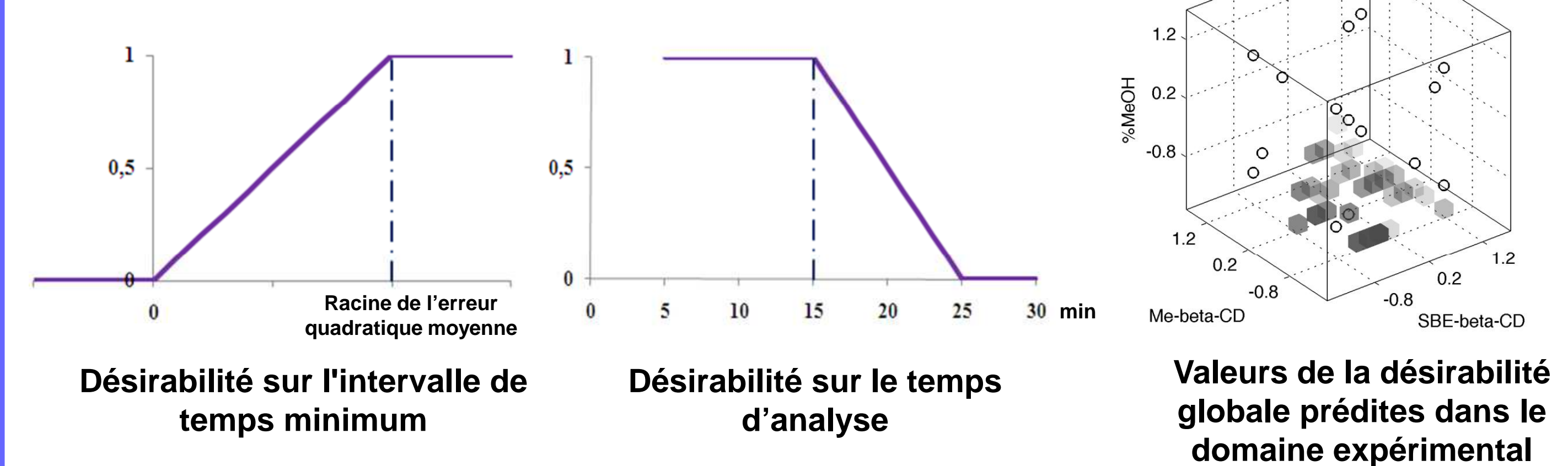
**Objectif 2 :** développer une méthode de séparation rapide d'un mélange complexe de 19 HAP

- 19 HAP : ordre de migration fonction des conditions expérimentales → **nouvelle approche d'optimisation basée sur une évaluation systématique des intervalles temporels entre chaque couple de pics possible**

### Démarche d'optimisation



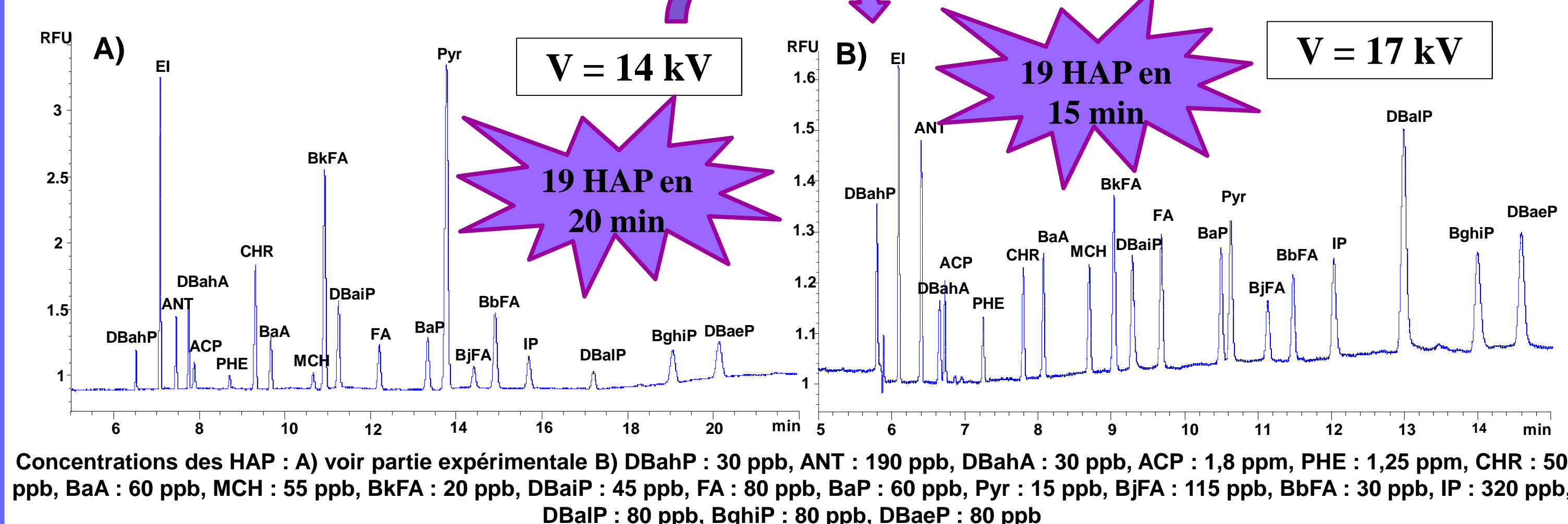
### Analyse de la désirabilité



Conditions optimales prédites : SBE-β-CD 9,4 mM, Me-β-CD 14,1 mM et %MeOH 11,2%

### Validation expérimentale

#### Optimisation tension de séparation



Concentrations des HAP : A) voir partie expérimentale B) DBaHP : 30 ppb, ANT : 190 ppb, DBaHA : 30 ppb, ACP : 1,8 ppm, PHE : 1,25 ppm, CHR : 50 ppb, BaA : 60 ppb, MCH : 55 ppb, BkFA : 20 ppb, DBaIP : 45 ppb, FA : 80 ppb, BaP : 60 ppb, Pyr : 15 ppb, BjFA : 115 ppb, BbFA : 30 ppb, IP : 320 ppb, DBaIP : 80 ppb, BghiP : 80 ppb, DBaEP : 80 ppb

- 19 HAP séparés avec retour à la ligne de base en 15 min
- Paires d'isomères totalement séparées
- Pas de relation entre taille ou hydrophobie des HAP et le temps de migration

## CONCLUSION

L'utilisation de deux stratégies basées sur un plan d'expérience de type composite centré ont permis d'optimiser la séparation de deux mélanges d'HAP d'intérêt en EC modifiée par des cyclodextrines et couplée à une détection de fluorescence induite par laser. Une méthode de criblage rapide a été développée pour l'analyse des 8 HAP communs aux deux listes de HAP actuellement réglementées, en moins de 8 min. Pour la première fois en EC, 19 HAP listés comme polluants prioritaires à la fois pour les matrices environnementales et agroalimentaires ont été séparés simultanément en 15 min. Des analyses d'extraits réels d'huiles alimentaires à l'aide de cette technique analytique sont actuellement en cours.