Analyses électrophorétiques d'hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les huiles alimentaires

L. Ferey[1,2,3], N. Delaunay[1], D. N. Rutledge[2], A. Huertas[4], Y. Raoul[3], P. Gareil[1], I. Rivals[5], J. Vial[1]

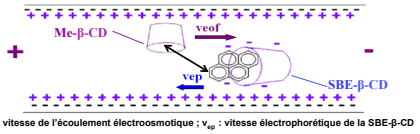
[1] Laboratoire de Physicochimie des Électrolytes, Colloïdes et Sciences Analytiques (PECSA), UMR 7195 CNRS/ESPCI ParisTech/Chimie ParisTech/UPMC, 75005 Paris
[2] Équipe Ingénierie Analytique pour la Qualité des Aliments (IAQA), UMR 1145 AgroParisTech/INRA, 75005 Paris
[3] Sofiprotéol, 75008 Paris
[4] Lesieur, 92600 Asnières sur Seine
[5] Équipe de Statistique Appliquée, ESPCI 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 (CE), reconnue pour ses grandes efficacités de séparation, sa faible consommation de solvant et sa possible transposition au format microsystèmes, a été évaluée. La CE en présence d'un système dual de cyclodextrines (CD) constitué d'une CD anionique (sulfobutyléther-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, a été mise en œuvre. En suivant une approche multivariée basée sur les plans d'expériences, une nouvelle méthode de séparation des 19 HAP listés par l'US-EPA et l'EFSA et fluorescents dans nos conditions de détection, a été optimisée. Pour la première fois, cette méthode de séparation a été appliquée avec succès à l'analyse d'extraits d'huile alimentaire dopés. Enfin, une méthode de screening des 8 HAP prioritaires, c'est-à-dire ceux communs aux deux listes US-EPA et EFSA, a également été optimisée en capillaire en vue d'un transfert au format microsystème.

Principe de la séparation



v_{eof} : vitesse de l'écoulement électroosmotique ; v_{ep} : vitesse électrophorétique de la SBE-β-CD

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

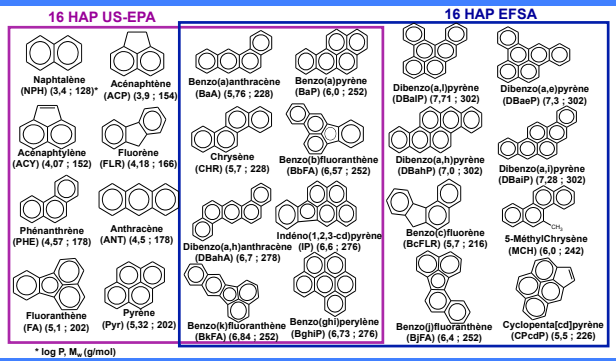
Conditions expérimentales

➢ Mélanges standards de HAP dans ACN-électrolyte (1/9, v/v) à 100 ppb exceptés : DBahP (60 ppb), ANT (350 ppb), ACP (2 ppm), PHE (1 ppm), CHR (200 ppb), MCH (30 ppb), BjFA (150 ppb), IP (350 ppb), DBaIP (32 ppb), ombelliférone (160 ppb, étalon interne (EI))

➢ Electrolytes préparés à partir de 3 solutions mères : tétraborate de sodium décahydraté 10 mM avec urée 2,5 M, SBE-β-CD (degré de substitution (DS) 6,2) 100 mM et Me-β-CD (DS 12,6) 100 mM

➢ HP-3D CE (Agilent Technologies), capillaires de silice vierge 50 µm d.i. x 49 cm (détection à 33,5 cm), injections hydrodynamiques (20 mbars, 5 s), T = 25°C, détecteur LIF : Zetalif Evolution (Picometrics) et Laser He-Cd (λ_{exc}= 325 nm, PMT = 750 V, RT : 0,2 s)

HAP étudiés



* log P, M_w (g/mol)

Optimisation de la séparation

Plan d'expériences

Choix des facteurs

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

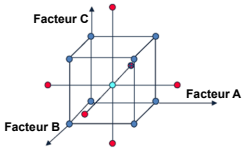
Facteurs fixés : T = 25°C, [borate] = 10 mM, [urée] = 600 mM, L_{cap} = 49 cm et ΔV = 14 kV (pas d'effet Joule quel que soit l'électrolyte)

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



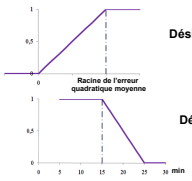
Facteurs étudiés sur 5 niveaux par bloc (-1,6, -1, 0, +1, +1,6)

Démarche d'optimisation

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

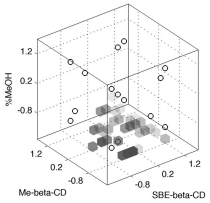
Maillage du domaine expérimental 3D en 17x17x17 cubes élémentaires (4913 conditions) ➤ Estimation des intervalles temporels entre chaque couple de pics possible et du temps d'analyse pour chaque condition ➤ Analyse de la désirabilité sur l'intervalle de temps minimum et le temps d'analyse

Analyse de la désirabilité



Désirabilité sur l'intervalle de temps minimum

Désirabilité sur le temps d'analyse



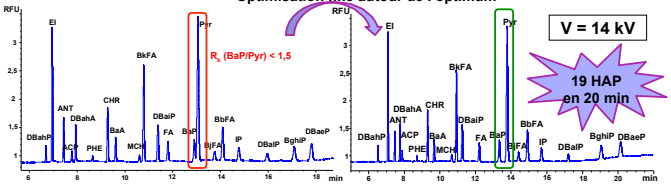
○ Points du plan

Valeurs de la désirabilité globale prédites (gris d'autant plus foncé que la désirabilité est grande) dans le domaine expérimental

➢ Conditions optimales prédites : SBE-β-CD 9,4 mM, Me-β-CD 12,0 mM et %MeOH 11,2%

Validation expérimentale

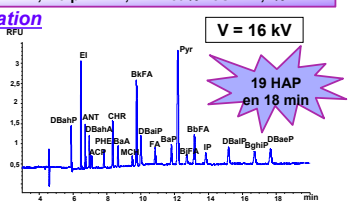
Optimisation fine autour de l'optimum



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

Optimisation de la tension de séparation

➢ test de l'effet Joule : ↗ ΔV de 14 kV à 16 kV ⟶ ↘ temps analyse de 20 à 18 min

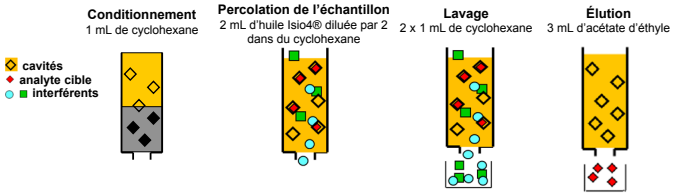


Analyse d'une huile alimentaire

Extraction sur phase solide (SPE)

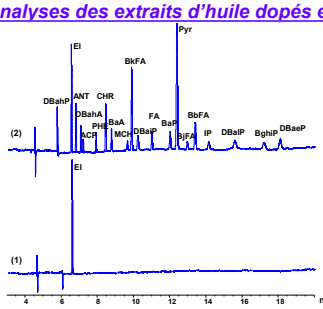
➢ huile Isio4® : mélanges de différentes huiles (tournesol, colza, tournesol oléique et pépins de raisin)

➢ SPE utilisant des polymères à empreintes moléculaires, MIP (Affinilute MIP-PAH, Biotage®)



➢ fraction d'élution évaporée, reprise dans ACN-MeOH-électrolyte (1/3/6, v/v) et analysée en CE

Analyses des extraits d'huile dopés en CE



Analyses CE d'extraits d'huile dopés (1) avec EI à 100 µg/L et (2) avec EI à 100 µg/L plus 19 HAP entre 50 et 3000 µg/L dans les conditions optimisées.

➢ SPE-MIP : bonne purification, analyse possible des extraits en CE

➢ Absence d'interférents dans l'extrait d'huile non dopé

➢ Maintien de la séparation des 19 HAP dans l'extrait d'huile dopé

➢ Méthode de séparation des 19 HAP en CE applicable aux échantillons réels d'huile alimentaire

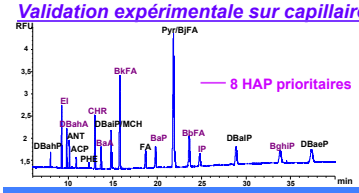
Vers un transfert aux microsystèmes

➢ *Objectifs sur microsystèmes :* séparer les 8 HAP prioritaires entre eux et des autres 11 HAP

➢ *Objectifs sur capillaire :* maximiser la résolution des 8 HAP entre eux et des autres 11 HAP sans prendre en compte le temps d'analyse ⟶ suppression de contraintes lors du traitement des données du plan d'expériences

➢ Conditions optimales prédites : SBE-β-CD 14,8 mM, Me-β-CD 20,4 mM et %MeOH 11,2%

Validation expérimentale sur capillaire



➢ R_s(couple de pic faisant intervenir au moins un des 8 HAP) > 4,2

➢ $\frac{R_s(\text{capillaire})}{R_s(\text{microsystème})} \approx \sqrt{\frac{L_{eff}(\text{capillaire})}{L_{eff}(\text{microsystème})}} = \sqrt{\frac{33,5}{7,0}} = 2,2$

➢ R_s attendues sur microsystèmes ~ 2

➢ Méthode de séparation des 8 HAP en CE transposable au format microsystème

Conclusion

L'utilisation d'une stratégie basée sur un plan d'expériences a permis d'optimiser une méthode de séparation simultanée en CE de 19 HAP d'intérêt environnemental et alimentaire en 18 min. Cette méthode de séparation à été appliquée avec succès à l'analyse d'échantillons complexes tels que des huiles alimentaires. Enfin, le transfert du format microsystème de la méthode d'analyse des 8 HAP communs aux listes US-EPA et EFSA est en cours.