



Analyse LC-MS/MS de l'Acrylamide dans l'eau potable avec injection de larges volumes

- Atteint les niveaux de sensibilité requis sans pré-concentration chronophage de l'échantillon.
- Combinaison entre rétention adéquate et cycle d'analyse court avec la colonne Allure Acrylamide 3.0 x 150 mm.
- Volume d'injection de 100 µl pour augmenter le signal et améliorer la sensibilité tout en évitant les interférents provenant de la matrice.

L'acrylamide a de nombreuses applications, que ce soit en tant que réactif dans la synthèse de composés chimiques organiques ou en tant que monomère dans la production de polymères de polyacrylamide. Cependant, il est également associé à des problèmes importants de santé publique : il peut endommager le système nerveux humain, de nombreux organismes l'ont donc classé comme cancérigène probable pour l'homme. Toute personne peut être exposée à l'acrylamide à travers la consommation de nourriture ayant été cuite à l'aide de techniques à haute température, telle que la friture ou le rôti, mais une exposition beaucoup plus large, à l'échelle de la population, peut résulter de la contamination des réserves d'eau. L'analyse de l'acrylamide dans l'eau potable est en conséquence une priorité croissante pour les laboratoires du monde entier.

Les polyacrylamides sont utilisés comme agents de floculation dans le traitement des déchets et de l'eau potable. L'eau entrante peut avoir une concentration élevée de particules en suspension, et les usines de traitement utilisent des produits chimiques pour déstabiliser ces suspensions (coagulation) puis en provoquer l'agrégation une fois déstabilisées, formant des particules de plus en plus grosses qui se déposent alors plus facilement hors de l'eau (floculation). Les agents de floculation à base de polyacrylamides sont particulièrement efficaces, mais ils peuvent libérer de l'acrylamide monomérique, donc pour être utilisés, ils ne doivent libérer que de très faibles niveaux d'acrylamide. Traditionnellement, la teneur en acrylamide dans l'eau était calculée à partir du pourcentage d'acrylamide monomérique résiduelle dans le(s) polyacrylamide(s) utilisé(s) pour le procédé de floculation. Mais les techniques de chromatographie liquide ayant considérablement évolué, elles permettent désormais d'analyser l'acrylamide directement dans l'eau potable. De nombreux laboratoires environnementaux utilisent maintenant ces analyses « directes » et on remarque un intérêt grandissant pour les techniques très sensibles, telles que l'injection de larges volumes.

Atteindre les niveaux de sensibilité requis

L'analyse de l'acrylamide dans l'eau potable est généralement faite en LC-MS/MS, mais il est difficile de retenir l'acrylamide et de la séparer des composés interférents provenant de la matrice avec la plupart des colonnes LC de phase inverse. Cette analyse de l'acrylamide dans l'eau potable est d'autant plus difficile que les limites de détection et de quantification dans cette matrice sont très faibles, et les niveaux requis de l'ordre du de la ppt peuvent être difficiles à atteindre, en particulier sur des systèmes LC-MS/MS d'ancienne génération.

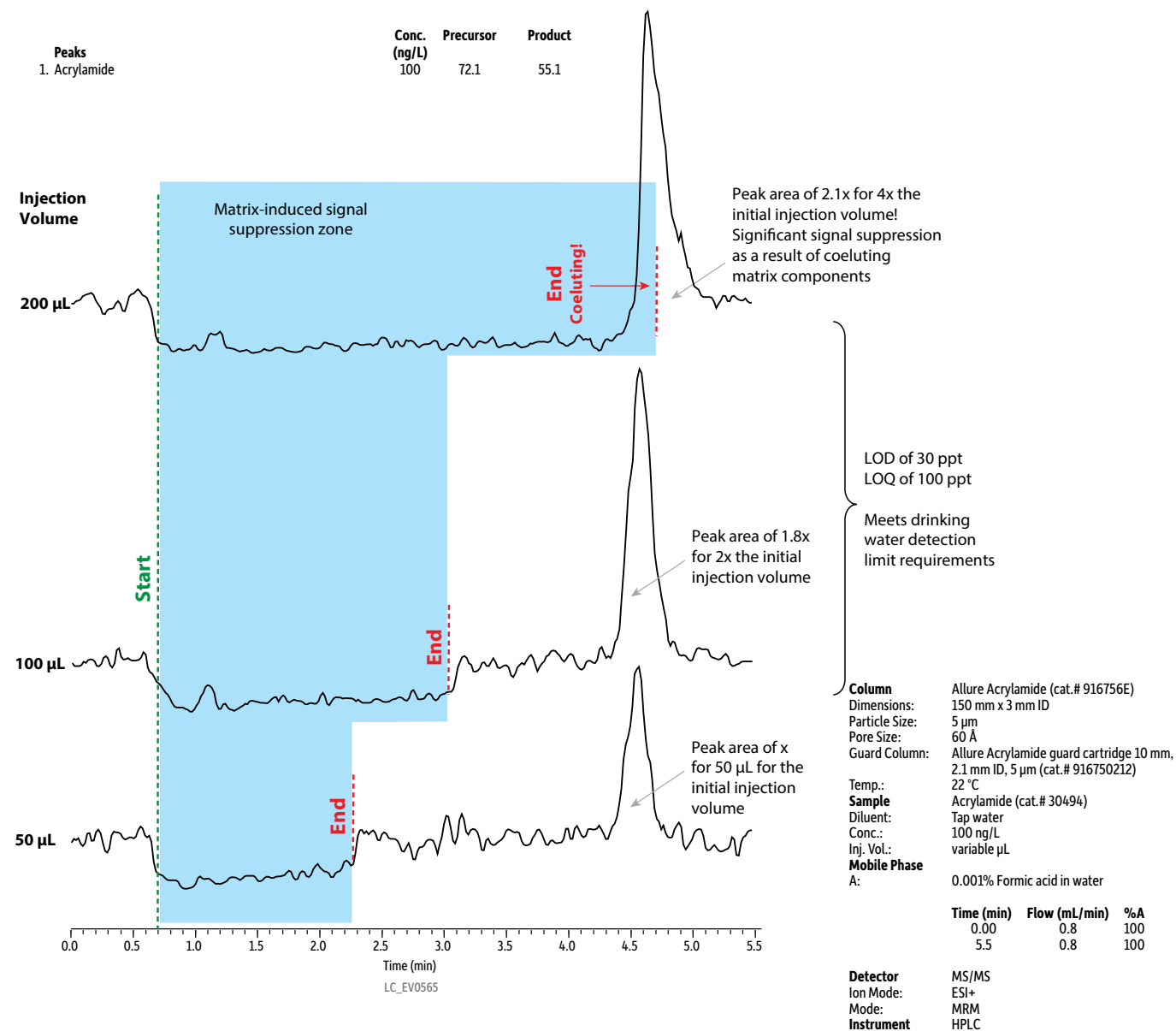
La première étape pour atteindre les niveaux de sensibilité requis consiste à utiliser une colonne dont la phase stationnaire et le type de particules offrent la rétention adéquate pour l'acrylamide ainsi qu'une séparation efficace des interférents provenant de la matrice tout en gardant des temps d'analyse les plus courts possibles. C'est justement ce que vous permettent les colonnes Restek Allure Acrylamide ! Elles ont été développées spécifiquement pour cette analyse et contiennent des particules avec une phase stationnaire greffée ayant une affinité particulière avec les molécules polaires mais également des pores de petites tailles qui vont augmenter la rétention des petites molécules polaires, telle que l'acrylamide.

La deuxième étape pour atteindre les niveaux de sensibilité requis consiste à déterminer laquelle des deux stratégies les plus couramment utilisées convient le mieux à votre laboratoire : (1) pré-concentration hors ligne avec extraction en phase solide (SPE), ou (2) injection de larges volumes. Pour les laboratoires utilisant la pré-concentration SPE, une colonne Allure Acrylamide en 2.1 x 50 mm est un bon choix. De nombreux laboratoires utilisent plutôt l'injection de larges volumes, car cela leur permet de gagner du temps et de l'argent tout en réduisant potentiellement les risques d'erreurs ; mais d'autres critères rentrent alors en compte, comme les effets matrices par exemple. Pour cette stratégie, une colonne Allure Acrylamide en 3.0 x 150 mm sera un choix adéquat car elle fournit la capacité nécessaire et utilise un débit optimal suffisamment faible pour éviter une perte de sensibilité en MS. Si vous utilisez une colonne aux dimensions trop grandes, les gains en capacité seraient perdus soit à cause d'une perte de sensibilité en MS (si vous utilisez le débit optimal de la colonne, car il est supérieur au débit MS optimal), soit par une perte d'efficacité et de temps (si vous utilisez le débit MS optimal, car il est plus faible que le débit optimal de la colonne). Il faut enfin également garder à l'esprit que la sensibilité inhérente à l'instrument utilisé peut aussi dicter la quantité d'échantillon à injecter.

Minimiser les effets matrice

Les composés interférents provenant de la matrice peuvent réduire la sensibilité et la précision de la méthode, en particulier lorsque l'on travaille à de faibles concentrations, et leurs effets peuvent être exacerbés lorsque l'on utilise des volumes d'injection (très) élevés. Pour démontrer ces effets, l'analyse LC-MS/MS de l'acrylamide dans l'eau potable illustrée en figure 1 compare l'influence de la matrice sur trois volumes d'injection différents. Les effets matrices peuvent varier selon l'échantillon, mais nous observons ici que la région de suppression ionique est de plus en plus grande au fur et à mesure que les volumes d'injection augmentent. Les composés de la matrice éluant tôt sont généralement envoyés à la poubelle pour ne pas contaminer la MS, mais nous les montrons ici pour illustrer ces effets matrices et souligner l'importance d'une rétention adéquate des analytes. Avec un « petit » volume d'injection (50 µL dans ce cas), la zone de suppression ionique se termine bien avant l'élution de l'acrylamide, mais le volume est trop faible pour atteindre les niveaux de sensibilité souhaités. En passant sur un volume d'injection de 100 µL, on augmente le signal de l'acrylamide, atteignant la sensibilité requise tout en maintenant une forme de pic acceptable. Malheureusement, il y a des limites à la quantité d'échantillon qui peut être injectée tout en gardant de bonnes performances chromatographiques. Par exemple, lorsqu'on injecte 200 µL, la zone de suppression devient nettement plus importante et commence à empiéter sur le pic d'acrylamide, résultant en une augmentation du signal plus faible que celle attendue en doublant le volume d'injection. Là où une colonne aux dimensions suffisantes pour s'accommoder d'un volume d'injection de 200 µL aura des soucis liés au débit de travail (comme discuté auparavant) et aux effets matrice, des injections de 100 µL sur une colonne Allure Acrylamide en 3.0 x 150 mm minimiseront les effets matrice et permettront de répondre aux exigences de sensibilité.

Figure 1 : Le volume d'injection doit être suffisamment important pour atteindre les niveaux de sensibilité requis, mais pas trop élevé pour que la zone de suppression ne vienne pas empiéter sur le pic d'acrylamide et ne fasse diminuer le signal.



Notes Tap water fortified with an acrylamide standard to a final concentration of 100 ng/L (ppt), which was then directly injected at 50, 100, and 200 µL injection volumes. Note the encroaching suppression zone resulting from ions present in the tap water. In 50 and 100 µL injection volumes, acrylamide is well separated from this matrix effect. At 200 µL injection volume, the matrix interference affects the acrylamide peak shape and signal.

Performances de la méthode

D'après nos recherches et essais, des injections de 100 µl sur une colonne Allure Acrylamide 3.0 x 150 mm dans les conditions indiquées dans la figure 2 se sont révélées être le choix optimal pour l'analyse de l'acrylamide dans l'eau potable par injection directe de larges volumes. Cette méthode équilibre parfaitement les besoins simultanés de capacité, de sensibilité et de temps d'analyse. Sur un instrument LC-MS/MS de sensibilité moyenne, nous avons pu obtenir une gamme d'étalonnage de 30 à 1000 ppt, atteignant aisément une limite de quantification (LOQ) de 100 ppt et une limite de détection (LOD) de 30 ppt (figures 2 et 3).

Figure 2 : Une limite de quantification (LOQ) de 100 ppt pour l'analyse de l'acrylamide dans l'eau peut être aisément atteinte à l'aide de cette méthode d'injection de larges volumes.

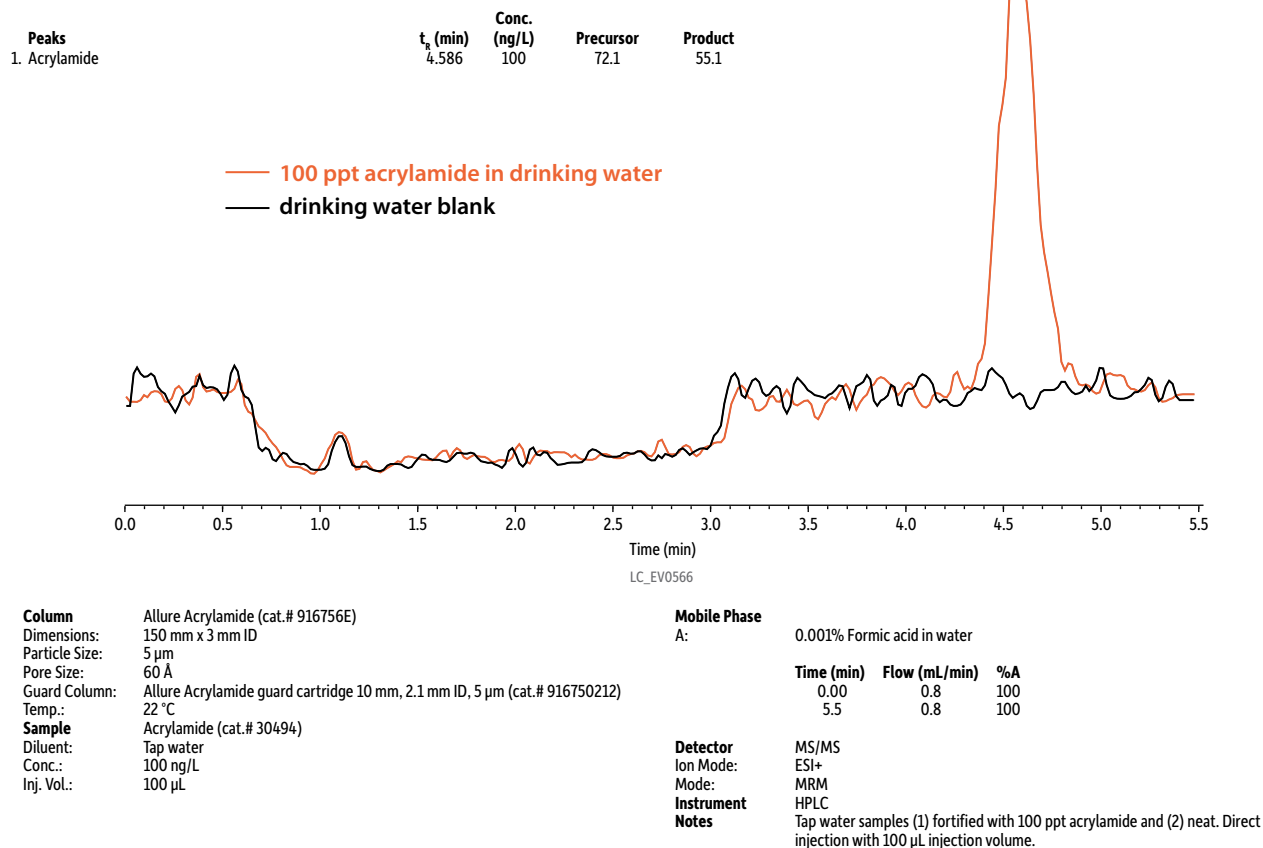
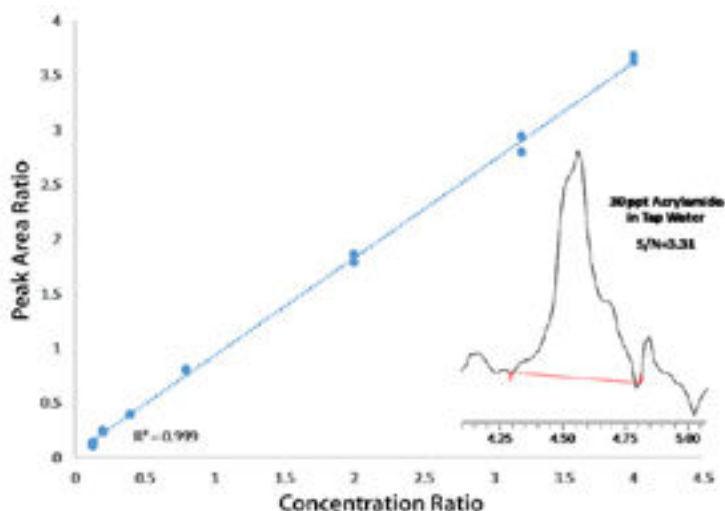


Figure 3 : Courbe d'étalonnage (30 – 1000 ppt) pour l'acrylamide dans l'eau potable (encart : échantillon LOD 30 ppt).



En conclusion, alors que la demande pour l'analyse en injection directe de l'acrylamide dans l'eau potable à l'état de traces augmente, l'injection de larges volumes est un moyen rapide et rentable pour répondre aux exigences de sensibilité en comparaison à une analyse avec pré-concentration SPE. Comme nous l'avons vu dans cet article, utiliser un volume d'injection de 100 µl sur une colonne Allure Acrylamide 3.0 x 150 mm est un moyen efficace pour employer cette approche.



Particules : 5 µm, sphériques
 Taille des pores : 60 Å
 Taux de carbone : non communiqué
 « End-cappée » : non
 Surface spécifique : 450 m²/g
 Gamme de pH : 2.5 à 8
 Température max. : 80 °C

Colonnes Allure Acrylamide

- Temps de rétention stables même après plus de 1 000 injections.
- Temps d'équilibrages plus rapides pour des méthodes optimisées et des analyses plus courtes.
- Permet la quantification à 100 ppt de l'acrylamide dans l'eau.
- Satisfait ou dépasse les exigences de la méthode EN 16618:2015 et les procédures FDA (Food and Drug Administration) dans l'alimentation.
- Performances robustes et reproductibles d'injection à injection et de colonne à colonne.

DI	Longueur	Qté	Réf.
Particules de 5 µm			
2.1 mm	50 mm	L'unité	9167552
3.0 mm	150 mm	L'unité	916756E



Cartouches Allure pour précolonnes (USP L3)

Taille des particules : 5 µm sphériques, taille des pores : 60 Å

Description	Taille des particules	Dimensions	Qté	Réf.
Cartouches Allure Acrylamide	5 µm	10 x 2.1 mm	Lot de 3	916750212



Acrylamide

Acrylamide (79-06-1)

Description	CAS #	Concentration, solvant et volume	Étalon certifié ? (CRM)	Péremption max. à expédition	Péremption min. à expédition	Temp. de stockage	Qté	Réf.
Acrylamide	79-06-1	1 000 µg/ml dans le méthanol, 1 ml/ampoule	Oui	24 mois	6 mois	≤ 10 °C	L'unité	30494



Acrylamide-d3

L'acrylamide deutéré est un excellent choix technique, peu coûteux, d'étalon interne marqué pour les analyses de l'acrylamide dans les échantillons du domaine environnemental ou agro-alimentaire.

Acrylamide-d3 (122775-19-3)

Description	CAS #	Concentration, solvant et volume	Étalon certifié ? (CRM)	Péremption max. à expédition	Péremption min. à expédition	Temp. de stockage	Qté	Réf.
Acrylamide-d3	122775-19-3	500 µg/ml dans l'acétonitrile, 5 ml/ampoule	Oui	24 mois	6 mois	≤ 10 °C	L'unité	30153