Haute Résolution et PCA
:
le duo gagnant pour traquer la pollution aquatique

ccCTA 2025
Villars

Dr. Sandra Vargas
OCEau - LPEE

Introduction

- Le Laboratoire: LPEE
- Pollution des eaux de surface

HR-MS & PCA

Workflow

- Workflow in 6 steps
  - Analysis : LC-QTOF Method
  - Data Analysis with PCA
  - Processing data with matching librairy

Exemples

- Pollution 1
- Pollution 2

Perspectives & Conclusion

Le labo… LPEE

Office Cantonal de l'Eau

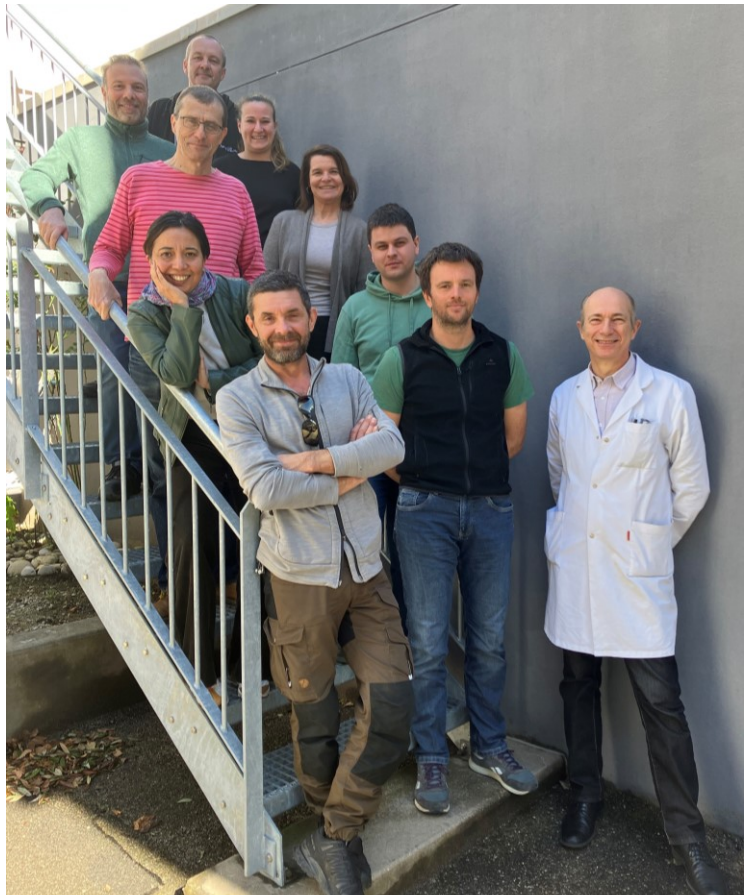
Service de la surveillance et la protection des milieux aquatiques

Laboratoire de la Protection des Eaux et de l'Environnement

Prélèvement

Analyses chimique

Diagnostique de la qualité de l'eau



Interprétation des résultats

Projets

Communication

Transversalité

Le labo… LPEE

Analyses chimiques

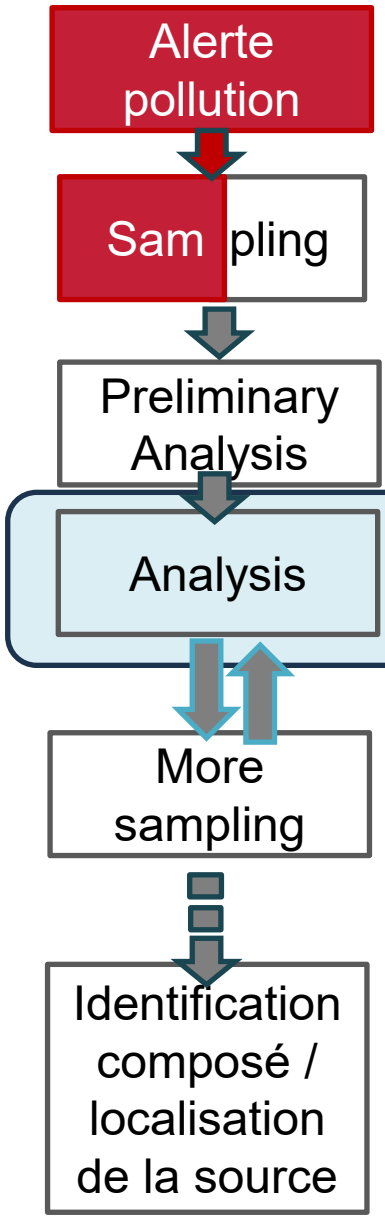
15 types de mesures

pH, condu, TAC
MES
TOC/DOC
Anion/Cation
Elément majeurs
Métaux
Micropolluants
Pesticides
GC-MS Screening
Ratio isotopique ($^{18}O/^{16}O$ and $^{2}H/^{1}H$)

Projets

- **Monitoring des cours d'eau**
  76 cours d'eau / 140 Stations
- **Vérification de la conformité des stations d'épurations**
  4 domestiques /2 industries
- **Projets internes/externes**
- **Pollutions**

En cas de pollution…



GE→ 118

- Collaboration SIS-OCEau
- Réactivité ; connaissance du terrain
- Analyses in-situ : O_2, pH, conductivity,kit test (N-NH_4, P-PO_4)

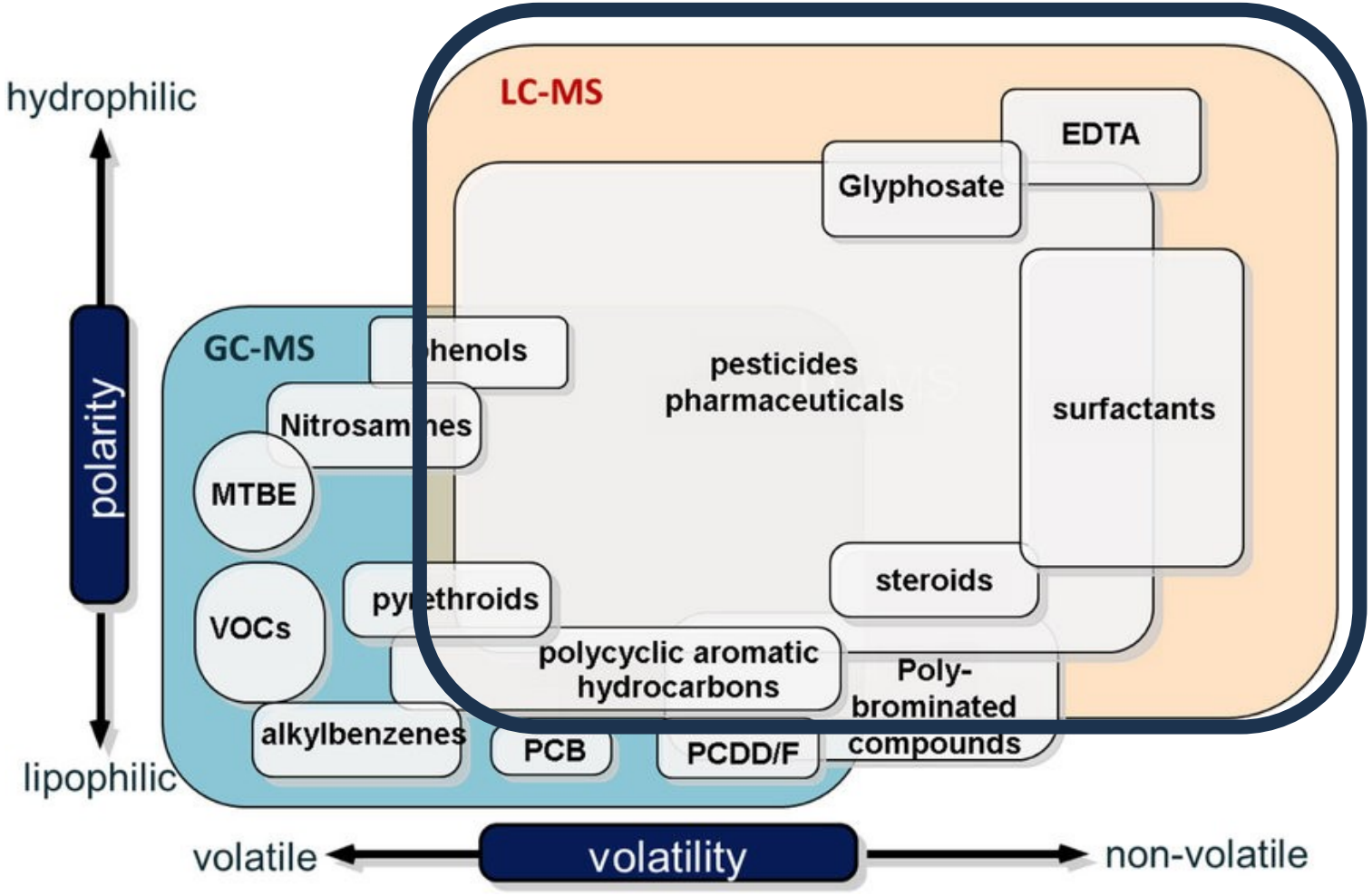
- pH / condu / TOC / Anion-Cation / Métaux…

- GC-MS screening
- LC-MSMS analyse ciblée (pesticides, pharma)

- Enquête de terrain

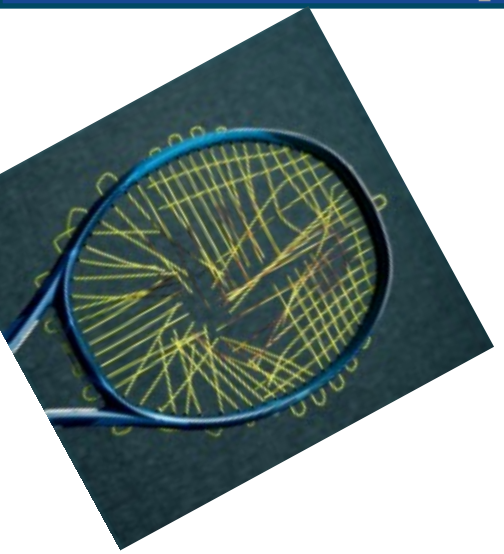
OCEau/ Cellule juridique

En cas de pollution…



Domains of GC-MS and LC-MS techniques in the two dimensions of hydrophobicity and volatility (Brack et al., 2016).

HR-MS implementation



Compléter l'arsenal de méthodes avec une méthode de screening LC-HRMS

- Type de polluants : pesticides, pharmaceutiques, produits utilisés en industrie chimique, polluants émergents
- Petites molécules : 100-1000 Da
- Matrice : eau de type rivière, effluent d'industrie, eau de lessivage
- Equipement : Sciex X500R QTOF system

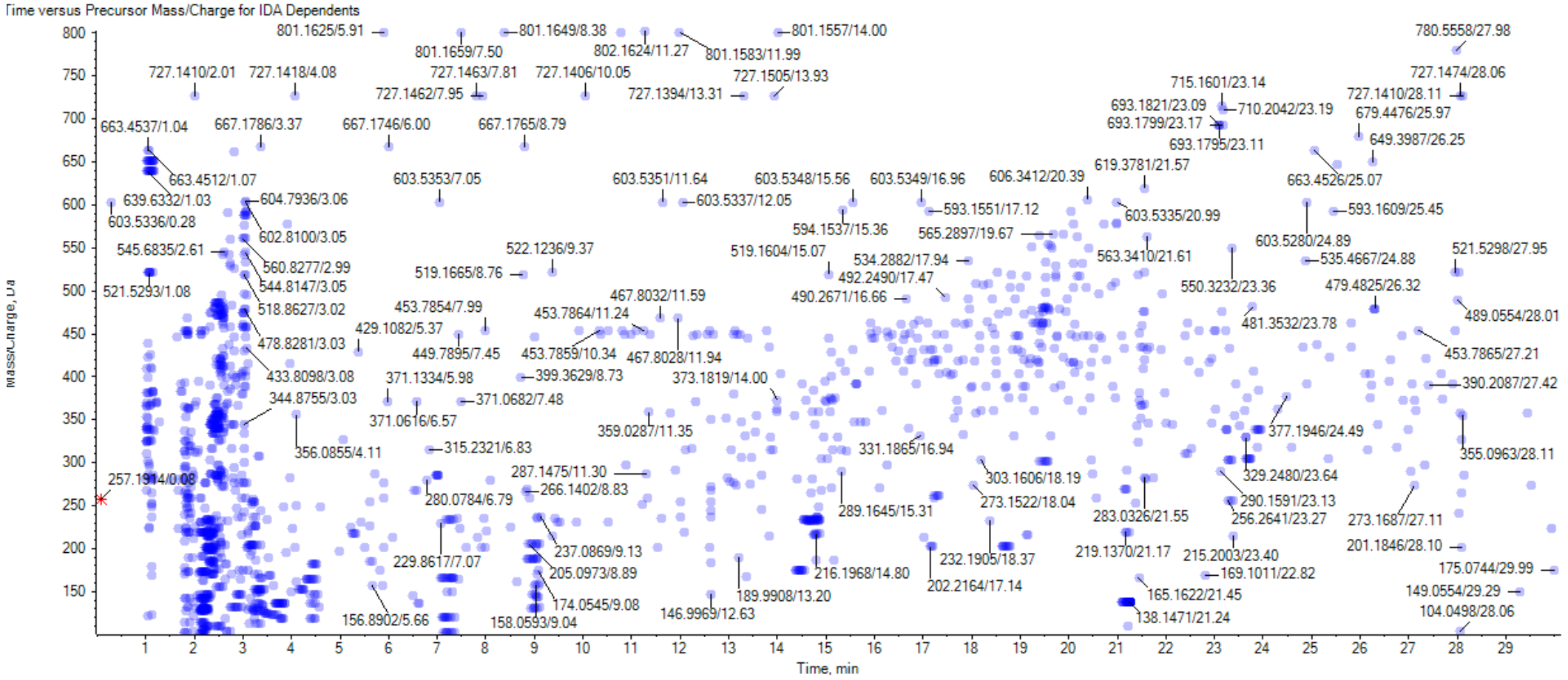
SCIEX OS

MV

HRMS & PCA

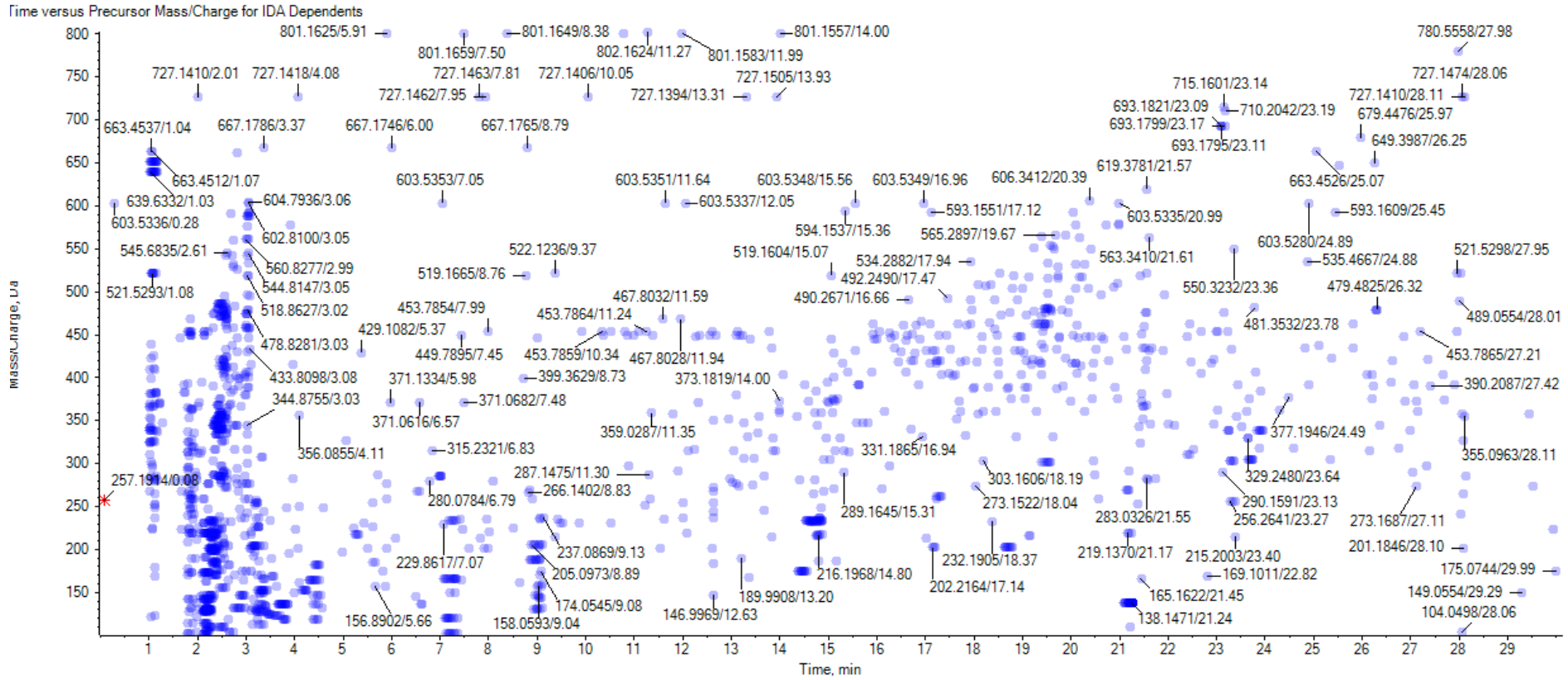
HR-MS → comment l'interpréter

A) Acquisition non-ciblée



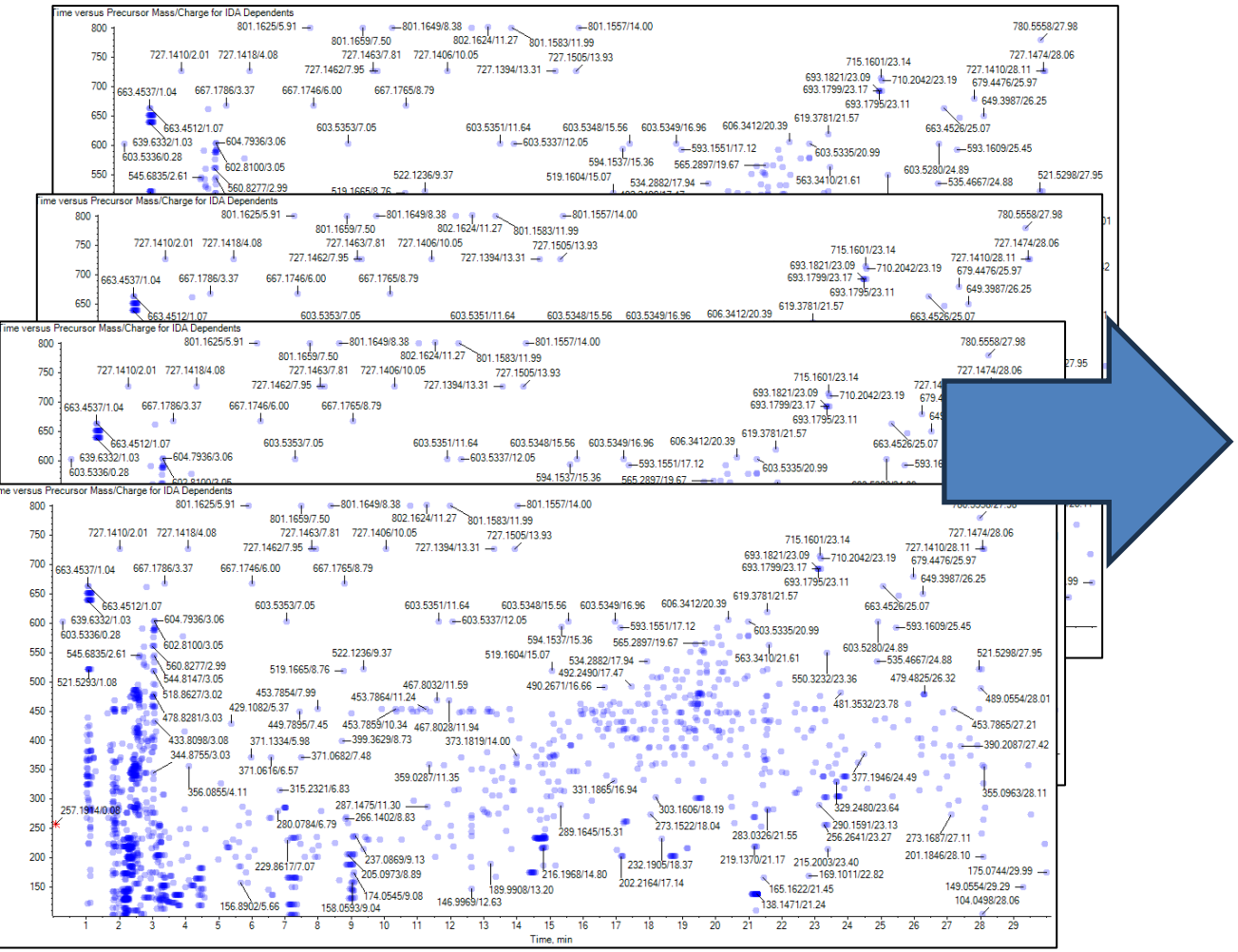
HR-MS → comment l'interpréter?

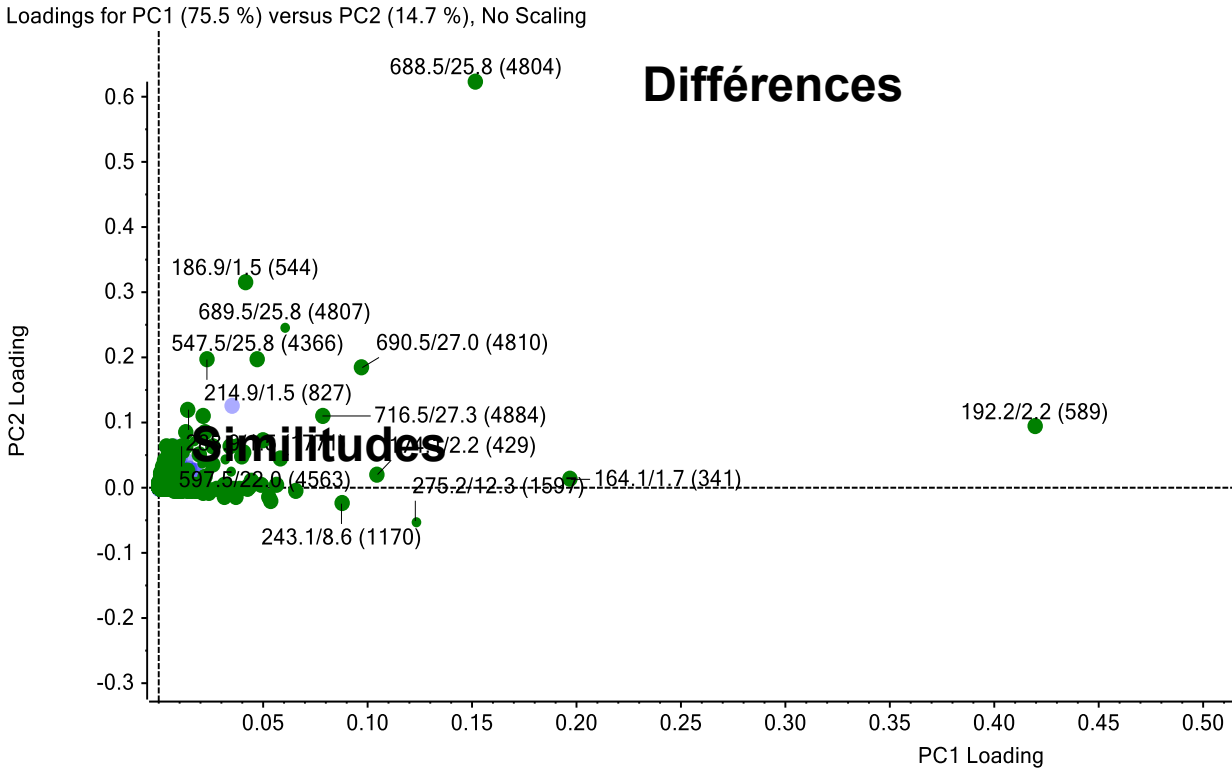
B) Analyses de données : 2 approches



par où commencer? → Echantillonnage ciblé & PCA

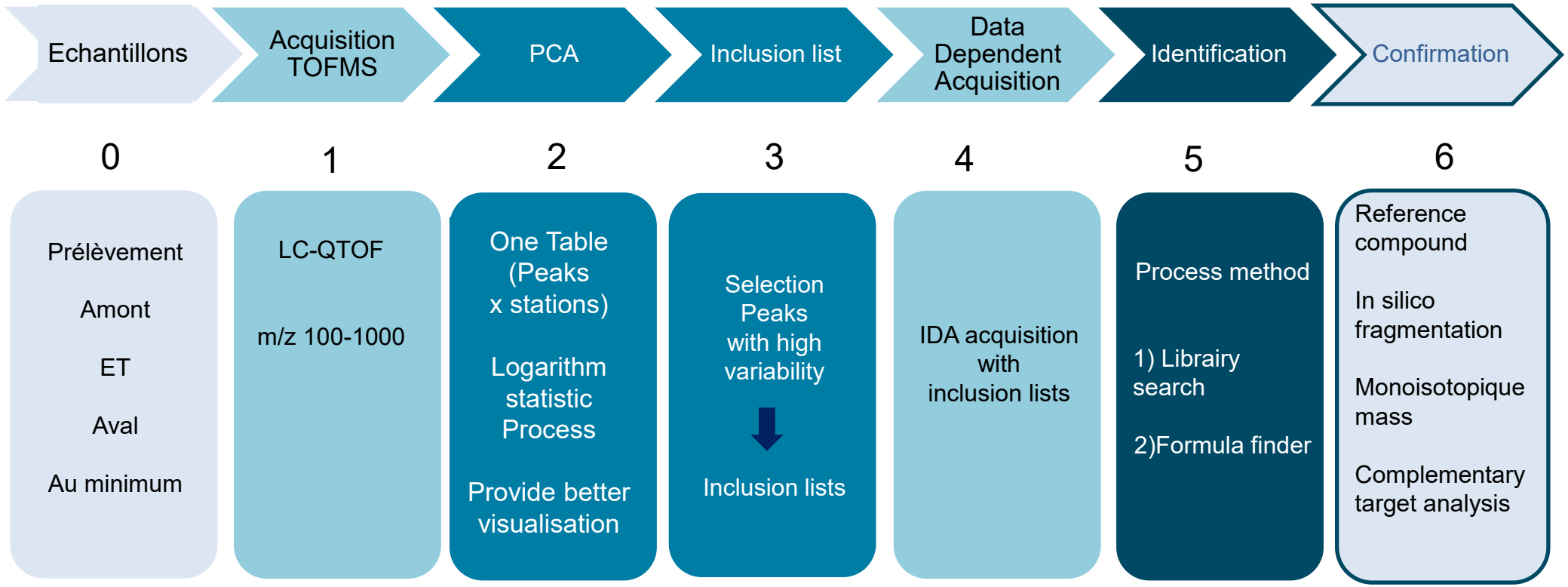
A) Visualisation des données





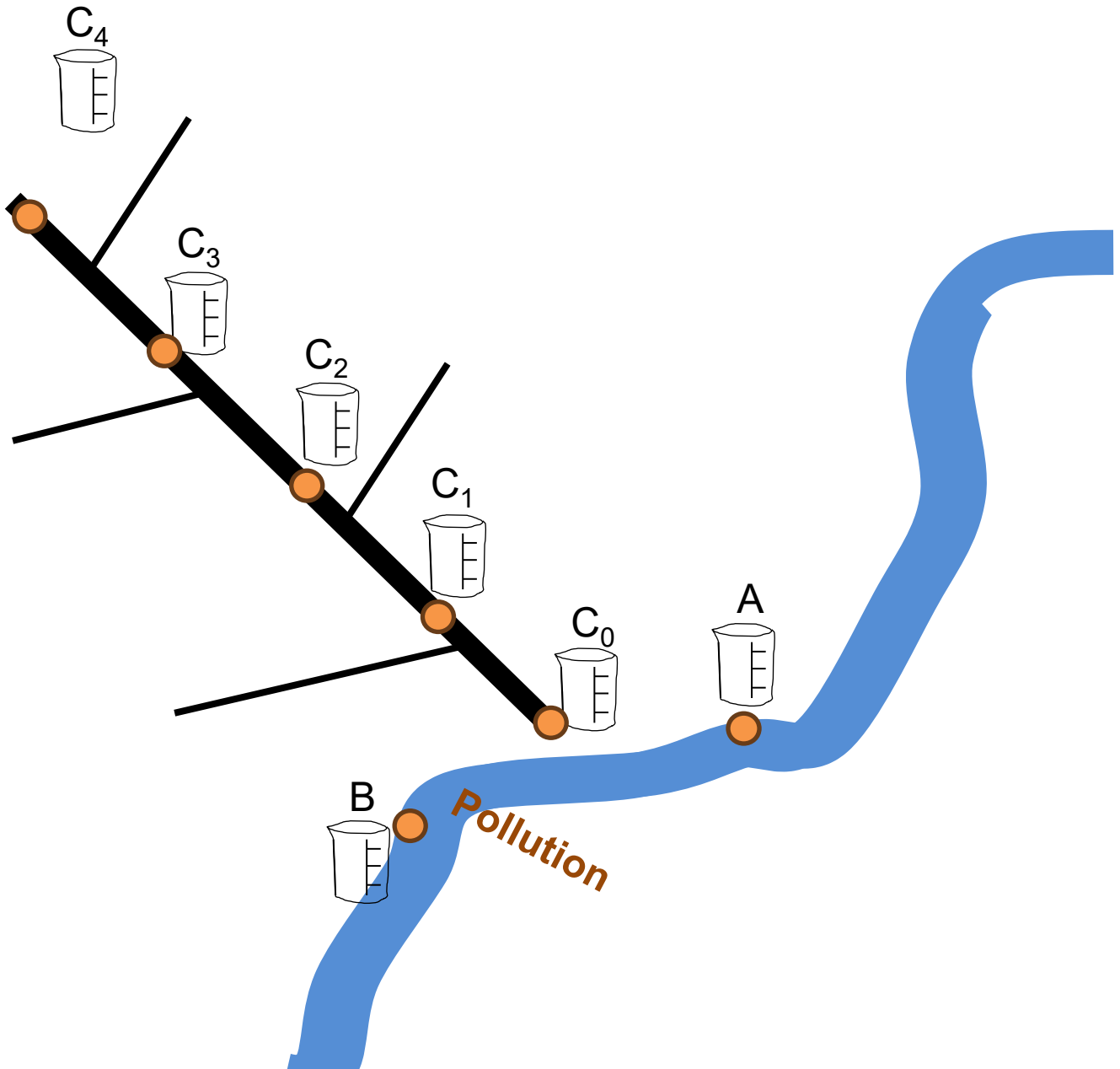
Procédure HRMS & PCA pour traquer la source de pollution

Workflow



- Support by Dr. Jianru Stahl-Zeng and Michael Scherer
- Application notes*

Echantillonnage



- Point de prélèvement
  A : Amont
  B : Aval
  C_0 : Exutoire
  C_1 to C_4: collecteurs

Etape –°1 : Acquisition

Analysis in LC-TOF-MS

Batch

Triplicat

- Blanc
- Samples

Randomize order
0,1,2,3,
0,1,2,3
0,1,2,3

LC method *

Zorbax Eclipse Plus C18
2.1x150mm 3.5µm

Guard column Zorbax
2.1x12.5 5µm

- 1A: H_2O + 0.1%HCOOH
  3A: MeOH + 0.1%HCOOH
- 0.4 ml/min
- Gradient mode 30 minutes
- Column °T 40°C
- Inj. Vol. 100 µl

MS method

- Mode : TOFMS
- ESI+ / ESI-
- Spray voltage :
- 5500V / -4500V
- MS scan m/z :
- 100-1000
- Source °T : 550°C

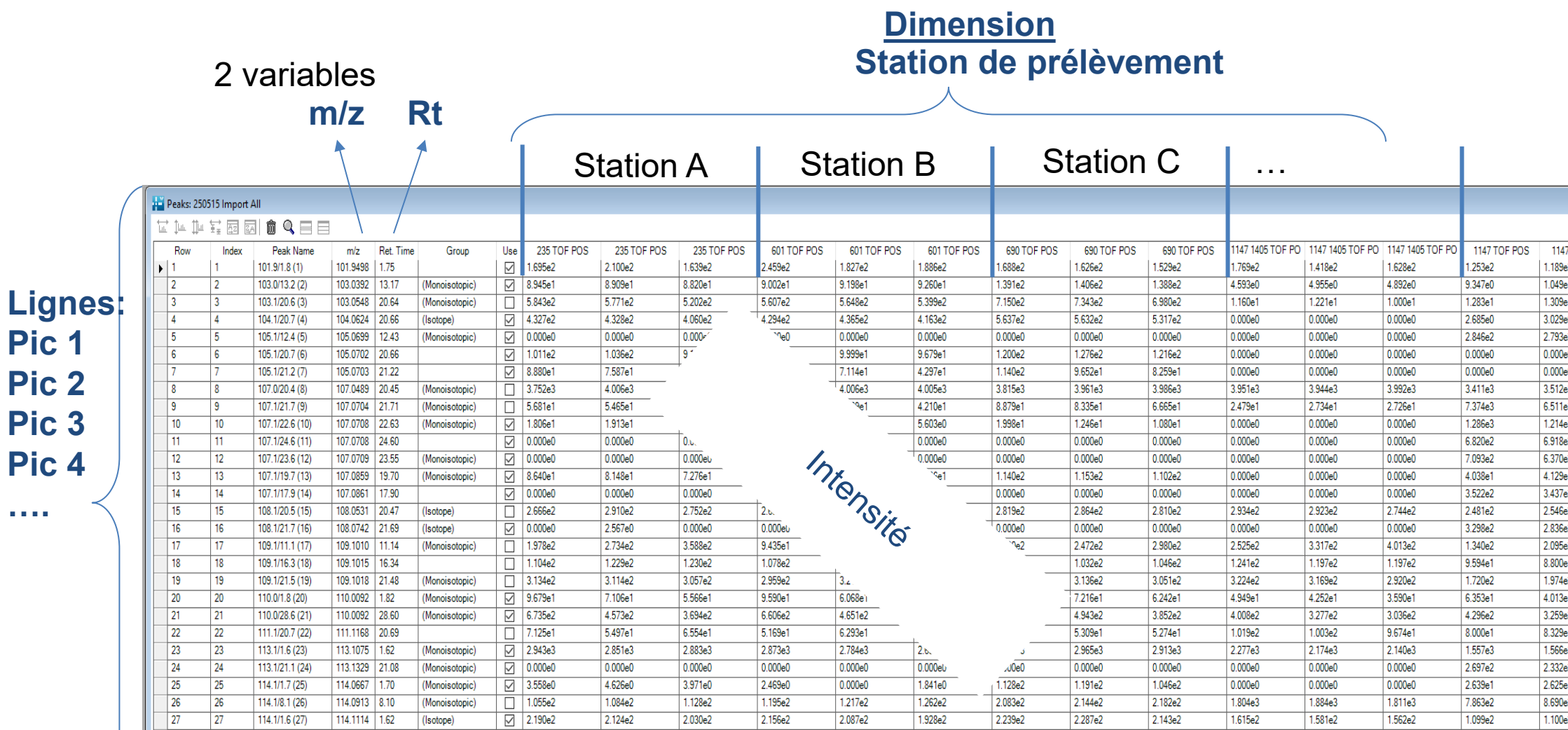
1 sampling → 3 injections → 3 *.wiff2 (0.5 Go/sample)

*** NTSuisse project : plateform screening for surface water**

Etape°2 - PCA

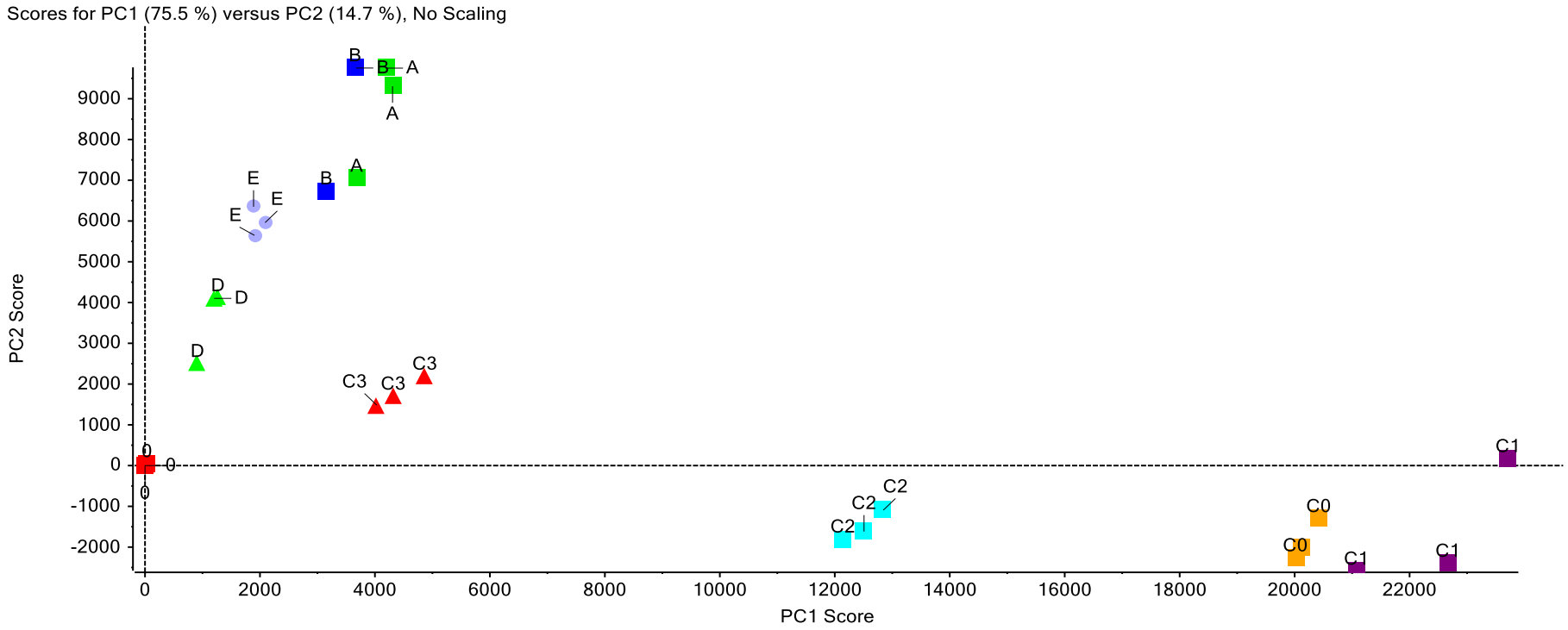
B) Regroupement des données

- Données TOF-MS → env. 0.5 Go /échantillon
- Une seule table



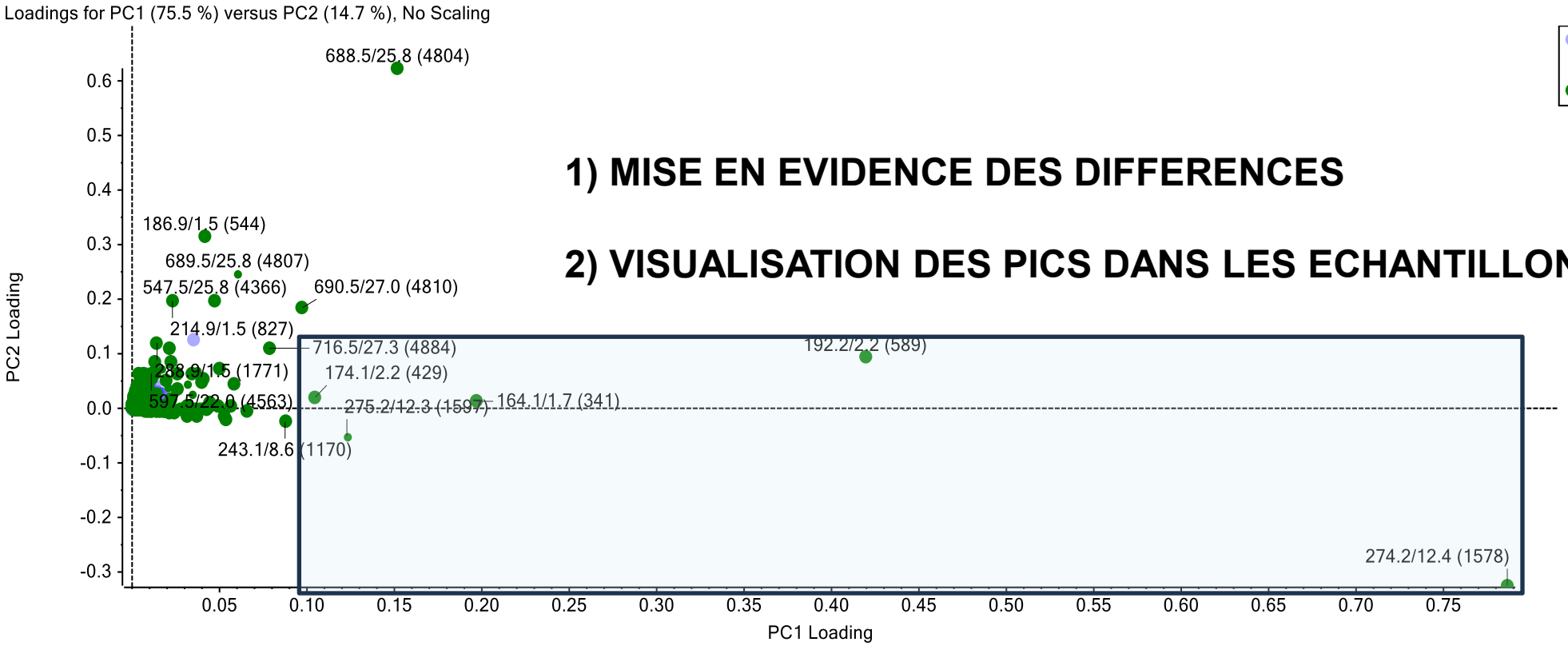
Etape °2 : PCA

C) PCA –VISUALISATION PAR ECHANTILLONS



ETAPE °2 : PCA

D) PCA – VISUALISATION PAR PICS



1) MISE EN EVIDENCE DES DIFFERENCES

2) VISUALISATION DES PICS DANS LES ECHANTILLONS

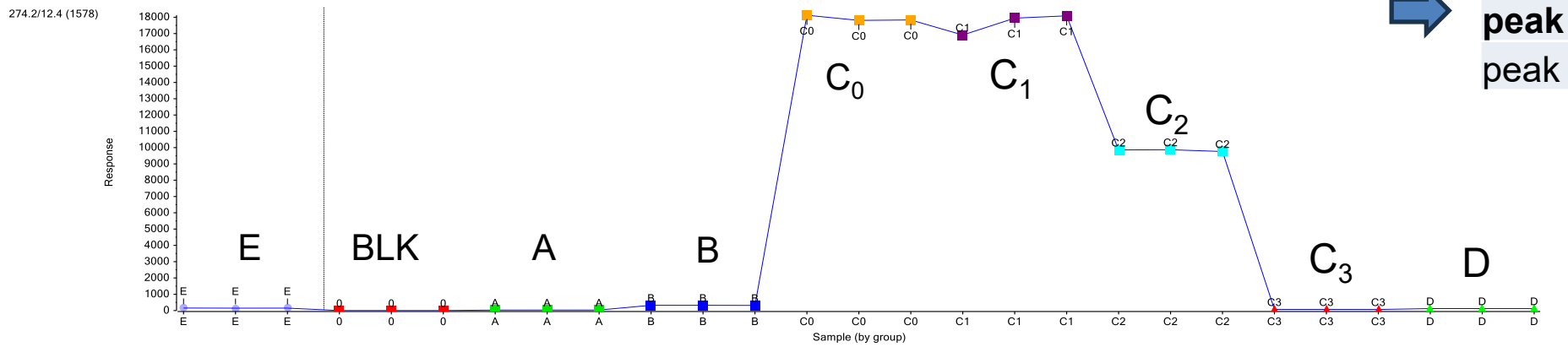
	m/z	Ret. Time
peak 1	164.1277	1.69
peak 2	174.1486	2.17
peak 3	192.159	2.16
peak 4	243.1333	8.62
peak 5	274.2006	12.38

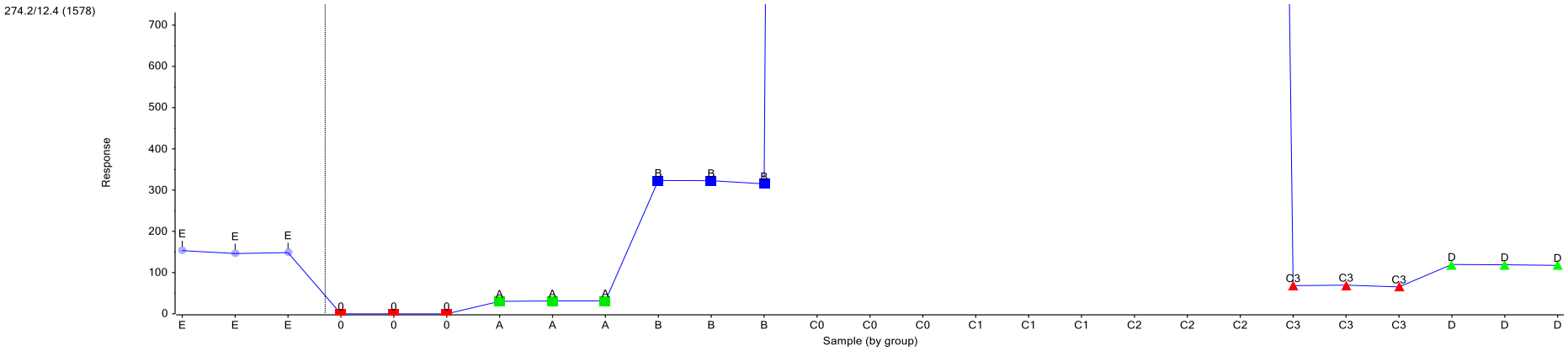
ETAPE °3 : Création liste d'inclusion

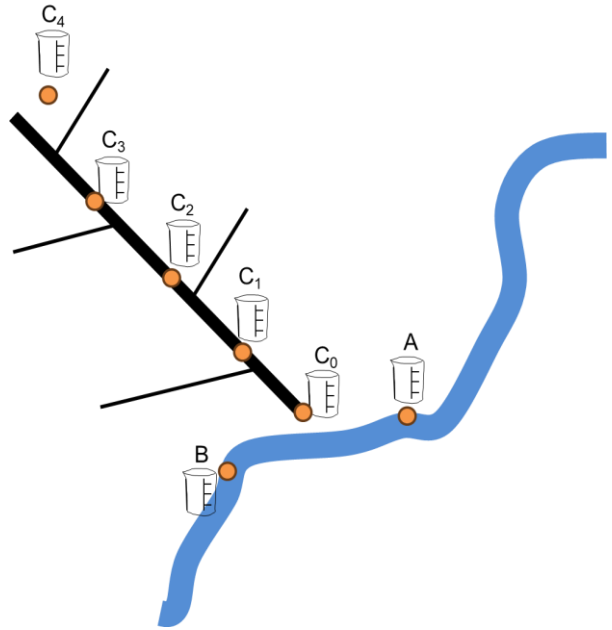
2) VISUALISATION DE CHAQUE PICS D'INTÉRÊT DANS LES ÉCHANTILLONS

3) CREATION D'UNE LISTE D'INCLUSION

	m/z	Ret. Time
peak 1	164.1277	1.69
peak 2	174.1486	2.17
peak 3	192.1590	2.16
peak 4	**243.1333**	**8.62**
peak 5	274.2006	12.38







ETAPE °4 : Reinjection IDA

ACQUISITION AVEC LISTE D'INCLUSION

1 échantillon
1 blank

Method duration 30 min | Total scan time: 0.661 s | Estimated cycles: 2725

Source and Gas Parameters

Ion source gas 1	60 psi	Curtain gas	35 psi	Temperature	550 °C
Ion source gas 2	70 psi	CAD gas	7		

Experiment IDA

Polarity: Positive | Spray voltage: 5500 V

TOF MS

TOF start mass	100 Da	Declustering potential	80 V	Collision energy	10 V
TOF stop mass	1000 Da	DP spread	0 V	CE spread	0 V
Accumulation time	0.1 s				

IDA Criteria Small molecule

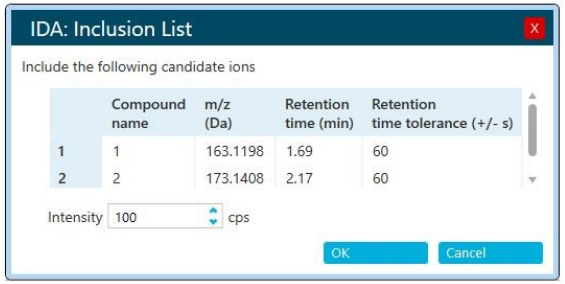
Maximum candidate ions: 10
Intensity threshold exceeds: 100 cps
☑ Dynamic background subtraction
☐ Exclude former candidate ions
For 6 s
After 1 occurrences

Advanced Criteria

☐ Dynamic accumulation
☐ Exclude isotopes +/- 4 Da
Mass tolerance +/- 50 ◉ mDa ○ ppm
☑ Inclusion List...
☐ Exclusion List...

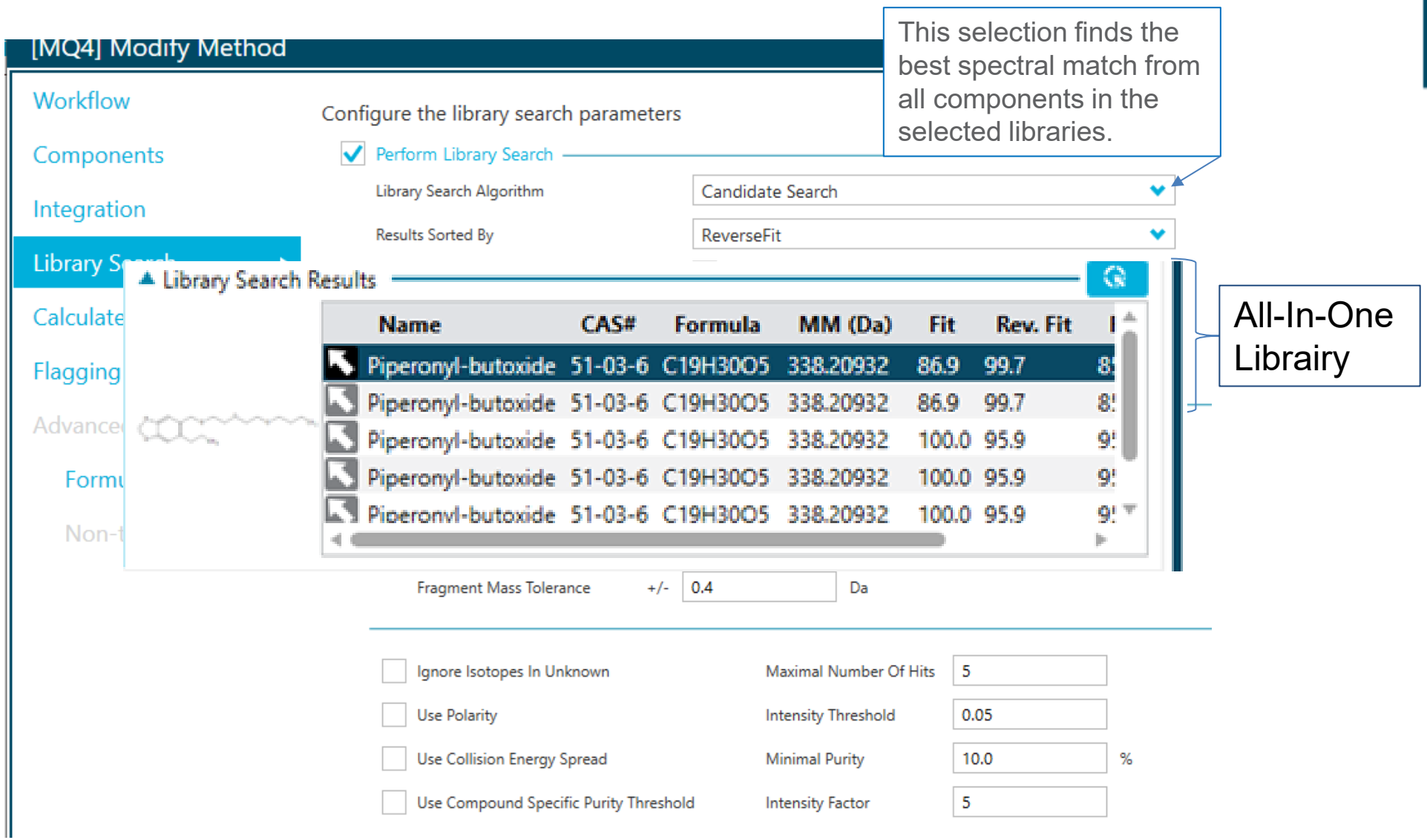
TOF MSMS

Precursor ion	830 Da	Declustering potential	80 V	Collision energy	30 V
TOF start mass	50 Da	DP spread	0 V	CE spread	15 V
TOF stop mass	1000 Da	Accumulation time	0.05 s		



ETAPE °5 : Identification

PROCESS METHOD - LIBRAIRY SEARCH

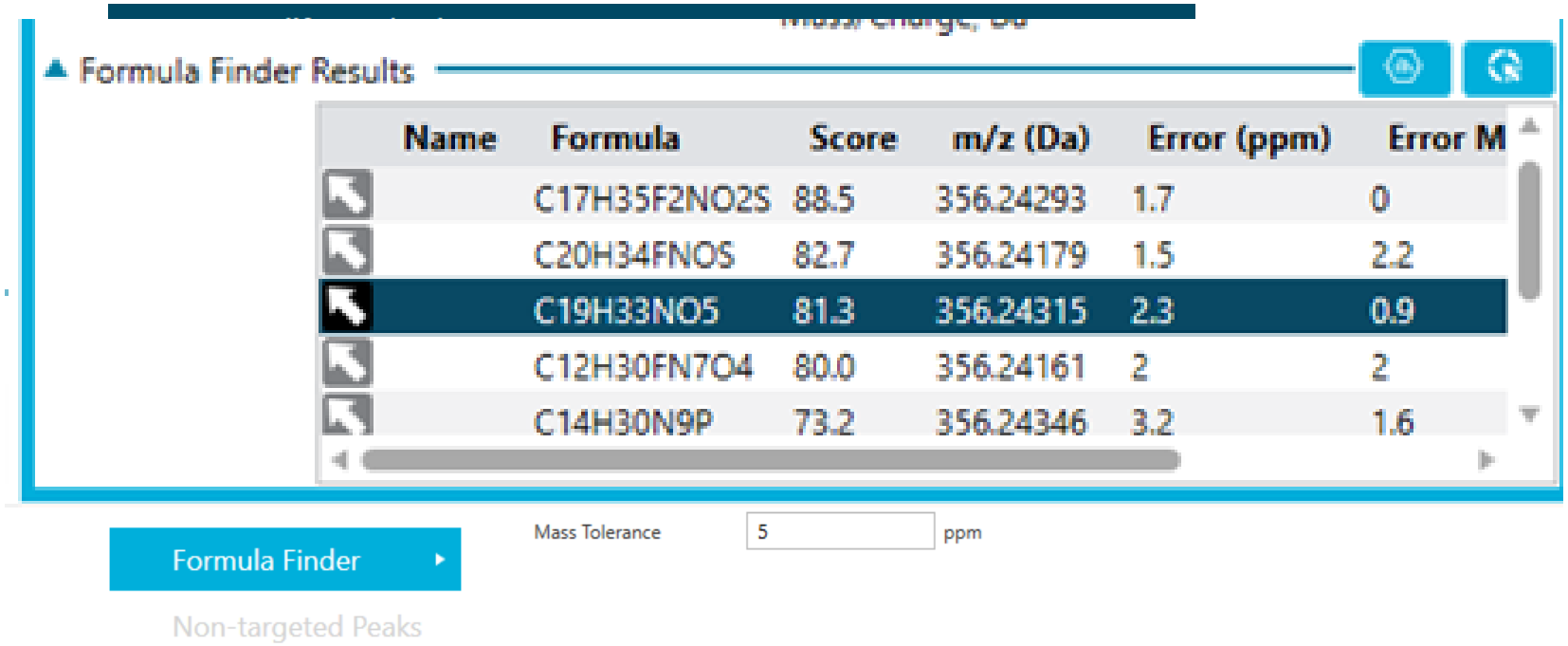


This selection finds the best spectral match from all components in the selected libraries.

All-In-One Librairy

ETAPE °5 : Identification

PROCESS METHOD – FORMULA FINDER



ETAPE °5 : Identification

COMPARAISON DES DEUX RÉSULTATS OBTENUS

	FORMULA FINDER Result	LIBRAIRIE All-in-one	LIBRAIRIE NIST	IDENTIFICATION?
Scenario 1	Composé A	Composé A		Acceptée (mais à confirmer?)

ETAPE °5 : Identification

COMPARAISON DES DEUX RÉSULTATS OBTENUS

	FORMULA FINDER Result	LIBRAIRIE All-in-one	LIBRAIRIE NIST	IDENTIFICATION?
Scenario 1	Composé A	Composé A		Acceptée (mais à confirmer?)
Scénario 2	Composé B	Composé A		A investiguer
Scénario 3	Composé A	☒	Composé A	A confirmer
Scénario 4	Composé A	☒	☒	A investiguer
Scénario 5	☒	A	☒	A investiguer

ETAPE °6 : Confirmation

"Un score élevé n'assure pas une fiabilité à 100% de l'identification"

Confirmation

ou

Investigation

Stage en cours
A. Nero

- ❑ En analysant le standard si disponible
- ❑ En utilisant d'autres bases de données pour la comparaison de spectres de masse de référence (Chemspider, Pubchem)
- ❑ En utilisant une application de prédiction pour la fragmentation de molécule (MStool, mzmin
- ❑ En explorant des structures chimiques (Chemspider)

Exemples

- Pollution 1
- Pollution 2

Pollution 1

Mortalité de poissons

Analyse préliminaire: pH 14 dans l'exutoire et en aval dans le cours d'eau

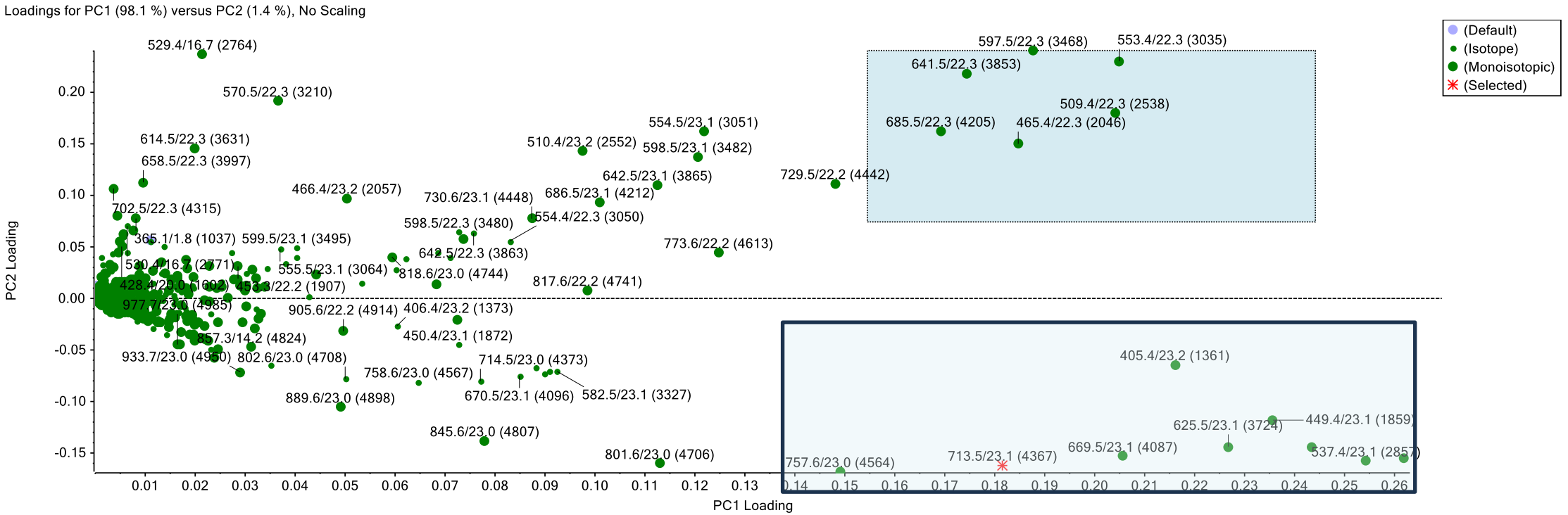
Preuves récoltées lors de l'enquête: fût de produit de nettoyage→ MSDS sheet

Composants dangereux

Nom Chimique	No.-CAS No.-CE No REACH
hydroxyde de sodium	1310-73-2 215-185-5 01-2119457892-27
Alcools éthoxylés en C13-15 ramifiés et linéaires	157627-86-6 POLYMER
Sel de sodium de l ' EDTMPA	22042-96-2 244-751-4 01-2119514449-36
Alcools éthoxylés en C13-15 ramifiés et linéaires	157627-86-6 POLYMER
Alcohols, C13, branched,	69011-36-5

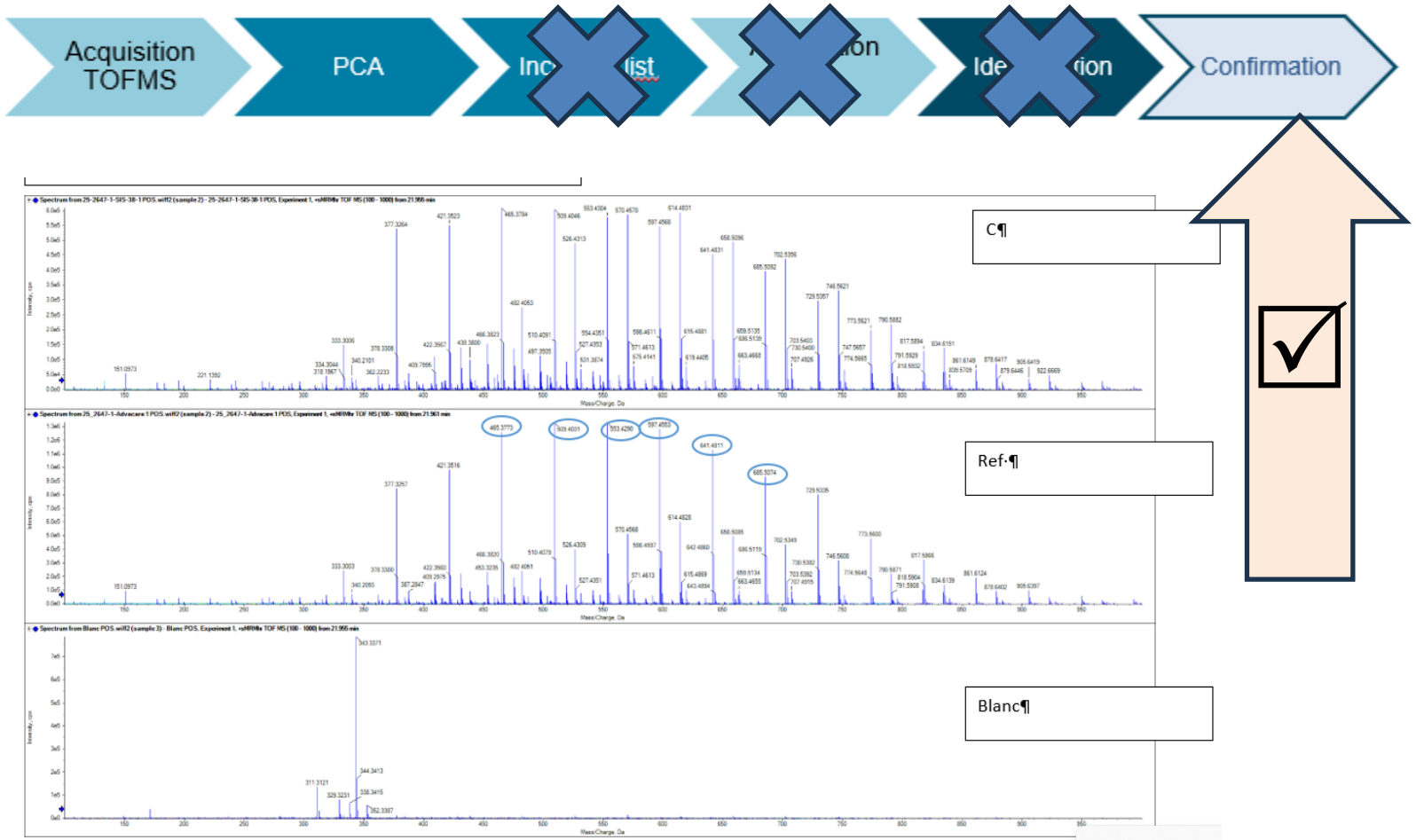
Pollution 1

1) **Mise en évidence des différences**
2) **Visualisation des pics choisis pour chaque échantillon**



Pollution 1

Utilisation de la procédure partielle

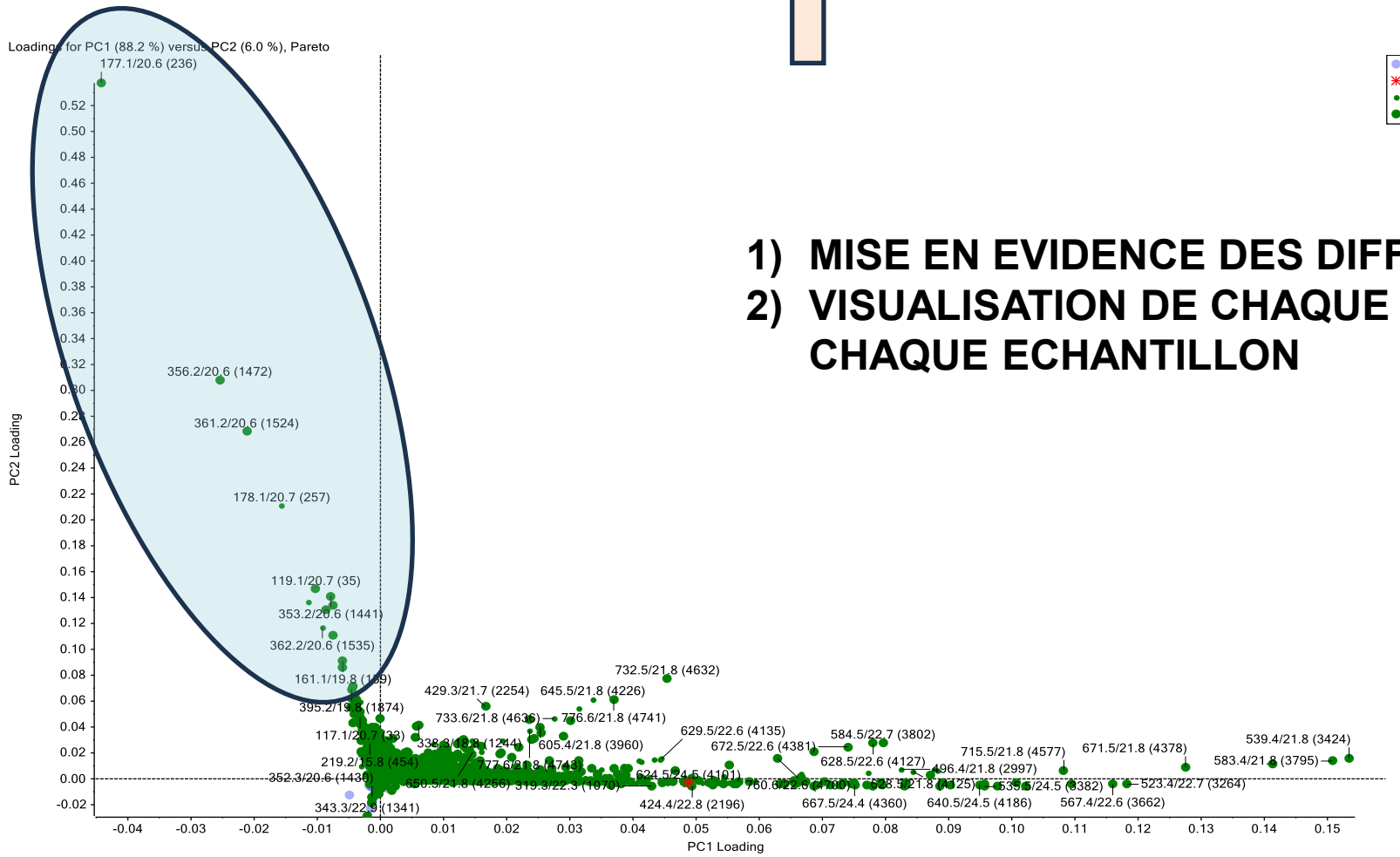


Exemples

- Pollution 1
- Pollution 2

Pollution 2

PCA Visualisation par pic

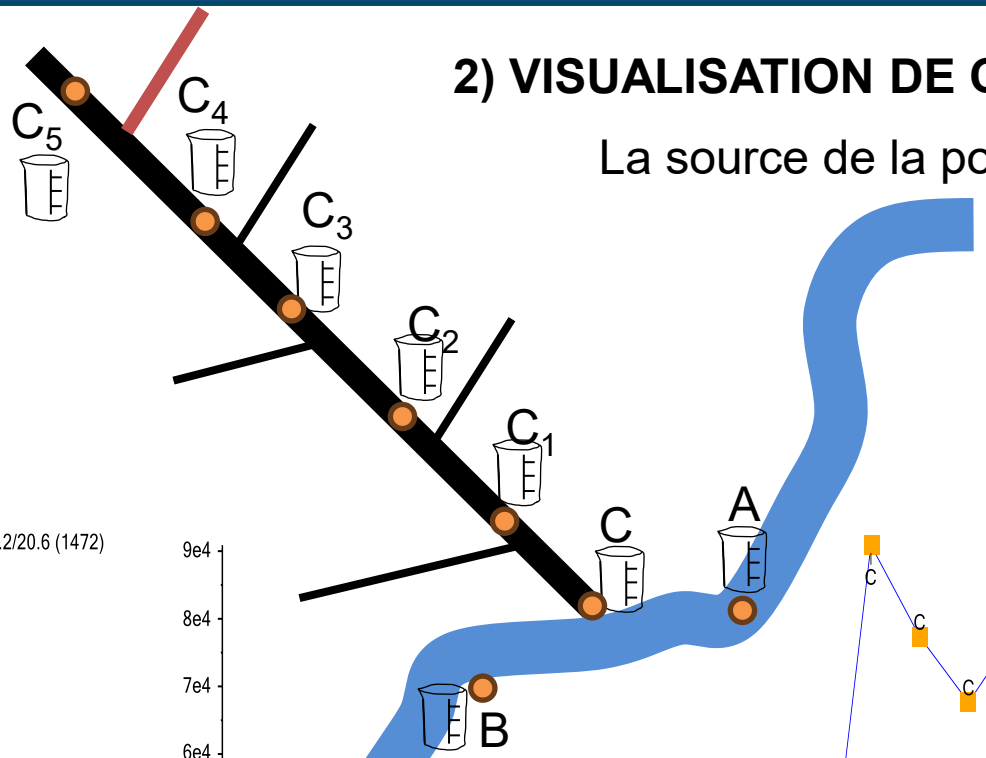


1) **MISE EN EVIDENCE DES DIFFERENCES**
2) **VISUALISATION DE CHAQUE PIC DANS CHAQUE ECHANTILLON**

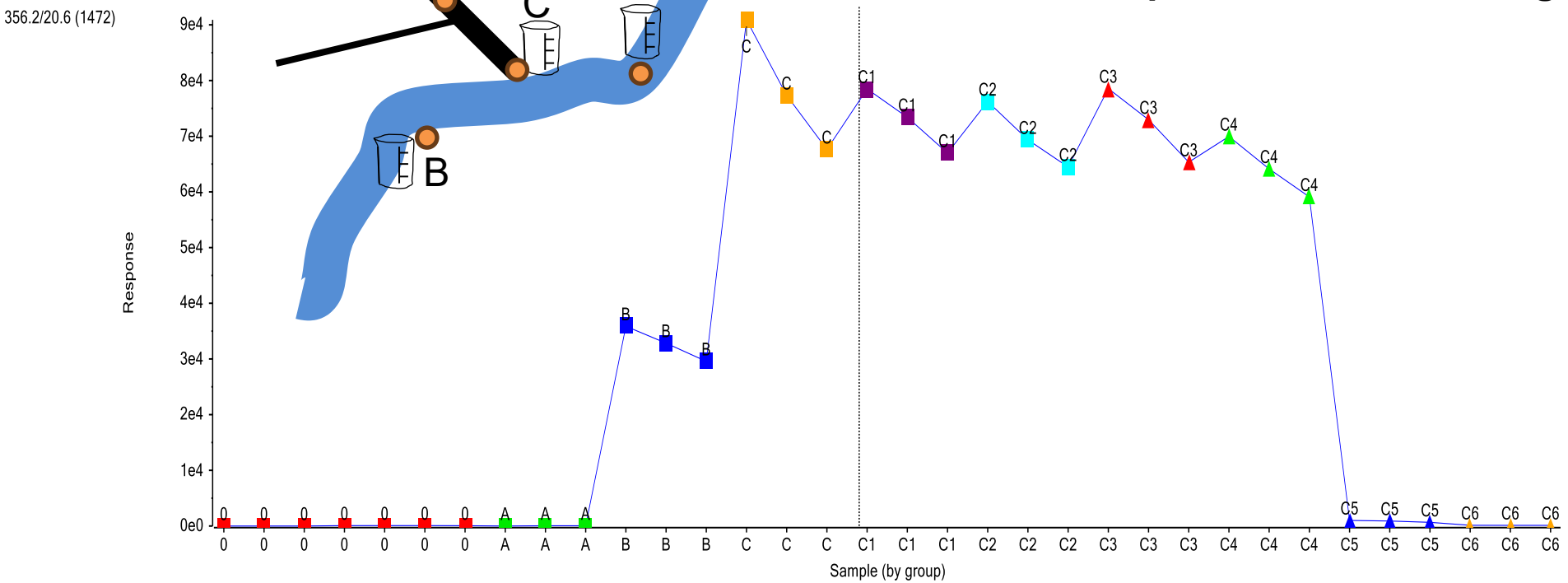
Pollution 2

2) VISUALISATION DE CHAQUE PICS DANS CHAQUE ECHANTILLON

La source de la pollution peut se situer entre entre C4 et C5



→ **Nouvel outil pour l'aide à l'investigation**



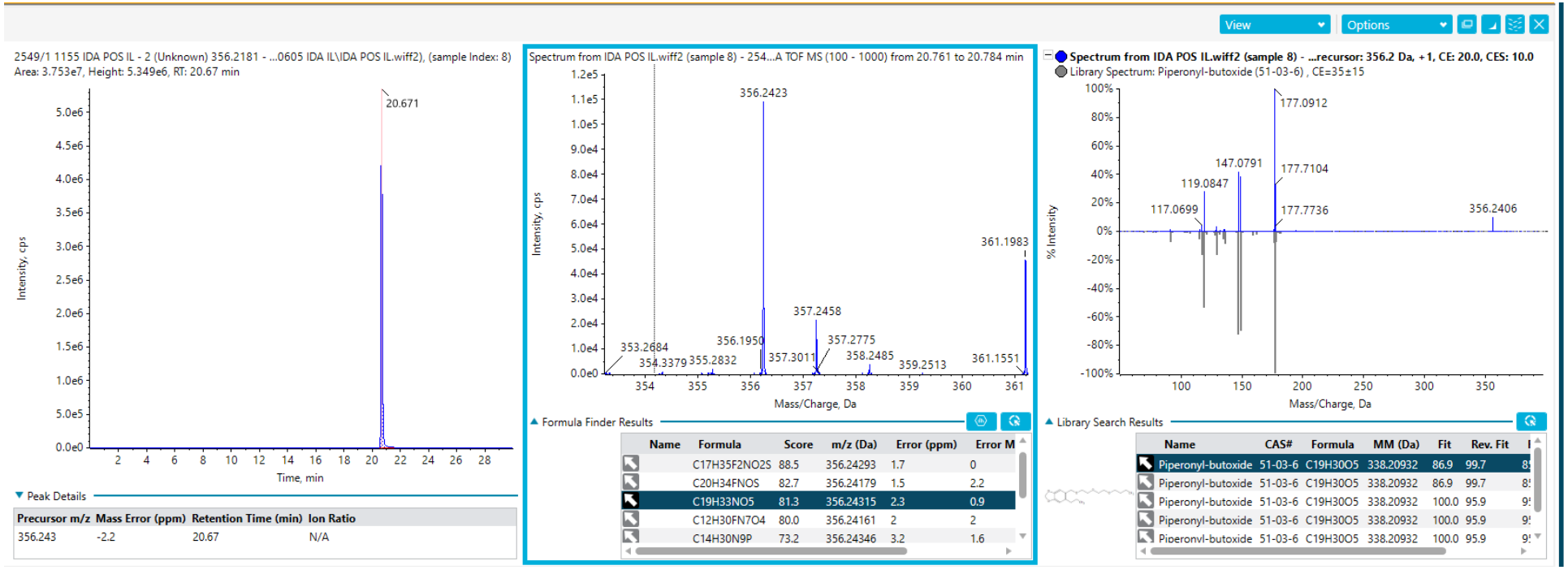
Pollution 2

Acquisition TOFMS → PCA → Inclusion list → Acquisition IDA → Identification → Confirmation

IDENTIFICATION

Acquisition IDA + target process method : sample C + one blank

Index	Sample T...	Component Name	Component Type	Expected RT	Retent... Time	Area	Mass Error...	Library Confi...	U...	Library Hit	Library Score	Precursor Mass	Found At Mass	Mass Error (...	Formula Finder Results	Formula Finder Sc...
5	Unknown	2	Quantifiers	20.64	20.67	3.753e7	✔	✔	☑	Piperonyl-butoxide	99.7	356.243	356.2423	-2.2	C19H33NO5	81



Confirmation complémentaire obtenues avec le screening GC-MS et l'injection d'un standard de référence.

→ piperonyl-butoxide

Perspectives

- Mise en place d'une procédure pour l'étape de confirmation directement applicable dans le cadre opérationnel du laboratoire
- Organiser les données (metadata, coordonnées, type, date de prélèvement)
- Compléter la MS/MS librairy avec notre analyseur, priorité aux surfactants et aux pyrethroids

Conclusion

- X500R QTOF system est désormais utilisé pour la recherche de pollution
- Cette procédure est un complément dans la recherche de pollution, parmi un ensemble d'actions de terrain et d'analyses.
- Les étapes 1 et 2 sont un outil d'aide sur le terrain pour le détecter la source d'une pollution
- L'identification repose sur des librairies disponibles et des spectres MS/MS
- La fiabilité de l'identification peut être optimisée par une étape de confirmation

Pour votre attention

&

Merci à :

Dr. Stahl-Zeng, M. Scherer, J.-P Lebreton and S. Mozzettini, Sciex

Dr. Y. Gagnebin, SCAV-GE, data analysis expert

Toute l'équipe du LPEE : pour nos échanges, notre réactivité, pour notre cohésion d'équipe qui permet de nouveaux challenges comme la HRMS et la PCA.