

METTRE À JOUR LES BIBLIOTHÈQUES DE TEMPS DE RÉTENTION DES PESTICIDES POUR LE GC AGILENT INTUVO 9000



Comment mettre à jour les bibliothèques de
temps de rétention sur les systèmes Intuvo



Introduction

Lors de l'application de méthodes sur un nouveau système de chromatographie en phase gazeuse (GC), il est recommandé de vérifier les temps de rétention des analytes les plus importants avant de lancer les procédures de production habituelles. En raison des différences de configuration des systèmes ou de la variabilité des colonnes, il arrive souvent que les temps de rétention ne soient pas identiques pour deux systèmes de GC similaires. Le calage des temps de rétention (RTL) peut être utilisé pour assurer la répétabilité des temps de rétention dans plusieurs systèmes.

L'utilisation d'une base de données des temps de rétention, dans ce cas la base de données MRM de pesticides et polluants environnementaux pour l'analyse de pesticides, peut nécessiter quelques étapes supplémentaires pour s'assurer que les temps de rétention correspondent à ceux de la base de données existante ; sinon la méthode analytique doit être mise à jour pour refléter les temps de rétention du nouveau système.

Cette note technique donne des instructions sur la manière de caler des temps de rétention dans le cadre d'une méthode MRM (« multiple reaction monitoring ») pour l'analyse de pesticides avec un GC Agilent Intuvo 9000, puis de mettre à jour les temps de rétention pour tirer parti de la base de données MRM de pesticides et polluants environnementaux.

Les procédures de travail générales relatives aux sources inertes ou aux sources d'ions avec extracteur impliquent les étapes suivantes :

1. Génération d'un chromatogramme de calage des temps de rétention.
2. Acquisition de données avec la méthode dMRM et des intervalles delta TR gauche/droite élargis.
3. Mise à jour des temps de rétention avec le logiciel Quantitative Analysis.
4. Importation des nouveaux temps de rétention dans la méthode dMRM.
5. Validation de la méthode.

Pour plus d'informations, rendez-vous sur :

www.agilent.com



Agilent Technologies

Calage des temps de rétention

Lors de la configuration d'un nouveau système pour dupliquer une analyse de pesticides, utilisez le RTL afin de garantir la correspondance des temps de rétention entre les deux systèmes. Lors de l'acquisition de l'étalonnage RTL, le système collecte cinq fichiers de données à différents débits ou pressions (figure 1).

La masse ou les masses du composé RTL et le numéro de flacon contenant le composé de calage ont été saisis avant la collecte des données d'étalonnage RTL. Le chlorpyrifos-méthyl est souvent utilisé comme composé de calage pour les analyses de pesticides. La masse analysée pour le calage par rapport au chlorpyrifos-méthyl a été choisie dans le spectre de masse et est généralement calée à 9,143 pour une méthode d'une durée de 20 minutes. Cette procédure prend environ 3 heures pour une analyse typique de pesticides de 20 minutes. Elle inclut une analyse initiale de nettoyage visant à s'assurer qu'il ne reste aucun analyte persistant provenant des analyses précédentes et susceptible d'interférer avec les masses du composé RTL.

Après la collecte des données d'étalonnage RTL, les temps de rétention du composé de calage ont été saisis et les débits ont été ajustés (à partir des données d'étalonnage) pour obtenir les temps de rétention souhaités (figure 2).

Acquisition des données dMRM

Après le calage des temps de rétention du nouveau système, les temps de rétention des composés critiques du chromatogramme ont été vérifiés pour s'assurer que les intervalles MRM sont encore exacts. La méthode MRM a été convertie en méthode dMRM (figure 3).

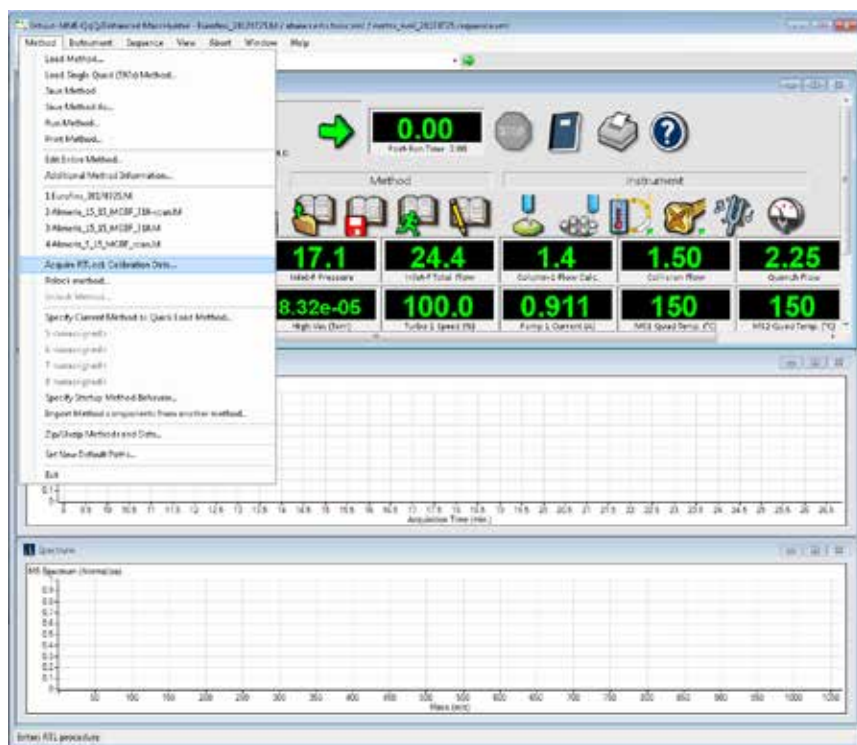


Figure 1 : la commande **Acquire RTL Calibration Data** (Acquérir des données d'étalonnage RTL) est facilement accessible depuis la liste Method (Méthode). Elle permet de collecter de nouvelles données d'étalonnage RTL. Une fois l'étalonnage initial terminé, il est possible d'utiliser la fonctionnalité **Relock Method** (Recaler la méthode).

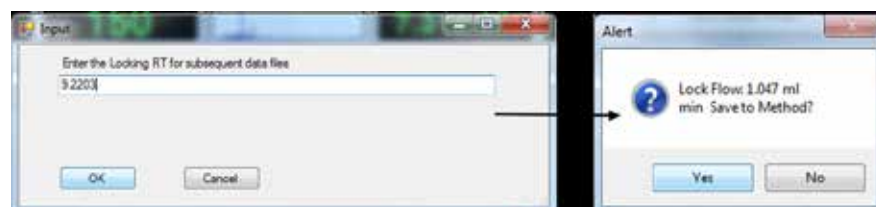


Figure 2 : le temps de rétention souhaité pour le composé de calage est saisi et le système ajuste le débit pour atteindre le temps de rétention sélectionné.

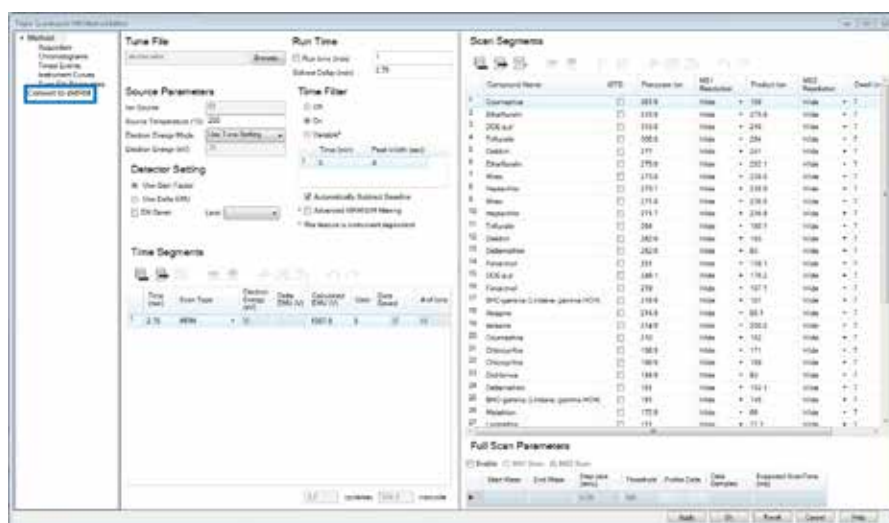


Figure 3 : une méthode MRM basée sur des segments temporels a été facilement convertie en méthode dMRM à l'aide du logiciel MassHunter Acquisition.

L'utilisation de méthodes MRM existantes a permis de conserver les transitions existantes dans la nouvelle méthode dMRM. Le logiciel a calculé les temps de rétention des analytes en faisant la moyenne des temps de début et de fin spécifiés précédemment pour chaque segment (figure 4).

Dans la méthode dMRM, les intervalles delta gauche/droite ont été élargis globalement à 2 minutes en utilisant la fonction **Overwrite RT Delta** (Remplacer le delta TR) (figure 5).

En fonction du nombre de composés et de transitions dans la méthode dMRM, le nombre maximal de MRM concurrents (200) peut être dépassé (figure 6).

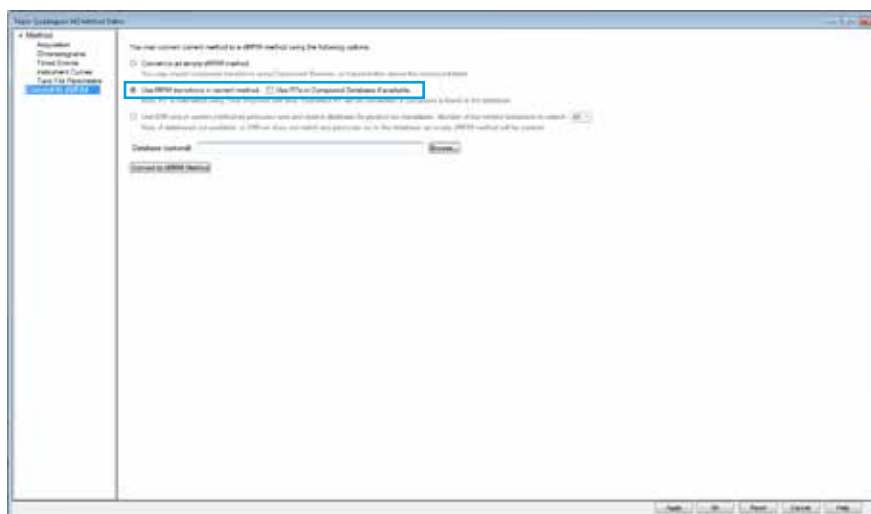


Figure 4 : les transitions MRM de la méthode actuelle ont été utilisées lors de la conversion de la méthode en méthode dMRM.

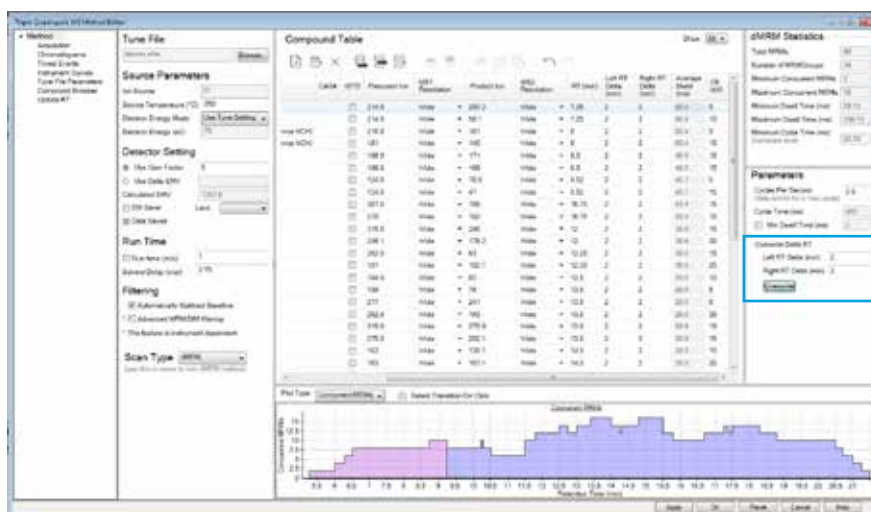


Figure 5 : le remplacement complet des deltas de temps de rétention gauche/droite élargit les intervalles de transitions MRM pour s'assurer que tous les analytes sont détectés, même si leur temps de rétention a légèrement été décalé.



Figure 6 : une méthode dMRM contenant un grand nombre d'analytes et de transitions a dépassé le nombre de MRM concurrents pour un delta de temps de rétention gauche/droite fixé sur 2 minutes.

Les intervalles delta TR gauche/droite ont été ramenés à 1 minute ou 0,5 minute afin de réduire le nombre de MRM concurrents, tout en maintenant un intervalle suffisamment large pour identifier les analytes cibles. Les temps de rétention obtenus ont été enregistrés sous forme d'un fichier CSV (figure 7).

Mise à jour des temps de rétention

Un étalon a été analysé avec des intervalles plus larges en utilisant Agilent MassHunter Quantitative Analysis et les temps de rétention ont été mis à jour dans une méthode d'analyse quantitative existante. Après avoir ouvert et sélectionné le lot contenant le nouvel étalon, une méthode Quant précédemment enregistrée a été chargée. Dans l'éditeur de méthode, **Update Retention Times** (Mettre à jour les temps de rétention) a été sélectionné dans le menu Update (Mettre à jour) (figure 8). **Select All** (Tout sélectionner) a été utilisé pour mettre à jour tous les temps de rétention de la méthode existante, puis la méthode a été enregistrée, validée et appliquée au lot (figure 9).



Figure 7 : la table des composés dMRM a été exportée en cliquant sur l'icône **Save** (Enregistrer) et en enregistrant localement la table sous forme d'un fichier CSV.

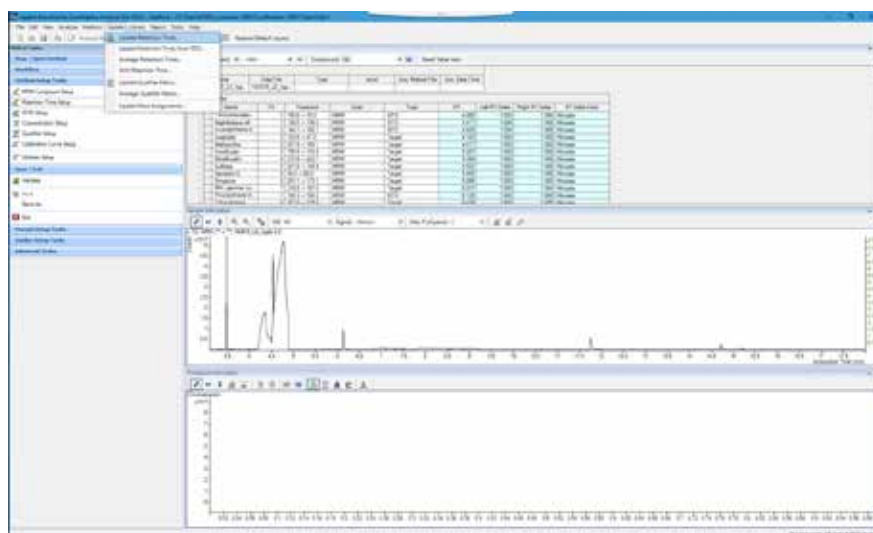


Figure 8 : **Update Retention Times** (Mettre à jour les temps de rétention) a été ouvert dans l'éditeur de méthode accessible dans le menu **Update** (Mettre à jour) d'Agilent Mass Hunter Quantitative Analysis.

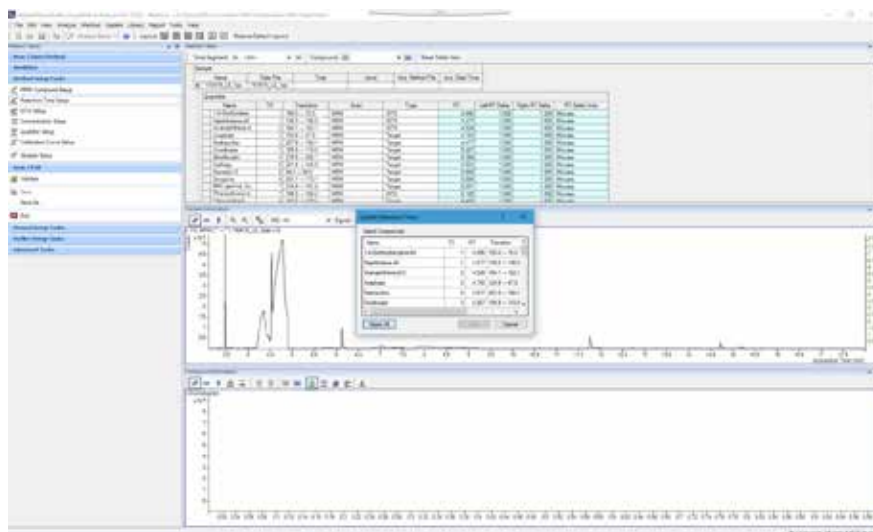


Figure 9 : tous les analytes de la méthode concernée ont été mis à jour simultanément grâce à une seule analyse d'étalon.

Importation des nouveaux temps de rétention dans la méthode dMRM

Après la mise à jour des temps de rétention dans la méthode Quant, la table des composés a été exportée du lot vers un fichier CSV (figure 10).

Les temps de rétention mis à jour à partir de l'analyse de l'étalon et de la nouvelle méthode Quant ont été actualisés dans le fichier CSV précédemment exporté et enregistré à partir de la méthode dMRM, puis enregistrés sous un nouveau nom (figure 11). Les informations critiques contenues dans le fichier CSV sont les colonnes relatives aux composés et aux TR.

Les temps de rétention de la méthode dMRM ont été mis à jour à partir du nouveau fichier CSV (figure 12), dans l'éditeur de méthode de MassHunter Acquisition.

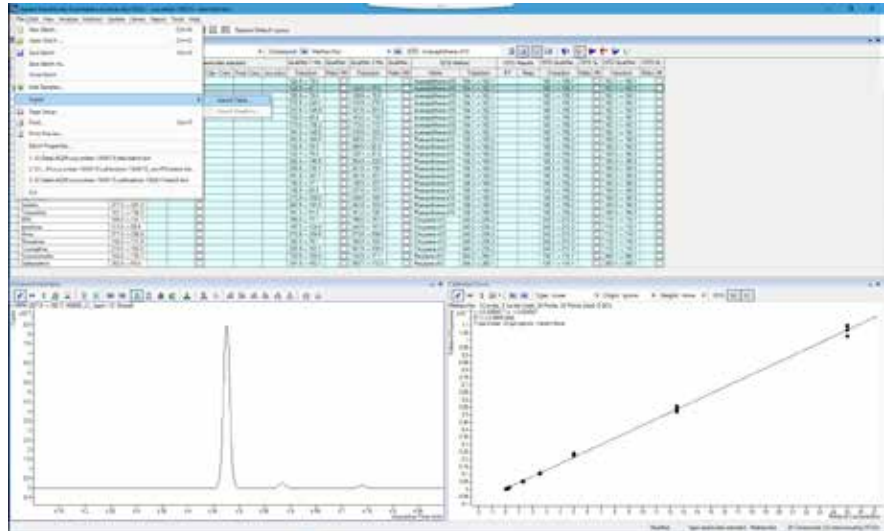


Figure 10 : l'exportation de la table des composés a produit un fichier CSV qui a été enregistré localement.

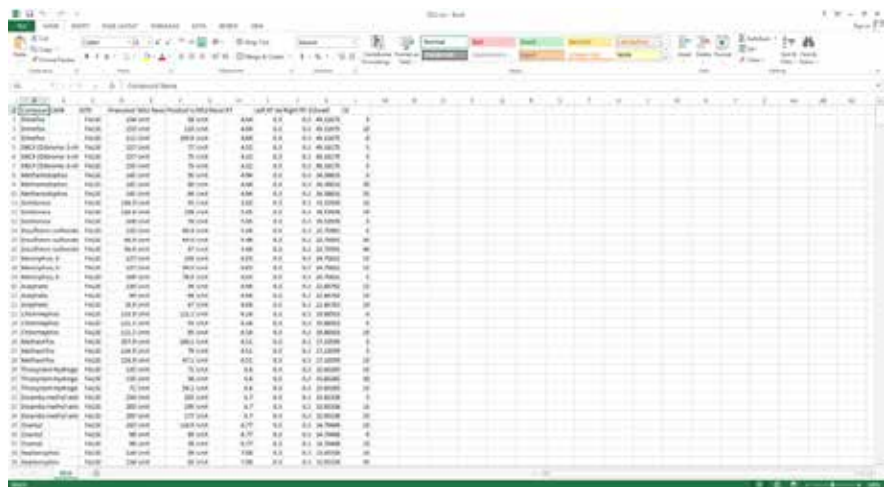


Figure 11 : le fichier CSV exporté à partir de la méthode dMRM contenait le nom des composés dans une colonne et le temps de rétention dans une autre colonne. Dans cet exemple, chaque transition MRM est appariée avec le temps de rétention de son composé respectif.

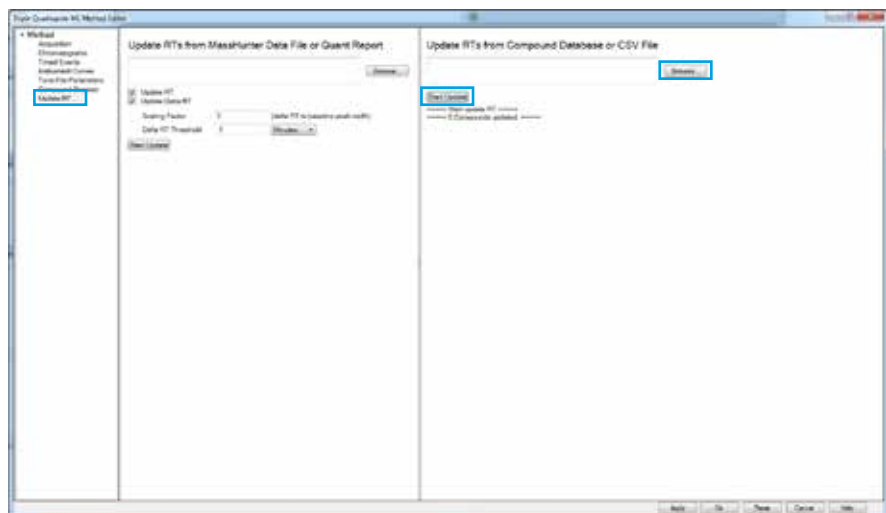


Figure 12 : le fichier CSV enregistré contenant les temps de rétention mis à jour a été sélectionné en tant que fichier à utiliser pour **Update RT** (Mettre à jour les TR).

À l'aide de la fonctionnalité **Update RT** (Mettre à jour les TR), le fichier CSV enregistré a été sélectionné, puis la mise à jour a été lancée. Une fois les temps de rétention mis à jour, la liste des composés a été affichée, indiquant les temps de rétention modifiés (figure 13). Les temps de rétention précédents de la méthode sont indiqués entre parenthèses.

Les temps de rétention peuvent également être mis à jour à partir d'un rapport quantitatif en suivant une procédure similaire. Un rapport a été généré à partir de Quantitative Analysis (figure 14) et le rapport ainsi obtenu a été utilisé pour mettre à jour les temps de rétention dans l'éditeur de la méthode d'acquisition.

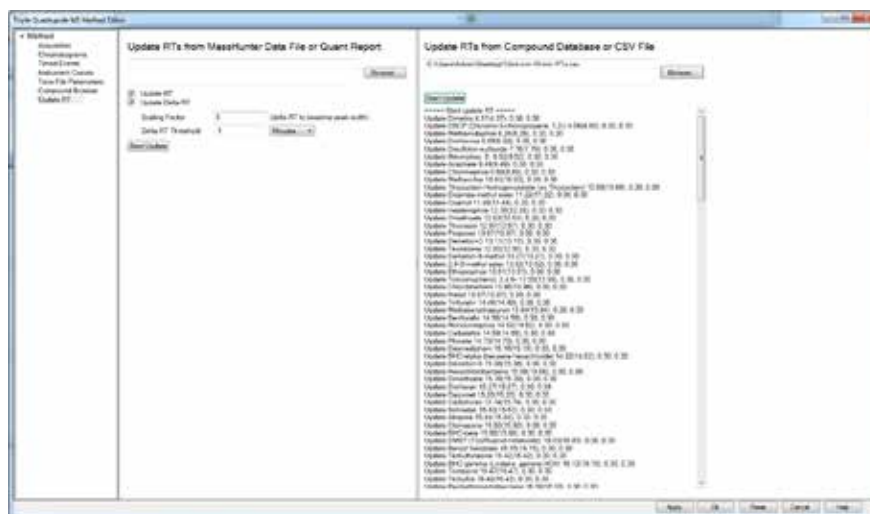


Figure 13 : après la mise à jour des temps de rétention, la liste des composés a été affichée, indiquant les modifications apportées.

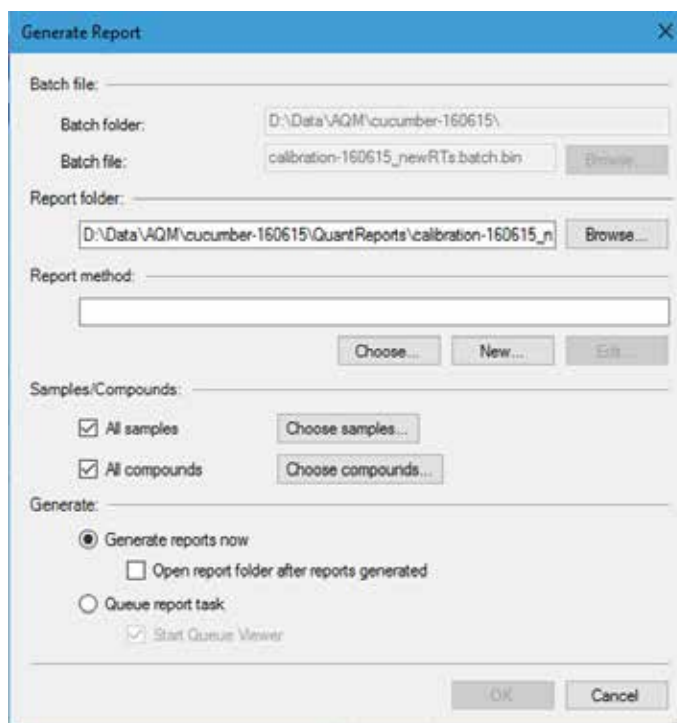


Figure 14 : la génération d'un rapport dans Quantitative Analysis a constitué un autre moyen de mettre à jour les temps de rétention dans la méthode d'acquisition.

S'il est jugé préférable d'utiliser une méthode MRM basée sur des segments temporels pour la méthode mise à jour finale, un fichier des transitions peut être créé à partir de la méthode Quant mise à jour (figure 15). La spécification d'un schéma de segments temporels (figure 16) permet d'importer le fichier obtenu dans la table des composés (figure 17).

Validation de la méthode

Après les modifications apportées à la méthode, l'étalon a été vérifié avant de poursuivre l'étalonnage et l'analyse d'échantillons.

Conclusions

Une procédure par étapes pour le calage des temps de rétention a été présentée, de même que la méthode de mise à jour des temps de rétention dans une bibliothèque ou une base de données. Le processus s'est avéré relativement simple et direct. Une analyse supplémentaire a été nécessaire en plus de l'étalonnage pour le calage des temps de rétention. Un étalon ou un échantillon contenant des analytes cibles connus est nécessaire pour l'optimisation de ce processus.

Ces résultats peuvent varier en fonction des sources d'ions installées dans le spectromètre de masse. Si la sensibilité de la méthode est optimisée, les débits supérieurs probablement obtenus avec cette procédure sont susceptibles de réduire les performances.

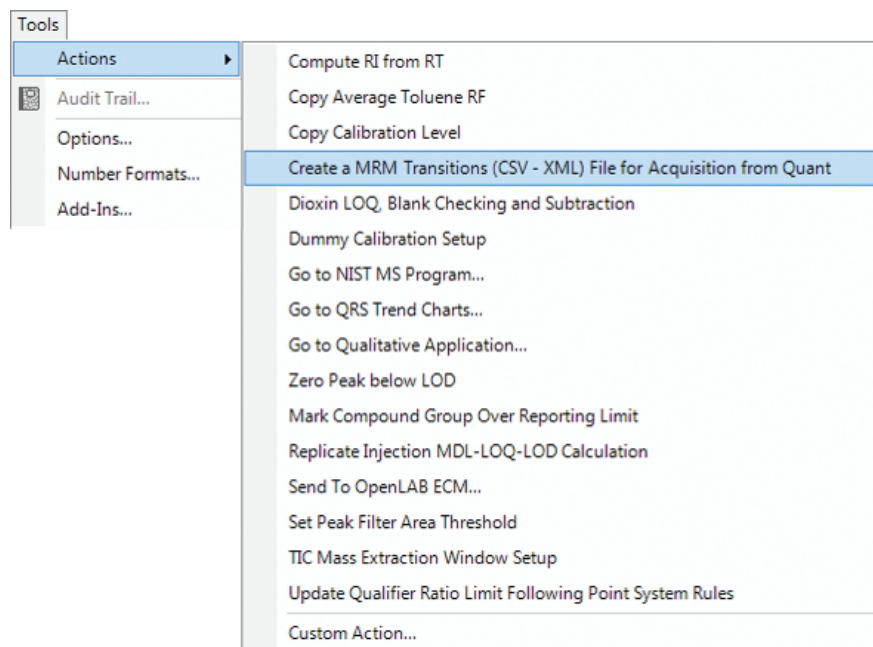


Figure 15 : fichier CSV ou XML contenant les temps de rétention mis à jour et les transitions MRM existantes dans la nouvelle méthode Quant.

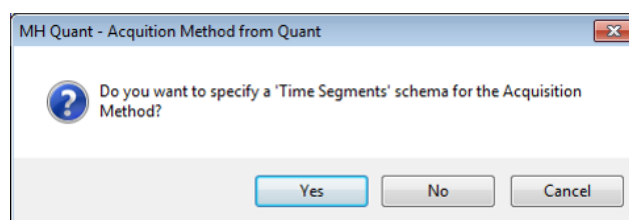


Figure 16 : La sélection de **Yes (Oui)** pour **specify a 'Time Segments' schema** (spécifier un schéma de segments temporels) permet d'importer le fichier CSV dans la table des composés d'une méthode MRM basée sur des segments temporels.

		CASE	ISTD	Precursor Ion	MS1 Resolution	Product Ion	MS2 Resolution	RT (min)
1	☒	Dimetox	☐	154	Unit	= 58	Unit	= 4.06
2	☒	Dimetox	☐	153	Unit	= 110	Unit	= 4.06
3	☒	Dimetox	☐	111	Unit	= 109.9	Unit	= 4.06
4	☒	DBCP (Dibromo-3-chloropropane, 1,2-)	☐	157	Unit	= 77	Unit	= 4.33
5	☒	DBCP (Dibromo-3-chloropropane, 1,2-)	☐	157	Unit	= 75	Unit	= 4.33
6	☒	DBCP (Dibromo-3-chloropropane, 1,2-)	☐	155	Unit	= 75	Unit	= 4.33
7	☒	Methamidophos	☐	141	Unit	= 95	Unit	= 4.95
8	☒	Methamidophos	☐	141	Unit	= 80	Unit	= 4.95
9	☒	Methamidophos	☐	141	Unit	= 64	Unit	= 4.95
10	☒	Dichlorvos	☐	184.9	Unit	= 93	Unit	= 5.06
11	☒	Dichlorvos	☐	144.9	Unit	= 109	Unit	= 5.06
12	☒	Dichlorvos	☐	109	Unit	= 79	Unit	= 5.06
13	☒	Disulfoton-sulfoxide	☐	125	Unit	= 96.9	Unit	= 5.5
14	☒	Disulfoton-sulfoxide	☐	96.9	Unit	= 64.9	Unit	= 5.5
15	☒	Disulfoton-sulfoxide	☐	96.9	Unit	= 47	Unit	= 5.5
16	☒	Mevinphos, E-	☐	127	Unit	= 109	Unit	= 6.05
17	☒	Mevinphos, E-	☐	127	Unit	= 94.9	Unit	= 6.05
18	☒	Mevinphos, E-	☐	109	Unit	= 78.9	Unit	= 6.05
19	☒	Acephate	☐	136	Unit	= 94	Unit	= 6.08
20	☒	Acephate	☐	94	Unit	= 64	Unit	= 6.08
21	☒	Acephate	☐	78.9	Unit	= 47	Unit	= 6.08
22	☒	Chlorfenvos	☐	153.9	Unit	= 121.1	Unit	= 6.18

Figure 17 : le fichier CSV contenant les temps de rétention mis à jour à partir de Quantitative Analysis peut être importé dans la méthode d'acquisition avec des MRM basés sur les segments temporels.

www.agilent.com
Les informations, les descriptions et les spécifications
de cette publication peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2017
Publié aux États-Unis, le 29 septembre 2017
5991-8446FR



Agilent Technologies