

Une analyse par GC/MS/MS rapide et robuste de 203 pesticides en 10 minutes dans les épinards



Auteurs

Anastasia A. Andrianova,
Bruce D. Quimby,
and Limian Zhao
Agilent Technologies, Inc.

Résumé

Cette note d'application décrit deux approches pour effectuer une analyse multirésidu robuste de pesticides par GC/MS/MS en 10 minutes, tout en maintenant une résolution chromatographique suffisante pour plus de 200 pesticides dans les épinards frais, une matrice problématique à haute teneur en chlorophylle. Tout d'abord, la configuration conventionnelle de rétrobalayage mi-colonne de $15 \times 15 \text{ m}$ ($0,25 \text{ mm} \times 0,25 \mu\text{m}$) a été utilisée avec une rampe de four accélérée, réduisant le temps d'analyse à 10 minutes. Ensuite, une configuration de rétrobalayage mi-colonne minibore de $10 \times 10 \text{ m}$ ($0,18 \text{ mm} \times 0,18 \mu\text{m}$) a été utilisée, offrant un temps d'analyse rapide de 10 minutes. Cette dernière méthode a été précisément transposée à l'aide de la technique de transfert de méthodes GC Agilent. Il a été démontré que le rétrobalayage mi-colonne assurait la robustesse de la méthode et une durée prolongée d'utilisation sans maintenance du système en diminuant la nécessité de raccourcir les colonnes et de nettoyer la source. Les résultats ont montré que les GC/MS triple quadripôle Agilent 7000E et 7010C présentaient une excellente linéarité sur une gamme de concentration de 0,1 à 1 000 ppb. La robustesse de la méthode a été démontrée à l'aide de 700 injections consécutives d'un extrait d'épinards dopé avec des pesticides à 20 ppb, qui se sont étalées sur plus de 175 heures d'utilisation continue du GC/TQ.

Introduction

Il existe une demande croissante de méthodes plus rapides pour identifier et quantifier les résidus chimiques dans l'analyse agroalimentaire, sans sacrifier ni la robustesse ni les performances chromatographiques de la méthode.

Les méthodes classiques pour l'analyse multirésidu de pesticides prennent généralement au moins 20 minutes, allongeant les temps de cycle.

Par conséquent, le temps d'analyse par GC/MS d'un lot d'échantillons peut facilement s'étendre sur plusieurs jours.

Cela crée un goulet d'étranglement dans l'analyse d'échantillons et limite la productivité du laboratoire. Le raccourcissement du temps d'analyse par GC/MS entraînera donc forcément une amélioration de la cadence d'analyse d'échantillons et, en fin de compte, de la productivité du laboratoire. Néanmoins, les méthodes GC raccourcies impliquent généralement des compromis en termes de robustesse ou de performances de la méthode. Cette note d'application a pour objectif de présenter deux méthodes GC/MS/MS rapides exécutées sur (a) le **GC/MS triple quadripôle Agilent 8890/7000E** et (b) le **GC/MS triple quadripôle Agilent 8890/7010C**.

Ces méthodes offrent un temps d'analyse raccourci à 10 minutes et permettent de maintenir les solides performances du système pour un extrait problématique d'épinards, sans perte de sensibilité ni de performances de la méthode.

Les deux configurations de rétrobalayage mi-colonne du GC/TQ décrites dans cette note d'application offrent un temps d'analyse de 10 minutes, tout en maintenant une résolution chromatographique et une sélectivité MS suffisantes pour l'analyse de 203 composés. La méthode GC/MS/MS conventionnelle de 20 minutes, dont les temps de rétention étaient calés par rapport à la base de données de pesticides et de polluants environnementaux (P&EP) Agilent MassHunter, a été utilisée comme méthode de comparaison pour les analyses rapides et optimisées.

Tout d'abord, la configuration conventionnelle de rétrobalayage mi-colonne de 15 × 15 m (0,25 mm × 0,25 µm)

a été utilisée avec une rampe de four accélérée, réduisant le temps d'analyse à 10 minutes. Cette configuration n'a pas nécessité de modifications du matériel. Ensuite, une configuration de rétrobalayage mi-colonne minibore de 10 × 10 m (0,18 mm × 0,18 µm) a été utilisée, offrant un temps d'analyse de 10 minutes. Cette configuration a nécessité l'installation de nouvelles colonnes en comparaison de la configuration classique de 15 × 15 m et d'un insert de four GC. Cependant, cette seconde configuration a permis de prédire les temps de rétention avec plus d'exactitude et de préserver l'ordre d'élution de tous les composés testés.

Avec les deux méthodes rapides, les temps de rétention ont été prédits exactement à partir des temps de rétention disponibles dans la base de données P&EP¹. La technique de transfert de méthodes GC et le maintien du même rapport de phase des colonnes ont permis de prédire exactement les temps de rétention et de conserver l'ordre d'élution des 203 pesticides analysés dans la configuration de 10 × 10 m. Pour actualiser les temps de rétention de la méthode de 10 minutes utilisant la configuration classique de 15 × 15 m, une combinaison de pesticides et de n-alcanes a été utilisée.

Le rétrobalayage mi-colonne dans les deux configurations de colonne a amélioré la robustesse de la méthode en diminuant les intervalles de maintenance courante, telle que le raccourcissement de la tête de colonne et le nettoyage de la source. De plus, si un injecteur multimode (MMI) à température programmable est utilisé, le remplacement de l'insert et les autres procédures de maintenance de l'injecteur peuvent être exécutés bien plus rapidement sans refroidir la source et la ligne de transfert du MS, en comparaison de la configuration classique dans laquelle une colonne relie directement l'injecteur au spectromètre de masse.

Les méthodes développées ont pu être appliquées à l'analyse de pesticides pour couvrir une large gamme de limites maximales de résidus (LMR) de différents pesticides dans les épinards et assurer d'excellentes performances d'étalonnage sur une large gamme dynamique de 0,1 à 1 000 ppb.

Afin d'évaluer la robustesse de la méthode, un test de 700 injections continues d'extrait d'épinards dopé avec de faibles concentrations de pesticides a été réalisé. L'écart-type relatif (RSD) de la réponse de nombreux analytes problématiques était en dessous de 15 % sur 700 injections. Il n'a pas été nécessaire de raccourcir la colonne, nettoyer la source ou régler le MS pendant le test. La maintenance a été limitée au remplacement de l'insert et du septum toutes les 100 injections.

Méthode expérimentale

Analyse par GC/TQ

Les deux configurations de colonnes utilisées sur les GC/TQ 8890/7000E et 8890/7010C sont illustrées dans la figure 1. Le GC était équipé des éléments suivants : un passeur automatique de liquides (ALS) Agilent 7693A avec un plateau à 150 positions, un MMI utilisé en mode d'injection splitless à froid avec programme de température, un raccord Agilent Ultimate Union avec purge (PUU) installé entre deux colonnes identiques de 15 ou 10 m pour assurer la capacité de rétrobalayage mi-colonne et le dispositif de commutation pneumatique (PSD) 8890. Les paramètres opérationnels de l'instrument sont indiqués dans le tableau 1. L'acquisition des données a été effectuée en mode MRM dynamique (dMRM), offrant la capacité de réaliser des analyses multicomposés de grande ampleur et permettant de quantifier exactement les pics fins grâce à une distribution automatisée des temps de mesure.

La capacité dMRM a permis l'analyse d'un large éventail de 203 pesticides avec 614 transitions MRM totales. Le nombre maximal de transitions MRM simultanées avec la configuration classique de 15 × 15 m et une analyse conventionnelle de 20 minutes était de 52. Pour l'analyse en 10 minutes, le nombre maximal de transitions MRM simultanées avec la configuration classique de 15 × 15 m et la configuration minibore de 10 × 10 m était de respectivement 127 et 83 (figure 2). En outre, le dMRM permet à l'analyste d'ajouter et de supprimer facilement des analytes supplémentaires. L'utilisation de la base de données de pesticides et

de polluants environnementaux a permis d'accélérer et de simplifier la configuration de la méthode dMRM ciblée.

La suite de logiciels Agilent MassHunter Workstation 10.1 et 10.2, comprenant le logiciel MassHunter Acquisition 10.2 pour GC/MS, le logiciel MassHunter Quantitative Analysis 10.1 et le logiciel MassHunter Quantitative Analysis 10 a été utilisée dans cette étude.

Les performances d'étalonnage ont été évaluées à l'aide d'une série de mélanges étalon avec reconstruction de la matrice sur une gamme de 0,1 à 1 000 ppb, dont 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 250, 500 et 1 000 ppb (p/v). Le kit d'analyse GC multirésidu de pesticides (Restek, Bellefonte, PA, États-Unis) a été utilisé pour la préparation de mélanges étalon avec reconstruction de la matrice. Ce kit contient 203 composés réglementés par la FDA, l'USDA (le Département de l'agriculture des États-Unis) et d'autres agences gouvernementales dans le monde. L'α-BHC-d6 a été utilisé comme étalon interne à une concentration finale de 20 ppb pour la quantification des pesticides

cibles (étalon interne n° 6 Agilent Bond Elut QuEChERS, réf. PPS-610-1). Un facteur de pondération de 1/x a été appliqué à toutes les courbes d'étalonnage.

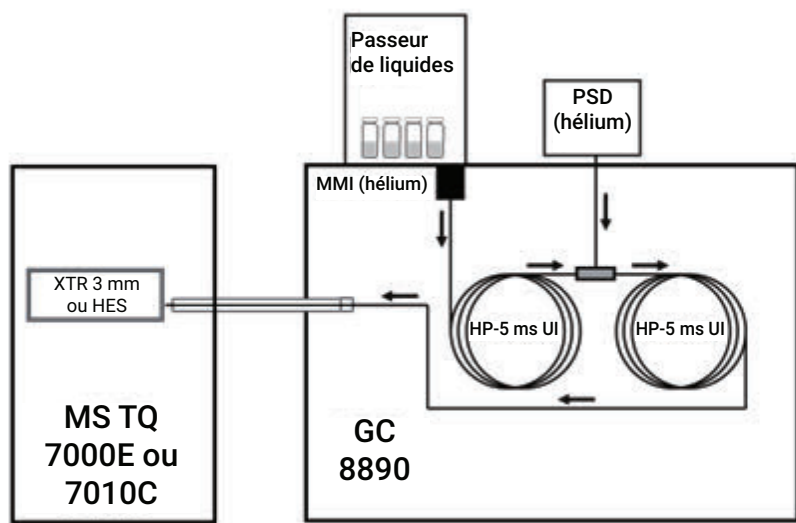
Calage des temps de rétention dans la méthode de 10 minutes

Le calage des temps de rétention permet à une nouvelle colonne ou à un nouvel instrument d'avoir des temps de rétention correspondant exactement à la base de données MRM ou à une autre méthode existante, facilitant la transposition de méthodes d'un instrument à l'autre. Cela simplifie la maintenance des méthodes et la configuration du système. Les temps de rétention pour l'analyse classique de pesticides en 20 minutes sont fournis dans la base de données de pesticides et de polluants environnementaux. La méthode de 10 minutes avec la configuration classique de 15 × 15 m a utilisé le même débit de colonne GC pour lequel les temps de rétention de la méthode de 20 minutes étaient calés par rapport à la base de données de pesticides et de polluants environnementaux. Cela a

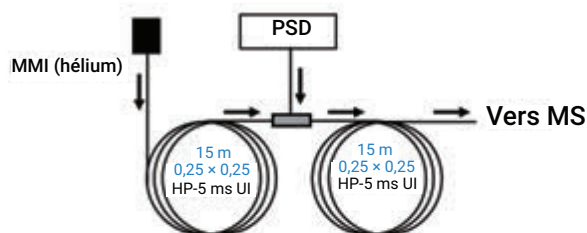
entraîné un nouveau temps de rétention de 5,520 minutes pour le chlorpyriphos-méthyl. Pour actualiser les temps de rétention pour le reste des analytes, une combinaison de pesticides et de n-alcanes a été utilisée afin de prédire les temps de rétention de la nouvelle méthode en se basant sur les temps de rétention de la base de données P&EP pour une méthode de 20 minutes.

L'analyse en 10 minutes réalisée dans la configuration minibore de 10 × 10 m a été précisément transposée à l'aide de l'outil de transfert de méthodes, offrant un gain de vitesse de 2. Le fin réglage de la méthode a permis de trouver la meilleure correspondance possible entre les temps de rétention prédits et observés sur la gamme d'éluion des 203 pesticides, entraînant un décalage de 0,09 minute. Les nouveaux temps de rétention (TR) ont été calculés à l'aide de l'équation suivante :

$$TR_{\text{nouveau}} = TR_{\text{ancien}} \div 2 + 0,09 \text{ minute.}$$



Configurations classiques de rétrobalayage mi-colonne de 15 × 15 m :



Configurations minibore de rétrobalayage mi-colonne de 10 × 10 m :

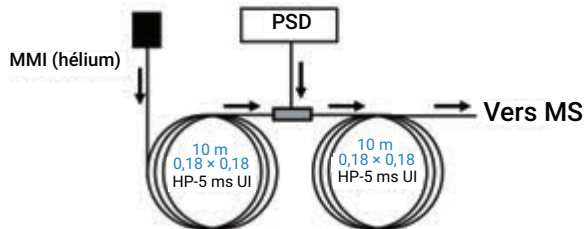


Figure 1. GC/TQ Agilent avec les deux configurations de rétrobalayage mi-colonne utilisées (à droite).

Tableau 1. Conditions du GC Agilent 8890 et du GC/TQ série 7000 ainsi que du GC Agilent 8890 et du GC/TQ 7010C permettant d'effectuer une analyse de pesticides en 10 minutes.

| GC | | |
|---|--|------------------------------|
| GC Agilent 8890 (four de 220 V) avec four rapide, passeur automatique d'échantillons et plateau | | |
| Injecteur | Injecteur multimode (MMI) | |
| Mode | Splitless à froid | |
| Débit de purge vers l'évent de division | 60 mL/min à 0,75 min | |
| Débit de purge de septum | 3 mL/min | |
| Mode débit de purge de septum | Switched | |
| Volume d'injection | 1,0 µL | |
| Type d'injection | Standard | |
| Couche d'air L1 | 0,2 µL | |
| Économiseur de gaz | Activé à 30 mL/min après 3 min | |
| Température de l'injecteur | 60 °C pendant 0,1 min, puis rampe de 600 °C/min jusqu'à 280 °C | |
| Température de l'injecteur postanalyse | 310 °C | |
| Débit total postanalyse | 25 mL/min | |
| Gaz vecteur | Hélium | |
| Insert d'injection | Insert Agilent Ultra Inert de 2 mm, à encoches | |
| Réf. de l'insert d'injection | 5190-2297 | |
| Four | | |
| | Avec 15 × 15 m | Avec 10 × 10 m |
| Température initiale du four | 60 °C | 60 °C |
| Palier initial du four | 1 min | 0,5 min |
| Rampe 1 | 80 °C/min | 80 °C/min |
| Temp. finale 1 | 170 °C | 170 °C |
| Palier final 1 | 0 min | 0 min |
| Rampe 2 | 35 °C/min | 20 °C/min |
| Temp. finale 2 | 310 °C | 310 °C |
| Palier final 2 | 3,625 min | 1,125 min |
| Temps d'analyse total | 10 min | 10 min |
| Durée postanalyse | 1,5 min | 1,5 min |
| Temps de stabilisation | 0,25 min | 0,25 min |
| | | Insert de four haute vitesse |

| Colonne 1 | | |
|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Avec 15 × 15 m | Avec 10 × 10 m |
| Type | Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert | Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert |
| Référence Agilent | 19091S-431UI-KEY | Colonne à façon ² |
| Longueur | 15 m | 10 m |
| Diamètre | 0,25 mm | 0,25 mm |
| Épaisseur de film | 0,25 µm | 0,25 µm |
| Mode de pilotage | Débit constant | Débit constant |
| Débit | 1,016 mL/min | 1,3 mL/min |
| Raccord d'entrée | Injecteur multimode (MMI) | Injecteur multimode (MMI) |
| Raccord de sortie | PSD (PUU) | PSD (PUU) |
| Débit de purge du PSD | 5 mL/min | 5 mL/min |
| Débit postanalyse (rétrobalayage) | -7,873 | -3,174 |
| Colonne 2 | | |
| | Avec 15 × 15 m | Avec 10 × 10 m |
| Type | Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert | Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert |
| Référence Agilent | 19091S-431UI-KEY | Colonne à façon ² |
| Longueur | 15 m | 10 m |
| Diamètre | 0,25 mm | 0,25 mm |
| Épaisseur de film | 0,25 µm | 0,25 µm |
| Mode de pilotage | Débit constant | Débit constant |
| Débit | 1,216 mL/min | 1,5 mL/min |
| Raccord d'entrée | PSD (PUU) | PSD (PUU) |
| Raccord de sortie | MSD | MSD |
| Débit postanalyse (rétrobalayage) | 8,202 | 3,290 |

| MSD | | |
|------------------------------------|--|-----------------------|
| Modèle | GC/MS triple quadripôle Agilent série 7000 (7000D et 7000E) ou 7010C | |
| Source | Source d'ions inerte avec extracteur et lentille de 3 mm ou source HES | |
| Pompe à vide | turbo Performance | |
| Fichier de réglage | Atunes.eiex.jtune.xml ou Atunes.eihs.jtune.xml | |
| Délai du solvant | 3 min | |
| Température des quad. (MS1 et MS2) | 150 °C | |
| Température de la source | 280 °C | |
| Mode | dMRM | |
| He, gaz d'extinction | 2,25 mL/min | |
| N ₂ , gaz de collision | 1,5 mL/min | |
| Statistiques des MRM | | |
| | Avec 15 × 15 m | Avec 10 × 10 m |
| MRM totales (mode dMRM) | 614 | 614 |
| Temps de mesure minimal | 2,33 ms | 3,99 ms |
| Temps de cycle minimal | 167,86 ms | 110,38 ms |
| Nombre maximal de MRM simultanées | 127 | 83 |
| Mode gain de tension d'EM | 10 | 10 |

Préparation des échantillons

La méthode de préparation des échantillons est schématisée dans la figure 3.

La préparation des échantillons comprend deux étapes principales : l'extraction des échantillons à l'aide d'une extraction QuEChERS conventionnelle, suivie d'une purification par filtration sur Captiva EMR (Enhanced Matrix Removal, élimination améliorée de la matrice). La cartouche Agilent Captiva EMR-High Chlorophyll Fresh avec NH₂ (Captiva EMR-HCF1) a été utilisée pour la matrice à haute teneur en chlorophylle (épinards frais). Cette nouvelle méthode de préparation d'échantillons constitue une procédure simplifiée qui améliore aussi bien l'élimination de la matrice que la qualité des données de quantification des composés cibles.

Comme illustré dans la figure 3, les échantillons ont d'abord été extraits à l'aide du kit d'extraction Agilent Bond Elut QuEChERS EN conventionnel (réf. 5982-5650CH). Des épinards frais homogénéisés (10 g) ont été utilisés pour l'extraction. Un volume de 10 mL d'acétonitrile avec 1 % d'acide acétique a été ajouté, puis l'extraction a été effectuée. Après l'extraction, 3 mL d'extrait brut ont été transférés dans une cartouche Captiva EMR-HCF1 (réf. 5610-2088) pour la purification par filtration. L'éluant des échantillons a été collecté puis séché à l'aide de MgSO₄ anhydre (réf. 5982-0102). Les échantillons sont alors prêts pour l'analyse par GC/TQ. Le processeur d'échantillons à collecteur à pression positive 48 positions Agilent (PPM48, réf. 5191-4101) a été utilisé pour la purification par filtration sur Captiva EMR.

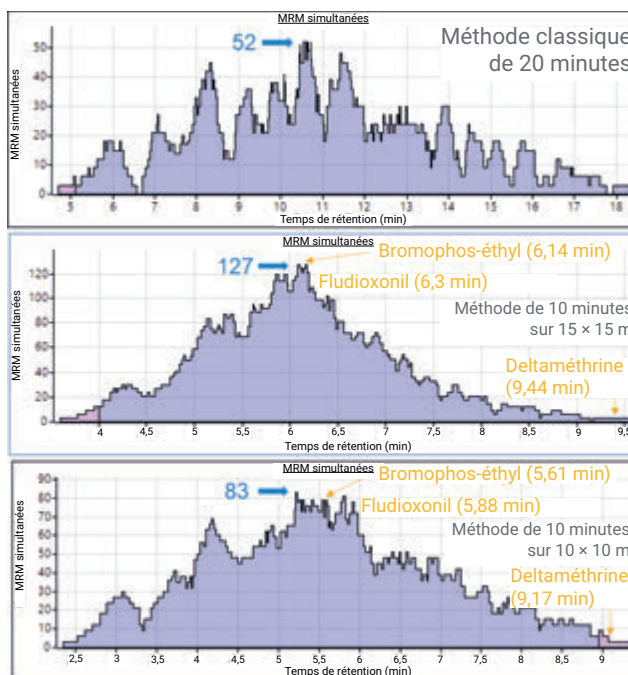


Figure 2. Distribution des 614 transitions dMRM dans l'analyse de pesticides classique en 20 minutes, dans l'analyse en 10 minutes à l'aide de la configuration classique de 15 × 15 m et dans la méthode de 10 minutes à l'aide de la configuration de colonne minibre de 10 × 10 m.

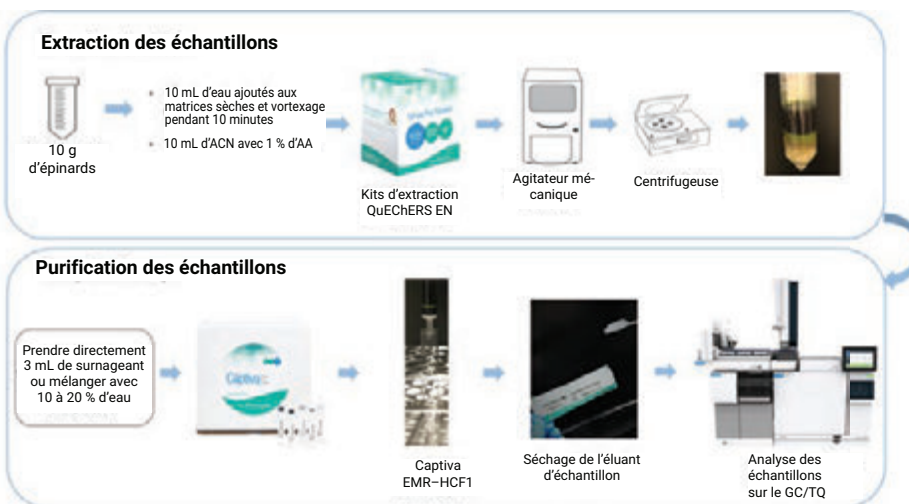


Figure 3. Diagramme représentant la préparation d'échantillons avec l'extraction Agilent QuEChERS conventionnelle, suivie de la purification par filtration sur Agilent Captiva EMR.

Résultats et discussion

Maintien de la résolution chromatographique dans l'analyse de plus de 200 pesticides en 10 minutes

Les configurations de rétrobalayage mi-colonne GC présentées, dont la configuration classique de 15 × 15 m et la configuration minibore de 10 × 10 m, ont permis d'effectuer l'analyse de 203 pesticides en 10 minutes, avec trois transitions MRM acquises pour chaque composé. La figure 4 montre que la résolution chromatographique avec la méthode rapide de 10 minutes a été grandement maintenue dans la configuration classique de 15 × 15 m (figure 4A) et totalement préservée dans la configuration minibore de 10 × 10 m (figure 4B). La technique de transfert de méthodes GC utilisée pour transposer la méthode dans la configuration 10 × 10 m a permis de préserver l'ordre d'éluion relatif des composés.

Sensibilité et performances d'étalonnage sur une large gamme dynamique avec les séparations de 10 minutes

La sensibilité de la méthode obtenue avec les différentes configurations de colonnes pour les séparations de 10 minutes était comparable à celle observée dans la méthode classique de 20 minutes. Les deux méthodes de 10 minutes pour les configurations de colonnes de 15 × 15 m

et 10 × 10 m ont permis de détecter tous les pesticides ciblés en dessous de leur LMR réglementée, même dans le cas des pesticides les plus problématiques. Par exemple, la deltaméthrine, un pesticide difficile à analyser par GC/MS, a pu être quantifiée avec exactitude dans les épinards jusqu'à 0,1 ppb sur le GC/TQ 7010C et entre 1 et 5 ppb sur le GC/TQ série 7000 (figure 5A). Bien que la deltaméthrine n'ait pas de LMR établie dans les épinards, elle est réglementée dans de nombreux autres aliments dont les légumes des groupes 8 et 9, et des sous-groupes IB et IC, avec des LMR de 40 à 300 ppb³. Les gammes d'étalonnage observées sur le GC/TQ 7010 et le GC-TQ série 7000 permettraient aux analystes de répondre à leurs besoins pour l'analyse de la deltaméthrine dans diverses matrices alimentaires.

Bien que la deltaméthrine soit difficile à analyser par GC/MS, son élution à la fin de l'analyse de 10 minutes comporte peu de transitions MRM simultanées. Avec seulement quelques transitions MRM simultanées, les MRM surveillées pour la deltaméthrine ont des temps de mesure relativement longs (au-dessus de 50 ms), même dans les méthodes rapides de 10 minutes (figure 2). Au contraire, le fludioxonil, un fongicide présentant une LMR établie de 10 ppb dans les épinards⁴, est élué dans la portion encombrée des méthodes MRM, avec respectivement 120 et 80 transitions MRM dans les

configurations de 15 × 15 m et 10 × 10 m. Malgré des temps de mesure relativement courts de 3 et 4,9 ms dans les deux configurations, le fludioxonil a été quantifié avec exactitude jusqu'à 0,1 ppb sur les GC/TQ 7010C et série 7000, avec un pic comportant au moins dix points de données (figure 5B). Le GC/TQ 7010C équipé d'une source à haute efficacité d'ionisation (HES) présentait une sensibilité supérieure à celle du GC/TQ série 7000. Il permet l'exactitude de la quantification en dessous de 0,1 ppb, même si cela n'était pas nécessaire dans cette étude puisque les LMR pour les pesticides réglementés dans les aliments par l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis ne requièrent pas de quantification en dessous de 0,1 ppb. De même, le bromophos-éthyl était élué dans une fenêtre de temps de rétention encombrée, avec un nombre élevé de transitions MRM simultanées, entraînant un court temps de mesure de respectivement 2,7 et 4,7 ms dans les configurations de 15 × 15 m et 10 × 10 m. Les tolérances recommandées du bromophos-éthyl s'étendent de 20 à 2 000 ppb dans divers aliments⁵. Les figures 5B et 5C montrent que le fludioxonil et le bromophos-éthyl ont été quantifiés avec exactitude sur une large gamme de concentration de 0,1 à 1 000 ppb, avec une excellente sensibilité et linéarité dans la matrice d'épinards problématique et un pic comportant au moins neuf points de données.

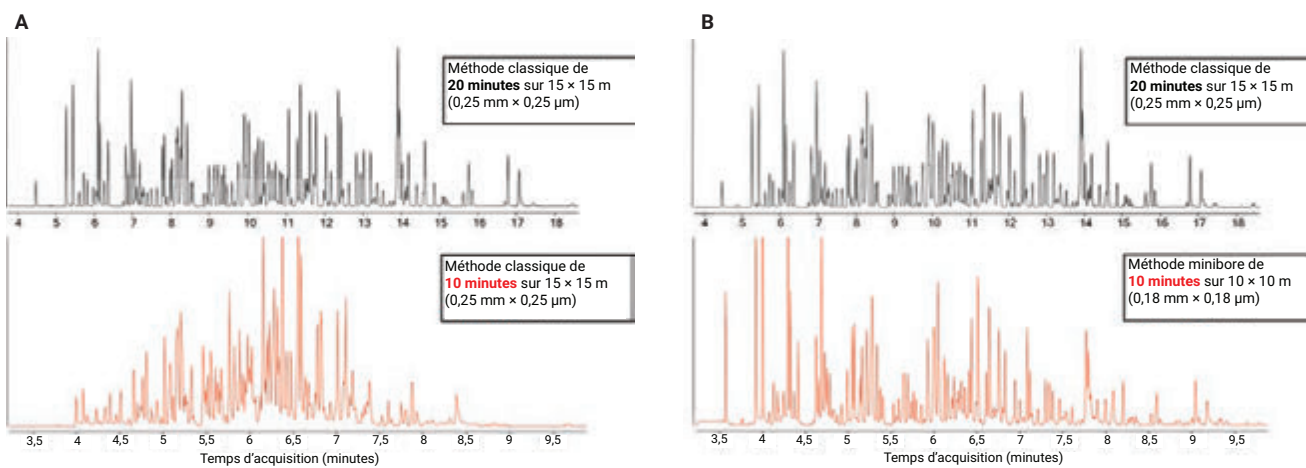
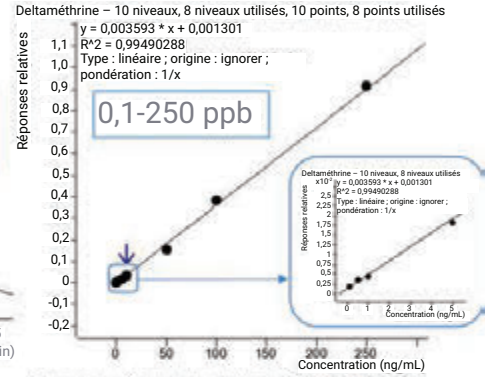
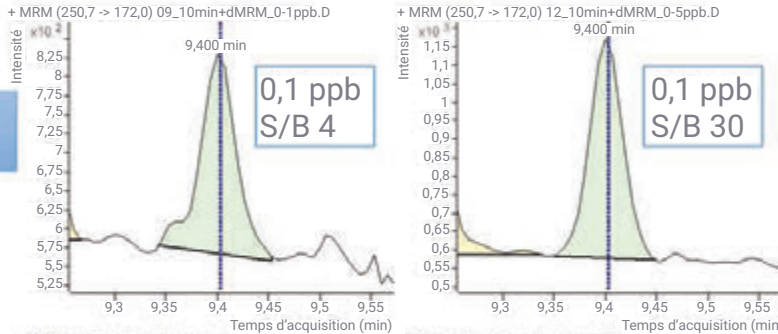


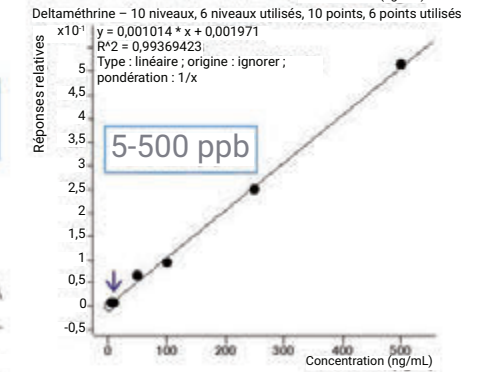
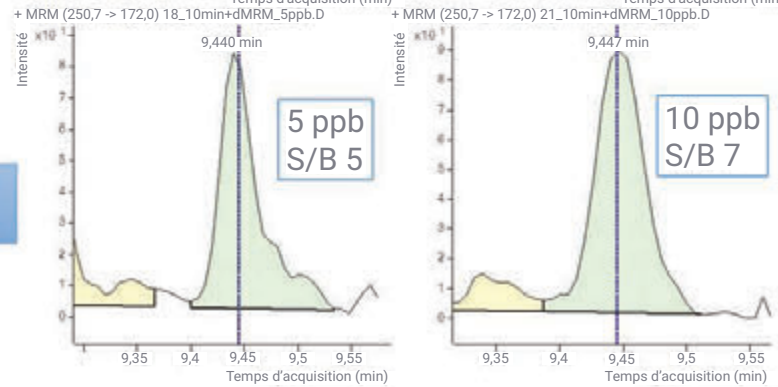
Figure 4. Chromatogrammes MRM d'ions totaux (TIC) pour un mélange de 203 pesticides acquis avec (A) la configuration classique de 15 × 15 m et (B) la configuration minibore de 10 × 10 m.

A) Deltaméthrine

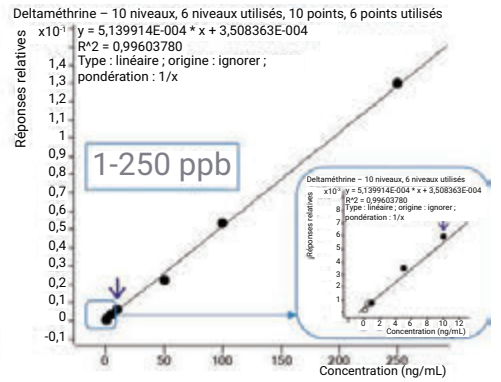
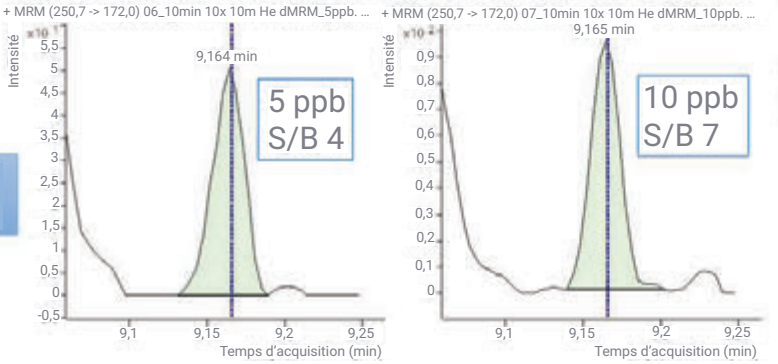
7010C
15 × 15 m



7000E
15 × 15 m

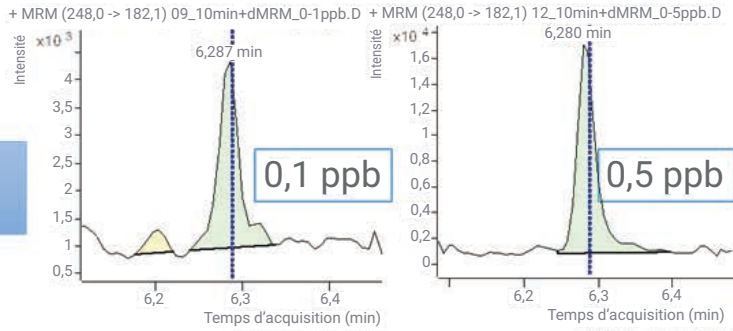


Série 7000
10 × 10 m

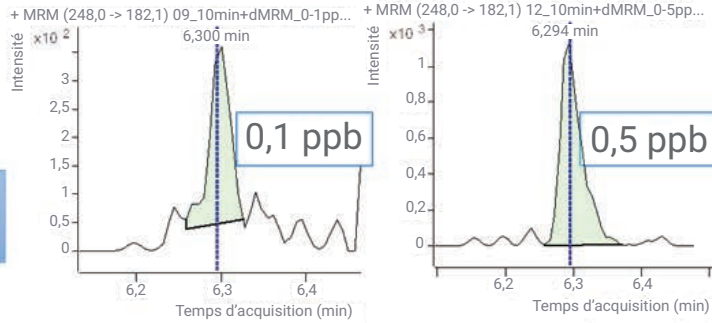


B) Fludioxonil

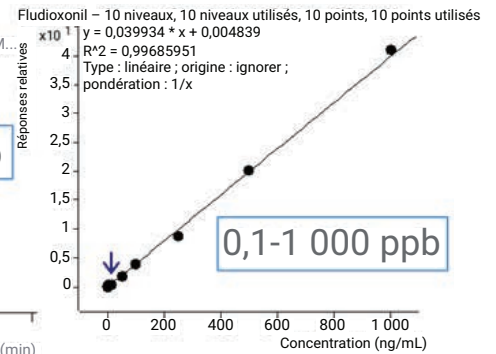
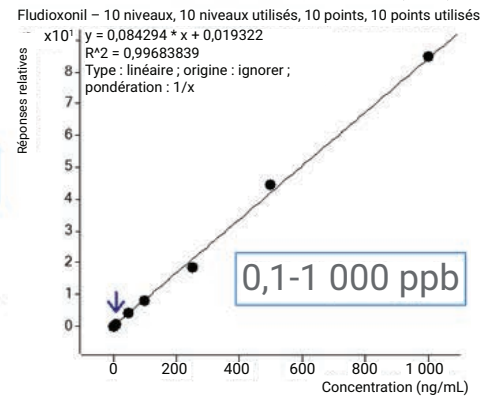
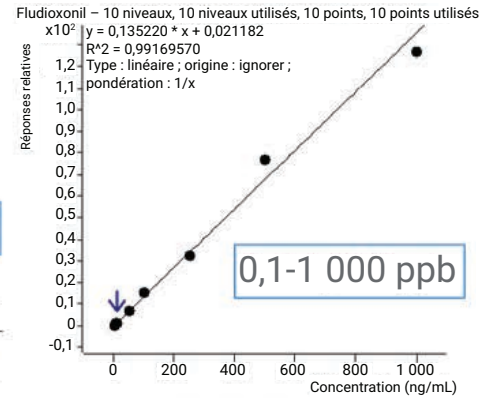
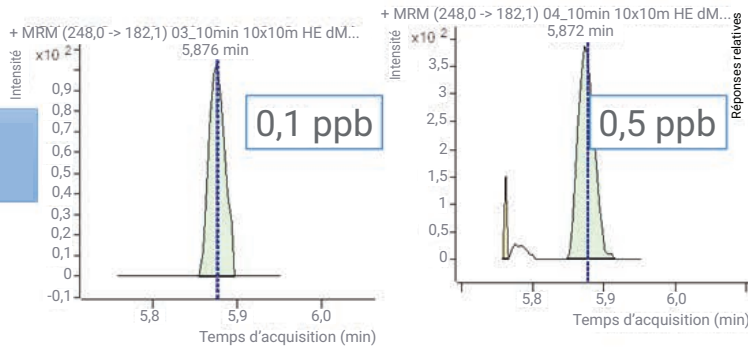
7010C
15 × 15 m



7000E
15 × 15 m

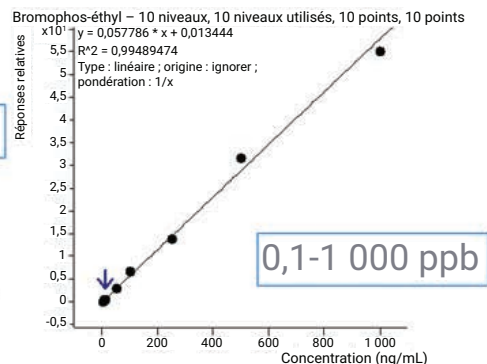
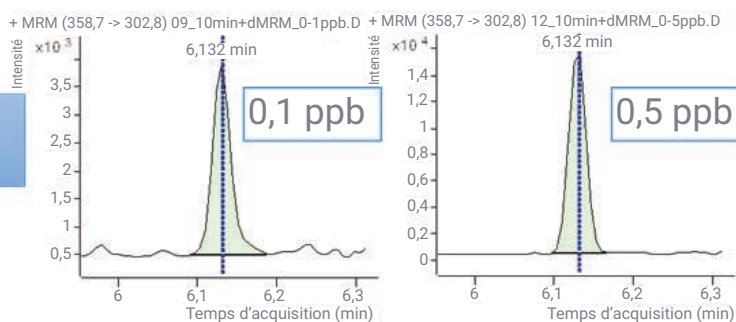


Série 7000
10 × 10 m

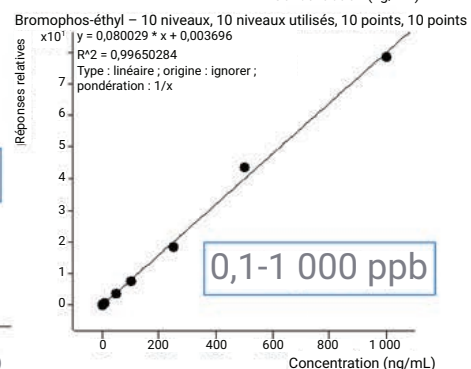
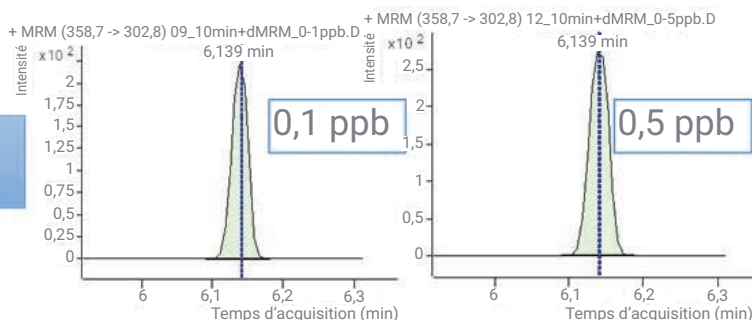


C) Bromophos-éthyl

7010C
15 × 15 m



7000E
15 × 15 m



Série 7000
10 × 10 m

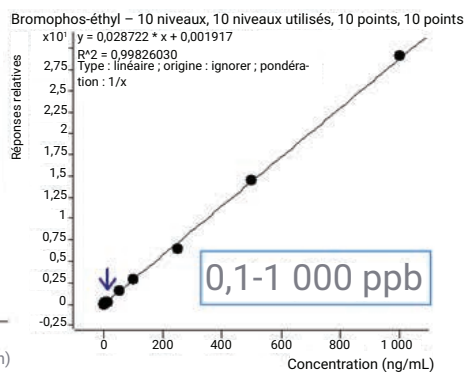
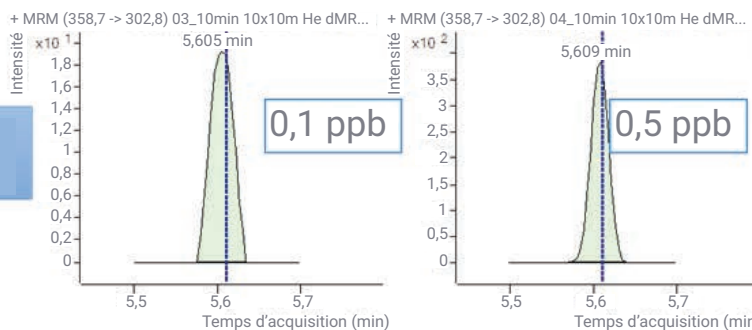


Figure 5. Chromatogrammes MRM et courbes d'étalonnage avec reconstruction de la matrice d'épinards pour (A) la deltaméthrine, (B) le fludioxonil et (C) le bromophos-éthyl observés avec différentes configurations de colonnes dans les séparations de 10 minutes sur les GC/MS triple quadripôle Agilent 7010C et série 7000.

La plus grande difficulté dans l'analyse multirésidu de pesticides est que les LMR établies pour les pesticides dans différents aliments varient considérablement. Il peut donc s'avérer nécessaire de réinjecter des échantillons si les gammes d'étalonnage de la méthode n'englobent pas les LMR de tous les composés d'intérêt. Il est souhaitable de disposer d'une large gamme d'étalonnage dynamique pour utiliser une méthode de quantification générale dans l'analyse de différents

pesticides dans les aliments, ainsi que pour appliquer un prétraitement des échantillons simplifié ne nécessitant pas de dilution supplémentaire. Les performances d'étalonnage sont résumées dans la figure 6 pour les 203 pesticides qui ont été analysés dans les épinards avec des séparations de 10 minutes à l'aide de la configuration classique de 15 x 15 m sur les GC/TQ 7010C et 7000E et de la configuration minibore de 10 x 10 m sur le GC/TQ série 7000. Le graphique représente

le nombre de composés avec un coefficient de corrélation $R^2 > 0,99$ après ajustement par régression (linéaire ou quadratique) au sein des différentes gammes d'étalonnage.

La plupart des composés cibles présentaient des courbes d'étalonnage linéaires sur une large gamme de 0,1 à 1 000 ppb ou de 0,5 à 1 000 ppb, permettant la quantification avec fiabilité au niveau des diverses LMR établies pour les différents composés.

Nombre de composés dont le R2 est > 0,99 avec leurs gammes d'étalonnage sur les GC/TQ série 7000 et 7010C dans deux configurations de colonnes et des séparations de 10 minutes

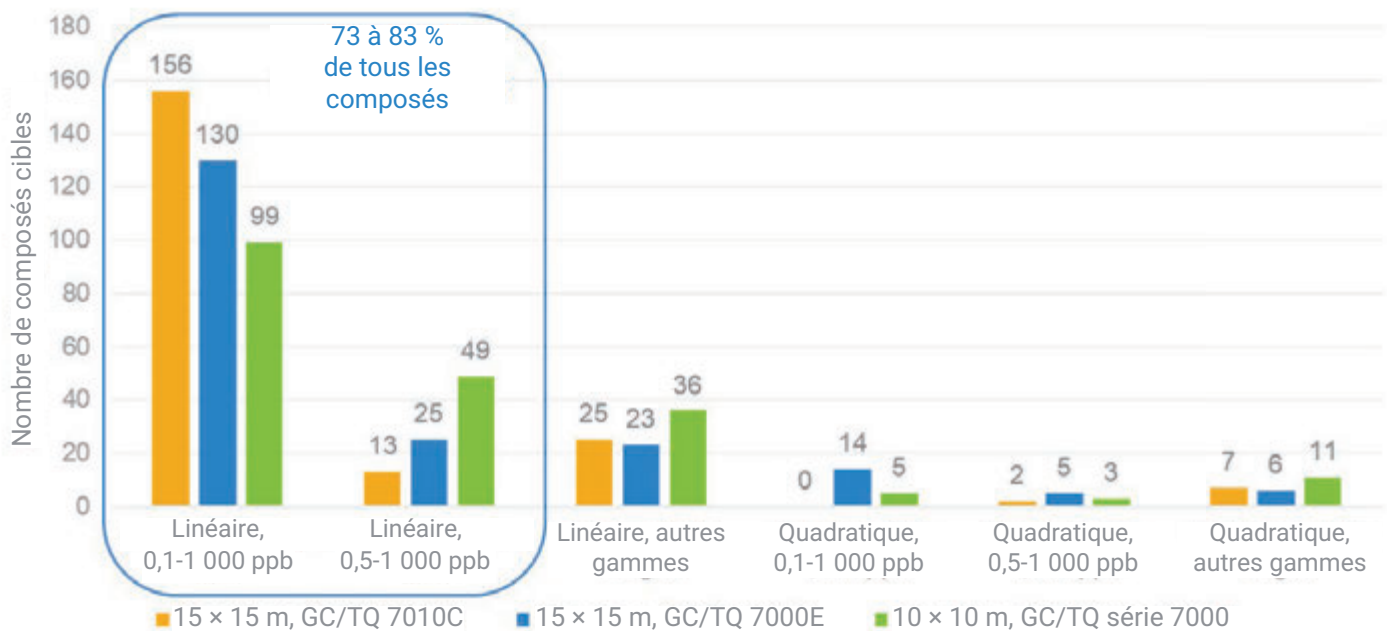


Figure 6. Performances d'étalonnage pour les 203 pesticides dans les méthodes de 10 minutes dans les épinards dans la configuration classique de 15 x 15 m, sur les GC/MS triple quadripôle Agilent 7010C et 7000E, et dans la configuration minibore de 10 x 10 m, sur le GC/MS triple quadripôle Agilent série 7000. Le nombre de composés et leurs gammes d'étalonnage sont indiqués sur le graphique.

Robustesse de la méthode avec 700 injections d'extrait d'épinards

La robustesse de l'analyse en 10 minutes a été démontrée par l'analyse d'un extrait d'épinards hautement pigmenté dopé avec des pesticides à 20 ppb. L'aire des pics d'analytes a été suivie pendant 700 injections consécutives. La réponse des analytes, normalisée par rapport aux étalons internes (ISTD), est restée constante pendant 700 injections qui se sont étalées sur plus de 175 heures d'utilisation continue avec la méthode de 10 minutes sur un GC/TQ 7000E dans la configuration classique de 15 × 15 m. La seule procédure de maintenance exécutée pendant le test de robustesse était le remplacement du septum et de l'insert toutes les 100 injections.

Il n'a pas été nécessaire d'effectuer un nettoyage de l'injecteur, de raccourcir la colonne GC, de nettoyer la source du MS ou de modifier les réglages du MS pendant toute l'étude qui a impliqué plus de 1 000 injections (700 analyses pour le test de robustesse et analyses supplémentaires pour l'évaluation et l'étalonnage du système).

Les clés de la réussite et de la robustesse d'une analyse de pesticides, qui permettent d'assurer la stabilité des performances du GC/TQ pendant plus de 700 injections, sont décrites dans la note d'application 5994-4965EN⁶. Les meilleures pratiques utilisées dans cette étude comprenaient :

- une préparation d'échantillons facilitée et améliorée grâce à la nouvelle procédure de purification par filtration sur Captiva EMR après extraction Agilent QuEChERS conventionnelle ;

- l'évaluation de la charge de matrice dans la source en mode d'acquisition Full Scan ;
- un rétrobalayage postanalyse effectué dans la configuration classique de rétrobalayage mi-colonne de 15 × 15 m et la configuration minibore de 10 × 10 m ;
- la garantie de l'étanchéité des GC/TQ grâce aux écrous de colonne autoserrants à collier et aux ferrules métalliques flexibles plaquées or pour flux capillaire ;
- l'utilisation d'un MMI à température programmable avec un insert de Ultra Inert 2 mm à encoches (sans laine de verre).

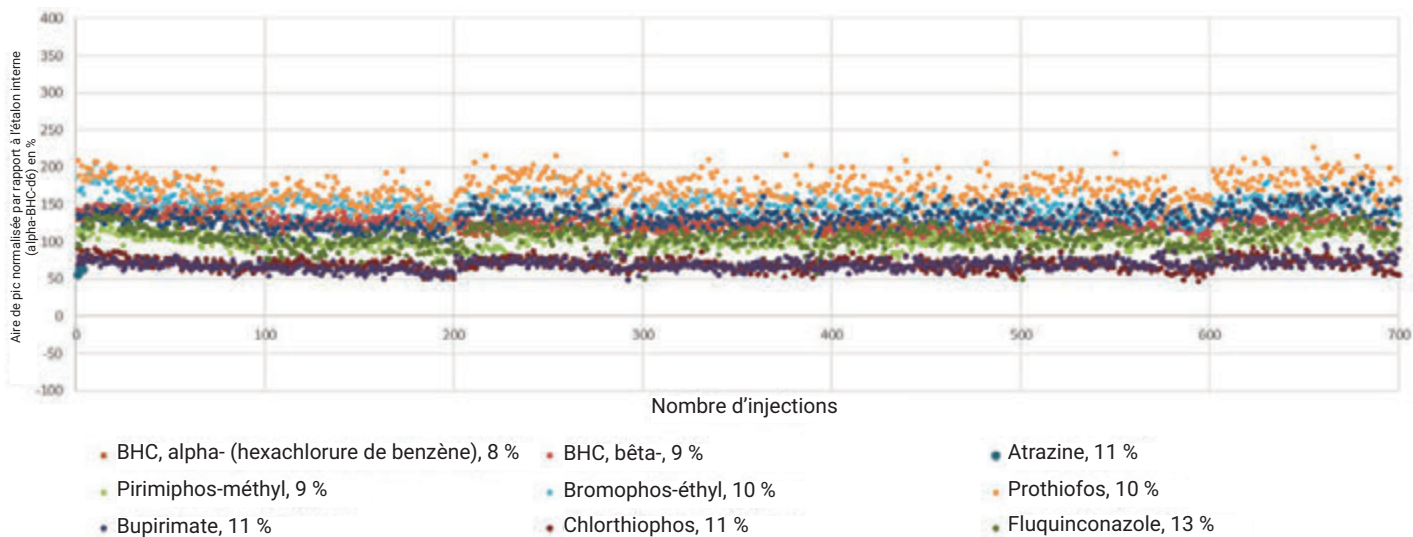


Figure 7. Stabilité de l'aire des pics de pesticides dopés à 20 ppb dans un extrait d'épinards, après normalisation par rapport à l'étalon interne, pendant 700 injections consécutives. Analyse en 10 minutes à l'aide de la configuration classique de 15 × 15 m sur le GC/MS triple quadripôle Agilent 7000E.

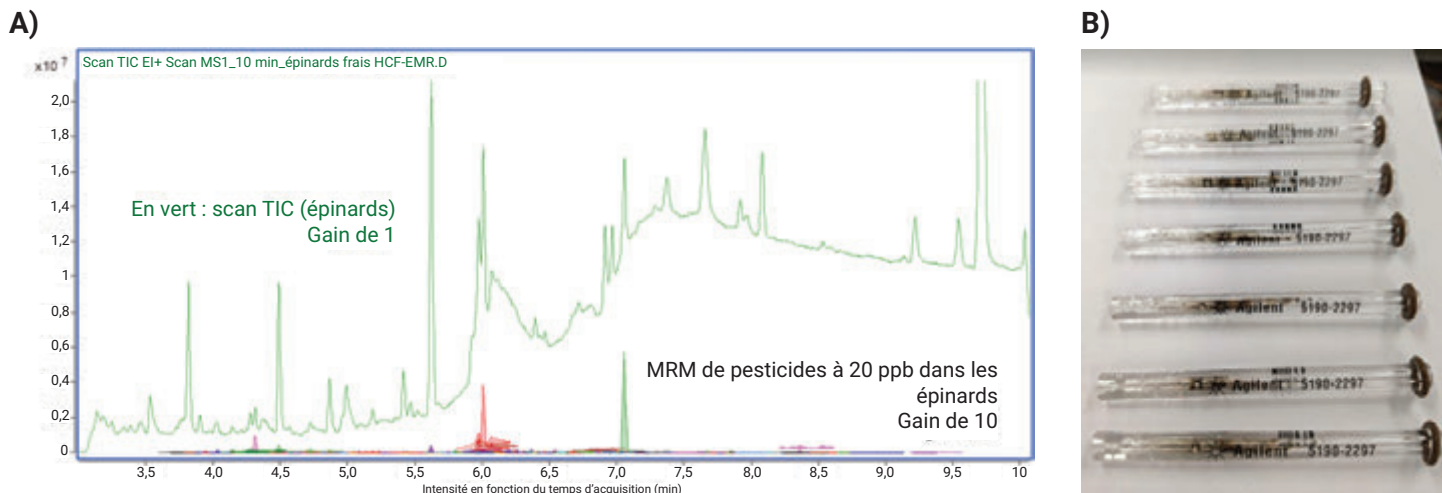


Figure 8. (A) TIC d'un chromatogramme de balayage acquis pour un extrait d'épinards et MRM pour les pesticides à 20 ppb. (B) Inserts d'injection GC remplacés toutes les 100 injections lors de l'analyse de l'extrait d'épinards pour l'évaluation de la robustesse.

L'extrait d'épinards hautement pigmenté choisi pour le test de robustesse présentait un bruit de fond relativement élevé en mode d'acquisition Full Scan, comme illustré dans la figure 8A, en comparaison de l'intensité du signal MRM pour les pesticides à 20 ppb. Les inserts remplacés toutes les 100 injections, soit sept fois au cours de l'étude de robustesse, sont présentés dans la figure 8B. Cela indique que l'extrait d'épinards est réellement difficile à analyser par GC/MS et qu'il constitue donc une matrice appropriée pour l'évaluation des performances de robustesse.

Conclusion

Cette note d'application a décrit deux configurations de GC/TQ avec rétrobalayage mi-colonne qui permettent toutes deux d'effectuer une solide analyse des pesticides en 10 minutes, tout en maintenant une résolution chromatographique suffisante pour 203 composés. La configuration classique de rétrobalayage mi-colonne de 15 × 15 m (0,25 mm × 0,25 µm) et la configuration minibore de 10 × 10 m (0,18 mm × 0,18 µm) ont été utilisées pour

réduire le temps d'analyse à 10 minutes. Les résultats ont montré qu'une excellente linéarité avait été atteinte sur les GC/MS triple quadripôle Agilent 7010C et série 7000, sur une gamme dynamique d'étalonnage de 0,1 à 1 000 ppb ou de 0,5 à 1 000 ppb. La robustesse de la méthode a été démontrée à l'aide de 700 injections consécutives d'un extrait d'épinards dopé avec des pesticides à 20 ppb.

Références

1. Base de données Agilent de pesticides et de polluants environnementaux (P&EP 4.0). G9250AA. <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms/gc-ms-application-solutions/gc-ms-pesticides-analyzer>
2. Les colonnes GC Agilent à façon peuvent être commandées sur <https://explore.agilent.com/individual-column>
3. 40 CFR § 180.435 - Deltamethrin; tolerances for residues. [https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.435#:~:text=\(2\)%20A%20tolerance%20of%200.05,establishments%20or%20as%20a%20wide](https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.435#:~:text=(2)%20A%20tolerance%20of%200.05,establishments%20or%20as%20a%20wide). Consulté le 22 avril 2022.
4. Index to Pesticide Chemical Names, Part 180 Tolerance Information, and Food and Feed Commodities (by Commodity), US EPA. December 12, 2012. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-01/documents/tolerances-commodity.pdf>. Consulté le 28 avril 2022.
5. IPCS INCHEM. <https://incchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v072pr04.htm>. Consulté le 28 avril 2022.
6. Andrianova, A; Zhao, L. Five Keys to Unlock Maximum Performance in the Analysis of Over 200 Pesticides in Challenging Food Matrices by GC/MS/MS, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-4965FR, **2022**.

Annexe 1

Nom et temps de rétention observés des composés analysés dans cette étude dans les deux configurations de colonnes et les séparations de 10 minutes.

| Nom | Temps de rétention (min) | | Nom | Temps de rétention (min) | |
|---------------------------------------|--------------------------|-----------|----------------------------------|--------------------------|-----------|
| | 15 × 15 m | 10 × 10 m | | 15 × 15 m | 10 × 10 m |
| Allidochlore | 3,773 | 2,542 | BHC, gamma- (lindane, gamma-HCH) | 5,201 | 4,174 |
| Dichlorobenzonitrile, 2,6- | 3,972 | 2,720 | Pyriméthaniil | 5,222 | 4,246 |
| Biphényle | 4,055 | 2,812 | Téfluthrine | 5,223 | 4,310 |
| Mévinphos, E- | 4,110 | 2,901 | Fonofos | 5,225 | 4,223 |
| 3,4-dichloroaniline | 4,193 | 2,954 | Pentachloronitrobenzène | 5,227 | 4,210 |
| Pébulate | 4,223 | 3,006 | Pentachlorobenzonitrile | 5,247 | 4,228 |
| Étridiazole | 4,246 | 3,016 | Disulfoton | 5,273 | 4,312 |
| N-(2,4-diméthylphényl)formamide | 4,305 | 3,091 | Isazofos | 5,285 | 4,361 |
| Cis-1,2,3,6-tétrahydroptalimide | 4,312 | 3,090 | Terbacile | 5,285 | 4,323 |
| Méthacrifos | 4,321 | 3,129 | Triallate | 5,322 | 4,379 |
| Chloronèbe | 4,375 | 3,171 | BHC, delta- | 5,330 | 4,351 |
| 2-phénylphénol | 4,444 | 3,228 | Chlorothalonil | 5,350 | 4,392 |
| Pentachlorobenzène | 4,495 | 3,276 | Propanil | 5,463 | 4,570 |
| Propachlore | 4,702 | 3,546 | Éther d'endosulfan | 5,466 | 4,523 |
| Tecnazène | 4,712 | 3,547 | Transfluthrine | 5,476 | 4,658 |
| Diphénylamine | 4,734 | 3,582 | Diméthachlore | 5,477 | 4,596 |
| Cycloate | 4,757 | 3,626 | Pentachloroaniline | 5,482 | 4,552 |
| Chlorprophame | 4,769 | 3,656 | Acétochlore | 5,502 | 4,641 |
| 2,3,5,6-tétrachloroaniline | 4,793 | 3,633 | Vinclozoline | 5,503 | 4,654 |
| Trifluraline | 4,798 | 3,724 | Parathion-méthyl | 5,526 | 4,668 |
| Benfluraline | 4,811 | 3,740 | Chlorpyriphos-méthyl | 5,526 | 4,668 |
| Éthalfuraline | 4,812 | 3,670 | Tolclofos-méthyl | 5,559 | 4,710 |
| Sulfotep | 4,869 | 3,789 | Alachlore | 5,564 | 4,725 |
| Diallate I | 4,928 | 3,846 | Propisochlore | 5,579 | 4,765 |
| Phorate | 4,932 | 3,852 | Métalaxyl | 5,583 | 4,763 |
| BHC, bêta- | 5,010 | 4,115 | Ronnel | 5,614 | 4,791 |
| BHC, alpha- (hexachlorure de benzène) | 5,011 | 3,918 | Prodiamine | 5,622 | 4,871 |
| Hexachlorobenzène | 5,069 | 3,987 | Heptachlore | 5,630 | 4,763 |
| Atrazine | 5,072 | 4,048 | Pyrimiphos-méthyl | 5,650 | 4,892 |
| Dicloran | 5,072 | 3,998 | Fénitrothion | 5,676 | 4,891 |
| Pentachloroanisole | 5,083 | 4,013 | Malathion | 5,696 | 4,962 |
| Clomazone | 5,122 | 4,092 | Linuron | 5,708 | 4,927 |
| Profluraline | 5,123 | 4,156 | Dichlofluanide | 5,745 | 4,980 |
| Terbutylazine | 5,155 | 4,163 | Pentachlorothioanisole | 5,767 | 4,972 |
| Terbufos | 5,173 | 4,178 | Aldrine | 5,768 | 5,061 |
| Propyzamide | 5,175 | 4,188 | Fenthion | 5,779 | 5,057 |
| Diazinon | 5,191 | 4,244 | Métolachlore | 5,783 | 5,046 |
| Fluchloraline | 5,199 | 4,261 | Chlorpyriphos | 5,790 | 5,075 |

| Nom | Temps de rétention (min) | | Nom | Temps de rétention (min) | |
|------------------------------------|--------------------------|-----------|------------------------------|--------------------------|-----------|
| | 15 × 15 m | 10 × 10 m | | 15 × 15 m | 10 × 10 m |
| Parathion | 5,793 | 5,081 | Chlorofénizon | 6,275 | 5,784 |
| Triadiméfon | 5,811 | 5,100 | Nonachlore, trans- | 6,279 | 5,787 |
| DCPA (dacthal, chlorthal-diméthyl) | 5,829 | 5,124 | Dieldrine | 6,279 | 5,955 |
| Antraquinone | 5,831 | 5,053 | Fludioxonil | 6,294 | 5,876 |
| Dichlorobenzophénone, 4,4'- | 5,840 | 5,110 | Prothiofos | 6,300 | 5,844 |
| Pyrimiphos-éthyl | 5,869 | 5,241 | Oxadiazon | 6,303 | 5,920 |
| MGK-264 | 5,881 | 5,315 | Prétilachlore | 6,303 | 5,895 |
| Isopropaline | 5,898 | 5,267 | Iodofenphos | 6,304 | 5,828 |
| Fenson | 5,902 | 5,194 | Profenofos | 6,312 | 5,877 |
| Diphénamide | 5,908 | 5,235 | Oxyfluorène | 6,314 | 5,960 |
| Bromophos | 5,918 | 5,237 | DDE, p,p'- | 6,342 | 5,906 |
| Cyprodinil | 5,941 | 5,314 | Bupirimate | 6,361 | 6,014 |
| Pendiméthaline | 5,975 | 5,356 | Myclobutanil | 6,364 | 5,970 |
| Chlozolinate | 5,976 | 5,378 | Chlorfénapyr | 6,365 | 6,122 |
| Alléthrine | 5,979 | 5,393 | Flusilazole | 6,370 | 5,995 |
| Triflumizole | 5,979 | 5,473 | Fluazifop-p-butyl | 6,388 | 6,090 |
| Fipronil | 5,993 | 5,431 | DDD, o,p'- | 6,404 | 5,990 |
| Penconazole | 5,998 | 5,375 | Tricyclazole | 6,412 | 5,932 |
| Métazachlore | 5,999 | 5,358 | Endrine | 6,423 | 6,153 |
| Chlorfenvinphos | 6,016 | 5,436 | Éthylan | 6,453 | 6,121 |
| Exo-époxyde d'heptachlore | 6,016 | 5,402 | Nitrofène | 6,477 | 6,101 |
| Isodrine | 6,018 | 5,319 | Chlorobenzilate | 6,506 | 6,189 |
| Captane | 6,020 | 5,472 | Éthion | 6,571 | 6,315 |
| Tolylfluanide | 6,026 | 5,413 | DDD, p,p'- | 6,582 | 6,280 |
| Bromfenvinfos-méthyl | 6,036 | 5,436 | DDT, o,p'- | 6,582 | 6,318 |
| Quinalphos | 6,047 | 5,463 | Chlorthiophos | 6,587 | 6,338 |
| Triadiménol | 6,053 | 5,476 | Endosulfan II (isomère bêta) | 6,603 | 6,235 |
| Procymidone | 6,090 | 5,515 | Triazophos | 6,644 | 6,428 |
| Folpet | 6,127 | 5,513 | Sulprofos | 6,659 | 6,420 |
| Pacloutrazol | 6,137 | 5,653 | Nonachlore, cis- | 6,667 | 6,341 |
| Chlorbenside | 6,137 | 5,549 | Carfentrazone-éthyl | 6,668 | 6,509 |
| Bromophos-éthyl | 6,139 | 5,609 | Méthoxychlore oléfine | 6,702 | 6,519 |
| DDE, o,p'- | 6,176 | 5,631 | Endrine aldéhyde | 6,709 | 6,402 |
| Tétrachlorvinphos | 6,181 | 5,680 | Carbophénothion | 6,726 | 6,513 |
| Chlordane, trans- | 6,187 | 5,610 | Norflurazone | 6,754 | 6,576 |
| Chlordane, cis- | 6,196 | 5,744 | Édifenphos | 6,786 | 6,566 |
| Fénamiphos | 6,227 | 5,797 | Lénacile | 6,787 | 6,588 |
| Flutolanil | 6,233 | 5,801 | DDT, p,p'- | 6,805 | 6,615 |
| Bromfenvinfos | 6,252 | 5,800 | Iprodione | 6,826 | 6,947 |
| Flutriafol | 6,255 | 5,764 | Méthoxychlore, o,p'- | 6,846 | 6,703 |
| Endosulfan I (isomère alpha) | 6,274 | 5,724 | Sulfate d'endosulfan | 6,852 | 6,610 |

| Nom | Temps de rétention (min) | | Nom | Temps de rétention (min) | |
|------------------------|--------------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|-----------|
| | 15 × 15 m | 10 × 10 m | | 15 × 15 m | 10 × 10 m |
| Butoxyde de pipéronyle | 6,854 | 6,788 | Acrinathrine | 7,415 | 7,607 |
| Propargite | 6,856 | 6,760 | Leptophos | 7,417 | 7,413 |
| Resméthrine | 6,857 | 6,756 | Pyrazophos | 7,556 | 7,660 |
| Hexazinone | 6,861 | 6,708 | Fénarimol | 7,631 | 7,641 |
| Tébuconazole | 6,886 | 6,739 | Mirex | 7,636 | 7,533 |
| Captafol | 6,890 | 6,805 | Pyraclufos | 7,645 | 7,728 |
| Nitralin | 6,913 | 6,862 | Azinphos-éthyl | 7,675 | 7,700 |
| Bifenthrine | 7,044 | 7,057 | Perméthrine, (1R)-cis- | 7,785 | 7,901 |
| Pyridaphenthion | 7,048 | 7,004 | Perméthrine, (1R)-trans- | 7,842 | 7,962 |
| Tétraméthrine I | 7,052 | 6,999 | Pyridabène | 7,916 | 7,980 |
| Fenpropathrine | 7,106 | 7,121 | Coumaphos | 7,964 | 8,028 |
| Bromopropylate | 7,109 | 7,061 | Fluquinconazole | 7,964 | 8,023 |
| EPN | 7,112 | 7,061 | Prochloraze | 7,988 | 8,058 |
| Tébufenpyrad | 7,130 | 7,152 | Cyfluthrine I | 8,157 | 8,184 |
| Méthoxychlore, p,p'- | 7,131 | 7,111 | Cyperméthrine I | 8,250 | 8,339 |
| Phosmet | 7,135 | 7,054 | Flucythrinate I | 8,359 | 8,444 |
| Endrine cétone | 7,189 | 7,033 | Acéquinocycle | 8,409 | 8,534 |
| Phénothrine I | 7,230 | 7,243 | Étofenprox | 8,431 | 8,485 |
| Azinphos-méthyl | 7,330 | 7,405 | Fluridone | 8,708 | 8,662 |
| Tétradifon | 7,330 | 7,305 | Fenvalérate I | 8,881 | 8,799 |
| Cyhalothrine (lambda) | 7,334 | 7,438 | Tau-fluvalinate I | 8,970 | 8,894 |
| Pyriproxyfène | 7,358 | 7,406 | Deltaméthrine | 9,444 | 9,166 |
| Phosalone | 7,389 | 7,387 | | | |

www.agilent.com

DE13474802

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2022
 Imprimé aux États-Unis, le 29 septembre 2022
 5994-4967FR