

Cinq clés pour optimiser les performances de l'analyse de plus de 200 pesticides dans des matrices alimentaires problématiques par GC/MS/MS



Auteurs

Anastasia A. Andrianova
et Limian Zhao
Agilent Technologies, Inc.

Résumé

Cette note d'application décrit cinq meilleures pratiques pour améliorer les performances analytiques dans l'analyse de plus de 200 pesticides dans des matrices problématiques, comprenant les épinards, les noix et le poivre de Cayenne. La nouvelle procédure de purification par filtration Agilent Captiva EMR après extraction Agilent QuEChERS a permis d'obtenir une matrice plus propre. La purification et l'extraction ont diminué les interférences dues à la matrice pour les analytes cibles et prolongé la durée d'utilisation sans maintenance de l'instrument. Les performances d'étalonnage ont été prouvées sur une large gamme dynamique de quatre ordres de grandeur. Il a été démontré que le GC/MS triple quadripôle Agilent 8890/7000E présentait une excellente linéarité sur une gamme de 0,1 à 5 000 ppb. Le GC/MS triple quadripôle Agilent 8890/7010C a fait preuve d'une sensibilité supérieure, avec un meilleur rapport signal sur bruit aux plus faibles concentrations.

Introduction

L'industrie agroalimentaire mondiale utilise plus d'un millier de pesticides différents dans la production alimentaire. Les producteurs ont besoin de pesticides pour répondre à la demande croissante d'aliments à prix abordable. Cette demande croissante a intensifié l'utilisation de pesticides et favorisé des pratiques agricoles problématiques ayant augmenté les risques pour l'approvisionnement alimentaire et l'environnement. Les inquiétudes suscitées par la présence de polluants chimiques à l'état de traces dans les aliments entraînent une demande de méthodes plus rapides et plus fiables pour identifier et quantifier les résidus chimiques. Les GC/MS triple quadripôle (GC/TQ) **Agilent 8890/7000E** et **8890/7010C** sont particulièrement aptes à répondre à ce besoin.

L'Agence de protection de l'environnement des États-Unis (EPA) définit des tolérances dans le cadre du contrôle sanitaire des aliments¹. La tolérance correspond aux limites maximales de résidus (LMR), c'est-à-dire à la teneur maximale en résidus de pesticides autorisée dans ou sur les aliments. Les LMR peuvent varier sur une large gamme de concentration pour les différents pesticides et aliments. Par exemple, les LMR établies pour 68 pesticides réglementés dans les épinards varient entre 10 ppb pour le fludioxonil et 60 000 ppb pour le boscalid². Cette gamme de limites complique l'analyse, nécessitant d'étalonner sur une large gamme dynamique tout en assurant une haute sensibilité.

Les cinq éléments essentiels à la réussite de l'analyse des pesticides dont traite cette note d'application sont les suivants :

- 1 Une extraction d'échantillon et un traitement de la matrice efficaces, permettant de réduire au minimum le fond et les interférences de la matrice, tout en maintenant un taux de recouvrement élevé des pesticides. De plus, une solide analytique robuste permettant d'atteindre les performances requises de la méthode tout en augmentant le temps de disponibilité sans maintenance.

- 2 L'évaluation de la matrice en mode d'acquisition Full Scan afin de garantir l'obtention des meilleures performances, en particulier avec la source à haute efficacité d'ionisation (HES).
- 3 Le rétrobalayage mi-colonne pour prolonger l'utilisation sans maintenance du système. Cette technique réduit la nécessité de raccourcir les colonnes et de nettoyer la source tout en permettant une diminution du temps d'analyse.
- 4 Un GC/TQ étanche permet de prolonger la durée de vie des colonnes GC et simplifie l'obtention de performances MS fiables et homogènes sans requérir de maintenance.
- 5 L'utilisation de l'injecteur multimode (MMI) Agilent à température programmable avec un insert de 2 mm à encoches (sans laine de verre) pour assurer une volatilisation efficace de tous les composés, même les plus thermolabiles.

Cette note d'application décrit l'analyse de plus de 200 pesticides dans trois matrices problématiques : une matrice d'épinards frais à haute teneur en chlorophylle, une matrice complexe de poivre de Cayenne séché et une matrice huileuse de noix sèches. Les larges gammes dynamiques obtenues avec la haute sensibilité de la méthode ont permis de quantifier avec exactitude les pesticides dans ces matrices, au niveau de leurs LMR.

Des étalonnages à reconstruction de matrice avec un $R^2 > 0,99$ ont été obtenus sur une gamme dynamique de 0,1 à 5 000 ppb sur le GC/TQ 7000E et de 0,1 à 1 000 ppb sur le GC/TQ 7010C. Le GC/TQ 7010C équipé d'une source HES présentait une sensibilité supérieure avec un rapport signal sur bruit élevé, même pour des concentrations faibles, et a permis des quantifications précises à des niveaux de concentration en dessous de 0,1 ppb. Néanmoins, cela n'était pas nécessaire dans cette étude puisque les LMR pour les pesticides réglementés dans les aliments d'intérêt ne requièrent pas de quantification en dessous de 0,1 ppb.

Méthode expérimentale

Analyse par GC/TQ

Les GC/TQ 8890/7000E et 8890/7010C (figure 1A) ont été utilisés et configurés pour offrir les meilleures performances sur une large gamme d'étalonnage. Cette gamme d'étalonnage comprenait les diverses LMR des pesticides réglementés dans les aliments analysés. Le GC était équipé d'un passeur automatique de liquides (ALS) Agilent 7693A et d'un plateau à 150 positions. Le système comprenait un injecteur multimode (MMI) utilisé en mode d'injection splitless avec programme de température. La capacité de rétrobalayage mi-colonne était fournie par le raccord Agilent Ultimate Union avec purge (PUU) installé entre deux colonnes identiques de 15 m et par le dispositif de commutation pneumatique (PSD) 8890 (figure 1B). 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 et jusqu'à 52 MRM simultanées (figure 2). En outre, le dMRM permet à l'analyste d'ajouter et de supprimer facilement des analytes supplémentaires. La méthode d'acquisition comportait des temps de rétention bloqués pour correspondre aux temps de rétention dans la base de données Agilent de pesticides et de polluants environnementaux (P&EP 4), qui a été utilisée pour créer aisément la méthode MS. L'utilisation de la P&EP 4 a permis d'accélérer et de simplifier la configuration de la méthode dMRM ciblée. La méthode d'acquisition comportait des temps de rétention bloqués par rapport à la bibliothèque P&EP.

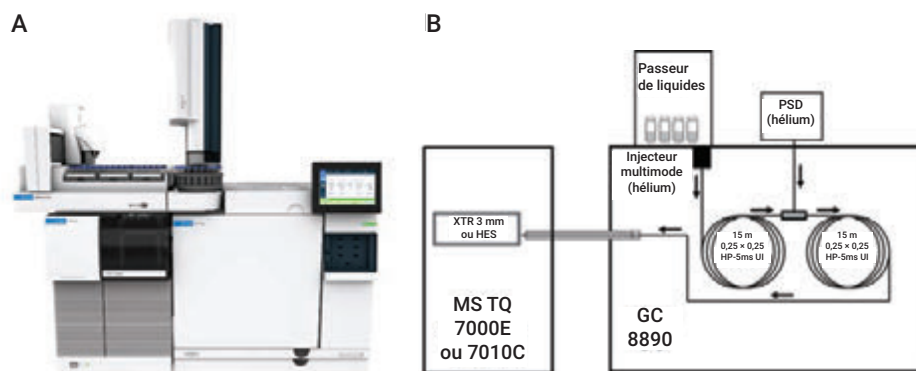


Figure 1. GC/TQ Agilent 8890/7000E et 8890/7010C (A) et configuration du système (B).

Tableau 1. Conditions du chromatographe en phase gazeuse/spectromètre de masse Agilent 8890/7000E et 8890/7010C.

GC		Colonne 1		MSD	
Agilent 8890 avec four rapide, passeur automatique d'échantillons et plateau		Type	HP-5ms UI Agilent (réf. 19091S-431UI-KEY)	Modèle	Agilent 7000E ou 7010C
Injecteur	Injecteur multimode (MMI)	Longueur	15 m	Source	Source d'ions inerte avec extracteur et lentille de 3 mm ou source HES
Mode	Splitless	Diamètre	0,25 mm	Pompe à vide	turbo Performance
Débit de purge vers l'évent de division	60 mL/min à 0,75 min	Épaisseur de film	0,25 µm	Fichier de réglage	Atunes.eiex.jtune.xml ou Atunes.eihs.jtune.xml
Débit de purge de septum	3 mL/min	Mode de pilotage	Débit constant	Délai du solvant	3 min
Mode débit de purge de septum	Switched	Débit	1,016 mL/min	Température des quad. (MS1 et MS2)	150 °C
Volume d'injection	1,0 µL	Raccord d'entrée	Injecteur multimode (MMI)	Température de la source	280 °C
Type d'injection	Standard	Raccord de sortie	PSD (PUU)	Mode	dMRM ou scan
Couche d'air L1	0,2 µL	Débit de purge du PSD	5 mL/min	He, gaz d'extinction	2,25 mL/min
Économiseur de gaz	Activé à 30 mL/min après 3 min	Débit postanalyse (rétrobalayage)	-7,873	N ₂ , gaz de collision	1,5 mL/min
Température de l'injecteur	60 °C pendant 0,1 min, puis rampe de 600 °C/min jusqu'à 280 °C	Colonne 2		Statistiques des MRM	
Température de l'injecteur postanalyse	310 °C	Type	HP-5ms UI Agilent (réf. 19091S-431UI-KEY)	MRM totales (mode dMRM)	614
Débit total postanalyse	25 mL/min	Longueur	15 m	Temps de mesure minimal	6,85 ms
Gaz vecteur	Hélium	Diamètre	0,25 mm	Temps de cycle minimal	69,8 ms
Insert d'injection	Insert Agilent Ultra Inert de 2 mm, à encoches (réf. 5190-2297)	Épaisseur de film	0,25 µm	Nombre maximal de MRM simultanées	52
Four		Mode de pilotage	Débit constant	Mode gain de tension d'EM	10
Température initiale du four	60 °C	Débit	1,216 mL/min	Paramètres de balayage	
Palier initial du four	1 min	Raccord d'entrée	PSD (PUU)	Type de balayage	Balayage MS1
Rampe 1	40 °C/min	Raccord de sortie	MSD	Gamme de balayage	m/z 45 à 450
Temp. finale 1	170 °C	Débit postanalyse (rétrobalayage)	8,202	Durée de balayage (ms)	220
Palier final 1	0 min			Taille du pas	0,1 uma
Rampe 2	10 °C/min			Seuil	0
Temp. finale 2	310 °C			Mode gain de tension d'EM	1
Palier final 2	2,25 min				
Temps d'analyse total	20 min				
Durée postanalyse	1,5 min				
Temps de stabilisation	0,25 min				

Le mode d'acquisition Full Scan a été utilisé pour le criblage préliminaire d'extrait de matrice. Ce criblage a été utilisé pour évaluer la charge dans la source et pour contrôler l'efficacité de la purification des échantillons.

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

Les performances d'étalonnage ont été évaluées à l'aide d'une série d'étalons avec reconstruction de la matrice sur une gamme de 0,1 à 5 000 ppb, dont 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1 000 et 5 000 ppb. Un étalon d' α -BHC- d_6 à une concentration finale de 20 ppb en flacon a été utilisé comme étalon interne pour la quantification des pesticides cibles. Une régression linéaire ou quadratique avec un facteur de pondération de $1/x$ a été appliquée à toutes les courbes d'étalonnage.

Préparation des échantillons

La méthode de préparation des échantillons est schématisée dans la figure 3. La préparation des échantillons comprenait deux étapes principales : l'extraction des échantillons à l'aide d'une extraction QuEChERS conventionnelle, suivie d'une purification par filtration sur Captiva EMR. Différents produits Captiva EMR ont été utilisés en fonction des problèmes spécifiques posés par les différentes matrices. Une cartouche Captiva EMR-HCF a été utilisée pour la matrice d'épinards frais à haute teneur en chlorophylle. Captiva EMR-LPD a été utilisé pour la matrice de noix sèches faiblement pigmentée, mais huileuse. Captiva EMR-GPD a été utilisé pour la matrice très problématique de poivre de Cayenne séché. 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 QuEChERS EN conventionnel (réf. 5892-5650). Dans le cas des épinards frais, 10 g d'échantillon d'épinards homogénéisés ont été utilisés pour l'extraction. Dans le cas des noix, 5 g de noix en poudre ont été utilisés, avec ajout de 10 mL d'eau et de 10 minutes de vortex. Dans le cas du poivre de Cayenne, 2 g de poivre de Cayenne en poudre ont été utilisés, avec ajout de 10 mL d'eau et de 10 minutes de vortex. Ensuite, 10 mL d'acétonitrile avec 1 % d'acide acétique ont été ajoutés pour l'extraction qui a été effectuée sur QuEChERS EN. Après l'extraction, 3 mL d'extrait brut ont été transférés directement ou après mélange avec 10 % d'eau sur des cartouches

Captiva EMR pour la purification par filtration. Les cartouches suivantes ont été utilisées : Captiva Enhanced Matrix Removal High Chlorophyll Fresh, avec NH_2 , (Captiva EMR-HCF1, réf. 5610-2088) pour les épinards, Captiva Enhanced Matrix Removal Low Pigment Dry (Captiva EMR-LPD, réf. 5610-2092) pour les noix et Captiva Enhanced Matrix Removal General Pigmented Dry (Captiva EMR-GPD, réf. 5610-2091) pour le poivre de Cayenne. L'éluant des échantillons a été collecté puis séché à l'aide de $MgSO_4$ anhydre (réf. 5982-0102), et les échantillons étaient alors prêts pour l'analyse par GC/TQ. Le processeur d'échantillons à collecteur à pression positive 48 positions (PPM-48, réf. 5191-4101) a été utilisé pour la purification par filtration sur Captiva EMR.

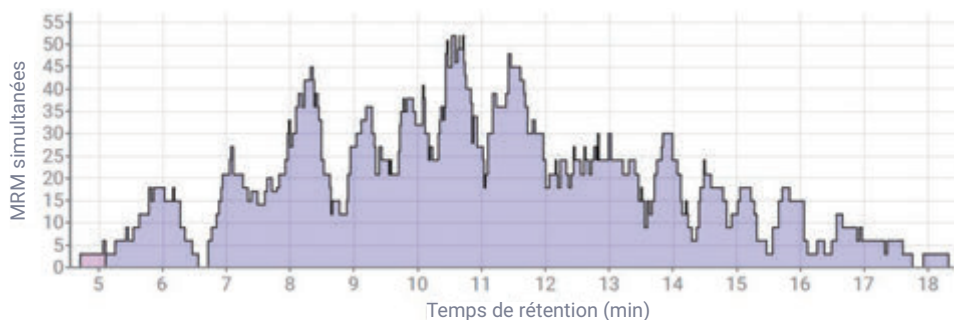


Figure 2. Distribution des 614 transitions MRM, avec un maximum de 52 MRM simultanées, suivies pendant l'analyse permettant une distribution plus efficace des temps de mesure.

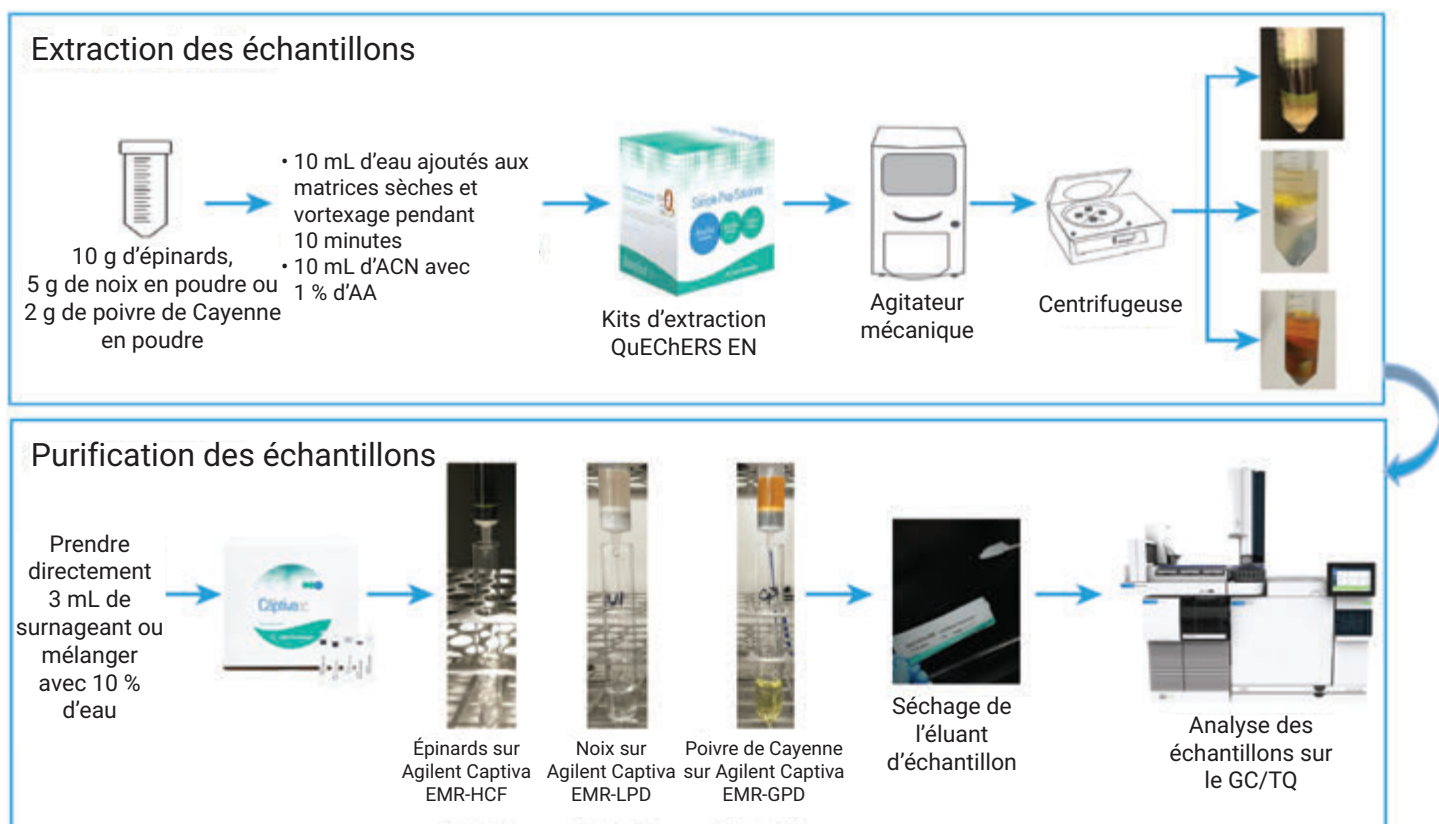


Figure 3. Diagramme représentant la préparation d'échantillons avec l'extraction QuEChERS conventionnelle, suivie de la purification par filtration sur Captiva EMR.

Résultats et discussion

Pour permettre l'exécution d'une méthode à haute cadence, une analyse robuste de pesticides doit permettre une longue durée d'utilisation sans maintenance avec un temps d'indisponibilité minimum. Cette méthode doit aussi satisfaire aux critères de sensibilité, y compris à des niveaux de concentration sub-ppb. Elle doit également permettre l'étalonnage sur une gamme dynamique englobant les LMR des composés contrôlés dans les aliments, qui varient souvent sur une large gamme dynamique. Les cinq stratégies essentielles décrites dans cette note d'application ont permis d'atteindre des limites de quantification (LOQ) de 0,1 ppb tout en assurant les performances d'étalonnage sur une gamme allant jusqu'à 5 000 ppb pour le 7000E et 1 000 ppb pour le 7010C. De plus, ces stratégies ont permis de limiter l'indisponibilité de l'instrument au remplacement de l'insert et du septum toutes les 100 injections environ.

L'étude présentée dans cette note d'application et l'étude de robustesse du système effectuée avec 700 injections consécutives, qui a été décrite dans une autre publication³, ont impliqué plus de 1 000 injections d'extraits de matrices complexes, dont les épinards, les noix et le poivre de Cayenne. Pendant toute la durée de ces mesures, il n'a pas été nécessaire de régler le MS TQ, de nettoyer la source ou de raccourcir la colonne GC.

Préparation des échantillons

L'efficacité de l'extraction d'échantillon et du traitement de la matrice est essentielle à la réussite de l'analyse des pesticides. L'analyse d'extraits QuEChERS bruts, en particulier de matrices complexes pigmentées et huileuses, peut augmenter considérablement la nécessité de remplacer l'insert, de nettoyer l'injecteur, de raccourcir la colonne GC et de nettoyer la source MS. De telles procédures de maintenance entraînent une diminution de la cadence d'analyse. Un traitement

efficace de la matrice après l'extraction QuEChERS réduit la charge de la matrice dans la source et ses interférences avec les cibles, tout en améliorant le rapport signal sur bruit, l'exactitude et la reproductibilité pour les pesticides cibles. Une purification par filtration sur Captiva EMR après l'extraction QuEChERS conventionnelle a été utilisée dans cette étude. Ce nouveau protocole de purification des échantillons est une procédure simplifiée permettant une amélioration de l'élimination de la matrice des échantillons, de la reproductibilité et du recouvrement global des composés cibles. Comme illustré dans la figure 4, l'intensité du signal dans le chromatogramme d'ions totaux (TIC) en mode d'acquisition Full Scan a été considérablement diminuée pour les extraits d'épinards, de noix et de poivre de Cayenne après purification en comparaison des extraits bruts avant purification.

Criblage de la matrice en mode d'acquisition Full Scan

La réalisation d'un criblage d'échantillons en mode d'acquisition Full Scan simplifie l'évaluation de la charge de la matrice dans la source. Chaque source MS possède une limite dans la quantité de matière qu'elle peut tolérer au-delà de laquelle les performances ne sont plus optimales. L'exactitude de la quantification de l'analyse peut être considérablement compromise si la source est surchargée de matrice. Il est donc essentiel d'analyser la matrice en mode Full Scan pour évaluer le chromatogramme d'ions totaux et maintenir les performances du GC/TQ à un niveau optimal. Il est recommandé que l'intensité du chromatogramme d'ions totaux en mode Full Scan ne dépasse pas 7×10^7 lorsque l'analyse est effectuée avec un gain de multiplicateur d'électrons (EM) réglé sur 1. Parmi les trois matrices analysées, le poivre de Cayenne présentait le bruit de fond de matrice le plus élevé, bien qu'il ait été sensiblement réduit après la procédure de purification. Cette évaluation a révélé que, pour les pesticides dont le temps d'éluion est compris entre 11 et 12,5 minutes, on peut s'attendre à ce que les performances en termes de sensibilité et de gamme dynamique soient réduites dans la matrice de poivre de Cayenne. Par exemple, l'endosulfan I avait un temps d'éluion de 11,273 minutes et n'a pu être quantifié qu'à partir de 5 ppb dans la matrice de poivre de Cayenne aussi bien avec le 7000E qu'avec le 7010C, tandis que les matrices d'épinards et de noix présentaient des teneurs en matrice sensiblement plus faibles coélues avec l'endosulfan I, permettant l'obtention d'une LOQ de 0,1 ppb. Les meilleures pratiques d'utilisation du GC/TQ Agilent en mode d'acquisition Full Scan sont indiquées dans la note d'application 5994-3859EN⁴.

Certaines de ces pratiques pouvant être appliquées pour réduire le bruit de fond de matrice comprennent une purification des échantillons appropriée, la dilution des échantillons et la réduction du volume d'injection. Ces deux dernières approches offrent souvent de meilleures LOQ, en particulier avec le GC/TQ 7010C équipé d'une source HES.

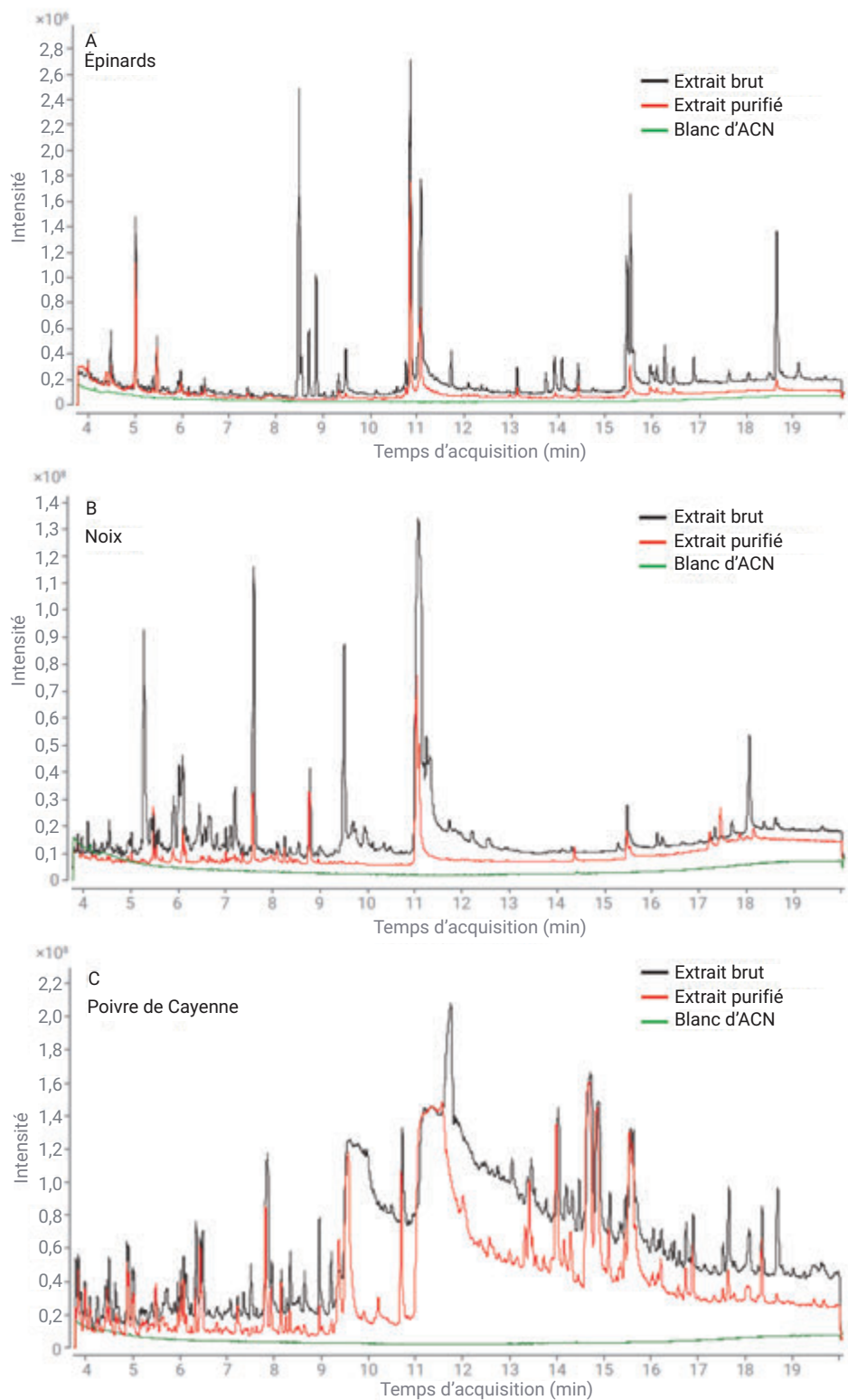


Figure 4. Scan TIC d'extraits d'épinards (A), de noix (B) et de poivre de Cayenne (C). Le chromatogramme en rouge correspond à l'échantillon de matrice avec purification sur Captiva EMR, et le chromatogramme en noir correspond à l'échantillon de matrice sans purification. Le chromatogramme en vert correspond au blanc de solvant d'acétonitrile.

Rétrobalayage mi-colonne

L'utilisation du rétrobalayage mi-colonne permet à l'analyste de limiter le temps d'analyse au temps de rétention du dernier composé d'intérêt élué. Les matrices problématiques, en particulier les matrices huileuses telles que les extraits de noix, sont riches en composants à point d'ébullition élevé et à longs temps de rétention. Ces temps de rétention dépassent souvent ceux des pesticides cibles. Une façon courante d'éviter les pics fantômes dans les analyses suivantes consistait à appliquer un conditionnement de colonne prolongé après l'éluion du dernier analyte cible de la colonne. Toutefois, cette approche présente plusieurs inconvénients, dont le dépôt de composés lourds et de phase stationnaire dans la source EI, la contamination de la tête de colonne GC, la diminution de la durée de vie de la colonne et l'augmentation du temps de cycle en raison du conditionnement prolongé.

Le rétrobalayage mi-colonne permet l'éluion des composants de la matrice à point d'ébullition élevé sans les sacrifices engendrés par l'application du conditionnement. Le rétrobalayage mi-colonne est une technique dans laquelle le flux de gaz vecteur est inversé après l'éluion du dernier analyte de la colonne. Après la collecte des données de MS, le four est maintenu à la température finale en mode postanalyse et le flux de gaz vecteur de la première colonne est inversé. Ce flux inversé transporte tous les composés lourds qui se trouvaient dans la colonne à la fin de la collecte des données. Ces composés lourds sont transportés hors de la tête de colonne jusque dans le piège pour ligne de division (figure 5A). La capacité à inverser le flux gazeux est assurée par le raccord Agilent Ultimate Union avec purge (PUU). Le PUU est un raccord en T qui est inséré, dans le cas présent, entre deux colonnes identiques de 15 m.

Pendant l'analyse, un léger flux d'appoint de gaz vecteur provenant du dispositif de commutation pneumatique (PSD) du 8890 est utilisé pour balayer le raccord. Pendant le rétrobalayage, le flux d'appoint provenant du PSD est considérablement augmenté, balayant les composés lourds vers l'arrière hors de la première colonne

tout en fournissant simultanément un flux vers l'avant dans la seconde colonne. Pour la configuration utilisée dans cette application, la durée du rétrobalayage était de 1,5 minute. L'utilisation du PSD pour le rétrobalayage dans le GC 8890 est expliquée avec plus de détails dans la note d'application 5994-0550FR⁵.

Les chromatogrammes de la figure 5B illustrent l'efficacité de la technique de rétrobalayage dans la réduction du temps de cycle et de l'effet mémoire. Le temps de cycle a été réduit de 50 % et les colonnes n'ont pas dû être exposées à de hautes températures de conditionnement pendant une longue durée. L'utilisation du rétrobalayage évite l'introduction de résidus lourds et d'un ressuage de colonne excessif dans le MSD, diminuant ainsi la contamination de la source d'ionisation.

De plus, la configuration à rétrobalayage mi-colonne offre un gain de temps considérable en cas d'association avec un injecteur multimode. Les procédures de maintenance, telles que le remplacement du septum et de l'insert, ainsi que les raccourcissements de colonne peuvent être effectués sans qu'il soit nécessaire de refroidir la ligne de transfert et la source du MS. Lorsque le septum est retiré, le PSD fournit le flux de gaz vecteur vers l'arrière dans la colonne 1. Le PSD empêche aussi l'air de pénétrer dans les colonnes GC et le MS. La capacité de refroidissement rapide du MMI permet de gagner plus de temps. Par conséquent, les remplacements d'inserts et de septum, qui sont les procédures de maintenance les plus courantes, peuvent être effectués en quelques minutes.

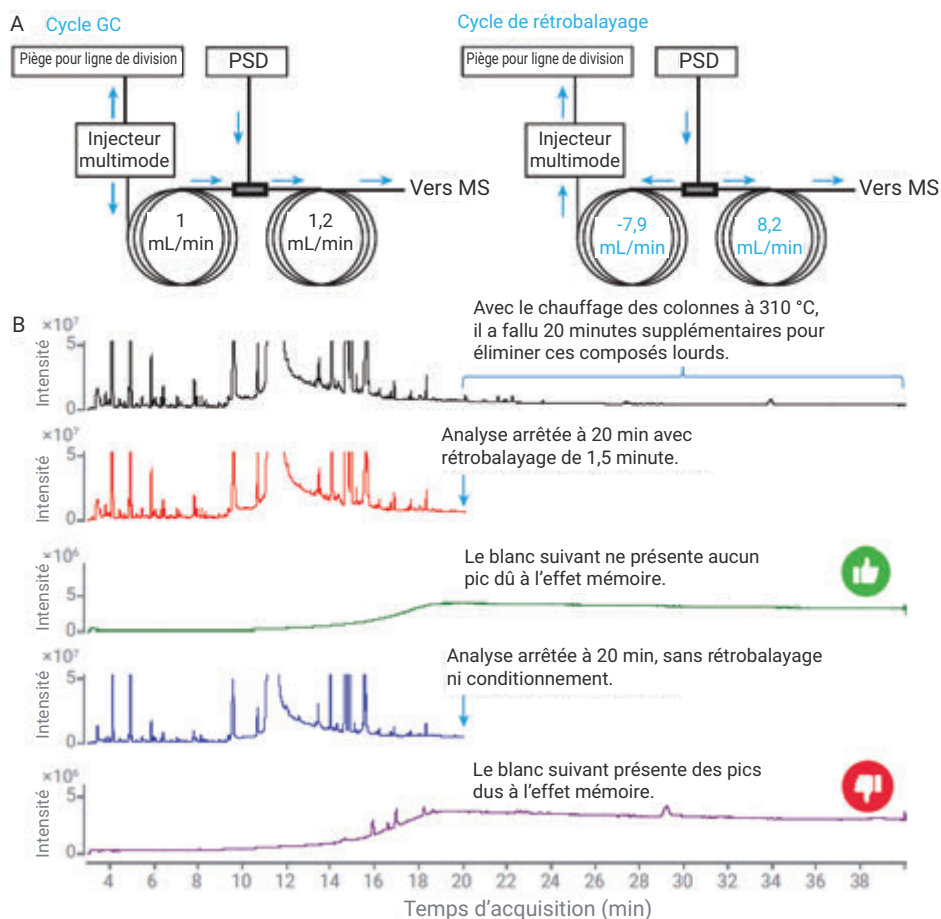


Figure 5. Configuration du rétrobalayage mi-colonne et flux gazeux pendant l'analyse par GC et le rétrobalayage (A) ; chromatogramme du scan TIC d'un extrait de poivre de Cayenne suivi de l'analyse d'un blanc avec conditionnement de la colonne, avec rétrobalayage et sans rétrobalayage ni conditionnement (B).

GC/TQ étanche

Le maintien de l'étanchéité du GC/MS est essentiel aux performances à long terme de l'instrument. Les fuites indésirables diminuent la durée de vie des colonnes GC et entraînent l'oxydation de la source EI, dégradant ainsi ses performances.

Les outils permettant une connexion étanche rendent l'installation plus simple et reproductible. Ils comprennent les écrous de colonne GC autoserrants à collier (figures 6A et 6B ; réf. G3440-81011 et G3440-81013) et les ferrules métalliques flexibles plaquées or pour flux capillaire (figure 6C, réf. G2855-28501).

Les écrous de colonne autoserrants à collier comportent un piston à ressort innovant. Le piston appuie continuellement contre la ferrule courte en graphite/polyimide, garantissant l'étanchéité de la connexion, même après des centaines de cycles de température du four. Le collier simplifie l'installation de la colonne dans l'injecteur GC et dans la ligne de transfert du MS et diminue le risque de variation. Le collier de verrouillage permet de maintenir la colonne en place, pour une installation précise et reproductible, jour après jour. La simplicité d'installation de la colonne avec les écrous autoserrants à collier est illustrée dans les vidéos référencées^{6,7}. Lorsqu'aucune maintenance de la source MS n'est nécessaire, l'écrou à collier et l'outil d'installation (réf. G1099-2003) permettent d'installer la colonne dans le MS sans ouvrir la porte latérale.

Les ferrules métalliques flexibles plaquées or sont inertes et offrent une étanchéité extrêmement fiable. Elles préviennent la formation de microfuites du raccord à technologie de flux capillaire (PUU) et permettent de maintenir la haute sensibilité du GC/TQ.



Figure 6. Écrous autoserrants de colonne à collier pour la connexion à l'injecteur (A) et à la ligne de transfert du MS (B) et ferrules métalliques flexibles plaquées or (C).

Pour confirmer l'état d'étanchéité du système, le contrôle des fuites d'air et d'eau, ou le rapport autotune, est souvent évalué afin de déterminer l'ampleur de la fuite détectée par le MS. Néanmoins, cette approche ne permet pas d'identifier la source de la fuite. En outre, elle peut échouer à détecter les microfuites présentes au niveau des connexions utilisateur.

La nouvelle fonctionnalité de test d'étanchéité est disponible sur les GC/TQ 7000E et 7010C avec MassHunter Data Acquisition version 10.2 ou ultérieure. Le test des fuites peut identifier la source de la fuite et en surveiller l'ampleur. Cet outil surveille jusqu'à 10 ions spécifiés par l'utilisateur (figure 7A), dont les ions provenant d'un gaz de vérification d'absence de fuite tel qu'une bombe à air (m/z 69 et 83, figure 7B). L'outil représente les chromatogrammes correspondants, dont les EIC et le chromatogramme d'ions totaux (figure 7C).

Optimisation de l'injection à l'aide de l'injecteur multimode (MMI) à température programmable

L'efficacité de la volatilisation de l'échantillon dans l'injecteur du GC est un élément essentiel à l'analyse par GC/MS. Certains pesticides tels que le captafol, le captane, le dicofol, le folpet et la deltaméthrine sont thermolabiles. Ils sont censés subir une dégradation thermique pendant l'injection. Le démarrage de l'injection à une température plus faible de 60 °C avec une montée en température jusqu'à 280 °C permet de volatiliser tous les analytes cibles en maintenant leur intégrité chimique lors de l'introduction dans la colonne GC. De surcroît, la possibilité de programmer la température de l'injecteur permet de le chauffer jusqu'à 310 °C pendant le rétrobalayage postanalyse. Ce chauffage permet au système d'éliminer tout résidu de matrice susceptible de rester dans l'injecteur.

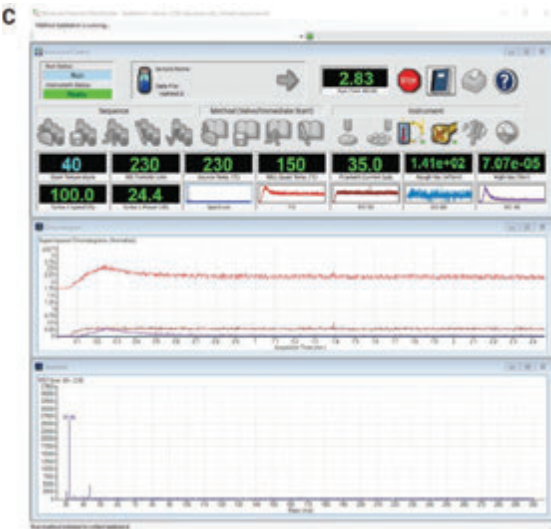
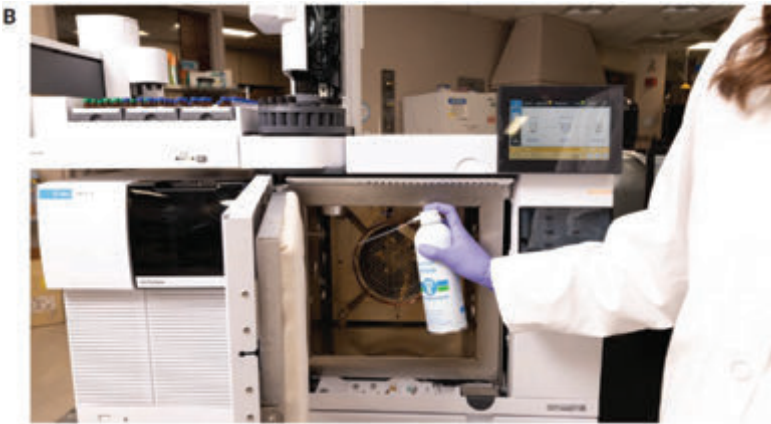
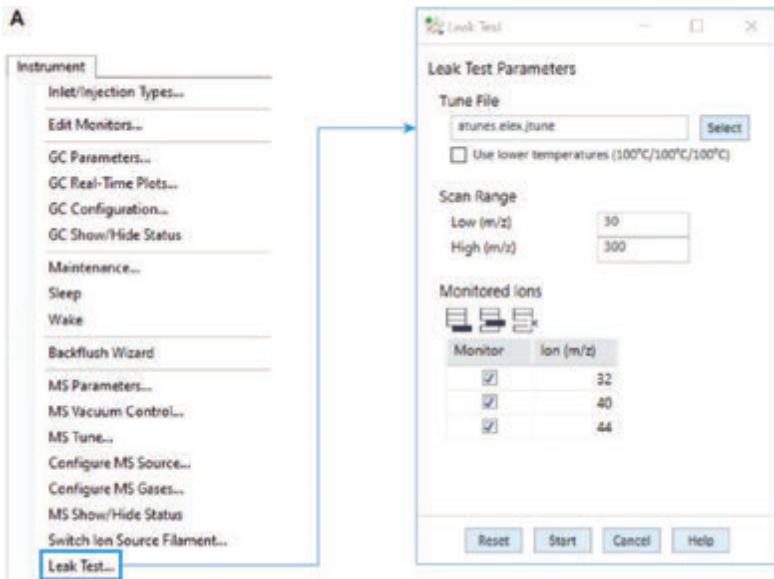


Figure 7. Le nouvel outil de vérification d'absence de fuite permettant de contrôler les ions spécifiés par l'utilisateur afin d'identifier la source et l'ampleur de la fuite.

L'association entre l'injection à température programmable et un insert Ultra Inert de 2 mm à encoches s'est traduite par une haute sensibilité, même pour les pesticides problématiques comme la deltaméthrine dans une matrice de noix complexe. La figure 8A présente la réponse de la deltaméthrine, un pesticide dont la LMR dans les noix a été établie à 0,5 ppb sur les

GC/TQ7000E et 7010C. Le GC/TQ 7010C est équipé de la source HES qui offre une sensibilité plus élevée entraînant un meilleur rapport signal sur bruit (S/B).

Le pentachloronitrobenzène est un pesticide fréquemment analysé par GC/MS dans divers aliments, car il présente des LRM établies dans de nombreux fruits et légumes (groupe de cultures 8 regroupant

les légumes à fruits), les cacahuètes et les graines de soja qui varient entre 20 ppb et 1 ppm⁹. Le pentachloronitrobenzène étant particulièrement difficile à analyser par LC/MS, la GC/MS est la technique de choix. La figure 8B présente les chromatogrammes pour une transition MRM sélective du pentachloronitrobenzène dans un extrait de noix sur le 7000E et le 7010C.

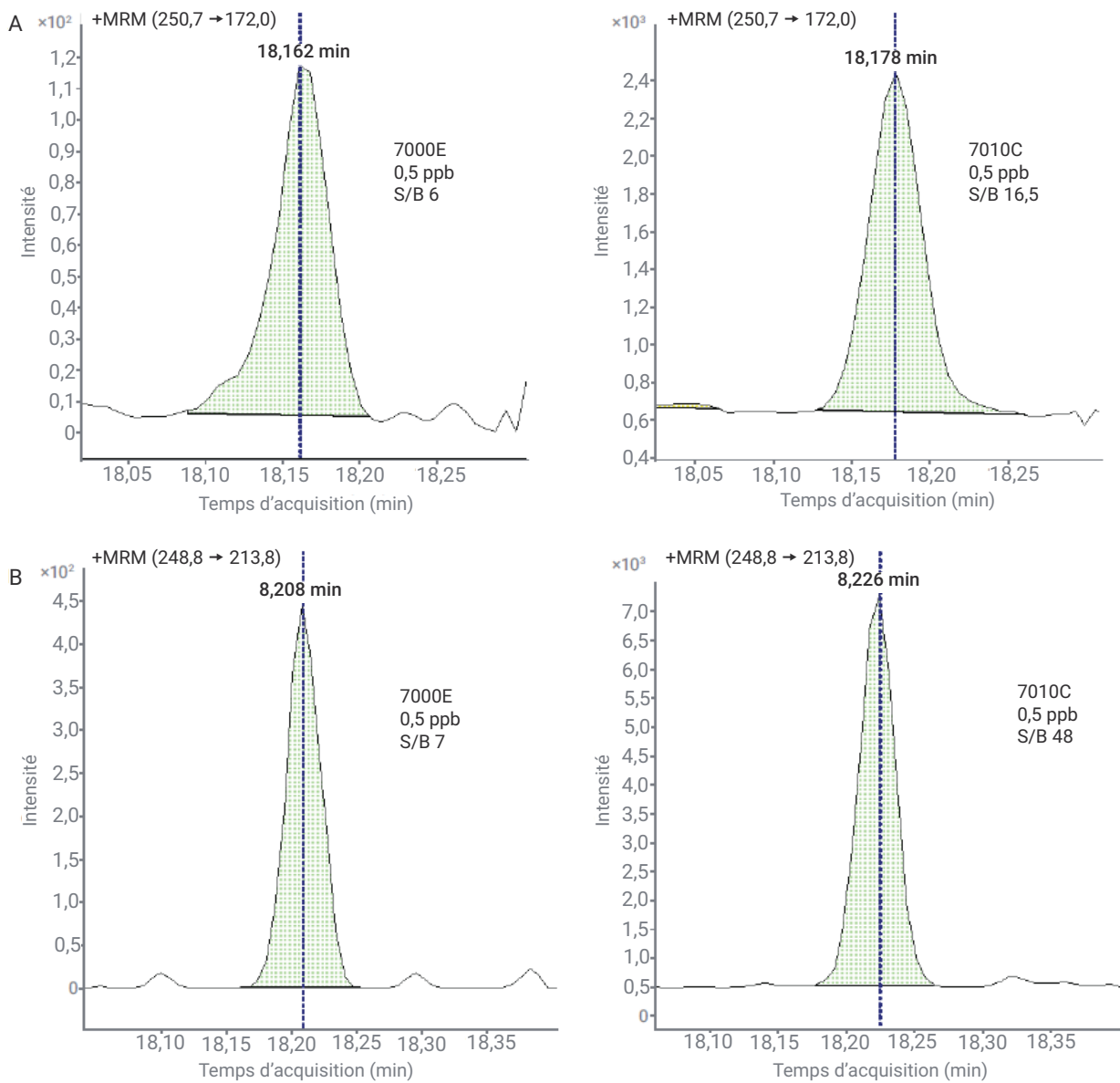


Figure 8. Chromatogrammes MRM pour la deltaméthrine (A) et le pentachloronitrobenzène (B) à 0,5 ppb dans l'extrait de noix analysé sur les GC/TQ 7000E et 7010C.

Performances d'étalonnage des GC/TQ 7000E et 7010C sur une large gamme dynamique

La plus grande difficulté dans l'analyse multirésidu des aliments est que les LMR établies pour les pesticides varient sur une large gamme pouvant nécessiter une réinjection de l'échantillon. L'obtention d'une large gamme d'étalonnage dynamique peut grandement réduire la nécessité de diluer l'échantillon et de répéter l'analyse.

Les LMR de la bifenthrine établies dans les épinards, les noix et le poivre de Cayenne sont de respectivement 200, 50 et 500 ppb. La figure 9 présente les courbes d'étalonnage linéaires acquises sur le 7000E sur une gamme d'étalonnage de 0,1 à 1 000 ppb ($R^2 = 0,996$) dans les épinards, 0,1 à 5 000 ppb ($R^2 = 0,991$) dans les noix et 0,1 à 5 000 ppb ($R^2 = 0,995$) dans le poivre de Cayenne, englobant les valeurs de LMR établies.

Les LMR des pesticides varient sensiblement non seulement entre divers aliments, mais aussi entre différents pesticides réglementés dans un même aliment. Par exemple, le pyriproxyfène et le fludioxonil sont contrôlés dans les épinards avec des LMR de respectivement 3 000 et 10 ppb. La figure 10A montre que le GC/TQ 7000E a maintenu des performances d'étalonnage linéaire tant pour le pyriproxyfène que pour le fludioxonil dans les épinards entre 0,1 et 5 000 ppb, tout en assurant l'exactitude même aux faibles concentrations (voir l'agrandissement de l'étalonnage pour le fludioxonil).

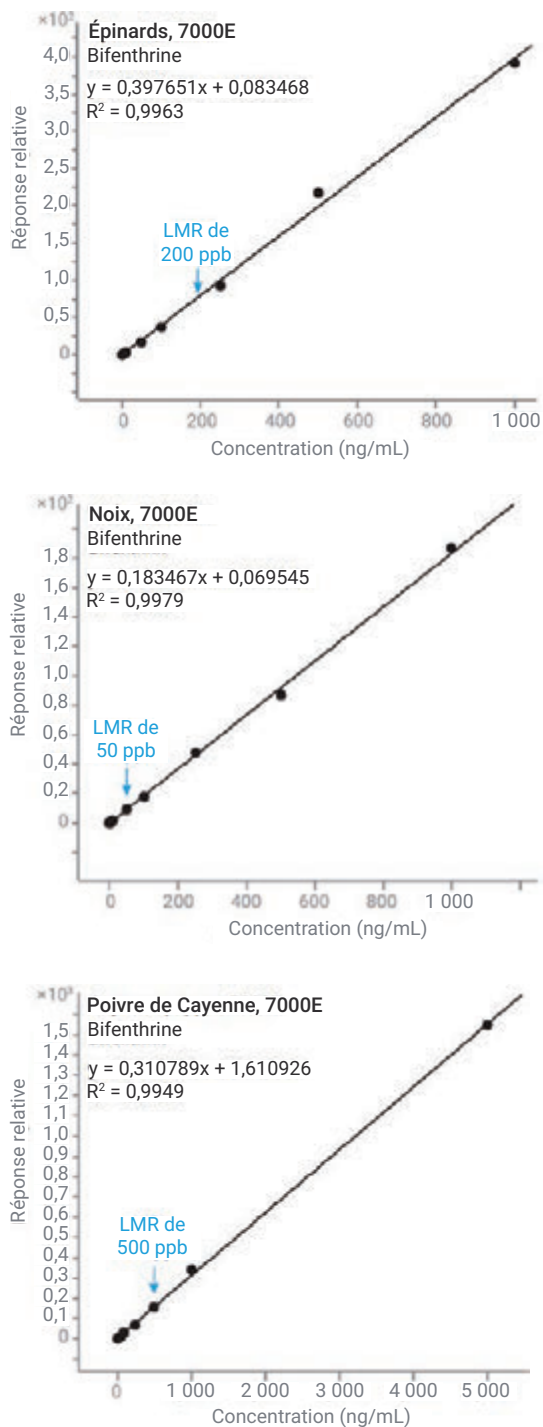


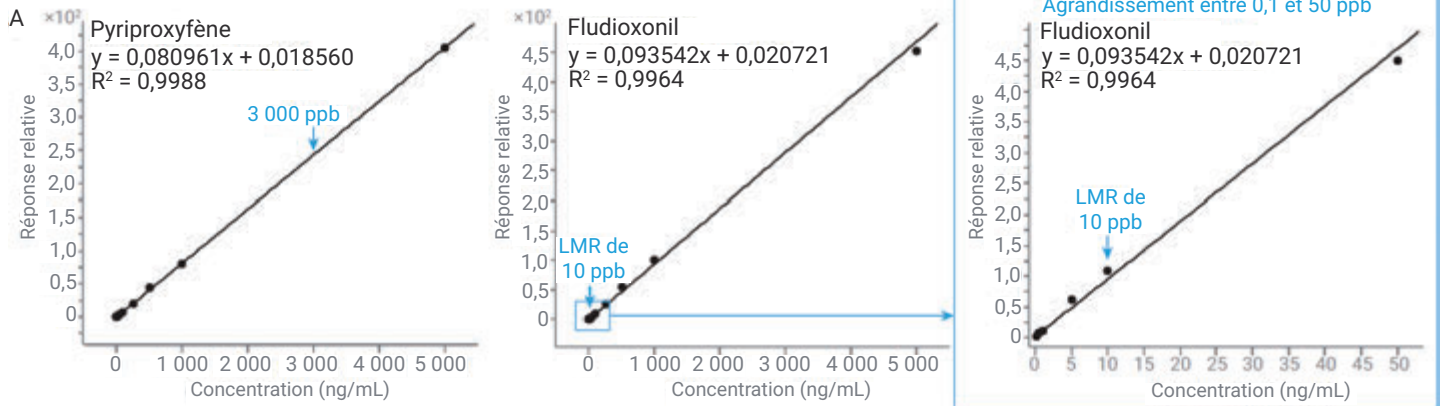
Figure 9. Courbes d'étalonnage avec reconstruction de la matrice pour la bifenthrine dans les extraits d'épinards, de noix et de poivre de Cayenne sur le GC/TQ 7000E.

Comme illustré dans la figure 10B, le GC/TQ 7010C a aussi permis d'obtenir une courbe d'étalonnage linéaire sur une large gamme pour les deux pesticides (0,1 à 1 000 ppb). Cependant, la gamme dynamique du 7010C nécessiterait l'injection supplémentaire d'un échantillon

dilué pour assurer une quantification exacte du pyriproxyfène au niveau de sa LMR de 3 000 ppb. Tandis que la limite supérieure de la gamme d'étalonnage obtenue sur le 7010C pour le pyriproxyfène et le fludioxonil est plus faible que sur le 7000E, le 7010C offre une plus haute

sensibilité aux faibles concentrations. Cette plus haute sensibilité est illustrée dans la figure 10C et peut être essentielle à l'analyse de ces pesticides dans des aliments présentant de plus faibles LMR établies.

Épinards, 7000E



Épinards, 7010C

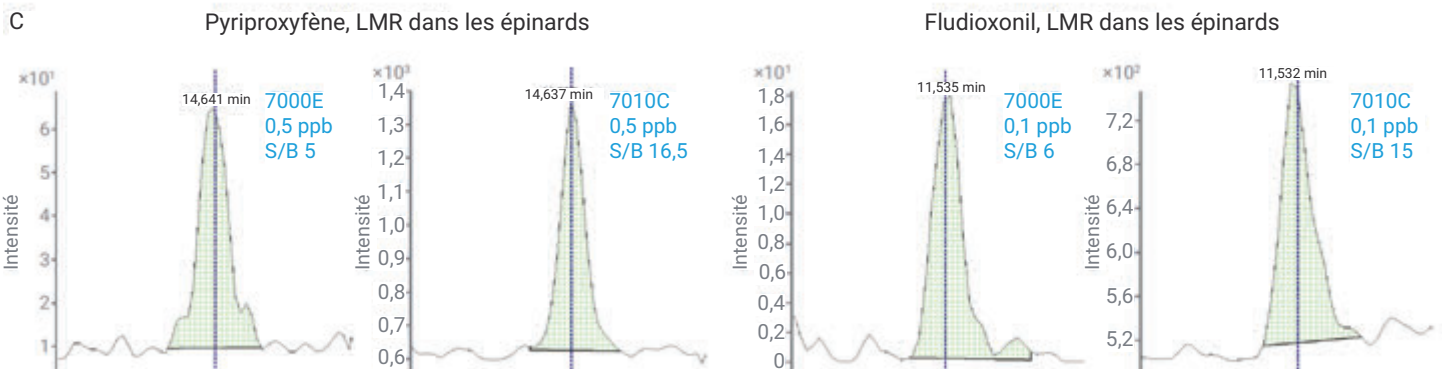
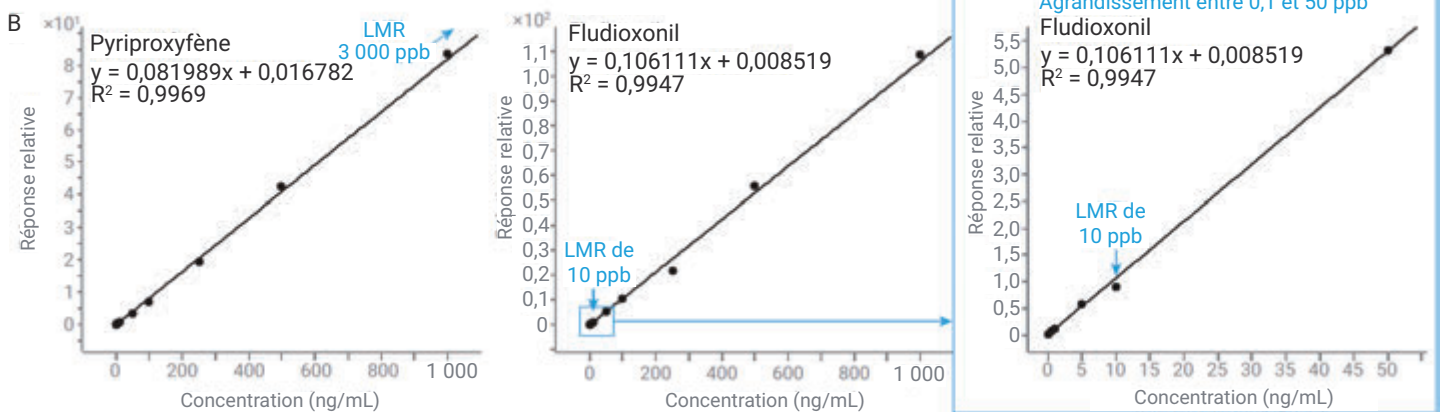


Figure 10. Courbes d'étalonnage avec reconstruction de la matrice pour le pyriproxyfène et le fludioxonil dans les extraits QuEChERS d'épinards sur le GC/TQ 7000E (A) et le GC/TQ 7010C (B) ; chromatogrammes MRM pour le pyriproxyfène et le fludioxonil à 0,5 et 0,1 ppb dans l'extrait QuEChERS d'épinards analysé sur les GC/TQ 7000E et 7010C (C).

Il est également possible de diluer les échantillons dont les LMR sont supérieures à 1 000 ppb avant l'analyse sur le GC/TQ 7010C. La sensibilité supérieure apportée par la source HES a permis d'effectuer une quantification précise en maintenant de faibles LOQ même dans les échantillons dilués. De plus, l'injection d'échantillons dilués s'est traduite par une augmentation de la durée d'utilisation sans maintenance et du nombre d'injections pouvant être effectuées avant que l'insert d'injection du GC ne doive être remplacé.

Le résumé dans la figure 11 illustre les performances d'étalonnage pour les 203 pesticides analysés dans les extraits d'épinards, de noix et de poivre de Cayenne sur les GC/TQ 7000E et 7010C. Le graphique représente le nombre de composés avec un coefficient de corrélation $R^2 > 0,99$, l'ajustement de l'étalonnage (linéaire ou quadratique) et la gamme d'étalonnage.

Comme l'on pouvait s'y attendre, étant donné que la charge recommandée pour la source HES ne doit pas dépasser 1 ng par analyte, la limite d'étalonnage supérieure du 7010C était plus faible que celle du 7000E (1 000 ppb contre 5 000 ppb). Toutefois, la gamme d'étalonnage obtenue sur le 7010C s'étendait sur quatre ordres de grandeur avec un ajustement linéaire pour la plupart des composés analysés. Le GC/TQ 7010C équipé d'une source HES présente une sensibilité supérieure avec un rapport S/B élevé aux concentrations faibles et permet de quantifier avec exactitude les concentrations en dessous de 0,1 ppb. Néanmoins, cela n'était pas nécessaire dans cette étude puisque les LMR pour les pesticides réglementés dans les aliments d'intérêt ne requièrent pas de quantification en dessous de 0,1 ppb. Il est également possible de diluer les échantillons dont les LMR sont supérieures à 1 000 ppb avant l'analyse sur le GC/TQ 7010C. La source HES permet de maintenir une sensibilité élevée au niveau des LOQ, même dans les échantillons dilués.

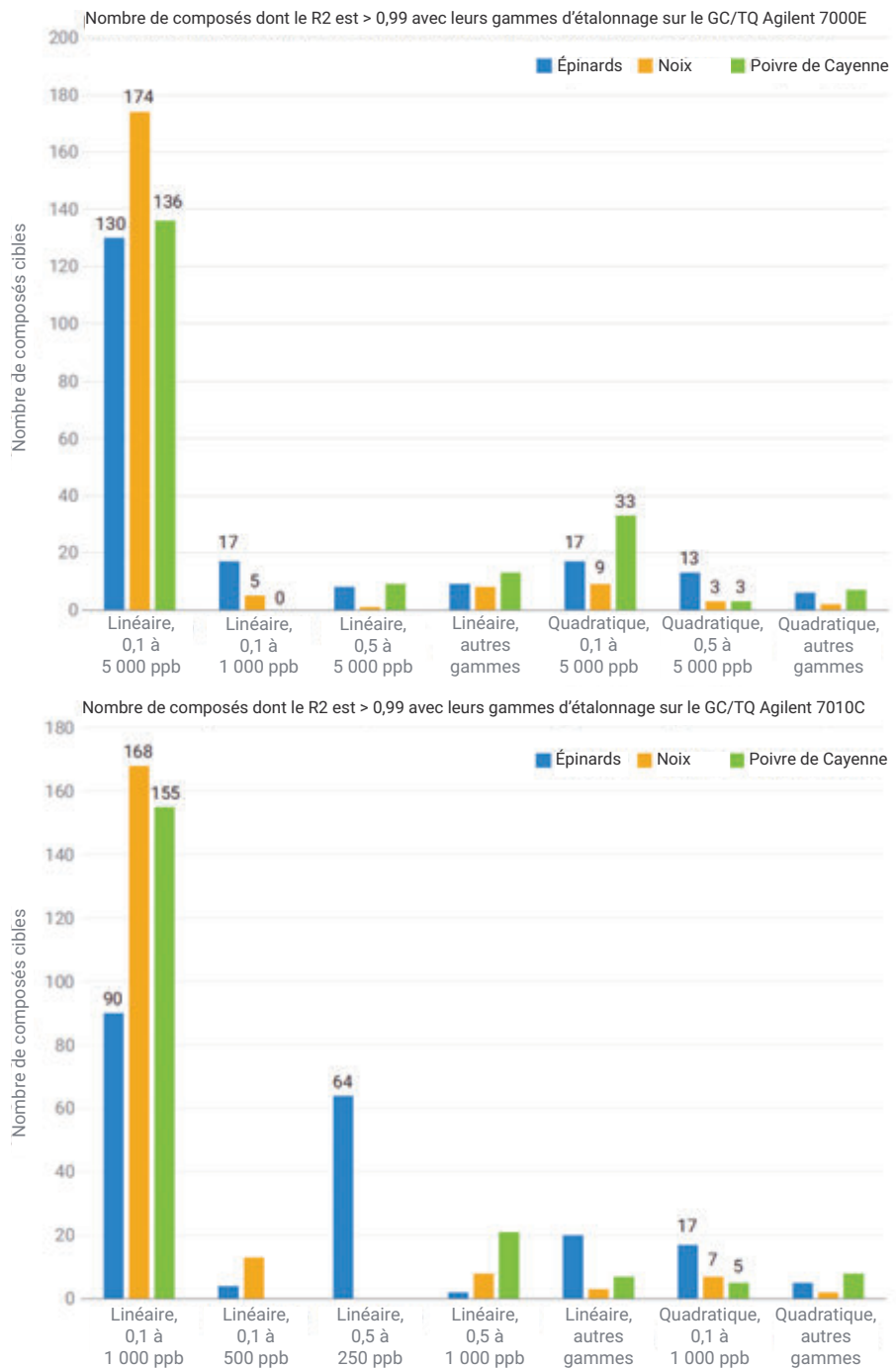


Figure 11. Performances d'étalonnage pour les 203 pesticides sur les GC/TQ 7000E et 7010C dans les épinards. Le nombre de composés et leurs gammes d'étalonnage sont indiqués sur le graphique.

Conclusion

Cette note d'application a décrit cinq meilleures pratiques de préparation d'échantillons et d'analyse sur les GC/MS triple quadripôle Agilent 8890/7000E et 8890/7010C, qui ont été mises en application pour 203 pesticides présents dans des matrices problématiques d'épinards, de noix et de poivre de Cayenne. Ces pratiques comprenaient :

- une préparation d'échantillons facilitée et améliorée grâce à la nouvelle procédure de purification par filtration sur Agilent 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 mi-colonne ;
- la garantie de l'étanchéité des GC triple quadripôle grâce aux écrous autoserrants de colonne à collier et aux ferrules métalliques flexibles plaquées or pour flux capillaire ;
- l'utilisation d'un injecteur multimode à température programmable avec un insert de 2 mm à encoches (sans laine de verre).

La méthode ainsi obtenue a permis d'assurer d'excellentes performances d'étalonnage sur une large gamme dynamique allant jusqu'à plus de quatre ordres de grandeur. Les performances d'étalonnage s'étendaient respectivement entre 0,1 et 5 000 ppb et entre 0,1 et 1 000 ppb pour la plupart des composés sur le 7000E et le 7010C. Le 7010C a fait preuve d'une sensibilité supérieure, avec un rapport signal sur bruit plus élevé aux plus faibles concentrations. Associées avec la haute sensibilité, ces larges gammes dynamiques font des 7000E et 7010C des outils idéaux pour l'analyse des pesticides au niveau de leurs LMR dans divers aliments, dont les aliments présentant des matrices complexes très huileuses et pigmentées.

Références

1. Setting Tolerances for Pesticide Residues in Foods, US EPA <https://www.epa.gov/pesticide-tolerances/setting-tolerances-pesticide-residues-foods>. Consulté le 28 avril **2022**.
2. 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**.

3. Andrianova, A.; Quimby, B.; Zhao, L. A Fast and Robust GC/MS/MS Analysis of 203 Pesticides in 10 Minutes in Spinach. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-4967EN, **2022**.
4. Andrianova, A.; Quimby, B. Full Scan Quantitative Analysis of Semivolatile Organic Compounds: Evaluating the Performance of an Agilent 7000D GC/TQ in Full Scan Data Acquisition Mode for SVOCs Analysis. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-3859EN, **2021**.
5. Fritz, B. Using the PSD for Backflushing on the Agilent 8890 GC System. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-0550EN, **2018**.
6. Self Tightening Column Nut Installation – Inlet & Detectors. <https://www.agilent.com/fr-fr/video/stcn-inlet-detector> Consulté le 2 mai **2022**.
7. Self Tightening Column Nut Installation – MS Interface. <https://www.agilent.com/en/video/stcn-mass-spec> Consulté le 2 mai 2022.
8. 40 CFR § 180.291 - Pentachloronitrobenzene; Tolerance for Residues. <https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/180.291> Consulté le 2 mai **2022**.

Annexe 1

Nom et temps de rétention observé des composés analysés dans cette étude.

Nom	Temps de rétention (min)	Nom	Temps de rétention (min)	Nom	Temps de rétention (min)
Allidochlore	4,893	Pyriméthanil	8,282	DCPA (dacthal, chlorthal-diméthyl)	10,062
Dichlorobenzonitrile, 2,6-	5,244	Diazinon	8,291	Fenson	10,201
Biphényle	5,423	Fluchloraline	8,326	Diphénamide	10,288
Mévinphos, E-	5,597	Disulfoton	8,427	Bromophos	10,297
3,4-dichloroaniline	5,708	Téfluthrine	8,431	Pyrimiphos-éthyl	10,304
Pébulate	5,803	Terbacile	8,432	Isopropaline	10,358
Étridiazole	5,833	BHC, <i>delta</i> -	8,504	Cyprodinil	10,407
Cis-1,2,3,6-tétrahydroptalimide	5,966	Isazofos	8,527	MGK-264	10,443
N-(2,4-diméthylphényl)formamide	5,973	Triallate	8,569	Isodrine	10,455
Méthacrifos	6,055	Chlorothalonil	8,584	Métazachlore	10,532
Chloronèbe	6,136	Éther d'endosulfan	8,857	Pendiméthaline	10,535
2-phénylphénol	6,246	Pentachloroaniline	8,913	Penconazole	10,562
Pentachlorobenzène	6,343	Propanil	8,942	Chlozolate	10,584
Propachlore	6,888	Diméthachlore	8,996	Exo-époxyde d'heptachlore	10,621
Tecnazène	6,889	Acétochlore	9,093	Tolyfluanide	10,646
Diphénylamine	6,959	Vinclozoline	9,115	Alléthrine	10,648
Cycloate	7,043	Transfluthrine	9,129	Fipronil	10,662
2,3,5,6-tétrachloroaniline	7,059	Parathion-méthyl	9,145	Chlorfenvinphos	10,676
Chlorprophame	7,102	Chlorpyriphos-méthyl	9,146	Bromfenvinphos-méthyl	10,683
Éthalfuraline	7,139	Tolclofos-méthyl	9,233	Captane	10,732
Trifluraline	7,245	Alachlore	9,263	Triadiméol	10,746
Benfluraline	7,279	Propisochlore	9,333	Quinalphos	10,747
Sulfotep	7,376	Heptachlore	9,336	Triflumizole	10,77
Diallate I	7,481	Métalaxyl	9,337	Folpet	10,847
Phorate	7,498	Ronnel	9,396	Procymidone	10,858
BHC, alpha- (hexachlorure de benzène)	7,636	Prodiamine	9,556	Chlorbenside	10,918
Hexachlorobenzène	7,768	Fénitrothion	9,596	Bromophos-éthyl	11,041
Dicloran	7,798	Pyrimiphos-méthyl	9,598	Chlordane, <i>trans</i> -	11,043
Pentachloroanisole	7,823	Linuron	9,668	DDE, o,p'-	11,09
Atrazine	7,885	Malathion	9,743	Paclobutrazol	11,106
Clomazone	7,982	Pentachlorothioanisole	9,758	Tétrachlorvinphos	11,169
BHC, bêta-	8,025	Dichlofluanide	9,764	Endosulfan I (isomère <i>alpha</i>)	11,273
Profluraline	8,117	Métolachlore	9,902	Chlordane, <i>cis</i> -	11,305
Terbutylazine	8,119	Anthraquinone	9,916	Flutriafol	11,322
BHC, gamma- (lindane, <i>gamma</i> -HCH)	8,146	Fenthion	9,928	Fénamiphos	11,355
Terbufos	8,159	Aldrine	9,942	Chlorofénizon	11,382
Propylamide	8,175	Chlorpyriphos	9,964	Nonachlore, <i>trans</i> -	11,392
Pentachloronitrobenzène	8,219	Parathion	9,98	Bromfenvinphos	11,4
Fonofos	8,251	Triadiméfon	10,011	Flutolanil	11,402
Pentachlorobenzonitrile	8,259	Dichlorobenzophénone, 4,4'-	10,033	Iodofenphos	11,479

Nom	Temps de rétention (min)	Nom	Temps de rétention (min)	Nom	Temps de rétention (min)
Prothiofos	11,514	Carbophénouthion	12,849	Phénothrine I	14,334
Fludioxonil	11,556	Carfentrazone-éthyl	12,851	Tétradifon	14,445
Profenofos	11,56	Méthoxychlore oléfine	12,865	Phosalone	14,61
Prétilachlore	11,592	Édifénphos	12,949	Azinphos-méthyl	14,64
DDE, p,p'	11,637	Norflurazone	12,964	Pyriproxifène	14,662
Tricyclazole	11,645	Lénacile	12,976	Leptophos	14,666
Oxadiazon	11,659	Sulfate d'endosulfan	13,04	Cyhalothrine (<i>lambda</i>)	14,731
Dieldrine	11,73	DDT, p,p'	13,054	Mirex	14,898
Oxyfluorène	11,737	Hexazinone	13,23	Acrinathrine	15,076
Myclobutanil	11,747	Méthoxychlore, o,p'	13,241	Fénarimol	15,121
DDD, o,p'	11,799	Tébuconazole	13,294	Pyrazophos	15,168
Flusilazole	11,8	Propargite	13,352	Azinphos-éthyl	15,252
Bupirimate	11,831	Butoxyde de pipéronyle	13,404	Pyraclofos	15,303
Fluazifop-p-butyl	12,007	Resméthrine	13,44	Perméthrine, (1R)-cis-	15,656
Nitrofène	12,023	Captafol	13,466	Perméthrine, (1R)-trans-	15,772
Éthylan	12,063	Nitralin	13,563	Pyridabène	15,807
Chlorfénapyr	12,064	Iprodione	13,726	Fluquinconazole	15,895
Endrine	12,127	Tétraméthrine I	13,836	Coumaphos	15,902
Chlorobenzilate	12,194	Pyridaphenthion	13,838	Prochloraze	15,958
Endosulfan II (isomère bêta)	12,291	Endrine cétone	13,898	Cyfluthrine I	16,207
DDD, p,p'	12,383	Phosmet	13,931	Cyperméthrine I	16,421
Éthion	12,453	Bromopropylate	13,952	Flucythrinate I	16,75
DDT, o,p'	12,457	EPN	13,955	Étofenprox	16,829
Chlorthiophos	12,503	Bifenthrine	13,956	Fluridone	17,034
Nonachlore, cis-	12,508	Méthoxychlore, p,p'	14,062	Fenvalérate I	17,459
Endrine aldéhyde	12,618	Fenpropathrine	14,077	Tau-fluvalinate I	17,646
Sulprofos	12,669	Tébufenpyrad	14,142	Deltaméthrine	18,177
Triazophos	12,674				

www.agilent.com

DE10556921

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2022
Imprimé aux États-Unis, le 13 septembre 2022
5994-4965FR

