

Analyse des dioxines dans l'alimentation humaine et animale à l'aide d'un GC-QQQ Intuvo 9000/7010



Auteurs

Rebecca Veeneman et Anna Cali
Agilent Technologies, Inc.

Dr. Stefano Mazzotta
Direttore Tecnico,
Studio Effemme Chimica Applicata

Résumé

Les dioxines font partie de la « sale douzaine », un groupe de produits chimiques que l'on appelle polluants organiques persistants (POP). Les termes dioxines et furanes sont souvent utilisés pour désigner les polychlorodibenzo-*p*-dioxines (PCDD) et les polychlorodibenzofuranes (PCDF), dont la plus toxique est la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine (TCDD). Les dioxines et les furanes sont caractérisés par leur structure chimique et le nombre de chlores substitués.

Introduction

Les dioxines et les furanes sont des polluants environnementaux persistants qui ont été largement étudiés et dont la bioaccumulation dans l'environnement a été démontrée.

Auparavant, il était nécessaire de recourir à la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) pour confirmer et quantifier les traces de dioxines, comme dans la méthode EPA 1613B¹. Néanmoins, en juin 2014, l'Union européenne (UE) a institué un règlement (709/2014) régissant les teneurs en PCDD, PCDF, PCB de type dioxine (PCB-DL) et PCB de type non-dioxine (PCB-NDL) dans les denrées alimentaires ainsi que les aliments pour animaux. Ce règlement autorise l'utilisation de systèmes de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse quadripolaire en tandem (GC/TQ MS) dans les tests de confirmation vérifiant la conformité avec les teneurs maximales européennes². Cette modification a fait suite au constat selon lequel les spectromètres de masse triple quadripôle peuvent offrir des performances équivalentes à celles des systèmes HRMS, ce qui avait été précédemment démontré sur un GC/MS TQ Agilent 7890B/7000C³.

Le lancement du GC Intuvo 9000 et de sa technologie de chauffage direct a ouvert des possibilités de séparations plus rapides pour cette analyse essentielle.

Données expérimentales

Les performances ont été évaluées à l'aide d'un GC Agilent Intuvo 9000 équipé d'un injecteur split/splitless et couplé à un triple quadripôle Agilent série 7010 avec source à haute efficacité d'ionisation (HES). Deux méthodes ont été développées pour satisfaire aux différents besoins. La première méthode présentait un temps d'analyse de 52,5 minutes et faisait appel à un programme de température pouvant aussi être utilisé avec les fours GC traditionnels. Une méthode plus rapide a été développée en tirant parti du chauffage de colonne direct disponible sur le GC Intuvo 9000. Les paramètres de l'instrument pour les deux méthodes sont indiqués dans le tableau 1.

Préparation des échantillons

Les méthodes les plus fréquemment utilisées pour la détermination des PCDD/PCDF et des PCB-DL dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux combinent l'extraction des matières grasses (Soxhlet) avec des étapes de nettoyage à l'aide de différentes colonnes de chromatographie (gel de silice avec revêtement acide sulfurique, florisil, alumine et charbon actif).

La préparation manuelle d'échantillons de dioxines est longue et fastidieuse. Des systèmes multicolonne automatisés ont été créés afin d'accélérer l'extraction des échantillons de dioxines et de réduire le temps d'analyse et les coûts par rapport à la méthode 1613.

Tableau 1. Paramètres du GC Intuvo 9000.

Paramètre	Méthode de 52,5 minutes	Méthode de 31,12 minutes
Paramètres GC		
Insert du port d'injection	Réf. 5181-3315 et 5190-2293	
Volume d'injection	1 µL	1 et 0,5 µL
Splitless pulsé	60 psi pendant 0,6 minute ; 50 mL/min à 0,8 minute	
Colonne	DB-5MS UI (60 m × 250 µm, 0,25 µm)	
Débit de la colonne	1,6 mL/min	1,6 mL/min
Four	130 °C (2 minutes) 20 °C/min jusqu'à 220 °C (15 minutes) 5 °C/min jusqu'à 235 °C (7 minutes) 5 °C/min jusqu'à 330 °C (2 minutes)	130 °C (1 minute) 100 °C/min jusqu'à 200 °C (6 minutes) 7,5 °C/min jusqu'à 235 °C (4 minutes) 20 °C/min jusqu'à 310 °C (11 minutes)
Guard Chip	310 °C	310 °C
Bus	325 °C	325 °C
Paramètres MS		
Mode de fonctionnement	Ionisation par impact électronique (EI), Multiple Reaction Monitoring (MRM)	
Température de la ligne de transfert	330 °C	330 °C
Température de la source	280 °C	280 °C
Température du quadripôle	150 °C	150 °C

Résultats et discussion

Un étalon contenant des PCDD et PCDF sous forme native, des étalons seringue et des étalons internes marqués au ^{13}C (tableau 2) ont été évalués aussi bien avec la méthode de 52,5 minutes qu'avec celle de 31,12 minutes. Les chromatogrammes montrant les séparations avec les deux types de conditions sont représentés sur les figures 1 et 2.

Les courbes d'étalonnage ont été analysées pour l'analyse de régression par rapport aux deux méthodes de séparation. Pour la méthode d'origine, qui est la plus longue, une courbe d'étalonnage à six points a été analysée. Le détail des concentrations est indiqué dans le tableau 3. Le coefficient de détermination a été utilisé comme évaluation de la linéarité, et les valeurs obtenues sont listées dans le tableau 4.

Tableau 2. Composés testés.

Composé	Type	Composé	Type
2378-TCDD	Natif	2378-TCDD-LCS*	Étalon interne
2378-TCDF	Natif	2378-TCDF-LCS*	Étalon interne
12378-PCDD	Natif	12378-PCDD-LCS*	Étalon interne
12378-PCDF	Natif	12378-PCDF-LCS*	Étalon interne
23478-PCDF	Natif	23478-PCDF-LCS*	Étalon interne
123478-HxCDD	Natif	123478-HxCDD-LCS*	Étalon interne
123478-HxCDF	Natif	123478-HxCDF-LCS*	Étalon interne
123678-HxCDD	Natif	123678-HxCDD-LCS*	Étalon interne
123678-HxCDF	Natif	123678-HxCDF-LCS*	Étalon interne
123789-HxCDD	Natif	123789-HxCDD-ISS	Étalon seringue
123789-HxCDF	Natif	123789-HxCDF-LCS*	Étalon interne
234678-HxCDF	Natif	234678-HxCDF-LCS*	Étalon interne
1234678-HpCDD	Natif	1234678-HpCDD-LCS*	Étalon interne
1234678-HpCDF	Natif	1234678-HpCDF-LCS*	Étalon interne
1234789-HpCDF	Natif	1234789-HpCDF-LCS*	Étalon interne
OCDD	Natif	OCDD-LCS*	Étalon interne
OCDF	Natif	OCDF-LCS*	Étalon interne
1234-TCDD-ISS	Étalon seringue		

LCS = étalon de composé marqué
ISS = étalon seringue interne

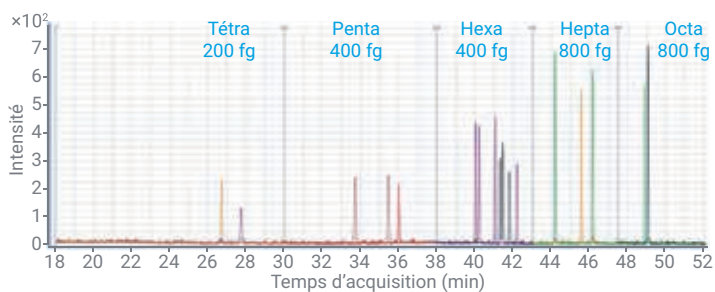


Figure 1. Méthode de 52,5 minutes, volume d'injection de 1 μL , étalon de niveau 2.

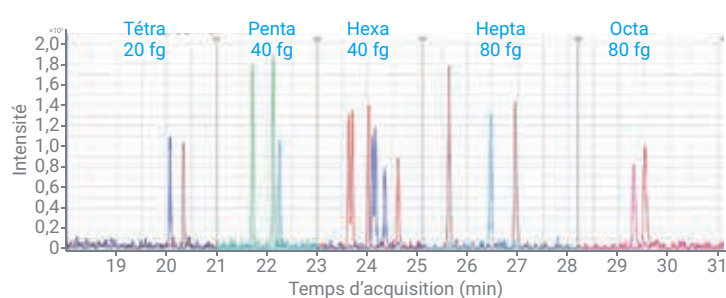


Figure 2. Méthode de 31,12 minutes, volume d'injection de 1 μL .

Tableau 3. Courbe d'étalonnage pour la méthode de 52,5 minutes ; volume d'injection de 1 μL .

fg/ μL	Tétra	Penta	Hexa	Hepta	Octa
L1	50	100	100	200	200
L2	200	400	400	800	800
L3	1 000	2 000	2 000	4 000	4 000
L4	4 000	8 000	8 000	16 000	16 000
L5	20 000	40 000	40 000	80 000	80 000
L6	80 000	160 000	160 000	320 000	320 000

Tableau 4. Résultats des coefficients de détermination spécifiques aux composés pour la méthode de 52,5 minutes.

Analyte	R ²	Analyte	R ²
2378-TCDD	0,99997	23478-PCDF	0,99991
12378-PCDD	0,99983	123478-HxCDF	0,99999
123478-HxCDD	0,99978	123678-HxCDF	0,99994
123678-HxCDD	0,99998	234678-HxCDF	0,99999
123789-HxCDD	0,99928	123789-HxCDF	0,99999
1234678-HpCDD	0,99998	1234678-HpCDF	0,99996
OCDD	0,99999	1234789-HpCDF	0,99999
2378-TCDF	0,99991	OCDF	0,99993
12378-PCDF	0,99987		

Une évaluation statistique plus détaillée des données est présentée dans le tableau 5. Ce tableau contient les transitions utilisées pour chaque composé cible, ainsi que les limites spécifiques à l'instrument et les valeurs du rapport signal sur bruit. La limite de quantification instrumentale (iLOQ) a été calculée à l'aide de 10 injections identiques au point de plus faible concentration de l'étalonnage.

Méthode 2 : programme de température plus rapide

Le programme de température accéléré indiqué dans le tableau 1 a été utilisé pour générer une deuxième courbe d'étalonnage à l'aide d'une injection de 1 µL des étalons préparés figurant dans le tableau 6.

Tout comme dans l'évaluation de la méthode plus longue, les mélanges étalons ont été analysés de façon séquentielle, puis traités à l'aide d'un système de données dans lequel les coefficients de détermination ont été calculés pour chaque composé. Les transitions appliquées à chaque composé étaient cohérentes avec celles du tableau 5. Le tableau 7 liste les valeurs des coefficients de détermination.

Tableau 5. TR, transitions MRM, LOQ et LOD.

Nom	TR	Transition	Conc. RSD	MDL (fg/µL)	LOQ	LOD	Bruit	S/B
2378-TCDF	26,64	303,9 → 240,9	2,6	3,8184	13,5334	4,06	1,92	18,54
2378-TCDD	27,835	319,9 → 256,9	3,9	5,7684	20,445	6,1335	1,61	14,62
12378-PCDF	33,638	339,8 → 277,0	4,9	14,8674	52,6945	15,8083	2,02	17,6
23478-PCDF	35,359	339,8 → 277,0	6,4	20,1087	71,271	21,3813	1,99	21,43
12378-PCDD	35,921	355,9 → 292,9	6,5	20,0992	71,2375	21,3713	1,48	19,69
123478-HxCDF	39,96	373,8 → 310,9	6,4	19,4782	69,0366	20,711	1,55	24,45
123678-HxCDF	40,141	373,8 → 310,9	4,6	14,2778	50,6047	15,1814	1,55	25,08
234678-HxCDF	41,148	373,8 → 310,9	3,4	10,0481	35,6132	10,684	1,96	22,2
123478-HxCDD	41,237	389,8 → 326,9	4,2	12,5373	44,4357	13,3307	1,51	23,82
123678-HxCDD	41,533	389,8 → 326,9	8,1	24,7315	87,6558	26,2967	1,45	25,78
123789-HxCDD	41,737	389,8 → 326,9	7,3	21,5291	76,3055	22,8916	1,55	26,1
123789-HxCDF	42,135	373,8 → 310,9	4,9	14,8626	52,6774	15,8032	1,39	30,68
1234678-HpCDF	44,133	407,8 → 344,8	4	23,4349	83,06	24,918	1,76	46,85
1234678-HpCDD	45,674	423,8 → 360,8	3,5	20,7641	73,594	22,0782	1,9	34,19
1234789-HpCDF	46,105	407,8 → 344,8	8,7	52,986	187,7979	56,3394	1,52	52,61
OCDD	48,83	457,7 → 394,8	2,8	16,7276	59,2874	17,7862	1,33	44,22
OCDF	48,995	441,7 → 378,8	2,5	14,9213	52,8855	15,8656	1,35	49,63

Tableau 6. Courbe d'étalonnage pour la méthode de 31,12 minutes ; volume d'injection de 1 µL.

fg/µL	Tétra	Penta	Hexa	Hepta	Octa
SC1	20	40	40	80	80
SC2	80	40	160	320	320
SC3	400	200	800	1 600	1 600
SC4	1 600	800	3 200	6 400	6 400
SC5	8 000	4 000	16 000	32 000	32 000
SC6	32 000	16 000	64 000	128 000	128 000

Tableau 7. Coefficients de détermination pour la méthode accélérée.

Analyte	R ²
2378-TCDD	0,99995
12378-PCDD	0,99984
123478-HxCDD	0,99975
123678-HxCDD	0,9999
123789-HxCDD	0,99931
1234678-HpCDD	0,99998
OCDD	0,99999
2378-TCDF	0,99992
12378-PCDF	0,99985
23478-PCDF	0,99991
123478-HxCDF	0,99999
123678-HxCDF	0,99993
234678-HxCDF	0,99979
123789-HxCDF	0,99998
1234678-HpCDF	0,99997
1234789-HpCDF	0,99999
OCDF	0,99993

Les innovations en spectrométrie de masse, notamment la source HES disponible sur le TQ 7010, permettent d'envisager l'utilisation de limites de détection plus faibles, et donc de volumes d'échantillons réduits. Afin d'évaluer l'impact de la source HES sur la méthode de séparation accélérée, un volume d'injection réduit a été ajouté, fournissant des données pour les injections d'échantillons de 1 et 0,5 µL au point d'étalonnage de plus faible concentration. Le tableau 8 présente la comparaison de ces volumes d'injection à l'aide du RSD (en %) pour sept répliqués de l'étalon SC1 figurant dans le tableau 6.

Conclusion

Les organismes de réglementation ont commencé à reconnaître la capacité des systèmes quadripolaires en tandem à identifier et quantifier efficacement les dioxines et les furanes, comme l'indique l'addition du GC/TQ pour l'analyse de confirmation de certaines denrées alimentaires dans les règlements n° 589/2014 et n° 709/2014 de la Commission européenne. Comparé aux systèmes MS à haute résolution (HRAM [haute résolution et masse exacte]), le GC/TQ est un système plus rentable pour analyser les échantillons potentiellement contaminés. Les innovations apportées aux sources MS, notamment avec la source HES évaluée dans cette étude, permettent d'améliorer la détection avec des volumes d'injection plus faibles, sans perte de fiabilité ni de précision des données. De même, les progrès de la chromatographie en phase gazeuse, tels qu'implémentés dans le GC Intuvo 9000, accélèrent les séparations grâce aux capacités de chauffage direct, permettant un screening et une cadence plus rapides.

Dans cette étude, deux méthodes de séparation ont été développées pour démontrer les performances obtenues avec des séparations plus rapides et des volumes d'échantillons plus faibles. Ces résultats sont rendus possibles par l'association de la technologie innovante intégrée au GC Intuvo 9000 avec les solides performances du spectromètre de masse TQ 7010.

Tableau 8. Statistiques de comparaison entre deux volumes d'injection différents (1 et 0,5 µL) utilisés dans la séparation accélérée des dioxines et furanes ciblés.

Nom	Transition	1 µL	0,5 µL
		RSD	RSD
2378-TCDF-LCS-REC	315,8 → 252,0	2,3	3,2
2378-TCDD	319,9 → 256,9	4,0	3,9
2378-TCDD-LCS-REC	331,8 → 268,0	3,2	3,7
2378-TCDF	303,9 → 240,9	5,3	6,1
23478-PCDF	339,8 → 277,0	5,9	6,8
12378-PCDF-LCS-REC	351,9 → 287,9	2,0	2,1
23478-PCDF-LCS-REC	351,9 → 287,9	1,3	2,1
12378-PCDD	355,9 → 292,9	8,0	7,2
12378-PCDD-LCS-REC	367,8 → 304,0	3,6	3,4
12378-PCDF	339,8 → 277,0	5,2	5,4
123478-HxCDF-LCS-REC	385,8 → 322,0	2,0	3,1
123478-HxCDD	389,8 → 326,9	4,1	7,1
123678-HxCDF-LCS-REC	385,8 → 322,0	1,6	4,5
123478-HxCDF	373,8 → 310,9	6,8	7,0
123678-HxCDF	373,8 → 310,9	7,6	8,5
1234678-HpCDD	423,8 → 360,8	6,8	7,0
234678-HxCDF-LCS-REC	385,8 → 322,0	0,6	3,7
234678-HxCDF	373,8 → 310,9	7,5	7,5
1234678-HpCDF	407,8 → 344,8	8,5	8,7
123789-HxCDF-LCS-REC	385,8 → 322,0	3,6	2,4
OCDD	457,7 → 394,8	7,7	7,7
123789-HxCDF	373,8 → 310,9	5,4	5,4
123478-HxCDD-LCS-REC	401,8 → 338,0	3,8	2,3
OCDF	441,7 → 378,8	8,7	8,5
123678-HxCDD-LCS-REC	401,8 → 338,0	3,6	4,6
123678-HxCDD	389,8 → 326,9	4,5	5,2
123789-HxCDD	389,8 → 326,9	7,8	7,7
1234678-HpCDF-LCS-REC	419,8 → 356,0	1,9	1,0
1234678-HpCDD-LCS-REC	435,8 → 372,0	2,5	4,4
1234789-HpCDF-LCS-REC	419,8 → 356,0	2,6	3,0
1234789-HpCDF	407,8 → 344,8	6,0	5,6
OCDD-LCS-REC	469,7 → 405,8	1,8	3,5
OCDF-LCS-REC	453,7 → 389,8	2,7	4,0

Références

1. US EPA Method 1613 "Tetra- through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS", U.S. EPA Office of Water Engineering and Analysis Division (4303) 401 M Street S.W. Washington, D.C. 20460. **1994.**
2. Commission Regulation (EU) No 709/2014 of 20 June 2014 amending Regulation (EC) No 152/2009 as regards the determination of the levels of dioxins and polychlorinated biphenyls, *Offic. J. Eur. Commun.* **2014**, L188, 1–18.
3. Riener, J. Validation of a Confirmatory GC/MS/MS Method for Dioxins and Dioxin-like PCBs to Meet the Requirements of EU Regulation 709/2014. Note d'application Agilent Technologies, numéro de publication 5991-6590EN, **2016.**

www.agilent.com/chem

DE.6419560185

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2020
Imprimé aux États-Unis, le 13 novembre 2020
5991-9399FR