

# Méthode d'analyse multirésidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem

Khadija EL MRABET<sup>1,2</sup>, Béatrice LALERE<sup>1</sup>, Véronique LE DIOURON<sup>1</sup>, Gilles HERVOUET<sup>1</sup>, Catherine YARDIN<sup>1</sup>, Valérie PICHON<sup>2</sup>

1 : Laboratoire national de métrologie et d'essai, LNE, 1 rue Gaston Boissier 75724 Paris Cedex 15

2 : Laboratoire Environnement et Chimie Analytique (UMR CNRS 7121), École Supérieure de Physique et Chimie Industrielles, 10 rue Vauquelin, 75 231 Paris Cedex 5  
khadija.elmrabet@lne.fr

## Introduction

Les pesticides sont utilisés dans de nombreux secteurs industriels mais leur utilisation majeure reste en milieu agricole. Aujourd'hui, leurs effets néfastes pour la santé humaine sont reconnus. Or, des résidus de pesticides sont susceptibles d'être présents à des faibles teneurs dans les produits de consommation. Les autorités européennes ont défini des limites maximales de résidus de pesticides dans les aliments dans le but de garantir la sécurité des consommateurs. D'où l'intérêt de disposer de méthodes analytiques sélectives et fiables pour la détermination et la quantification de pesticides. Pour l'analyse de résidus de pesticides, une méthode de dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem est en cours de développement et certaines de ses caractéristiques ont été évaluées.

## Développement analytique

### Molécules étudiées et transitions

L'optimisation de la détection a été réalisée avec une source électrospray (ESI).

Substance active	Activité	Famille chimique	M ion parent (m/z)	M ion fils (m/z)	E coll (V)
2,4 D / 2,4 D <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	Herbicide	Aryloxyacide	219/225	161/167	13/19
Acétochlore/ Acétochlore D <sub>11</sub>	Herbicide	Chloroacétanilide	270/281	224/235	10/10
Aldicarbe/ Aldicarbe D <sub>3</sub>	Insecticide	Carbamate	197/216	114/89	17/16
Azoxystrobine	Fongicide	Strobilurine/ methoxyacrylate	404	372	16
Bentazone/ Bentazone D <sub>6</sub>	Herbicide	Thiadiazinone	239/245	132/132	28/29
Bromoxnif	Herbicide	Hydroxy-benzonitriles	276	81	25
Carbofuran / Carbofuran D <sub>3</sub>	Insecticide	Carbamate	222/225	77/165	51/12
Carfentrazone-éthyle	Herbicide	Triazolone	412	346	25
Chlorpyrifos/ Chlorpyrifos D <sub>10</sub>	Insecticide	Organophosphate	350/360	198/199	21/18
Chlorpyrifos méthyle/ CM D <sub>6</sub>	Insecticide	Organophosphoré	321/330	97/289	38/10
Chlortoluron/ Chlortoluron D <sub>6</sub>	Herbicide	Urée	213/219	72/78	18/18
Cyproconazole	Fongicide	Triazole	292	70	15
Cyprodinil	Fongicide	Phénylamino-pyrimidine	226	93	34
Dichlorvos/ Dichlorvos D <sub>6</sub>	Insecticide	Organophosphoré	221/227	109/115	16/20
Diflufenicanil	Herbicide	Phénoxyacétanilide	395	266	23
Diméthénamide	Herbicide	Chloroacétanilide	276	244	15
Diméthoate/ Diméthoate D <sub>6</sub>	Insecticide	Organophosphate	230/236	125/131	24/23
Fenproprimate	Fongicide	Pipéridine	274	147	30
Fipronil	Insecticide	Pyrazole	435	330	16
Florasulam	Herbicide	Sulfonamide	358	167	17

Molécule/ Molécule marquée

Substance active	Activité	Famille chimique	M ion parent (m/z)	M ion fils (m/z)	E coll (V)
Fludioxonil	Fongicide	Phénylpyrrole	247	180	30
Fluroxypyr	Herbicide	Acide picolinique	253	195	11
Flutriafol	Fongicide	Triazole	302	123	26
Hexaconazole	Fongicide	Triazole	314	70	37
Imazaquin	Herbicide	Imidazolinone	312	267	24
Imidaclopride/ Imidacloprid D <sub>4</sub>	Insecticide	Nitromethylene	256/258	209/155	15/18
loxynil	Herbicide	Benzonitrile	370	127	43
Isoxaben	Herbicide	Amide	333	165	22
Malathion/ Malathion D <sub>6</sub>	Insecticide	Organophosphoré	331/337	127/127	13/14
Mécoprop/ Mecoprop D <sub>3</sub>	Herbicide	Aryloxyacide	213/216	141/144	16/18
Mésotrione	Herbicide	Tricétone	338	291	15
Métolachlor/ Métolachlor D <sub>6</sub>	Herbicide	Chloroacétanilide	284/290	252/258	18/16
Métosulam	Herbicide	Triazolopyrimidine	418	175	33
Parathion éthyl	Insecticide	Organophosphate	292	94	38
Pirimiphos méthyl (PM)/ PM D <sub>6</sub>	Insecticide	Organophosphate	308/312	164/164	23/24
Prochloraz	Fongicide	Imidazole	376	308	13
Quinoxifène	Fongicide	Quinoléine	308	197	35
Spiroxamine	Fongicide	Spiracétalamine	298	144	21
Triallate	Herbicide	Carbamate	304	143	28
Tridémorphe	Fongicide	Morpholine	298	130	25

## Conditions analytiques

Système : Surveyor LC pump/ TSO Quantum Discovery (Thermo Fisher Scientific)

Colonne : Symmetry Shield RP18 150 \*2.1 mm d.i, 3,5 µm (Waters)

Phase mobile : H<sub>2</sub>O / MeCN ou MeOH (acidifiés)

Source d'ionisation : ESI ( mode positif et négatif )

Volume d'injection : 10 µl

Détection : mode SRM

Débit : 0,15 ml/min

## Optimisation de la détection par HPLC/MS<sup>2</sup>

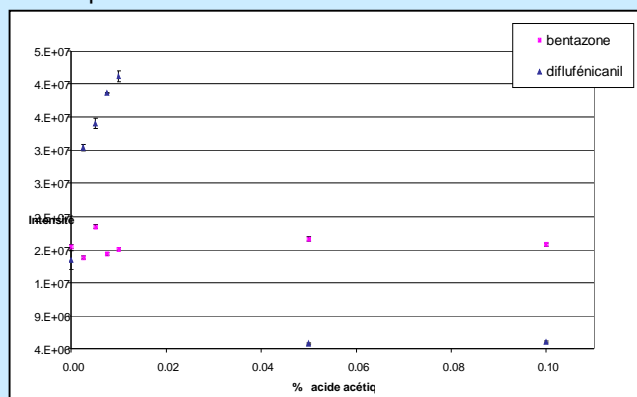
Différentes phases mobiles hydroorganiques (mélange eau/acétonitrile ou eau/méthanol) acidifiées à l'acide formique ou à l'acide acétique ont été testées pour toutes les molécules à doser. La phase mobile composée d'eau et d'acétonitrile acidifiée à l'acide acétique s'est avérée la plus adaptée à l'analyse des composés retenus.

Ø Étude de l'influence du pourcentage d'acide acétique dans la phase mobile entre 0 et 0,1 %

§ Pas d'influence de l'ajout d'acide acétique pour certains composés, comme la bentazone.

§ Influence significative du pourcentage d'acide acétique sur la sensibilité de la réponse de certains composés tel que le diflufenicanil.

➔ Condition optimale : phase mobile acidifiée à 0,005 % en acide acétique



# Validation de certaines caractéristiques de la méthode analytique

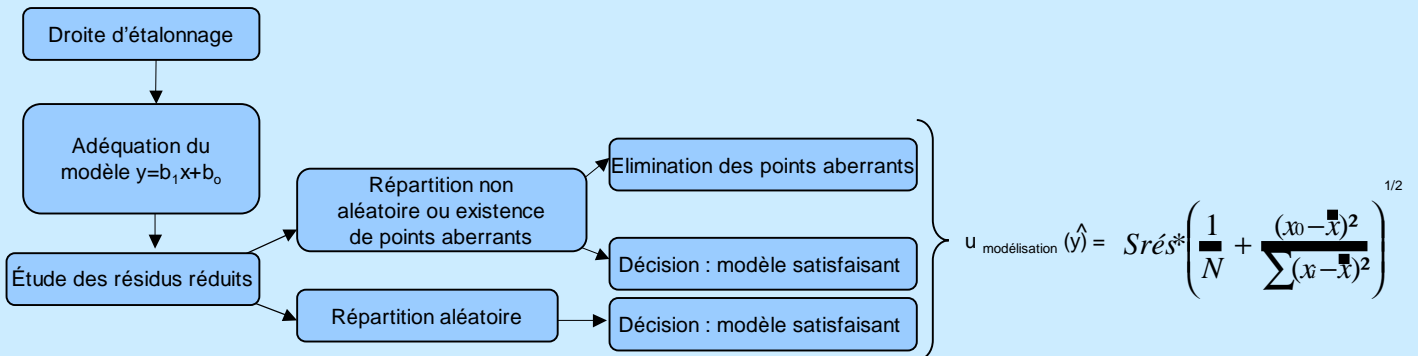
## Limites de détection et de quantification

LD	LQ
recherche de la concentration pour laquelle $H_{\text{signal}}/H_{\text{bruit}} \# 3$ (LQ# 3*LD)	recherche de la concentration pour laquelle $H_{\text{signal}}/H_{\text{bruit}} \# 10$
utilisation de la droite d'étalonnage ( $y = b_1 x + b_0$ ) pour des concentrations inférieures au domaine de travail, détermination de $y_{LD} = b_0 + 3u(b_0)$ si $b_0$ est non significatif	utilisation de la droite d'étalonnage $y_{LQ} = b_0 + 10 u(b_0)$
injections d'une solution faiblement concentrée, calcul de l'écart type (s) observé sur les réponses (n=5), $y_{LOD} = 3*s$	concentration pour laquelle sr épétabilité < 20 % et IEjustesse < 20 % ou $(s_{\text{répétabilité}}^2 + E_{\text{justesse}})^{1/2} < 30\%$
$0,5 < LD < 10 \text{ pg}/\mu\text{l}$ selon les composés	$1,5 < LQ < 30 \text{ pg}/\mu\text{l}$ selon les composés

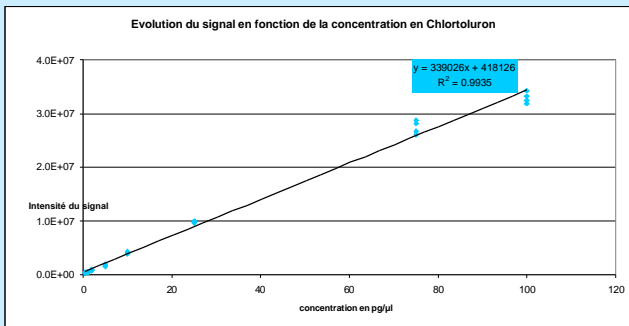
§ Bonne corrélation des valeurs calculées et observées suivant les différentes approches. Néanmoins, une vérification expérimentale reste nécessaire pour confirmer ces calculs statistiques ou basés sur des approches empiriques.

## Evaluation de l'incertitude de modélisation

A tout résultat de mesure est associé une incertitude de mesure. L'une des composantes de cette incertitude est due au modèle d'étalonnage choisi. Cette incertitude est déterminée après l'évaluation du modèle. Un logigramme de décision a été déterminé :



Ø Exemple d'application : étude de la fonction d'étalonnage du Chlortoluron



§ Détermination de la fonction d'étalonnage :  
Concentration = f (intensité observée)

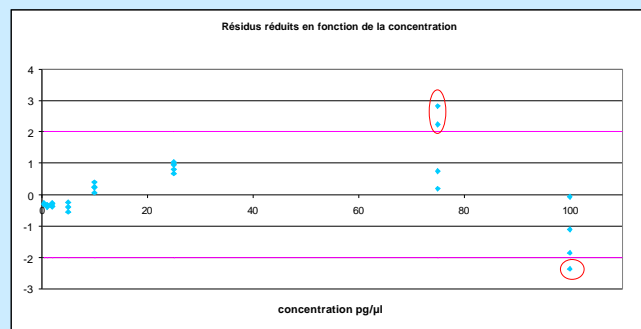
§ Existence visuelle de concentrations suspectes à 75 et 100 pg/µl  
→ Outil d'aide à la décision à l'acceptation du modèle : étude des résidus réduits

§ Fixation des limites d'acceptabilité par le test de Student

§ Les valeurs des résidus réduits dépassent les limites d'acceptabilité pour les niveaux de concentrations égales à 75 et 100 pg/µl,

→ Remise en cause de la préparation de la solution

→ Les concentrations extrêmes sont trop élevées



## Conclusion et perspectives

Le développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par DI/HPLC/MS<sup>2</sup> a mis en évidence la difficulté de son optimisation compte tenu de la variété des molécules ciblées. De nombreux compromis ont du être réalisés dans le choix des paramètres. Les LD et LQ obtenues sont très basses et confirment l'efficacité de cette méthode. L'étude de la validation a permis la mise en place d'un logigramme de décision concernant l'étalonnage indispensable compte tenu du nombre de composés à analyser. L'optimisation de l'étape d'extraction en solvant chaud pressurisé (ASE) de matrices céréalières est en cours de développement.