

## Purification et extraction d'échantillon rapide et simple



avec les cartouches QuEChERS



- Purification/extraction 4 fois plus rapide qu'avec les méthodes conventionnelles.
- Réduction des coûts de préparation d'échantillons.
- Tubes pour centrifugation prêts à l'usage contenant des adsorbants multiples.

La technique d'extraction avec cartouches QuEChERS (**Q**uick, **E**asy, **C**heap, **E**ffective, **R**ugged, **S**afe - rapide, simple, économique, efficace, robuste, sûre) est issue de travaux de recherche réalisés par le Ministère américain de l'agriculture (US Department of Agriculture)<sup>1</sup>. Outre une réduction des volumes de solvants et de phases par rapport aux méthodes SPE conventionnelles, les QuEChERS permettent des purifications par extraction en phase solide dispersive (dSPE) bien plus rapides. Des méthodes QuEChERS dont une méthode officielle de AOAC<sup>2</sup>, sont disponibles sur Internet<sup>3</sup>. Ces méthodes présentent toutes plusieurs étapes de base :

### Etape 1 : Préparation d'échantillon et extraction.

Les denrées sont découpées en morceaux uniformes. L'acétonitrile est ajouté pour l'extraction par agitation. Des sels, des acides et des tampons peuvent être ajoutés pour améliorer l'extraction et pour éviter la dégradation des analytes les plus sensibles. Des étalons de substitution peuvent ainsi être incorporés pour contrôler le rendement d'extraction.

### Etape 2 : Purification de l'extrait.

Une partie de l'extrait est purifié par dSPE, un avantage clé proposé par la technique QuEChERS. Des petits tubes pour centrifugation en polypropylène sont préremplis avec des quantités précises de MgSO<sub>4</sub> et d'adsorbants pour éliminer l'eau en excès et les contaminants indésirables des extraits. Après agitation et centrifugation, les extraits purifiés sont prêts à être analysés.

### Etape 3 : Analyse.

Le pH des extraits purifiés peut être ajusté pour protéger les pesticides sensibles. Le solvant peut aussi être changé pour de meilleurs résultats en GC/MS ou LC/MS. L'ajout d'étalons internes est possible.

Les méthodes QuEChERS sont pratiques et fiables. Elles simplifient la purification d'extraits, sont économiques et permettent de traiter un plus grand nombre d'échantillons. L'efficacité des QuEChERS pour la purification d'échantillon est démontrée ici pour une analyse multirésidus de pesticides dans les fraises.

### Procédure

Des extraits de fraises sont préparés et traités par dSPE selon les conditions présentées dans la Table I. Les conditions analytiques sont décrites dans la Table II.

Des injections splitless de 1µl d'extraits sont réalisées avec un passeur d'échantillons Shimadzu AOC-20i (vitesse d'injection moyenne) équipant un GC/MS Shimadzu QP-2010 Plus utilisé suivant les conditions de la Table II.

### Table I Méthode QuEChERS d'extraction de multirésidus de pesticides dans les fraises.

#### Préparation d'échantillon et extraction

<b>Echantillon :</b>	10g de fraises homogénéisées et placées dans un tube pour centrifugation de 50ml en PTFE
<b>Solvant :</b>	10ml d'acétonitrile ajoutés pour homogénéisation Agitation pendant 1 minute jusqu'à homogénéisation complète
<b>Sels :</b>	4g de MgSO <sub>4</sub> (poudre ou granulés) 1g de NaCl 1g de dihydrate de trisodium citrate 0.5g de sesquihydrate de disodiumhydrogencitrate Vigoureuse agitation après ajout des sels. Après centrifugation, le surnageant est prélevé pour être purifié. Les étalons de pesticides (200ng/ml) sont alors ajoutés.

#### Purification de l'extrait

<b>Tubes QuEChERS :</b>	1ml du surnageant prélevé à l'étape précédente est placé dans plusieurs tubes en polypropylène de 2ml pour centrifugation, chaque tube contenant l'un des mélanges d'adsorbant suivants :
	A. 50mg PSA + 150mg MgSO <sub>4</sub> (réf. 26124)
	B. 50mg PSA + 150mg MgSO <sub>4</sub> + 50mg C18 (réf. 26125)
	C. 50mg PSA + 150mg MgSO <sub>4</sub> + 50mg GCB (réf. 26123)

<b>Purification :</b>	Agitation des tubes contenant les adsorbants et les échantillons pendant 30 secondes (2 minutes pour le GCB) puis centrifugation pour obtenir un surnageant clair pouvant être analysé par GC/MS.
-----------------------	---

**Standard interne :** Pentachloronitrobenzène dans une solution d'acide formique à pH 5.

PSA : Phase échangeuse d'amine primaire et secondaire.

GCB : Carbone gaphitisé.

### Table II Conditions analytiques.

Colonne :	Rtx <sup>®</sup> -CLPesticides2 20m, DE 0.18, DI 0.14µm (réf. 42302)
Echantillon :	Mélange sur mesure à 200µg/ml de chaque composé, étalons internes : Mélange commercial Restek réf. 32279, Mélange commercial Restek réf. 32091, Triphénylphosphate à 1mg/ml réf. 32281
Injection :	1µl splitless (1 minute)
Temp. d'injecteur :	250°C
Gaz vecteur :	Hélium
Débit :	Vitesse linéaire constante 40cm/sec
Temp. four :	40°C pendant 1 minute puis 320°C à 12°C/min.
Détecteur :	Shimadzu GCMS-QP2010 Plus
Temp. ligne de transfert :	300°C
Ionisation :	Ionisation d'électron
Mode :	SIM

### Colonne Rtx<sup>®</sup>-CLPesticides2

DI	ef	Temp. limites	Longueur	Réf.
0.18mm	0.14µm	-60 et 310/330°C	20 mètres	42302



## Résultats

La phase échangeuse d'amine primaire et secondaire (PSA) est un adsorbant de base utilisé pour la purification par dSPE d'extraits QuEChERS de fruits et de légumes du fait de son aptitude à éliminer de nombreux acides organiques et de sucres pouvant perturber les analyses.

Un extrait de fraises dopé en pesticides (à 200ng/ml) et ayant subi une dSPE avec PSA, est utilisé pour établir des courbes de calibration à un point. D'autres extraits de fraises dopés en pesticides et soumis à une dSPE avec d'autres adsorbants sont analysés. Les résultats sont comparés à ceux obtenus après une dSPE avec PSA. Les rendements comparatifs exprimés en pourcentages sont présentés dans la Table III. Les tubes à base de phase C18 sont recommandés pour les échantillons pouvant contenir des graisses. Cela n'est pas le cas d'un extrait de fraises mais il convenait de vérifier qu'il n'y avait pas de pertes importantes des pesticides les plus hydrophobes (ex. : endrine et DDT). Les tubes contenant du GCB sont utilisés pour éliminer les pigments. L'extrait de fraises rose/rouge devient ainsi clair. Cependant, le GCB peut aussi avoir un effet néfaste sur certains pesticides, particulièrement ceux de forme planaire comme le chlorothalonil et le thiabendazole.

La grande variété de tailles et de types des tubes pour dSPE facilite encore les méthodes QuEChERS. Les tubes pour centrifugation, disponibles en 2 et 15ml, contiennent du sulfate de magnésium (pour séparer l'eau du solvant organique) et d'autres adsorbants SPE dont le PSA (pour éliminer les sucres et les acides gras), la phase C18 (pour éliminer les interférents apolaires comme les graisses) et le GCB (pour éliminer les pigments et les stérols). Des tubes peuvent également être préparés sur mesure (nous consulter).

### Références

1. Michelangelo Anastassiades, Steven J. Lehotay, Darinka Štajnbaheer, Frank J. Schenck. "Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and Dispersive Solid-Phase Extraction for the Determination of Pesticide Residues in Produce." *J. AOAC International*, 2003, vol. 86(22), pp.412-431.
2. AOAC Official Method 2007.01, "Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate."
3. <http://www.quechers.com/>

**Table III** Rendements d'extraction (%) d'extraits de fraises des tubes dSPE à base de C18 ou de GCB par rapport aux tubes avec PSA seul.

Rt (min.)	pesticide	n°CAS	type	classe	C18*	GCB**
9.50	Dichlorvos	62-73-7	Insecticide	Organophosphoré	111	116
9.67	Methamidophos	10265-92-6	Insecticide	Organophosphoré	105	107
11.75	Mevinphos	7786-34-7	Insecticide	Organophosphoré	112	130
12.02	o-Phenylphenol	90-43-7	Fongicide	Non classé	106	97
12.14	Acephate	30560-19-1	Insecticide	Organophosphoré	128	147
13.89	Omethoate	1113-02-6	Insecticide	Organophosphoré	120	119
14.74	Diazinon	333-41-5	Insecticide	Organophosphoré	108	127
14.98	Dimethoate	60-51-5	Insecticide	Organophosphoré	124	151
15.69	Chlorothalonil	1897-45-6	Fongicide	Organochloré	125	13
15.86	Vinclozolin	50471-44-8	Fongicide	Organochloré	102	98
16.21	Metalaxyl	57837-19-1	Fongicide	Organoazoté	105	117
16.28	Carbaryl	63-25-2	Insecticide	Carbamate	114	111
16.60	Malathion	121-75-5	Insecticide	Organophosphoré	124	160
16.67	Dichlofluanid	1085-98-9	Fongicide	Organohalogéné	122	103
17.51	Thiabendazole	148-79-8	Fongicide	Organoazoté	88	14
17.70	Captan	133-06-2	Fongicide	Organochloré	88	91
17.76	Folpet	133-07-3	Fongicide	Organochloré	108	63
18.23	Imazalil	35554-44-0	Fongicide	Organoazoté	115	95
18.39	Endrin	72-20-8	Insecticide	Organochloré	104	101
18.62	Myclobutanil	88671-89-0	Fongicide	Organoazoté	119	114
19.07	4,4-DDT	50-29-3	Insecticide	Organochloré	102	95
19.22	Fenhexamid	126833-17-8	Fongicide	Organochloré	118	77
19.40	Propargite 1	2312-35-8	Acaricide	Organosoufré	110	95
19.43	Propargite 2	2312-35-8	Acaricide	Organosoufré	121	114
19.75	Bifenthrin	82657-04-3	Insecticide	Pyréthroïdes	106	81
20.04	Dicofol	115-32-2	Acaricide	Organochloré	98	54
20.05	Iprodione	36734-19-7	Fongicide	Organoazoté	118	90
20.21	Fenpropathrin	39515-41-8	Insecticide	Pyréthroïdes	113	96
21.32	cis-Permethrin	52645-53-1	Insecticide	Pyréthroïdes	106	65
21.47	trans-Permethrin	51877-74-8	Insecticide	Pyréthroïdes	109	71
23.74	Deltamethrin	52918-63-5	Insecticide	Pyréthroïdes	97	52

\*50mg PSA, 50mg C18, \*\*50mg PSA, 50mg GCB

$$\text{Rendement \%} = \frac{\text{rendement C18 ou GCB}}{\text{Rendement PSA}} \times 100$$

## Cartouches SPE QuEChERS

Cartouches SPE	Applications	Qté.	Réf.
<b>Cartouches QuEChERS SPE de 2ml pour centrifugation</b> contenant 150mg de sulfate de magnésium et 50mg de PSA	Purification d'extraits de produits de l'agriculture, échantillons de 1 ml.	Lot de 100	26124
<b>Cartouches QuEChERS SPE de 2ml pour centrifugation</b> contenant 150mg de sulfate de magnésium, 50mg de PSA et 50mg de carbone graphitisé	Purification d'extraits contenant des pigments et stérols résiduels, échantillons de 1 ml.	Lot de 100	26123
<b>Cartouches QuEChERS SPE de 2ml pour centrifugation</b> contenant 150mg de sulfate de magnésium, 50mg de PSA et 50mg de phase C18	Purification d'extraits contenant des graisses résiduelles, échantillons de 1 ml.	Lot de 100	26125
<b>Cartouches QuEChERS SPE de 15ml pour centrifugation</b> contenant 900mg de sulfate de magnésium, 300mg de PSA et 150mg de carbone graphitisé	Purification d'extraits contenant des pigments et stérols résiduels, échantillons de 6 ml.	Lot de 50	26126

PSA : Phase échangeuse d'amine primaire et secondaire.