

(Page de garde)

Remerciements

En préambule à ce mémoire, je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Je tiens à remercier sincèrement Monsieur le Professeur G. Eppe, qui, en tant que Promoteur de mémoire, s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce travail, ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Je voudrais remercier Monsieur le Professeur E. De Pauw pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire de recherche.

Je remercie M. V. Hanot pour avoir pris le temps de faire partie de mon jury de mémoire

Mes remerciements s'adressent également à Laure Joly, pour sa générosité et la grande patience dont elle a su faire preuve. Je la remercie également pour tout le temps qu'elle a consacré à la relecture et aux précieuses corrections de ce travail. Puissent ces lignes être l'expression de ma plus profonde reconnaissance.

Je me dois également de remercier Séverine Goscinny pour ses conseils avisés et sa bonne humeur au quotidien.

J'exprime ma gratitude à toutes les personnes du CART et du LSM qui ont accepté de répondre à mes questions avec une grande compréhension et générosité.

Je n'oublie pas ma mère et mon frère pour leur contribution, leur soutien et leur patience tout au long de mes études.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes.

Lexique

AFSCA : Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire
CapLC : Chromatographie liquide capillaire
CCD : Central Composite Design
Cellule IMS : Cellule de mobilité ionique
CRM : Charge Residue Model
DFT: Density Functionnal Theory (Théorie de la Fonctionnelle Densité)
EFSA : European Food Safety Authority
EPA: l'Agence de Protection de l'Environnement
ESI : Source d'Ionisation Electrospray
FDA : Food and Drug Administration
GC : Chromatographie en phase Gazeuse
HEPT: Hauteur Equivalente de Plateaux Théorique
HPLC : High Performance Liquid Chromatography
IEM : Ion Evaporation Model
IMS : Spectrométrie de Mobilité Ionique
ISP : Institut de Santé Publique de Bruxelles
LC : Chromatographique en phase Liquide
LMR : Limite Maximale de Résidus
m/z : rapport masse sur charge
MRM: Multiple Reaction Monitoring
MS : Spectrométrie de Masse
PA : Approximation par projection
PB : Plan Plackett-Burman
QqQ : Triple Quadripôle
QuEChERS : *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*
ToF : Time of Flight (Temps de vol)
TWIG: Tri-Wave Ion Guide
TWIMS : Travelling Wave Ion Mobility Spectrometry (mobilité ionique par déplacement de vague)
U(H)PLC : Ultra (High) Performance Liquid Chromatography

Tables des matières

1. Introduction	3
1.1. Généralités	3
1.2. Les pesticides	3
1.2.1. Qu'est-ce qu'un pesticide ?	3
1.2.2. Les limites maximales de résidus	4
1.3. Les techniques d'analyses actuelles	5
1.3.1. Méthode Multi-Résidus	5
1.3.2. Les techniques de séparation	6
1.3.3. Les techniques de détection	7
1.3.4. La spectrométrie de mobilité ionique	9
1.4. Présentation du projet	11
1.4.1. Cadre du projet	11
1.4.2. Objectifs	11
2. Matériels	13
2.1. Le spectromètre de masse	13
2.1.1. La source électrospray	13
2.1.2. La cellule de mobilité	16
2.1.2.1. Le Tri-Wave Ion Guide	17
2.1.2.2. La cellule IMS	18
2.1.2.3. Le Trap et le Transfer	20
2.1.3. L'analyseur à temps de vol : le ToF	21
2.2. La chromatographie liquide capillaire (CapLC)	23
2.2.1. Introduction	23
2.2.2. Paramètres importants dans la séparation en chromatographie liquide	25
2.3. Méthodes statistiques	30
2.3.1. Le plan Plackett Burman	30
2.4. Méthodes théoriques	32
2.4.1. La théorie de la fonctionnelle densité (DFT)	32
2.4.2. Calcul de la section efficace de collision théorique	33

3. Méthodes	34
3.1. Echantillons	34
3.2. Analyses	35
4. La séparation des pesticides en mobilité ionique	38
4.1. Calibration de la cellule de mobilité	38
4.1.1. Choix du gaz de séparation	38
4.1.2. Choix des paramètres de mobilité	41
4.2. Etude de pesticides par la mobilité ionique.....	49
4.2.1. Séparation d'isomères	49
4.2.2. Séparation de deux grandes familles chimiques de pesticides : les organophosphorés et les carbamates	55
4.3. Les pesticides et la mobilité ionique	56
5. La mobilité ionique couplée à la chromatographie liquide	59
5.1. La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse	59
5.1.1. Détermination du temps de rétention des pesticides	59
5.1.2. Test de sensibilité de la méthode LC-IMS-MS sur matrices	61
5.2. Intérêt du couplage pour le « screening »	62
5.2.1. La mobilité ionique comme filtre de la matrice	62
5.2.2. La mobilité ionique est-elle sensible à un effet matrice ?	65
5.2.3. LC, IMS, MS : l'orthogonalité de ces dimensions de séparation.....	66
6. Conclusion	68
7. Perspectives	69
8. Bibliographie	70
9. Annexes	i

1. Introduction

1.1. Généralités

La nourriture est un bien essentiel pour la vie. Bien que de nombreuses personnes dans le monde souffrent de la faim, peu d'européens sont concernés par le manque de nourriture. Leurs inquiétudes concernent non pas la quantité mais la qualité de leur alimentation. La préoccupation croissante des Européens pour leur santé et leur connaissance des risques associés aux aliments a une incidence sur leurs choix alimentaires. Les pouvoirs publics comme l'AFSCA au niveau national et l'EFSA au niveau européen, ont mis en place différents systèmes permettant de surveiller la chaîne alimentaire des produits consommés en Europe.

Depuis de nombreuses années, une attention accrue a été portée sur les résidus chimiques dans les aliments. La présence de quantité infime de résidus de pesticides a amené certaines personnes à se demander si la production de leur nourriture était « sûre ». Dans son rapport annuel de 2008, « l'European Food Safety Authority » précise que la présence de pesticides dans les aliments, voire dans de nombreux cas, même dans le cas du dépassement de la Limite Maximale de Résidus, ne doit pas nécessairement susciter d'inquiétude quant à la sécurité de l'aliment^[1]. Toutefois, la perception du public des risques liés aux pesticides est tout autre. En effet, une étude datant de 1982 a montré que les étudiants classaient les pesticides comme plus dangereux que la moto, les femmes considéraient les pesticides plus dangereux que la chasse, et que les hommes d'affaires estimaient que les pesticides étaient plus dangereux que l'aviation commerciale. En vérité, en prenant en compte toutes les causes de décès par accidents, la moto arrive 6^{ème}, la chasse 14^{ème}, l'aviation commerciale 19^{ème} et les pesticides arrivent seulement 28^{ème}^[2].

1.2. Les pesticides

1.2.1. Qu'est-ce qu'un pesticide ?

Le terme pesticide a été défini par l'Agence de Protection de l'Environnement (EPA) comme n'importe quelle substance ou mélange de substances destinés à prévenir, anéantir, repousser ou atténuer n'importe quels parasites nuisibles d'origine animale ou végétale^[3]. De nos jours, les pesticides sont principalement utilisés dans la filière de production de la nourriture et peuvent notamment être classés selon le type d'organismes biologiques ciblés. Ainsi, il existe plusieurs classes de pesticides, comme les herbicides, les insecticides, les fongicides, les acaricides... Mais il est également possible de classer ces pesticides selon leurs structures chimiques, qui induisent leurs modes d'action. Il existe plus de 100 familles chimiques de pesticides, dont les plus courantes sont

reprises à la Figure 1. Les deux familles les plus importantes en termes de nombre de pesticides existants sont les organophosphorés et les carbamates.

Pesticides	Cible	Mode d'action principaux	Exemples
Organophosphorés, carbamates	Insectes, Parasites	<i>Inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) → Perturbation de l'influx nerveux entraînant la paralysie ou la mort</i>	Carbofuran, Primicarb, Malaoxon, Quinalphos
Nicotinoïdes		<i>Substitution du neurotransmetteur acétylcholine par le composé nicotinoïde</i>	Imidacloprid, acetamiprid, thiamethoxam
Triazines, Urées	Mauvaises herbes, Végétaux non-désirés	<i>Inhibition de la photosynthèse, Inhibition du transport d'électrons, Inhibition de la division cellulaire → Mauvais développement de la plante</i>	Simazin, Linuron, Clethodim
Phénylamides, Pyrimidinols	Champignons, Mousses	<i>Inhibition de la synthèse de l'ARN</i>	Metalaxyl, Ethirimol
Benzimidazoles		<i>Inhibition de la mitose</i>	Carbendazim

Figure 1 : Tableau reprenant les principales familles chimiques des pesticides ainsi que leur cible et leur mode d'action en général^[4-6]. Parmi ces familles, les organophosphorés et les carbamates sont celles qui contiennent le plus grand nombre de pesticides.

1.2.2. Les limites maximales de résidus

Dans le milieu agricole, les pesticides sont utilisés à tous les niveaux, de la production jusqu'à la conservation des produits, afin d'optimiser le rendement des cultures. Le pesticide idéal serait celui qui ciblerait uniquement le parasite, serait inactif en contact d'autres organismes et se dégraderait rapidement. Aujourd'hui, plus de 98% des insecticides vaporisés et 95% des herbicides interagissent avec le milieu (ex : l'air, l'eau ou le sol)^[7]. Les résidus en pesticides dans et ou sur les aliments sont la conséquence d'une mauvaise pratique agronomique. Ces produits étant nocifs pour la santé humaine à certains niveaux de concentrations, ils sont soumis à une réglementation mise en place par les autorités européennes. Tous les aliments destinés à la consommation humaine ou animale dans l'Union européenne (UE) sont soumis à une Limite Maximale de Résidus (LMR) de pesticides, de manière à protéger la santé animale et humaine. Les LMR sont les niveaux supérieurs de concentration de résidus de pesticides autorisés légalement dans ou sur les denrées alimentaires. Elles sont fondées sur les bonnes pratiques agricoles et visent à garantir le niveau d'exposition le plus faible possible pour les consommateurs. Un règlement européen a permis d'harmoniser toutes les LMR. Ce règlement n°396/2005^[8], émis par le parlement européen, datant du 1^{er} septembre 2008, remplace les LMR nationales par des LMR harmonisées au niveau de l'UE, pour toutes les denrées alimentaires. Auparavant, chaque État membre appliquait ses propres LMR pour les substances actives qui n'étaient pas encore couvertes par la législation de l'Union européenne. Dans le cadre du marché unique, ce manque d'harmonisation des normes alimentaires a entraîné certains désordres commerciaux et des incertitudes sur le plan juridique^[9].

Actuellement, près de 800 pesticides^[10] sont réglementés et les limites admises deviennent de plus en plus faible, ainsi il est de plus en plus difficile de séparer et de quantifier les composés ciblés dans le temps imparti par l'organisme de contrôle (ex : 5 jours ouvrables pour l'AFSCA). C'est pour cela qu'actuellement, il y a une forte demande de développement de méthodes de détection multi-résidus sensible.

1.3. Les techniques d'analyses actuelles

1.3.1. Méthode Multi-Résidus

L'analyse des résidus de pesticides dans les échantillons alimentaires et environnementaux se fait depuis plus de 40 ans. L'analyse des résidus de pesticides est complexe à cause du grand nombre de substances interdites ou autorisées dans une certaine limite. Les méthodes d'analyse pour la post-homologation et le contrôle de surveillance doivent satisfaire aux exigences des performances détaillées dans le SANCO/2010/10036^[11].

Le nombre de pesticides réglementés a augmenté considérablement ces dernières années, passant de 65 en 2006 à plus de 800 en 2010. C'est pourquoi des procédures multi-résidus sont de plus en plus appliquées. Ces méthodes multi-résidus ont été développées pour détecter une grande variété de pesticides potentiellement dans l'échantillon. Idéalement, une méthode multi-résidus doit être rapide et facile à réaliser, nécessiter un minimum de produits chimiques (notamment des solvants), fournir un certain degré de sélectivité, et toujours couvrir un large éventail de paires analyte-matrice^[12].

Pendant de nombreuses années, l'approche standard pour les méthodes multi-résidus des pesticides dans les aliments et les produits agricoles était la suivante. Une extraction réalisée par des solvants organiques (notamment l'acétone), suivie par une dilution dans de l'eau, puis d'une extraction liquide-liquide avec un solvant non-polaire (comme l'éther de pétrole). Ce procédé fonctionnait très bien pour les pesticides non-polaires, mais certains composés tels que les organophosphorés ainsi que plusieurs pesticides récemment synthétisés et mis sur le marché étaient en partie perdus. Des approches plus sophistiquées étaient donc nécessaires et les analystes ont commencé à expérimenter différents solvants pour l'extraction. Ces recherches ont montré que l'ajout de différents sels à la solution augmentait le pourcentage de pesticides récupérés par le simple changement de la polarité du mélange, effet appelé « salting out ». Ce développement a notamment été appliqué dans la méthode QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*)^[12].

La méthode QuEChERS

La nécessité d'une méthode multi-résidus simple, rapide, peu coûteuse, qui fournit des résultats de bonne qualité en un minimum d'étapes, avec en plus, une utilisation minimale de solvants,

a mené Anastassiades et al.^[12] à développer une nouvelle méthode pour la préparation d'échantillons de résidus de pesticides dans les fruits et les légumes. Il a donné à cette méthode le nom de QuEChERS pour « *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe* », signifiant en français « rapide, facile, bon marché, efficace et sure ». La technique a attiré l'attention des laboratoires spécialisés du monde entier.

1.3.2. Les techniques de séparation

Les premières techniques de séparation ont été inventées par Mikhail Tswett dans les années 1900 afin de prévenir la pollution de l'environnement par des contaminants. Au fil des années, les principaux contaminants sont devenus les résidus de pesticides. Des informations précises sur leurs niveaux de concentrations étaient requises. Pour cela, plusieurs techniques analytiques ont été mises au point, comme la spectrométrie et différentes méthodes biologiques. Ce n'est que dans les années 60 que les techniques de séparation ont fait une avancée remarquable par le développement de méthodes chromatographiques. En modifiant la préparation de l'échantillon ou en couplant des techniques de détection à la chromatographie, les résultats fournissaient une grande quantité d'informations. C'est pour cela que des méthodes de séparation ont émergées très rapidement.

Dans cette même période, les pesticides organochlorés étaient probablement les composés qui accaparaient le plus de sujets de recherches dans le domaine de la chimie analytique. A cause de leur caractère hydrophobique (apolaire) important, de leur grande stabilité thermique et de leur volatilité, la chromatographie en phase gazeuse (GC) est vite devenue une méthode de choix pour leurs déterminations^[13-15]. En comparaison aux autres techniques de séparation, la GC avait les meilleures propriétés de séparations et donc, comparé à la chromatographie liquide (LC), était le meilleur équipement disponible. Plus tard, l'introduction de colonnes capillaires a encore augmentée la séparation par GC. L'utilisation possible de détecteurs, comme l'ECD (Electron Capture Detector)^[16], le NPD (Nitrogen-Phosphorus Detector)^[17], et notamment le couplage des colonnes GC à un spectromètre de masse^[18] a accru la prévalence de la GC par rapport aux autres techniques analytiques dans l'étude des pesticides dans l'environnement.

De nos jours, la chromatographie en phase gazeuse est toujours une méthode de prédilection pour l'analyse des résidus de pesticides due à sa grande sensibilité et versatilité. Cependant, depuis la fin des années 70, la chromatographie en phase liquide (LC), a commencé à attirer de plus en plus l'attention des analyticiens. Même si cette méthode avait quelques inconvénients, notamment son manque de sensibilité et la difficulté de réaliser un couplage direct au spectromètre, le développement grandissant de pesticides hydrophiles a forcé la recherche à s'intéresser à la LC. Les progrès dans ce domaine ont également été aidés par le développement de nouveaux matériaux pour les colonnes, notamment par l'introduction de la chromatographie liquide en phase inverse (*Cf. 2.2 La chromatographie liquide capillaire*).

La situation actuelle dans le domaine de l'analyse des pesticides se caractérise par la coexistence de ces deux techniques chromatographiques ayant chacune leurs avantages. La GC a l'avantage de disposer d'une base de données de temps de rétention, souvent basées sur des indices de rétention standardisés (indices de Kovats), qui peut être utile dans l'identification ou la confirmation de composés. Les autres avantages de la GC est de produire une séparation très efficace, de disposer d'un large éventail de détecteur hautement sensible, et d'avoir un temps d'analyse relativement court. Quant à la LC, son principal avantage est qu'il est possible d'étudier des pesticides pesticides thermiquement instable (dit thermolabiles), très polaires, de haut point moléculaire (non-volatile) et conjugués à des métabolites ; là où la GC a souvent échoué^[19].

Récemment un nouvel instrument de chromatographie liquide a été développé : le système UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography). L'UHPLC est un système à ultra-haute pression utilisant des particules de très petits diamètres (< 2 µm), qui autorise des analyses à très hautes pressions (plus de 15000 psi, soit 1000 bar). Grâce à ce système, la quantité de solvant est diminué, le temps d'analyse est fortement raccourci, et surtout la résolution est fortement augmentée. Cette haute résolution se caractérise par un affinage de la largeur des pics et une augmentation du rapport signal sur bruit par rapport à l'HPLC^[20]. A l'heure actuelle, la méthode UHPLC est celle qui donne les meilleurs résultats. Cela se voit par le nombre grandissant d'applications se développant dans le monde des analyses environnementales et biologiques^[21-23].

En conclusion, nous pouvons dire que la plupart des analytes peuvent être déterminés/identifiés par au moins une des deux techniques. Cependant, la méthode de chromatographie gazeuse, quand elle est applicable, a encore des avantages, notamment une très bonne séparation, une vitesse d'analyse élevée et la possibilité de coupler une quantité importante de détecteurs très sensible. Quant à la LC, c'est également une méthode de choix lorsque les composés à analyser sont polaires, non-volatiles ou thermolabiles. Aucune des deux techniques de séparation ne semble être universelle pour l'analyse des pesticides. Ainsi, nous pouvons en conclure que la LC et la GC sont deux méthodes complémentaires.

1.3.3. Les techniques de détection

A l'heure actuelle, les analyseurs de type triple quadripôle (QqQ) et temps de vol (ToF) sont largement utilisés pour des analyses de traces de différents types d'analytes dans de nombreuses matrices. Le triple quadripôle est la pierre angulaire de la technique de dépistage et de confirmation des contaminants et de résidus dans l'alimentation^[24].

Le triple quadripôle (QqQ)

Un triple quadripôle résulte de l'association de deux analyseurs quadripolaires en série, séparés par une cellule de collision souvent constituée d'un quadripôle plus court. Cette combinaison de quadripôles permet de travailler en MS simple ou en tandem (MSMS).

Le triple quadripôle est aujourd'hui l'appareil le plus largement utilisé en routine pour l'analyse multi-résidus et simple-résidu de pesticides ciblés dans l'eau et la nourriture. Lors d'analyse MS/MS, différentes options d'acquisition sont possibles selon l'information recherchée: le mode descendant, le mode ascendant, le mode perte de neutre et le mode « Multiple Reaction Monitoring » (MRM) [25]. Le mode le plus largement utilisé dans l'analyse des pesticides est le mode MRM. Dans ce mode, l'ion à étudier est sélectionné, en focalisant le premier analyseur sur son rapport masse sur charge (m/z), puis fragmenté dans la cellule de collision. Quant au second analyseur, il est focalisé sur un des ions fragments. Ce mode de fonctionnement présente une double sélectivité, par la sélection de l'ion parent et de l'ion produit. La MRM est devenue un mode de choix pour la quantification car elle produit un meilleur gain de sensibilité par rapport aux autres modes, grâce à une forte diminution du bruit chimique. C'est pourquoi, la MRM est couramment utilisé dans l'analyse des résidus et des contaminants alimentaires.

En analyse quantitative, les analyseurs de type QqQ permettent de descendre à des concentrations très faible, de l'ordre du pg/mL [26]. Cela est dû à une importante gamme dynamique (rapport entre le pic le plus intense et le moins intense) du QqQ d'environ trois ordres de grandeurs.

Contrairement à un analyseur QqQ, un analyseur à temps de vol (ToF) a une meilleure limite de détection mais une gamme dynamique de seulement deux ordres de grandeurs, compromettant ainsi dans certains cas la quantification de pesticides cible à l'état de trace. Un tableau reprenant les différentes caractéristiques du triple quadripôle (QqQ) et du temps de vol (ToF) est présenté ci-dessous (Figure 2) :

	Sensibilité en full scan (spectre complet)	Sélectivité	Précision	Gamme dynamique
Triple quadripôle (QqQ)	Moyenne	Haute	Basse (résolution à l'unité)	Haute
Temps de vol (ToF)	Haute	Basse	Haute	Basse

Figure 2 : Comparaison des performances du Triple quadripôle (QqQ) et du Temps de vol (ToF). La gamme dynamique représente le rapport du pic le plus intense sur le moins intense [27]

Le temps de vol (ToF)

Au fil des années, les analyseurs à temps de vol couplés aux spectromètres de masse (ToF-MS) ont subi plusieurs améliorations techniques qui ont transformé ces instruments en des outils précieux pour l'analyse des pesticides. Dans un premier temps, la linéarité de la réponse ne permettait pas une analyse quantitative précise. Ce n'est qu'en 1999 que le potentiel quantitatif d'un Q-ToF pour l'analyse de résidus a été rapporté^[28].

Un ToF-MS peut enregistrer un spectre complet avec une grande précision sur toute la gamme de masse étudiée. Il en résulte donc que c'est un excellent outil pour l'identification de composés non-ciblés. Des améliorations ont permis de dépasser les limitations initiales de l'appareil en augmentant le nombre de scans par seconde et en développant des nouvelles méthodes d'échantillonnage, ceci rendant ainsi possible des analyses qualitatives et quantitatives. Ces analyseurs ToF ont prouvé qu'ils permettaient la détermination de structure dans le domaine de l'analyse des pesticides^[27, 29]. Le ToF est également utilisé dans l'identification de produits de dégradation suspects dans l'environnement et dans la nourriture.

La combinaison LC-ToF-MS n'est pas encore une technique bien établie dans le domaine de l'analyse des pesticides. Cependant, la possibilité de connaître la masse exacte de composés inconnus, à partir de la composition élémentaire, en combinaison avec le schéma de fragmentation est un outil très utile pour le dépistage de pesticides non-ciblés ainsi que pour la détection des produits de dégradation des pesticides dans les fruits et les légumes. Le succès de la LC-ToF-MS pour la détermination de traces de pesticides dans les matrices alimentaires dépend de l'élaboration de procédures de quantification exactes et précises, de la disponibilité de bases de données sur les composés, ainsi que le développement de nouvelles méthodes, comme par exemple l'ajout de la mobilité ionique comme dimension supplémentaire.

1.3.4. La spectrométrie de mobilité ionique

Durant ces dix dernières années, la spectrométrie de mobilité ionique (IMS) s'est imposée comme méthode de séparation dans la chimie analytique. Actuellement plus de 50000 spectromètre de masse sont utilisés à travers le monde pour la détection d'explosifs, de drogues...^[30] Avec le développement de l'électrospray et de la désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI) comme source d'ionisation, les applications qui auparavant étaient limitées aux analytes volatiles en phase gazeuse, se sont étendues aux analyses en phase aqueuse et solide, ces dernières pouvant contenir des analytes non-volatiles. Le développement de la mobilité ionique à haute résolution et l'introduction d'un gaz de mobilité, a permis d'améliorer la séparation et la quantification de composés^[31-35]. L'IMS-MS n'est pas une technique récente, elle s'est réellement développée après la démonstration par Clemmer et al.^[36] de la séparation de conformères de peptides.

Lorsque la spectrométrie de masse est couplée à la mobilité ionique (IMS), les ions sont séparés selon leur forme/taille par des interactions avec le gaz de mobilité. Ainsi le montage (IMS-MS) devient un puissant outil analytique pour l'analyse des structures moléculaires et la séparation d'échantillon complexes provenant entre autres du domaine de la protéomique ^[37] ou de la métabolomique^[38].

Les différents spectromètres à mobilité ionique

Il existe à l'heure actuelle quatre types de spectromètre à mobilité ionique qui peuvent être couplés à des spectromètres de masse. Ces derniers sont la mobilité ionique par temps de dérive (*drift time*)^[39], par aspiration (ex: AIMS)^[40], par haut champ électrique asymétrique (*asymmetric*) (ex: DMS, FAIMS)^[41] et par déplacement de vague (*travelling wave*) (ex: TWIMS)^[42]. Les IMS de type aspiration et champ différentiel travaillent sous atmosphère ambiante, tandis que ceux à mobilité ionique et déplacement de vague, sous soumis à une pression réduite.

Le spectromètre traditionnel à temps de dérive mesure le temps que met un ion à parcourir une distance dans un gaz tampon en présence d'un faible champ électrique. Cette constante de proportionnalité, appelé la constante de mobilité ionique K d'un ion est déterminée par la vitesse de « drift » v_d atteinte dans un gaz tampon sous l'influence d'un champ électrique de force E selon

$$K = \frac{v_d}{E} \quad (1)$$

Expérimentalement, la mobilité ionique K d'un ion, dépendant de la taille et de la forme de l'ion, va être calculée selon l'équation de Mason^[43] qui reprend les conditions expérimentales et les caractéristiques de l'échantillon.

$$K = \left(\frac{3q}{16N} \right) \left(\frac{2\pi}{kT} \right)^{1/2} \left(\frac{m+M}{mM} \right) \left(\frac{1}{\Omega} \right) \quad (2)$$

où q est la charge de l'ion, N la densité du gaz tampon, k la constante de Boltzmann, T la température, m la masse du gaz tampon, M la masse de l'ion et Ω la section efficace de collision de l'ion.

La mobilité ionique à temps de dérive est le seul type d'IMS où la section efficace de collision peut être directement calculée à partir du temps de mobilité.

La dernière méthode de mobilité ionique à avoir été développée est la mobilité par déplacement de vague (TWIMS). Son architecture est assez proche de celle du spectromètre de mobilité à temps de dérive, excepté que pour le TWIMS, au lieu d'un champ électrique faible appliqué de façon continu dans la cellule, un système de vague de potentiel est mis en œuvre la création d'un champ électrique mobile. Cette technique est développée en détails dans la partie « 2.1.2.1. *Le Tri-Wave Ion Guide* »

Le couplage LC-IMS-MS

Le couplage LC-IMS-MS n'a actuellement été réalisé que pour des études protéomiques, cadre qui s'applique à des analyses sur des grosses molécules. Ce couplage est constitué d'une chromatographie liquide (HPLC), suivie d'une mobilité ionique et d'un analyseur à temps de vol (LC-IMS-ToFMS). Ainsi une stratégie de séparation multidimensionnelle est combinée avec la haute résolution de l'IMS et du ToF. La combinaison des données de temps de rétention, temps de mobilité et rapport masse sur charge (m/z) va permettre d'obtenir des résultats selon trois dimensions de séparations. Cette approche est réalisable due aux larges différences de l'échelle des temps de chaque technique de séparation : de l'ordre de la minute pour l'HPLC, de la milliseconde pour la mobilité ionique et de la microseconde pour le temps de vol^[44] (Figure 3)

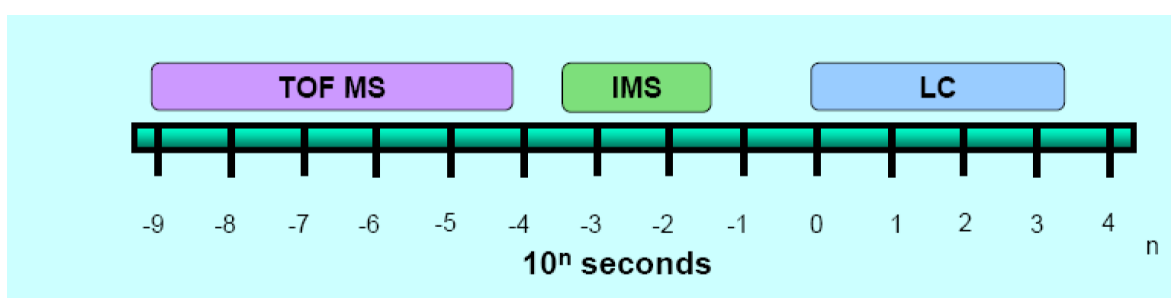


Figure 3 : Echelle de temps de différentes techniques de séparation

1.4. Présentation du projet

1.4.1. Cadre du projet

Cette étude est réalisée en partenariat avec l'Institut de Santé Publique (ISP) de Bruxelles, plus précisément, avec le département « *Food, medicines and consumers safety* », section pesticide. Cette section de l'ISP a pour objectif de développer de nouvelles méthodes d'analyses des pesticides. Ce mémoire sera consacré à l'étude des résidus de pesticides dans les aliments d'origine végétale, comme les fruits, les légumes ...

1.4.2. Objectifs

L'objectif de ce mémoire est de développer une nouvelle méthode d'identification et de confirmation de pesticides ciblés et non-ciblés. Une méthode de type multi-résidus sera employée ici, elle consiste au couplage entre une méthode de type screening (LC-ToF) bien connue dans la littérature, avec la technique de mobilité ionique TWIMS. Le fait de coupler la mobilité ionique au système LC-MS permettra d'ajouter une dimension supplémentaire de séparation. En effet, La mobilité ionique semble très prometteuse puisqu'elle permettra de séparer les ions selon leur géométrie dans l'espace.

Nous allons tout d'abord déterminer le pouvoir de séparation de la mobilité ionique par déplacement de vague (TWIMS). Pour cela, nous essayerons en premier lieu de séparer plusieurs couples d'isomères, puis de déterminer le temps de mobilité d'un maximum de pesticides. En réalisant cela, nous espérons voir apparaître une séparation aux niveaux des familles de pesticides. Si cela se révèle possible, lors de l'analyse d'un échantillon de pesticide inconnu, il serait possible de déterminer sa famille chimique en plus de sa masse.

Les expériences se poursuivront par le couplage du spectromètre de masse avec la chromatographie liquide, où les temps de rétention d'un maximum de pesticides seront déterminés. Ainsi il sera possible de déterminer si la mobilité ionique est une dimension orthogonale à la LC et à la masse. Puis par l'ajout de matrice réel, nous réaliserons des tests de sensibilité de la méthode tout en regardant l'effet matrice produit. En combinant les trois informations obtenues, temps de rétention, m/z et temps de mobilité, nous espérons voir « un nettoyage » des spectres et ainsi augmenter la sensibilité de la méthode mais également fournir des informations pertinentes pour l'analyse structurale de composés inconnus. Cela permettrait de diminuer le nombre de faux-positifs obtenus actuellement par la méthode UPLC-ToF.

2. Matériels

Après avoir présenté dans le chapitre 1, l'état de l'art et les objectifs de cette étude, nous détaillerons ici l'ensemble des outils analytiques utilisés dans le cadre de ce mémoire. En premier lieu, nous présenterons les méthodes de séparation que sont la spectrométrie de masse et la chromatographie liquide, puis ensuite, nous aborderons les méthodes de calcul statistique (Plackett-Burman et Central Composite Design) et théorique (DFT).

2.1. Le spectromètre de masse

Le spectromètre de masse utilisé lors de ce mémoire est le Synapt™ G2 HDMS, un modèle commercial distribué par Waters®, Manchester, UK. Nous exposerons ci-après les trois parties d'intérêts intervenant dans le cadre de ce mémoire. Ces dernières sont la source électrospray, la zone de séparation par mobilité ionique (TriWave) et l'analyseur à temps de vol (QuanTOF) (Figure 4).

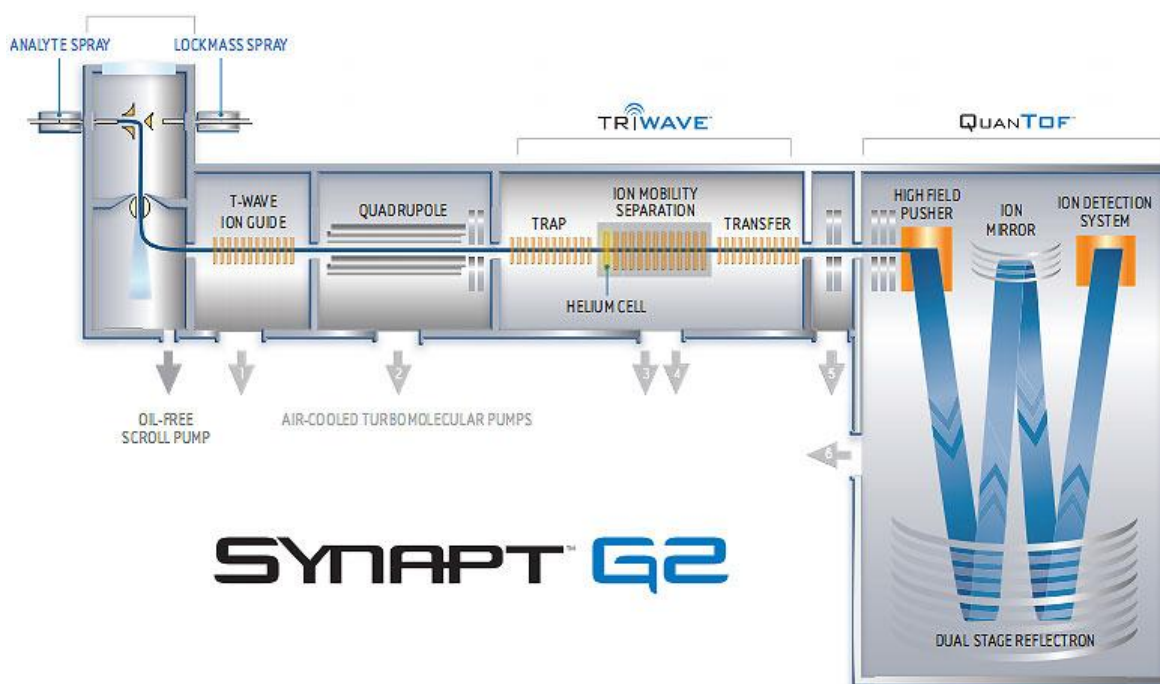


Figure 4 : Schéma du Synapt™ G2 de Waters®. Il est composé d'une source électrospray (ESI), suivie d'un premier TWIG auquel s'ajoutent un quadripôle, une zone de séparation par mobilité (TriWave), un analyseur à temps de vol (QuanTOF) et un détecteur à multiplicateur d'électrons

2.1.1. La source électrospray

La source employée pour ces mesures est de type électrospray (ESI). L'application d'un champ électrique intense, de l'ordre de 3 kV, sur une pointe capillaire induit une séparation partielle des charges positives par rapport aux charges négatives. En mode positif, pour la solution se trouvant

à l'extrémité du capillaire, les ions positifs se situent à la surface du liquide, tandis que les ions négatifs restent à l'intérieur du capillaire (Figure 5).

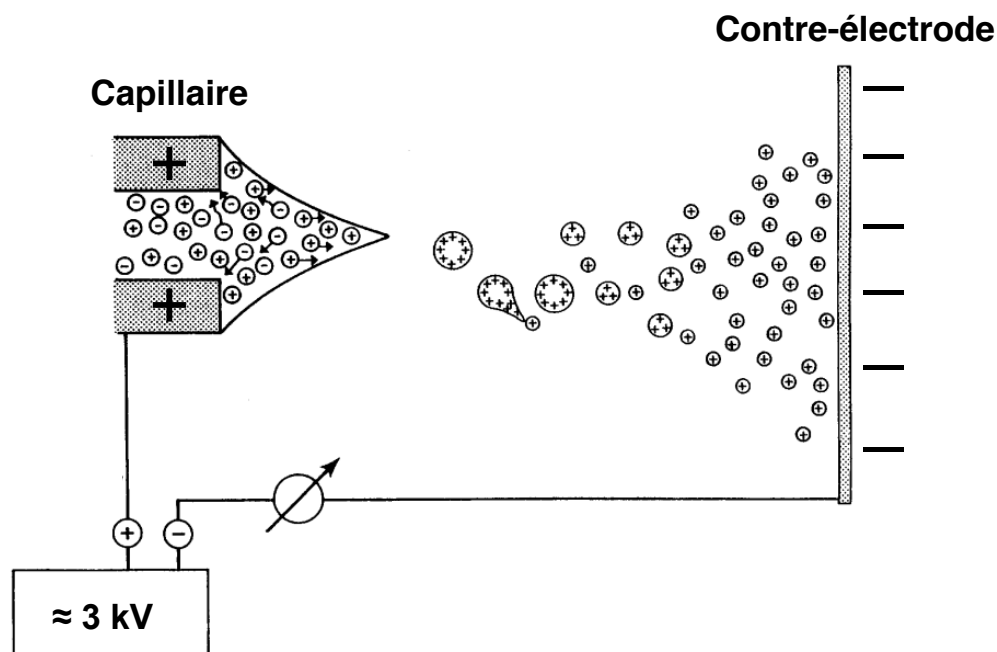


Figure 5 : Schéma représentant la production de gouttelettes par électrospray. Grâce au champ électrique appliqué et à la forme du capillaire en aiguille, il y a un enrichissement en ions positifs sur le ménisque de la solution. Par l'augmentation de la tension de surface, le liquide à l'extrémité de la pointe prend la forme d'un cône, appelé cône de Taylor. Nous remarquons que les ions négatifs sont attirés par le capillaire et donc que ces derniers ne sont pas introduits dans le spectromètre de masse^[45]

La répulsion entre les ions positifs à la surface et l'application d'un champ électrique augmente la tension de surface du liquide qui se meut en un cône, appelé cône de Taylor. Plus le liquide s'éloigne du capillaire, plus le cône devient instable et ainsi le ménisque s'étend en un fin filament (Figure 6).

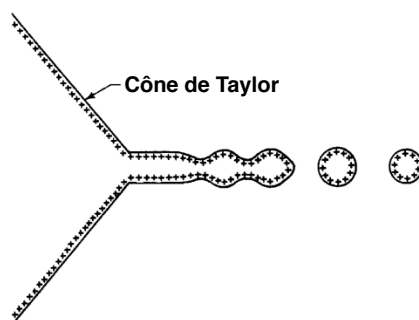


Figure 6 : Représentation schématique de cône de solution à l'extrémité du capillaire, appelé cône de Taylor. Le point le moins stable se situe à l'extrémité du cône qui s'étend en un fin filament jusqu'à la rupture en gouttelettes chargées^[45]

Ce filament s'allonge jusqu'à la rupture pour former des gouttelettes chargées. L'évaporation du solvant créée par le chauffage de l'air ambiant mène à une augmentation de la densité de charge à

la surface de la gouttelette par une diminution du rayon de la gouttelette possédant une charge constante q (1^{ère} étape de la Figure 5). Lorsque le rayon atteint la limite de Rayleigh (Equation 3),

$$q = 8\pi(\varepsilon_0\gamma R^3)^{1/2} \quad (3)$$

Où q est la charge de la gouttelette, γ la tension de surface, R le rayon de la gouttelette et ε_0 est la permittivité du vide

les gouttelettes subissent une fission de Coulomb. A cet instant, la répulsion coulombienne entre les charges surpasse les forces cohésives de la tension de surface^[45].

Gomez et Tang^[46] ont montré que pour des solutions hautement conductrices, il y avait une fission des gouttelettes inégale. En effet, cette fission produit une gouttelette principale et quelques gouttelettes secondaires ; ces dernières se répartissent 2% de la masse et 15% de la charge du parent^[46]. Après une quantité importante de cycle « désolvation – fission de Coulomb » subit par les gouttelettes, les ions passent en phase gazeuse et sont guidés jusqu'à la contre-électrode par le champ électrique. Malgré le nombre croissant d'instrument équipé d'ESI, le processus qui mène à la formation des ions en phase gazeuse est toujours soumis à des recherches. Les deux modèles qui paraissent les plus plausibles à l'heure actuelle sont le « Charge Residue Model » (CRM) et le « Ion Evaporation Model » (IEM).

Le modèle CRM suggère que les gouttelettes sont soumis à des cycles d'évaporation et de fission jusqu'à l'obtention d'une gouttelette (≈ 1 nm) contenant en moyenne un ion ou moins^[47] (Figure 7a).

Le modèle IEM soumis par Iribane et Thomson propose un scénario différent. Selon leur idée, lorsque la gouttelette a atteint un certain rayon (10-20 nm), une émission directe d'ions M^+ en phase gazeuse commence à se produire. Ainsi la charge requise par ce processus est inférieure à celle requise par la fission de Coulomb^[48] (Figure 7b).

Quant à l'application de ces théories, il a été montré que le *Ion Evaporation Model* s'applique principalement aux ions de faible masse ($m/z < 3300$), tandis que le *Charge Residue Model* semble valide pour de plus grandes entités chargées plusieurs fois^[49-51]. La viscosité de la solution a également un effet sur le choix du modèle, à savoir qu'une gouttelette visqueuse se divisera en des parties de taille similaire au phénomène décrit par le CRM, tandis que l'éjection de petites gouttelettes filles, produit par un liquide peu visqueux, sera similaire au modèle IEM^[52].

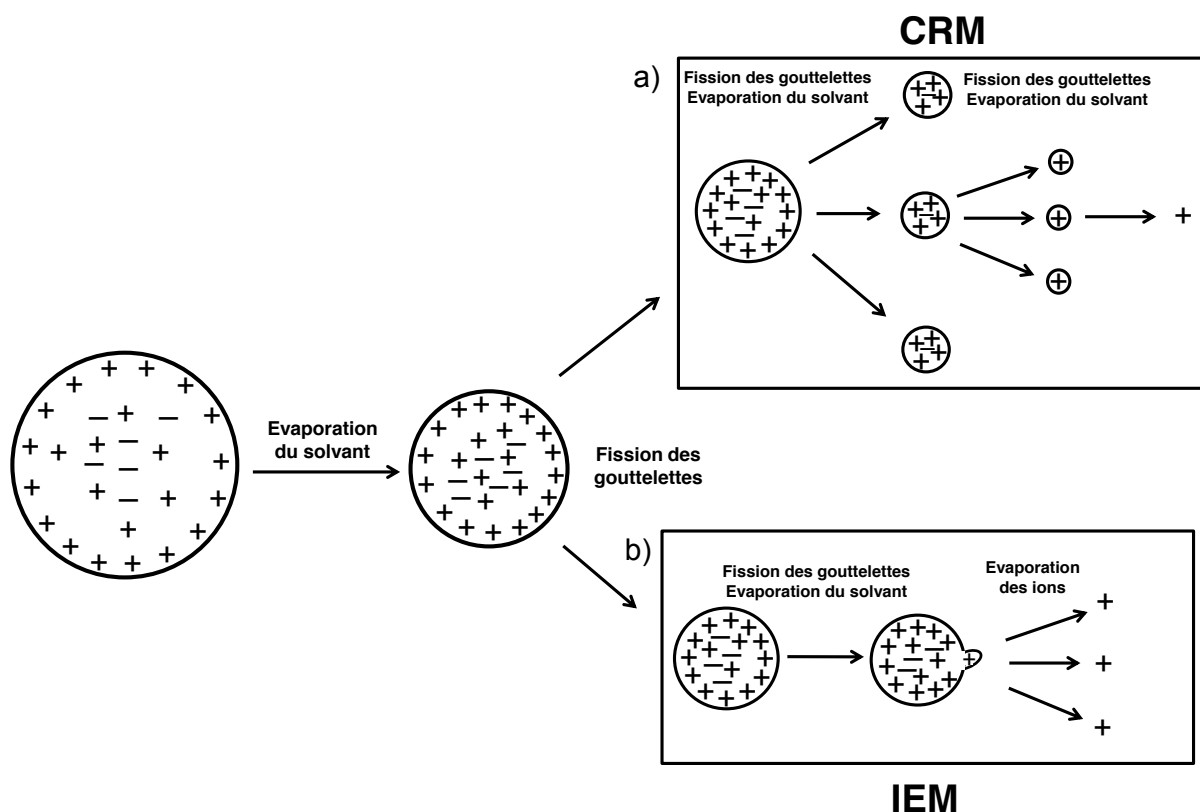


Figure 7 : (a) Les deux modèles pour la production d'ions en phase gazeuse par électrospray sont le « Charge Residue Model » (CRM) et (b) le « Ion Evaporation Model » (IEM)[53]

2.1.2. La cellule de mobilité

Plusieurs types de Tri-Wave se trouvent dans le Synapt G2. La cellule de mobilité, se situant au centre du spectromètre de masse, est composée de trois Tri-Wave Ion Guide (TWIG) : le Trap, la cellule de séparation (cellule IMS) et le Transfer (Figure 8). Notons également la présence dans le spectromètre d'un premier TWIG se situant après la source.

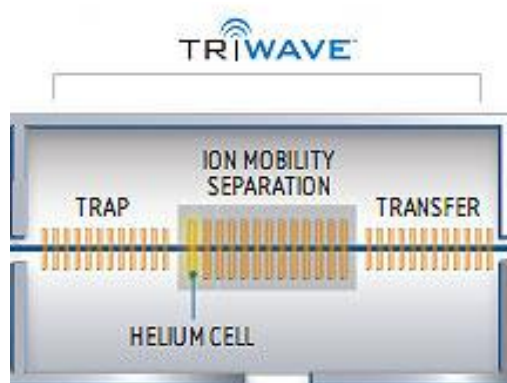


Figure 8 : Schéma du Tri-Wave du Synapt G2 HDMS ((Waters, Manchester, UK)). Il comprend trois TWIG (Trap, IMS et Transfer). La Trap et le Transfer se trouve dans la même enceinte remplie d'argon à faible pression. L'IMS comporte 2 chambres : une de gaz de séparation précédé d'une cellule d'hélium pour ralentir les ions et diminuer la fragmentation

2.1.2.1. Le Tri-Wave Ion Guide

Un Tri-Wave Ion Guide (TWIG) se compose d'un empilement d'électrodes circulaires auxquelles deux voltages sont appliqués : un alternatif et un continu. Lors de l'application du voltage alternatif, les électrodes adjacentes sont soumises à des phases opposées du voltage, voltage se situant dans le domaine des radiofréquences (Figure 9).

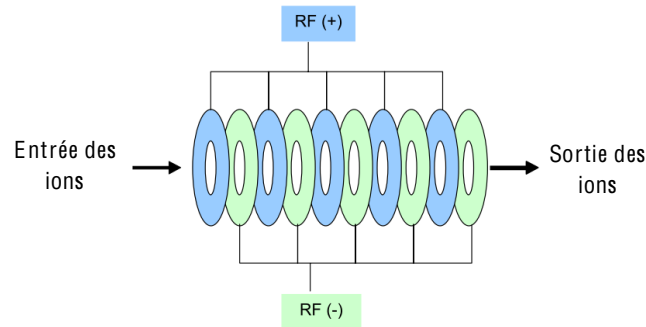


Figure 9 : Empilement d'électrodes soumises à des phases opposées du voltage alternatif^[42]

La conséquence directe de l'application d'un courant alternatif est l'apparition d'un puits de potentiel dont le minimum correspond au centre des électrodes et les maxima aux bords de ces dernières (Figure 10a). Cela a pour effet de garder les ions au centre des électrodes, en limitant leur déplacement selon l'axe r , et ainsi de les guider selon l'axe de l'empilement des électrodes (axe z). Le puits de potentiel peut donc être vu comme un tube permettant d'acheminer les ions de l'entrée vers la sortie. Des ondulations de fréquence sont visibles et vont se révéler être des pièges à ions dans l'axe de progression des ions^[42] (axe z sur la Figure 10b). Lorsque ces pièges sont suffisamment profonds, ils peuvent considérablement entraver l'avancée des ions à travers le dispositif voire stopper leur progression.

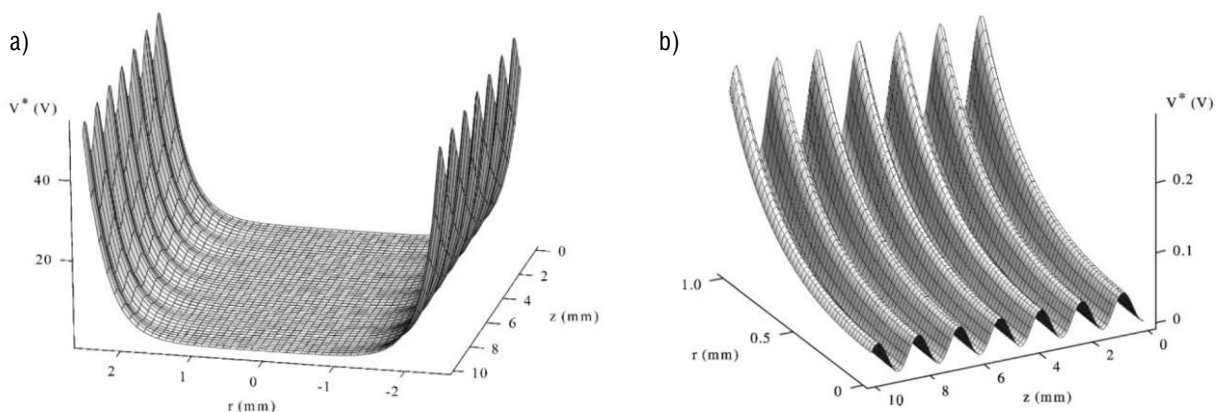


Figure 10 : (a) Représentation graphique du potentiel généré par un voltage alternatif dans un TriWave Ion Guide qui apparaît comme un tube où les ions sont obligés d'avancer selon l'axe z du fait des « murs » de potentiel aux extrémités de l'axe r (b) En appliquant un zoom sur la paroi de potentiel, il apparaît qu'un crénelage se forme le long de l'axe z qui a pour conséquence de former des « pièges » à ions^[42]

L'approche envisagée pour propulser les ions à travers le TWIG consiste à superposer successivement un courant continu sur le potentiel d'une électrode, puis de passer à l'électrode adjacente après un temps défini (Figure 11). Cela donne un champ électrique mobile, qui peut être vu comme une onde sur laquelle les ions peuvent surfer.

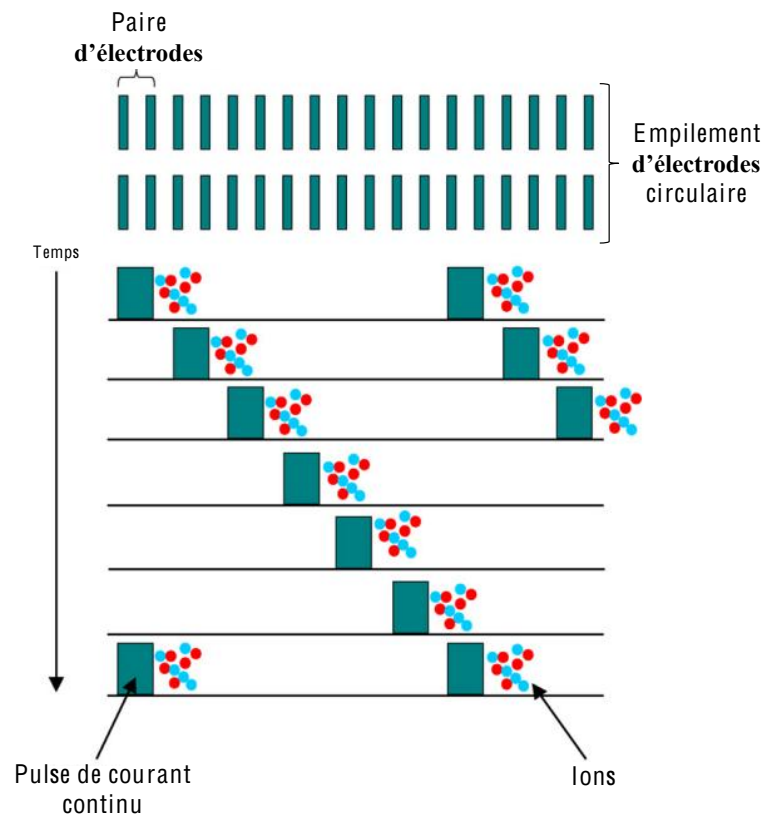


Figure 11 : Schéma illustrant la progression de la vague créée par les pulses successifs de courant continu le long du TWIG^[54]

L'expérimentateur peut choisir la hauteur et la vitesse de vague selon le but désiré. Ainsi, les TWIG peuvent soit servir de simples guides d'ions, soit au contraire mener à une séparation des constituants d'un mélange selon les paramètres appliqués. C'est cette dernière utilisation qui sera utilisée dans la cellule de mobilité.

2.1.2.2. La cellule IMS

La cellule IMS, partiellement isolée des autres TWIG, est composée en réalité de deux cellules. Une, occupant le plus grand volume, remplie d'un gaz dense choisi par l'opérateur (N_2 , CO_2 ...), précédée par une petite cellule remplie d'hélium, faisant office de gaz tampon. Ce procédé a pour but de diminuer la fragmentation des ions à l'entrée de la cellule IMS. L'hélium étant un gaz léger, il permet aux ions d'être ralentis avant d'entrer en contact avec le gaz de séparation.

Cette cellule de séparation a un mode de fonctionnement identique au TWIG, à l'exception que les ions sont mis en présence d'un gaz, et joue donc sur la différence de mobilité ionique des

analytes pour les séparer. En effet, la mobilité d'un ion en phase gazeuse soumis à un champ électrique dépend de sa section efficace de collision (Figure 12).

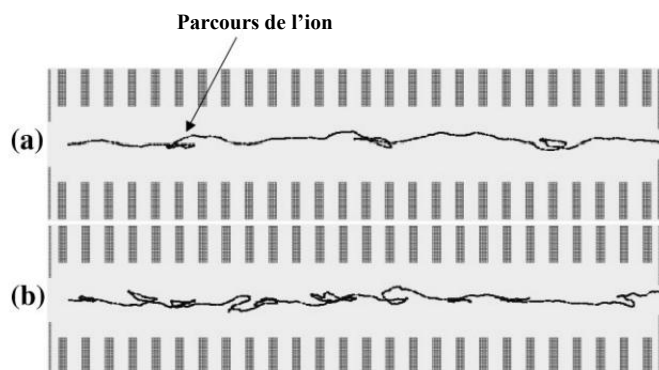


Figure 12 : Simulation SIMION de la trajectoire de deux ions traversant la cellule IMS avec les mêmes paramètres, excepté que ces ions ont une section efficace de collision différente qui est de (a) 300 \AA^2 et de (b) 400 \AA^2 . Il en résulte **logiquement que l'ion en (b) subit plus de collision avec le gaz et donc a une mobilité plus faible que l'ion en (a)**^[42]

Les ions sont à la fois accélérés par le potentiel de vague et freinés par les nombreuses collisions avec le gaz. Ainsi plus l'ion aura une conformation dépliée, plus il sera ralenti par des collisions, et donc plus sa vitesse dans la cellule sera faible. Il sera donc caractérisé par une valeur de mobilité ionique faible, et arrivera plus lentement au détecteur qu'un ion de conformation compacte (Figure 12 et Figure 13).

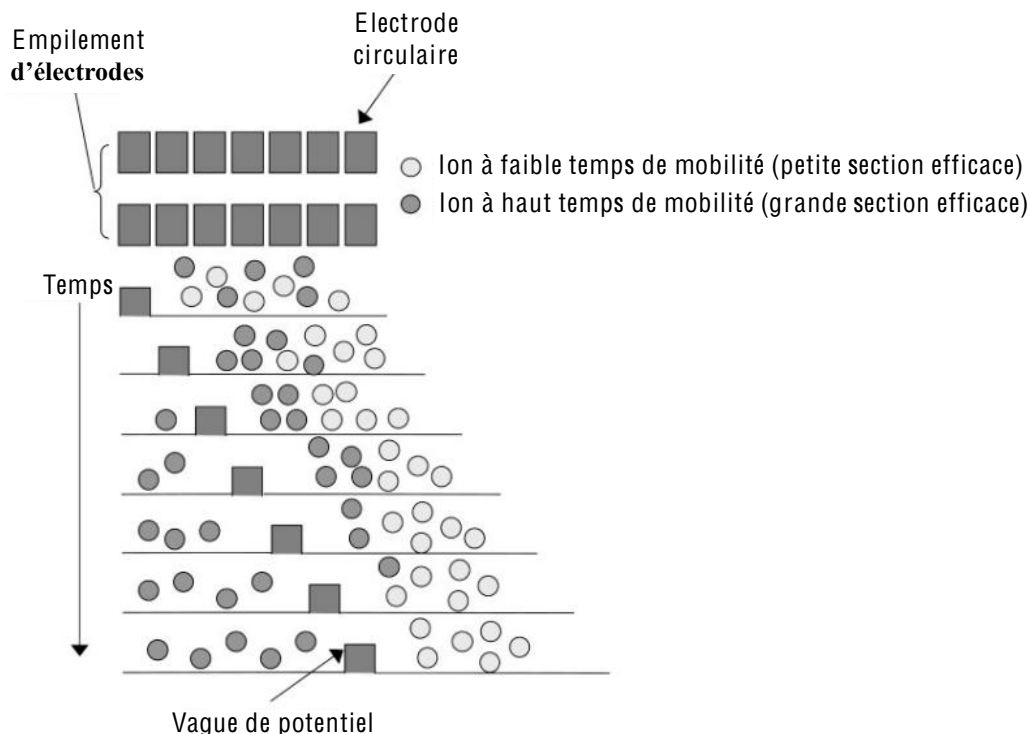


Figure 13 : Schéma illustrant la séparation par la différence de mobilité des ions. Les ions avec une grande section efficace ont « roulé » par-dessus la vague tandis que les ions avec une petite section efficace ont suivi la vitesse de la vague^[42]

2.1.2.3. Le Trap et le Transfer

Le Trap et le Transfer se situent dans la même enceinte qui est soumise à une pression de l'ordre de 10^{-2} mbar en argon^[54]. Au vu de la position de ces deux TWIG, il est possible lors d'analyse en MS/MS de fragmenter soit dans le Trap, et ainsi d'obtenir la mobilité et le rapport de masse sur charge (m/z) des fragments ; soit de fragmenter dans le Transfer, et ainsi de connaître la mobilité de l'ion parent, et le m/z des ions filles au même temps de mobilité (Figure 14).

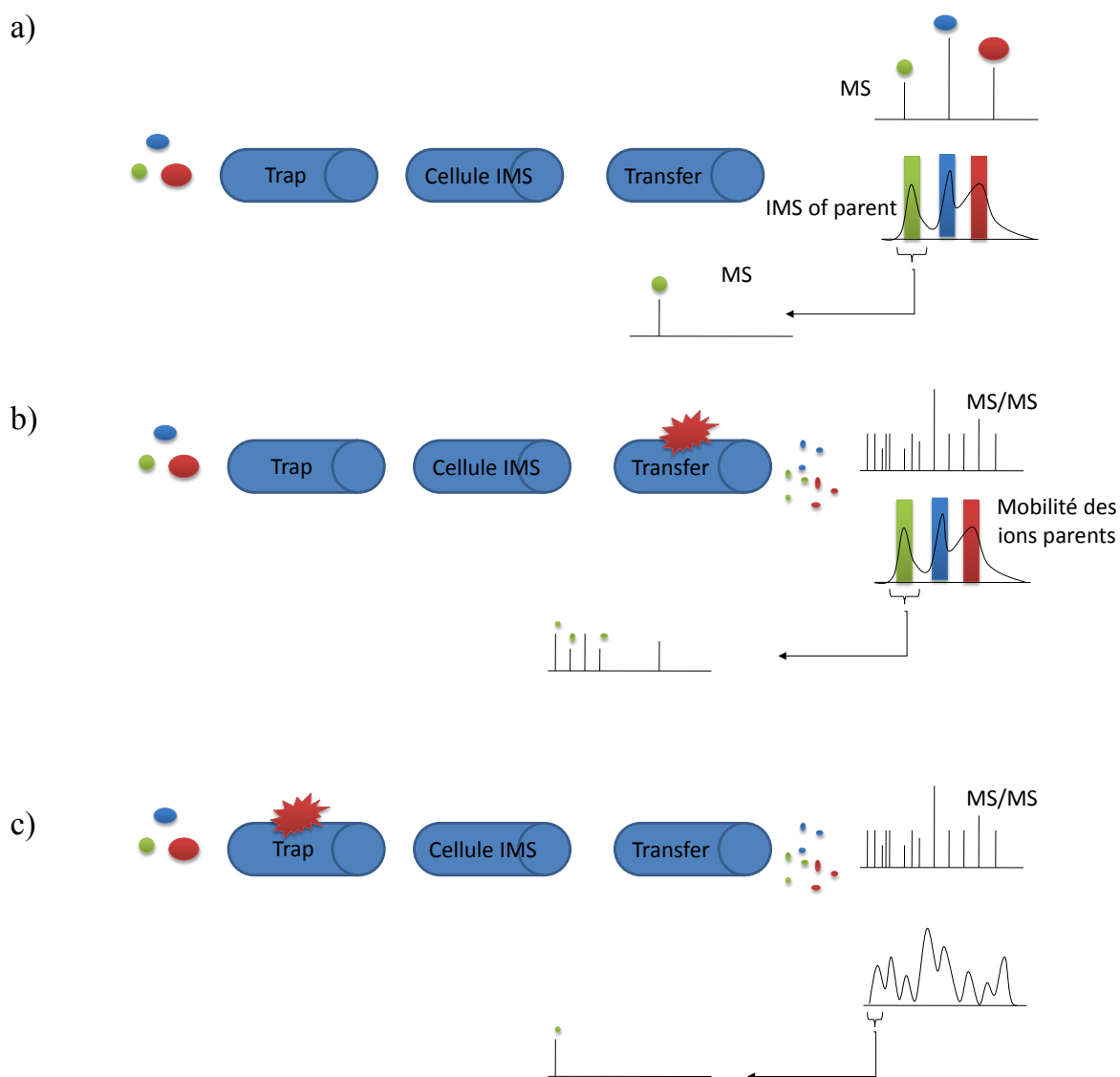


Figure 14 : Schéma des différentes possibilités de configuration de la cellule de mobilité. (a) Sans énergie de collision, nous obtenons le temps de mobilité et le m/z des ions parents. (b) Avec de l'énergie de fragmentation dans le Transfer, nous obtenons le temps de mobilité des parents et le m/z des ions filles. (c) Et si de l'énergie de collision est appliquée dans le Trap, nous obtenons le temps de mobilité et le m/z de chaque fragment formé.

Une bonne séparation des ions va dépendre des paramètres appliqués à la cellule de séparation. Parmi les réglages importants se trouvent la hauteur de vague, la vitesse de vague, ainsi que la pression dans la cellule d'hélium et dans la cellule IMS. Plus la hauteur de vague est importante, plus les ions seront poussés rapidement vers le détecteur et donc la séparation en sera moins bonne. Tandis

que pour la vitesse de vague, plus elle est élevée, plus la séparation est efficace, car le temps laissé aux ions pour aller d'une électrode à l'autre est plus court. Un autre réglage important concerne la différence de potentiel entre la Trap et la cellule IMS, paramètre qui est appelé biais. Il correspond au dernier voltage appliqué avant la cellule IMS. C'est ce voltage qui va pousser les ions dans la cellule IMS à la sortie du Trap. Ainsi, s'il est trop faible, les ions n'arriveront pas à traverser la cellule de mobilité, et s'il est trop fort, les ions vont fragmenter car le contact avec le gaz de mobilité sera trop violent.

2.1.3. L'analyseur à temps de vol : le ToF

L'analyseur à temps de vol (ToF) permet de mesurer le rapport masse sur charge (m/z) d'un ion à partir du temps que met ce dernier, accéléré préalablement par une tension, à parcourir une distance définie.

Afin de relier le temps au rapport masse sur charge de l'ion, il faut se rapporter aux équations suivantes. Dans le ToF, l'énergie potentielle E_p

$$E_p = zU \quad (4)$$

résultante de l'accélération d'une particule de masse m et de charge z par une différence de potentiel électrique U va être convertie en énergie cinétique E_c

$$E_c = \frac{1}{2}mv^2 \quad (5)$$

donnant ainsi

$$zU = \frac{1}{2}mv^2 \quad (6)$$

La vitesse de la particule chargée après l'accélération ne va pas varier dans le ToF. Cette vitesse

$$v = \frac{d}{t} \quad (7)$$

peut être déterminée grâce à la distance parcourue dans le tube de longueur d , et le temps de vol t de l'ion dans le ToF. En combinant l'Equation 6 avec l'Equation 7, nous obtenons

$$zU = \frac{1}{2}m \left(\frac{d}{t}\right)^2 \quad (8)$$

Le temps étant la donnée qui nous intéresse, cette dernière équation est réarrangée pour donner

$$t = \frac{d}{\sqrt{2U}} \sqrt{\frac{m}{z}} \quad (9)$$

Le facteur $\frac{d}{\sqrt{2U}}$ regroupe des constantes qui sont reliées à la configuration de l'instrument et donc qui ne varieront pas. Ainsi l'Equation 9 nous montre que le temps de vol d'un ion est proportionnel à la racine carrée du rapport masse sur charge et donc

$$t = k \sqrt{\frac{m}{z}} \quad (10)$$

D'un point de vue pratique, un ToF se compose d'une zone d'accélération, où est appliquée la tension accélératrice qui va permettre à tous les ions d'acquérir la même énergie cinétique, et d'une zone de très basse pression appelée tube de vol. La zone où est appliquée la tension accélératrice est appelé « pusher ». Son rôle consiste à accumuler et envoyer les ions par paquets. La séparation des ions ne va donc dépendre que de la vitesse acquise lors de cette phase d'accélération ; ainsi, comme le montre l'Equation 10, les ions de rapport m/z les plus petits arriveront au détecteur en premier. Pour chaque groupe d'ions de même m/z , un signal sera enregistré au niveau d'un détecteur à multiplicateur d'électrons sous la forme d'une fonction temps/intensité.

Toutefois, cette méthode d'analyse comporte certaines limites en termes de résolution : deux ions identiques, de même vitesse initiale, mais se situant à deux points différents, entreront dans le tube de vol à des temps différents. Cela est dû au phénomène de dispersion en énergie cinétique à la sortie de la source. Pour pallier à ce problème, un réflectron a été mis en place afin de refocaliser cette énergie cinétique.

Le réflectron applique un champ électrique pour réfléchir le faisceau d'ions vers le détecteur. Les ions dotés de la plus grande énergie cinétique pénètrent plus profondément dans le réflectron, autrement dit, les ions les moins énergétiques auront une longueur effective dans l'analyseur plus courte. De plus, la longueur totale parcourue sera doublée sans pour autant changer la taille de l'instrument^[55].

Sur le Synapt G2, l'analyseur à temps de vol est appelé « QuanToF », il a la particularité d'être un « dual stage reflectron », ce qui signifie que contrairement à un « single stage reflectron », le miroir électrostatique comprend deux régions. Dans la première région, le champ électrique est sensiblement plus grand que dans la seconde. Cette amélioration permet notamment de diminuer la dimension de l'appareil et surtout de réduire le temps de parcours des ions, ce qui contribue à une meilleure correction des effets de dispersion en énergie cinétique de ces derniers[56] (Figure 15).

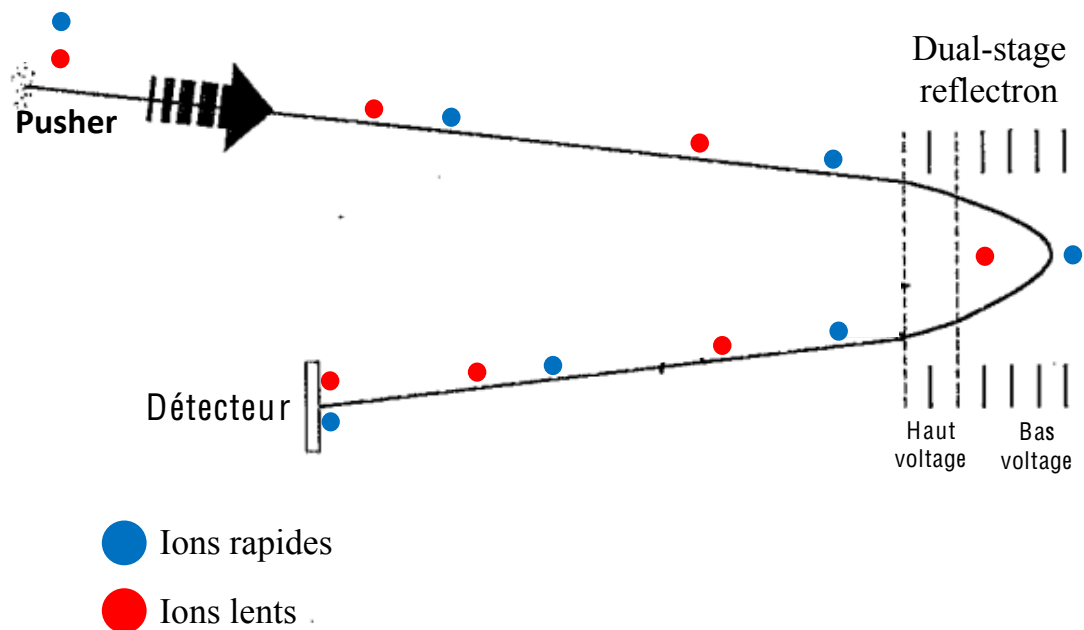


Figure 15 : Schéma d'un « dual stage reflectron ». Les ions les plus rapides vont plus loin dans le réflectron et donc cela compense le retard des ions les plus lents (adapté de la référence [56])

2.2. La chromatographie liquide capillaire (CapLC)

2.2.1. Introduction

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une technique d'analyse quantitative, qualitative et séparative utilisée en biochimie et en chimie analytique sur des mélanges complexes.

En HPLC, un fluide appelé phase mobile parcourt une colonne qui a la forme d'un tube. Cette colonne peut être remplie d'une phase stationnaire adsorbée ou absorbée sur des grains poreux (colonne remplie) ou bien cette phase stationnaire recouvre d'un film mince les parois internes de la colonne (colonnes capillaires). A l'instant initial, le mélange d'analytes à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il est dilué par la phase mobile qui le porte à travers la colonne.

Le choix de la phase stationnaire est primordial car c'est grâce à ce paramètre que les solutés seront spécifiquement retenus lors de la traversée de la colonne. Ce phénomène, appelé rétention, induit que la vitesse de déplacement des analytes est inférieure à celle de la phase mobile et différente selon les propriétés de chacun. Les analytes sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés. Un détecteur, dans ce mémoire le Synapt G2™, placé à la sortie de la colonne, couplé à un enregistreur permet de mesurer un courant d'ion au cours du temps, appelé chromatogramme : au passage de chaque soluté séparé, un pic est enregistré à un certain temps de rétention. Le temps de

rétenion d'un composé est par définition le temps pour lequel sa concentration est maximale à la sortie de la colonne, c'est à dire dans le détecteur. L'amplitude ou l'aire sous la courbe de ces pics de rétenion permet la mesure quantitative de la concentration de chaque substance du mélange.

La chromatographie liquide capillaire (CapLC, Waters®) a la particularité d'utiliser des colonnes de plus petit diamètre interne que la chromatographie liquide classique (HPLC). Ces colonnes, pour des volumes fixes de matières injectées, produisent des pics étroits, ou plus fins, et donc fournissent des meilleures limites de détection (*Cf. l'équation de Van Deemter au point 2.2.2*)

La chromatographie est donc une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire et l'autre mobile. Il en existe deux types qui se différencient par le type de phase stationnaire et de phase mobile utilisées : la phase normale et la phase inverse. L'utilisation de solvants organiques non polaires en phase mobile est également un inconvénient, la gamme de composés est aussi beaucoup plus limitée par rapport à la phase inverse.

La phase normale est constituée de gel de silice. Ce matériau est très polaire, et l'éluant sera donc apolaire. Ainsi lors de l'injection d'une solution, les produits polaires sont retenus dans la colonne, contrairement aux produits apolaires qui sortent en premier. L'inconvénient d'une telle phase est la détérioration rapide au cours du temps du gel de silice, ce qui entraîne un manque de reproductibilité des résultats.

La phase inverse est majoritairement composée de silices greffées par des chaînes linéaires de 4 à 18 atomes de carbone (C4 et C18). Cette phase apolaire nécessite donc un éluant polaire.

Dans ce cas, il y aura des fortes attractions entre le solvant polaire et les molécules polaires du mélange qui passent dans la colonne. Quant à l'attraction entre les chaînes hydrocarbonées de la silice (phase stationnaire) et les molécules polaires de la solution, elle sera beaucoup plus faible. Ainsi les molécules polaires dans le mélange seront éluées plus rapidement de la colonne. En ce qui concerne les molécules non-polaires du mélange, elles vont former des liaisons de Van der Waals avec les chaînes hydrocarbonées. De plus, elles seront moins solubles dans le solvant car il faut, par exemple, qu'elles cassent les liaisons hydrogènes entre les molécules d'eau ou de méthanol pour venir « s'y insérer ». Ainsi ces molécules non-polaires seront éluées plus lentement de la colonne car elles passeront moins de temps dans la phase mobile que sur la phase stationnaire.

La diversité des phases stationnaires disponibles en phase inverse étant plus grande qu'en phase normale, cette technique est actuellement la plus employée.

En phase inverse, les mélanges acétonitrile-eau et méthanol-eau sont les éluants les plus couramment utilisés. La composante non-aqueuse est appelée le modificateur organique. Dans les

colonnes en phase inverse, il est le plus souvent utilisé un couple eau/modificateur organique. Une miscibilité du modificateur avec l'eau est donc nécessaire. La polarité et la force du solvant ϵ^0 vont être utilisées pour choisir la composante organique de la phase mobile. Une valeur de ϵ^0 faible correspond à un solvant peu polaire, et donc qui éluera plus facilement les organiques non-polaires qu'un solvant avec un ϵ^0 plus élevé (Figure 16).

Polarité	Modificateur organique	ϵ^0 (SiO ₂)
Le moins polaire	Hexane	0.01
↓	Toluène	0.23
↓	THF	0.44
↓	Acétone	0.48
↓	Ethanol	0.60
↓	Méthanol	0.70
Le plus polaire	Eau	1.50

Figure 16 : Modificateurs organiques classés selon leur force de solvant (ϵ^0) pour une phase stationnaire de silice (SiO₂). (valeurs de ϵ^0 tirées de la référence [57])

2.2.2. Paramètres importants dans la séparation en chromatographie liquide

Théorie des plateaux

La théorie des plateaux correspond à une modélisation de la chromatographie selon laquelle chaque substance se déplace progressivement en une suite d'étapes distinctes. La colonne de longueur L serait découpée en N petits disques fictifs de même hauteur. Pour chacun d'eux la concentration en soluté dans la phase stationnaire serait en équilibre avec sa concentration dans la phase mobile. A chaque nouvel équilibre, le soluté a progressé d'un petit disque supplémentaire appelé plateau théorique.

On définit ainsi la hauteur équivalente en plateaux théorique HEPT :

$$HEPT = \frac{L}{N} \quad (11)$$

où L est la longueur de la colonne.

Ainsi, plus la HEPT est petite, meilleure sera l'efficacité de la colonne.

Equation de Van Deemter

C'est une équation mathématique qui relie la HEPT à la vitesse moyenne d'écoulement de la phase mobile u dans la colonne selon

$$HEPT = A + \left(\frac{B}{u}\right) + (C * u) \quad (12)$$

La courbe décrivant cette équation est une branche d'hyperbole qui passe par un minimum pour la HEPT, correspondant au débit optimal d'utilisation (Figure 17).

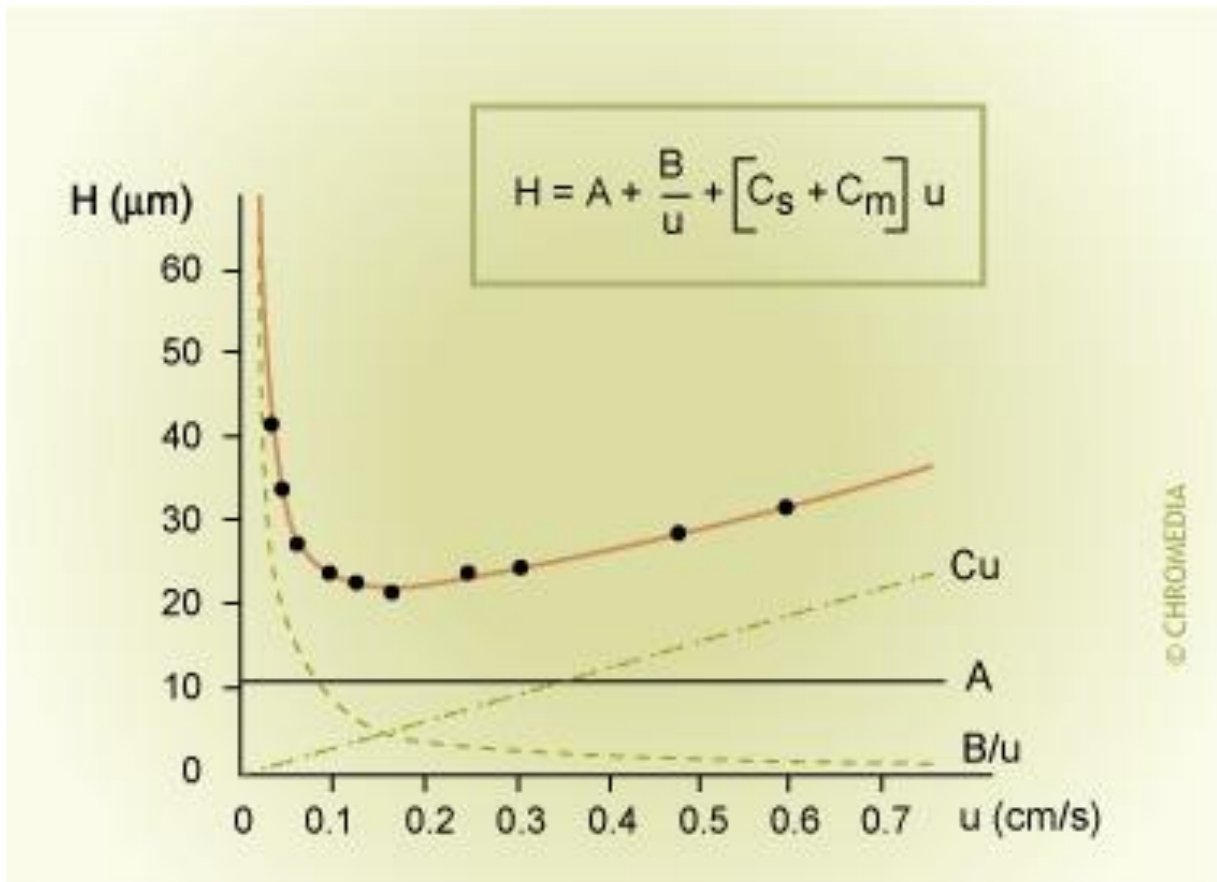


Figure 17 : Courbes des trois paramètres de l'équation de Van Deemter, ainsi que de la courbe résultante. Ces trois paramètres sont le terme de remplissage (A), le terme de diffusion longitudinale (B) et le terme de résistance contre le transfert de masse (C). Il en résulte qu'à bas débit, l'équation de Van Deemter est dirigée par le paramètre B, tandis qu'à haut débit c'est le paramètre C qui devient déterminant (d'après www.chromedia.org).

Les trois coefficients numériques expérimentaux A, B et C caractérisent divers paramètres physico-chimiques du système:

- A : terme de remplissage

Ce terme caractérise l'écoulement de la phase mobile le long de la phase stationnaire.

Il dépend de la taille des particules constituant la phase stationnaire ainsi que de leur répartition.

La vitesse d'écoulement sera différente selon :

- L'écart entre les particules : plus elles sont serrées, plus le passage est ralenti.
- Pour un écart important entre deux particules, la vitesse d'écoulement sera plus rapide au centre qu'au contact des particules.

Ce terme est une constante, indépendante de la phase mobile u , qui est d'autant plus grande que le diamètre des particules est grand. A est influent dans les colonnes remplies de particules, peu important en chromatographie liquide et nul pour les colonnes capillaires.

- B : terme de diffusion longitudinale

B traduit la tendance naturelle des molécules de solutés à se disperser c'est-à-dire à diffuser dans toutes les directions dans la phase mobile; cette dispersion est d'autant plus grande que le débit est faible.

Ce terme est peu important quand la phase mobile est un liquide, car son coefficient de diffusion est plus faible que pour un gaz.

- C : terme de résistance contre le transfert de masse

C traduit la résistance des solutés à se répartir à l'équilibre entre les deux phases. Plus le débit augmente, plus l'équilibre est difficile à atteindre (du fait des turbulences et des gradients de concentration qui sont plus importants), et une partie des solutés peut-être entraînée hors équilibre.

Ce terme C est égal à la somme du coefficient de diffusion dans la phase mobile (C_m) et du coefficient de diffusion dans la phase stationnaire (C_s).

Depuis que la taille des particules est devenue une variable, la courbe de Van Deemter peut être utilisée pour rechercher les meilleures performances en termes de séparation.

Taille des particules et débit dans la colonne

Le compromis à réaliser en HPLC est d'augmenter la vitesse tout en maintenant la résolution. La résolution est définie par trois paramètres de la colonne selon

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} * \frac{k}{1+k} * \frac{\alpha-1}{\alpha} \quad (13)$$

où R_s est la résolution, k est le facteur de rétention, N le nombre de plateau théorique et α le facteur de sélectivité.

La résolution est proportionnelle au rapport entre la distance entre deux pics et la largeur à mi-hauteur de ces derniers. Les meilleures performances analytiques sont définies pour des pics complètement séparés, $R_s = 1.5$ étant défini comme la résolution de base. Le facteur de rétention (k) ne varie pas en fonction de la longueur de la colonne, cependant l'efficacité (N), dépendante du nombre de plateaux théoriques, décroît avec la longueur de colonne sauf si la taille des particules est également diminuée. Utiliser une colonne plus courte contenant de plus petites particules va augmenter la vitesse d'analyse sans diminuer la résolution car le nombre de plateaux est maintenu, cette technique est une méthode clé pour diminuer la durée des analyses en conditions isocratiques.

Le temps d'analyse en HPLC a été, au fil des années, amélioré par l'utilisation de colonnes plus courtes et de particules plus petites tout en maintenant un débit élevé. Nous pouvons voir l'avantage de l'utilisation de plus petites particules grâce aux courbes de Van Deemter reprises à la Figure 18 pour différentes tailles de particules (d_p).

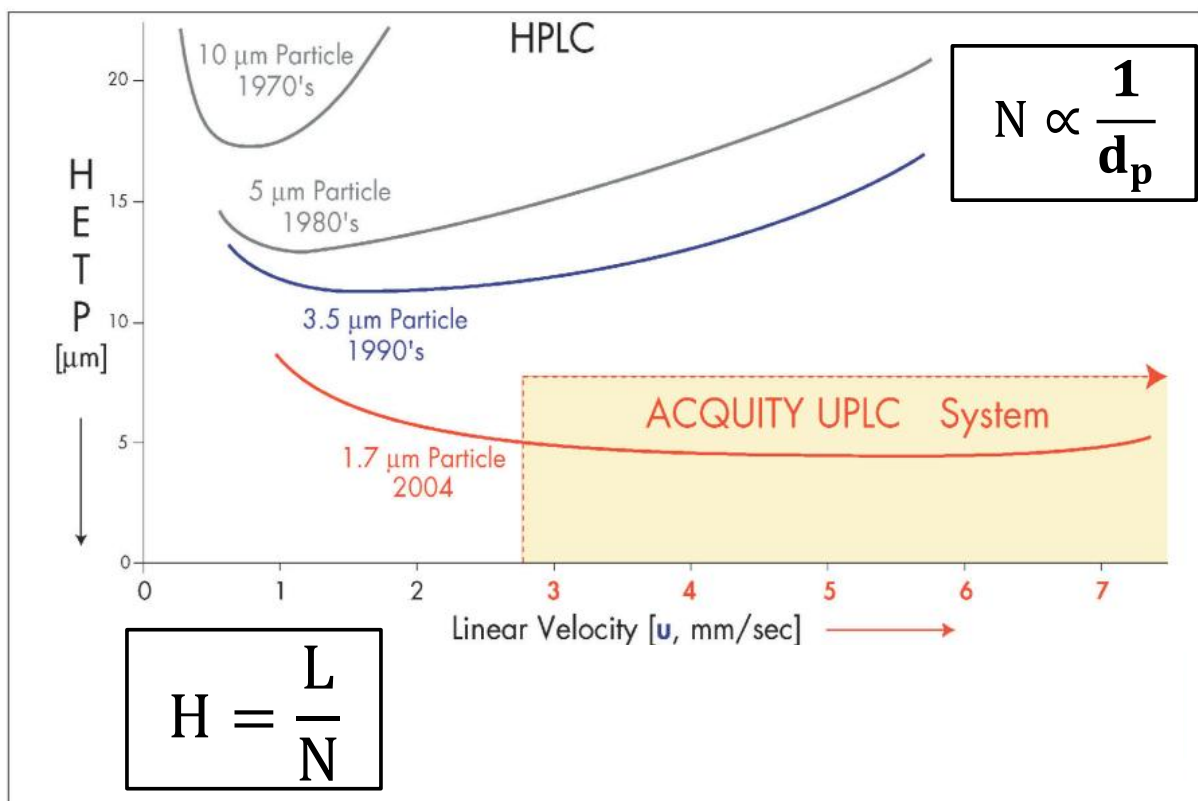


Figure 18 : Courbes obtenues à partir de l'équation de Van Deemter pour différentes tailles de particules d_p [58]

A partir de la Figure 18, pour les particules de taille supérieure à 1.7 μm , il est possible de connaître le débit optimum afin d'avoir la plus petite hauteur de plateaux théoriques (HEPT). Ainsi nous pouvons appliquer un débit élevé sur des colonnes possédant des particules de 1.7 μm sans se soucier de l'augmentation de la HEPT. Cependant, comme le montre la Figure 19, la pression dans le système, en plus d'être proportionnelle au débit, dépend également de la taille des particules. En effet, la pression augmente beaucoup plus rapidement avec l'accroissement du débit pour des particules de 1.7 μm que pour des particules de 3 μm . Ainsi le débit sera également sélectionné en fonction de la résistance à la pression de la colonne et de l'instrument utilisé.

Une fois la colonne et le débit choisi, le dernier paramètre restant à optimiser pour la séparation des composés par chromatographie liquide est le gradient.

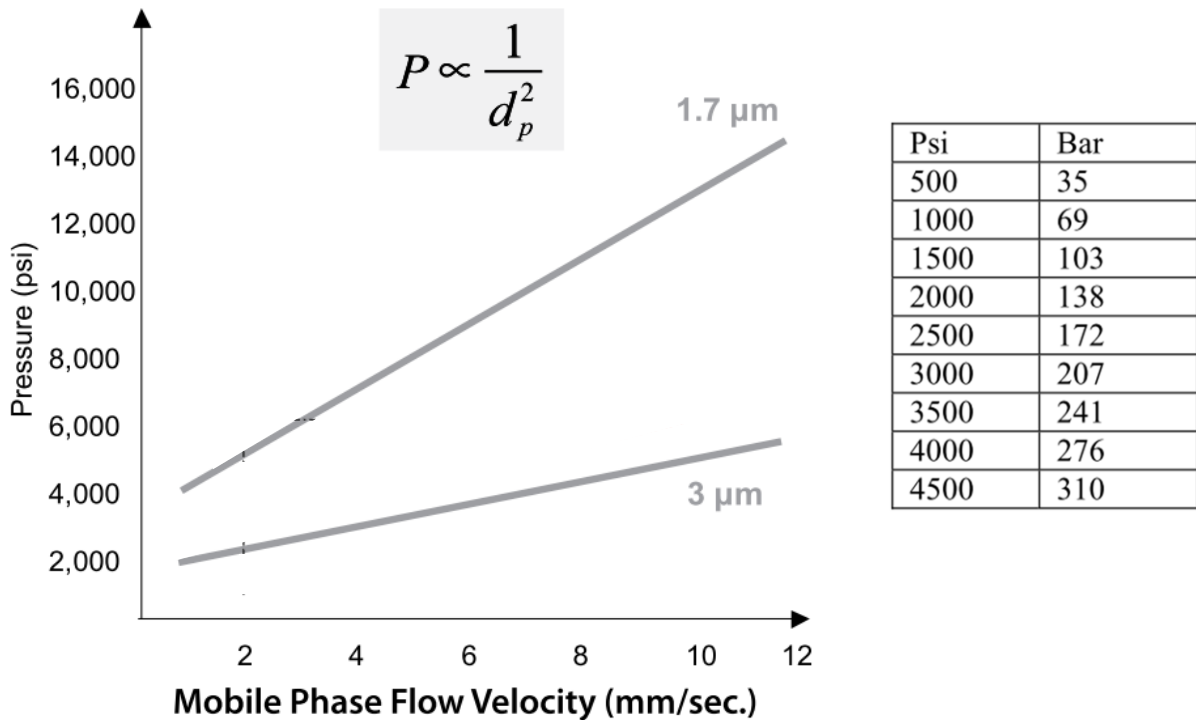


Figure 19 : Comparaison de la pression en fonction du débit par rapport à la taille des particules. La pression augmente beaucoup plus rapidement avec le débit pour les particules de 1.7 μm ^[59]

Gradient

Un gradient peut être linéaire ou non-linéaire, cependant, les gradients linéaires sont les plus courants. Un gradient linéaire peut avoir plusieurs segments ; c'est un gradient à trois segments qui est le plus couramment utilisé. Le premier segment correspond à un court palier de départ isocratique, afin de mieux séparer les molécules polaires, le deuxième segment est le gradient à proprement parlé et le troisième segment consiste en un plateau final isocratique, qui est appliqué pour nettoyer la colonne avant de retourner dans les conditions initiales.

Les deux composantes du gradient sont couramment appelées Phase A et Phase B, où la Phase A est le plus souvent aqueuse et la Phase B essentiellement organique. Il y a deux possibilités dans la réalisation des solutions. La méthode la plus rapide est de faire une Phase A constituée entièrement d'eau et une Phase B entièrement constituée de composé organique. Un autre choix est de créer une Phase A de la composition de départ du gradient et une Phase B de la composition finale. Ce dernier choix a pour avantage de réduire au maximum la formation de bulles. En effet, lorsque les deux solvants sont mélangés dans la pompe, un dégazage peut se produire, et donc conduire à une fluctuation de la ligne de base. Ainsi, en commençant par des mélanges de solvants, la probabilité d'avoir un dégazage à cet endroit est diminuée.

Un autre paramètre à prendre en compte est le temps nécessaire à la phase mobile pour traverser tout le système depuis l'injecteur jusqu'au détecteur en passant par la colonne. Ce temps est

appelé le temps mort. Ce dernier est inversement proportionnel au débit appliqué et donc des flux plus lents induisent des temps morts plus long. Le débit étant plus faible en HPLC capillaire qu'en HPLC classique (dû à la taille des particules), le temps mort sera donc plus grand pour une HPLC capillaire.

2.3. Méthodes statistiques^[60]

2.3.1. Le plan Plackett Burman

Les plans de Plackett-Burman (PB) sont des modèles expérimentaux présentés en 1946 par Robin L. Plackett et J.P. Burman qui travaillaient pour le gouvernement britannique. Leur but était, en procédant à un minimum d'expérience, de trouver des modèles expérimentaux pour étudier la dépendance d'une quantité mesurée sur un certain nombre de variables indépendantes ; où les interactions entre les facteurs de ces variables sont considérés comme négligeables^[61]. La solution à ce problème est de trouver un modèle expérimental où chaque combinaison de niveaux (par exemple, pour 2 niveaux, -1 et +1 sont les extrema du domaine des facteurs étudiés) pour n'importe quelles paires de facteurs, apparaît le même nombre de fois dans toutes les expériences (Figure 20).

Run	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
3	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
4	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-
5	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
6	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-
7	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+
8	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+
9	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+
10	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-
11	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+
12	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-

Figure 20 : Plan Plackett-Burman pour 12 runs et 11 facteurs à 2 niveaux. Pour n'importe quelle paire de X_i, chaque combinaison (--, -, +, ++) apparaît le même nombre de fois (ici 3 fois)

Pour le cas de deux niveaux (L=2), Plackett et Burman ont utilisé la méthode trouvée en 1933 par Raymond Paley pour générer des matrices orthogonales, appelées matrices d'Hadamard, dont les éléments sont tous +1 ou -1. Si la taille de la matrice, N, est une puissance de 2 alors le plan de Plackett-Burman est identique à un modèle de factoriel fractionné. C'est pour cela que les plans de Plackett-Burman seront souvent utilisés lorsque N est un multiple de 4 mais pas une puissance de 2 (N=12, 20, 24, 28, 36...)^[62].

Lorsque les interactions entre les facteurs ne sont pas négligeables, les résultats ne permettent pas de distinguer certains effets majeurs des interactions. C'est ce qu'on appelle des variables parasites. C'est pour cela que les plans Plackett-Burman sont très efficaces pour des techniques de screening (*dépistage* en français) où seulement les principaux effets sont recherchés. Ainsi la conception d'un plan PB à deux niveaux, avec une matrice de taille N, ne peut pas contenir plus de N-1 facteurs différents.

2.3.2. Central Composite Design (CCD)

En statistique, un Central Composite Design (*plan central composite* en français) est un modèle expérimental pour la construction d'un modèle quadratique de second ordre en fonction d'une variable de réponse. Une fois le plan d'expérience réalisé, une régression linéaire est utilisée, parfois de manière itérative, pour obtenir des résultats.

Le plan consiste en trois types de points (Figure 21a) :

- Les 2n points axiaux
- Les 2ⁿ points du carré
- Le point central

Les gammes de paramètres de contrôle (valeurs minimales et maximales) sont mis à une échelle de [-1;+1]. Il existe 3 types de CCD qui ont la même structure, mais un arrangement de points différents : le « Central Composite Circumscribed » (CCC), le « Central Composite Inscribed (CCI) et le « Central Composite Face-centered » (CCF)^[63].

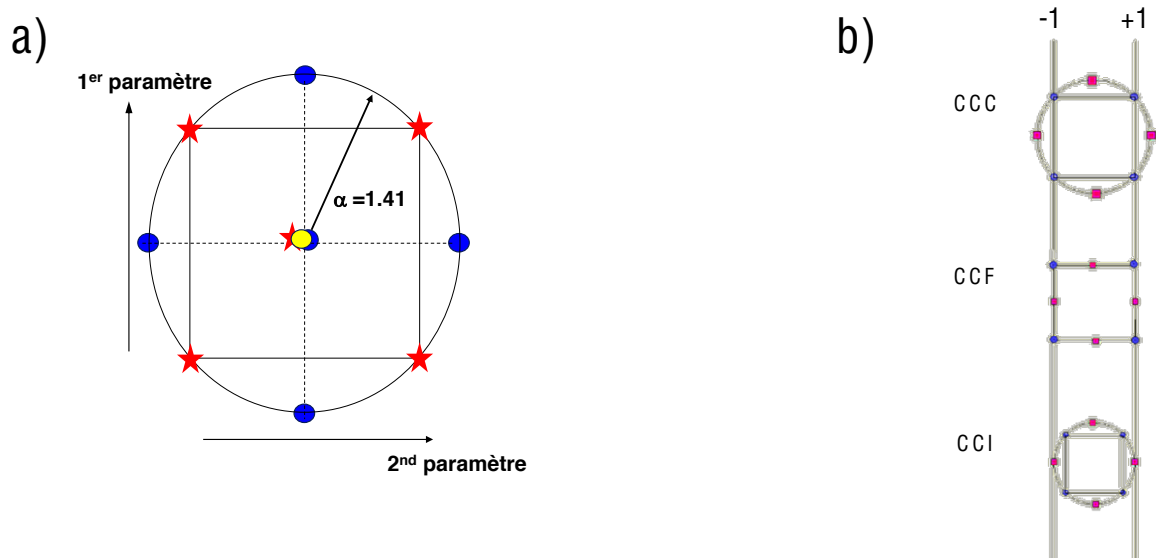


Figure 21: a) Plan Plackett-Burman sous forme géométrique avec les points axiaux en bleu (cercles), les points du carré en rouge (carrés) et le point central en jaune, b) Comparaison des trois types de Central Composite Design

La valeur de α doit varier en fonction du nombre de facteurs selon la formule

$$\alpha = [2k]^{1/4} \quad (14)$$

avec k facteurs (Figure 22)^[64].

Nombre de facteurs	Valeurs de α relative à ± 1
2	$2^{2/4} = 1.414$
3	$2^{3/4} = 1.682$
4	$2^{4/4} = 2.000$
5	$2^{5/4} = 2.378$
6	$2^{6/4} = 2.828$

Figure 22 : Valeurs de α relative à ± 1 en fonction du nombre de facteur obtenue par l'équation 14

2.4. Méthodes théoriques

2.4.1. La théorie de la fonctionnelle densité (DFT)

Dans cette partie, nous expliquerons brièvement les bases de la théorie de la méthode de calcul utilisée.

La théorie de la fonctionnelle densité, couramment appelée DFT pour Density Functionnal Theory^[65], est une méthode de modélisation moléculaire utilisée en physique et en chimie pour étudier la structure électronique de systèmes à plusieurs corps. Donc cette théorie, les propriétés d'un système à plusieurs électrons vont être déterminées en utilisant des fonctionnelles, à savoir des fonctions d'autres fonctions, qui dans ce cas sont dépendantes de la densité d'électrons dans l'espace.

Dans le cas de la DFT décrits par Kohn et Sham^[66], le problème insoluble à plusieurs corps d'électrons en interaction dans un potentiel statique, est réduit à un problème traitable d'électrons sans interactions qui se déplacent dans un potentiel effectif. Le potentiel effectif comprend le potentiel externe et les interactions de Coulomb entre les électrons, correspondant aux interactions d'échange et de corrélation. Cependant malgré les récentes améliorations en DFT, il y a toujours des difficultés pour décrire les interactions intermoléculaires, notamment les forces de dispersion que sont les forces de Van der Waals. Pour résoudre ce problème, le développement de nouvelles méthodes DFT se concentre sur l'ajout de termes supplémentaires^[67] ou sur des modifications des fonctionnelles^[68].

2.4.2. Calcul de la section efficace de collision théorique

Les sections efficaces de collisions déterminées par la mobilité ionique sont, sans aucun doute, dépendante de la forme de l'ion. Cela a été clairement démontré dans le cas de clusters de carbones^[69]. Cependant, les sections efficaces obtenues expérimentalement sont le résultat de collisions avec le gaz, et donc il n'est pas simple de comprendre comment les coordonnées cartésiennes d'une structure théorique peuvent être converties en section efficace de collisions. Les premières recherches sur le sujet ont montré que la section efficace de collisions pouvait être reliée à l'intégrale de l'énergie cinétique de collisions^[70]. Malheureusement, ces intégrales sont difficiles à évaluer pour les systèmes non-sphériques. Toutefois, il a été montré que, dans de nombreux cas, la simple projection des sections de collisions est une excellente approximation de l'intégrale de collisions.

Il y a actuellement trois méthodes qui sont couramment utilisées, chacune ayant des performances différentes selon le nombre d'atomes considérés. La première est l'approximation par projection (PA), qui peut être vue comme l'ombre d'une structure projetée sur une surface. Ce modèle est adapté pour des systèmes ayant un nombre d'atomes compris entre 10 et 200^[71]. Pour des structures de plus de 1000 atomes, c'est le modèle EHSS (Exact Hard Sphere Scattering) qui est utilisé. Ce modèle consiste au calcul des trajectoires de sphères dures résultantes de collisions avec chaque atome de la structure^[72]. La troisième méthode est appelée TJ, car elle correspond en un calcul de TraJectoire sur un potentiel, de type Lennard-Jones et ion-dipôle induit, centré sur la position de chaque atome. C'est une méthode qui fonctionne pour toutes les tailles de structures. Cependant, c'est une technique très coûteuse en calcul, et donc en temps. C'est pour cela qu'elle est uniquement utilisée pour des structures comprises entre 200 et 1000 atomes^[73]. Comme ce mémoire porte sur l'étude de pesticides, c'est la méthode de Projection par Approximation qui sera utilisée, car les pesticides sont des molécules de petites tailles.

3. Méthodes

3.1. Echantillons

Une sélection de 159 pesticides (Annexe 7), ayant une ionisation positive en ESI, est établie d'après la liste des programmes officiels, nationaux et communautaires de surveillance. Les solutions standards (Dr. Ehrenstrofer GmbH, Ausburg, Germany) nous ont été fournies par l'Institut Scientifique de Santé Public (ISP) de Bruxelles. Ces dernières sont conditionnées dans du méthanol (Fluka Analytical) à une concentration d'environ 1 mg/mL. Aussi bien les solutions standards que les solutions préparées ultérieurement sont soigneusement conservées au congélateur à 246K (-27°C) afin d'éviter tout risque de dégradation.

Pour les analyses en injection directe sur le spectromètre de masse, les solutions stocks sont diluées dans un milieu 5 mM en acétate d'ammonium (NH₄OAc) et 50/50 en H₂O/méthanol (MeOH) afin d'obtenir une concentration de 1 µg/mL pour chaque pesticide. Pour les mesures où la chromatographie liquide est couplée au spectromètre de masse (LC-MS), les pesticides sont analysés par mélanges de 10 composés à une concentration de 100 ng/mL. Ces dilutions sont réalisées dans un milieu 90/10 en H₂O/MeOH en présence d'une concentration de 5 mM en acétate d'ammonium.

Par la suite, les analyses des pesticides sont réalisées sur échantillons réels en LC-MS. Pour cela, des échantillons de laitue et de fraise sont fournis par l'Institut Scientifique de Santé Publique (ISP) où la préparation des solutions à déjà été réalisée selon la méthode Granby et al.^[74]. Un récapitulatif de cette méthode est reprise dans la Figure 23.

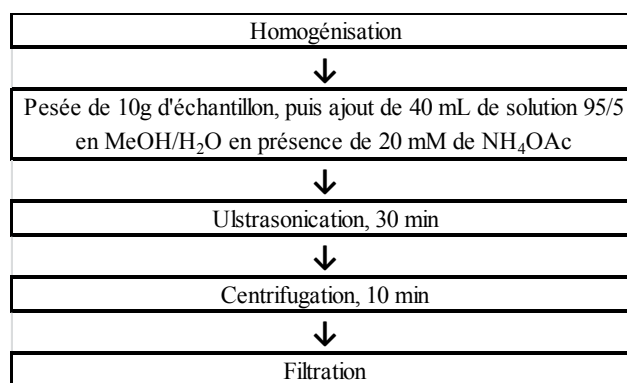


Figure 23 : Schéma de la méthode utilisés par l'Institut de Santé Publique pour préparer les échantillons de matrice^[74]

Lors des analyses en LC-MS/MS réalisées à l'ISP, après dilution, le milieu contient 60% de matrice, un rapport 50/50 en H₂O/MeOH, ainsi qu'une concentration de 5 mM en NH₄OAc. Les solutions avec matrice sont préparées à Liège dans les mêmes conditions. Quant aux échantillons de salades, les solutions fournies contenaient de la matière en suspension, c'est pourquoi cette matrice a

été filtrée sur des filtres Chromafil® AO-45/25 (diamètre des pores : 0.45µm, diamètre de la membrane : 25 mm, nombre de filtres empilés : 100). Pour les analyses sur échantillons réels, les matrices ont été « spikées » après. Lors de ce procédé, les pesticides sont ajoutés à l'extrait à la fin de la préparation de l'échantillon. Cette procédure permet d'éviter les problèmes de rendement de la méthode. Par des soucis de détection, nous avons choisi de spiker à une concentration de 100 ng/g de matrice pour chaque pesticide.

3.2. Analyses

Les analyses ESI-IM-MS sont réalisées sur un spectromètre Synapt HDMS G2 (Waters®, Manchester, UK) en mode d'ionisation positif. Les paramètres de la source, identiques pour toutes les analyses, sont repris dans le tableau suivant :

Paramètres de la source	
Voltage capillaire	3.0 kV
Sampling cone	30.0 V
Extraction cone	6.0 V
Température de la source	120°C
Température de désolvatation	300°C

Figure 24 : Paramètres de source du Synapt G2 utilisés pour l'analyse des pesticides

Les analyses LC-ESI-IM-MS sont réalisées sur un Synapt G2 couplé à une CapLC (Waters®). Le montage chromatographique peut se voir en deux parties : l'une concernant le chargement de l'échantillon, et l'autre se rapportant à la séparation sur la colonne. Le schéma concernant le chargement est repris à la Figure 25.

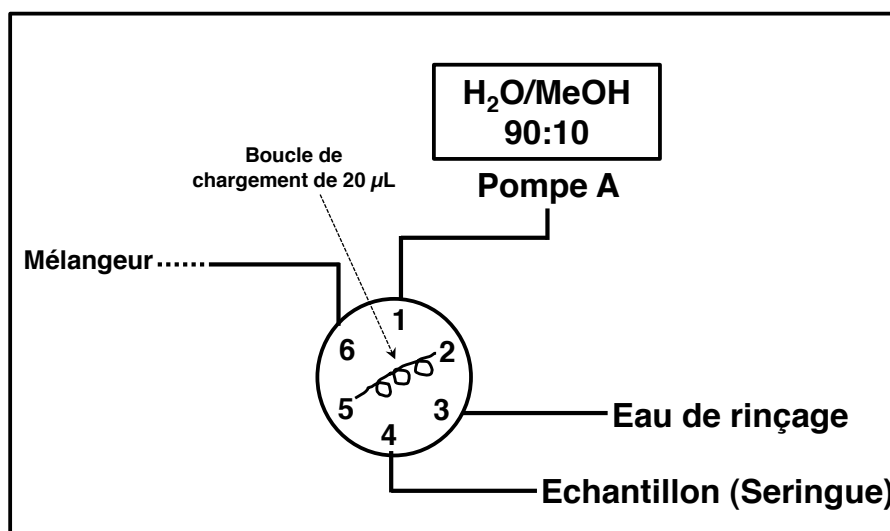


Figure 25 : Schéma du montage HPLC concernant la partie du chargement de l'échantillon.

L'injection de l'échantillon se fait sur la boucle de chargement par un processus appelé « *partial loop* ». Ce dernier consiste en une séquence : Phase A – air – échantillon – air – Phase A. L'échantillon est ainsi entouré de deux bulles d'air, elles même entourées de phase A. Comme le volume de la boucle est de 20 μL , nous injectons seulement 10 μL d'échantillon, afin que le processus *partial loop* puisse être réalisé sans surcharger la colonne.

Le schéma du montage de la CapLC concernant la partie séparation est repris à la Figure 26. Dans ce montage, une précolonne est placée avant la colonne d'analyse afin de concentrer les analytes, et également de filtrer des éléments qui pourrait obstruer la colonne, comme par exemple des éléments solides restés dans la matrice.

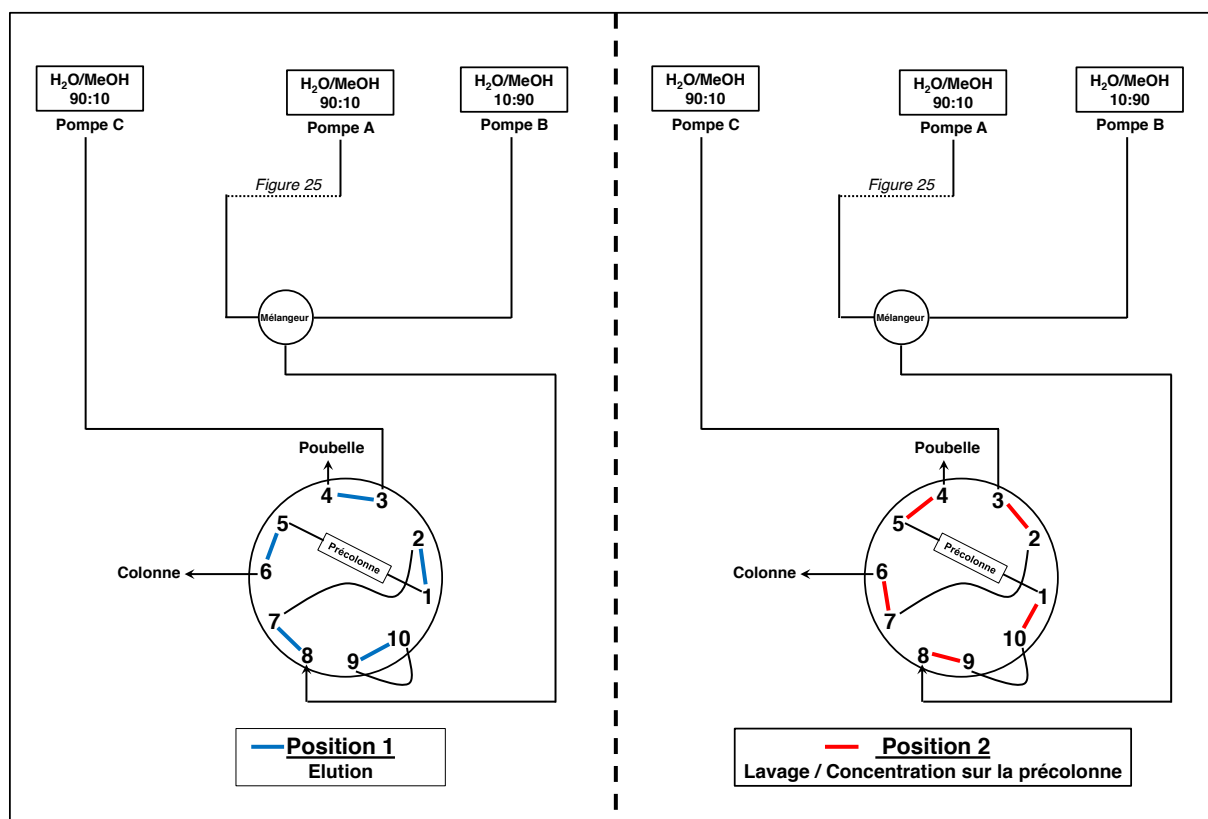


Figure 26 : Schéma du montage de la CapLC

Lors du gradient, il y a deux positions pour les vannes de débit. La position 1 correspond à l'étape d'analyse : l'échantillon présent sur la précolonne part dans la colonne à l'aide des solvants A et B. La position 2 correspond aux étapes de concentrations de l'échantillon sur la précolonne ainsi qu'au lavage de la colonne, les solvants sont envoyés à la poubelle (Figure 25).

Lors de ce mémoire, la colonne utilisée est une colonne fournie par Dionex, de type capillaire, se déclinant sous le nom de *Acclaim C18PepMap100 3 μm* (C18, diamètre 300 μm x longueur 15 cm, taille des particules 3 μm , taille des pores 100 \AA). Quant à la précolonne, elle est identique à la colonne, excepté sa longueur qui est de 1 cm au lieu de 15 cm pour la colonne.

La séparation est effectuée à l'aide d'un gradient linéaire (Figure 27) en utilisant comme Phase A un milieu 90/10 en H₂O/MeOH et comme Phase B un milieu 10/90 en H₂O/MeOH. Ces deux Phases sont préparées en milieu NH₄OAc 5 mM. Une solution de reconditionnement de la colonne contenant un mélange 10/90 en H₂O/MeOH est également préparée. Une fois ces solutions préparées, afin de dégazer ces dernières, les récipients sont mis dans une cuve à ultrasons pendant 30 minutes.

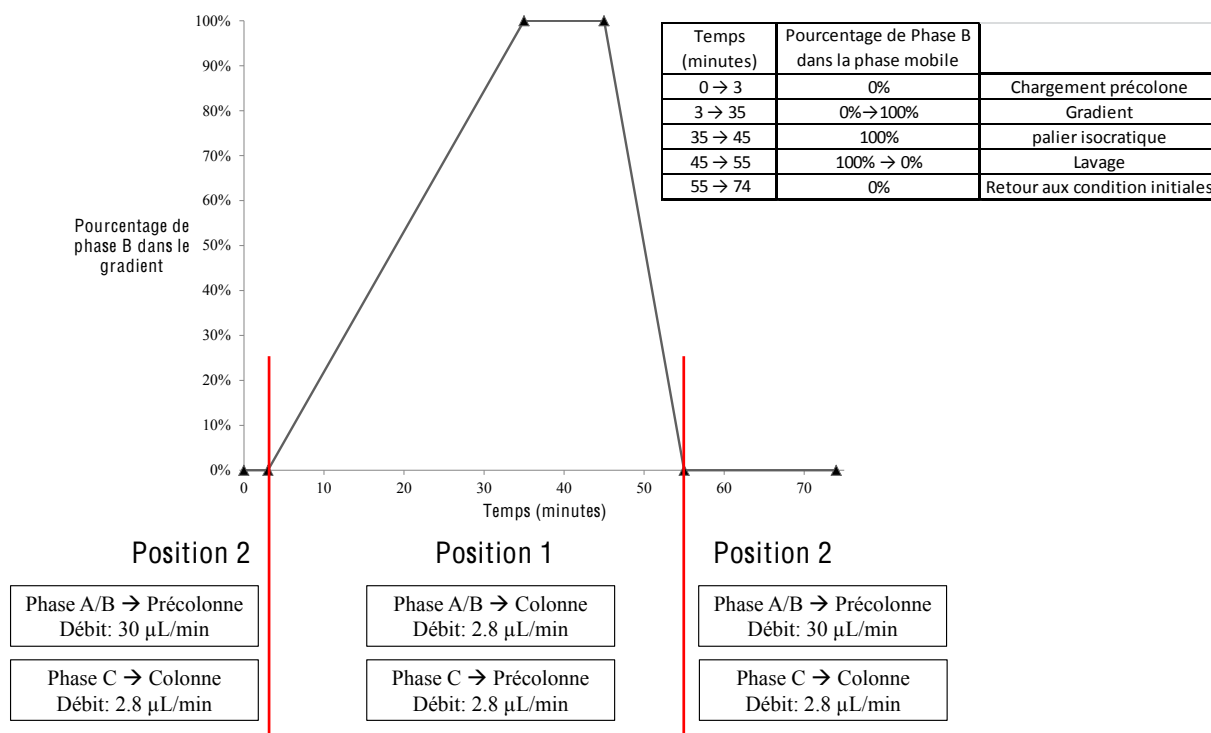


Figure 27 : Gradient d'éluant appliqué au cours de la séparation chromatographique sur la CapLC

De par le changement de position des vannes, il est possible d'appliquer un haut débit de 30 µL sur la précolonne, avant et après le passage de l'échantillon, afin de bien nettoyer cette dernière.

4. La séparation des pesticides en mobilité ionique

Dans cette partie, nous étudierons tout d'abord l'influence du gaz sur la séparation des pesticides. Le choix du gaz est un élément primordial pour la suite de ce mémoire, car ce dernier sera utilisé dans la cellule de séparation tout au long de l'étude. Par la suite, les paramètres de mobilité ont été optimisés grâce à des tests statistiques (Plackett-Burman et Central Composite Design) pour plusieurs gammes de masse ($m/z = 100-900$ et $100-500$). Une fois ces paramètres établis, notre intérêt s'est porté sur la séparation d'isomères par mobilité ionique, notamment pour des molécules isobares (quinalphos et phoxim) et pour les isomères E/Z du mevinphos. Les résultats de mobilité sont appuyés par des calculs théoriques (Density Functionnal Theory) et de sections efficaces (méthode par Approximation par Projection), ainsi que par des analyses de fragmentation MSⁿ. L'étude s'est ensuite poursuivie sur un contexte plus général où les mesures ont été réalisées sur un plus grand nombre de pesticides. Ainsi nous avons réussi à séparer les deux plus grandes familles de pesticides que sont les organophosphorés et les carbamates, tout en montrant que ces résultats étaient très reproductibles.

4.1. Calibration de la cellule de mobilité

4.1.1. Choix du gaz de séparation

La sélection du gaz de séparation le plus approprié est la première étape lors du développement d'une méthode d'analyse par mobilité ionique. Les gaz couramment utilisés sont l'azote (N₂), le dioxyde de carbone (CO₂) et l'hélium (He). Le choix du gaz de séparation est effectué en fonction des performances obtenues avec chacun des gaz. Les critères choisis pour tester ces gaz sont l'intensité du pic moléculaire du spectrogramme ainsi que la résolution et la séparation des pics sur le mobilogramme. Dans ces paragraphes, les réponses seront comparées qualitativement.

Pour cela, quatre pesticides ont été sélectionnés : le methamidophos ($m/z=142.0092$), le mepanipyrim ($m/z=224.1301$), le dichlorvos ($m/z=220.9537$) et le spinosad ($m/z=732.4687$) (Figure 28). Ces quatre pesticides ont l'avantage de couvrir la gamme de masse tout en présentant des structures moléculaires différentes. La détermination du gaz ayant le meilleur pouvoir de séparation pourra principalement être observée par la divergence des pics du mepanipyrim et du dichlorvos qui ont des masses relativement proches. Les paramètres de la cellule IMS sont modifiés pour chaque gaz de façon intuitive par l'expérimentateur afin d'obtenir les meilleures séparations, résolutions et intensités possibles. Une fois le gaz adéquat déterminé, les paramètres de mobilité seront réoptimisés à l'aide de plans d'expérience pour éviter tout biais dû à l'expérimentateur.

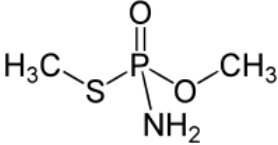
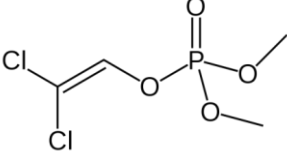
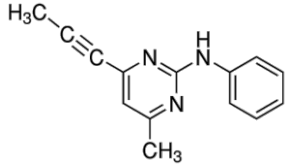
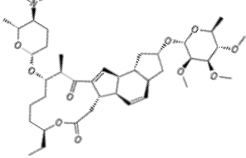
Nom	Formule brute	m/z	Formule développée
methamidophos	$C_2H_8NO_2PS$	141.0013	
dichlorvos	$C_4H_7Cl_2O_4P$	219.9459	
mepanipyrim	$C_{14}H_{13}N_3$	223.1109	
spinosad	$C_{41}H_{65}NO_{10}$	731.4608	

Figure 28 : Formule et structure des 4 pesticides utilisés dans la détermination du gaz de séparation

Le mobilogramme obtenu dans l'hélium (Figure 30a) montre que la séparation des ions est satisfaisante avec ce gaz. En effet, les pics des trois pesticides compris entre 140 et 220 daltons sont très bien séparés. De plus, l'intensité de tous les pics est supérieure avec l'hélium en comparaison à l'azote et au dioxyde de carbone. Cependant, ces pesticides à faible temps de mobilité ont tendance à sortir « trop vite », c'est-à-dire avant que le mobilogramme ne soit enregistré. Cela se voit avec le pic du methamidophos est coupé du côté gauche. En ce qui concerne les pesticides à haut temps de mobilité, la résolution et la séparation sont mauvaises avec l'hélium. En effet, le pic du spinosad est très étalé et donc de faible intensité. De plus, si plusieurs pesticides sortent dans ce laps de temps, il y aura sans nul doute un recouvrement. Cela est dû à la faible densité de l'hélium (volume polarisable = $0.21 \cdot 10^{23} \text{ cm}^3$, Figure 29) qui entraîne un nombre réduit de collisions entre le gaz et les molécules d'intérêt. Les ions volumineux sont donc fortement ralentis par une quantité importante de petites collisions avec les atomes d'hélium.

Contrairement au spectre de mobilité obtenu dans l'hélium, dans l'azote, la résolution des pics est convenable quel que soit la taille et la structure des ions pour le mobilogramme obtenu (Figure 30b). Le seul désavantage de l'azote vis-à-vis de l'hélium concerne l'intensité des pics des ions de faible masse. En effet, l'intensité du pic du methamidophos a diminué de moitié avec l'azote, mais reste de très bonne qualité.

Le dioxyde de carbone, quant à lui, sépare mal les ions de masse proche (Figure 30c). Cela se voit par le recouvrement des pics du methamidophos et du dichlorvos. De plus, l'intensité des pics de

ces deux derniers est inférieure à ceux obtenus avec l'hélium et l'azote. Cela est probablement dû à une fragmentation des ions dans la cellule de mobilité. En effet, le CO₂ étant le gaz étudié ayant le plus grand volume polarisable (2.91*10²³ cm³, Figure 29), les ions de faible masse ont tendance à plus se fragmenter dans la cellule de mobilité.

Gaz de mobilité	Masse moléculaire (uma)	Volume polarisable (x10 ²³ cm ³)	Rayon effectif (Å)
Hélium	4.0026 (⁴ He)	0.21	1.03
Azote	28.0061 (N ₂)	1.74	1.73
Dioxyde de carbone	43.9898 (¹² C ¹⁶ O ₂)	2.91	2.02

Figure 29 : Quelques propriétés des gaz de séparation étudiés^[75]

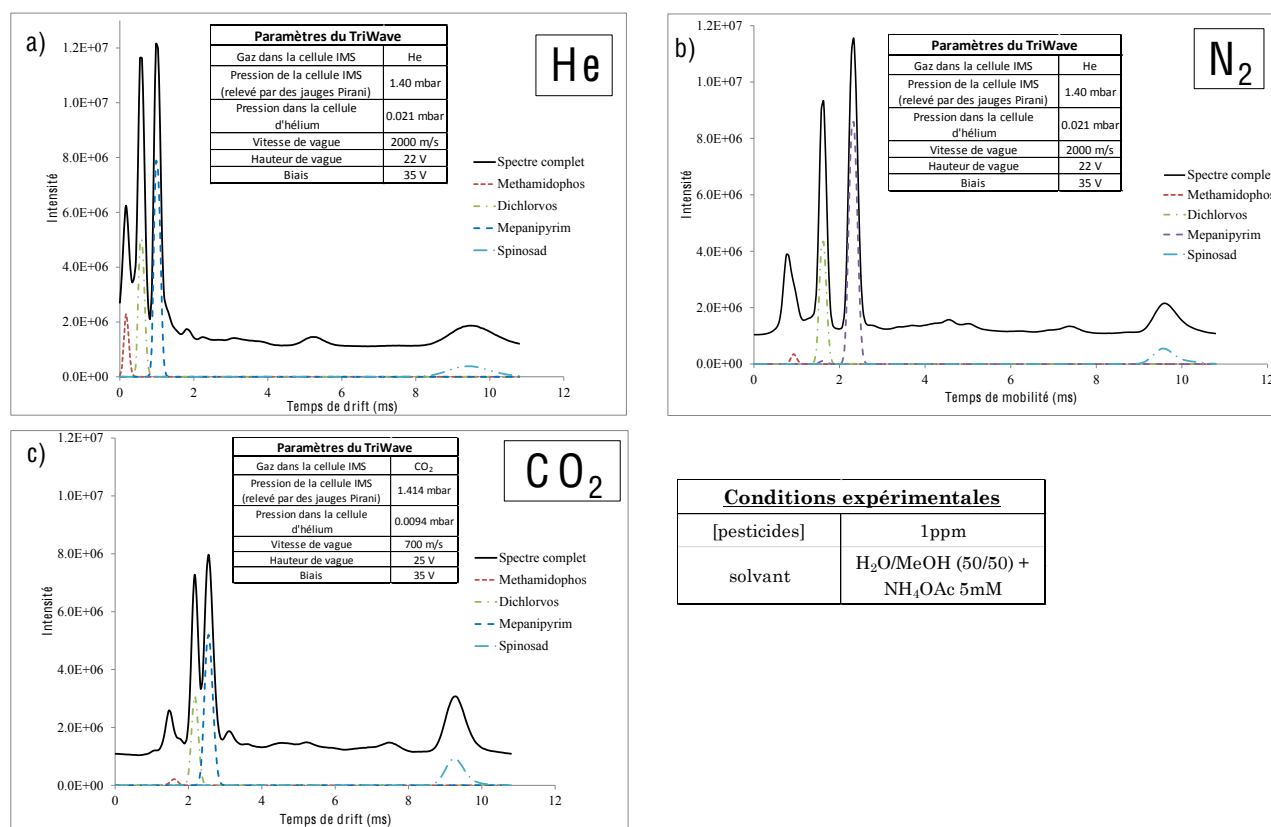


Figure 30 : Mobilogrammes des quatre pesticides testés dans l'azote (a), l'hélium (b) et le CO₂ (c). L'azote combine les avantages d'obtenir le meilleur pouvoir de séparation et la meilleure résolution

Le résumé des différents avantages et désavantages de chaque gaz est repris ci-dessous (Figure 31). En conclusion, l'azote est le gaz qui permet la meilleure séparation des pesticides dans la gamme de masse étudiée. Ce gaz est également le meilleur compromis entre la résolution des pesticides de hauts poids moléculaires et l'intensité des pesticides de faibles poids moléculaires. Il sera donc choisi pour la suite de cette étude.

	Résolution des pics pour les ions de faible masse	Résolution des pics pour les ions de haute masse	Séparation ions de masse proche	Intensité du pic de l'ion moléculaire
He	✓	✗	✓	✓
N ₂	✓	✓	✓	✓
CO ₂	✓	✓	✗	✗

Figure 31 : Tableau récapitulatif des avantages et inconvénients des différents gaz de séparation

4.1.2. Choix des paramètres de mobilité

Nous avons remarqué que les 159 pesticides dont nous disposons se situaient dans la gamme de masse 100-900, mais que la majorité (156) se trouvait dans une gamme de masse de 100 à 500 daltons. Il faut savoir que chaque année, de nouveaux pesticides sont mis sur le marché et donc que la liste des composés à analyser s'agrandit.

La gamme de masse est une donnée qui est directement liée à l'analyseur à temps de vol (ToF). Une modification de la gamme de masse sur le ToF entraîne un changement automatique de l'échelle de mobilité. En effet, pour une gamme de masse supérieure à 600 daltons, les 200 coups enregistrés sur le mobilogramme représentent une échelle de 0 à 11 ms, soit un coup toutes les 0.04 ms. Tandis que pour une gamme de masse inférieure à 600 daltons, les 200 coups correspondent à une échelle de 0 à 7.6 ms, soit un coup toutes les 0.06 ms. C'est pour cela qu'il nous a semblé intéressant d'avoir une calibration des paramètres de mobilité dans les deux gammes de masse d'intérêt, 100-500 et 100-900.

- **Etude la mobilité des pesticides dans la gamme de masse 100-900**

La pression dans la cellule d'hélium, la pression dans la cellule IMS, la hauteur de vague, la vitesse de vague, et le biais sont les cinq paramètres de mobilité du Triwave qui vont être optimisés. Pour cela, nous avons choisis les quatre mêmes pesticides utilisés lors de la détermination du gaz de séparation (Figure 28). Selon les critères d'intensité du pic de l'ion moléculaire, de la résolution et de la séparation des pics de mobilité, nous avons établi un plan Plackett-Burman. Ceci a permis de sélectionner les deux paramètres de mobilité les plus influents que nous avons analysé par la suite avec un plan Central Composite toujours selon les mêmes critères.

Tout d'abord, les paramètres de source (Figure 32) et les différents paramètres autres que ceux de mobilité ont été choisis qualitativement par l'expérimentateur afin d'optimiser l'intensité du signal.

Paramètres de la source	
Voltage capillaire	3.0 kV
Sampling cone	30.0 V
Extraction cone	6.0 V
Température de la source	120°C
Température de désolvatation	300°C

Figure 32 : Paramètres de la source ESI

Puis, afin de déterminer quels paramètres de la cellule de mobilité sont déterminants dans la séparation des pesticides, nous avons réalisé un plan de Plackett-Burman (PB). Les bornes -1 de chaque paramètre ont été déterminées expérimentalement afin d'obtenir le meilleur rapport signal/bruit. Quant aux bornes +1, elles ont été choisies selon les mêmes critères tout en sachant que le nombre de scans en mobilité est limité à 200, correspondant à 7.6 ms dans cette gamme de masse, et donc qu'aucunes valeurs du plan d'expérience ne pouvaient être supérieures à ce temps. Il faut noter que les valeurs de la pression de la cellule IMS et de la cellule d'hélium indiquées par la suite correspondent aux nombres entrés dans le software Masslynx fournis par Waters® et ne représentent pas directement les pressions en mbar mesurées.

Ce plan PB à 2 niveaux (-1 et +1) comprend 12 expériences aléatoires choisis par le logiciel JMP 7.0 et 3 expériences avec les paramètres moyens (tous les paramètres à « 0 »). Les résultats s'appuieront sur différents critères. Ces derniers sont la séparation des pics de mobilité (distance entre deux pics de composés différents), la résolution des pics de mobilité (temps/largeur à mi-hauteur d'un pic) et l'intensité du pic de l'ion moléculaire. Le plan est présenté ci-dessous (Figure 33).

Runs	Biais	Vitesse de vague	Hauteur de vague	Pression dans la cellule d'hélium	Pression dans la cellule IMS
---+--	-1	-1	1	-1	-1
00000	0	0	0	0	0
-+----	-1	1	-1	-1	1
+----+	1	-1	-1	-1	1
+-----	1	-1	1	1	1
++++--	1	1	1	-1	-1
-++++-	-1	1	1	1	-1
+-----	1	1	-1	-1	-1
+----+	1	-1	-1	1	-1
--++--	-1	-1	1	-1	1
00000	0	0	0	0	0
-+----	-1	1	-1	1	1
-----	-1	-1	-1	1	-1
+++++	1	1	1	1	1
00000	0	0	0	0	0

	-1	0	1
Biais (V)	25	30	35
Vitesse de vague (m/s)	500	750	1000
Hauteur de vague (V)	30	25	20
Pression dans la cellule d'hélium (unité arbitraire)	50	115	180
Pression dans la cellule IMS (unité arbitraire)	20	45	70

Figure 33 : Plan de Plackett-Burman à 2 niveaux appliqué pour l'optimisation des paramètres de mobilité dans la gamme de masse 100-900

Pour chaque expérience et pour chaque pic des composés d'intérêt, l'intensité du pic sur le spectre de masse ainsi que le temps et la largeur à mi-hauteur du pic sur le mobilogramme sont relevés. De par ces valeurs, les trois critères d'intérêt sont calculés grâce au logiciel JMP qui les convertit en graphiques (Figure 34).

Afin de déterminer quels paramètres sont les plus influents, il faut définir ceux qui ont la variation la plus grande entre les deux bornes extrêmes, -1 et +1. Comme on peut le voir sur la Figure 34, il y a une variation notable entre les bornes pour les cases A1, F1, K1, F3 et K3 qui correspondent au biais, ainsi que pour les cases E1, J1, E2, J2, E3, J3 et T3 qui coïncident avec la pression dans la cellule IMS (P_{IMS}). Quant aux autres paramètres, que sont la pression dans la cellule d'hélium (P_{He}), la hauteur de vague et la vitesse de vague, la variation est plus faible entre les bornes, et donc ces paramètres sont peu influents dans la séparation des pesticides. Bien qu'il puisse sembler que la pression dans la cellule d'hélium peut être influente, ce dernier paramètre est lié à la pression dans la cellule IMS car les deux compartiments ne sont pas hermétiquement isolés (2.1.2, Figure 8). L'hélium servant principalement à ralentir les ions avant leur entrée dans la cellule de mobilité, le paramètre de pression dans la cellule IMS a été préféré à celui de la pression dans la cellule d'hélium. Pour plus d'informations concernant l'influence de chaque paramètre de mobilité, voir le point 2.1.2.3.

Les valeurs choisies pour les trois paramètres les moins influents vont être celles où les valeurs des critères de séparations sont les plus grands (valeur en ordonnée la plus grande sur la Figure 34). Comme le montre les droites en pointillées (Figure 34), la meilleure valeur consensus de P_{He} est de 0 dans le plan PB soit une valeur correspondant à 115. Pour la hauteur de vague et la vitesse de vague, les meilleures valeurs sont respectivement de 0 et 0 soit 25 V et 750 m/s.

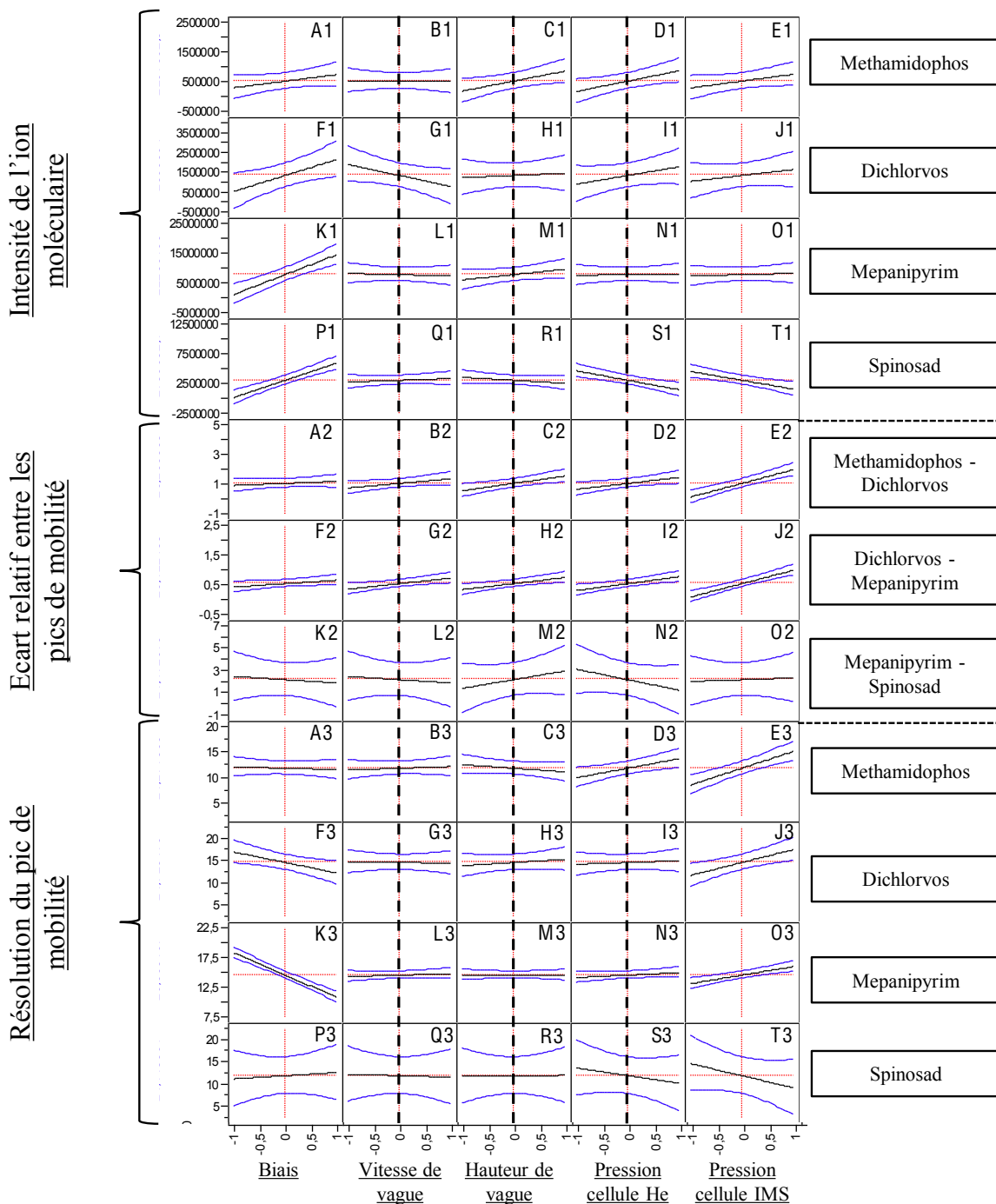


Figure 34 : Résultat graphique du plan Plackett-Burman pour les paramètres de mobilité dans la gamme de masse 100-900. Les courbes en bleu représentent l'erreur minimum et maximum pour chaque résultat. Il apparaît que les courbes correspondant à la vitesse de vague, à la hauteur de vague et à la pression dans la cellule d'hélium varient moins entre les bornes que celles des deux autres paramètres. Ainsi ce sont les paramètres les moins influents. Les droites en pointillées représentent les valeurs consensus choisies.

Une fois les trois paramètres les moins cruciaux mis de côté, les paramètres les plus influents (le biais et la pression dans la cellule IMS) ont subi un traitement statistique « Central Composite Design » (CCD) de type CCC (voir 2.3.2). Les critères de détermination sont les mêmes que ceux utilisés pour le plan Plackett-Burman. Quant aux bornes -1 et +1 de la pression dans la cellule IMS,

elles s'étalent sur une plus petite échelle, pour que le temps de mobilité établi dans les expériences avec la valeur A reste inférieure à 11 ms, qui est la limite du mobilogramme (Figure 35 et Figure 36).

Runs	Biais	Pression dans la cellule IMS
A 0	A	0
0 0	0	0
+ -	1	-1
0 0	0	0
0 a	0	a
0 0	0	0
0 0	0	0
- -	-1	-1
+ +	1	1
a 0	a	0
- +	-1	1
0 0	0	0
0 A	0	A

	a = -1.41	-1	0	1	A = 1.41
Biais	25	27.2	32.5	37.8	40
Pression dans la cellule IMS	30	36	50	64	70

Figure 35 : Plan Central Composite appliqué pour l'optimisation des deux paramètres de mobilité les plus influents dans la gamme de masse 100-900

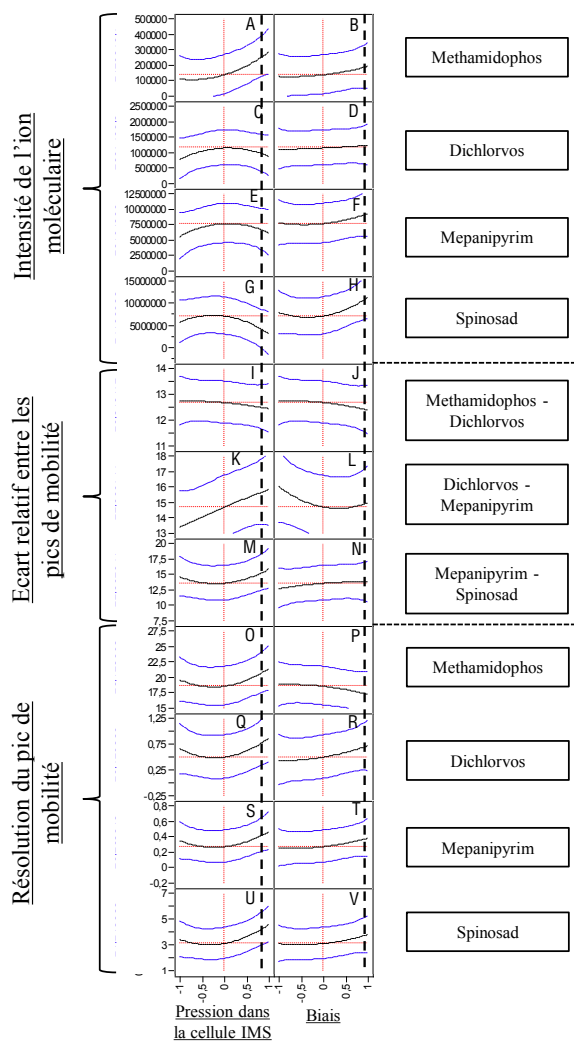


Figure 36 : Résultat graphique du plan Central Composite des deux paramètres de mobilité les plus influents pour la gamme de masse de 100 à 900. Les bornes supérieures semblent être les meilleurs paramètres à appliquer. Les courbes en bleu correspondent à l'erreur minimum et maximum pour chaque résultat. Les droites en pointillées représentent les valeurs consensus choisies.

Comme dans le cas des paramètres les moins influents, les valeurs sélectionnées seront des valeurs consensus afin d'avoir la meilleur intensité du pic de chaque ion moléculaire en MS, ainsi que la meilleure résolution et séparation des pics de mobilité. Comme le montre les droites verticales sur la Figure 36, les valeurs retenues sont, pour le biais, de +1 soit 37 V, et pour la pression dans la cellule IMS de +0.9 soit 55.

Le spectrogramme ainsi que le mobilogramme du mélange des quatre pesticides étudiés avec les paramètres de mobilité optimisés dans la gamme de masse $100 \leq m/z \leq 900$ sont repris ci-dessous (Figure 37 et Figure 38).

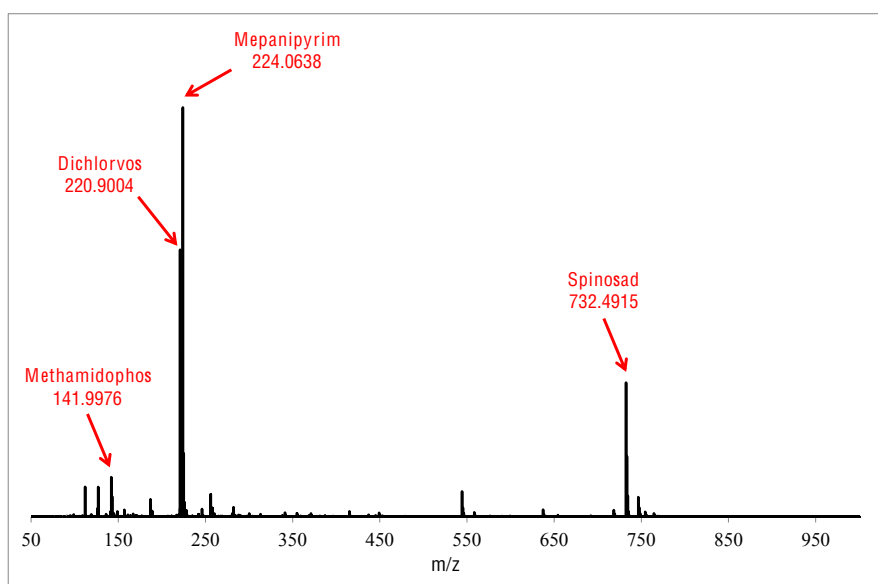


Figure 37 : Spectrogramme du mélange des 4 pesticides utilisés dans l'optimisation des paramètres de mobilité pour la gamme de masse 100-900

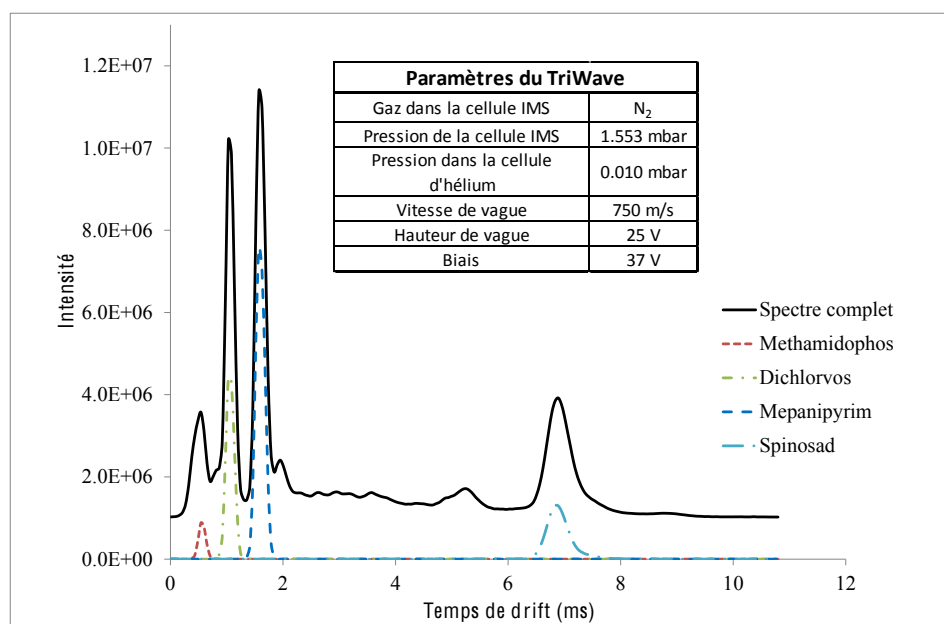


Figure 38 : Mobilogramme du mélange des 4 pesticides utilisés dans l'optimisation des paramètres de mobilité pour la gamme de masse 100-900. Les pics sont correctement résolus et bien séparés.

- Etude la mobilité des pesticides dans la gamme de masse 100-500

Comme pour la gamme de masse 100-900, les cinq paramètres de mobilité du Triwave qui vont être optimisés sont la pression dans la cellule d'hélium, la pression dans la cellule IMS, la hauteur de vague, la vitesse de vague et le biais. Les quatre pesticides qui vont permettre l'optimisation sont sélectionnés selon les mêmes critères qu'en 4.1.1. Deux pesticides représentatifs des bornes de la gamme de masse, le methamidophos ($m/z=141.0013$) et le furathiocarb ($m/z=382.1562$), et deux autres se situant au centre de la gamme avec un masse relativement proche, le dicrotophos ($m/z=297.0776$) et le pirimicarb ($m/z=238.1430$) ont été sélectionnés (Figure 39).

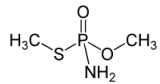
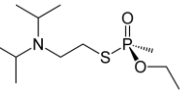
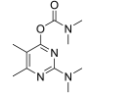
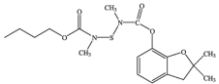
Nom	Formule brute	m/z	Formule développée
methamidophos	$C_2H_8NO_2PS$	141.0013	
dicrotophos	$C_8H_{16}NO_3P$	237.0766	
pirimicarb	$C_{11}H_{18}N_4O_2$	238.1430	
furathiocarb	$C_{18}H_{26}N_2O_5S$	382.1562	

Figure 39 : Formule et structure des 4 pesticides utilisés dans l'optimisation des paramètres de mobilité pour la gamme de masse 100-500

Comme précédemment, un plan Plackett-Burman est appliqué aux mêmes cinq paramètres de mobilité mais par contre seuls les critères de résolution et de séparation des pics de mobilité sont pris en compte. Nous avons considéré que l'intensité des ions moléculaires, étant toujours assez élevée entre les bornes choisies pour permettre leur détection, n'était donc pas un critère de décision assez important par rapport aux deux autres. Les bornes -1 et +1 ont aussi été modifiées du fait du changement de la gamme de masse qui conduit à un temps de mobilité maximum de 7.6 ms. Ces bornes, ainsi que les résultats du plan de PB, sont repris en annexe (Annexe 1).

Comme pour la gamme de masse $100 \leq m/z \leq 900$, les paramètres influents restent le biais et la pression dans la cellule IMS, tandis que la pression dans la cellule d'hélium, la hauteur de vague et la vitesse de vague restent moins influents. La pression dans la cellule d'hélium n'a pas été considérée comme influente pour les mêmes raisons qu'auparavant (gamme de masse 100-900).

A l'aide du plan Plackett-Burman, les valeurs pour des paramètres peu influents sont fixées. Les droites verticales de l'Annexe 2 montrent les meilleures valeurs pour ces trois paramètres. La pression dans la cellule d'hélium, la hauteur de vague et la vitesse de vague sont respectivement de 130, 28 V et 800 m/s.

Le même plan « Central Composite Design » de la gamme 100-900 est appliqué aux deux paramètres influents, la pression dans la cellule IMS et le biais (Annexe 3).

Les valeurs donnant les meilleurs résultats sont pour la pression dans la cellule IMS de 100 et de 37 V pour le biais (Annexe 4).

Ci-dessous est présenté le spectrogramme (Figure 40) et le mobilogramme (Figure 41) obtenu avec les paramètres optimisés pour la gamme de masse 100-500.

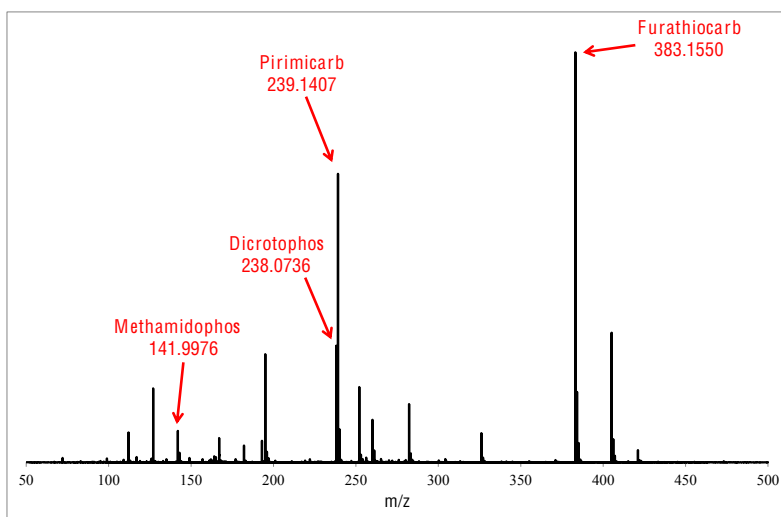


Figure 40 : Spectrogramme du mélange des 4 pesticides utilisés dans l'optimisation des paramètres de mobilité pour la gamme de masse 100-500

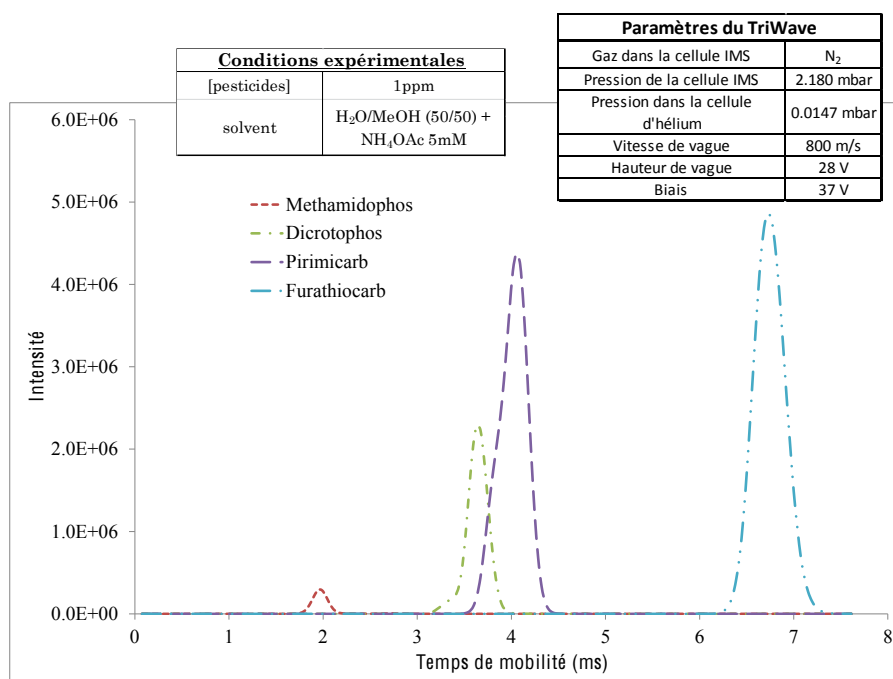


Figure 41 : Mobilogramme du courant reconstruit pour chacun des 4 pesticides utilisés dans l'optimisation des paramètres de mobilité pour la gamme de masse 100-500. Les pics sont correctement résolus et bien séparés.

4.2. Etude de pesticides par la mobilité ionique

Tout d'abord, nous avons testé la limite du pouvoir de séparation de la mobilité ionique. Pour cela, des analyses ont été réalisées sur différents types d'isomères : des isomères de constitution (phoxim/quinalphos) et des diastéréoisomères (mevinphos). Par la suite, notre intérêt s'est porté sur la séparation par mobilité ionique de deux grandes familles chimiques de pesticides que sont les organophosphorés et les carbamates.

4.2.1. Séparation d'isomères

- **Séparation d'isomères de constitution** : le phoxim et le quinalphos

Afin de voir jusqu'à quel point le pouvoir de résolution de la mobilité était important, nous avons menés des tests sur des pesticides qui avaient comme particularité d'être des isomères.

La première expérience a porté sur le phoxim et le quinalphos ($m/z=299.0619$) qui sont des isomères de constitution (ou isobares), c'est-à-dire qui ont la même formule brute mais une formule développée différente (Figure 42A). La particularité de ces deux pesticides est qu'ils ont une partie de leur formule développée identique. En effet, le quinalphos possède deux cycles aromatiques accolés tandis que pour le phoxim, la partie du cycle azoté est remplacée par les fonctions imine et cyanure. Les paramètres de mobilité ont été adaptés qualitativement à partir de ceux déterminés pour la gamme de masse 100-500 afin d'obtenir la meilleure séparation possible.

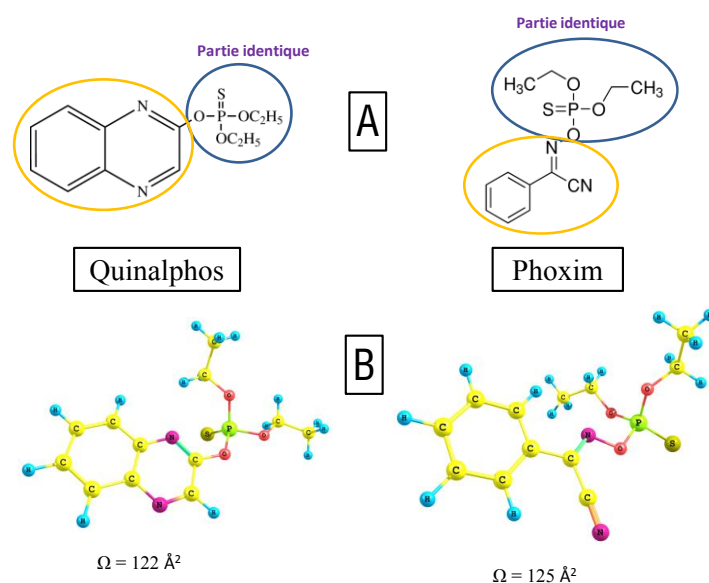


Figure 42: Structure 2D (A) et 3D (B) du quinalphos et du phoxim. La structure 3D est une optimisation conformationnelle obtenue par DFT avec la fonctionnelle B3LYP et le set de base 6-31(d). Les sections efficaces de collision Ω ont été obtenues par la méthode « Approximation par Projection (PA) »

Le mobilogramme résultant du mélange quinalphos/phoxim présente deux épaulements qui correspondent aux temps de drift des deux pesticides du mélange (Figure 43). Le seul fait d'avoir une partie organisée différemment dans la molécule est visible grâce à la mobilité ionique.

D'un point de vue théorique, la structure 3D d'une molécule peut être interprétée en fonction de sa section efficace de collisions. Pour cela, une optimisation conformationnelle en Density Functionnal Theory (DFT) par une fonctionnelle hybride B3LYP et un set de base 6-31G(d) est tout d'abord réalisée sur la structure 3D de la molécule. Puis un calcul d'Approximation par Projection (AP) sur la structure 3D optimisée permet d'obtenir la section efficace. Les valeurs obtenues pour le phoxim et le quinalphos sont respectivement de 125 \AA^2 et 122 \AA^2 (Figure 42B). Ces résultats confirment les observations expérimentales car le phoxim ayant la plus grande section efficace, aura donc un temps de mobilité plus grand que le quinalphos. Cependant l'écart n'étant que de 3 \AA^2 soit environ 2.5% de la section efficace, il est naturel que les deux pics obtenus dans le mobilogramme ne soit pas complètement résolu et se manifeste par un épaulement. De plus, il faut remarquer que les paramètres choisis font que les pics se retrouvent au maximum du temps de mobilité.

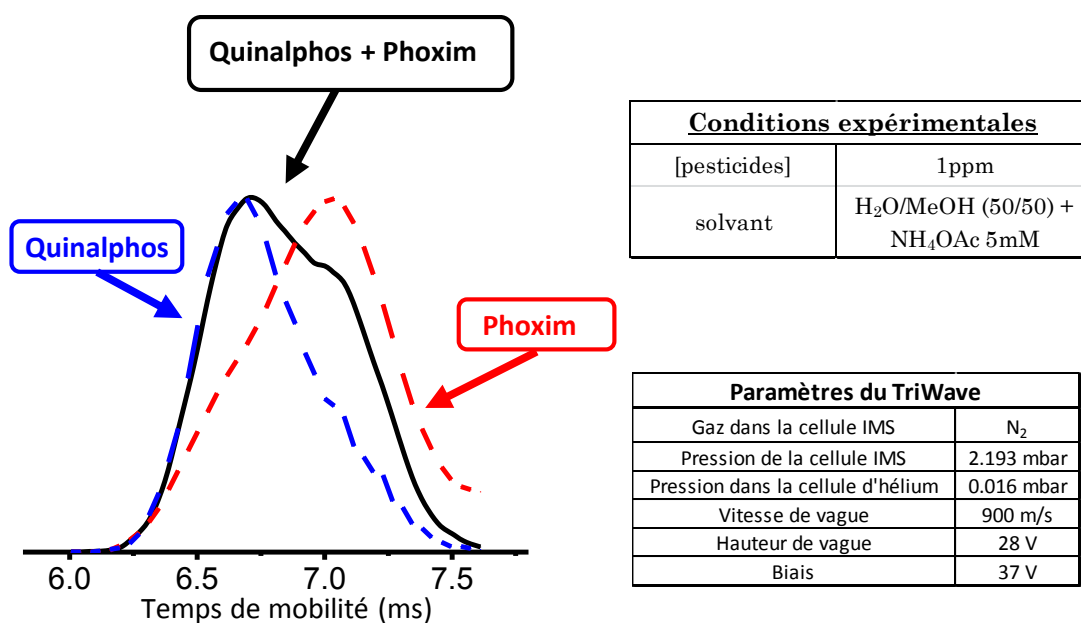


Figure 43: Mobilogramme du courant reconstruit à la masse 299.0619 du mélange d'isomère de structure quinalphos/phoxim. La mobilité ionique permet de séparer en partie ces molécules de même masse possédant une partie de leur structure identique.

Pour améliorer l'identification de ces deux pesticides, l'idée a été d'analyser le comportement des fragments de ces deux pesticides en mobilité. Pour cela, nous avons tout d'abord établi le spectre de fragmentation de chacun des pesticides étudiés par MS/MS à la masse de 299.0619 (Figure 44).

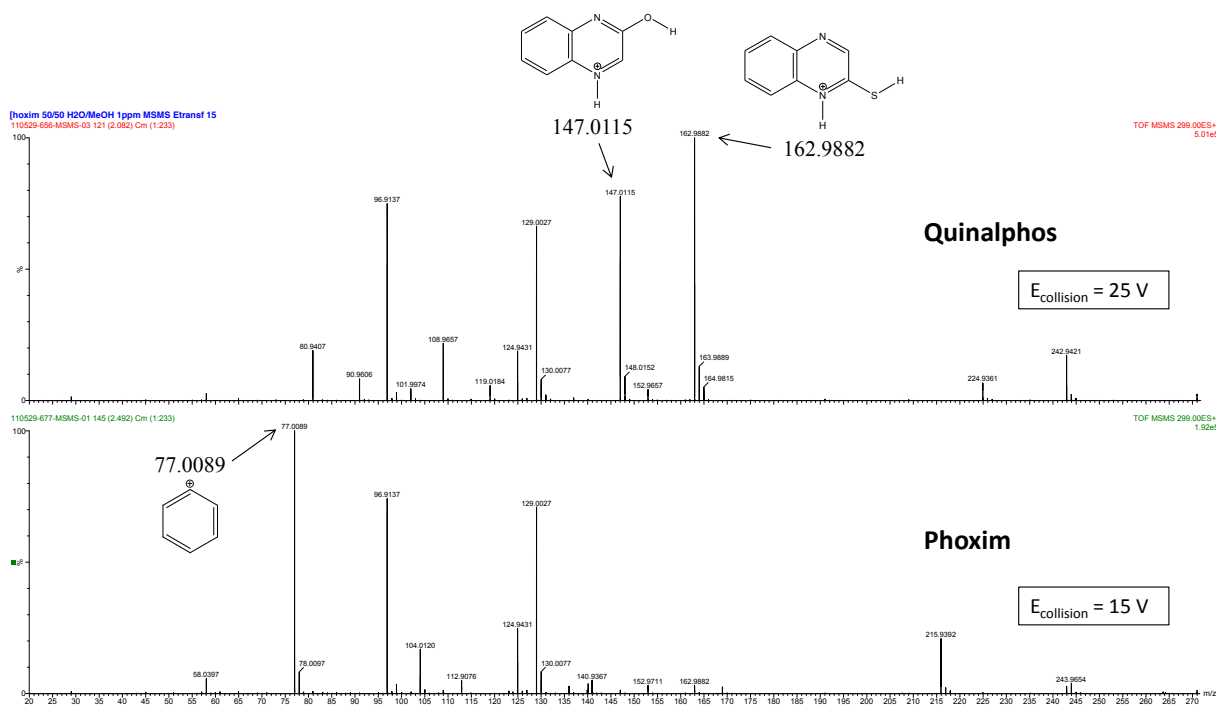


Figure 44 : Spectre de fragmentation du quinalphos et du phoxim. Les fragments caractéristiques du quinalphos ont pour masse 147.0115 et 162.9882, et celui du phoxim a pour masse 77.0089.

Il en résulte que les fragments caractéristiques du quinalphos ont pour masse 147.0115 et 162.9882^[76], et que celui du phoxim a une masse de 77.0089^[76]. Les fragments à 96.9137 et 129.0027 étant communs aux deux pesticides, n'ont pas été pris en compte. Ici, la mobilité ionique permet de connaître en plus de la masse, le temps de mobilité ionique des fragments. Pour cela, nous avons appliqué de l'énergie de collision dans le Trap (15V). Ainsi, comme les molécules sont fragmentées avant la cellule de mobilité, nous obtenons le mobilogramme des fragments de chaque pesticide (**Figure 45**). Le temps de mobilité des fragments nous permet donc de différencier les deux pesticides comme le montre le fragment caractéristique à 77.0089 du phoxim qui a un temps de mobilité de 3.10 ms, temps qui est différent de celui des fragments du quinalphos, respectivement de 3.52 ms et 3.75 ms pour les masses 147.0115 et 162.9882. De plus, ces pics du mobilogramme formés par les fragments sont bien mieux séparés que les deux parents, ce qui est logique, vu que les masses des fragments sont différentes. Il faut remarquer également que l'ordre des pics est inversé car le fragment caractéristique du phoxim est bien plus léger que ceux du quinalphos.

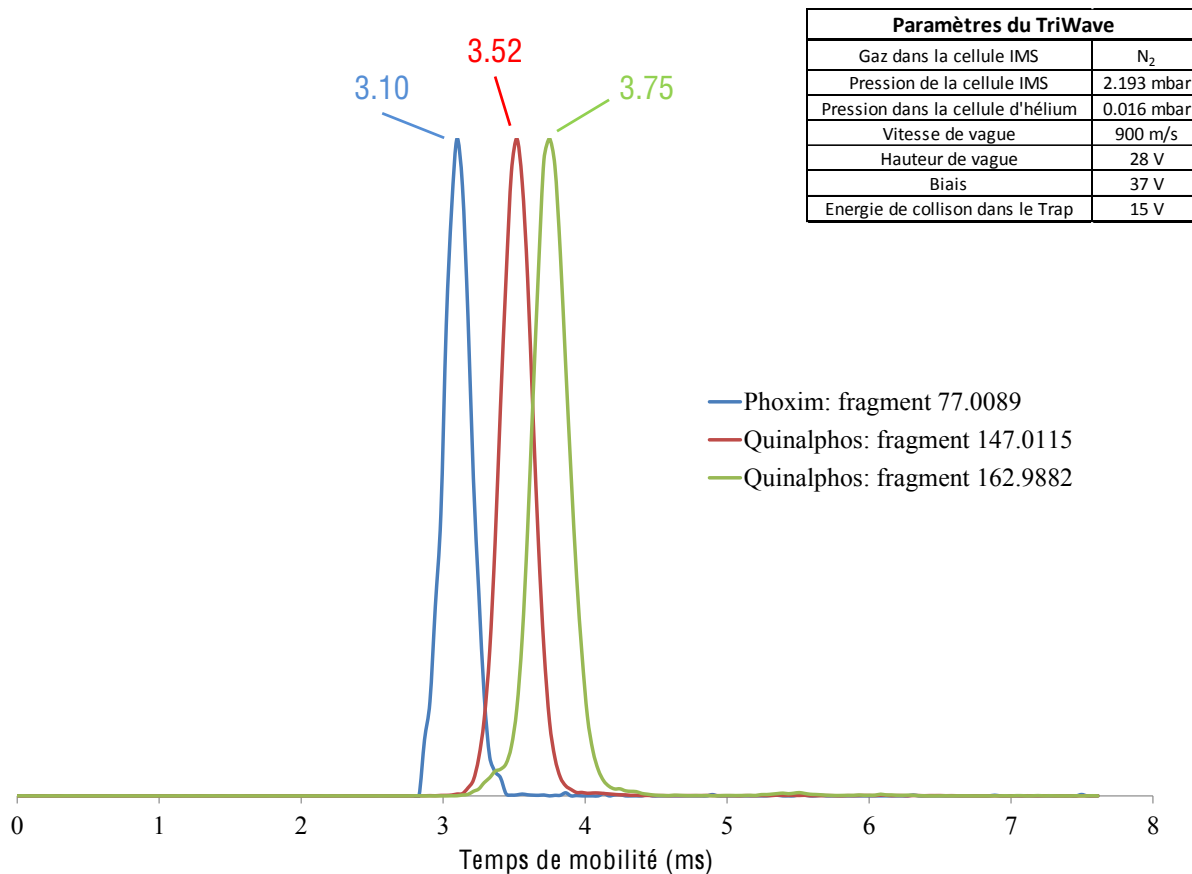


Figure 45 : Mobilogramme du courant reconstruit des fragments caractéristiques du mélange phoxim/quinalphos avec une énergie de collision dans le Trap de 15V. La séparation des fragments est bien meilleure que celle des parents.

Pour obtenir une double confirmation de la présence des deux pesticides dans le mélange, en plus de fragmenter dans le Trap, nous allons également fragmenter dans le Transfert. Dans ce cas, l'énergie de collision appliquée dans le Trap est moins importante (4V) que pour l'analyse MS/MS. Nous avons appliqué cette modification afin de garder assez de signal du pic moléculaire du phoxim, ce dernier étant beaucoup plus fragile que le quinalphos. Ainsi il y aura une faible fragmentation avant la cellule de mobilité, ce qui nous permettra d'obtenir le temps de mobilité des parents et des fragments, suivi d'une fragmentation plus forte après la cellule de mobilité, qui induira donc un signal plus intense des fragments, tout cela en une seule expérience (Figure 46). Afin que les pics soient plus visibles, il a fallu zoomer sur les zones mobilité des fragments d'intérêts. Pour le mobilogramme du courant reconstruit à 299.0619, les deux épaulements sont toujours présents, confirmant la présence du phoxim et du quinalphos. Le fragment à 77.0089 a deux temps de mobilité intéressants, celui à 3.06 et à 7.00 ms. Cela nous permet de confirmer que le fragment provient bien du phoxim. Il en est de même pour le fragment à 162.9882, qui a un pic à 3.71 et à 6.73 ms, qui confirme que ce fragment est issu de la fragmentation du quinalphos. Par contre, concernant le mobilogramme du fragment à 147.0115, nous remarquons qu'il est impossible de montrer l'origine de ce fragment car le même double épaulement que pour les ions parents apparait aux alentours de 6.8 ms. Donc ce dernier n'est finalement pas un fragment discriminatoire pour la séparation du phoxim et du quinalphos.

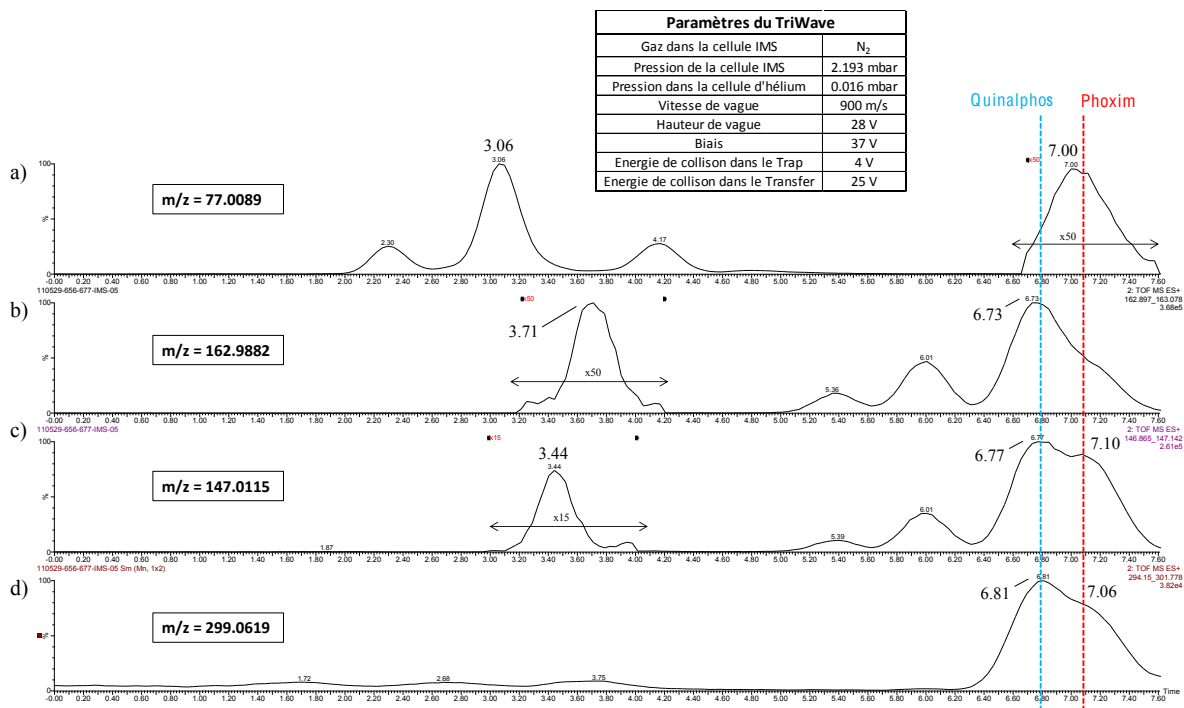


Figure 46 : Mobilogramme du courant reconstruit des ions moléculaires (d) ainsi que des fragments avec une énergie de collision de 4V dans le Trap et de 25V dans le Transfer. Les fragments à 77.0089 (a) et 162.9882 (b) sont respectivement caractéristiques du phoxim et du quinalphos. Le fragment à 147.0115 (c) n'est pas discriminatoire pour la séparation du phoxim et du quinalphos.

- Séparation des diastéréoisomères E/Z du mevinphos

Au vu des résultats sur les isomères de constitution, des tests ont été menés sur d'autres types d'isomères, notamment sur les diastéréoisomères E et Z du mevinphos ($m/z=224.0528$) qui possèdent deux temps de rétention distincts en chromatographie liquide. La méthode usuelle pour attribuer le temps de rétention à l'isomère E ou Z (**Figure 47**) est la MS/MS^[77].

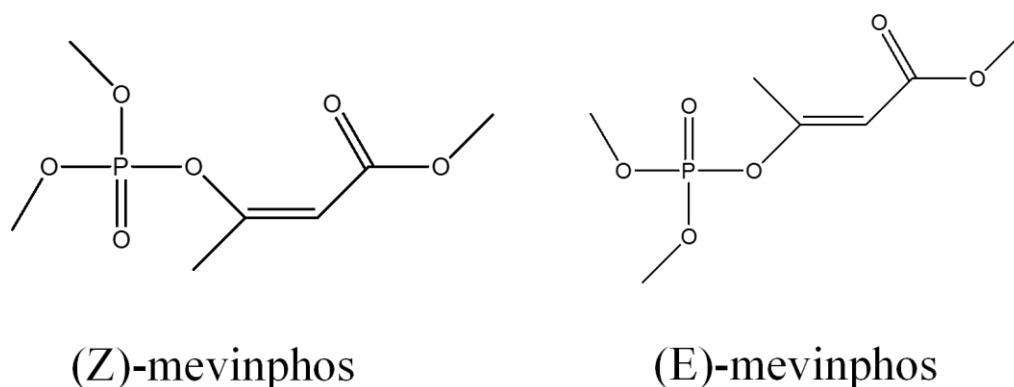


Figure 47 : Structure 2D des isomères du mevinphos

Un mobilogramme à deux pics distincts est obtenu à la masse de 225.0528 (**Figure 48**).

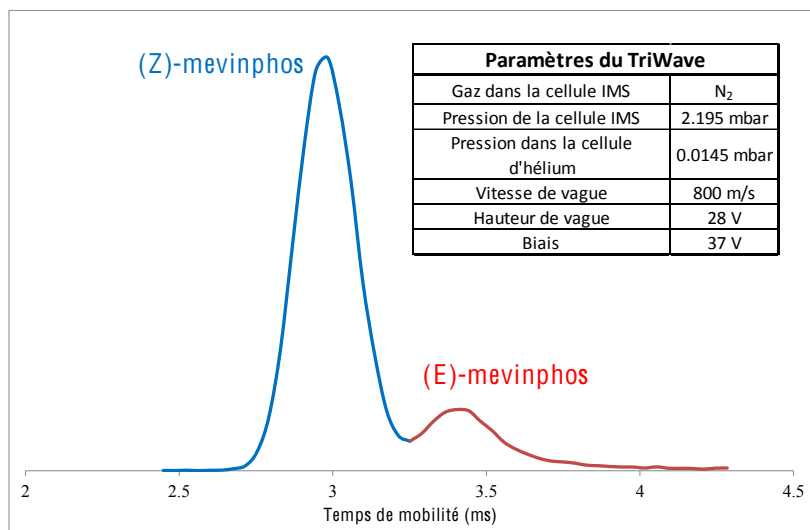


Figure 48 : Mobilogramme de la masse 225.0528 pour la solution de mevinphos standard fournie. Il apparait nettement deux pics distincts qui semblent correspondre aux deux isomères du pesticide.

L'attribution d'un isomère à un pic ne peut se faire sans connaître les sections efficaces de collision théoriques. Celles-ci ont été calculées par la même méthode que pour le mélange phoxim/quinalphos (DFT suivi d'un calcul par approximation par projection). Les valeurs obtenues pour les diastéréoisomères E et Z sont respectivement de 106 \AA^2 et 102 \AA^2 . L'isomère E ayant une section efficace supérieure à l'isomère Z, son temps de mobilité sera donc plus grand (Figure 49). Contrairement à la LC-MSMS, l'IMS-MSMS ne permet pas l'estimation du ratio E/Z. En effet, dans le cas de la mobilité ionique, la molécule parent fragmente avant la zone de séparation et donc l'intensité du fragment d'intérêt ne correspondrait à celle de la totalité du parent. De plus, il faut noter que l'attribution des pics de mobilité se base sur des calculs théoriques où les valeurs obtenues sont extrêmement proches. Il faudrait l'utilisation de solutions d'isomères purs pour apporter une preuve irréfutable des affirmations établies ci-dessus.

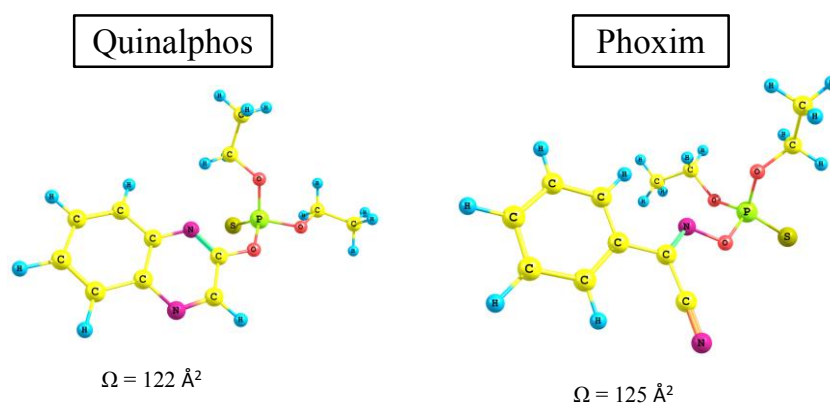


Figure 49 : Structure 3D des deux isomères du mevinphos. La structure 3D est une optimisation conformationnelle obtenue par DFT avec la fonctionnelle B3LYP et le set de base 6-31(d). Par approximation de projection, on remarque que la section efficace de collision (Ω) du (E)-mevinphos est inférieure à celle du (Z)-mevinphos.

De part ces résultats, nous avons prouvé que la séparation de composés de masses identiques voire de structures identiques est parfaitement réalisable par mobilité ionique.

4.2.2. Séparation de deux grandes familles chimiques de pesticides : les organophosphorés et les carbamates

La quantité de standards disponibles appartenant à la famille des organophosphorés et des carbamates étant conséquente, une analyse plus approfondie sur ces deux familles a pu être envisagée. La gamme de masse des organophosphorés et des carbamates se situant entre 100 et 500 daltons, ce sont les paramètres de mobilité correspondant qui seront utilisés. Les 28 organophosphorés et les 25 carbamates disponibles sont injectés à une concentration de 1 mg/mL en infusion directe en utilisant ces paramètres (Figure 50).

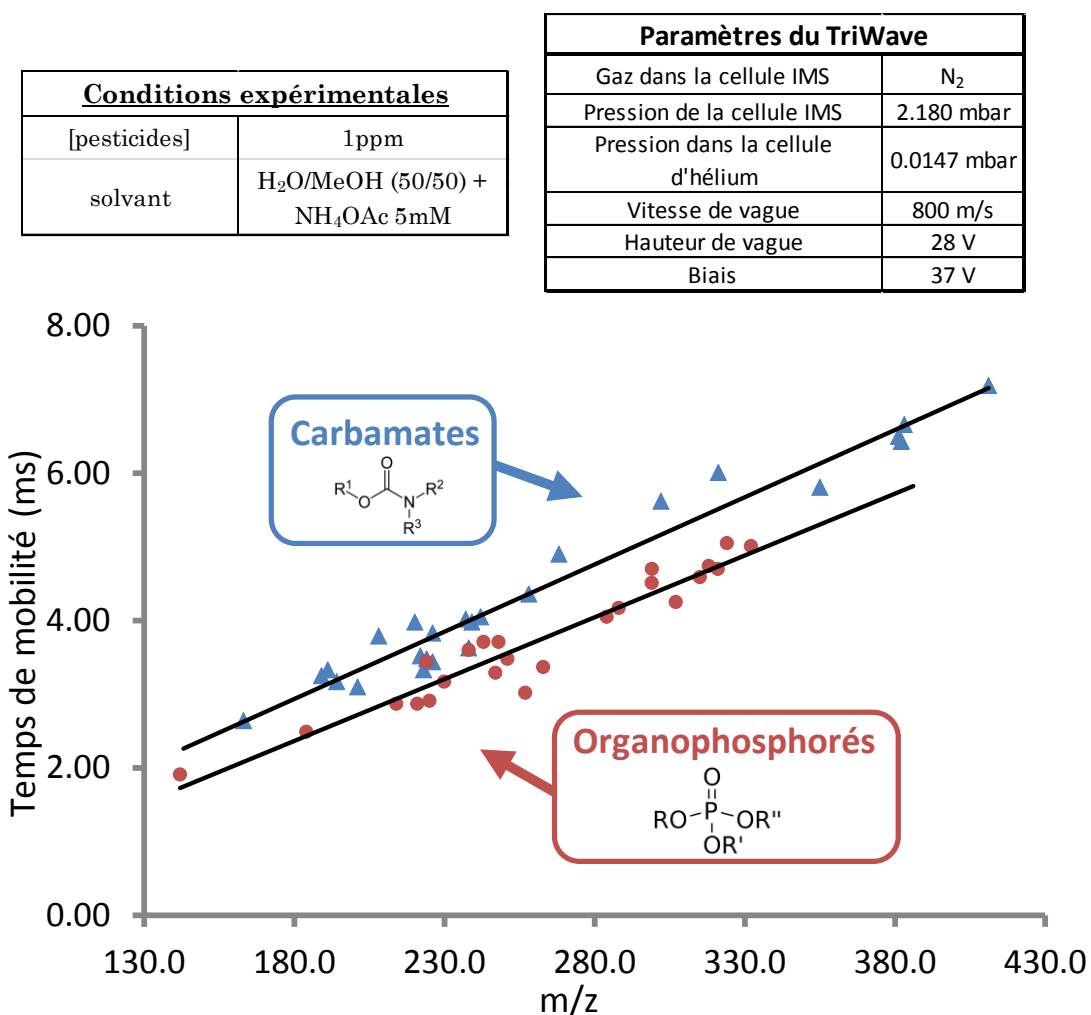


Figure 50 : Temps de mobilité en fonction de la masse pour les familles chimiques des organophosphorés et des carbamates, avec les paramètres de la gamme de masse 100-500. Les deux courbes de tendance sont presque parallèles ce qui montre que la mobilité ionique peut séparer ces deux familles.

Les deux courbes de tendances linéaires correspondantes aux deux familles de pesticides sont quasi-parallèles. Ces résultats montrent qu'une séparation entre ces deux grandes familles de pesticides est possible grâce à la mobilité ionique. Afin d'appuyer ces résultats, une distribution du rapport temps de mobilité sur masse est porté en graphique avec un indice de confiance de 95% (Figure 51).

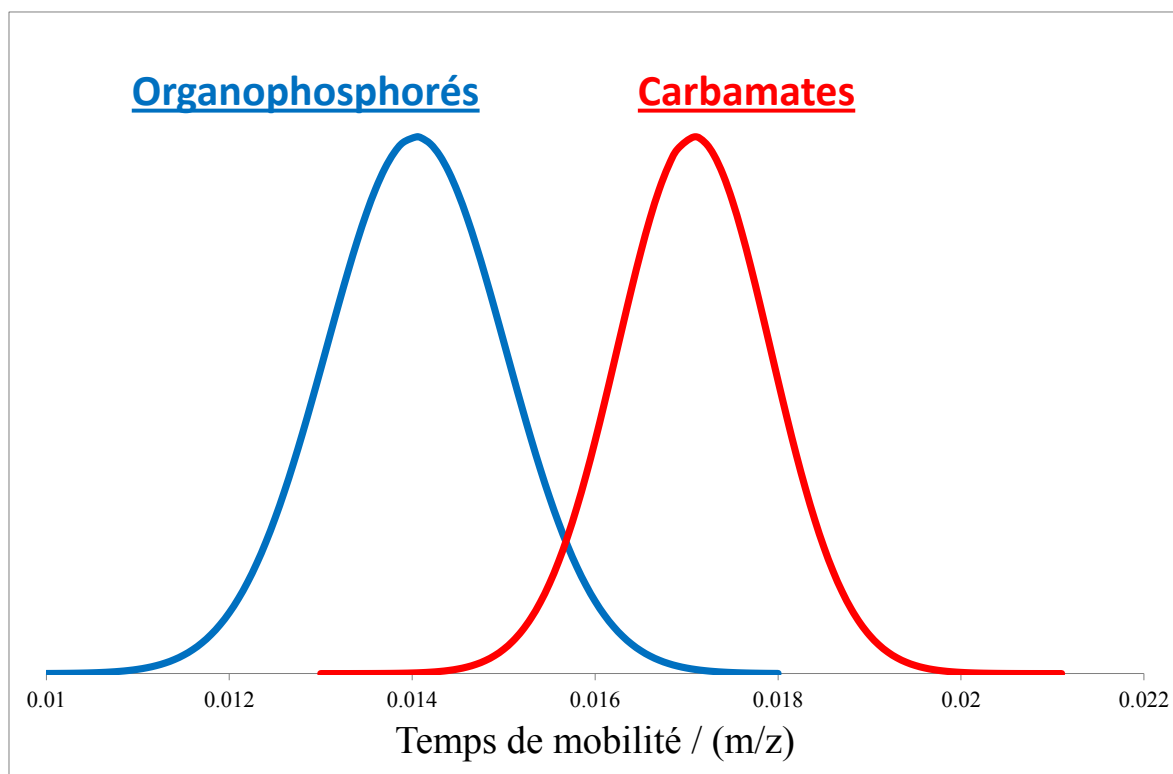


Figure 51 : Distribution du rapport temps de mobilité/masse pour les organophosphorés et les carbamates avec un indice de 95% de confiance

4.3. Les pesticides et la mobilité ionique

Afin d'acquérir une idée globale du comportement des pesticides en mobilité ionique, 83 pesticides, choisis de manière aléatoire, ont été analysés en infusion directe. Les paramètres de mobilité de la gamme de masse 100-900 ont été appliquées car, comme cela, aucune restriction concernant la masse des pesticides n'était à prendre en compte. Cependant les pesticides de masse supérieure à 450 n'ont pas été détectés.

Les pesticides sont classés en fonction de leur famille chimique, et leurs temps de mobilité est porté en graphique en fonction de leurs masses (Figure 52).

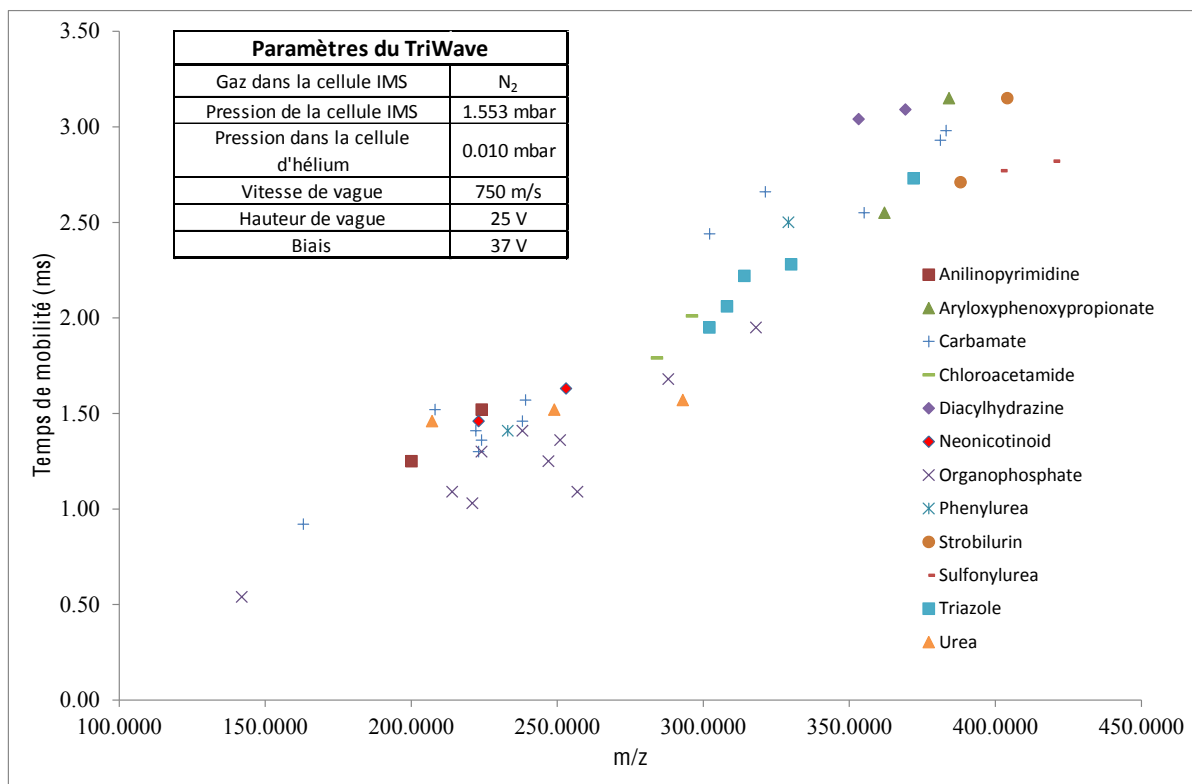


Figure 52 : Graphique du temps de mobilité en fonction de la masse pour différentes familles de pesticides

Deux remarques peuvent être faites. La première est que pour ces molécules de faible poids moléculaire que sont les pesticides, l'influence de la masse semble diriger l'évolution du temps de mobilité. La deuxième est qu'à part pour les organophosphorés et les carbamates, aucune autre famille chimique ne semble se démarquer. Cela est aussi dû au fait que la quantité de pesticides de certaines familles est très faible et donc ne permet pas la possibilité de distinguer un comportement particulier.

Les résultats obtenus par mobilité ionique sont d'autant plus appuyés qu'ils sont très reproductibles. En effet, la différence résultant des mesures par dupliqua sur 35 pesticides à une semaine d'intervalle est très faible, il y a un recouvrement quasi parfait entre les 2 mesures (Figure 53).

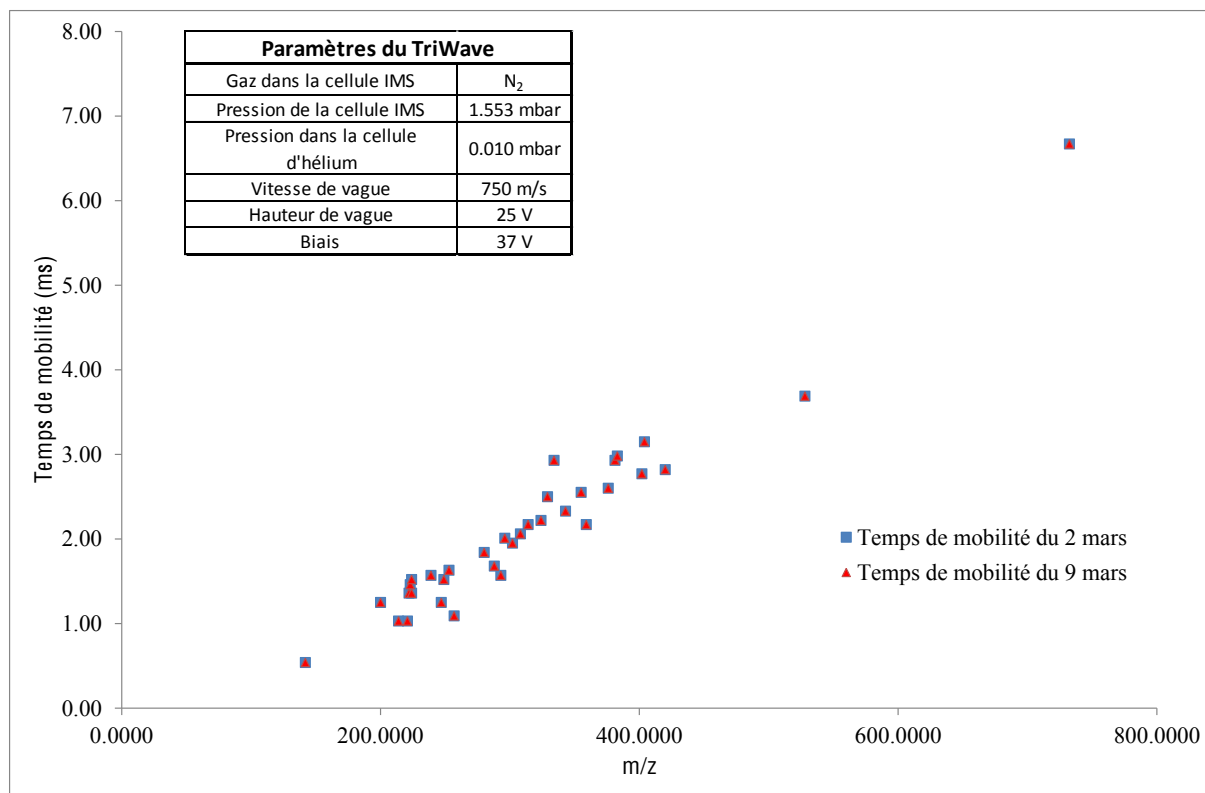


Figure 53 : Dupliqua sur 35 pesticides réalisés à **une semaine d'intervalle**. La reproductibilité des mesures est très bonne.

Nous avons donc montré que la mobilité ionique apportait une dimension supplémentaire de séparation, ainsi qu'une information supplémentaire dans l'analyse structurale des molécules. Cela s'est prouvé par la séparation possible entre deux diastéréoisomères E/Z (mevinphos) ainsi qu'entre deux isomères de constitution (le phoxim et le quinalphos). En ce qui concerne ces derniers, nous avons démontré qu'il était possible d'améliorer la séparation grâce à l'analyse de la mobilité des fragments. Par la suite, notre regard s'est porté sur la séparation de deux grandes familles de pesticides, les organophosphorés et les carbamates. Leurs comportements en mobilité ionique est légèrement différent, mais suffisamment pour que le Synapt G2 arrive à séparer ces deux groupes. Pour confirmer nos résultats, une étude de reproductibilité a montré que l'instrument était très fiable à ce niveau. De par ces résultats, nous pouvons imaginer que dans l'avenir, il sera possible d'identifier la structure d'un pesticide selon qu'il ait un comportement de type organophosphoré ou carbamate grâce à la mobilité ionique.

Afin d'améliorer la séparation des pesticides, la chromatographie liquide a été couplée à la mobilité ionique. Cette nouvelle dimension de séparation se base sur la polarité des molécules, contrairement à la mobilité qui, quant à elle, est reliée à la section efficace de collision de ces dernières.

5. La mobilité ionique couplée à la chromatographie liquide

Dans cette partie nous aborderons tout d'abord le couplage chromatographie liquide/spectrométrie de masse (LC-MS). Nous établirons les temps de rétention d'un maximum de pesticides, ainsi que la limite de détection moyenne du couplage LC-IMS-MS dans des matrices de salade et de fraise. Par la suite, notre étude se portera sur l'intérêt du couplage de la mobilité ionique (IMS) au système LC-MS. Nous observerons quel effet de filtre peut apporter l'IMS sur la matrice, ainsi que l'effet matrice éventuel sur le temps de mobilité. Enfin nous montrerons l'orthogonalité des trois dimensions de séparation : la chromatographie liquide, la mobilité ionique et la spectrométrie de masse.

5.1. La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

Avant de réaliser un couplage avec la mobilité ionique, nous avons réalisé des analyses sur les pesticides en ne couplant que la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse (LC-MS). Ces mesures consistent en la détermination d'un maximum de temps de rétention des pesticides disponibles. Puis en des tests de sensibilité ont été réalisés avec le couplage LC-IMS-MS, afin de déterminer qu'elle est la limite de détection des pesticides par cette méthode.

5.1.1. Détermination du temps de rétention des pesticides

Les pesticides sont analysés par mélanges de 10 à des concentrations de 100 ng/mL, afin d'avoir un pic assez intense pour être détecté, tout en restant dans une gamme de concentration acceptable. Ces mesures sont réalisées sans matrice dans le but de limiter l'effet de ces dernières. Grâce au couplage LC-MS, il est possible de déterminer le temps de rétention en fonction de la masse. Ainsi, pour un mélange, le temps de rétention d'un rapport masse/charge précis pourra être extrait du spectre total. Un exemple des spectres obtenus pour mélange de 10 pesticides est repris à la Figure 54, tandis que les informations concernant ces pesticides sont reprises à l'Annexe 5. Sur tous les pesticides du mélange analysé, seul huit présentent un pic de rétention bien résolu. En effet, la cyromazin et le formetanate montre un spectre avec un faible rapport signal sur bruit. Ces deux pesticides sont les composés les plus polaires du mélange étudié, ce qui laisse supposer que la colonne utilisée pour la LC ne retiendrait pas les composés polaires. Pour confirmer cette hypothèse, tous les pesticides disponibles ont été analysés, et à chaque fois, les composés très polaires ne sont pas présents sur le spectre MS. Cependant, il faut savoir que d'autres pesticides ne sont pas détectés car ils se sont fragmentés dans le spectromètre de masse, notamment dans la source d'ionisation. Pour les pesticides préalablement injectés en infusion directe, il est possible de savoir si le composé n'est pas détecté à

cause de la chromatographie ou du spectromètre de masse (Annexe 7). En ce qui concerne la séparation des différents pesticides, nous remarquons que les temps de rétention se situent dans une fenêtre de temps restreinte. Ce comportement vient du montage et de la colonne HPLC utilisée. En effet, expérimentalement, nous avons essayé plusieurs types de gradient et choisi celui qui nous permettait la meilleure séparation avec ce dispositif.

En dépit des problèmes de détection de certains pesticides, il a été possible de déterminer le temps de rétention de 128 pesticides sur les 159 étudiés. Dans les 31 pesticides non-détectés, nous savons qu'au moins 16 fragmentent très fortement dans le spectromètre (fragmentation venant de la source d'ionisation), et donc la non-détection du pesticide n'est pas due à la LC. Les temps de rétention de chaque pesticide, ainsi que leurs masses et leurs structures développées sont repris dans l'Annexe 7.

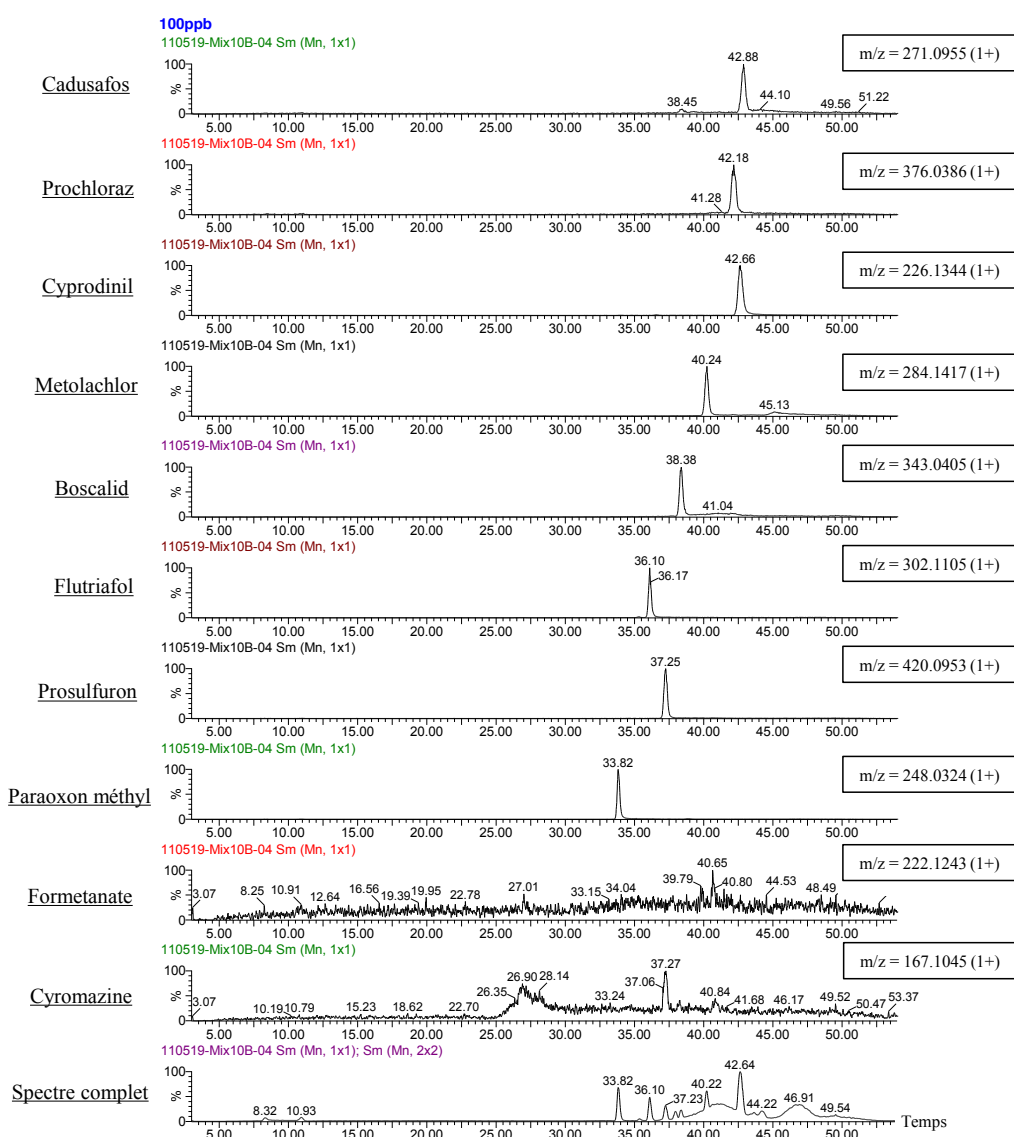


Figure 54 : Spectres obtenus pour un mélange de 10 pesticides avec un couplage LC-MS. Pour chaque m/z, un spectre de rétention est obtenu. Cela permet donc d'obtenir le temps de rétention de chaque pesticide du mélange. Cependant, pour la cyromazine et le formetanate, les deux pesticides les plus polaires de ce mélange ne sont pas retenus par la colonne.

L'intérêt final étant l'analyse des résidus de pesticides sur des matrices d'origine végétale, il a été intéressant de réaliser des mesures sur des matrices réelles. La première de ces analyses sur matrice a constitué en un test de sensibilité de la méthode LC-MS pour savoir à quelle concentration nous pouvions travailler dans les matrices.

5.1.2. Test de sensibilité de la méthode LC-IMS-MS sur matrices

Le test de sensibilité est réalisé sur un mélange de 8 pesticides dans des matrices de fraise et de salade, dont les échantillons sans matrice sont détectés par le couplage LC-MS à 100 ng/mL. Les échantillons de matrice ont été « spikées » à quatre niveaux de concentrations : 1000 ng/g de matrice, 100 ng/g de matrice, 50 ng/g de matrice et 10 ng/g de matrice (Figure 55).

Nom	Formule brute	Masse exacte	Matrice salade (en ng/g de matrice)				Matrice fraise (en ng/g de matrice)			
			1000	100	50	10	1000	100	50	10
EPN	C ₁₄ H ₁₄ NO ₄ PS	323.0381	✓	✓	✓	✗	✓	✓	✗	✗
methiocarb	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	225.0824	✓	✓	✗	✗	✓	✓	✓	✓
oxadiazon	C ₁₅ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₃	344.0694	✓	✗	✗	✗	✓	✓	✓	✓
oxamyl	C ₇ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	219.0678	✓	✓	✗	✗	✓	✓	✓	✓
pethoxamid	C ₁₆ H ₂₂ ClNO ₂	295.1339	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
pyridaben	C ₁₉ H ₂₅ ClN ₂ OS	364.1376	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗
simazin	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201.0781	✓	✓	✓	✗	✓	✓	✓	✗
thiodicarb	C ₁₀ H ₁₈ N ₄ O ₄ S ₃	354.4693	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✗

Figure 55 : Tableau indiquant si les pesticides sont détectés à différentes concentrations dans la matrice salade et fraise

Nous remarquons que presque tous les pesticides sont détectés à une concentration de 100 ng/mL. Bien que la Limite maximale de Résidus (LMR) de beaucoup de pesticides dans les fruits et les légumes soit de 10 ng/g de matrice^[78], nous avons continué avec une concentration de 100 ng/g de matrice afin de s'assurer de détecter un maximum de pesticides. Une fois cette concentration déterminée, la majorité des pesticides ont pu être analysés dans la salade. Malheureusement par manque de temps, seulement les pesticides de la Figure 55 ont été analysés dans la fraise. L'Annexe 7 indique les pesticides détectés à une concentration de 100 ng/g de matrice salade. Ainsi, nous remarquons que par le couplage LC-MS, 80 pesticides sont détectables à une concentration de 100 ng/g de matrice sur une sélection de 118 pesticides détectés à 100 ng/mL sans matrice.

En couplant seulement un spectromètre de masse à temps de vol avec une chromatographie liquide capillaire, nous obtenons de bons résultats de sensibilité. Cependant avec un analyseur ToF, beaucoup de pics sont enregistrés correspondant à la fois au pesticide et à la matrice. Cela entraîne donc une erreur. Afin d'améliorer la précision des résultats, il faut ajouter une dimension de séparation

supplémentaire. C'est pourquoi au système LC-MS, nous avons couplé la mobilité ionique. Contrairement à la chromatographie liquide qui sépare les composés en fonction de leur polarité, la mobilité ionique sépare les composés selon leur taille et leur forme. Ainsi le couplage supplémentaire de la mobilité ionique devrait apporter une meilleure qualité de spectre pour l'interprétation car nous pouvons espérer que les interférences de la matrice n'auront pas les mêmes temps de mobilité que les composés recherchés.

5.2. Intérêt du couplage pour le « screening »

Les résultats de mobilité ionique précédemment présentés ont montré que la mobilité ionique avait un bon pouvoir de séparation. Ainsi en la combinant au couplage LC-MS, nous espérons pouvoir améliorer la qualité des spectres obtenus. Pour cela, nous déterminerons si la mobilité a « un effet de filtre » de la matrice sur les spectres de masse obtenus en LC-MS. Par la suite, nous estimerons l'effet matrice sur le temps de mobilité, et enfin si cette dimension de séparation est orthogonale à la chromatographie liquide et à la spectrométrie de masse.

5.2.1. La mobilité ionique comme filtre de la matrice

Une matrice, en plus de contenir le composé désiré, va contenir toutes sortes d'analytes qui lui sont propres, comme des sucres, des protéines,.... Tous ces composés sont considérés comme indésirables dans les analyses qui nous intéressent car ils vont diminuer le rapport signal sur bruit, et parfois, empêcher purement et simplement la détection d'un pesticide. Nous avons déjà montré que cet effet matrice était présent pour le temps de rétention dans le couplage LC-MS (Cf. 5.1.2).

Dans le chapitre 4, la méthode de séparation s'appuyait sur le temps de mobilité extrait d'un rapport m/z précis. Si cette application est utilisée dans le cas d'un échantillon de pesticide à 10 ng/g de matrice, le spectre de mobilité reconstruit pour un rapport m/z contient plusieurs pics, et donc l'attribution du temps de mobilité pour le composé est impossible. Un exemple est repris à la Figure 56 pour le fenamiphos sulfone. Cette figure compare les trois mobilogrammes reconstruits à la masse 336.0689 pour différentes conditions initiales : 100 ng/mL sans matrice (en injection directe), 100 ng/g de salade (couplé à la LC) et 100 ng/g de fraise (couplé à la LC).

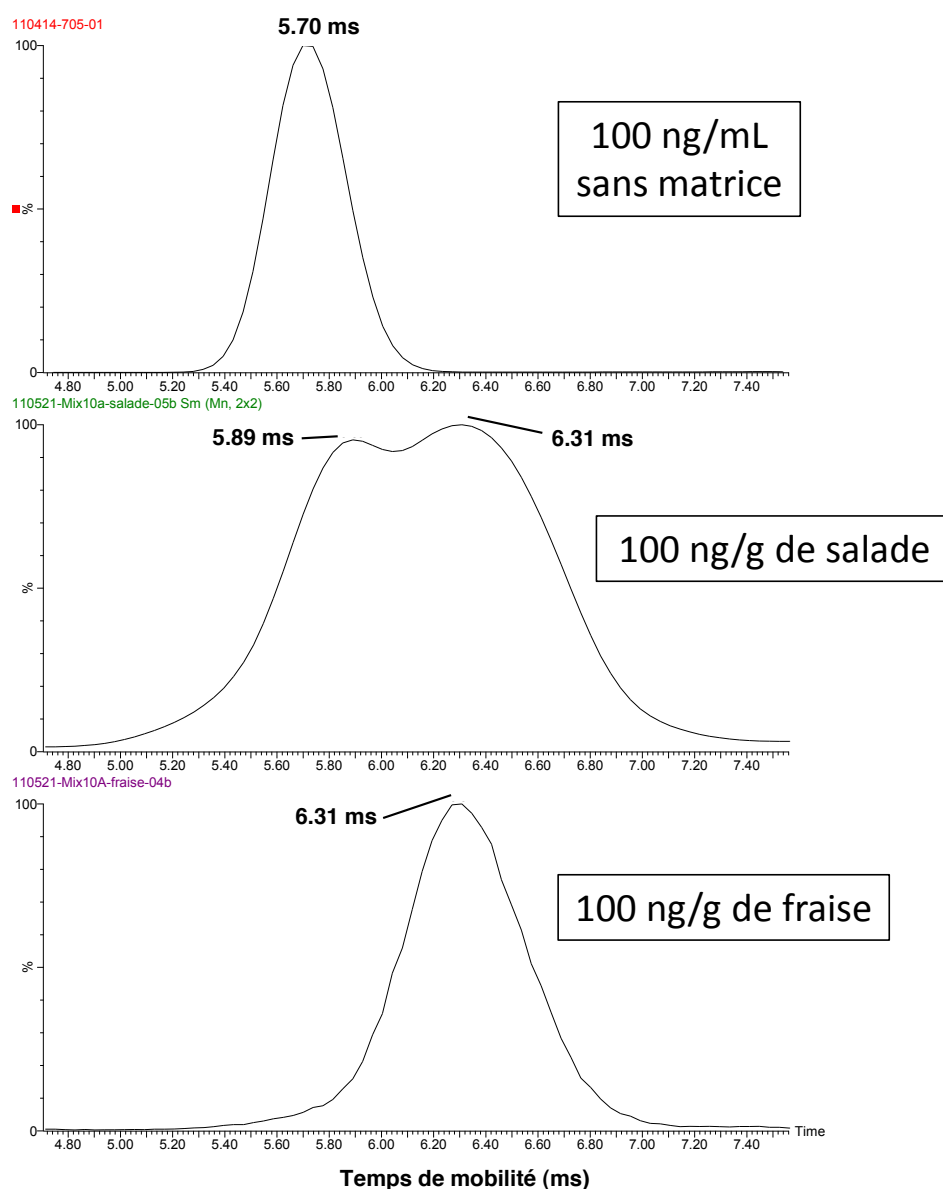


Figure 56 : Mobilogrammes du fenamiphos sulfone ($m/z = 336.1035 (1+)$) résultant du couplage temps de mobilité/spectrométrie de masse pour des échantillons sans matrice (100 ng/mL), dans la salade (100 ng/g de matrice) et dans la fraise (10 ng/g de matrice). Nous remarquons que les temps de mobilité sont différents pour les échantillons avec et sans matrice.

Nous remarquons que les pics de mobilité sont différents pour les échantillons avec et sans matrice. Dans la salade, une interférence semble apparaître à 6.31 ms en plus du pic de mobilité caractéristique du fenamiphos sulfone situé 5.70 ms. Tandis que dans la fraise, le pic à 5.70 ms a complètement disparu du spectre pour laisser place au pic à 6.31 ms. Cette modification peut avoir deux origines : soit nous sommes en présence d'un effet matrice, et donc les composants de la fraise et la salade ont une influence sur le temps de mobilité, soit ce changement de temps de mobilité est dû à une atténuation du pic à 5.70 ms par la présence d'un autre analyte de même m/z ayant un temps de mobilité de 6.31 ms dans la salade et dans la fraise. La mobilité ionique en fonction du rapport m/z ne suffit plus pour séparer les pesticides dans des matrices.

Afin d'améliorer la précision et d'augmenter la sensibilité de la méthode nous avons ajouté une troisième dimension de séparation. Pour pouvoir coupler les trois données de séparation, il faut tout d'abord établir le temps de rétention du composé à identifier sans matrice. Ainsi, nous savons déjà que le fenamiphos sulfone a un temps de rétention de 34,68 minutes. En pratique, nous extrayons les temps de mobilité pour une gamme de temps de rétention donnée (ici 1 minute). A partir de ce mobilogramme complet, est extrait le mobilogramme du courant reconstruit pour le rapport m/z du pesticide d'intérêt (Figure 57).

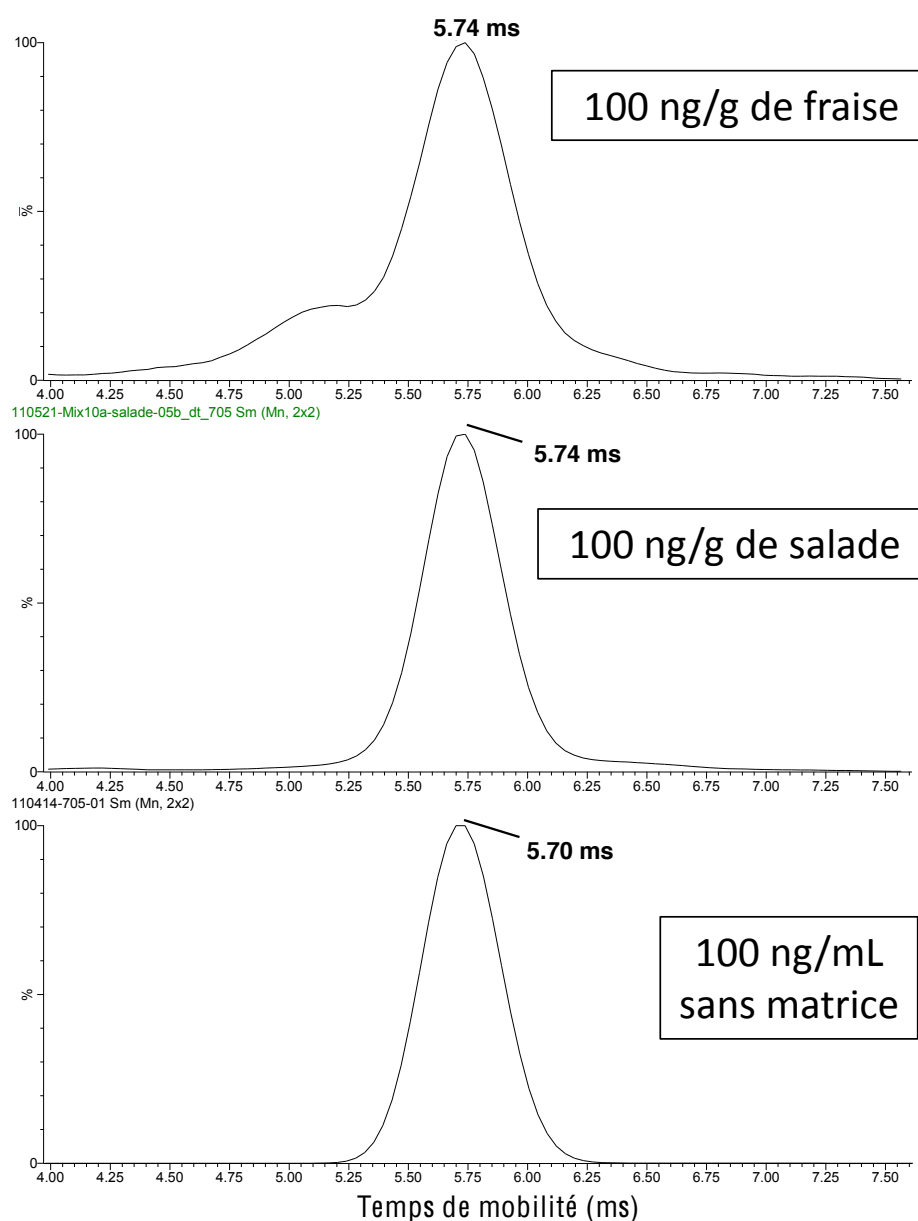


Figure 57 : Mobilogrammes du fenamiphos sulfone ($m/z = 336.1035 (1+)$) résultant du couplage chromatographie liquide/temps de mobilité/rapport m/z (LC-IMS-MS) pour des échantillons sans matrice (100 ng/mL), dans la salade (100 ng/g de matrice) et dans la fraise (10 ng/g de matrice). Les temps de mobilité des échantillons avec ou sans matrice sont quasi-identiques. L'ajout de la mobilité a permis de filtrer la matrice et d'isoler le pesticide désiré.

La combinaison des trois données de séparation est probante. En effet, les temps de mobilité dans la salade et dans la fraise sont quasi-identiques au temps de mobilité de l'échantillon sans matrice. La différence des temps de mobilité de la Figure 56 était donc due à la présence d'analytes dans la matrice présentant le même rapport m/z que le fenamiphos sulfone. Ce résultat montre que le couplage de l'IMS au système LC-MS permet d'isoler le composé désiré de la matrice. Ainsi nous pouvons dire que la mobilité ionique permet de filtrer la matrice.

Nous avons prouvé que le fenamiphos sulfone n'était pas sujet à un effet matrice, mais la question est de savoir si ce résultat peut être considéré comme applicable aux autres pesticides.

5.2.2. La mobilité ionique est-elle sensible à un effet matrice ?

Nous avons déjà démontré que le fenamiphos sulfone ne montrait pas d'effet matrice pour les matrices salade et fraise. Pour confirmer ce résultat, cinq autres pesticides ont été analysés dans la salade et dans la fraise (Figure 58).

Nom	m/z	Temps de mobilité sans matrice (ms)	Temps de mobilité dans la salade (ms)	Temps de mobilité dans la fraise (ms)
propamocarb	188.1525	3.25	3.15	3.19
dicrotophos	237.0766	3.6	3.57	3.65
fenamiphos sulfone	335.0956	5.7	5.7	5.7
ethoprophos	242.0564	3.71	3.72	3.69
paraoxon methyl	247.0246	3.71	3.72	3.69

Figure 58 : Temps de mobilité résultant de la combinaison LC-IMS-MS.

Les résultats sont traités de façon à inclure les trois données de séparation (temps de rétention, m/z et temps de mobilité) par la même méthode que précédemment (Cf. 5.2.1). Ainsi les temps de mobilité filtrés sont portés en graphique en fonction du rapport m/z (Figure 59).

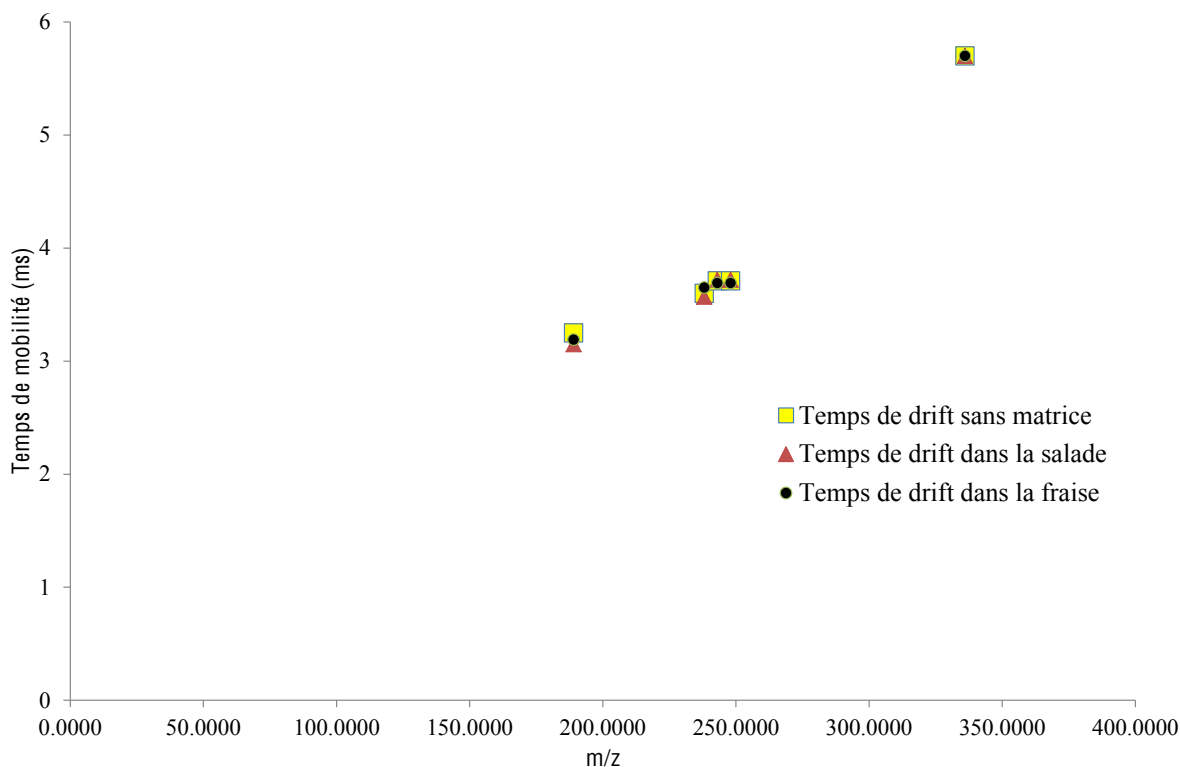


Figure 59 : Temps de mobilité en fonction du rapport m/z, résultant des données du couplage LC-IMS-MS. La superposition des points indique que la mobilité ionique **ne subit pas d'effet matrice pour les 5 pesticides étudiés**.

Les temps de mobilité des échantillons avec et sans matrice concordent presque complètement. Cela permet d'établir que la mobilité ne subit pas d'effet matrice. Ainsi, le temps de mobilité sera un atout majeur dans l'identification de pesticides dans la salade et la fraise, voire en extrapolant, quel que soit le milieu d'étude.

Le dernier paramètre restant à étudier est la confirmation de l'orthogonalité de la mobilité ionique vis-à-vis de la chromatographie liquide et de la spectrométrie de masse.

5.2.3. LC, IMS, MS : l'orthogonalité de ces dimensions de séparation

Des dimensions sont dites orthogonales entre elles si le mécanisme de séparation de chaque méthode est indépendant l'un de l'autre. Pour déterminer l'orthogonalité, nous avons donc établi trois graphiques reprenant les dimensions de séparation deux à deux entre la chromatographie liquide (LC), la mobilité ionique (IMS) et la spectrométrie de masse (MS) pour des échantillons standards à une concentration de 100 ng/mL pour une sélection de 53 pesticides (Figure 60). Les temps de mobilité sont établis avec les paramètres de la gamme de masse 100-900 (Cf. 4.1.2)

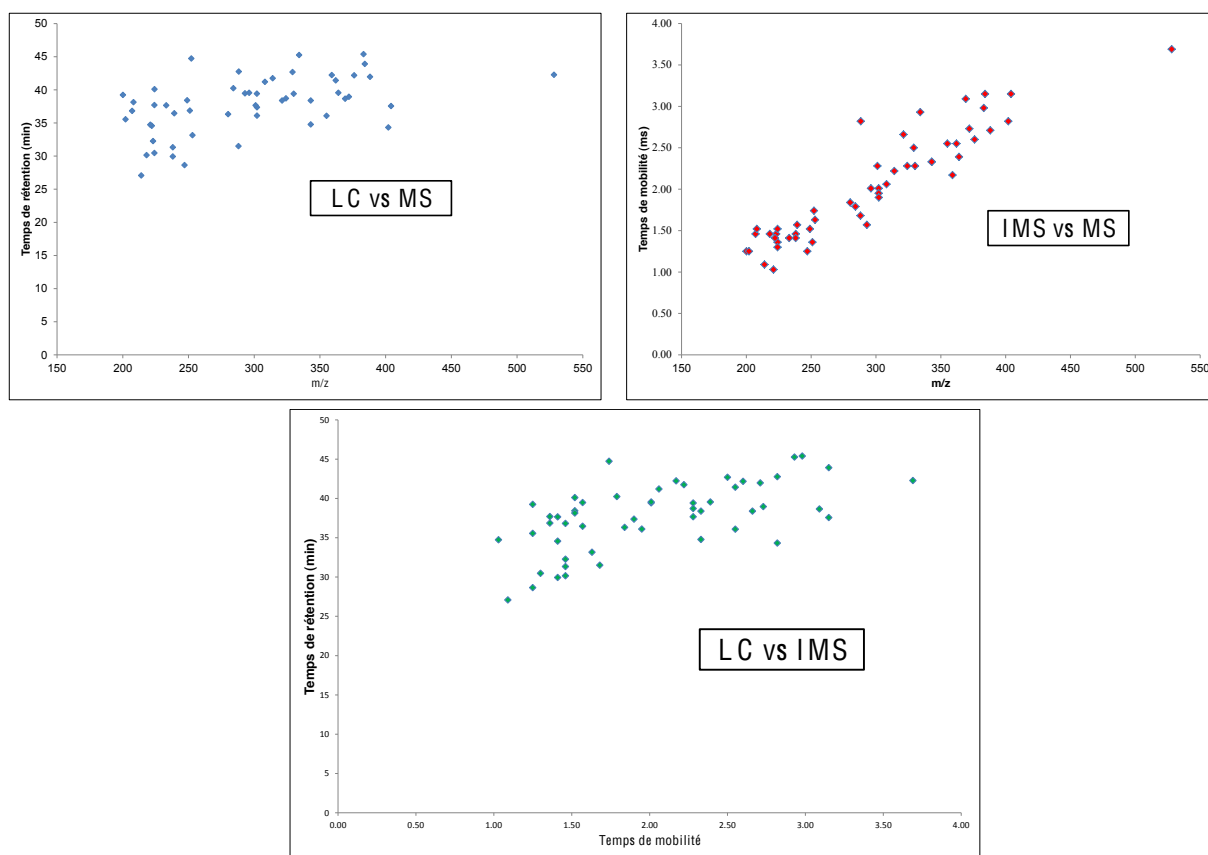


Figure 60 : Graphiques des trois dimensions de séparation (LC, IMS et MS) comparées deux à deux. Au vu de la dispersion des points, nous en déduisons que ces trois dimensions sont orthogonales entre elle.

Au vu de la dispersion des points, il apparaît donc que ces trois dimensions de séparations sont orthogonales. Cependant, nous pouvons remarquer que l'orthogonalité entre la mobilité ionique (IMS) et la spectrométrie de masse (MS) n'est pas très importante. Mais comme montré précédemment au point 4.2, nous savons que la mobilité apporte quand même une dimension de séparation supplémentaire par rapport à la masse. Le tableau reprenant toutes les données utilisées pour la Figure 60 se situe dans l'Annexe 6.

Le couplage LC-MS-ToF a montré une grande sensibilité, pouvant aller pour la plupart des pesticides déjà testés jusqu'à une limite de détection de 100 ng/g pour la matrice salade ou la fraise. Malheureusement, les temps de rétention de tous les pesticides n'ont pas pu être établis du fait que le montage LC utilisé ne retenait pas les pesticides très polaires, et qu'en plus certains composés fragmentaient dans le spectromètre de masse. L'ajout de la mobilité ionique (IMS) comme troisième dimension de séparation, dimension que nous avons démontré orthogonale à la LC et à la MS, s'est révélée nécessaire pour améliorer l'identification des pesticides dans les matrices. L'IMS s'est montrée d'une grande utilité dans le « nettoyage » des spectres obtenus en LC-MS. En effet, elle filtre les analytes de la matrice et permet d'extraire uniquement le pesticide recherché. De plus, la mobilité ionique a l'avantage de ne pas subir d'effet matrice.

6. Conclusion

Ce mémoire a démontré l'intérêt de la mobilité ionique dans l'étude des pesticides. En effet, la mobilité ionique permet la séparation d'isomères. Cela a été montré par la séparation de deux molécules isobares, le quinalphos et le phoxim, ainsi qu'entre les deux diastéréoisomères E/Z du mevinphos. De plus, des premières analyses sur la mobilité des fragments ont prouvé qu'il était possible d'améliorer l'identification par l'étude de ces derniers. L'intérêt d'utiliser un analyseur à temps de vol est, en outre d'avoir accès à la haute résolution, de pouvoir conserver toutes les valeurs de m/z , même celles qui au premier abord n'étaient pas ciblées. Cela se révèle utile pour une analyse des fragments d'un pesticide inconnu, fragment produits par l'introduction d'énergie de collision dans le spectromètre de masse avant et/ou après la cellule de mobilité. Cette manipulation nous permet de connaître le temps de mobilité des fragments et des parents, nous apportant ainsi une confirmation supplémentaire dans l'identification de pesticides.

Dans un cadre plus général, nos résultats ont démontré que l'IMS arrivait à séparer les deux plus grandes familles de pesticides, les organophosphorés et les carbamates. Ces mesures sont d'autant plus appuyées qu'elles sont très reproductibles. En effet, les valeurs ne subissent quasiment aucune variation pour des mesures réalisées à une semaine d'intervalle. Nous pouvons donc en conclure que la mobilité ionique aide grandement à l'analyse structurale.

Dans le couplage de la mobilité ionique avec la chromatographie liquide, le principal apport de l'IMS est son effet de filtre de la matrice. Lors du couplage LC-IMS-MS, le pic de mobilité obtenu par combinaison des trois dimensions de séparation est non seulement parfaitement résolu, mais le temps de mobilité ne varie pas entre un échantillon avec et sans matrice. Cela montre donc que dans notre cas bien précis, la mobilité ionique, ne subit pas d'effet matrice.

La comparaison entre les résultats des trois dimensions de séparation a montré que la mobilité ionique est une méthode orthogonale à la chromatographie liquide et à la spectrométrie de masse. Cette remarque ne fait que confirmer les résultats précédents qui nous indique donc que la mobilité ionique apporte une vraie dimension supplémentaire de séparation.

7. Perspectives

Le couplage de la mobilité ionique avec la chromatographie liquide et la spectrométrie est un projet qui a été développé en partenariat avec l'ISP dans le but de diminuer le nombre de faux-négatifs lors d'analyse quantitative sur des échantillons réels. C'est pour cela qu'à moyen terme, nous espérons améliorer les résultats pour faire de cette méthode, une méthode d'identification avec un degré élevé de certitude sur les résultats.

Les mesures en mobilité ionique ont montré qu'il y a avait une séparation entre les organophosphorés et les carbamates, deux grandes familles de pesticides chimiques. Il existe deux autres grandes familles de pesticides qui sont les organochlorés et les triazines. Les organochlorés étant pour la plupart volatile, ils ne peuvent donc pas être analysés par chromatographie liquide, ce qui n'est pas le cas des triazines. C'est pourquoi une étude en mobilité des triazines vis-à-vis des organophosphorés et des carbamates pourrait être attrayante. Cette étude n'a pas pu être réalisée dans le cadre de ce mémoire, le lot de pesticide à disposition contenant peu de triazines.

Des premières analyses ont été réalisées sur des fragments de pesticides produits avant et après la cellule de mobilité. Cela nous a permis d'obtenir un maximum d'information pour l'identification de ces différents pesticides (temps de mobilité des ions fragments et des ions parents) en un minimum de mesures. Il serait intéressant d'approfondir cette voie d'analyse pour d'autres pesticides afin de pouvoir généraliser la technique. Des analyses en mode MS^E permettraient également d'obtenir le même type d'information de manière automatique.

Cependant, la principale amélioration a apporté au couplage LC-IMS-MS de ce mémoire concerne la chromatographie liquide. La chromatographie capillaire date des années 90, et depuis de nouvelles technologies ont été développées, notamment l'UPLC (Ultra Haute Performance Chromatographie). L'UPLC utilise des colonnes contenant des particules de diamètre beaucoup plus petit et des pressions plus élevées pour obtenir une HEPT minimale. Ainsi l'utilisation d'une UPLC permettra une augmentation de la résolution des pics de chromatographie et surtout réduira fortement le temps d'analyse.

A long terme, l'objectif du couplage LC-IMS-MS est la validation de la méthode d'un point de vue analytique. Pour cela, le couplage devra remplir des critères de validation^[79], comme par exemple, l'effet matrice, la linéarité, l'exactitude, la justesse...

8. Bibliographie

1. European Food Safety Authority (EFSA) *2008 Annual Report on Pesticide Residues*. EFSA Journal, 2010. **8**, 1646.
2. Waldrum, J.D. *Pesticide residues in food: the safety issue*. 1996; Available from: <http://entweb.clemson.edu/pesticid/program/SRPIAP/pestaft.pdf>.
3. Environmental Protection Agency. *What is a pesticide?*, <http://www.epa.gov/pesticides/about/index.htm>. (consulté le 13 juin 2011).
4. Pike, D.R. and A. Hager. *How herbicides work*. (consulté le 13 juin 2011); Available from: http://web.aces.uiuc.edu/vista/pdf_pubs/HERBWORK.pdf.
5. Duffus, J.H., *Distance learning in toxicology: resident and remote; Scotland, IPCS, IUPAC, and the world*. Toxicology and applied pharmacology, 2005. **207**(2 Suppl): p. 746-9.
6. Ware, G. and D. Whitacre, *The Pesticide Book*. 6th ed. MeisterPro, Chapitre 19, 2005.
7. Miller, G.T., *Sustaining the Earth*. 6th edition. Thompson Learning, 2004: p. 211-216.
8. *Règlement (CE) N° 396/2005*, <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32005R0396:FR:NOT>. (consulté le 13 juin 2011).
9. Authority, E.F.S. *Pesticide MRL harmonisation programme*, <http://www.efsa.europa.eu/en/mrls/mrlharmonisation.htm>. (consulté le 13 juin 2011).
10. Alder, L., et al., *Residue analysis of 500 high priority pesticides: better by GC-MS or LC-MS/MS?* Mass spectrometry reviews, 2006. **25**(6): p. 838-65.
11. Commission européenne. *SANCO/2010/10036*, http://members.wto.org/crnattachments/2010/sps/EEC/10_0618_00_e.pdf. (consulté le 13 juin 2011).
12. Anastassiades, M. *QuEChERS*, www.quechers.com. (consulté le 13 juin 2011).
13. Saha, J.G., C.H. Craig, and W.K. Janzen, *Organochlorine insecticide residues in agricultural soil and legume crops in northeastern Saskatchewan*. J. Agric. Food Chem., 1968. **16**(4): p. 617-619.
14. Tarrant, K.R. and J.O. Tatton, *Organochlorine pesticides in rainwater in the British Isles*. Nature, 1968. **219**(5155): p. 725-7.
15. Abbott, D.C., R. Goulding, and J.O. Tatton, *Organochlorine pesticide residues in human fat in Great Britain*. British medical journal, 1968. **3**(5611): p. 146-9.
16. Kerkhoff, M., J. De Boer, and J. Geerdes, *Heptachlor epoxide in marine mammals*. The Science of the total environment, 1981. **19**(1): p. 41-50.

17. Draper, W.M., *Optimizing nitrogen-phosphorus detector gas chromatography for pesticide analysis*. J. Agric. Food Chem., 1995. **43**(8): p. 2077-2082.
18. Class, T.J. and J.E. Casida, *High resolution gas chromatography-mass spectrometry applied to studies of pesticide photodecomposition and metabolism* GSF-Ber., 1990: p. 281-289.
19. Barceló, D., *A review of liquid chromatography in environmental pesticide analysis*. Chromatographia, 1988. **25**(10): p. 928-936.
20. Jin, H., et al., *Trace analysis of tetracycline antibiotics in human urine using UPLC-QToF mass spectrometry* Microchemical Journal, 2010. **94**(2): p. 139-147.
21. Farre, M., et al., *Analysis of biologically active compounds in water by ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry*. Rapid communications in mass spectrometry : RCM, 2008. **22**(1): p. 41-51.
22. Guy, P.A., et al., *Global metabolic profiling analysis on human urine by UPLC-TOFMS: issues and method validation in nutritional metabolomics*. Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences, 2008. **871**(2): p. 253-60.
23. Fontela, M.H., M.T. Galceran, and F. Ventura, *Ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface*. Waters Anal. Chem., 2007. **79**: p. 3821-3829.
24. Debrauwer, L., et al., *Detection of xenobiotics and chemical contaminants in the food chain: focus on mass spectrometry based methods and their use for toxicological risk assessment in the field of food safety*. Sci. Alim., 2005. **25**: p. 273-283.
25. Ramanathan, R., *Chapitre 3. Quadrupole, Triple-Quadrupole, and Hybrid Linear Ion Trap Mass Spectrometers for Metabolite Analysis*. Mass Spectrometry in Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 2008.
26. Pergantis, S.A., et al., *Identification of arsenosugars at the picogram level using nanoelectrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry*. Analytical chemistry, 2000. **72**(2): p. 357-66.
27. Ferrer, I. and E.M. Thurman, *Liquid Chromatography/Time-of-Flight/Mass Spectrometry (LC/TOF/MS) for the Analysis of Emerging Contaminants*. Trends in Analytical Chemistry, 2003. **22**(10): p. 750-756.
28. Clauwaert, K.M., et al., *Investigation of the quantitative properties of the quadrupole orthogonal acceleration time-of-flight mass spectrometer with electrospray ionisation using 3,4-methylenedioxymethamphetamine*. Rapid communications in mass spectrometry : RCM, 1999. **13**(14): p. 1540-5.
29. C. Ferrer, et al., *Determination of pesticide residues in olives and olive oil by matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography/mass spectrometry and liquid*

- chromatography/tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2005. **1069**: p. 183-194.
30. Kanu, A.B., et al., *Ion mobility-mass spectrometry*. J. Mass Spectrom., 2008. **43**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 1-22.
 31. Tiebe, C., et al., *Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) by ion-mobility spectrometry*. Anal. Bioanal. Chem., 2009. **395**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 2313-2323.
 32. Qin, C., et al., *Quantitative determination of residual active pharmaceutical ingredients and intermediates on equipment surfaces by ion mobility spectrometry*. J. Pharm. Biomed. Anal., 2010. **51**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 107-113.
 33. Kanu, A.B., C. Wu, and H.H. Hill, *Rapid pre-separation of interferences for ion mobility spectrometry*. Anal. Chim. Acta, 2008. **610**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 125-134.
 34. Jafari, M.T. and M. Javaheri, *Selective Method Based on Negative Electrospray Ionization Ion Mobility Spectrometry for Direct Analysis of Salivary Thiocyanate*. Anal. Chem. (Washington, DC, U. S.), 2010. **82**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 6721-6725.
 35. Borsdorf, H., J.A. Stone, and G.A. Eiceman, *Gas phase studies on terpenes by ion mobility spectrometry using different atmospheric pressure chemical ionization techniques*. Int. J. Mass Spectrom., 2005. **246**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 19-28.
 36. Clemmer, D.E., R.R. Hudgins, and M.F. Jarrold, *Naked Protein Conformations: Cytochrome C in the Gas phase*. J. Am. Chem. Soc., 1995. **117**: p. 10141-10142.
 37. McLean, J.A., et al., *Ion mobility-mass spectrometry: a new paradigm for proteomics*. International Journal of Mass Spectrometry, 2005. **240**: p. 301-315.
 38. Dwivedi, P., et al., *Metabolic profiling of Escherichia coli by ion mobility-mass spectrometry with MALDI ion source*. Journal of mass spectrometry : JMS, 2010. **45**(12): p. 1383-93.
 39. Cohen, M.J. and F.W. Karasek, *Plasma chromatography TM--new dimension for gas chromatography and mass spectrometry* Journal of Chromatographic Science, 1970. **8**(6): p. 330-337.
 40. Sacristan, E. and A.A. Solis, *A swept-field aspiration condenser as an ion-mobility spectrometer*. IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, 1998. **47**(3): p. 769-775.

41. Buryakov, I.A., et al., *A new method of separation of multi-atomic ions by mobility at atmospheric pressure using a high-frequency amplitude-asymmetric strong electric field* International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes, 1993. **128**(3): p. 143-148.
42. Giles, K., et al., *Applications of a travelling wave-based radio-frequency-only stacked ring ion guide*. Rapid communications in mass spectrometry : RCM, 2004. **18**(20): p. 2401-14.
43. Revercomb, H.E. and E.A. Mason, *Theory of plasma chromatography/gaseous electrophoresis*. Analytical Chemistry, 1975. **47**(7): p. 970-983.
44. Valentine, S., *Multidimensional separations of complex peptide mixtures: a combined high-performance liquid chromatography/ion mobility/time-of-flight mass spectrometry approach*. International Journal of Mass Spectrometry, 2001. **212**(1-3): p. 97-109.
45. Kebarle, P., *A brief overview of the present status of the mechanisms involved in electrospray mass spectrometry*. Journal of mass spectrometry : JMS, 2000. **35**(7): p. 804-17.
46. Gomez, A. and K. Tang, *Charge and fission of droplets in electrostatic sprays* Phys. Fluids, 1994. **6**(1): p. 404-414.
47. Dole, M., et al., *Molecular beams of macroions* Journal of Chemical Physics, 1968. **49**(5): p. 2240-2249.
48. Iribarne, J.V. and B.A. Thomson, *On the evaporation of small ions from charged droplets*. Journal of Chemical Physics 1976. **64**(6): p. 2287-2294.
49. Gamero-Castano, M. and J.F. Mora, *Kinetics of small ion evaporation from the charge and mass distribution of multiply charged clusters in electrosprays*. Journal of mass spectrometry : JMS, 2000. **35**(7): p. 790-803.
50. Gamero-Castano, M. and J. Fernandez de la Mora, *Direct measurement of ion evaporation kinetics from electrified liquid surfaces* Journal of Chemical Physics, 2000. **113**(2): p. 815-832.
51. Fernandez de la Mora, J., *Electrospray ionization of large multiply charged species proceeds via Dole's charged residue mechanism* Analytica Chimica Acta, 2000. **406**(1): p. 93-104.
52. Shiryayeva, S.O., A.I. Grigor'ev, and D.F. Belonozhko, *Bipartition of a Strongly-Charged Droplet during Nonlinear Oscillations* Technical Physics Letters, 2000. **26**(10): p. 857-860.
53. Rohner, T.C., N. Lion, and H.H. Girault, *Electrochemical and theoretical aspects of electrospray ionisation* Physical Chemistry Chemical Physics, 2004. **6**(12): p. 3056-3068.
54. Pringle, S.D., et al., *An investigation of the mobility separation of some peptide and protein ions using a new hybrid quadrupole/travelling wave IMS/oa-ToF instrument* International Journal of Mass Spectrometry, 2007. **261**(1): p. 1-12.
55. Mamyrin, B.A., *Time-of-flight mass spectrometry (concepts, achievements, and prospects)* International Journal of Mass Spectrometry, 2001. **206**(3): p. 251-266.

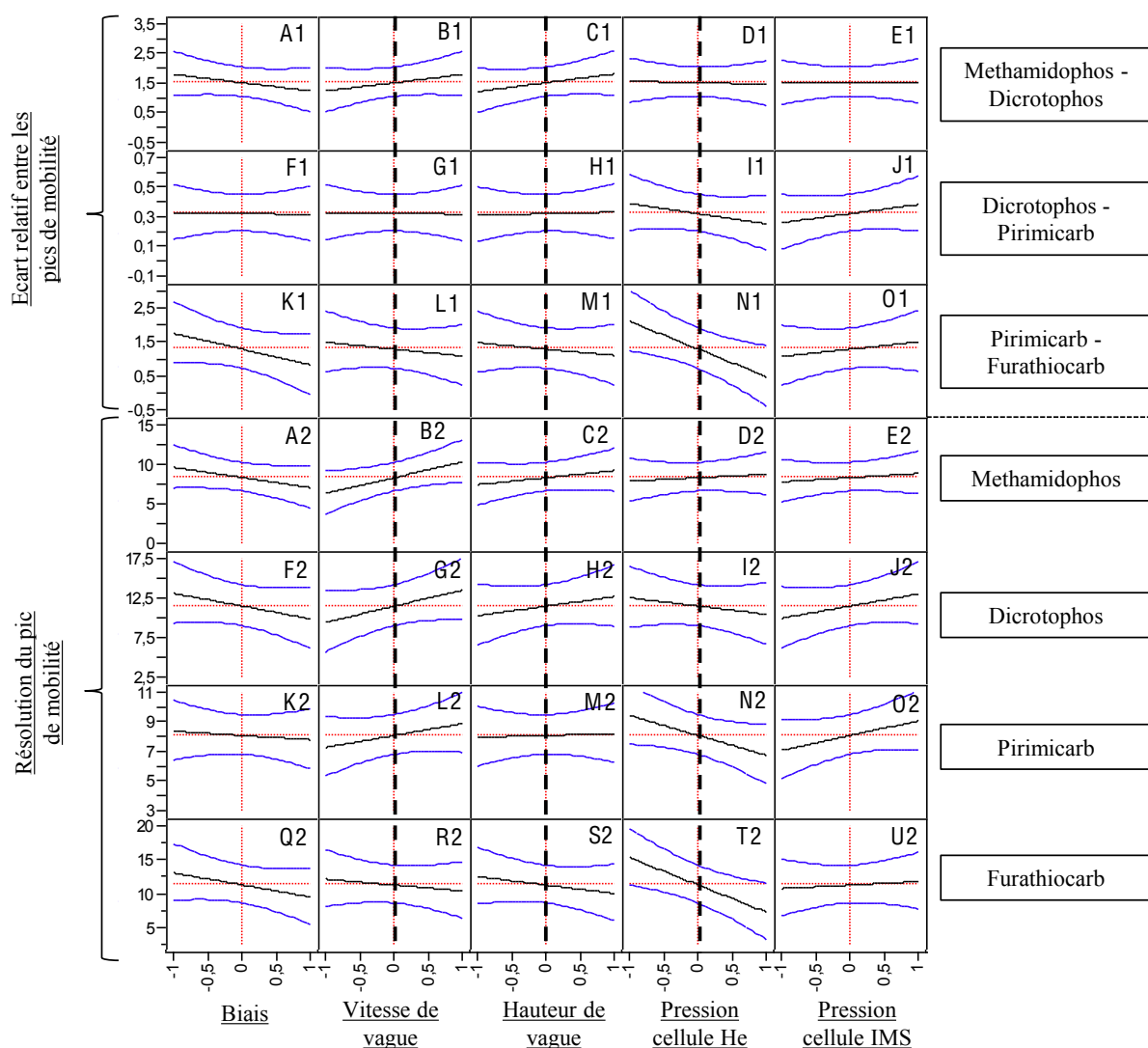
56. Wang, T.I., et al., *Design parameters of dual-stage ion reflectrons* Review of Scientific Instruments, 1994. **65**(5): p. 1585-1589.
57. By Rudakova, O.B. and I.P. Sedishev, *Generalized criterion of solvent polarity as a tool for control of chromatographic process* Russian Chemical Bulletin, 2003. **52**(1): p. 55-62.
58. Swartz, M.E. and B.J. Murphy. *Ultra performance liquid chromatography : tomorrow's HPLC technology today*. 2004; Available from:
http://www.labint-online.com/uploads/tx_ttproducts/datasheet/ultra-performance-liquid-chromatography-tomorrow's-hplc-technology-today.pdf.
59. Henry, R.A. *Keys to High Speed HPLC with Isocratic Mobile Phases*. 2010; Available from:
http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Supelco/General_Information/1/t409227.Par.0001.File.tmp/t409227.pdf.
60. Montgomery, D.C., *Designs and analysis of experiments*, ed. J. Wiley 2008.
61. Plackett, R.L. and J.P. Burman, *The Design of Optimum Multifactorial Experiments*. Biometrika, 1946. **33**(4): p. 305-325.
62. Ledolter, J. and A.J. Swersey, *Testing 1-2-3: Experimental Design with Applications in Marketing and Service Operations*. International Statistical Review, 2007. **75**(3): p. 431.
63. Zhihong, Z. *Comparison about the Three Central Composite Designs with Simulation*. 2009.
64. Palasota, J.A. and S.N. Deming, *Central composite experimental designs: applied to chemical systems*. J. Chem. Educ., 1992. **69**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 560-3.
65. Becke, A.D., *Density-functional thermochemistry. IV. A new dynamic correlation functional and implications for exact-exchange mixing*. J. Chem. Phys., 1996. **104**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 1040-6.
66. Kohn, W. and L.J. Sham, *Self-consistent equations including exchange and correlation effects*, 1965, Univ. of California. p. 21 pp.
67. Grimme, S., *Accurate description of van der Waals complexes by density functional theory including empirical corrections*. J. Comput. Chem., 2004. **25**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 1463-1473.
68. Grimme, S., *Semiempirical hybrid density functional with perturbative second-order correlation*. J. Chem. Phys., 2006. **124**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 034108/1-034108/16.
69. Von Helden, G., et al., *Structures of carbon cluster ions from 3 to 60 atoms: linears to rings to fullerenes*. J. Chem. Phys., 1991. **95**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 3835-7.
70. Mason, E.A. and E.W. McDaniel, *Transport properties of ions in gases*. Wiley, New York, 1988.

71. Wyttenbach, T., M. Witt, and M.T. Bowers, *On the Stability of Amino Acid Zwitterions in the Gas Phase: The Influence of Derivatization, Proton Affinity, and Alkali Ion Addition*. J. Am. Chem. Soc., 2000. **122**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 3458-3464.
72. Shvartsburg, A.A., et al., *Optimization of algorithms for ion mobility calculations*. The journal of physical chemistry. A, 2007. **111**(10): p. 2002-10.
73. Mesleh, M.F., et al., *Structural Information from Ion Mobility Measurements: Effects of the Long-Range Potential*. J. Phys. Chem., 1996. **100**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 16082-16086.
74. Granby, K., J.H. Andersen, and H.B. Christensen, *Analysis of pesticides in fruit, vegetables and cereals using methanolic extraction and detection by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. Anal. Chim. Acta, 2004. **520**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 165-176.
75. Howdle, M.D., et al., *The effect of drift gas on the separation of active pharmaceutical ingredients and impurities by ion mobility-mass spectrometry*. Int. J. Mass Spectrom., 2010. **298**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 72-77.
76. Chung, S.W.C. and B.T.P. Chan, *Validation and use of a fast sample preparation method and liquid chromatography-tandem mass spectrometry in analysis of ultra-trace levels of 98 organophosphorus pesticide and carbamate residues in a total diet study involving diversified food types*. J. Chromatogr., A, 2010. **1217**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 4815-4824.
77. Mayer-Helm, B., L. Hofbauer, and J. Pani, *Different responses of E:Z-isomers of pesticides in liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry*. J. Mass Spectrom., 2010. **45**(Copyright (C) 2011 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.): p. 715-721.
78. EU Pesticides database. *Pesticides EU-MRLs*. 2011; Available from: http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm.
79. Désenfant, M., M. Priel, and C. Rivier. *De la validation des méthodes d'analyse à l'évaluation de l'incertitude des résultats de mesure*. (consulté le 13 juin 2011); Available from: http://www.lne.fr/publications/actes_11e_congres_metrologie/81.pdf.

9. Annexes

	-1	0	1
Biais (V)	30	35	40
Vitesse de vague (m/s)	500	800	1100
Hauteur de vague (V)	34	28	22
Pression dans la cellule d'hélium (unité arbitraire)	100	130	160
Pression dans la cellule IMS (unité arbitraire)	80	100	120

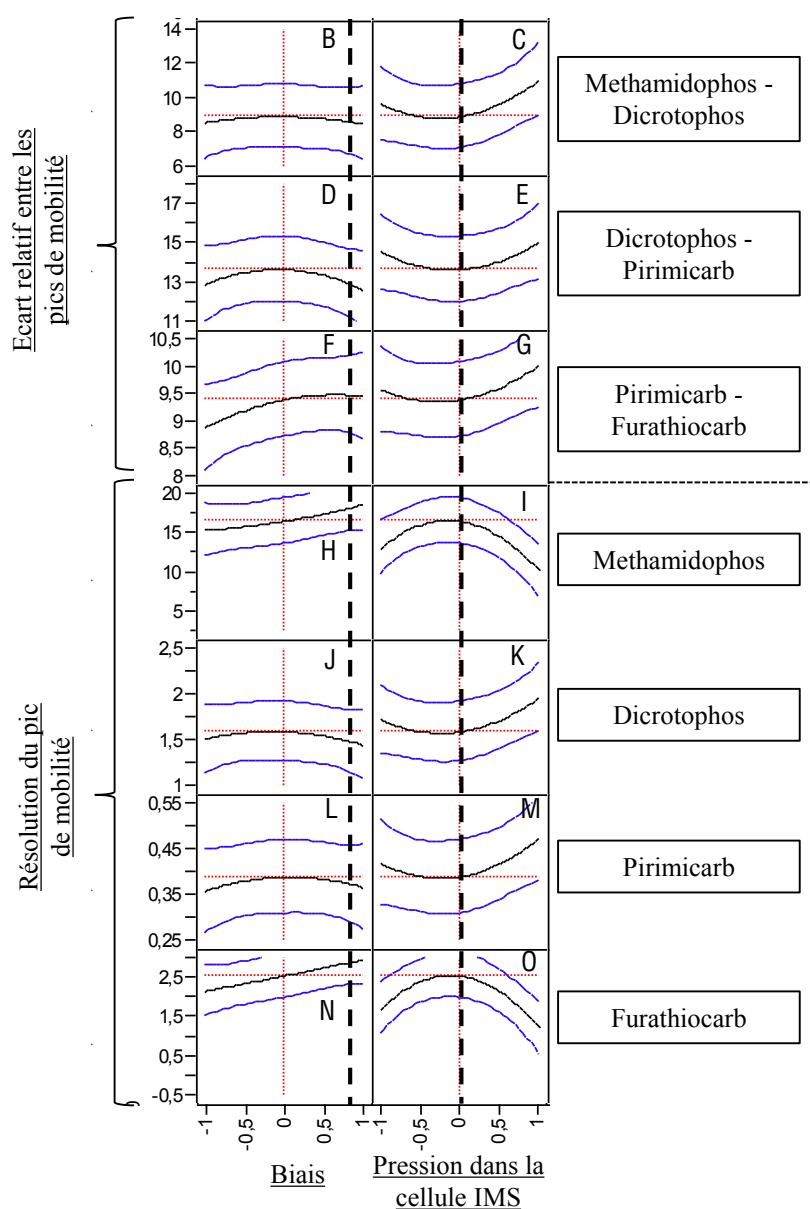
Annexe 1 : Valeurs de bornes utilisées pour le plan Plackett dans le but d'optimiser les paramètres de mobilité dans la gamme de masse 100-500



Annexe 2 : Résultats graphique du plan Plackett-Burman pour les paramètres de mobilité dans la gamme de masse 100-500. Les courbes en bleu représentent l'erreur minimum et maximum pour chaque résultat. Il apparaît que les courbes pour la vitesse de vague, la hauteur de vague et la pression dans la cellule d'hélium varient moins entre les bornes que les deux autres paramètres. Ainsi ce sont les paramètres les moins influents. Les droites en pointillées représentent les valeurs consensus choisies.

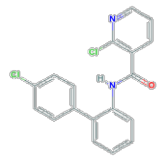
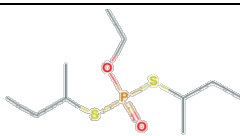
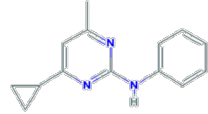
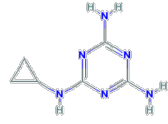
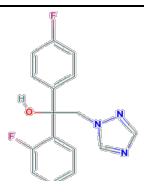
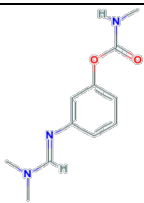
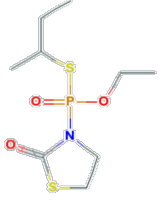
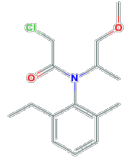
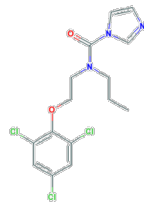
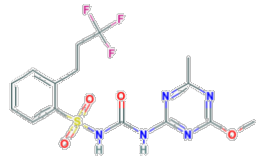
	$a = -1.41$	-1	0	1	$A = 1.41$
Biais	28	30	35	40	42
Pression dans la cellule IMS	72	80	100	120	128

Annexe 3 : Valeurs utilisées dans le plan Central Composite pour l'optimisation des paramètres de mobilité dans la gamme de masse 100-500



Annexe 4 : Résultat graphique du plan Central Composite des deux paramètres de mobilité les plus influents pour la gamme de masse de 100 à 500. Les courbes en bleu représentent l'erreur minimum et maximum pour chaque résultat. Les droites en pointillées représentent les valeurs consensus choisies.

Annexe 5 : Détails des 10 pesticides utilisés dans la Figure 54

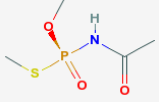
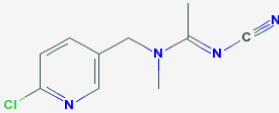
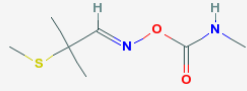
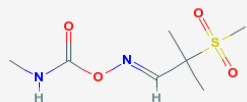
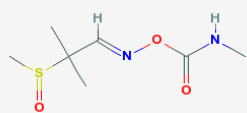
Nom	Formule brute	Masse exacte	Formule développée	Temps de rétention (mins)
boscalid	$C_{18}H_{12}Cl_2N_2O$	342.0327		38.38
cadusafos	$C_{10}H_{23}O_2PS_2$	270.0877		42.88
cyprodinil	$C_{14}H_{15}N_3$	225.1266		42.66
cyromazin	$C_6H_{10}N_6$	166.0967		Non détecté Composé polaire
flutriafol	$C_{16}H_{13}F_2N_3O$	301.1027		36.10
formetanate	$C_{11}H_{15}N_3O_2$	221.1164		Non détecté Composé polaire
fosthiazate	$C_9H_{18}NO_3PS_2$	283.0466		35.81
metolachlor	$C_{15}H_{22}ClNO_2$	283.1339		40.24
prochloraz	$C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$	375.0308		42.18
prosulfuron	$C_{15}H_{16}F_3N_5O_4S$	419.0875		37.25

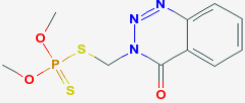
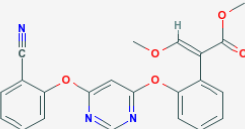
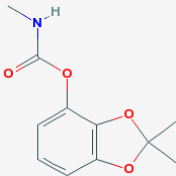
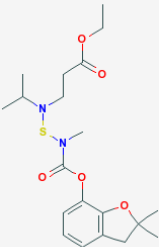
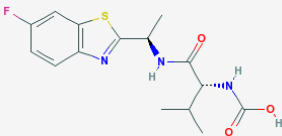
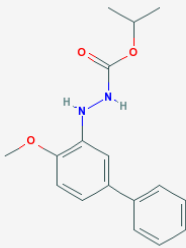
Annexe 6 : Différents paramètres d'une sélection de 53 pesticides. Ces données sont utilisées la construction de la Figure 60

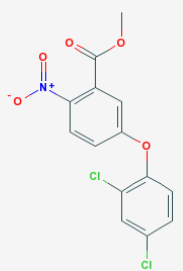

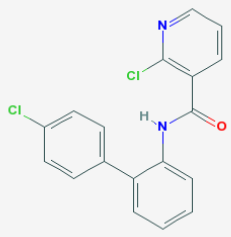

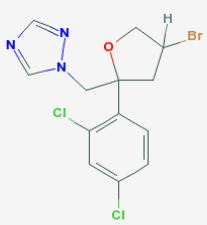

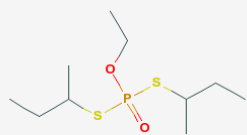

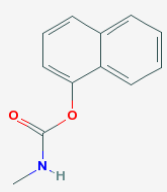
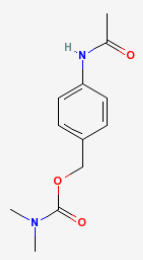

<u>Nom du pesticide</u>	<u>Temps de mobilité (ms)</u>	<u>Temps de rétention (min)</u>	<u>m/z</u>
acetamipride	1.46	32.26	223.0775
azoxystrobin	3.15	37.56	404.1342
bendiocarb	1.36	37.70	224.0974
boscalid	2.33	38.38	343.0518
carbofuran	1.41	34.57	222.1186
carbofuran-3 Hydroxy	1.46	31.33	238.1137
chlorbromuron	1.57	39.47	292.9870
demeton-S-methyl sulfoxide/ oxydemeton-methyl	1.25	28.64	247.0271
dichlorvos	1.03	34.74	220.9537
dicrotophos	1.41	29.94	238.0935
diuron	1.41	37.65	233.0338
dodine	2.82	42.76	288.2986
epoxiconazole	2.28	39.41	330.0981
fenhexamid	2.01	39.43	302.0745
fluazifop-P-butyl	3.15	43.91	384.1455
flufenacet	2.39	39.55	364.0627
flutolanil	2.28	38.71	324.1357
flutriafol	1.95	36.10	302.1277
furalaxyl	1.90	37.37	302.1581
furathiocarb	2.98	45.39	383.1692
haloxyfop	2.55	41.42	362.0633
heptenophos	1.36	36.86	251.0289
hexaconazole	2.22	41.75	314.0995
indoxacarbe	3.69	42.28	528.0810
iprovalicarb	2.66	38.38	321.2375
isoproturon	1.46	36.82	207.1575
linuron	1.52	38.42	249.0240
mepanipyrim	1.52	40.10	224.1301
metalaxyl	1.84	36.32	280.1610

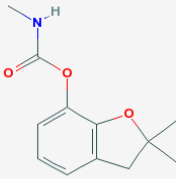
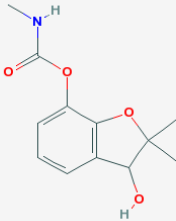
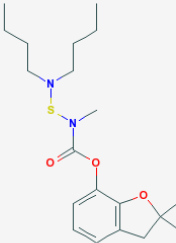
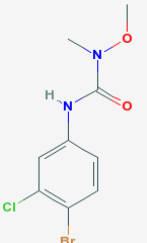
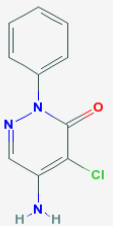
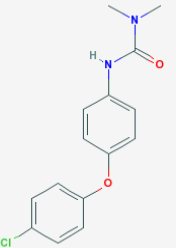
methoxyfenozone	3.09	38.66	369.2366
metolachlor	1.79	40.24	284.1489
monocrotophos	1.30	30.47	224.0712
omethoate	1.09	27.08	214.0352
penycuron	2.50	42.69	329.1614
pethoxamid	2.01	39.55	296.1462
phenmedipham	2.28	37.66	301.1329
pirimicarb	1.57	36.46	239.1606
prochloraz	2.60	42.18	376.0392
promecarb	1.52	38.14	208.1404
prosulfocarb	1.74	44.73	252.1593
pymetrozin	1.46	30.15	218.1163
pyraclostrobine	2.71	41.97	388.1320
pyrimethanil	1.25	39.24	200.1261
simazin	1.25	35.55	202.0916
tebuconazol	2.06	41.20	308.1513
tebufenpyrad	2.93	45.26	334.1858
tetraconazole	2.73	38.95	372.0480
thiacloprid	1.63	33.15	253.0448
thiodicarb	2.55	36.08	355.0675
thiophanate-methyl	2.33	34.78	343.0599
triasulfuron	2.82	34.32	402.0801
triflumuron	2.17	42.23	359.0497
vamidothion	1.68	31.50	288.0536

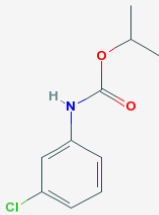
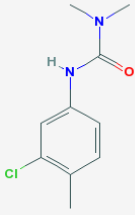
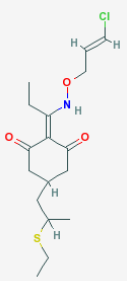
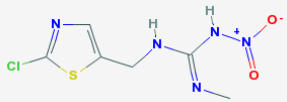
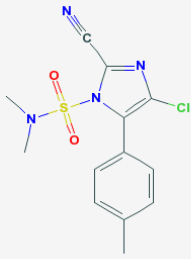
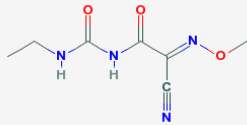
Annexe 7 : Liste des pesticides utilisés dans ce mémoire, ainsi que différents paramètres se rapportant à ces derniers

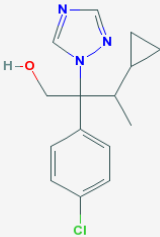
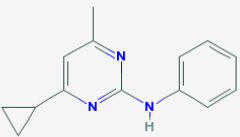
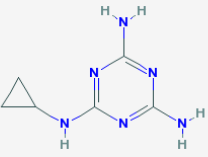
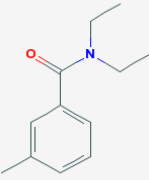
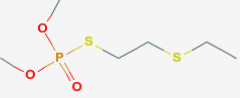
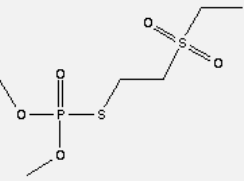
Nom	Formule brute	Masse exacte	Formule développée	Temps de rétention sans matrice à 100 ng/mL (mins)	Temps de mobilité (gamme 100-900)	Détection à 100 ng/g de salade
acephate	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	183.0119		Non détecté Composé très polaire Fragment en MS		✓
acetamiprid	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	222.0672		32.26	1.46	✗
aldicarb	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	190.2632		Non détecté Fragmente en MS		✗
aldicarb sulfon = aldoxycarb	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	222.0674		Non détecté Fragmente en MS		/
aldicarb sulfoxid	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	206.0725		Non détecté Composé polaire Fragmente en MS		/

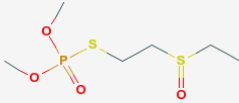
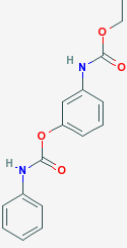
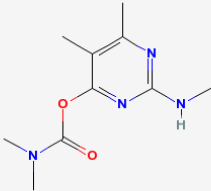
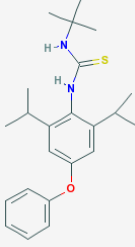
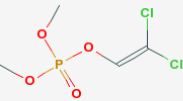
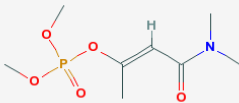
aziphos-methyl	$C_{10}H_{12}N_3O_3PS_2$	317.0058		Non détecté Fragmente en MS		✘
azoxystrobin	$C_{22}H_{17}N_3O_5$	403.1168		37.56	3.15	✘
bendiocarb	$C_{11}H_{13}NO_4$	223.0845		37.70	1.36	✓
benfuracarb	$C_{20}H_{30}N_2O_5S$	410.1875		44.12		✘
benthiavalicarb	$C_{15}H_{18}FN_3O_3S$	339.1053		38.56		✓
bifenazate	$C_{17}H_{20}N_2O_3$	300.1474		38.59		?

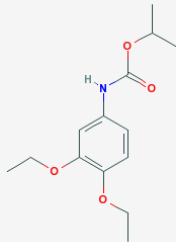

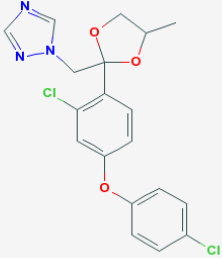

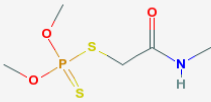
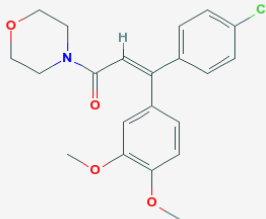

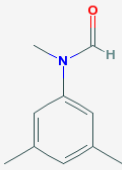
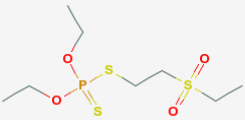

bifenox	$C_{14}H_9Cl_2NO_5$	340.9858		Non détecté		
boscalid *	$C_{18}H_{12}Cl_2N_2O$	342.0327		38.38	2.33	
bromuconazole	$C_{13}H_{12}BrCl_2N_3O$	374.9541		39.28		
cadusafos	$C_{10}H_{23}O_2PS_2$	270.0877		42.88		
carbaryl	$C_{12}H_{11}NO_2$	201.0790		Non détecté Fragmente en MS		/
carbetamide	$C_{12}H_{16}N_2O_3$	236.1161		34.59		

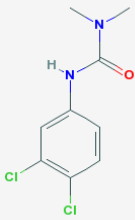

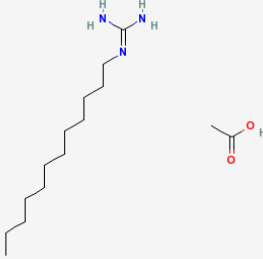
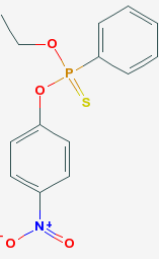
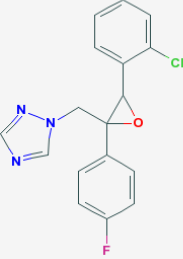
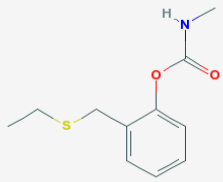
carbofuran	$C_{12}H_{15}NO_3$	221.1052		34.57	1.41	✓
carbofuran-3 Hydroxy	$C_{12}H_{15}NO_4$	237.1001		31.33	1.46	✗
carbosulfan	$C_{20}H_{32}N_2O_3S$	380.2134		Non détecté		/
chlorbromuron	$C_9H_{10}BrClN_2O_2$	291.9614		39.47	1.57	✓
chloridazon	$C_{10}H_8ClN_3O$	221.0356		32.34		✗
chloroxuron	$C_{15}H_{15}ClN_2O_2$	290.0822		39.38		✓

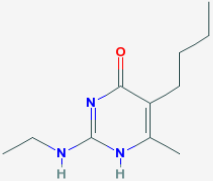
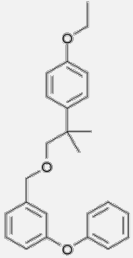
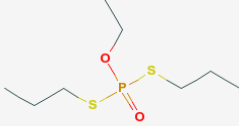
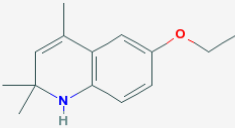
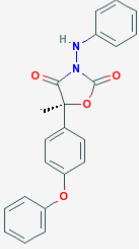
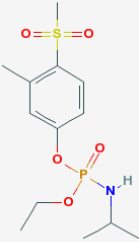
chlorpropham	$C_{10}H_{12}ClNO_2$	213.0557		Non détecté Fragment en MS	/
chlortoluron	$C_{10}H_{13}ClN_2O$	212.6760		36.93	✓
clethodim	$C_{17}H_{26}ClNO_3S$	359.1322		39.50 + 40.67 (E,Z)	✓
clothianidin	$C_6H_8ClN_3O_2S$	249.0087		31.45	✗
cyazofamid	$C_{13}H_{13}ClN_4O_2S$	324.0448		40.27	✗
cymoxanil	$C_7H_{10}N_4O_3$	198.0753		Non détecté Composé polaire	/

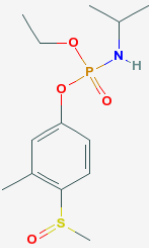

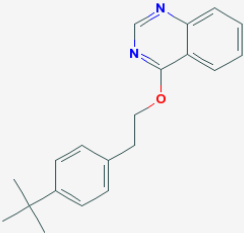
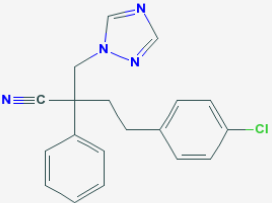
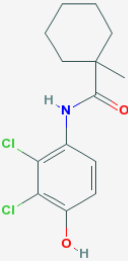

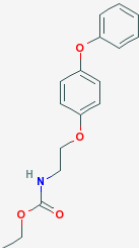

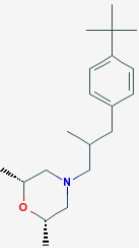
cyproconazol	$C_{15}H_{18}ClN_3O$	291.1138		39.05 + 39.62 (R,S)		✓
cyprodinil	$C_{14}H_{15}N_3$	225.1266		42.66		✓
cyromazin	$C_6H_{10}N_6$	166.0967		Non détecté Composé polaire		/
DEET	$C_{12}H_{17}NO$	191.1310		36.00		✓
demethon-S-methyl	$C_6H_{15}O_3PS_2$	230.0200		Non détecté Fragmente en MS		✗
demeton-S-methyl sulfon	$C_6H_{15}O_5PS_2$	262.0099		29.25		✗

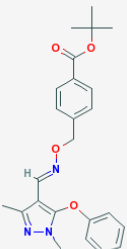
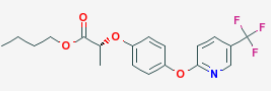
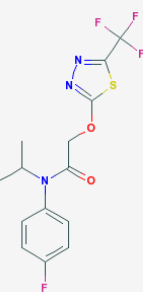
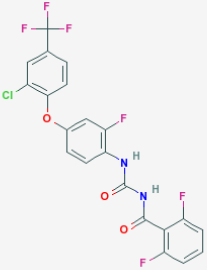
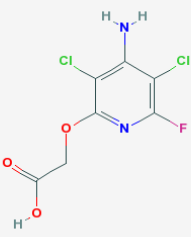
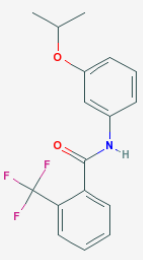
demeton-S-methyl sulfoxide /oxydemeton-methyl	$C_6H_{15}O_4PS_2$	246.0149		28.64	1.25	?
desmedipham	$C_{16}H_{16}N_2O_4$	300.1110		37.32		?
desmethyl pirimicarb	$C_{10}H_{16}N_4O_2$	224.2596 4		33.34		✓
diafenthurion	$C_{23}H_{32}N_2OS$	384.2235		49.93		?
dichlorvos	$C_4H_7Cl_2O_4P$	219.9459		34.74	1.03	✓
dicrotophos	$C_8H_{16}NO_5P$	237.0766		29.94	1.41	✓

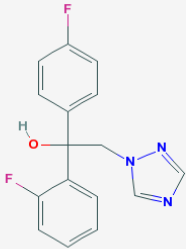
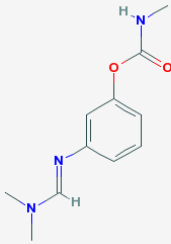
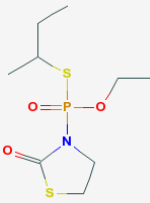
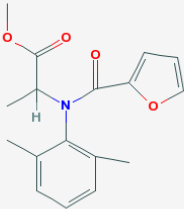
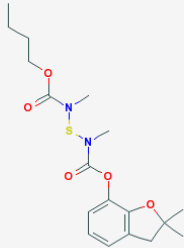
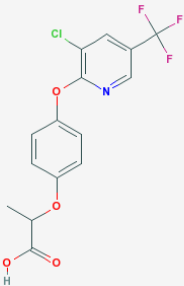
diethofencarb	$C_{14}H_{21}NO_4$	267.1471		37.96		
difenoconazole	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$	405.0647		42.59		
dimethoate	$C_5H_{12}NO_3PS_2$	228.9996		Non détecté Composé polaire Fragmente en MS		/
dimethomorph	$C_{21}H_{22}ClNO_4$	387.1237		37.96 + 38.52 (E,Z)		
dimethylphenyl-N-methylformamid	$C_{10}H_{14}N_2$	162.1157		Non détecté Composé polaire		/
disulfoton	$C_8H_{19}O_4PS_3$	306.0183		35.86		

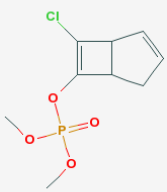
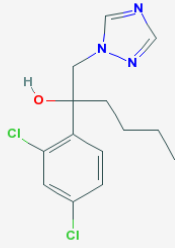
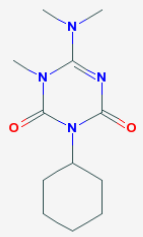
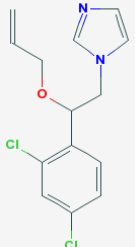
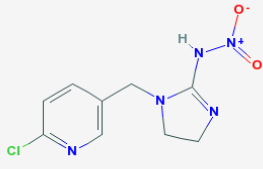
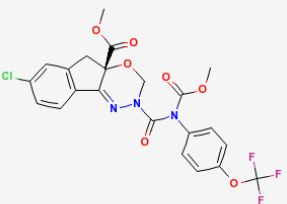
diuron	$C_9H_{10}Cl_2N_2O$	232.0170		37.65	1.41	✓
DMST	$C_9H_{14}N_2O_2S$	214.0776		35.26		✗
dodine	$C_{15}H_{33}N_3O_2$	287.2573		42.76	2.82	✓
EPN	$C_{14}H_{14}NO_4PS$	323.0381		37.30		✓
epoxiconazole	$C_{17}H_{13}ClFN_3O$	329.0731		39.41	2.28	?
ethiofencarb	$C_{11}H_{15}NO_2S$	225.0824		36.32		?

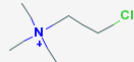
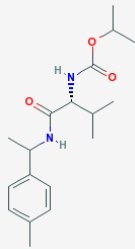
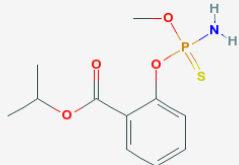
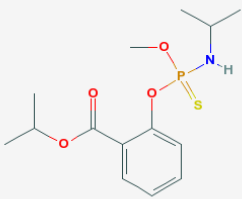
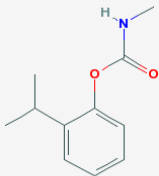
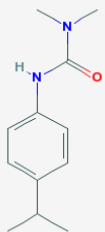
ethirimol	$C_{11}H_{19}N_3O$	209.1528		37.01		✓
ethofenprox	$C_{25}H_{28}O_3$	376.4880		Non détecté Fragmente en MS		/
ethoprophos	$C_8H_{19}O_2PS_2$	242.0564		39.67		✓
ethoxyquin	$C_{14}H_{19}NO$	217.1467		37.59		?
famoxadone	$C_{22}H_{18}N_2O_4$	374.1267		Non détecté		/
fenamiphos sulfone	$C_{13}H_{22}NO_5PS$	335.0956		34.68		✓

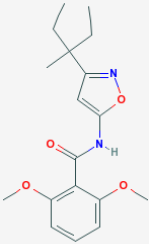
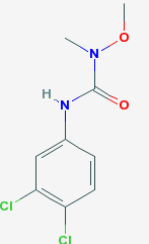
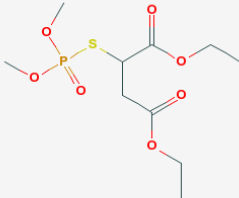
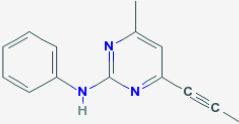
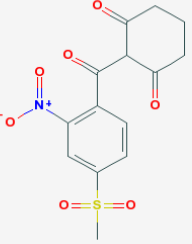
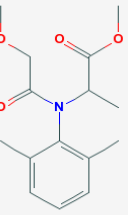
fenamiphos sulfoxide	$C_{13}H_{22}NO_4PS$	319.1007		34.23		
fenazaquin	$C_{20}H_{22}N_2O$	306.1732		Non détecté		/
fenbuconazole	$C_{19}H_{17}ClN_4$	336.1142		39.74		?
fenhexamid	$C_{14}H_{17}Cl_2NO_2$	301.0636		39.43	2.01	
fenoxycarb	$C_{17}H_{19}NO_4$	301.0636		40.53		
fenpropimorph	$C_{20}H_{33}NO$	303.2562		Non détecté		/

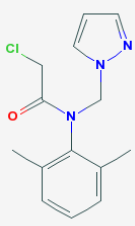
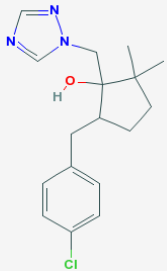
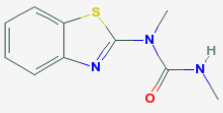
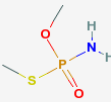
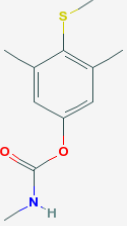
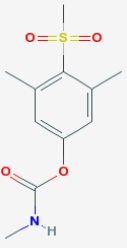
fenpyroximate	$C_{24}H_{27}N_3O_4$	421.2002		Non détecté		/
fluazifop-P-butyl	$C_{19}H_{20}F_3NO_4$	383.1344		43.91	3.15	?
flufenacet	$C_{14}H_{13}F_4N_3O_2S$	363.0665		39.55	39.55	✗
flufenoxuron	$C_{21}H_{11}ClF_6N_2O_3$	488.0362		50.09		✗
fluroxypyr	$C_7H_5Cl_2FN_2O_3$	253.9661		Non détecté Composé polaire		/
flutolanil	$C_{17}H_{16}F_3NO_2$	323.1133		38.71	2.28	✓

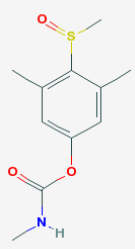

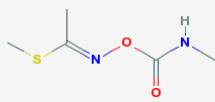
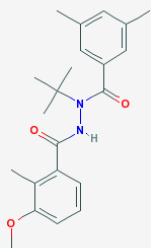

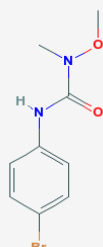

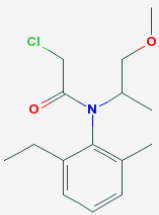

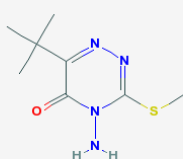

flutriafol	$C_{16}H_{13}F_2N_3O$	301.1027		36.10	1.95	✓
formetanate	$C_{11}H_{15}N_3O_2$	221.1164		Non détecté Composé polaire		/
fosthiazate	$C_9H_{18}NO_3PS_2$	283.0466		35.81		✗
furalaxyl	$C_{17}H_{19}NO_4$	301.1314		37.37	1.90	✓
furathiocarb	$C_{18}H_{26}N_2O_5S$	382.1562		45.39	2.98	✓
haloxyfop	$C_{15}H_{11}ClF_3NO_4$	361.0329		41.42	2.55	✓

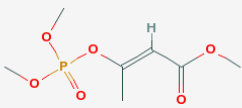
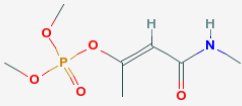

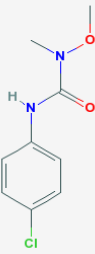

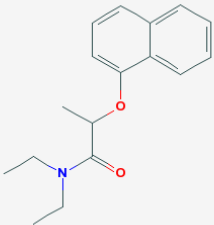

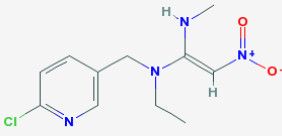
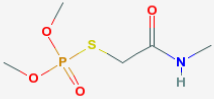

heptenophos	$C_9H_{12}ClO_4P$	250.0162		36.86	1.36	✓
hexaconazole	$C_{14}H_{17}Cl_2N_3O$	313.0749		41.75	2.22	✓
hexazinone	$C_{12}H_{20}N_4O_2$	252.1586		34.92		✓
imazalil	$C_{14}H_{14}Cl_2N_2O$	296.0483		40.98		✓
imidacloprid	$C_9H_{10}ClN_5O_2$	255.0523		31.11		✗
indoxacarb	$C_{22}H_{17}ClF_3N_3O_7$	527.0707		42.28	3.69	✗

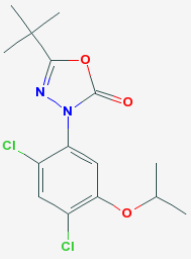

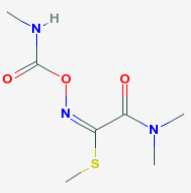

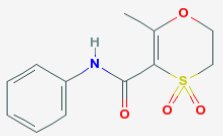

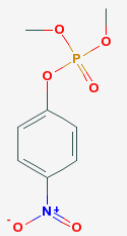

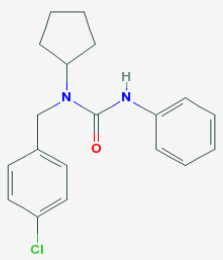

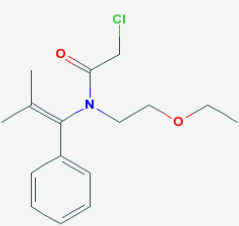

ion chlormequat	$C_5H_{13}ClN^+$	122.6164		Non détecté Composé polaire		/
iprovalicarb	$C_{18}H_{28}N_2O_3$	320.2100		38.88	2.66	?
isocarbophos	$C_{11}H_{16}NO_4PS$	289.0538		Non détecté, Fragment en MS		/
isofenphos- methyl	$C_{14}H_{22}NO_4PS$	331.1007		42.19		✓
isoprocab	$C_{11}H_{15}NO_2$	193.1103		36.70		✓
isoproturon	$C_{12}H_{18}N_2O$	206.1419		36.82	1.46	✗

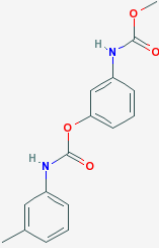
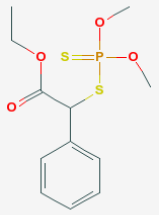
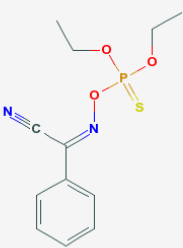
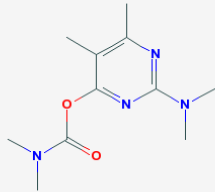
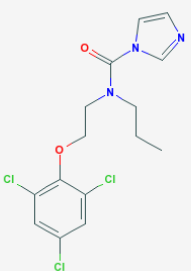
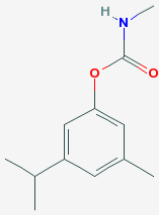
isoxaben	$C_{18}H_{24}N_2O_4$	332.1736		38.35		✓
linuron	$C_9H_{10}Cl_2N_2O_2$	248.0119		38.42	1.52	✓
malaoxon	$C_{10}H_{19}O_7PS$	314.0589		34.90		✓
mepanipyrim	$C_{14}H_{13}N_3$	223.1109		40.10	1.52	✓
mesotrione	$C_{14}H_{13}NO_7S$	339.0413		Non détecté Composé polaire		/
metalaxyl	$C_{15}H_{21}NO_4$	279.1471		36.32	1.84	✓

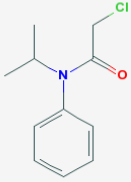
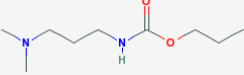
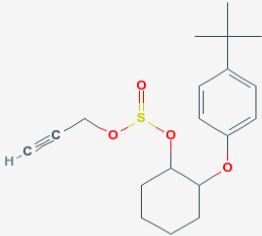
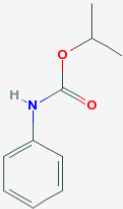
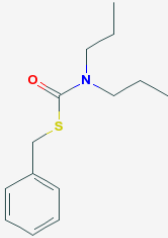
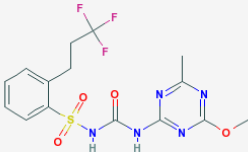
metazachlor	$C_{14}H_{16}ClN_3O$	277.0982		36.48		✓
metconazol	$C_{17}H_{22}ClN_3O$	319.1451		41.54		✓
methabenzthiazuron	$C_{10}H_{11}N_3OS$	221.0623		36.99		✓
methamidophos	$C_2H_8NO_2PS$	141.0013		Non détecté Composé très polaire		/
methiocarb	$C_{11}H_{15}NO_2S$	225.0824		36.75		✓
methiocarb sulfon	$C_{11}H_{15}NO_4S$	257.0722		32.34		?

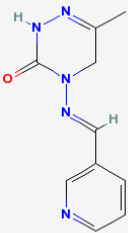

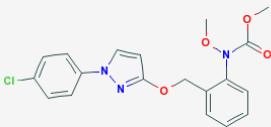

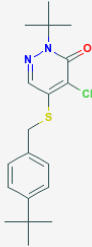

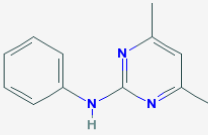

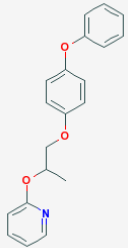

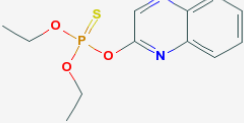

methiocarb sulfoxide	$C_{11}H_{15}NO_3S$	241.0773		31.64		
methomyl	$C_5H_{10}N_2O_2S$	162.0463		Non détecté Composé polaire Fragmente en MS		/
methoxyfenozone	$C_{22}H_{28}N_2O_3$	368.2100		38.66	3.09	
metobromuron	$C_9H_{11}BrN_2O_2$	258.0004		36.91		
metolachlor	$C_{15}H_{22}ClNO_2$	283.1339		40.24	1.79	
metribuzin	$C_8H_{14}N_4OS$	214.0888		35.69		

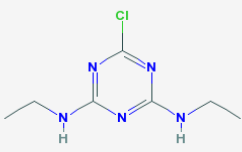
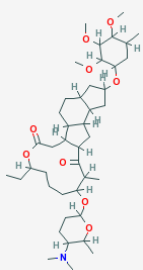
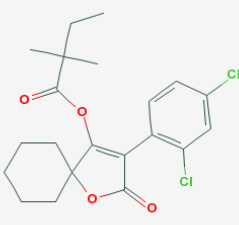
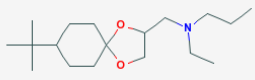
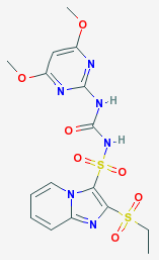
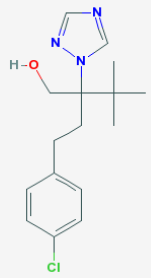
mevinphos	$C_7H_{13}O_6P$	224.0450		Non détecté Composé polaire		/
monocrotophos	$C_7H_{14}NO_5P$	223.0610		30.47	1.30	
monolinuron	$C_9H_{11}ClN_2O_2$	214.0509		36.32		
napropamid	$C_{17}H_{21}NO_2$	271.1572		39.76		
nitempyram *	$C_{11}H_{15}ClN_4O_2$	270.0884		Non détecté Composé polaire		/
omethoate *	$C_5H_{12}NO_4PS$	213.0225		27.08	1.09	

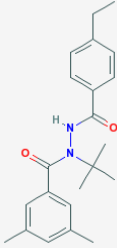
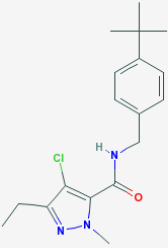
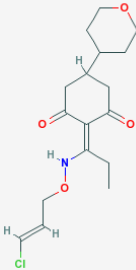
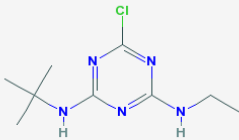
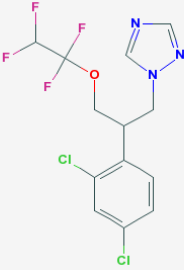
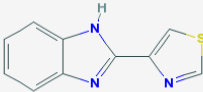
oxadiazon	$C_{15}H_{18}Cl_2N_2O_3$	344.0694		46.69		
oxamyl	$C_7H_{13}N_3O_3S$	219.0678		Non détecté Composé polaire Fragment en MS		
oxycarboxine	$C_{12}H_{13}NO_4S$	267.0565		32.60		
paraoxon methyl	$C_8H_{10}NO_6P$	247.0246		33.82		
pencycuron	$C_{19}H_{21}ClN_2O$	328.1342		42.69	2.50	
pethoxamid	$C_{16}H_{22}ClNO_2$	295.1339		39.55	2.01	

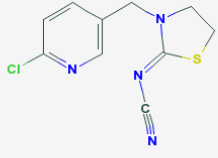
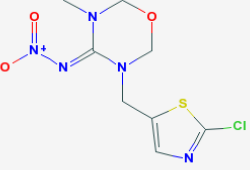
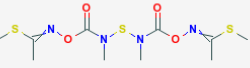
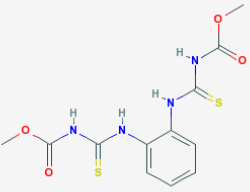
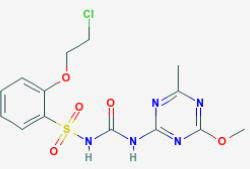
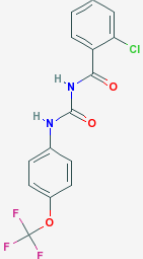
phenmedipham	$C_{16}H_{16}N_2O_4$	300.1110		37.66	2.28	✗
phenthoate	$C_{12}H_{17}O_4PS_2$	320.0306		41.16		✓
phoxim	$C_{12}H_{15}N_2O_3PS$	298.0541		38.59		?
pirimicarb	$C_{11}H_{18}N_4O_2$	238.1430		36.46	1.57	✓
prochloraz	$C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$	375.0308		42.18	2.60	✓
promecarb	$C_{12}H_{17}NO_2$	207.1259		38.14	1.52	✓

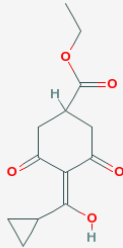
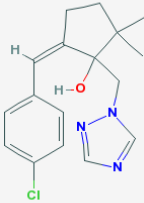
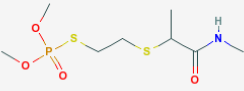
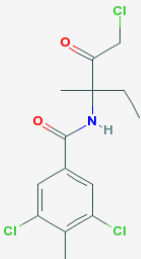
propachlor	C ₁₁ H ₁₄ ClNO	211.0764		36.46		?
propamocarb	C ₉ H ₂₀ N ₂ O ₂	188.1525		27.28		✗
propargite	C ₁₉ H ₂₆ O ₄ S	350.1552		Non détecté Fragmente en MS		/
propham	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	179.0946		Non détecté Fragmente en MS		/
prosulfocarb	C ₁₄ H ₂₁ NOS	251.1344		44.73	1.74	✓
prosulfuron	C ₁₅ H ₁₆ F ₃ N ₅ O ₄ S	419.0875		37.25		✓

pymetrozin	$C_{10}H_{11}N_5O$	217.0964		30.15	1.46	
pyraclostrobine	$C_{19}H_{18}ClN_3O_4$	387.0986		41.97	2.71	
pyridaben	$C_{19}H_{25}ClN_2OS$	364.1376		44.06		
pyrimethanil	$C_{12}H_{13}N_3$	199.1109		39.24	1.25	
pyriproxifen	$C_{20}H_{19}NO_3$	321.1365		49.02		
quinalphos	$C_{12}H_{15}N_2O_3PS$	298.0541		41.73		

simazin	$C_7H_{12}ClN_5$	201.0781		35.55	1.25	✓
spinosad	$C_{41}H_{65}NO_{10}$	731.4608		/	/	/
spirodiclofen	$C_{21}H_{24}Cl_2O_4$	410.1052		51.17		✗
spiroxamine	$C_{18}H_{35}NO_2$	297.2668		40.91 + 41.44 (R,S)		✓
sulfosulfuron	$C_{16}H_{18}N_6O_7S_2$	470.0678		34.30		✗
tebuconazol	$C_{16}H_{22}ClN_3O$	307.1451		41.20	2.06	✓

tebufenozid	$C_{22}H_{28}N_2O_2$	352.2151		Non détecté Fragmente en MS		/
tebufenpyrad	$C_{18}H_{24}ClN_3O$	333.1608		45.26	2.93	✓
tepraloxydim	$C_{17}H_{24}ClNO_4$	341.8298		37.32		✗
terbutylazin	$C_9H_{16}ClN_5$	229.1094		38.50		✓
tetraconazole	$C_{13}H_{11}Cl_2F_4N_3O$	371.0215		38.95	2.73	✓
thiabendazole	$C_{13}H_{11}Cl_2F_4N_3O$	733.1096		/		✓

thiacloprid	$C_{10}H_9ClN_4S$	252.0236		33.15	1.63	✓
thiamethoxam	$C_8H_{10}ClN_5O_3S$	291.0193		29.63		✗
thiodicarb	$C_{10}H_{18}N_4O_4S_3$	354.4693		36.08	2.55	✓
thiophanate-methyl	$C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$	342.0456		34.78	2.33	✗
triasulfuron	$C_{14}H_{16}ClN_5O_5S$	401.0561		34.32	2.82	✓
triflumuron	$C_{15}H_{10}ClF_3N_2O_3$	358.0332		42.23	2.17	✓

trinexapac-ethyl	$C_{13}H_{16}O_5$	252.0998		34.53		?
triticonazole	$C_{17}H_{20}ClN_3O$	317.1295		39.72		✓
vamidothion	$C_8H_{18}NO_4PS_2$	287.0415		31.50	1.68	✗
zoxamide	$C_{14}H_{16}Cl_3NO_2$	335.0247		41.78		?