

GC-MS/MS : une nouvelle option pour l'approche de confirmation des analyses de PCDD/Fs et de PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux

Gauthier Epepe* et Jean-François Focant

CART Université de Liège, Allée de la Chimie 3, B-6c Sart-Tilman, 4000 Liège, BELGIQUE

Introduction

Les risques pour la santé humaine émanant des PCB et des dioxines sont principalement liés à la consommation de denrées alimentaires d'origine animale. Au cours de cette dernière décennie, des cas répétés de contamination d'aliments pour animaux ont souligné l'importance de ces aliments en tant que voie potentielle de contamination. Réduire l'exposition humaine aux composés de type dioxines dépend donc fortement des actions entreprises pour limiter autant que possible la contamination de toutes les matières utilisées dans l'alimentation animale, aussi bien les matières premières que les produits et ingrédients recyclés (p.ex. granulés de pulpe d'agrumes, graisses recyclées, argiles minérales, chlorure de choline, acide chlorhydrique lié à la production de gélatine, gomme de guar utilisée comme épaississant, acides gras liés au biodiesel, etc.).

Malgré ces actions, des cas isolés de contamination sont toujours susceptibles de survenir. La mise en œuvre de plans de surveillance au niveau des États membres, l'application de teneurs maximales, de limites d'action et de limites cibles (cette dernière limite a récemment été abrogée) ainsi que la disponibilité d'un système d'alerte rapide au niveau européen pour les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (RASFF), permettent aujourd'hui de prendre plus rapidement des actions coordonnées en vue de réduire à un minimum l'exposition potentielle de la population lorsqu'un cas de contamination est rapporté.

La nécessité d'un monitoring efficace des dioxines et PCB

Aussi bien les méthodes biologiques que physico-chimiques peuvent être utilisées pour le dépistage des PCB et dioxines dans les denrées alimentaires⁽¹⁾. Sur base de l'expression des résultats en équivalence toxique (TEQ) de 2,3,7,8-TCDD, les deux types de méthode doivent présenter des taux de faux conformes en dessous de 5 %, une reproductibilité intra-laboratoire (RSD_R) inférieure à 25 %, tout en maintenant un taux de faux non conformes suffisamment bas pour rendre avantageux l'usage d'un outil de dépistage. De plus, tous les résultats non conformes doivent être confirmés au moyen de la méthode de chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse à haute résolution (GC-HRMS), et jusqu'à 10 % des échantillons conformes doivent également faire l'objet d'une confirmation. Les bioessais et méthodes GC-MS sont toutefois soumis à différents niveaux d'exigences spécifiques et fournissent des informations différentes (Règlement (UE) n° 278/2012 de la Commission⁽²⁾ ; Règlement (CE) n° 252/2012 de la Commission⁽³⁾). Pour les méthodes de dépistage par GC-MS, le niveau d'expertise est plus grand et

est similaire à celui de la méthodologie GC-HRMS utilisée à des fins de confirmation, les seules différences étant le type d'analyseur de masse à utiliser et les seuils de détection à atteindre. Ainsi, bien qu'elle ait au départ été prévue comme une alternative économiquement viable à la GC-HRMS, l'approche de dépistage par GC-MS est rarement appliquée dans la pratique. La principale raison est en fait l'investissement que représente la MS, puisque les exigences analytiques et les exigences en matière de préparation d'échantillon sont les mêmes (la préparation d'un échantillon pour GC-LRMS ou pour GC-HRMS requiert les mêmes efforts). Le coût des instruments HRMS est plus élevé que celui d'autres analyseurs MS utilisés dans le dépistage mais l'impact financier réel sur le prix d'une analyse, avec un retour sur investissement calculé sur la durée de vie de l'analyseur, est extrêmement faible. De nombreux laboratoires analytiques préfèrent donc investir dans l'outil physico-chimique de confirmation en HRMS plutôt que dans son équivalent de dépistage.

Cependant, différentes études ont récemment été publiées sur l'applicabilité de la nouvelle génération de GC-MS/MS à triple quadripôle pour la détermination des PCDD/Fs et des PCB de type dioxine dans les échantillons d'aliments pour animaux et de denrées alimentaires^(4,5,6,7). La comparaison des résultats obtenus par GC-MS/MS et par GC-HRMS a mis en avant que la GC-MS/MS a aujourd'hui le potentiel d'être utilisée comme méthode alternative de confirmation. Afin de discuter de cette nouvelle option, un groupe de travail a été constitué au sein du réseau du Laboratoire communautaire de référence de l'Union européenne (EU-RL) et des Laboratoires nationaux de référence (LNR) des Etats membres. L'objectif était d'évaluer les potentialités des nouvelles techniques/instruments MS pour la détermination des PCB et des dioxines dans les aliments pour animaux et les denrées alimentaires.

Evaluation des systèmes GC-MS/MS

Il y a plus de 30 ans, il est évident que la GC-MS constituait déjà la méthode instrumentale de choix pour mesurer les polluants organiques persistants (POP) et en particulier les PCDD/Fs. La spectrométrie de masse ne fournit pas uniquement une quantification très précise mais garantit également une identification non équivoque des composés ciblés. Toutefois, les instruments GC-MS ne peuvent pas tous mesurer les PCDD/Fs. La complexité de mesure de ces composés est également liée à leurs faibles niveaux de concentration dans les matrices environnementales, et en particulier dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux. La sensibilité requise est atteinte en combinant haute résolution et haut degré d'exactitude en masse au moyen d'instruments à secteurs magnétiques à double focalisation magnétique/électrique, communément appelés spectromètres de masse à haute résolution (HRMS) en mode SIM (scrutation d'ions spécifiques). Cependant, la nouvelle génération d'instruments à triple quadripôle présente une amélioration significative de la sensibilité, qui pourrait partiellement réduire l'écart de sensibilité avec les instruments GC-HRMS à secteurs. Kotz et ses collaborateurs ont récemment rapporté une limite instrumentale de quantification (LOQ) de 50 fg (quantité absolue sur la colonne) pour la TCDD⁶. En outre, Fürst et ses collaborateurs ont atteint le même niveau de performances. Le point d'étalonnage le plus bas pour les congénères de PCDD et PCDF était de 100 fg injectés sur la colonne avec une excellente linéarité de 0,1 à 10 pg injectés sur la colonne⁷.

Le groupe de travail au sein du réseau de laboratoires EU-RL et LNR a évalué les potentialités de la nouvelle méthode candidate de confirmation sur base des aspects suivants :

- Le domaine de travail, en se focalisant spécifiquement sur la limite inférieure du domaine de mesure
- La linéarité, la fidélité, la justesse et la robustesse des systèmes
- L'applicabilité dans les analyses de routine de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux au niveau d'intérêt (limites maximales)
- La comparaison des résultats de GC-MS/MS et de GC-HRMS (comparaison avec les valeurs consensus obtenues lors des essais d'aptitude interlaboratoires)



Les conclusions de l'évaluation des différents systèmes GC-MS/MS sensibles disponibles ont montré que les systèmes GC-MS/MS les plus récents des différents fournisseurs pouvaient être appliqués pour l'analyse de routine des PCDD/Fs et des PCB de type dioxine dans les aliments pour animaux et les denrées alimentaires et qu'ils avaient un potentiel en tant que méthode alternative de confirmation⁸.

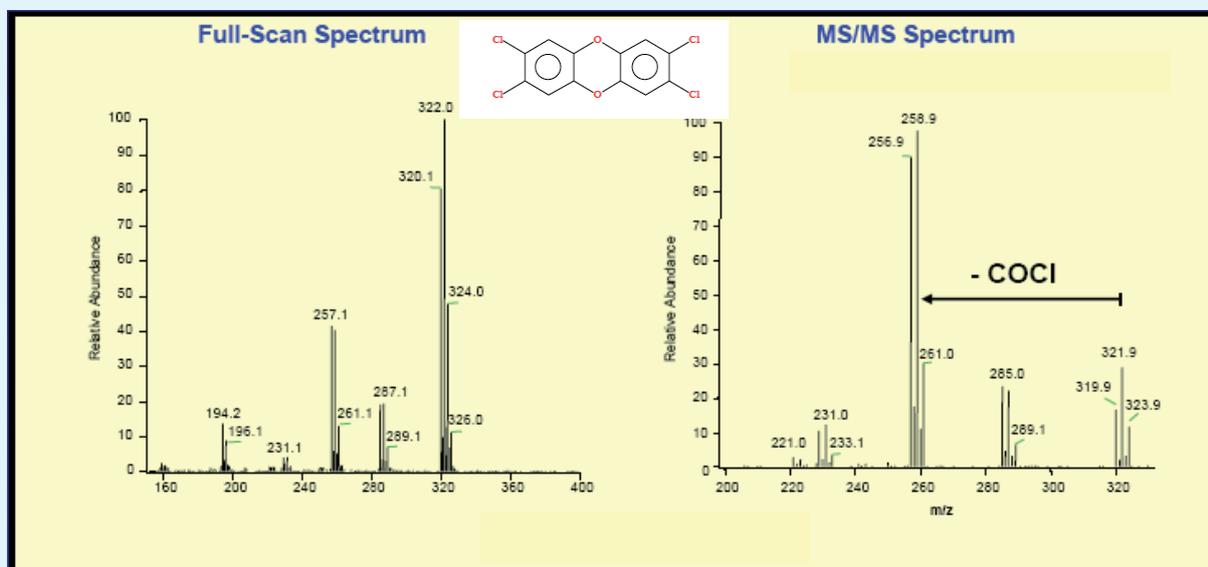


Figure 1 : spectre full scan vs spectre MS/MS de 2,3,7,8-TCDD

Propositions d'adaptation des critères actuels

Une série de nouveaux critères de performance a été ajoutée dans la législation européenne. Pour les méthodes de confirmation, la définition inclut maintenant aussi la possibilité d'utiliser la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS) en tant que méthode de confirmation. La définition de la limite de quantification a été revue de manière à prendre en compte le niveau de bruit de fond quasi inexistant en mode MS/MS. De nouveaux critères d'identification spécifiques à la GC-MS/MS ont également été ajoutés. Ils sont basés sur les critères établis dans la Décision 2002/657/CE de la Commission⁹ et dans les méthodes EPA 1613 et 1668. Par exemple, l'application de la GC-MS/MS requiert le suivi d'au moins deux ions précurseurs spécifiques en mode MRM (multiple reaction monitoring), chacun avec un ion produit de transition spécifique pour tous les congénères marqués et natifs. Davantage d'informations sont disponibles dans les Règlements 252/2012 et 278/2012 de la Commission. Ces adaptations établissent des critères stricts comparables pour les deux systèmes HRMS et MS/MS afin de maintenir une qualité analytique et une fiabilité des plus élevées pour les mesures des PCDD/F et PCB par les méthodes de confirmation. Est-ce suffisant ?

Il est important de signaler que la détermination en routine des PCDD/Fs et DL-PCB à des concentrations inférieures au pg g⁻¹ constitue toujours un réel défi qui requiert bien entendu un système de détection des plus sensibles. Cependant, les processus d'extraction et de purification de l'échantillon en amont jouent tous deux un rôle essentiel, qui influencent à coup sûr la qualité et la fiabilité des résultats analytiques.

Références :

1. Focant J-F, Anal Bioanal Chem (2012) 403:2797–2800
2. Règlement (CE) n° 152/2009 de la Commission du 27 janvier 2009, modifié par le Règlement (UE) n° 278/2012 de la Commission du 28 mars 2012 (JO L 91, 28.3.2012, p. 8–22)
3. Règlement (UE) n° 252/2012 de la Commission du 21 mars 2012 abrogeant le Règlement (CE) n° 1883/2006 (JO L 84, 23.3.2012, p. 1–22)
4. Ingelido AM, Brambilla G, Abballe A, di Domenico A, Fulgenzi AR, Iacovella N, Iamiceli AL, Valentini S, De Filep E (2011) Rapid Commun. Mass Spectrom, 26: 236-242
5. Sandy C, Fürst C, Bernsmann T, Baumesiter D (2011) Organohalogen Compd 73: 1370-1371
6. Kotz A, Malisch R, Wahl K, Bitomsky N, Adamovic K, Gerteisen I, Leswal S, Schachtele J, Tritschler R, Winterhalter H (2011) Organohalogen Compd 73 : 688-691
7. P. Fürst, T. Bernsmann, D. Baumeister, C Sandy, Agilent Technologies publication 5990-6594EN (2010); <http://www.chem.agilent.com/Library/applications/5990-6594EN.pdf>
8. Kotz A, Malisch R, Focant J-F, Eppe G, Cederberg T, Rantakokko P, Fürst P, Bernsmann T, Leondiadis L, Lovász C, Scortichini G, Diletti G, di Domenico A, Ingelido AM, Traag W, Smith F and Fernandes A. (2012) Organohalogen compd, 74 in press
9. 2002/657/CE : Décision de la Commission du 12 août 2002 (JO L 221, 17.8.2002, p. 8–36)

*Auteur correspondant

Gauthier Eppe

E-mail: G.Eppe@ulg.ac.be

