

## **DIRECTIVES CONCERNANT LES BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE EN MATIERE D'ANALYSE DES RESIDUS DE PESTICIDES**

### **INTRODUCTION**

L'objectif ultime des pratiques loyales en matière de commerce international dépend, entre autres, de la fiabilité des résultats de l'analyse. Ce facteur est conditionné à son tour - notamment lorsqu'il s'agit du dosage des résidus de pesticides - non seulement par l'existence de méthodes d'analyse sûres, mais aussi par la compétence de l'analyste et le respect des "bonnes pratiques en matière d'analyse des résidus de pesticides". Les présentes directives définissent ces bonnes pratiques d'analyse et sont examinées en trois aspects interdépendants:

L'analyste  
Les ressources de base, et  
L'analyse

### **L'ANALYSTE**

L'analyse des résidus consiste en une série d'opérations dont les modalités sont le plus souvent bien connues, ou faciles à comprendre par un chimiste qualifié, mais la marge acceptable d'erreur étant plus réduite que dans la plupart des autres types d'analyse et toute erreur pouvant invalider l'ensemble de l'analyse, il est indispensable de veiller à tous les détails. L'analyste responsable doit avoir les qualifications professionnelles, l'expérience et les compétences requises en matière d'analyse des résidus. Il faut en permanence que la majorité du personnel soit entraînée au maniement correct des appareils et aux techniques de laboratoire de base, et soit bien informée des principes de l'analyse des résidus. Le personnel doit connaître l'objet de chaque étape de la méthode utilisée, et savoir qu'il est important de se conformer exactement à la méthode prescrite et de noter tout écart inévitable. Il est également indispensable qu'il comprenne clairement la terminologie employée.

Théoriquement, lorsque l'on installe un laboratoire d'analyse des résidus, une partie de la période d'entraînement du personnel devrait se passer dans un laboratoire bien rodé où aide consultative et formation seraient dispensées par des personnes expérimentées. Si le laboratoire est appelé à analyser une large gamme de résidus de pesticides, le personnel devra peut-être se perfectionner dans plusieurs laboratoires déjà en service.

### **RESSOURCES DE BASE**

#### **Le laboratoire**

Idéalement, le laboratoire et ses installations devraient être conçus de manière que les opérations puissent être réparties entre des zones bien définies, en vue de garantir un maximum de sécurité et un minimum de risques de contamination des échantillons. Les installations de chaque zone devraient être construites en matériaux résistants aux produits chimiques dont l'utilisation apparaît probable. Ainsi, il faudrait théoriquement installer des pièces distinctes pour la réception et le stockage des échantillons, pour la préparation des échantillons, pour l'extraction et la séparation et pour le rangement des instruments qui serviront à l'analyse elle-même.

La zone destinée aux opérations d'extraction et de purification devrait être conforme aux normes établies pour les laboratoires utilisant des solvants et toutes les installations d'évacuation des vapeurs et

fumées devraient être d'excellente qualité. La condition minimale à satisfaire pour l'analyse de résidus de pesticides est que les installations permettent d'éviter la contamination.

La sécurité en laboratoire doit aussi être envisagée sous l'angle de ce qui est nécessaire et souhaitable car il faut reconnaître que les normes très strictes, appliquées dans les laboratoires d'analyse des résidus de certains pays du monde en ce qui concerne les conditions de travail, seraient totalement irréalistes ailleurs. Il doit être interdit de fumer, de manger, de boire et de procéder à des applications de cosmétiques dans la zone de travail. De petites quantités seulement de solvants doivent y être conservées et la majeure partie de ces produits doit être stockée dans une pièce séparée, éloignée de la zone de travail principale. Il convient d'éviter chaque fois que possible l'emploi de solvants et de réactifs ayant des propriétés toxiques aiguës ou chroniques. Tous les solvants usés doivent être gardés en lieu sûr et évacués fréquemment.

La zone de travail principale doit être considérée comme un laboratoire où sont utilisés des solvants et tout le matériel tel que dispositifs d'éclairage, macérateurs et réfrigérateurs doivent être d'un type ne produisant ni étincelles ni explosions. Les opérations d'extraction, de purification et de concentration doivent être menées dans un espace bien ventilé, de préférence dans des hottes fermées. Les hottes situées au-dessus des paillasse ne permettent généralement pas d'aspirer convenablement les vapeurs dégagées au niveau du plan de travail.

Il convient d'utiliser des écrans protecteurs lorsque la verrerie est employée sous vide ou sous pression. Il y a lieu de prévoir un ample stock de lunettes protectrices, de gants et autres vêtements de protection, des installations pour se laver en cas d'urgence et les fournitures nécessaires pour le traitement des débordements; un matériel adéquat de lutte contre les incendies est également indispensable. Tout le personnel doit être entraîné à se servir de cet équipement et à évaluer les risques encourus. Le personnel doit savoir que de nombreux pesticides ont des propriétés toxiques aiguës ou chroniques et que, si la manipulation de nombreux échantillons est peu dangereuse, par contre celle des produits étalons exige beaucoup de précautions.

Le personnel doit se soumettre périodiquement à un contrôle médical.

### **Matériel et fournitures**

Le laboratoire doit être bien alimenté en électricité, en eau et en divers gaz, acheminés par des conduites et fournis en cylindres, de qualité contrôlée. Des réserves suffisantes de réactifs, de solvants, de verrerie, de phases stationnaires, etc., sont indispensables.

Le laboratoire doit être à même d'assurer l'entretien des chromatographes en phase gazeuse, des balances, des spectrophotomètres, etc.; pour cela, il devra probablement avoir en réserve certaines pièces détachées essentielles et être en rapport avec un bon service technique.

Idéalement, l'équipement devrait être modernisé régulièrement pour suivre l'évolution des techniques, par exemple contrôle par micro-ordinateur de la chromatographie en phase gazeuse; en pratique, il suffit qu'il soit assez perfectionné pour le travail demandé. Ainsi, les exigences à satisfaire pour le contrôle de la conformité des produits aux limites maximales Codex de résidus (LMR), sont souvent bien moindres que pour la recherche.

Tous les laboratoires doivent disposer d'un assortiment suffisant de pesticides de référence ayant un degré de pureté connu et raisonnablement élevé. Celui-ci doit comprendre tous les composés dont le laboratoire surveille les concentrations dans des échantillons de produits, ainsi que leurs métabolites pour

lesquels des LMR ont été fixées.

## **L'ANALYSE**

### **Risques de contamination**

L'analyse des résidus de pesticides diffère considérablement de la macro-analyse en raison du problème de la contamination. Des quantités infimes de contaminants dans les échantillons finals utilisés pour le dosage peuvent donner lieu à des erreurs telles que des résultats positifs inexacts, et causer une perte de sensibilité, ce qui peut empêcher l'analyste d'atteindre le seuil de détermination requis. La contamination peut être imputable aux matériaux de construction, à l'environnement ou au mode opératoire.

Les produits d'entretien des paillasses de laboratoire, les crèmes protectrices, les savons contenant des antiseptiques, les insecticides en aérosol, les parfums et les cosmétiques peuvent tous provoquer une contamination du laboratoire et sont particulièrement gênants lorsqu'on utilise un détecteur à capture électronique. Il n'y a pas d'autre solution au problème que d'interdire l'utilisation de ces produits dans le laboratoire.

Les graisses, les plastifiants, les obturateurs et tuyaux en caoutchouc, l'huile provenant des conduites d'air, les cuvettes d'extraction, les papiers filtres et l'ouate peuvent aussi provoquer une contamination de la solution finale à tester.

Les pesticides de référence doivent toujours être stockés dans une pièce indépendante du laboratoire principal d'analyse des résidus; il en est de même pour les échantillons primaires. La préparation des échantillons et l'analyse des formulations doivent également être effectuées ailleurs que dans le laboratoire principal.

La contamination de la verrerie des seringues et des colonnes de chromatographie gazeuse peut provenir d'échantillons précédents. Toute la verrerie doit être nettoyée avec un détergent, rincée à fond, puis rincée avec le solvant à utiliser. Une réserve distincte de verrerie doit être prévue pour les travaux d'analyse des résidus de pesticides.

Les réactifs chimiques, les adsorbants et les solvants utilisés en laboratoire peuvent renfermer des constituants susceptibles de gêner l'analyse. Il faut parfois purifier les réactifs et les adsorbants par chauffage et il est généralement nécessaire d'utiliser des solvants redistillés. L'eau déionisée est souvent suspecte et on lui préférera l'eau redistillée. L'eau du robinet ou celle d'un puits sont souvent utilisables. Il faut vérifier avant usage que la verrerie, les réactifs, les solvants organiques et l'eau ne contiennent pas de contaminants.

Il faut se méfier des appareils contenant du chlorure de polyvinyle et, s'il a été démontré qu'ils sont une source de contamination, il faut en interdire l'introduction dans le laboratoire d'analyse des résidus. D'autres matières contenant des plastifiants sont également suspectes, mais le PTFE et les caoutchoucs de silicone sont en général acceptables, ainsi que d'autres produits dans certaines conditions. Les récipients de stockage des échantillons peuvent provoquer une contamination, aussi faut-il toujours utiliser des flacons en verre munis de bouchons rodés. Les instruments doivent toujours être rangés dans une pièce séparée. La nature et l'importance de la contamination peuvent varier selon les techniques de détermination utilisées et les concentrations de résidus de pesticides à déterminer. On peut réduire ces problèmes de contamination, qui sont importants si l'on utilise la chromatographie gazeuse ou la chromatographie liquide à haute résolution, en complétant la détermination par une analyse

spectrophotométrique ou inversement. Si les concentrations de résidus sont relativement élevées, les interférences dues aux solvants et à d'autres substances peuvent être insignifiantes par rapport à la quantité de résidus présente, mais de nombreux problèmes peuvent être résolus à l'aide de détecteurs spécifiques. En outre, si le contaminant ne gêne pas la détermination du résidu recherché, sa présence peut être tolérée.

### **Comment éviter les pertes**

Idéalement, les échantillons devraient être stockés au frais (3-5°C) à l'abri de la lumière solaire directe, et analysés dans les jours qui suivent leur prélèvement. Toutefois, un stockage prolongé (6 à 9 mois) s'impose souvent avant l'analyse et il faut alors prendre les précautions indiquées ci-après:

- a) Les échantillons doivent être stockés à environ -20°C, température à laquelle la dégradation enzymatique des résidus de pesticides est extrêmement lente. En cas de doute, les échantillons doivent être comparés à des échantillons enrichis stockés dans les mêmes conditions.
- b) Tous les échantillons doivent être réhomogénéisés après la congélation, car l'eau a tendance à se séparer par distillation et à se transformer en cristaux de glace: si l'on n'en tient pas compte dans l'analyse, les résultats seront faussés.
- c) Ni les récipients utilisés pour le stockage ni leurs bouchons ou couvercles ne doivent permettre le passage du composé recherché à travers le récipient. Les récipients ne doivent pas fuir. Tous les échantillons doivent être étiquetés clairement et de manière indélébile, et être enregistrés dans un répertoire des échantillons.

Les extraits et les solutions d'épreuve finales ne doivent pas être exposés directement au soleil.

### **Protocoles normalisés**

Des protocoles normalisés appropriés doivent être tenus à la disposition des analystes. Tout écart par rapport à la procédure normale doit être autorisé par l'analyste responsable et consigné.

### **Validation des méthodes**

La validation des méthodes est une tâche d'une ampleur extrêmement variable. Dans un laboratoire effectuant des analyses courantes pour surveiller la conformité aux LMR du Codex ou aux tolérances nationales, on utilisera le plus souvent des méthodes normalisées. Celles-ci doivent être validées au départ et soumises ensuite à un contrôle périodique.

Tous les laboratoires devront contrôler régulièrement les effets des changements de sources d'approvisionnement en produits chimiques, solvants, etc. Pour vérifier l'efficacité de la méthode, on l'utilisera par exemple pour récupérer des produits de référence, ajoutés à des concentrations appropriées d'une part isolément et, de l'autre, en présence de chaque nouveau produit à analyser.

Les laboratoires qui s'occupent de mettre au point et de modifier les méthodes pourront aussi étudier d'autres aspects tels que, par exemple, les effets des variations des facteurs ci-après: taille des échantillons, coefficients de partage, etc.; efficacité, pouvoir séparateur et stabilité de la colonne dans les systèmes de chromatographie gazeuse et liquide; activité des divers systèmes de séparation sur colonne. Il est indispensable d'étudier les effets de la lumière, du stockage à des stages intermédiaires de la procédure, de la température, etc., sur la stabilité des réactifs et des échantillons. Il est également important d'évaluer les effets de la vitesse d'écoulement, de la température, etc., dans les systèmes de détection/dosage (par exemple en chromatographie gazeuse ou liquide).

### **Maintien des performances analytiques**

Dans tous les laboratoires d'analyse des résidus de pesticides, il importe d'évaluer régulièrement les méthodes utilisées aussi bien au niveau des tolérances qu'à la limite inférieure de détermination.

La récupération de pesticides à partir d'échantillons enrichis est une méthode couramment utilisée pour mesurer l'efficacité de l'extraction, mais il faut reconnaître que les études de ce type n'ont qu'une valeur limitée. Chaque fois que possible, il faudrait s'efforcer de contrôler les taux de récupération des résidus dans une situation réelle, en utilisant par exemple des échantillons traités dans les conditions pratiques, car une méthode qui donne des taux de récupération satisfaisants à partir d'échantillons enrichis avec les composés initiaux peut ne pas être suffisamment efficace pour l'extraction des composés initiaux et de leurs métabolites dans des échantillons "réels". L'évaluation d'une méthode doit prévoir, si possible, l'extraction de composés "marqués" ou une extraction comparative avec une autre méthode d'efficacité connue. Des échantillons enrichis avec le composé initial et ses métabolites connus doivent aussi être analysés pour déterminer les pertes de ces composés en cours d'analyse. Les taux de récupération devraient se situer dans la fourchette 70-110 pour-cent, avec une moyenne supérieure à 80 pour-cent après élimination des observations aberrantes.

Il est nécessaire d'analyser régulièrement les substrats normalement exempts de résidus de pesticides pour vérifier qu'il n'y a pas de contamination.

Il faut veiller à ce que les solutions-étalons de pesticides ne soient pas décomposées par la lumière ou par la chaleur pendant le stockage et à ce que leur concentration n'augmente pas en raison d'une évaporation du solvant. Il faut veiller tout autant à la stabilité des composés de référence. L'injection régulière de composés de référence lorsque l'on analyse une série d'échantillons par chromatographie gazeuse permet de contrôler la validité de l'étape d'identification.

Un moyen de surveiller les performances d'une méthode (ou d'un analyste), consiste à introduire des échantillons de contrôle à intervalles réguliers, comme s'ils étaient destinés au travail courant d'analyse, en ne laissant soupçonner en rien leur nature particulière.

Diverses organisations nationales et internationales organisent maintenant des études interlaboratoires sur des méthodes et sur des programmes d'analyse d'échantillons de contrôle. Ces derniers offrent aux laboratoires un moyen idéal d'évaluer leurs propres performances. Les échantillons de contrôle doivent, si possible, être introduits comme des échantillons ordinaires pour éviter que l'analyste ne soit tenté de "faire un effort particulier", ce qui aurait pour effet d'invalider les résultats de leur analyse en

tant que moyen de contrôle des performances d'un laboratoire.

### **Epreuves de confirmation**

Lorsque les analyses sont effectuées à des fins réglementaires, il est particulièrement important de procéder à des épreuves de confirmation avant de faire un rapport défavorable sur des échantillons contenant des résidus de pesticides qui, normalement, ne devraient pas se trouver dans le produit en cause ou sur des échantillons dans lesquels les LMR semblent dépassées.

Il arrive parfois que des échantillons soient contaminés par des composés chimiques autres que des pesticides, et, dans certaines méthodes chromatographiques, ces composés peuvent avoir les mêmes propriétés que les pesticides et être identifiés à tort comme tels. En chromatographie gazeuse par exemple, on peut mentionner la réponse des détecteurs à capture électronique aux phtalates et celle des détecteurs spécifiques du phosphore aux composés contenant du soufre.

Les épreuves de confirmation peuvent être réparties en deux catégories. Les épreuves quantitatives sont nécessaires lorsque les LMR semblent dépassées, mais une épreuve qualitative de confirmation de l'identité s'impose aussi en tels cas et lorsque l'on rencontre des résidus atypiques. Les épreuves qualitatives peuvent faire appel à des réactions ou séparations chimiques qui entraînent la perte d'une certaine quantité du résidu. La confirmation peut poser des problèmes particuliers lorsque les LMR sont fixées au seuil de détermination analytique ou à proximité.

Les épreuves de confirmation nécessaires peuvent être fonction du type d'échantillons et des faits antérieurs connus. Dans de nombreux corps soumis à expérience, on trouve presque toujours certains résidus. Dans le cas d'une série d'échantillons de même origine, il peut suffire de confirmer l'identité des résidus présents dans les échantillons initiaux. De manière analogue, lorsque l'on sait qu'un pesticide déterminé a été appliqué au produit échantillonné, la confirmation de l'identité du résidu peut être superflue; il convient néanmoins d'y procéder sur un pourcentage aléatoire d'échantillons. Si l'on dispose d'échantillons de contrôle, on s'en servira pour déceler la présence éventuelle de substances perturbatrices.

S'il s'agit d'une confirmation quantitative, l'épreuve sera répétée avec au moins une méthode différente et on consignera le résultat le plus faible. Pour une confirmation qualitative, il est souhaitable de répéter l'épreuve avec une autre technique faisant intervenir des propriétés physico-chimiques différentes.

L'analyste doit décider lui-même de la marche à suivre pour identifier un résidu de façon certaine; il s'efforcera tout particulièrement de choisir une méthode permettant d'éliminer les effets des substances perturbatrices. Il faudra également tenir compte du matériel et des compétences techniques disponibles. L'analyste trouvera ci-après, à titre indicatif, une liste de méthodes de confirmation utilisables.

### Substitution de la colonne en chromatographie gazeuse

Les résultats de l'analyse initiale doivent toujours être confirmés quantitativement et qualitativement en utilisant au moins une colonne de rechange garnie d'une phase stationnaire de polarité différente. Les résultats quantitatifs obtenus ne doivent pas s'écarter de plus de 20 pour cent de ceux de la première analyse et on retiendra le plus faible des deux chiffres, car le plus élevé peut avoir été faussé par l'intervention d'autres substances extraites simultanément. Si l'écart est supérieur à 20 pour-cent, une nouvelle confirmation quantitative sera nécessaire sauf si la LMR est fixée "au seuil de détermination ou à proximité", auquel cas l'écart admissible peut aller jusqu'à 100 pour-cent. Pour le garnissage de la nouvelle colonne, on s'efforcera de choisir une substance permettant de séparer les pesticides et les substances perturbatrices dont on sait que les temps de rétention sur la colonne initiale sont identiques à celui du résidu détecté. La colonne de rechange peut être une colonne chargée, ou, de préférence, une colonne capillaire dont le pouvoir séparateur est supérieur. Si l'utilisation d'une colonne de rechange en chromatographie gazeuse ne permet pas toujours de confirmer la présence d'un certain composé, elle permet néanmoins souvent de réfuter rapidement une présomption d'identité. Dans l'un et l'autre cas, il faudra procéder à de nouvelles épreuves de confirmation pour identifier le résidu.

### Utilisation de détecteurs sélectifs pour la chromatographie gazeuse

En présence de pesticides contenant plusieurs éléments chimiques on peut utiliser des détecteurs plus sensibles à ces divers éléments. Ainsi, des méthodes telles que la photométrie de flamme (pour le soufre, le phosphore et l'étain), l'ionisation de flamme en milieu alcalin (pour le phosphore et l'azote) coulométrie/conductimétrie (pour l'azote, le soufre et les halogènes) peuvent donner d'utiles informations complémentaires sur les résidus. Les indications données par un photomètre à flamme en ce qui concerne le soufre/phosphore peuvent être utiles pour le dosage des phosphorothioates.

### Chromatographie en couche mince (CCM)

Dans certains cas, l'analyse chromatographique en couche mince est le moyen le plus commode de confirmer les résultats de la chromatographie gazeuse. L'identification repose sur deux critères, la valeur de R<sub>f</sub> et la réaction de visualisation. La documentation scientifique existante contient de nombreuses références à cette technique: l'IUPAC Report on Pesticides (Batora, V. Vitorovic, S.Y. Thier, H.P. et Klisenko, M.A. Pure & Appl. Chem., 53, 1039-1049, 1981) fait le point sur cette technique et constitue une bonne introduction. Sur le plan quantitatif toutefois, la chromatographie en couche mince ne donne que des résultats limités. Un prolongement à cette méthode consiste à retirer la partie de la plaque correspondant au R<sub>f</sub> puis à procéder à une élution de la substance à analyser à partir du support, afin de poursuivre la confirmation par analyse chimique ou physique. Il convient toujours de déposer sur la plaque à côté de l'extrait de l'échantillon à analyser une tache du pesticide de référence afin d'éviter tout problème de non-reproductibilité du R<sub>f</sub>. Le dépôt d'une tache de pesticide de référence par-dessus la tache d'extrait peut aussi donner des informations utiles. Les avantages de la chromatographie en couche mince sont sa rapidité, son faible coût et son applicabilité à des produits sensibles à l'action de la chaleur. Ses inconvénients sont (en général) une sensibilité inférieure à celle de la chromatographie en phase gazeuse ou liquide et souvent la nécessité d'une séparation plus fine. Dans certains pays, l'excès d'humidité ou la température trop élevée peuvent limiter la reproductibilité.

### Chromatographie liquide à haute résolution (CLHR)

La CLHR peut souvent être utile pour confirmer la présence de résidus initialement décelés par chromatographie gazeuse ou par d'autres techniques et elle peut, dans certains cas, être la méthode de dosage préférable de détermination. La production de dérivés avant ou après passage à travers la colonne

et/ou l'utilisation de détecteurs différents sont d'autres options possibles, en particulier lorsque la sensibilité à la chaleur ou la faible volatilité du composé à analyser font qu'il se prête moins bien à la chromatographie gazeuse.

### Fractionnement de la colonne

L'ordre dans lequel se séparent les produits élués dans les colonnes de chromatographie liquide peut donner d'utiles indications pour vérifier l'identité d'un composé. Un élément de confirmation peut ainsi être introduit dans le processus d'extraction et de séparation.

### Coefficients d'extraction "p"

Par coefficient d'extraction "p", on entend la fraction d'un pesticide qui se sépare dans la phase supérieure lorsqu'il se partage entre des volumes égaux de deux liquides non miscibles. Il a souvent une valeur spécifique pour un système donné pesticide-solvant.

La technique a été décrite de façon complète par Beroza, M. et Bowman, M.C. (Anal. Chem. 37, 291, 1965; JAOAC 48, 358, 1965; JAOAC 48, 943, 1965) et par Beroza, M., Inscoe, M.N. et Bowman, M.C. (Residue Reviews 30, 1, 1969).

### Production de dérivés

Ces méthodes de confirmation peuvent être réparties en trois groupes principaux:

#### a. Réactions chimiques

On a fréquemment recours à des réactions chimiques de faible ampleur pour obtenir des produits de dégradation, d'addition ou de condensation des pesticides, qui sont ensuite réexaminés par des techniques chromatographiques. Ces produits n'ont ni les mêmes temps de rétention ni les mêmes modalités d'apparition dans les détecteurs que les composés initiaux. Un échantillon de pesticide de référence doit être traité à côté du résidu présumé, de manière à pouvoir comparer directement les résultats. Un extrait enrichi doit également être inclus afin de prouver que la réaction s'est produite en présence d'un échantillon du produit à analyser. Un inventaire des réactions chimiques utilisées pour les épreuves de confirmation, a été fait par Cochrane, W.P. (Chemical derivatization in pesticide analysis, Plenum Press, N.Y. 1981). Les réactions chimiques ont l'avantage d'être rapides et faciles à effectuer, mais il peut être nécessaire d'acheter des réactifs spéciaux et de les purifier.

#### b. Réactions physiques

Il peut être intéressant de déterminer une altération photochimique d'un résidu de pesticide en vue d'obtenir un ou plusieurs produits ayant un chromatogramme reproductible. Un échantillon de pesticide de référence et un extrait enrichi doivent toujours être traités parallèlement. Si les échantillons contiennent plus d'un seul résidu de pesticide, l'interprétation des résultats peut être difficile. En tels cas, on peut séparer au préalable certains résidus par chromatographie en couche mince, par chromatographie en phase liquide à haute résolution ou par fractionnement de la colonne.

#### c. Autres méthodes

De nombreux pesticides peuvent être dégradés/transformés par des enzymes. Contrairement aux réactions chimiques normales, ces processus sont très spécifiques et entrent généralement dans l'une des

catégories suivantes: oxydation, hydrolyse ou désalcoylation. Les produits de dégradation/transformation enzymatique ont des caractéristiques chromatographiques différentes du pesticide de départ et la comparaison avec les produits de réaction obtenus avec des pesticides de référence peut être utile pour la confirmation.

### Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est la méthode de confirmation/identification qui donne les résultats les plus probants. Elle est habituellement la technique de choix si l'on dispose d'un appareil.

Il y a deux procédés principaux d'introduction des échantillons dans l'instrument. Le meilleur fait intervenir une séparation chromatographique en phase gazeuse avant l'introduction dans le spectromètre de masse, ce qui permet une analyse spectrale complète du sommet observé pendant la première analyse. L'autre procédé est l'insertion directe des échantillons avec la sonde. Il peut être utilisé en association avec la chromatographie en couche mince ou avec la chromatographie liquide à haute résolution si celles-ci ont été utilisées comme méthodes initiales de confirmation. Les résidus qu'elles ont permis de séparer sont isolés et analysés par spectrométrie de masse.

Pour accroître la sensibilité, en particulier avec des instruments quadripolaires à balayage rapide, on utilise des techniques de détection mono- et multi-ioniques. Un nombre suffisant d'ions dissociés doit être sélectionné pour assurer que l'identification soit certaine. On peut obtenir une sensibilité accrue à l'égard de l'ion moléculaire en utilisant l'ionisation chimique au lieu de l'ionisation par choc électronique. Etant donné que la sensibilité des spectromètres de masse atteint généralement le monogramme, il peut être nécessaire de concentrer certains extraits résultant de l'analyse initiale par chromatographie gazeuse/liquide avant de procéder à l'analyse spectrométrique de masse, en particulier si l'on s'est servi de détecteurs à capture électronique pour la détermination quantitative. Dans certains cas une séparation additionnelle peut être nécessaire, en particulier si l'on veut obtenir des spectres complets.

L'analyse des composés sensibles à la chaleur par spectrométrie de masse peut présenter des difficultés et le couplage d'un chromatographe en phase gazeuse avec un spectromètre de masse exige un soin particulier. Comme la spectrométrie de masse ne permet pratiquement pas de différencier les composés, des complications peuvent se produire en présence de contaminants qui ont été élués simultanément. On trouvera une utile introduction à ces diverses techniques dans "Mass Spectrometry of Pesticides and Pollutants" par O. Hutzinger et F. Safe, CRC Press 1973, et dans "Biochemical Applications of Mass Spectrometry", First Supplemental Volume, Chapter 23, par J.A. Sphon et W.C. Brumley: ouvrage édité par G.R. Waller et O.C. Dormer, John Wiley & Sons, New York 1980.

### Analyses spectrales

A l'heure actuelle, on n'utilise guère la spectroscopie infrarouge, la spectroscopie Raman et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire pour l'analyse des résidus de pesticides. Des techniques faisant appel à des cellules à réflexion multiple, à des microcellules, à des microsondes, au laser, à la transformation de Fourier etc., sont en cours d'élaboration. Elles permettent d'améliorer la qualité des spectres et d'accroître la sensibilité; elles trouveront peut-être de plus larges applications comme méthodes d'identification après passage sur colonne des composés isolés par des techniques chromatographiques.