

Application de la DGT pour la quantification du glyphosate et de l'AMPA dans l'eau

Références de la méthode

La méthode qui suit est dérivée de(s) la publication(s) suivante(s)

Fauvelle, V. Nhu-Trang, T.-T., Feret, T., Madarassou, K., Randon, J., Mazzella, N. (2015) Evaluation of Titanium Dioxide as a Binding Phase for the Passive Sampling of Glyphosate and Aminomethyl Phosphonic Acid in an Aquatic Environment. *Analytical Chemistry* 87, 6004–6009.

Code SANDRE de la méthode

Généralités

Nom de la famille de substances

Glyphosate et acide aminométhylphosphonique (AMPA)

Codes SANDRE des substances

Glyphosate : 1506
AMPA : 1907

Type de dispositif

Technique du gradient de diffusion en couche mince. Diffusive Gradient in Thin film (DGT)

Matrice analysée

Eaux douces (3)

Principe et Théorie

Le dispositif de gradient de diffusion en couche mince ("Diffusive Gradient in Thin film", DGT) est composé d'un support plastique, sur lequel sont disposés successivement une phase fixante (résine Chelex pour les métaux et cations, gel de ferrihydrite ou oxyde de titane pour les phosphates et certains anions dont le glyphosate et l'AMPA) et un gel de diffusion en polyacrylamide ou agarose (Figure 1). Il permet l'extraction et la concentration *in situ* des composés/éléments dissous « labiles » dans les eaux.

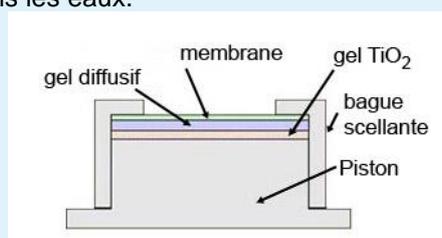


Figure 1. Schéma de montage d'un dispositif DGT

Les analytes migrent à travers le gel de diffusion et se fixent de façon irréversible sur la phase réceptrice. C'est la diffusion, contrôlée par les propriétés physiques du gel (porosité, les pores étant remplis d'eau) et la concentration de l'analyte dans le milieu à échantillonner, qui détermine la quantité accumulée dans la DGT.

Après exposition et mesure, la concentration moyenne « labile » dans le milieu aquatique (C_{lab}) est estimée par l'équation suivante (équation 1) :

$$\text{Équation 1 } C_{lab} = \frac{M\Delta g}{tAD}$$

où M est la masse de l'ion fixé et déterminée après analyse, Δg est l'épaisseur du gel, t le temps d'exposition, A la surface de gel exposée, et D le coefficient de diffusion de l'analyte dans le gel.

Les DGT échantillonnent les éléments/composés ionisables dissous sous forme dite "labile".

Les éléments/composés dissous en solution se trouvent sous forme ionique libre ou sous forme de complexes inorganiques ou organiques. Ces complexes peuvent diffuser dans le gel de la DGT, ils se dissocient au cours de leur migration dans le gel diffusif et donnent lieu à un ion qui se fixe sur la phase réceptrice de façon irréversible par chélation et/ou interaction ionique. Les complexes sont dits « labiles » lorsque la cinétique de dissociation-complexation est rapide et permet à la DGT de piéger tout ou partie de l'ion d'intérêt en fonction de la stabilité du complexe initial.

Cette fraction « labile » est plus ou moins importante et dépend des propriétés du cation métallique, de la nature des ligands (glyphosate et AMPA dans le cas présent), ainsi que de la concentration, des ligands présents dans le milieu ¹ :

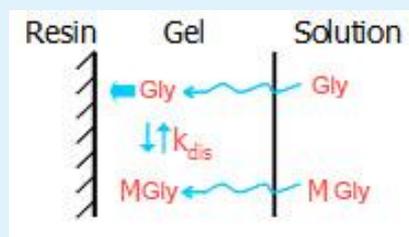


Figure 2. Principe de fonctionnement. M : métal, Gly : glyphosate qui va jouer le rôle de ligand et se complexer avec les métaux, k_{dis} constante cinétique de dissociation du complexe MGly.

Les caractéristiques de la DGT conditionnent également le type de complexes échantillonnés en plus de la nature de ces derniers. Par exemple, plus l'épaisseur de gel de diffusion est importante, plus probable sera la dissociation des complexes à l'intérieur du gel. Plus le gel présente une haute densité de polymérisation, moins les complexes formés avec des molécules organiques de haut poids moléculaire, tels que des acides humiques, pourront y pénétrer.

Fraction échantillonnée

Fraction dissoute labile

Protocole analytique

Préparation, exposition et conservation des dispositifs et des échantillons

Conditionnement et préparation des échantillonneurs

- Nature de la phase réceptrice

- PRCs utilisé(s)

- Préparation et conservation avant exposition

Gel d'oxyde de titane (TiO_2)

Remarque : ces gels sont également utilisés pour l'échantillonnage passif des phosphates.

Non applicable

Les éléments nécessaires à l'assemblage d'une DGT peuvent être achetés auprès de DGT Research (<http://www.dgtresearch.com>). Si les gels de TiO_2 et diffusifs (polyacrylamide) sont achetés à part, le montage de la DGT se fait au laboratoire en conditions propres (sous une hotte, avec des gants). Il s'agit d'installer sur la base du support le gel de TiO_2 , vient par-dessus le gel diffusif, puis la membrane est réalisée avec un filtre de protection en polyéthersulfone (0,45 μm , 25 mm, Sigma-Aldrich). L'ensemble est refermé avec la bague scellante (Figure 3).

Le support et la bague scellante peuvent être réutilisés, après les avoir nettoyés dans l'acide nitrique 1 M, puis rincés à l'eau ultrapure.

Les DGT sont conservées dans des sachets plastiques propres et zippés, avec quelques gouttes d'eau ultrapure (évite l'assèchement des gels), au réfrigérateur ($4\pm 1^\circ\text{C}$). Ils peuvent être conservés au maximum un mois sans ouverture du sachet.



Figure 3. DGT en cours de montage.

Remarque : Les gels de TiO_2 et diffusifs en polyacrylamide peuvent également être fabriqués en laboratoire. Il est toutefois impératif de vérifier les coefficients de diffusion au laboratoire avant toute utilisation *in situ*, puisque ceux-ci vont notamment dépendre de la polymérisation (et porosité) du gel diffusif.

Exposition des échantillonneurs

- Durée
- Disposition (colonne d'eau ou sédiment, description du dispositif contenant les échantillonneurs)
- Conditions (vitesse du courant, T° , conductivité, etc.)
- Contrôle qualité (blancs d'exposition)

- Précautions particulières

Généralement 1 semaine d'exposition dans le milieu aquatique à échantillonner.

Les DGT sont fixées sur un support (par ex. grillage en plastique) et doivent être constamment immergées dans la colonne d'eau, à env. 10 cm sous la surface. En rivière, le support est maintenu accroché à une bouée ou à partir d'un ponton à l'aide de cordes. Il peut également être fixé à un piquet en bois ou métal installé dans le lit de la rivière, dans le cas de petits cours d'eau (< 50 cm de profondeur).

La température de l'eau doit être mesurée, au minimum lors de la mise en place et de la récupération des dispositifs, mais une mesure en continu au moyen d'une sonde est idéale.

De façon à éviter la formation d'une couche limite d'eau au voisinage de la membrane et surface de la DGT, il est recommandé de mettre les dispositifs dans un milieu suffisamment agité (vitesse courant $> 1\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$).

Au moins 1 DGT est préparée, puis exposée à l'air lors de la manipulation pour la mise à l'eau. Ce "blanc terrain" permet de contrôler les possibles contaminations lors de la préparation, du transport et du déploiement des DGT. Le blanc terrain est traité simultanément et de la même manière que les DGT exposées dans les eaux.

Plusieurs "blancs laboratoire" (DGT montées, conservées au laboratoire à $4^\circ\pm 1^\circ\text{C}$ dans un sachet zippé, puis démontées lors de la récupération et traitement des DGT exposées *in situ*) sont aussi analysés pour chaque série.

Porter des gants (par ex. en nitrile non poudrés) lors de la manipulation des DGT.

Récupération et élution / dialyse de la phase réceptrice

- Récupération

- Extraction

- Elution

Les DGT sont récupérées avec des gants, rincées à l'eau ultra-pure, placées dans des sachets zippés en plastique propres contenant quelques gouttes d'eau ultrapure, puis ramenées au laboratoire.

Conserver à $4\pm 1^\circ\text{C}$, puis éluer le gel de TiO_2 les dans les 48 h.

Sans objet

Démonter la DGT en retirant la bague scellante.

Récupérer le gel de TiO_2 et le placer dans un tube en plastique (10 mL minimum) contenant préalablement 1 mL de d'une solution de NaOH à 1 M. Agiter pendant 24 h, puis retirer le gel.

- Dialyse
- Purification (cartouche, nature et volume du solvant d'éluat, évaporation)

Récupérer l'éluat (env. 1 mL) et compléter avec 4 mL d'une solution aqueuse à 1,5% (v/v) d'acide formique. A partir de cet extrait de 5 mL, ajouter les étalons internes (glyphosate (1,2 ¹³C₂, ¹⁵N) et d'AMPA (¹³C, ¹⁵N)), puis réaliser les étapes de dérivation et purification selon le protocole décrit dans la fiche méthodologique MA 01 ou la norme ISO 16308:2014.

Sans objet
Sans objet

Analyse

Technique analytique utilisée

(Référence de la publication, de la norme ou de la fiche méthodologique Aquaref utilisée)

MA 01- Méthode d'analyse pour les pesticides (glyphosate et AMPA) dans les eaux
ISO 16308:2014 - Détermination du glyphosate et de l'AMPA - Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) avec détection par spectrométrie de masse en tandem

Correction par les rendements

Les résultats d'analyse ne sont pas corrigés par les rendements. Toutefois, ces derniers doivent être considérés si les protocoles de dérivation et purification des extraits diffèrent de ceux utilisés lors de l'étalonnage en laboratoire (norme ISO 16308:2014). Il en est de même pour l'étape préalable d'éluat des gels de TiO₂. Dans ce cas, les rendements devront être déterminés et comparables à ceux obtenus précédemment (94 ± 4 pour le glyphosate et 92 ± 6 % pour l'AMPA)².

Effets de matrice

Non constaté dans l'éluat de TiO₂ avec les eaux testées.

Dilution(s)

- Autres

Etalonnage et validation

Etalonnage des échantillonneurs en laboratoire

- Schéma et fonctionnement du dispositif d'étalonnage

L'étalonnage en laboratoire a été effectué dans une cuve en plastique de 3 L, à l'abri de la lumière et à une température de 20 ± 2 °C. Les concentrations en glyphosate et AMPA étaient toutes deux de 50 µg L⁻¹, aucun abattement significatif (< 10 %) n'a été constaté après 6 jours d'exposition.

Les DGT ont été exposées en duplicat par date, puis retirées après 0 ; 0,14 ; 1 ; 2 ; 4 et 6 jours. L'agitation a été réalisée avec un agitateur magnétique. L'étalonnage a été effectué dans les deux milieux différents, de l'eau ultrapure (pH=6,5), puis de l'eau synthétique (pH=7,4) contenant des métaux (Ca²⁺, Fe²⁺, Cu²⁺, etc.) susceptibles de former des complexes, puis des anions inorganiques NO₃⁻, HCO₃⁻, etc.) augmentant la force ionique ou pouvant rentrer en compétition lors de l'accumulation (HPO₄²⁻/H₂PO₄⁻). Les concentrations en cations/anions inorganiques ont été suivies au temps initial, puis final lors de l'étalonnage dans le milieu synthétique (Tableau 1).

Tableau 1. Composition de l'eau douce synthétique utilisée pour l'étalonnage. Concentrations exprimées en mg L^{-1} , t_0 et t_f sont les concentrations initiale et finale des éléments dans le milieu, mesurées respectivement à t_0 et à la fin des expositions.

Ions	t_0	t_f
Ca^{2+}	108	117
Mg^{2+}	27	30
Na^+	116	125
K^+	35	38
Cl^-	196	213
HPO_4^{2-} et H_2PO_4^-	0,11	0
HCO_3^-	350	428
SiO_2	14	15
NO_3^-	52	54
Fe^{2+}	0,04	0,06
Cu^{2+}	0,26	0,31
SO_4^{2-}	112	118

- Taux d'échantillonnage et constantes d'équilibre
- Coefficients de diffusion

Sans objet

Une expérimentation en cellule de diffusion (Figure 4) a été réalisée selon les recommandations de Zhang et Davison (1995)³ et Panther et al. (2010)⁴. Deux compartiments de 0,38 L en PVC communiquent à travers une fenêtre circulaire de $1,77 \text{ cm}^2$ contenant une membrane en polyéthersulfone (porosité $0,45 \mu\text{m}$) et le gel diffusif en polyacrylamide ($0,8 \text{ mm}$ d'épaisseur). Chaque compartiment est rempli avec de l'eau ultrapure ($\text{pH}=6,5$), agité continuellement au moyen d'un barreau aimanté (un par compartiment) afin de négliger la contribution de la couche limite d'eau et de déterminer essentiellement la constante associée à la diffusion à travers la membrane et le gel. La température de l'eau a été maintenue constante à $22 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

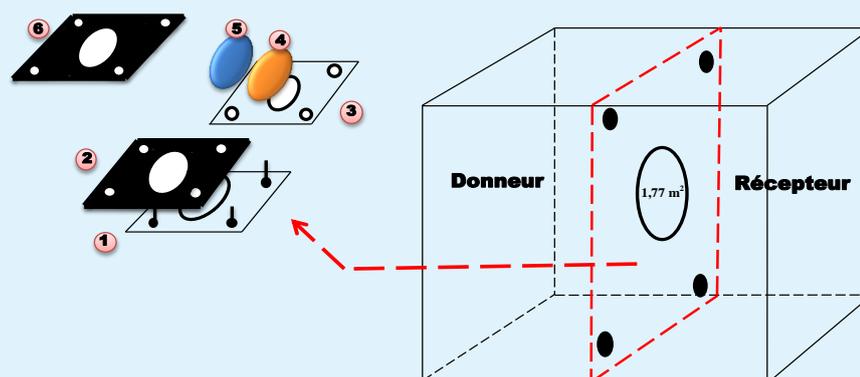


Figure 4. Schéma de la cellule de diffusion et les différents éléments :

- (1) plaque en PVC munie de 4 vis à chaque coin,
- (2) et (6) joint en caoutchouc afin de conserver l'étanchéité,
- (3) spacer en Téflon ($0,8 \text{ mm}$ d'épaisseur),
- (4) gel de diffusion en polyacrylamide ($0,8 \text{ mm}$ d'épaisseur),
- (5) membrane polyéthersulfone ($0,45 \mu\text{m}$ de taille de pores),
- (6) joint en caoutchouc.

Le compartiment « donneur » a été enrichi avec 300 µg.L⁻¹ de glyphosate ou d'AMPA (concentration mesurée au début et à la fin, abattement négligeable < 10 % à la fin de l'expérimentation), puis la concentration dans le compartiment « récepteur » a été mesurée toutes les 40 min sur une durée totale de 200 min (n = 6). Les constantes de diffusion² ont été déterminées au moyen de l'Équation 1 et sont reportées dans le Tableau 2.

Tableau 2. Constantes de diffusion des composés d'intérêt dans un gel diffusif en polyacrylamide (valeurs extrapolées à 20 °C à partir de celles déterminées à 22°C, Équation 2).

Composés	Constante de diffusion à 20 °C (10 ⁻⁶ cm ² s ⁻¹)
Glyphosate	2,95 ± 0,35
AMPA	3,50 ± 0,25

Evaluation des paramètres d'étalonnage in situ

Le processus de diffusion dépend de la température d'exposition. Le coefficient de diffusion D est donc corrigé avec la relation suivante⁵ :

$$\text{Équation 2 } \frac{D(T)\eta(T)}{T} = \frac{D(293\text{ K})\eta(293\text{ K})}{293\text{ K}}$$

D dépend essentiellement de la température (en kelvins) et peut être déduit à partir d'une donnée de référence (20°C, soit 293 K) en utilisant la viscosité η de l'eau déterminée à une température donnée.

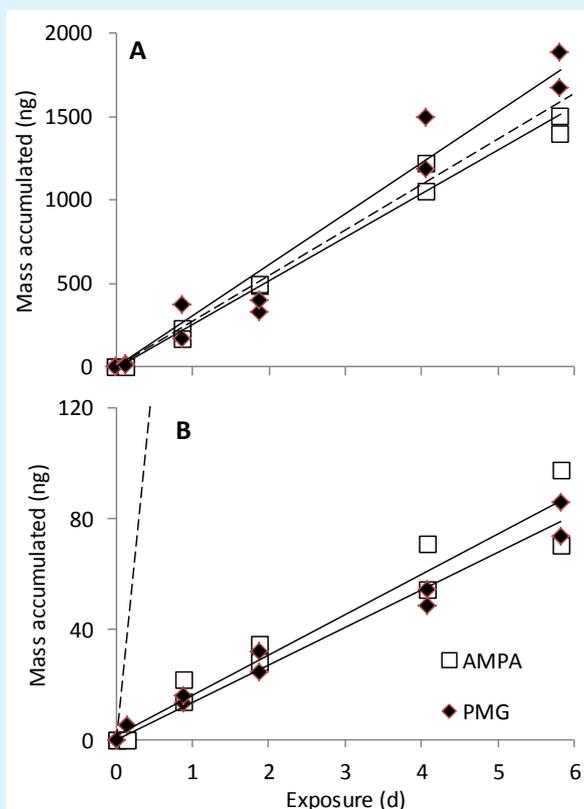


Figure 5. Etalonnage de la DGT avec le glyphosate et AMPA dans de l'eau ultrapure (A) et de l'eau synthétique (B). La masse accumulée (ng) est exprimée en fonction de la durée d'exposition (jours), la droite en pointillés représentant l'accumulation théorique d'après la 1^{ère} loi de Fick (Équation 1).

Les autres paramètres influents sont la force ionique (présence de NaCl, nitrate...), la compétition avec les phosphates et les phénomènes de complexation. Afin de les étudier, nous avons réalisé un étalonnage dans un milieu synthétique représentatif d'une eau de rivière (Tableau 1) (concentrations en éléments fixées à partir 3^{ème} quartile des concentrations mesurées dans 100 rivières en France métropolitaine, de 2002 à 2012 ; base de données ONEMA), puis comparé les droites d'accumulation avec celles obtenues dans de l'eau ultrapure (Figure 5). Les premiers résultats obtenus dans l'eau de rivière synthétique montrent une accumulation 30 fois plus faible du glyphosate et de l'AMPA dans ce milieu par rapport à l'eau ultrapure, signe de phénomènes de compétition avec les phosphates et/ou de complexation avec les cations bivalent présents (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} et Cu^{2+}). Il conviendrait donc par la suite de caractériser la fraction échantillonnée et le caractère plus ou moins labile des complexes pouvant être formés avec les métaux présents dans les eaux de surface. L'influence de la force ionique serait à étudier également, même s'il est attendu, par analogie aux phosphates, des effets qu'à des valeurs élevées que l'on pourrait rencontrer uniquement dans les milieux marins⁴. Enfin, le pH a été évalué lors de la détermination des constantes de diffusion et il n'a pas été observé d'effet significatif pour des pH allant de 5 à 8,5².

Niveau de validation selon Norman

Niveau 1

Calculs d'incertitude

Non réalisé

Intercalibration

Non réalisé

Limites et développements ultérieurs

Fraction labile à caractériser (complexes possibles avec les métaux), influence de la force ionique, notamment en eau salée, puis de la couche limite d'eau au voisinage de la membrane. L'estimation *in situ* de son épaisseur est théoriquement possible en utilisant des gels d'épaisseur différente sur un même site ⁶.

Contacts

Auteurs

Nicolas Mazzella

Institut

Irstea – UR EABX

Adresses mailnicolas.mazzella@irstea.fr**Partenaires**

* Plusieurs études sur la stabilité des complexes et les moyens de favoriser leur dissociation sont actuellement prévues et/ou en cours. Leurs résultats seront intégrés au fur et à mesure des mises à jour de la fiche méthode. A l'inverse des métaux, peu d'éléments sont disponibles concernant l'application de la technique DGT aux micropolluants organiques

Références

1. Tusseau-Vuillemin, M.-H.; Gilbin, R.; Taillefert, M. A dynamical model to characterize labile metal complexes collected with Diffusion Gradient in Thin films devices. *Environmental Science and Technology* **2003**, *37* (8), 1645-1652.
2. Fauvelle, V.; Nhu-Trang, T.-T.; Feret, T.; Madarassou, K.; Randon, J.; Mazzella, N. Evaluation of Titanium Dioxide as a Binding Phase for the Passive Sampling of Glyphosate and Aminomethyl Phosphonic Acid in an Aquatic Environment. *Analytical Chemistry* **2015**, *87*, 6004–6009.
3. Zhang, H.; Davison, W. Performance characteristics of the technique of diffusion gradients in thin-films (DGT) for the measurement of trace metals in aqueous solution. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 3391-3400.
4. Panther, J. G.; Teasdale, P. R.; Bennett, W. W.; Welsh, D. T.; Zhao, H. Titanium Dioxide-Based DGT Technique for In Situ Measurement of Dissolved Reactive Phosphorus in Fresh and Marine Waters. *Environmental Science & Technology* **2010**, *44* (24), 9419-9424.
5. Turner, G. S. C.; Mills, G. A.; Teasdale, P. R.; Burnett, J. L.; Amos, S.; Fones, G. R. Evaluation of DGT techniques for measuring inorganic uranium species in natural waters: Interferences, deployment time and speciation. *Analytica Chimica Acta* **2012**, *739*, 37-46.
6. Warnken, K. W.; Zhang, H.; Davison, W. Accuracy of the diffusive gradients in thin-films technique: Diffusive boundary layer and effective sampling area considerations. *Analytical Chemistry* **2006**, *78* (11), 3780-3787.