

Famille des pesticides : Dichlorvos, Terbutryne, Cybutryne, Méthode d'analyse dans l'eau

Généralités

Nom de la famille de substances	Pesticides (Acaricide, herbicide et algicide) Organophosphorés (Dichlorvos) et triazines (terbutryne, cybutryne)			
Nom des substances individuelles	Substances (Nom ISO 1750)	Nom commercial	Formule de la substance de référence utilisée	N° CAS de la substance de référence utilisée
	Dichlorvos		$C_4H_7Cl_2O_4P$	62-73-7
	Terbutryne	-	$C_{10}H_{19}N_5S$	886-50-0
	Cybutryne	Irgarol1051®	$C_{11}H_{19}N_5S$	28159-98-0
Code SANDRE des substances individuelles	Dichlorvos : 1170 Terbutryne : 1269 Cybutryne : 1935			
Matrice analysée [code SANDRE du support]	Eau : 3			
Principe de la méthode	Extraction Liquide/Liquide des composés d'intérêt par du dichlorométhane. Analyse en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CG/SM-SM ou CG/SM ²).			
Acronyme	ELL/CG/SM-SM			
Domaine d'application	Dichlorvos : 0,2 à 100 ng/L Terbutryne : 0,2 à 75 ng/L Cybutryne : 0,5 à 100 ng/L Applicable dans l'eau brute jusqu'à 150 mg/L de MES			
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	Matières en suspension (MES)			
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	1) Tous les réactifs utilisés doivent être <u>d'une pureté suffisante</u> pour l'analyse de pesticides en CG/SM ² . 2) La verrerie doit être nettoyée à l'eau avec un tensio-actif légèrement alcalin (par exemple labwash extra®) puis rincée à l'eau déminéralisée et séchée. La verrerie doit ensuite être calcinée à 500 °C pendant 8 heures minimum..			
Interférents	Pas d'interférent spécifique identifié			

AVERTISSEMENT : Il convient que l'utilisateur de cette méthode connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Cette méthode n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur. Certains des solvants utilisés dans le mode opératoire sont toxiques et dangereux. Les manipuler avec précaution.

Il est absolument essentiel que les essais conduits conformément à cette méthode soient exécutés par du personnel ayant reçu une formation adéquate.

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée	: Eau brute [23] jusqu'à 150 mg/L de MES
Conditionnement et conservation des échantillons - Protocole : - Nature du contenant de stockage : - Lavage du contenant : - Résultats de l'étude de stabilité	Se reporter aux sections 1, 3, 6 et 11 du guide ISO 5667-3 Prélèvement de 1 L d'échantillon, conservation à l'obscurité à 4°C. Mise en analyse (extraction) dans les 24 h suivant le prélèvement. Flacon de 1 L en verre ambré ou protégé de la lumière par du papier d'aluminium par exemple. Calcination à 500°C pendant 8 h puis rinçage lors du prélèvement avec l'échantillon. Etude de stabilité complémentaire non menée

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai	Eau : 1000 mL
Extraction - Liquide / Liquide	Ajouter 3 étalons internes (Dichlorvos-d6, Terbutryne-d5, Cybutryne-d9) à une concentration respective finale de 100 ng/L (ajout de 20 µL d'une solution à 5 µg/mL dans l'acétone) dans l'échantillon. Procéder à 3 extractions Liquide/Liquide successives sur l'échantillon avec respectivement 50 mL, 25 mL et 25 mL de dichlorométhane au moyen de rampes d'agitation mécanique pendant 10 min. Réunir les phases organiques. Eliminer les traces d'eau de l'extrait par ajout de sulfate de sodium anhydre, jusqu'à absence d'agglomération. Le volume de l'extrait est alors réduit par évaporation sous jet d'azote, par exemple au moyen d'un concentrateur de type Turbovap II®, jusqu'à un volume de 0,5 mL. Afin d'effectuer un changement de solvant, 0,5 mL d'isooctane sont ajoutés à l'extrait. Pour éliminer le dichlorométhane, le mélange est de nouveau concentré jusqu'à ≈ 0,2 mL. Ajouter l'étalon interne d'injection (Lindane ¹³ C ₆) à une concentration finale de 100 ng/mL (pour 1 mL d'extrait). Reprise de l'extrait à un volume final de 1 mL par de l'isooctane.
Purification	Dans les conditions de l'étude, aucune purification ne s'est avérée nécessaire
Conservation de l'extrait	Conservation de l'extrait à – 20°C Etude de la durée de conservation non réalisée.
Volume final avant analyse :	1 mL dans l'isooctane

Méthode analytique utilisée :

Conditions chromatographiques :

Mode d'injection : PTV (Programmed Temperature Vaporization)

Type d'insert : insert avec fritté désactivé Siltek®

Volume injecté : 3 µL

Vitesse d'injection : 100 µL/sec

Programmation du PTV :

Température (°C)	Rampe (°C/min)	Durée (min)
75	-	0,05
340	200	10

Programmation de la vanne de split :

Temps (min.)	Etat	Ratio de split
initial	ON	30
0,05	OFF	OFF
2	ON	50

Purge septum : 3-4 mL/min

Type de colonne : Rxi-5SilMS (Restek®) (Longueur = 60m ; diamètre interne = 0,25mm ; épaisseur de film = 0,25µm)

Gaz vecteur : Hélium Alphagaz 2 ou équivalent (pureté à 99,9999%)

Débit de gaz vecteur : 1,2 mL/min

Programmation du four : temps total = 20,53 min

Température (°C)	Rampe (°C/min)	Durée (min)
40	-	1
200	30	5
280	25	3
300	10	1
340	-	4

Température de la ligne de transfert : 320 °C

• Conditions spectrométriques (sur le matériel utilisé pour cette étude, voir ci-dessous) :

MS/MS (triple quadrupôle)

Paramètres	Critères Fixés
Mode d'ionisation	Impact électronique
Courant d'émission du filament	50 µA
Energie des électrons	70 eV
Température de la source	250 °C
Température du manifold	40 °C
Mode d'analyse	MS/MS
Gaz de collision	Argon
Pression du gaz de collision (CID)	2,4 mTorr
Mode du détecteur	EDR
Délai de solvant	7,5 min

Transitions et énergies de transition appliquées :

Segment	Composés	Tr (min)	Type de transition (*)	Q1 Ion Parent (m/z)	>	Q3 Ion fils (m/z)	Energie Collisions (V)
7,5min	Dichlorvos-d6	8,40	Q	115	>	83	10
	Dichlorvos	8,43	Q	185	>	93	12
			q	109	>	79	10
13,78min	Lindane ¹³ C ₆	13,996	Q	187	>	151	15
15,15min	Terbutryne-d5	15,31	Q	190	>	175	7,
	Terbutryne	15,34	Q	185	>	170	10
			q	241	>	185	7,
16,15min	Cybutryne-d9	16,40	Q	183	>	110	12
	Cybutryne	16,46	Q	182	>	109	12
			q	253	>	182	15

* Q : transition quantifiante ; q : transition qualifiante

**Equipement ¹
(modèles utilisés) :**

Chromatographe en phase gazeuse VARIAN® GC450 équipé d'un injecteur PTV 1079.

Spectromètre de masse Triple quadrupôle VARIAN® MS320.

Passeur d'échantillon CTC® PAL.

Type d'étalonnage

Interne

**Modèle utilisé
Etalons / Traceurs
utilisés**

Linéaire

Les étalons internes choisis sont les analogues marqués au deutérium des analytes recherchés. Un mélange contenant les étalons internes est réalisé dans l'acétone à 5 µg/mL. Ils sont ajoutés avant l'extraction (20 µL) pour atteindre une concentration finale de 100 ng/L dans l'échantillon.

L'étalon interne d'injection est aussi un analogue de pesticide marqué au carbone 13. Une solution à 10 µg/mL est réalisée dans l'isooctane. Il est ajouté à l'extrait final avant l'injection (10 µL) afin d'atteindre une concentration de

	Composés	Formule	N° CAS
Etalons Internes	Dichlorvos-d6	C ₄ D ₆ HCl ₂ O 4P	203645-53-8
	Terbutryne-d5	C ₁₀ D ₅ H ₁₄ N ₅ S	1219804-47-3
	Cybutryne-d9	C ₁₁ D ₉ H ₁₀ N ₅ S	1189926-01-9
Etalon injection	Lindane ¹³ C ₆	¹³ C ₆ H ₆ Cl ₆	-

100 ng/L environ.

**Domaine de
concentration**

Les solutions d'étalonnage sont préparées directement dans l'isooctane entre 0,2 et 100 ng/mL.

¹ Les matériels cités ici constituent des exemples d'application satisfaisante. Ces mentions ne constituent pas une recommandation exclusive, ni un engagement quelconque de la part du rédacteur ou d'AQUAREF

Méthode de calcul des résultats	Utilisation du rendement : Correction par les étalons internes lors du calcul des concentrations
Rendement	Les taux de récupération des étalons internes doivent être calculés et être au minimum de 50%.
Blancs	Blanc méthode réalisé sur 1 L d'eau de source (Evian®) Soustraction du blanc : Oui, si supérieur à la limite de quantification (LQ). Cette approche est valable jusqu'à 10 * LQ. Au-delà, la série d'analyse doit être invalidée.

Références de la méthode

Norme dont est tirée la méthode	NF EN 12918 (10/1999) Qualité de l'eau – « Dosage du parathion, méthyl-parathion et certains autres composés organophosphorés dans les eaux après extraction au dichlorométhane et analyse par chromatographie en phase gazeuse ». NF EN 10695 (06/2000) Qualité de l'eau – « Dosage de certains composés organiques azotés et phosphorés sélectionnés - Méthodes par chromatographie en phase gazeuse ».
Niveau de validation selon Norman	Niveau 1

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée	NF T90-210 (2009).
Domaine de validation	Dichlorvos : 0,2 à 100 ng/L Terbutryne : 0,2 à 75 ng/L Cybutryne : 0,5 à 100 ng/L
Matériaux de référence utilisés	Pas de matériau de référence disponible.
Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)	-Blanc méthode analysé inférieur à la limite de quantification. -Blanc matrice utilisée pour la validation : présence de terbutryne (0,6 ng/L en moyenne) et trace de cybutryne (< 0,2 ng/L). Dans le cas de niveaux de blanc quantifiables, les valeurs obtenues à chaque série pour les blancs (ou la moyenne des valeurs obtenues si plusieurs blancs sont effectués) sont retranchées des valeurs calculées pour les échantillons. Dans le cas de présence de trace non-quantifiable, les valeurs de blanc ne sont pas soustraites.

Rendement - par type de matrice

Eau de Rivière Oise

Caractéristiques physico-chimiques de la matrice utilisée pour la validation :

Matrice	Eau de l'Oise
MES (mg/L)	28,6
pH	7,8
Conductivité (µS/cm)	655
COT (mg/L)	2,87
COD (mg/L)	2,48
Anions	
Cl ⁻ (mg/L)	29,4
NO ₃ ⁻ (mg/L)	22,8
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0,11
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	34,6
Cations	
Na ⁺ (mg/L)	15,3
NH ₄ ⁺ (mg/L)	0,03
K ⁺ (mg/L)	3,47
Ca ²⁺ (mg/L)	110
Mg ²⁺ (mg/L)	7,22

- par niveau de concentration

Détermination suivant NF T90-210 (2009) réalisée par ajout d'une quantité connue de chacun des 3 composés dans l'eau de l'Oise.

Rendements relatifs calculés avec correction des étalons internes

Nombre d'essais par niveau de concentration : 2 répétitions/jour pendant 6 jours

Valeur des niveaux ng/L	Dichlorvos		Terbutryne*		Cybutryne	
	Rdt (n=12)	Ecart-type (n=12)	Rdt (n=12)	Ecart type (n=12)	Rdt (n=12)	Ecart type (n=12)
0,2	102%	17%	102%	16%	-	-
0,5	101%	8%	103%	10%	117%**	7%
1	105%	8%	97%	5%	105%	6%
10	100%	2%	99%	3%	99%	3%
50	103%	2%	101%	3%	103%	3%
100	103%	1%	-	-	105%	2%

* Rendements relatifs calculés en retranchant les valeurs de blanc

**Présence de trace de Cybutryne dans le blanc induisant un biais aux niveaux proches de la LQ.

Limite de quantification

Détermination suivant NF T90-210 (2009) réalisée par ajout d'une quantité connue de chacun des 3 composés dans l'eau de l'Oise

Nombre d'essais par niveau de concentration : 2 répétitions/jour pendant 6 jours.

Substance	$\frac{1}{3}$ NQE* ng/L dans les eaux de surface intérieures	LQ ng/L
Dichlorvos	0,2	0,2
Terbutryne	2	0,2
Cybutryne	0,8	0,5

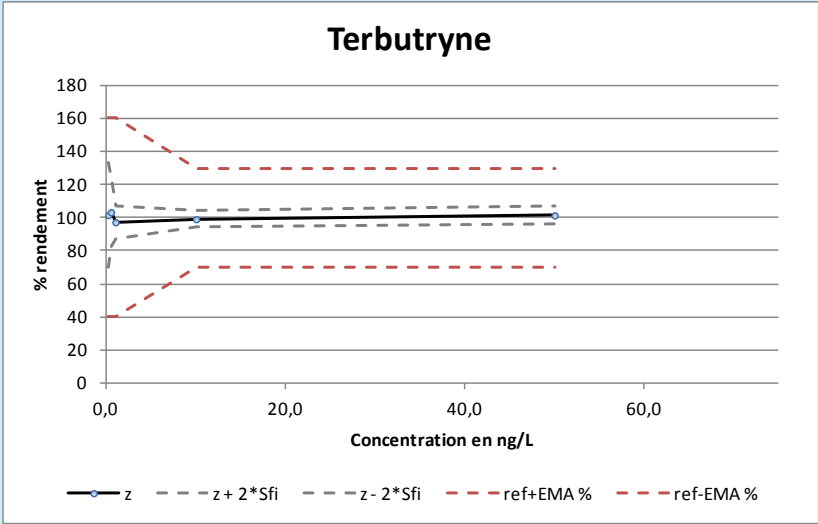
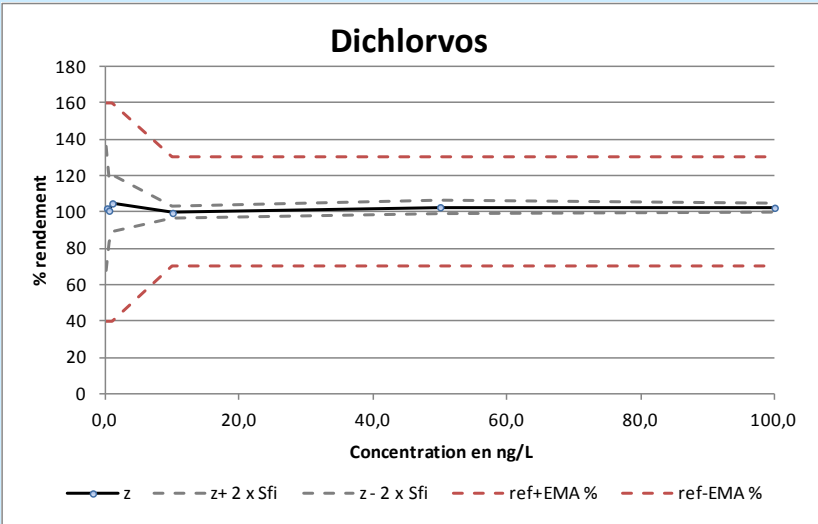
*Norme de Qualité Environnementale

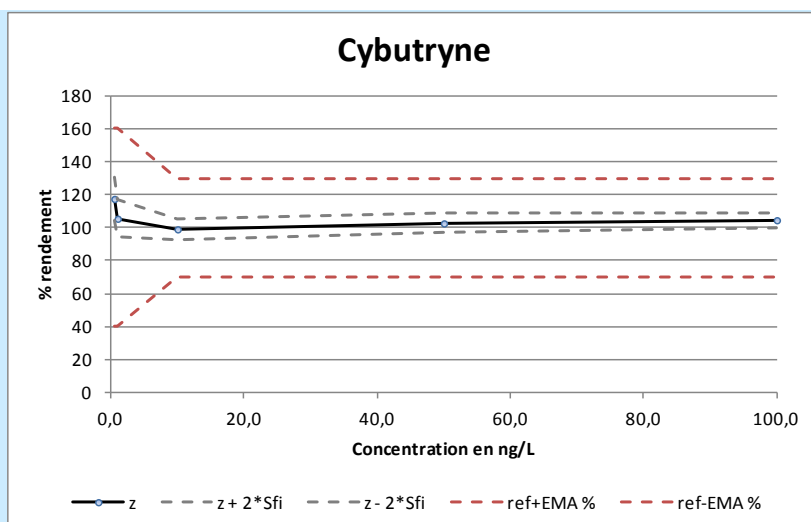
**Incertitudes (%) sur
les résultats**

- par molécule
(reproductibilité avec
méthode de
détermination)

Estimation des incertitudes réalisée à partir des données de fidélité intermédiaire par interpolation à différents niveaux de concentration couvrant le domaine de la méthode. **Facteur d'élargissement : k = 2**

En noir trait plein : rendement (justesse)
En pointillés gris: Valeur haute et basse de fidélité intermédiaire (2 x écart-type des données de fidélité intermédiaire Sfi)
En pointillés rouges: Limite haute et basse d'acceptabilité (écart maximal acceptable EMA de 60% à la LQ et 30% sur le reste de la gamme)





Spécificité de la méthode

La spécificité de la méthode a été testée sur 5 matrices de nature différente couvrant un large panel en termes de caractéristiques physico-chimiques (MES, pH, conductivité, force ionique).

Matrice	Eau de source	Plan d'eau	Eau de pluie	Eau de marais	Eau de l'Oise
MES (mg/L)	3,05	3,46	3,82	2,58	151
pH	8,2	8,3	6,8	8,1	7,3
Conductivité (µS/cm)	689	677	42	615	1091
COT (mg/L)	1,91	4,66	3,80	10,5	6,73
COD (mg/L)	1,80	4,60	1,55	10,2	2,95
Anions					
Cl ⁻ (mg/L)	12,9	23,2	3,43	37,1	22,3
NO ₃ ⁻ (mg/L)	0,25	0,57	3,46	5,33	20,2
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	<0,05	<0,05	0,07	<0,05	0,12
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	36,1	49,6	2,74	143	29,5
Cations					
Na ⁺ (mg/L)	14,9	14,7	2,05	16,7	11,1
NH ₄ ⁺ (mg/L)	0,03	0,04	0,05	0,07	0,11
K ⁺ (mg/L)	1,90	1,66	0,76	3,61	3,13
Ca ²⁺ (mg/L)	88,4	98,3	3,89	208	107
Mg ²⁺ (mg/L)	27,3	24,4	0,31	14	6,13

matrices testées :

Les cinq matrices ont été fortifiées à 50 ng/L de chaque pesticide et traitées selon la méthode décrite précédemment.

Les taux de recouvrement obtenus pour les étalons internes sont tous supérieurs à 50% quelle que soit la matrice testée : de 64 à 79% pour le dichlorvos, de 79 à 94% pour le terbutryne et de 81 à 97% pour le cybutryne.

Les rendements relatifs obtenus sont regroupés ci-dessous :

Matrice	Dichlorvos		Terbutryne		Cybutryne	
	Rdt (n=3)	Ecart-type (n=3)	Rdt (n=3)	Ecart-type (n=3)	Rdt (n=3)	Ecart-type (n=3)
Eau de source	103%	2%	105%	3%	104%	2%
Eau de pluie	104%	1%	103%	1%	101%	2%
Eau de marais	102%	1%	103%	1%	102%	2%
Plan d'eau	104%	1%	102%*	1%	103%*	1%
Eau de l'Oise ~ 150 mg/L de MES	102%	1%	104%*	1%	103%	2%

*Rendements relatifs calculés en retranchant les valeurs de blanc

Contacts

Auteurs

Jérôme Beaumont ; François Lestremau

Institut

INERIS

Contact

jerome.beaumont@ineris.fr, francois.lestremau@ineris.fr