

Pesticides

Méthode d'analyse dans les matières en suspension

Généralités

Nom de la famille de substances	Pesticides														
Nom des substances individuelles	chlorfenvinphos (CFV), chlorpyriphos ethyl (CPE), chlorpyriphos methyl (CPM), diflufénicanil (DFF), fénitrothion (FNT), norflurazon (NFZ), procymidone (PCM)														
Code SANDRE des substances individuelles	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 70%;">Chlorfenvinphos</td><td style="text-align: right;">1464</td></tr> <tr><td>Chlorpyriphos ethyl</td><td style="text-align: right;">1083</td></tr> <tr><td>Chlorpyriphos methyl</td><td style="text-align: right;">1540</td></tr> <tr><td>Diflufénicanil</td><td style="text-align: right;">1814</td></tr> <tr><td>Fénitrothion</td><td style="text-align: right;">1187</td></tr> <tr><td>Norflurazon</td><td style="text-align: right;">1669</td></tr> <tr><td>Procymidone</td><td style="text-align: right;">1664</td></tr> </table>	Chlorfenvinphos	1464	Chlorpyriphos ethyl	1083	Chlorpyriphos methyl	1540	Diflufénicanil	1814	Fénitrothion	1187	Norflurazon	1669	Procymidone	1664
Chlorfenvinphos	1464														
Chlorpyriphos ethyl	1083														
Chlorpyriphos methyl	1540														
Diflufénicanil	1814														
Fénitrothion	1187														
Norflurazon	1669														
Procymidone	1664														
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Matières en suspension [7]														
Principe de la méthode	<ul style="list-style-type: none"> - Prélèvement des MES par filtration de l'échantillon d'eau - Séchage à 52 ± 2 °C de l'échantillon (MES sur filtre) - Dopage par un traceur analytique - Extraction par solvants sous pression et température (PFE) - Evaporation sous pression réduite ou sous flux d'azote - Reprise dans une solution protectrice d'analyte* contenant l'étalon interne d'injection - Dosage par GC/MS <p>*solution de protecteur d'analyte préparée dans l'acétone (Anastassiades, 2003) : 3-etoxy-1,2-propanediol 50 g/L, D-sorbitol 5g/L et L-gulonic acid γ-lactone 5g/L. Cette solution protectrice est utilisée pour limiter les effets de matrices induits, notamment les pertes d'analytes ou les phénomènes de traînée de pics dus aux interactions indésirables sur les sites actifs dans l'insert et dans la colonne.</p>														
Acronyme	PFE/GC/MS														
Domaine d'application	<p>Les limites de quantification sont comprises entre 1 et 30 ng/g poids sec.</p> <p>Les concentrations maximales testées sont comprises entre 1 et 800 ng/g poids sec.</p>														
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	Teneur en matières en suspension dans l'eau (masse de l'échantillon).														

Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode

Toute la verrerie doit être maintenue dans un parfait état de propreté. Pour cela, après lavage à la machine à laver, la verrerie jaugée est rincée à l'acétone d'une pureté conforme à l'analyse des pesticides et la verrerie non-jaugée est passée à l'étuve haute température (500 °C) pendant une nuit (10 heures). Afin de s'affranchir des effets de matrice lors de l'injection, la gamme d'étalonnage est réalisée dans un extrait de MES non contaminé.

Interférents (préciser la matrice)

La spécificité de la méthode a été évaluée avec des matrices MES naturelles d'origines différentes et des prises d'essai différentes aussi.

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 : phase particulaire [234]

Conditionnement et conservation des échantillons

- Protocole :

Un volume de l'échantillon d'eau prélevé est homogénéisé et filtré le plus rapidement possible sur filtre en fibre de verre (filtre Whatman® GF/F de porosité 0,7 µm) de manière à récupérer au moins 25 mg de MES sèche.

Après séchage à l'étuve à 52°C, les filtres chargés en MES sont enveloppés dans du papier d'aluminium, identifiés puis conservés au congélateur (-18°C) jusqu'à leur extraction.

- Nature du contenant de stockage :

Papier d'aluminium

Filtration :

- Type de filtre et méthode de nettoyage :

Filtre (Whatman® GF/F 0.7µm) en fibre de verre préalablement rincé par 250 mL d'eau ultra-pure puis conservé à l'étuve à 105°C jusqu'à utilisation. Les filtres utilisés sont sortis de l'étuve puis placés dans un dessiccateur jusqu'à retour à la température ambiante.

- Type de support de filtration :

Support Sartorius® avec fritté en verre.

Pré-traitement des échantillons liquide ou solide

Cf § Conditionnement et conservation des échantillons.

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)

Eau : phase particulaire, selon masse récupérée sur le filtre – masse minimale requise 25 mg (poids sec).

Extraction

- PFE

Extraction PFE avec appareil Dionex® ASE®200 et cellules de 1 mL. Placer 2 filtres à cellule en son fond afin d'éviter les colmatages. Une petite quantité de sable d'Ottawa est introduite dans la cellule.

Le filtre chargé en MES et dopé en traceur de méthode (10 µL de solution de CPE-D10 à 2,5 mg/L dans l'acétone) est roulé une fois le solvant de la solution de dopage évaporé à l'air libre (entre 10 et 20 min à température ambiante), introduit dans la cellule puis tassé. Le volume restant de la cellule est complété avec du sable d'Ottawa.

Le programme d'extraction est le suivant :

Durée (min.)	Etapes
5	Préchauffage
5	Chauffage à 100 °C
5	Phase statique avec 50/50 v/v acétone/dichlorométhane (100°C, 100 bars) pendant 5 minutes puis vidange (60 % du volume de la cellule). Cycle répété 3 fois.
1	Purge

Evaporation sous pression réduite sur système Syncore (Büchi) ou sous flux d'azote.

Reprise de l'échantillon par une solution de protecteur d'analyte (3-ethoxy-1,2-propandiol à 50 g/L, D-sorbitol à 5 g/L et L-gulonic acid gamma lactone à 5 g/L) contenant l'étalon interne (HBB à 100µg/L)

Conservation de l'extrait

Si le dosage peut être réalisé dans les 48h, l'extrait est stocké au réfrigérateur avec la gamme étalon correspondante, réalisée dans le même solvant que les extraits.

Sinon l'ensemble (extraits + étalons) est conservé au congélateur jusqu'à analyse.

Volume ou masse finale avant analyse :

250 µL (d'une solution d'étalon interne HBB à 100 µg/L dans le protecteur d'analyte)

Méthode analytique utilisée :**Chromatographie en phase gazeuse**

- Mode d'injection : splitless
- Volume injecté : 2µL
- Température d'injecteur 280°C
- Type d'insert : insert en verre dont la zone centrale est remplie de laine de verre (focus liner)
- Colonne :
 - Type : 5-MS (Zebron®)
 - phase stationnaire : dimethylpolysiloxane
 - phase greffée : 5% phenyl-arylène
 - longueur : 30 m
 - diamètre interne : 0.25 mm
 - épaisseur de phase 0.25 µm
- Gaz vecteur : hélium (Alphagaz 2 ; pureté : 99.9999%)
- Gradient de température :

Température (°C)	Vitesse (°C/min)	Durée de plateau (min)	Temps total (min)
50	0	0.2	0.2
180	30	0	4.53
280	10	0	14.53
300	30	5	20.20

Spectrométrie de Masse

- Mode d'ionisation : impact électronique (70 eV)
- Source externe
- Analyseur : trappe d'ion
- Damping gaz : Helium (Alphagaz 2)
- Mode d'acquisition : SIS (single ion storage).
- Table des ions suivis :

Composé	Temps de rétention (min.)	Ion (uma)
Chlorpyriphos ethyl	9,13	314
Chlorpyriphos methyl	8,77	286
Chlorpyriphos ethyl – D10 (EI)	9,10	324
Fénitrothion	9,25	277
Procymidone	10,06	283+96
Diflufénicanil	12,90	394
Chlorfenvinphos	10,25	323+267
Norflurazon	12,47	283
Hexabromobenzène (traceur)	13,63	552

Equipements ¹ (modèles utilisés) :

Chromatographe en phase gazeuse Varian 3800® couplé à un spectromètre de masse Varian MS 4000®

Type d'étalonnage

Interne

Modèle utilisé

Linéaire

Etalons / Traceurs utilisés

Etalon interne : Hexabromobenzène (HBB) à 100 µg/L
Traceur de méthode : Chlorpyriphos Ethyl - D10

Domaine de concentration

Selon la sensibilité des composés, les concentrations des gammes d'étalonnage s'étendent de 1 à 500 µg/L (DFF et FNT, CPM), de 2 à 1000 µg/L (CPE, CFV et NFZ) ou de 20 à 1000 µg/L (PCM).

Méthode de calcul des résultats Rendement

Utilisation du rendement : Pas de correction avec le rendement obtenu lors de la validation de méthode. Pour chaque échantillon, le rendement du traceur de méthode (CPE-D10) est contrôlé. Un ajout dosé peut être réalisé sur un échantillon de la série afin de vérifier les rendements obtenus sur la matrice analysée.

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

Blancs

Des blancs solvants sont injectés en début de série d'analyses pour s'assurer de la stabilité de la ligne de base et de la propreté du système, puis régulièrement au cours de l'analyse.

Des blancs réactifs sont analysés : cet essai consiste à effectuer tout le protocole analytique sans échantillon de MES. Il est essentiel pour vérifier la pureté des solvants, des réactifs et la propreté du matériel et de toute la verrerie utilisés. Il est réalisé au minimum lors de la validation de la méthode, puis contrôlé régulièrement.

Critère : < LQ

Références de la méthode

La méthode est dérivée de la publication suivante

Anastassiades, M.; Mastovska, K.; Lehotay, S. J. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticide. J. Chromatogr. A 2003, 1015, 163. (pour la partie protecteur d'analyte)

Norme dont est tirée la méthode

S/O

Niveau de validation selon Norman

Niveau 1

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée

NF T90-210 (2009)

Domaine de validation

La validation a été réalisée sur une matrice de MES naturelle exempte de pesticides, aux concentrations suivantes :

Analyte	concentrations testées (ng/g)		
	LQ	20%	80%
CFV	6	1700	6700
CPE	3	830	3300
CPM	2	170	670
DFF	1	830	3300
FNT	1	830	3300
NFZ	6	1700	6700
PCM	30	1700	6700

Matériaux de référence utilisés

Aucun matériau de référence contenant tous les composés dosés n'est disponible commercialement.

Blancs analytiques

Des blancs solvants sont injectés en début de série d'analyses pour s'assurer de la stabilité de la ligne de base et de la propreté du système, puis régulièrement au cours de l'analyse. Les résultats doivent être systématiquement < LQ.

Rendement - par molécule

Les valeurs de rendements sont obtenues en condition de fidélité intermédiaire avec n=10 (1 duplicat x 5 séries) à 2 niveaux de dopages équivalents à 20 % et 80 % du niveau haut de la gamme d'étalonnage. Les rendements obtenus sont les suivants (moyenne et CV pour n=10) :

Analyte	rendement à 20%	CV (%)	rendement à 80%	CV (%)
CFV	108	11	112	11
CPE	104	17	97	13
CPM	92	13	97	15
DFF	107	12	115	11
FNT	104	13	110	10
NFZ	106	10	103	12
PCM	101	12	99	14
CPE-D10*	90	15	94	13

*traceur de méthode

Limite de quantification(LQ) Limite de détection (LD) (indiquez la méthode de détermination en précisant la matrice testée)

LD : S/O

L'exactitude des LQ prédéterminées (S/N) a été vérifiée selon le plan d'expérience décrit dans la norme NF T90-210 (2009)

Analyte	LQ (µg/L dans le vial ; v=250 µL)	LQ (ng/g sec ; Rdt à la LQ (%)) Prise Essai = 30 mg)	CV (%)
CFV	20	6	95
CPE	10	3	85
CPM	5	2	63
DFF	2	1	100
FNT*	2	1	124
NFZ	20	6	99
PCM	100	30	94

* : limite de quantification à affiner (CV élevé)

Incertitudes (%) sur les résultats

Les incertitudes élargies (k=2) déterminées expérimentalement dans des MES à 3 niveaux de concentrations (LQ, 20% et 80% du domaine) sont en cours de détermination.

Contacts

Auteurs

Christelle Margoum

Institut

Irstea (Cemagref) Lyon

Contact

christelle.margoum@irstea.fr