

Liste de vigilance 2022 : 15 composés

Métaflumizone, sulfaméthoxazole, clotrimazole, fluconazole, imazalil, ipconazole, metconazole, miconazole, penconazole, prochloraze, tébuconazole, tétraconazole, dimoxystrobine, famoxadone et venlafaxine

Méthode d'analyse dans les eaux

Généralités	2
Protocole analytique	3
— Prétraitement	3
— Analyse	3
Références de la méthode	7
Paramètres de validation de la méthode	7
Contact	16

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.

Généralités

■ Nom de la famille de substances

<u>Insecticide</u>	: Métaflumizone
<u>Antibiotique</u>	: Sulfaméthoxazole
<u>Fongicides</u>	: Clotrimazole, Fluconazole, Imazalil, Ipconazole, Metconazole, Miconazole, Penconazole, Prochloraz, Tébuconazole, Tétraconazole, Dimoxystrobine et Famoxadone
<u>Psychotrope</u>	: Venlafaxine

■ Nom des substances individuelles

clotrimazole	ipconazole	prochloraze
dimoxystrobine	métaflumizone	sulfaméthoxazole
famoxadone	metconazole	tébuconazole
fluconazole	miconazole	tétraconazole
imazalil	penconazole	venlafaxine

■ Code SANDRE des substances individuelles

Clotrimazole	[5360]	Miconazole	[7130]
Dimoxystrobine	[5748]	Penconazole	[1762]
Famoxadone	[2020]	Prochloraze	[1253]
Fluconazole	[8564]	Sulfaméthoxazole	[5356]
Imazalil	[1704]	Tébuconazole	[1694]
Ipconazole	[7508]	Tétraconazole	[1660]
Métaflumizone	[7747]	Venlafaxine	[7611]
Metconazole	[1879]		

■ Matrice analysée

Eau [3] :

- Eau douce de surface

■ Principe de la méthode

Extraction liquide-liquide (ELL) à pH 3 et analyse par chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse triple quadripôle avec une ionisation électrospray en mode positif (UPLC/MSMS).

NB : concernant l'ensemble des composés de la liste de vigilance 2022 :

- Les composés triméthoprime et o-desméthylvenlafaxine (produit de dégradation de la venlafaxine) sont analysables selon la fiche méthode Aquaref MA-85.2.
- Tous les composés de cette fiche, à l'exception de métaflumizone et sulfaméthoxazole sont analysables selon la fiche méthode Aquaref MA-85.2.

■ Acronyme : ELL/UPLC/MSMS

■ Domaine d'application

LQ (2, 3, 5, 7 ou 10 ng/L selon les composés) à 500 ng/L d'eau

■ Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse

MES

- **Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode :** /

Protocole analytique

— Prétraitement

- **Fraction analysée**

Eau :

- Eau brute [23]

- **Conditionnement et conservation des échantillons**

- | **Protocole**

Les échantillons sont conservés à l'obscurité à $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

- | **Nature du contenant de stockage**

Verre ambré (certifié EPA) ou protégé de la lumière par une feuille d'aluminium, avec bouchons à vis à revêtement de PTFE (polytétrafluoroéthylène)

- | **Lavage du contenant**

Contenant neuf.

- | **Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...)**

La stabilité pour la métaflumizone est de 7 jours à $4 \pm 2^\circ\text{C}$ (voir fiche Aquaref MA-79).

La stabilité pour la sulfaméthoxazole est donnée par la norme ISO 21676 : 3 semaines à $4 \pm 2^\circ\text{C}$ pour des eaux souterraines et superficielles.

La stabilité des autres composés est indiquée dans la fiche Aquaref MA-85.2.

- **Filtration**

Pas de filtration

— Analyse

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

500mL

- **Extraction**

- | **Liquide/Liquide**

Ajuster l'échantillon à pH $3,0 \pm 0,1$ au pH-mètre avec de l'acide sulfurique (qualité ACS reagent, pureté 95-98%) dilué au $\frac{1}{2}$.

Ajouter 50 μL du mélange des 10 étalons internes (solution à 2 mg/L dans l'acétonitrile de imazalil D5, prochloraz D4, tébuconazole D9, clotrimazole D5, famoxadone D5, fluconazole D4, metconazole D6, miconazole D5, penconazole D7 et sulfaméthoxazole D4).

Extraire avec 30 mL de dichlorométhane puis 3 fois avec 40 mL d'un mélange dichlorométhane/acétone 75/25 (v/v) pendant 10 minutes à chaque extraction.

Recueillir les phases organiques dans un flacon en verre.

Evaporer l'extrait jusqu'à 0,5 mL sous flux d'azote dans un bain marie à 30°C (sans évaporation à sec). Ajouter 2,5 mL d'acétonitrile qualité LC/MS. Evaporer sous flux d'azote dans un bain marie à 30°C jusqu'à 0,25 mL et transvaser dans un vial brun.

Avant analyse, ajouter 0,25 mL d'eau qualité LC/MS pour obtenir l'extrait dans un mélange 50/50 eau/acétonitrile à un volume de 0,5 mL.

■ **Conservation de l'extrait**

Vérifié sur 6 jours à $4 \pm 2^\circ\text{C}$ (délai supérieur non étudié).

■ **Volume ou masse finale avant analyse**

0,5 mL d'un mélange acétonitrile/eau 50/50 (v/v).

■ **Méthode analytique utilisée**

Chromatographie :

Colonne Acquity UPLC BEH C18® (10 cm x 2,1 mm x 1,7 μm ; Waters), thermostatée à 50°C.

Phase mobile :

Voie A : Eau qualité LC/MS avec 0,01% d'acide formique (v/v)

Voie B : Acétonitrile qualité LC/MS avec 0,01% d'acide formique (v/v)

Débit : 0,4 mL/min

Temps (min)	%A	%B
0	95	5
0,75	95	5
8	1	99
9	1	99
9,3	95	5
13	95	5

Volume d'injection : 2 μL , échantillon maintenu à 10°C sur le passeur d'échantillons.

Spectrométrie de masse :

Mode d'ionisation : ionisation électrospray, mode positif (ESI+)

Température de la source : 150 °C

Température de désolvatation : 650 °C

Débit gaz de désolvatation : 800 L/h

Débit gaz du cône : 50 L/h

Temps de rétention et conditions d'ionisation et de fragmentation :

	Tr (min)	cone V	Q transition en uma (énergie de collision en eV)	q transition de qualification en uma (énergie de collision en eV)
Trimethoprime_D9	2,6	45	300>123 (27)	300>234 (27)
Trimethoprime	2,6	45	291>123 (25)	291>230 (23)
O-desmethylvenlafaxine_D6	2,8	30	270>58 (20)	270>252 (12)
O-desmethylvenlafaxine	2,8	30	264>58 (20)	264>246 (12)
Fluconazole_D4	3,1	40	311>242 (17)	311>223 (18)
Fluconazole	3,1	40	307>238 (17)	307>220 (18)
Sulfamethoxazole-d4	3,4	35	258>96 (28)	258>160 (16)
Sulfamethoxazole	3,4	35	254>92 (28)	254>156 (16)
Venlafaxine_D6	3,4	30	284>58 (20)	284>266 (12)
Venlafaxine	3,4	30	278>58 (20)	278>260 (12)
Imazalil_D5	4,2	45	304>69 (20)	304>161 (21)
Imazalil	4,2	45	297>69 (20)	297>159 (21)
Clotrimazole_D5	4,7	45	282>170 (23)	282 >246 (27)
Clotrimazole	4,7	45	277>165 (20)	277>241 (27)
Miconazole_D5	5,2	50	426>163 (30)	426>165 (30)
Miconazole	5,2	50	417>159 (30)	417>161 (30)
Tetraconazole	5,8	45	372>159 (27)	372>70 (25)
Prochloraze_D4	5,8	25	384>316 (11)	384>74 (26)
Prochloraze	5,9	25	376>308 (11)	376>70 (26)
Tebuconazole_D9	5,8	40	317>70 (25)	317>125 (35)
Tebuconazole	5,9	40	308>70 (25)	308>125 (35)
Metconazole_D6	6	45	326>70 (25)	326>125 (40)
Metconazole	6,1	45	320>70 (25)	320>125 (40)
Penconazole_D7	6	35	293>71 (17)	293>162 (24)
Penconazole	6	35	284>70 (17)	284>159 (25)
Dimoxystrobine	6,1	20	327>205 (10)	327>116 (20)
Ipconazole	6,3+6,4	40	334>70 (25)	334>125 (40)
Famoxadone_D5	6,5	30	336>98 (24)	336>243 (12)
Famoxadone	6,5	30	331>93 (21)	331>238 (11)
Metaflumizone	6.9+7.0	50	507>178 (26)	507>287 (27)

Pour ipconazole et métaflumizone, 2 pics sont observés ; la somme des aires des 2 pics est à prendre en compte.

▪ Equipements¹ (modèles utilisés)

Chromatographe ultra haute pression Acquity® (Waters) équipé d'une pompe Acquity QSM et d'un passeur d'échantillons automatique réfrigéré, avec dispositif d'injection permettant d'introduire une prise d'essai jusqu'à 50 µL.

Spectromètre de masse en tandem (triple quadripôle) XEVO-TQD® (Waters) en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring).

▪ Type d'étalonnage

Interne

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

▪ **Modèle utilisé**

Quadratique pondéré en $1/x$ pour la dimoxystrobine.
Linéaire pondéré en $1/x$ pour les autres composés.

| **Étalons / Traceurs utilisés**

Un étalon interne marqué est utilisé pour chaque composé. Une solution avec 10 étalons internes est préparée à 2 mg/L dans l'acétonitrile. Un volume de 0,05 mL est ajouté avant extraction pour 500mL d'échantillon.

Composés et étalons internes associés :

Composé	Étalon interne
Métaflumizone	Famoxadone D5
Sulfamethoxazole	Sulfamethoxazole D4
Clotrimazole	Clotrimazole D5
Fluconazole	Fluconazole D4
Imazalil	Imazalil D5
Ipconazole	Metconazole D6
Metconazole	Metconazole D6
Miconazole	Miconazole D5
Penconazole	Penconazole D7
Prochloraz	Prochloraz D4
Tebuconazole	Tebuconazole D9
Tetraconazole	Metconazole D6
Dimoxystrobine	Prochloraz D4
Famoxadone	Famoxadone D5
Venlafaxine	D,L-Venlafaxine D6

| **Domaine de concentration :** /

Étalonnage de 1 à 500 $\mu\text{g/L}$.

Les solutions étalons sont préparées dans un mélange eau/acétonitrile 50/50 (v/v) de qualité LC/MS.

▪ **Méthodes de calcul des résultats**

Étalonnage interne

| **Rendement**

Sans objet, les étalons internes marqués permettent de corriger les concentrations déterminées en tenant compte du rendement.

| **Blancs**

Blanc méthode (eau de source embouteillée) réalisé à chaque série.

Soustraction du blanc : non, il doit être inférieur à la limite de détection.

Références de la méthode

- La méthode est dérivée de la publication suivante : /
- Norme dont est tirée la méthode : /
- Niveau de validation selon Norman
Niveau 1

Paramètres de validation de la méthode

- Norme utilisée
Protocole de validation dérivé de NF T 90-210 (2018)

| Domaine de validation

De la LQ : 3, 5, 7 ou 10 ng/L selon les composés, à 500 ng/L.

Pour les composés dont la MDL (limite maximale acceptable de détection) est supérieure à 50 fois la LQ (correspondant au niveau haut du profil d'exactitude), les performances ont également été vérifiées au niveau de concentration de leur MDL (imazalil 800 ng/L, penconazole 1700 ng/L et tétraconazole 1900 ng/L).

- Matériaux de référence utilisés : /
- Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)
Blanc solvant (eau HPLC/acétonitrile 50/50, v/v) inférieur à la limite de détection.
Blanc méthode (eau de source embouteillée) inférieur à la limite de détection.

▪ Rendement

L'étude de rendement (ou taux de recouvrement) est réalisée dans des conditions de fidélité intermédiaire avec 3 eaux dopées chacune à trois niveaux de concentration en triplicat (3 eaux x 3 niveaux x 3 réplicats).

Les eaux utilisées sont préparées à partir de l'eau d'Evian® :

- Evian
- Evian avec ajout de 3mg/L de COD
- Evian avec ajout de 7mg/L de COD et 50mg/L de MES.

Les niveaux de concentration sont la LQ et des multiples de 3 et 50 fois du niveau de concentration de la LQ de chaque composé.

Les 3 eaux sont traitées indépendamment sur 3 jours différents. Les rendements relatifs correspondent aux rendements corrigés à l'aide des étalons internes.

Composé	LQ (ng/L)	Rendement relatif moyen (%) et écart-type (n=9)		
		Niveau 1 (LQ)	Niveau 2 (3xLQ)	Niveau 3 (50xLQ)
Métaflumizone	10	86% (7%)	89% (7%)	83% (7%)
Sulfamethoxazole	5	101% (7%)	104% (3%)	105% (3%)
Clotrimazole	7	99% (3%)	99% (4%)	97% (3%)
Fluconazole	10	103% (4%)	102% (4%)	101% (2%)
Imazalil	10	98% (4%)	100% (4%)	98% (3%)

Composé	LQ (ng/L)	Rendement relatif moyen (%) et écart-type (n=9)		
		Niveau 1 (LQ)	Niveau 2 (3xLQ)	Niveau 3 (50xLQ)
Ipconazole	10	97% (3%)	98% (3%)	98% (2%)
Metconazole	10	99% (3%)	101% (1%)	97% (1%)
Miconazole	10	95% (2%)	94% (4%)	95% (2%)
Penconazole	10	97% (4%)	98% (1%)	94% (2%)
Prochloraz	10	99% (4%)	98% (2%)	95% (2%)
Tebuconazole	10	99% (2%)	101% (1%)	96% (1%)
Tetraconazole	10	98% (2%)	99% (3%)	96% (2%)
Dimoxystrobine	10	105% (5%)	102% (5%)	103% (6%)
Famoxadone	3	94% (17%)	98% (12%)	94% (4%)
Venlafaxine	2	94% (6%)	99% (3%)	103% (2%)

■ Limite de quantification (LQ) et Limite de détection (LD)

2 à 10 ng/L selon les composés (cf. tableau ci-dessus)

La limite de détection est obtenue en divisant la limite de quantification par 3.

■ Incertitudes (%) sur les résultats

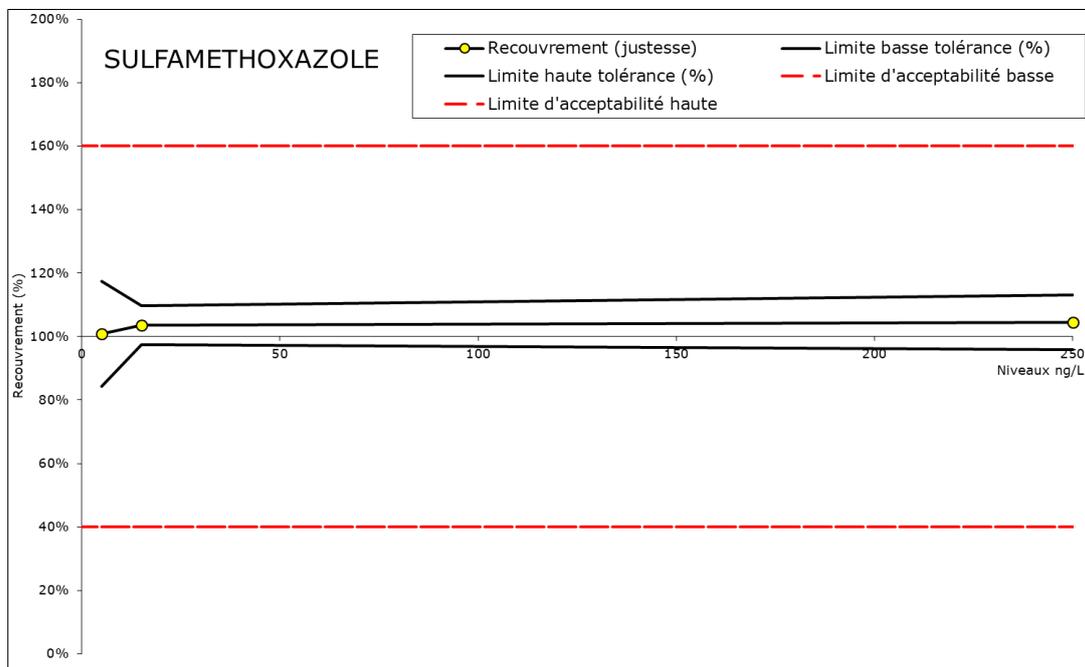
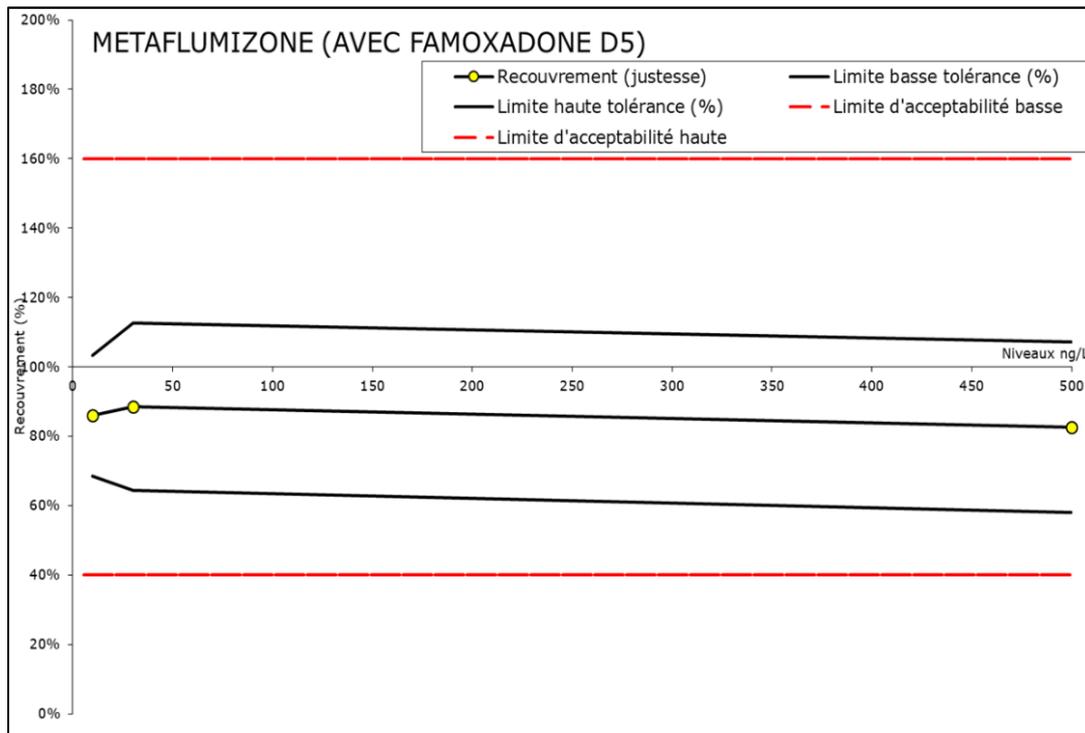
L'évaluation de l'incertitude est effectuée en utilisant la norme ISO 11352, lors de l'étude de rendement, par ajout des composés dans 3 eaux avec réalisation de trois réplicats pendant 3 jours différents à 3 niveaux de concentration.

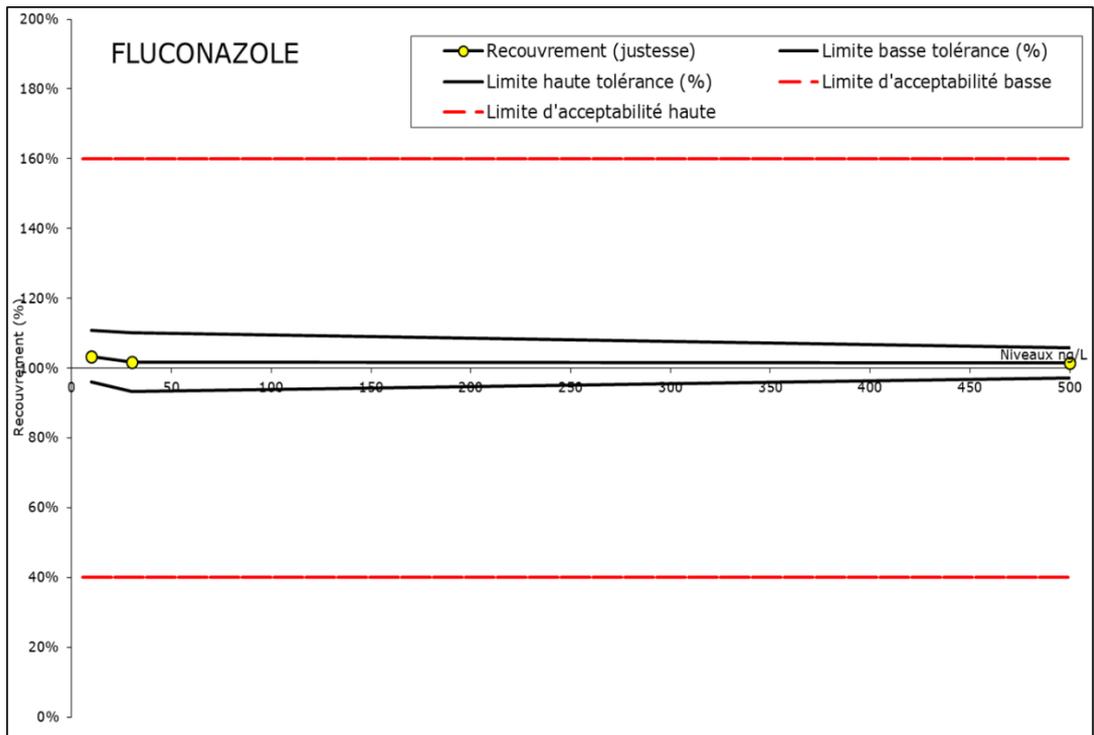
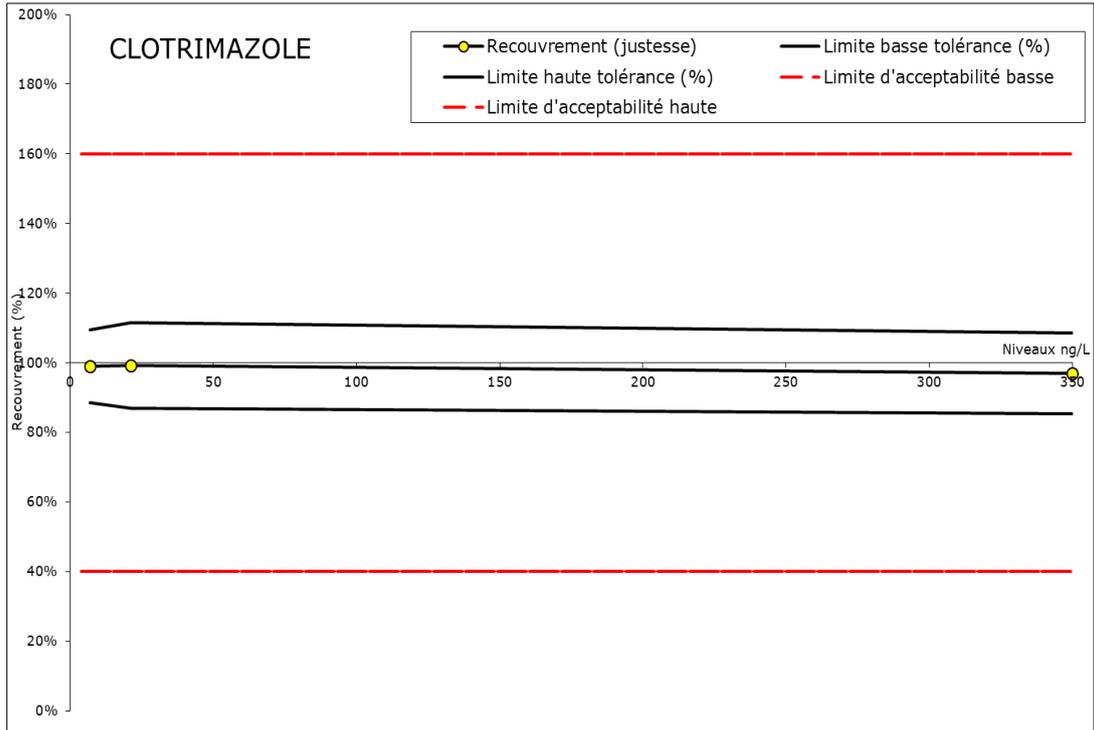
Elle prend en compte l'incertitude liée au biais et l'incertitude liée à la fidélité, ainsi qu'une composante liée à l'étude de stabilité. Elle est exprimée avec un facteur d'élargissement : $k=2$.

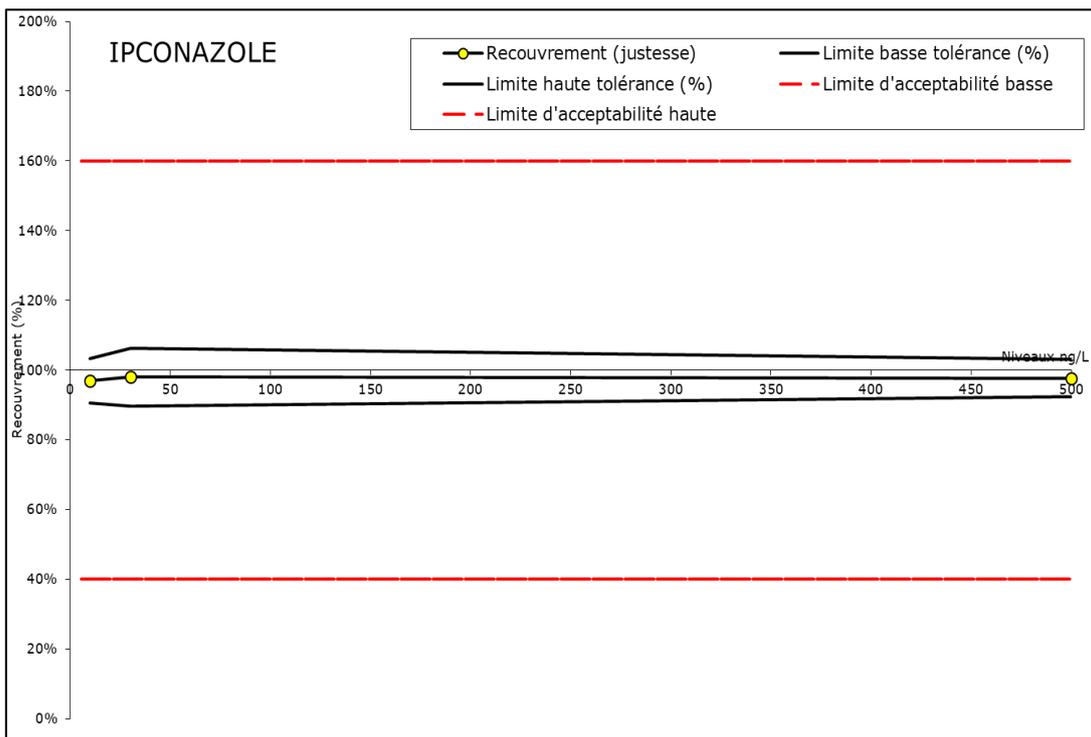
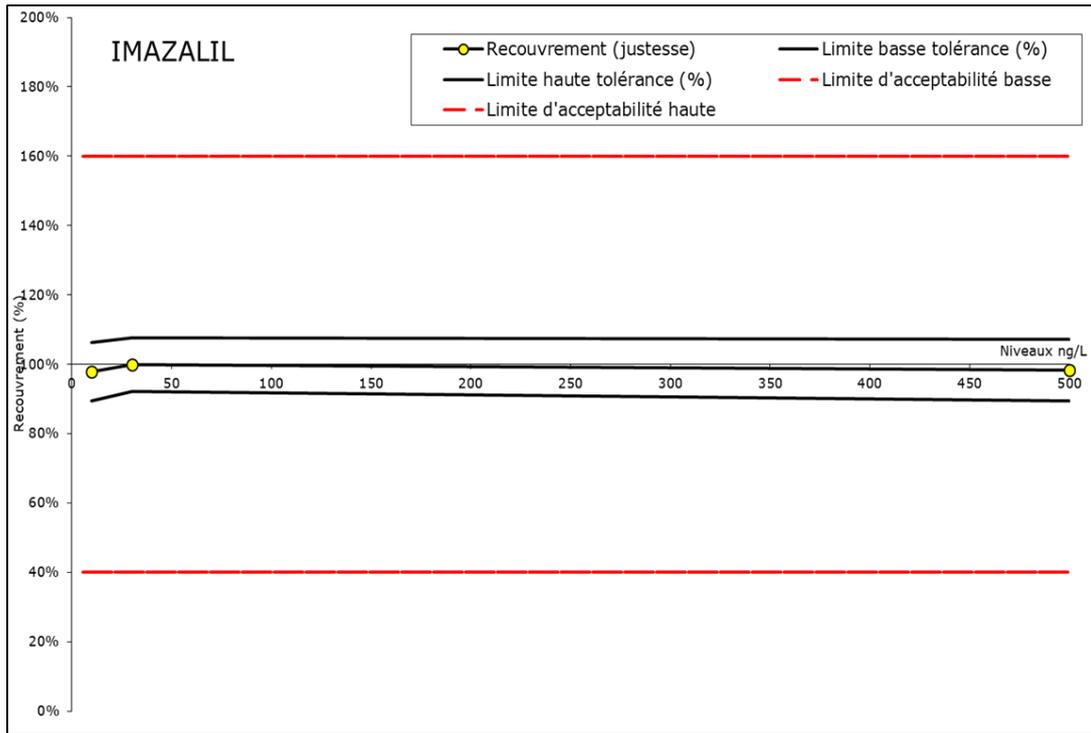
| par niveau de concentration

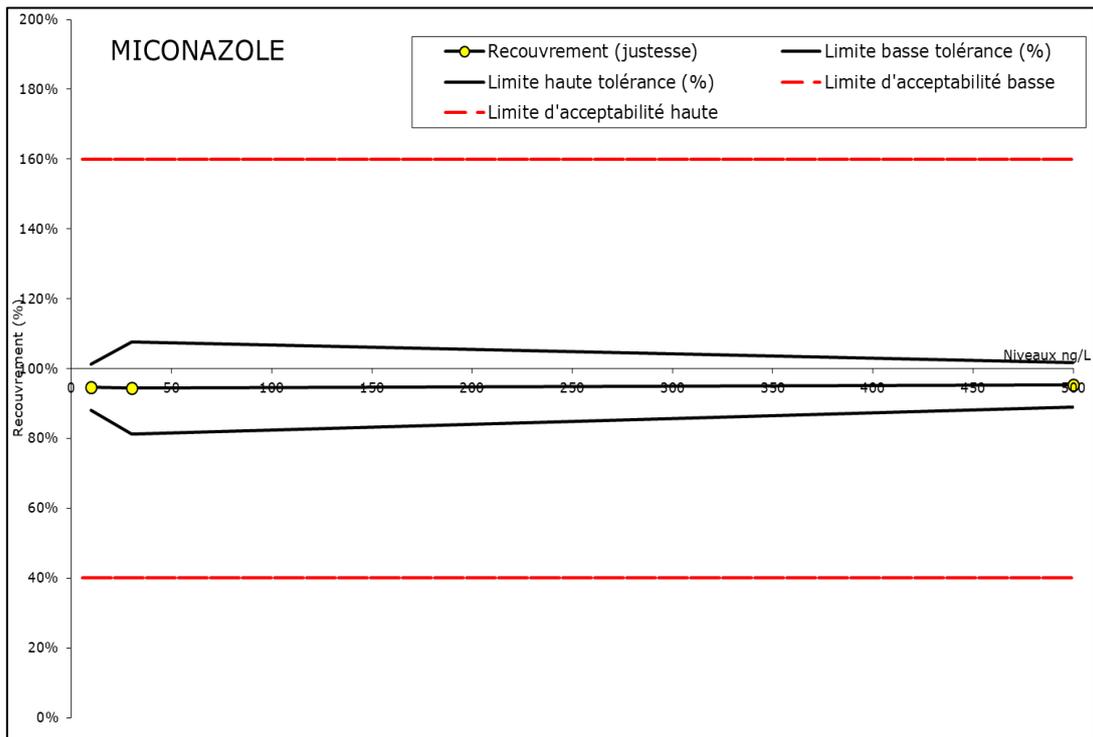
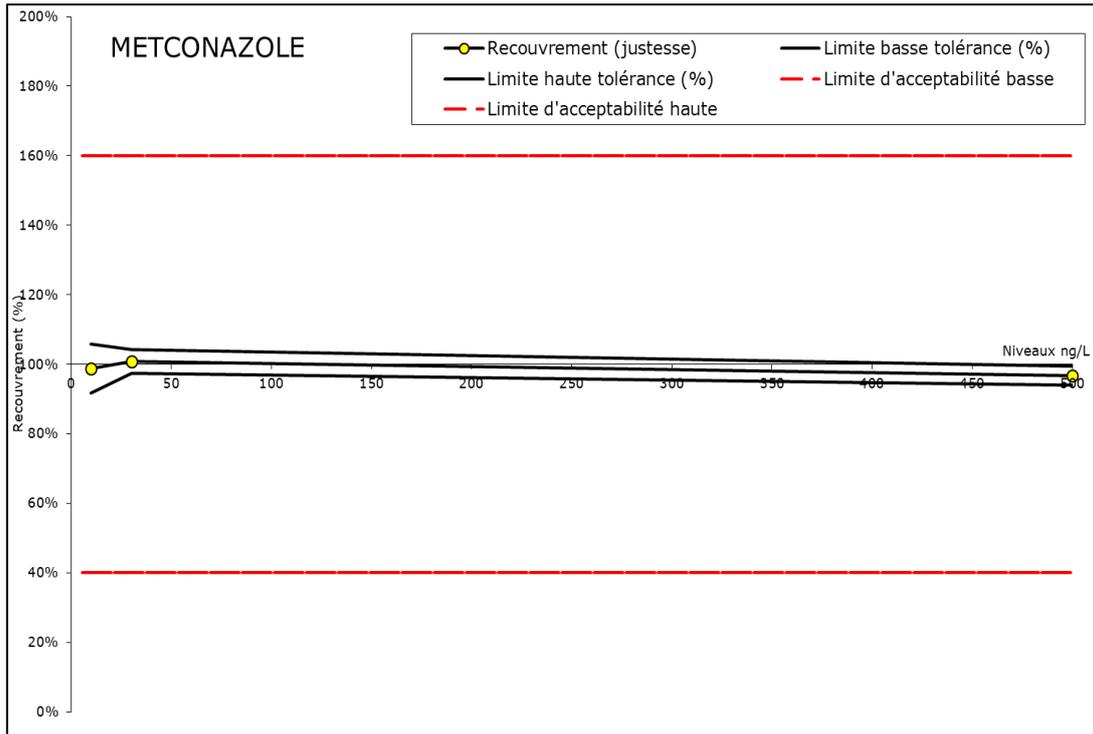
	n = 9		
	LQ	3xLQ	50xLQ
Métaflumizone	50%	50%	50%
Sulfaméthoxazole	20%	15%	15%
Clotrimazole	15%	15%	15%
Fluconazole	15%	10%	10%
Imazalil	15%	10%	10%
Ipconazole	10%	10%	10%
Metconazole	10%	10%	10%
Miconazole	20%	20%	15%
Penconazole	15%	15%	15%
Prochloraz	15%	15%	15%
Tebuconazole	10%	10%	10%
Tetraconazole	10%	10%	10%
Dimoxystrobine	20%	20%	20%
Famoxadone	45%	30%	20%
Venlafaxine	20%	15%	10%

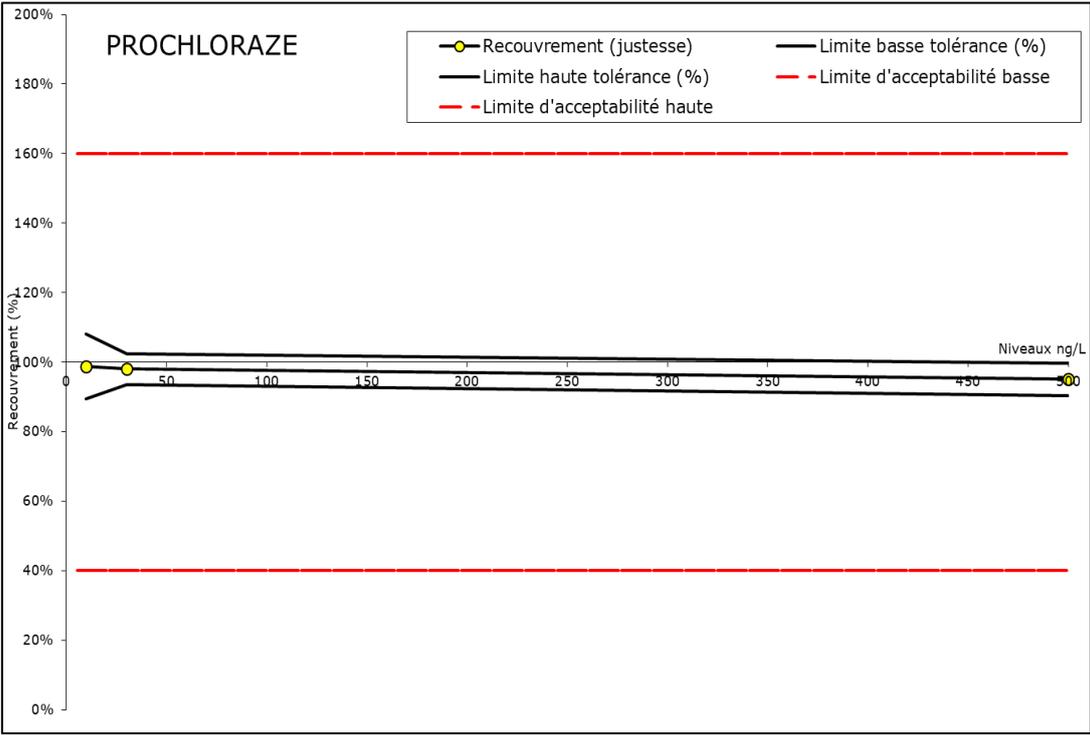
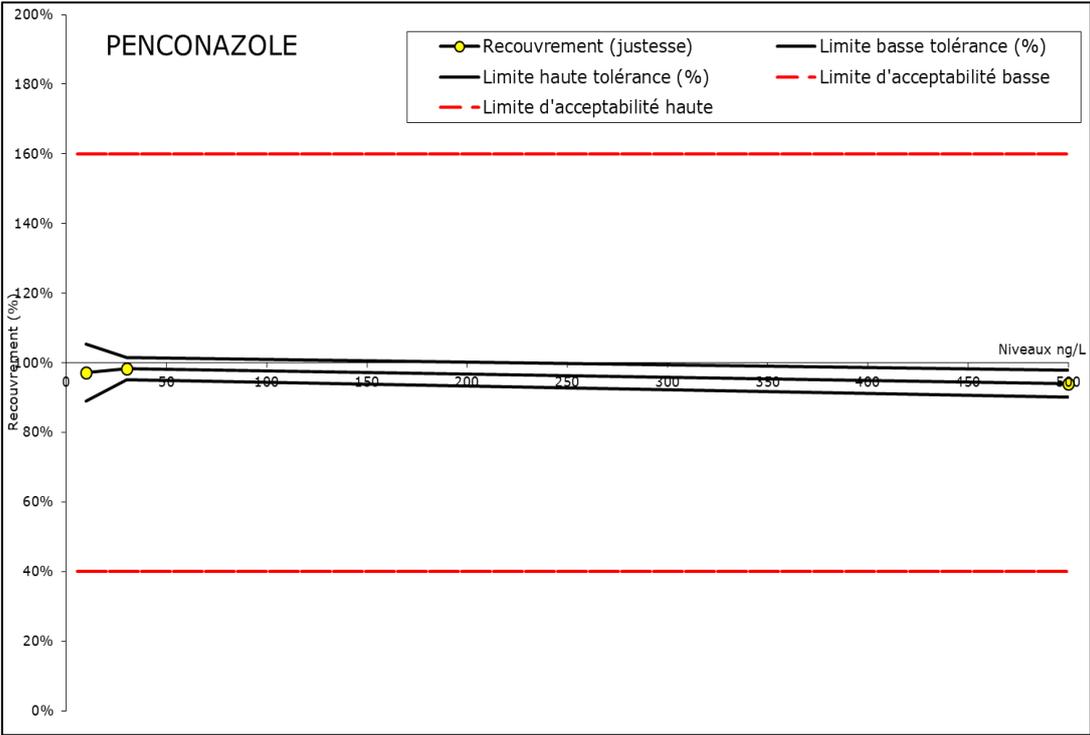
| par molécule
 Profil d'exactitude :

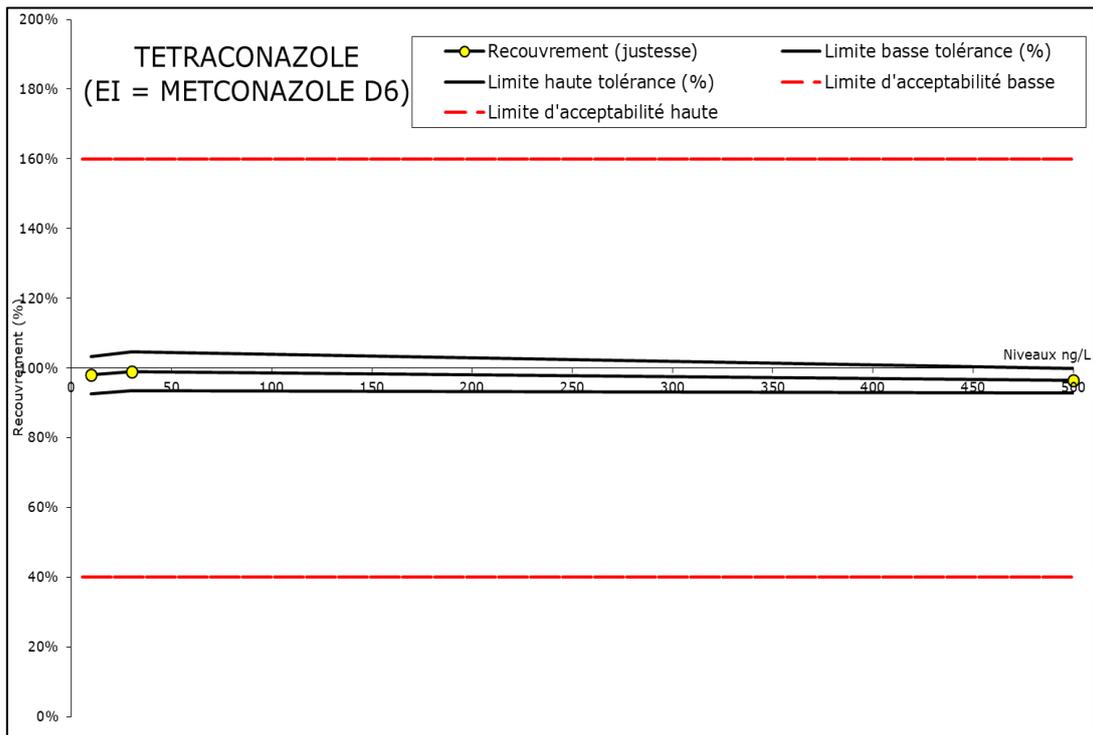
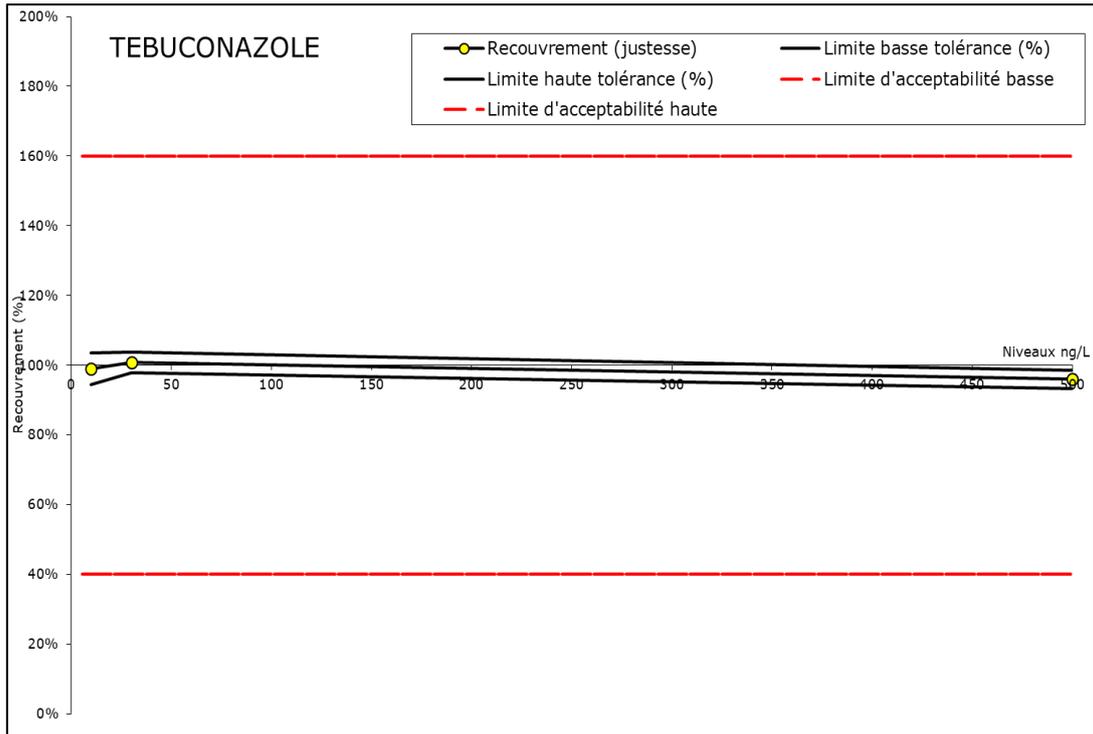


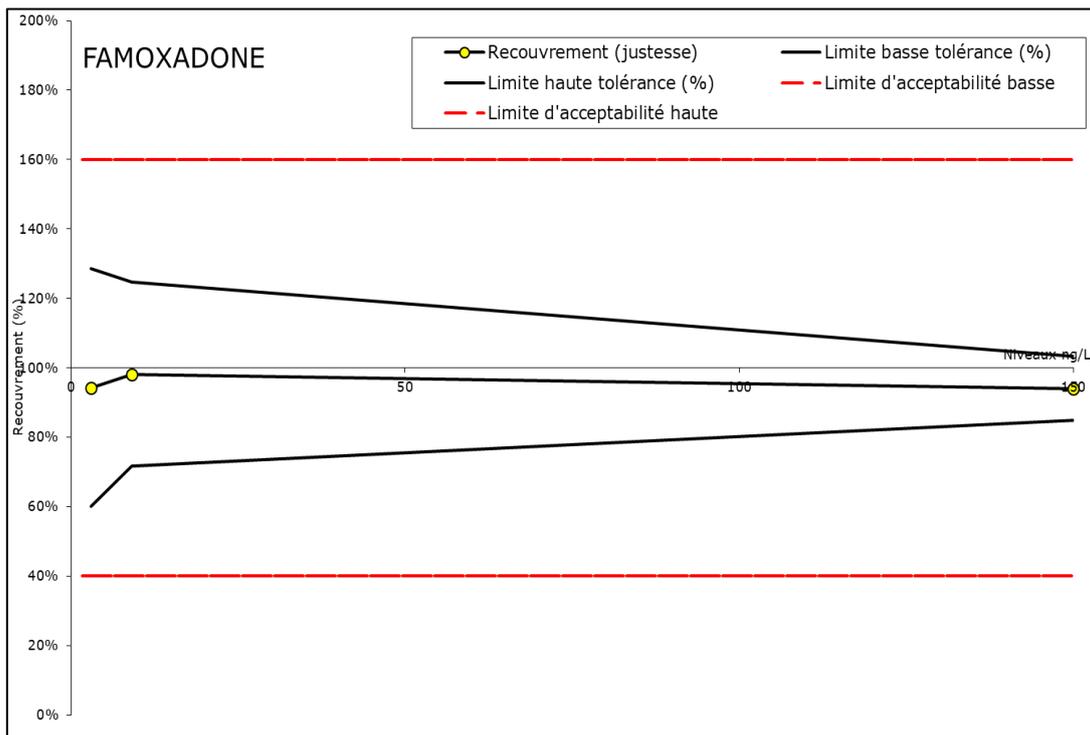
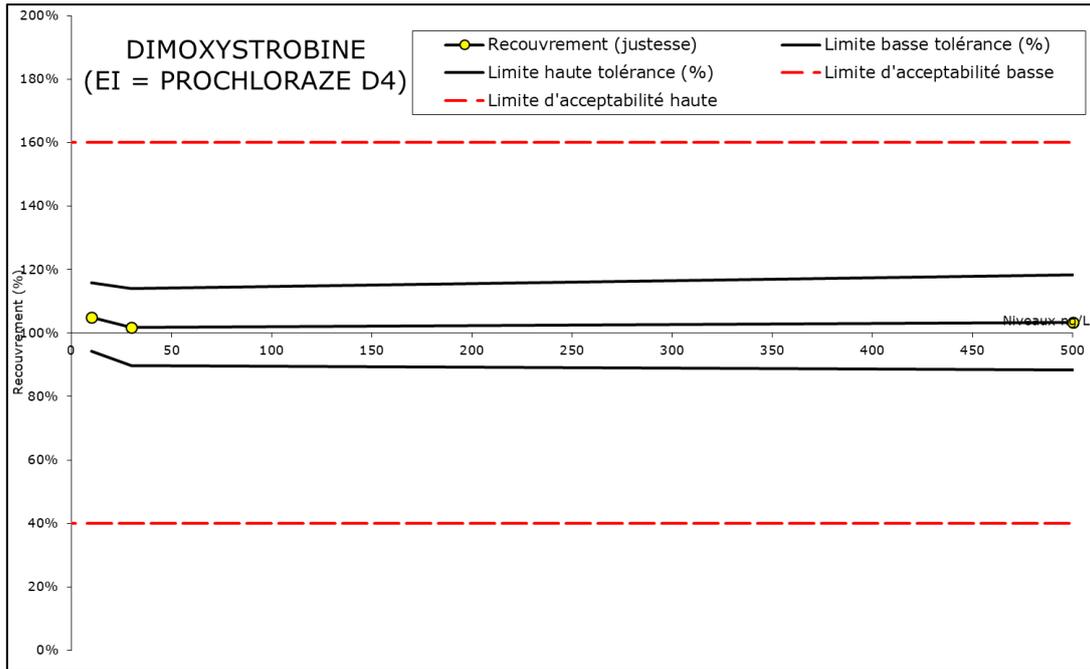


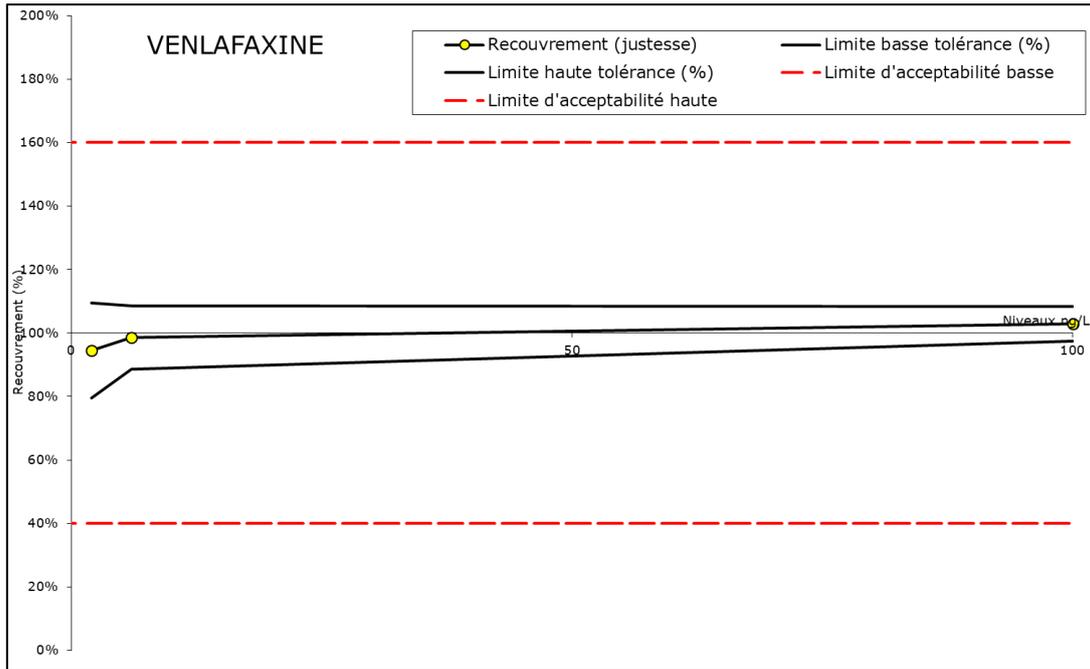












Contact

- **Auteur**
S. Bristeau (BRGM)
- **Contact**
s.bristeau@brgm.fr