

Novembre 2024

Réf. : MA-88.2

Avobenzone, azoxystrobine, benzophénone-3, diflufénican et octocrylène

Liste de vigilance 2024

Méthode d'analyse dans les eaux

Généralités.....	2
Protocole analytique.....	3
— Prétraitement.....	3
— Analyse.....	4
Références de la méthode.....	6
Paramètres de validation de la méthode.....	6
Contacts.....	9

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

Fongicides : Azoxystrobine

Herbicides : Diflufénican

Filtres UV : Benzophénone-3, Avobenzone, Octocrylène

▪ Nom des substances individuelles

- Azoxystrobine
- Diflufénican
- Benzophénone-3 (oxybenzone)
- Avobenzone (méthoxydibenzoylméthane de butyle)
- Octocrylène

▪ Code SANDRE des substances individuelles

Azoxystrobine	[1951]	Avobenzone	[8609]
Benzophénone-3	[8615]	Diflufénican	[1814]
Octocrylène	[6686]		

▪ Matrice analysée

Eau [3] :

- Eau douce de surface
- Eau souterraine

▪ Principe de la méthode

Extraction liquide-liquide 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.

▪ Acronyme : ELL/LC/MSMS

▪ Domaine d'application

Diflufénican : 3 à 150 ng/L

Azoxystrobine et Benzophénone-3 : 10 à 500 ng/L

Avobenzone : 30 à 1500 ng/L

Octocrylène : 40 à 2000 ng/L

La méthode est validée jusqu'à un seuil de 50 mg/L de matière en suspension (MES) et de 7 mg/L de carbone organique dissous (COD).

▪ Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse

/

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

/

▪ Interférents (préciser la matrice)

- Interférents identifiés : pas d'interférents identifiés lors des essais de validation
- Matrices testées : eaux de surface

NB : Pour l'ensemble des composés de la liste de vigilance 2024, consulter les fiches suivantes : MA88-1 (metformine et guanylurée), MA88-3 (azoxystrobine, clindamycine,

clotrimazole, o-desméthylvenlafaxine, diflufénican, dimoxystrobine, fipronil, fluconazole, metconazole, miconazole, octocrylène, ofloxacine, penconazole, prochloraze, tébuconazole, tétraconazole, triméthoprime, venlafaxine), MA85-1 (sulfaméthoxazole, clotrimazole, fluconazole, imazalil, ipconazole, metconazole, miconazole, penconazole, prochloraze, tébuconazole, tétraconazole, dimoxystrobine) et MA85-2 (clotrimazole, dimoxystrobine, famoxadone, fluconazole, imazalil, ipconazole, metconazole, miconazole, penconazole, prochloraze, , tébuconazole et tétraconazole).

Protocole analytique

— Prétraitement

▪ Fraction analysée

Eau :

- Eau brute [23]

▪ Conditionnement et conservation des échantillons

En respect des recommandations du JRC ISPRA pour la mise en œuvre de la Watch List au niveau des Etats Membres et des décisions prises au niveau national, aucune spécification de conditionnement/stabilisation n'a été mise en place. Cependant, une étude de stabilité a été réalisée.

| Protocole

Les échantillons sont conservés à l'obscurité à 4 ± 2 °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 à usage unique.

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

Les échantillons doivent subir la phase d'extraction dans les 48 heures après le prélèvement.

L'étude de la stabilité a été réalisée avec une eau superficielle naturelle (Loiret ; MES = 5 mg/L, COT = 4,4 mg/L) dopée à 500 ng/L avec tous les composés, et conservée à 4° C pendant 2 et 4 jours. La stabilité est vérifiée en comparant les concentrations à 2 et 4 jours à la concentration mesurée initialement, en prenant en compte l'incertitude de la méthode ($k = 1$). Tous les composés sont stables à 4 jours à l'exception de l'avobenzène, stable à 2 jours.

▪ Pré-traitement des échantillons liquides ou solides

Aucun pré-traitement n'est à effectuer.

— Analyse

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

Eau :

- Eau douce surface : 500 mL
- Eau souterraine : 500 mL

■ Extraction

| Liquide/Liquide

Ajuster l'échantillon à pH $3,0 \pm 0,1$ au pH-mètre avec de l'acide sulfurique dilué au $\frac{1}{2}$.

Ajouter 50 μ L du mélange des 5 étalons internes (solution à 2 mg/L dans l'acétonitrile de azoxystrobine D₄, benzophénone-3 D₅, diflufenican D₃, avobenzone ¹³C-D₃ et octocrylène ¹³C₃).

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 évaporer à sec). Ajouter 2,5 mL d'acétonitrile. Evaporer sous flux d'azote dans un bain marie à 30 °C jusqu'à 0,25 mL et transvaser dans un vial ambré.

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

| Réactifs utilisés

- Acide sulfurique (qualité ACS reagent, pureté 95-98%)
- Dichlorométhane
- Acétonitrile, eau, de qualité HPLC/MS/MS.

■ Conservation de l'extrait

L'extrait peut être conservé 2 jours à 4 ± 2 °C (délai supérieur non vérifié).

■ Volume ou masse finale avant analyse

0,5 mL en 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 μ m ; Waters), thermostatée à 50°C.

Volume d'injection : 2 μ L

Echantillon maintenu à 10 °C sur le passeur d'échantillons

Phase mobile :

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

Voie B : Acétonitrile 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

- **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 :

Composé	Tr (min)	ESI	Cone (V)	Q transition de quantification en uma (énergie de collision en eV)	q transition de qualification en uma (énergie de collision en eV)
Avobenzone	7,9	ESI+	25	311>161 (22)	311>135 (22)
Avobenzone 13CD3	7,9	ESI+	25	315>161 (22)	315>139 (24)
Azoxystrobine	5,6	ESI+	30	404>372 (15)	404>344 (26)
Azoxystrobine D4	5,6	ESI+	30	408>376 (15)	408>348 (26)
Benzophénone-3	6,1	ESI+	40	229>151 (18)	229>105 (19)
Benzophénone-3 D5	6,1	ESI+	40	234>151 (20)	234>110 (19)
Diflufénican	6,8	ESI+	50	395>266 (25)	395>246 (38)
Diflufénican D3	6,8	ESI+	50	398>268 (25)	398>248 (38)
Octocrylène	8,0	ESI+	15	362>250 (8)	362>232 (22)
Octocrylène 13C3	8,0	ESI+	15	365>253 (8)	365>235 (22)

▪ **Equipements¹ (modèles utilisés)**

-Chromatographe UPLC Acquity® (Waters)

- Spectromètre de masse en tandem (triple quadripôle) XEVO TQD® (Waters)

▪ **Type d'étalonnage**

Interne

▪ **Modèle utilisé**

Linéaire pondéré en 1/x

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

▪ Etalons / Traceurs utilisés

L'isotope marqué est utilisé comme étalon interne pour chaque composé.

Composé	Etalon interne
Azoxystrobine	Azoxystrobine D4
Benzophénone-3	Benzophénone-3 D5
Diflufénican	Diflufénican D3
Avobenzone	Avobenzone 13CD3
Octocrylène	Octocrylène 13C3

Une solution avec les 5 étalons internes est préparée à 2 mg/L dans l'acétonitrile. Un volume de 0,05 mL est ajouté dans 500 mL d'échantillon.

▪ Domaine de concentration

Étalonnage de 10 à 2000 µg/L pour avobenzone ; de 20 à 2000 µg/L pour octocrylène ; de 1 à 2000 µg/L pour les autres composés.

▪ Méthodes de calcul des résultats

Des contrôles qualité, blancs et échantillons dopés sont mis en œuvre à chaque série d'analyses

| Rendement :

- Les étalons internes marqués permettent de corriger les concentrations mesurées en tenant compte du rendement.

| Blancs :

- Matrice utilisée : eau de source embouteillée
- 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 adapté de NF T 90-210 (2018)

▪ Domaine de validation

Diflufénican : 3 à 150 ng/L

Azoxystrobine et benzophénone-3 : 10 à 500 ng/L

Avobenzone : 30 à 1500 ng/L

Octocrylène : 40 à 2000 ng/L

▪ Matériaux de référence utilisés

Pas de matériau de référence.

▪ Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)

Eau/acétonitrile (50:50, v:v) : concentration inférieure 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 (LQ, 3 x LQ et 50 x LQ) 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 3 mg/L de COD
- Evian® avec ajout de 7 mg/L de COD et 50 mg/L de MES

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

Rendement pour les eaux de surface :

	LQ	Rendement relatif moyen (%) et écart-type (n = 9)		
		Niveau 1 (LQ)	Niveau 2 (3 x LQ)	Niveau 3 (50 x LQ)
Azoxystrobine	10	105 (3)	101 (4)	104 (3)
Benzophénone-3	10	99 (9)	99 (8)	102 (10)
Diflufénican	3	96 (11)	98 (5)	100 (12)
Avobenzone	30	101 (7)	88 (8)	92 (6)
Octocrylène	40	96 (20)	94 (19)	94 (14)

▪ Limite de quantification (LQ) et limite de détection (LD)

La limite de quantification a été vérifiée par dopage dans 3 eaux, en triplicat (voir rendement).

$LD = LQ/3$

	LQ (ng/L) (n = 9)
Azoxystrobine	10
Benzophénone-3	10
Diflufénican	3
Avobenzone	30
Octocrylène	40

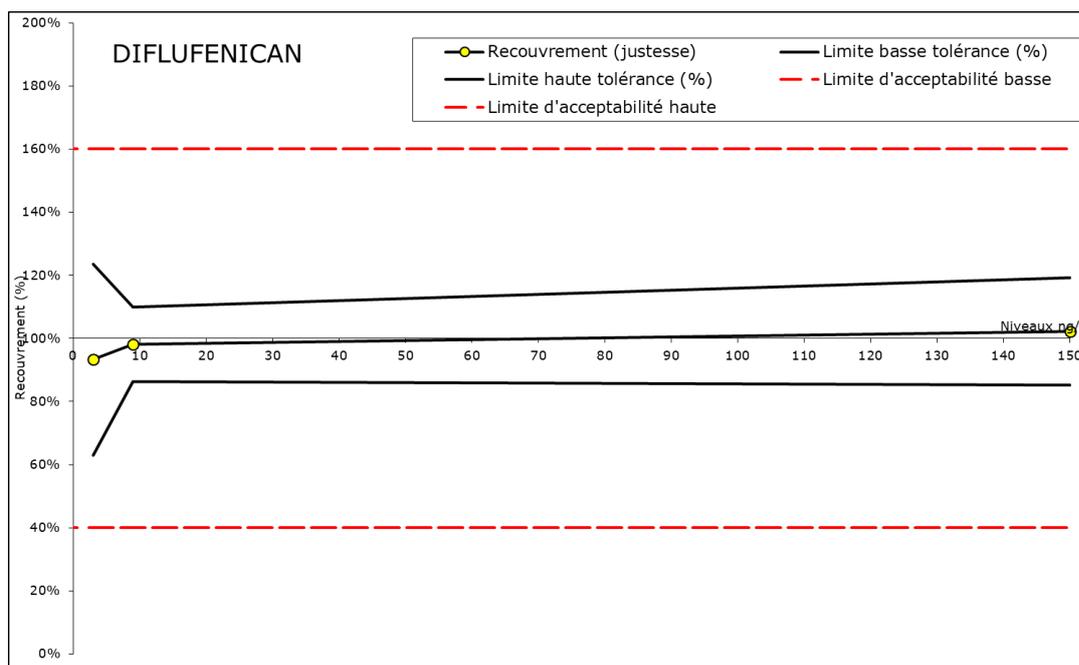
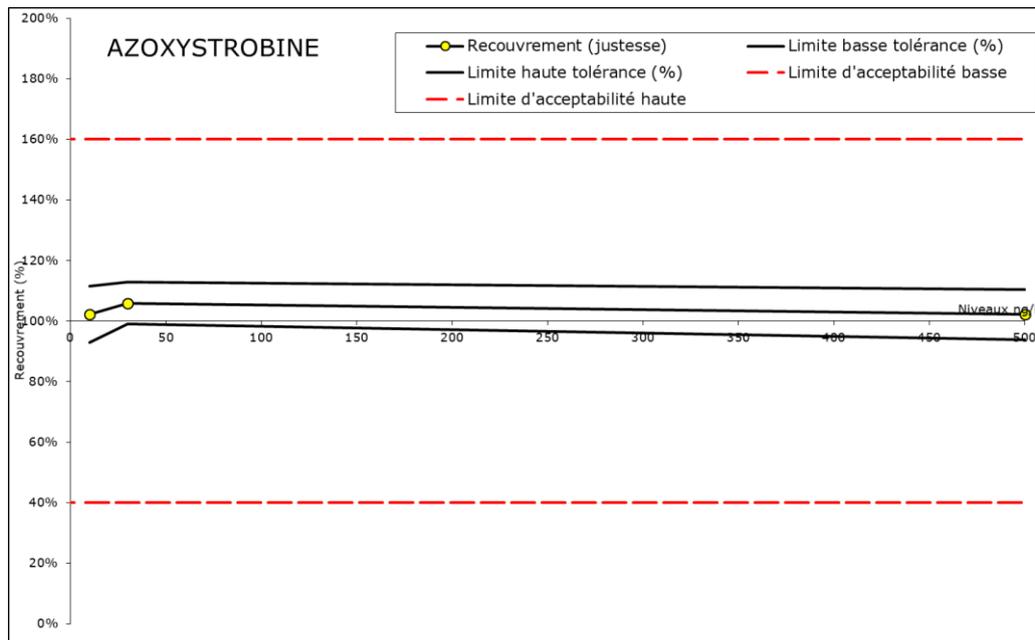
▪ Incertitudes (%) sur les résultats

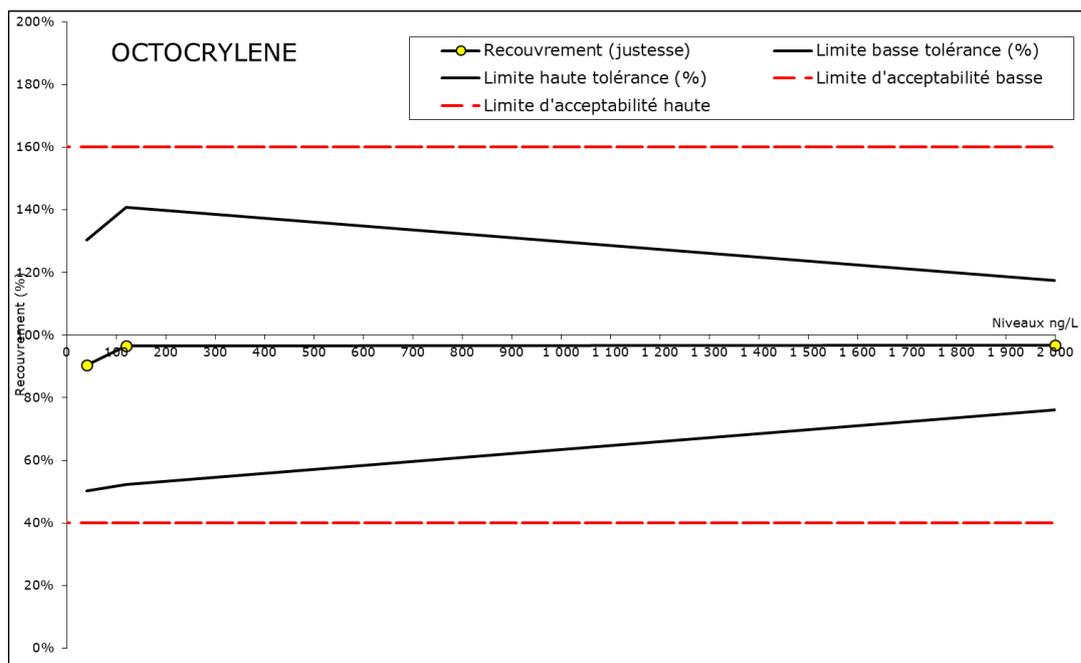
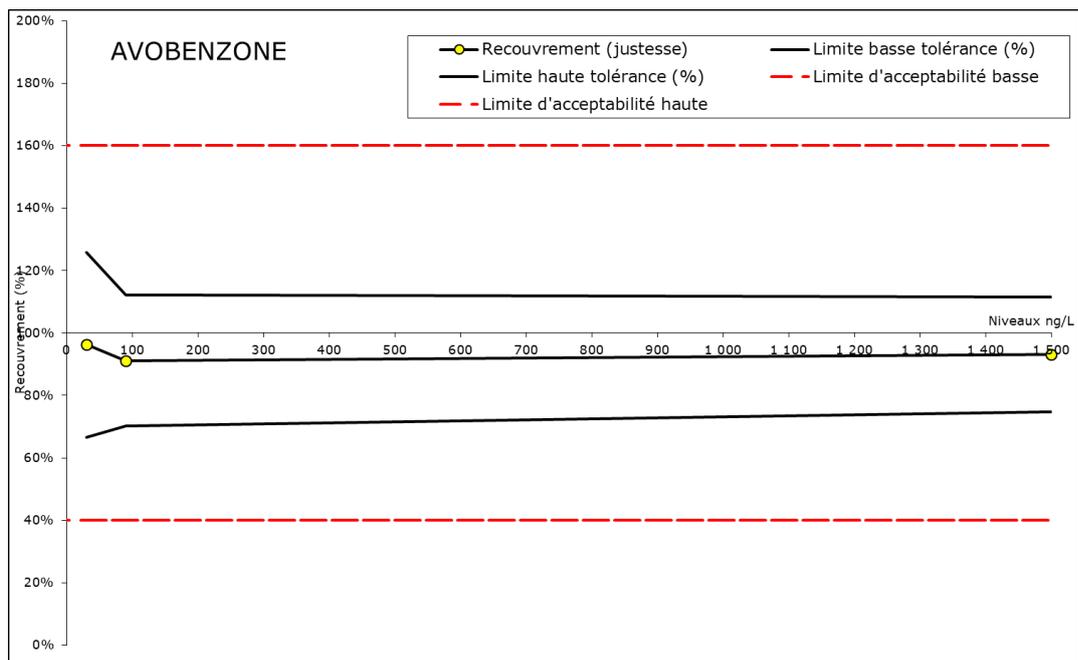
L'évaluation de l'incertitude est effectuée en utilisant la norme ISO 11352, lors de l'étude de rendement (ajout des composés dans 3 eaux avec réalisation de trois réplicats pendant 3 jours différents à 3 niveaux de concentration). Elle prend en compte l'incertitude liée au biais et l'incertitude liée à la fidélité.

Facteur d'élargissement : $k = 2$

	Incertitudes (%) (n = 9)		
	LQ	3 x LQ	50 x LQ
Azoxystrobine	15	15	10
Benzophénone-3	30	20	10
Diflufenican	40	15	15
Avobenzone	35	35	30
Octocrylène	50	50	25

Profil d'exactitude :





Contacts

- **Auteur**

Sébastien BRISTEAU (BRGM)

- **Contact**

s.bristeau@brgm.fr

- **Partenaire**

LNE