

RAPPORT FINAL

Convention ONEMA-LNE n° 1187/08 - Document DMSI/3 - Page 1/27 avec annexe(s)

Programme AQUAREF 2008

MISE A DISPOSITION D'UN MATERIAU DE REFERENCE CERTIFIE POUR LA DETERMINATION DES PESTICIDES DANS LES EAUX

Rédactrices : Véronique LE DIOURON, Béatrice LALERE

Février 2009

**La reproduction de ce document n'est autorisée que sous sa forme intégrale
Il comporte 27 pages**

Mise à disposition d'un matériau de référence certifié pour la détermination des pesticides dans les eaux

Titre : Mise à disposition d'un matériau de référence certifié pour la détermination des pesticides dans les eaux

Auteur : Laboratoire National de métrologie et d'Essais

Sujet (mots-clés) : matériaux de référence, pesticides, herbicides, étude de stabilité, essais inter laboratoires

Résumé : mise au point d'un matériau de référence de 10 herbicides dans l'eau avec son étude de stabilité, l'essai inter laboratoires de certification, et son conditionnement en ampoules et en cartouches. Ce MRC est proposé avec des concentrations inférieures aux valeurs NQE pour les 4 composés exigés par la DCE et avec des concentrations du même ordre de grandeur pour les autres composés.

Diffuseur : AQUAREF

Contributeurs :

Date de publication : 2009-02-01

Type : Texte

Format : .pdf

Identifiant :

Langue : FR

Couverture géographique :

Couverture temporelle :

Droits d'usage : domaine public

URL :

SYNTHESE

La détermination des pesticides dans les eaux a montré que les eaux de surface sont les plus affectées et que les pesticides interviennent dans près d'un quart des causes de non-conformité des eaux servant à l'alimentation des populations. Les concentrations de ces composés pouvant être inférieures au µg/L, les méthodes analytiques développées reposent sur une extraction/concentration des analytes, puis une séparation et une détection.

La directive cadre impose de définir les sources de contamination et d'en réduire les effets. Il devient donc indispensable de pouvoir comparer les résultats dans le temps et dans l'espace. Ce qui signifie qu'il est nécessaire de disposer de moyens de traçabilité des analyses réalisées par les laboratoires.

Les matériaux de référence certifiés (MRC) représentent un des outils permettant d'assurer cette traçabilité.

Le LNE s'est proposé de vérifier la stabilité au cours du temps d'un MRC d'herbicides (contenant dix composés dont quatre faisant partie de la Directive Cadre Eau, DCE) développé il y a quelques années au LNE afin de le mettre à disposition de la communauté scientifique française au travers d'AQUAREF et permettre aux laboratoires intéressés de s'évaluer et de valider leur protocole analytique.

Ce matériau de référence est constitué de :

- Deux ampoules contenant environ 1,2 ml d'une solution d'herbicides (atrazine, dééthylatrazine, deisopropylatrazine, simazine, terbutryne, terbutylazine, chlortoluron, linuron, diuron, et isoproturon) dans l'acétonitrile ;
- Trois cartouches de préconcentration sur lesquelles ont été percolées 250 ml d'eau de consommation dopée avec une solution d'herbicides dans l'acétonitrile.

Ce matériau est prévu pour l'étalonnage des appareils de mesure et/ou la validation des méthodes analytiques permettant la détermination des herbicides dans les eaux.

Les concentrations dans les ampoules sont exprimées en mg de composé par litre de solution.

Composé	N° CAS	Concentration (mg/l)	Incertitude élargie k=2 (mg/l)	Surveillance : Présence Liste DCE et NQE mg/l exigée Autre(s) liste(s)
Atrazine	1912-24-9	0,103	0,022	Oui – NQE-MA de 0,6
Deéthylatrazine	6190-65-4	0,098	0,034	Autre liste ²
Deisopropylatrazine	1007-28-9	0,089	0,025	Autre liste ²
Simazine	122-34-9	0,113	0,029	Oui – NQE-MA de 1,0
Terbutryne	886-50-0	0,122	0,039	Autre liste ¹
Terbutylazine	5915-41-3	0,099	0,044	Autre liste ²
Chlortoluron	15545-48-9	0,116	0,029	Autre liste ¹
Diuron	330-54-1	0,104	0,019	Oui – NQE-MA de 0,2
Isoproturon	34123-59-6	0,128	0,032	Oui – NQE-MA de 0,3
Linuron	330-55-2	0,112	0,038	Autre liste ¹

Les concentrations dans les cartouches sont exprimées en µg de composé par litre d'eau. Sur chaque cartouche, 0,25 l d'eau ont été percolés.

Composé	N° CAS	Concentration (µg/l)	Incertitude élargie k=2 (µg/l)	Surveillance : Présence Liste DCE et NQE mg/l exigée Autre(s) liste(s)
Atrazine	1912-24-9	0,395	0,088	Oui – NQE-MA de 0,6
Deéthylatrazine	6190-65-4	0,49	0,12	Autre liste ²
Deisopropylatrazine	1007-28-9	0,41	0,13	Autre liste ²
Simazine	122-34-9	0,36	0,11	Oui – NQE-MA de 1,0
Terbutryne	886-50-0	0,407	0,093	Autre liste ¹
Terbutylazine	5915-41-3	0,39	0,10	Autre liste ²
Chlortoluron	15545-48-9	0,39	0,11	Autre liste ¹
Diuron	330-54-1	0,39	0,12	Oui – NQE-MA de 0,2
Isoproturon	34123-59-6	0,50	0,12	Oui – NQE-MA de 0,3
Linuron	330-55-2	0,41	0,12	Autre liste ¹

¹ Liste des pesticides, tonnage vendu >500 t/an en Europe (choix fait en 2002), rapport IFEN voir [7]

² suite à l'interdiction de l'atrazine, la terbutylazine entre dans le mélange utilisé pour son remplacement. L'atrazine étant toujours détectée dans les eaux, deux de ses métabolites, la DEA et la DIA, ont été inclus.

Ce rapport a été réalisé au titre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2008 dans le cadre du partenariat ONEMA – LNE 2008, au titre de l'action 3.1 «Analyse et amélioration des pratiques des opérateurs (prélèvements et analyses)» du domaine «chimie AQUAREF».

Suite du rapport page suivante

SOMMAIRE

SYNTHESE	3
1. INTRODUCTION.....	6
2. MATERIAUX DE REFERENCE : NECESSITE ET CARACTERISTIQUES	6
2.1. NECESSITE.....	6
2.2. CARACTERISTIQUES	7
3.1. ETUDE DE FAISABILITE D'UN MRC	8
3.2. COMPORTEMENT DU MR LORS D'UN CIRCUIT INTER LABORATOIRES	11
3.3. PRODUCTION ET CERTIFICATION DU MATERIAU.....	11
3.3.1. <i>Préparation des matériaux</i>	11
3.3.2. <i>Homogénéité</i>	12
3.3.3. <i>Stabilité</i>	12
3.3.4. <i>Essai inter laboratoires</i>	13
3.3.5. <i>Certification</i>	15
3.3.6. <i>Conséquences</i>	17
4. MISE A DISPOSITION D'UN MRC POUR LA DETERMINATION DES PESTICIDES DANS LES EAUX DANS LE CADRE D'AQUAREF	18
4.1. MRC : HERBICIDES DANS LES EAUX	18
4.2. FABRICATION D'UN DEUXIEME MRC	19
5. CONCLUSION	20
ANNEXE	
1. DESCRIPTION DU MATERIAU DE REFERENCE ET UTILISATION PREVUE	24
2. INSTRUCTIONS D'UTILISATION.....	24
3. DATE DE CERTIFICATION ET PERIODE DE VALIDITE	25
4. VALEURS CERTIFIEES	25
5. PREPARATION	26

1. INTRODUCTION

Les perturbateurs endocriniens, molécules synthétisées ou naturelles, interfèrent avec le système hormonal et sont responsables de problèmes de fertilité, de problèmes de développement chez les enfants et de désordres métaboliques. Les pesticides font partie de ces substances dont la détermination est considérée comme prioritaire dans l'union européenne.

Les matériaux de référence représentatifs d'une matrice contenant les composés ciblés sont les seuls outils permettant de valider le protocole analytique et d'assurer la traçabilité des analyses. Si de tels matériaux existent pour certains composés organiques (HAP, PCB, COV...), il n'en existe pas pour la détermination des herbicides dans les eaux.

Disposer de tels matériaux, permet de répondre à une forte demande de la part des laboratoires de contrôle des eaux.

2. MATERIAUX DE REFERENCE : NECESSITE ET CARACTERISTIQUES

Les matériaux de référence certifiés (MRC) sont des outils nécessaires aux chimistes analytiques car ils permettent de vérifier la sélectivité d'une méthode ainsi que la justesse des analyses, et de valider les méthodes analytiques.

Les MRC peuvent être soit des composés dont la pureté est certifiée ou des solutions étalons certifiées, soit des matériaux de référence à matrice comme par exemple des boues, des sédiments, des tissus de poissons...contenant une quantité connue et certifiée de un ou plusieurs analytes à doser.

En effet, la concentration du contaminant recherché est bien définie et de plus, les effets « matrice » sont identiques à ceux des échantillons analysés.

2.1. Nécessité

La directive cadre eau (DCE) demande aux états membres de caractériser l'état actuel des eaux et de s'assurer, si nécessaire, à un bon retour à la qualité de celles-ci. Les décisions et les comparaisons qu'elles soient spatiales ou temporelles seront réalisées à partir de données, la plupart du temps numérique, comme les concentrations de contaminants dans les eaux.

Il est donc nécessaire de pouvoir fournir des valeurs fiables et comparer les données entre elles dans le temps et dans l'espace afin, par exemple, d'éviter tout litige éventuel entre mesures réalisées entre pays frontaliers. Il est alors nécessaire de s'assurer que les données fournies sont équivalentes et donc traçables métrologiquement, c'est à dire qu'elles sont reliées au système international d'unités via une méthode primaire (gravimétrie, dilution isotopique, utilisation de produits purs et/ou de matériaux de référence certifiés [1,2]).

Une analyse physico-chimique nécessite un prélèvement homogène du milieu étudié (par exemple, environ 500 g pour des eaux résiduaires), qui lui-même sera divisé en sous-échantillons nécessaires pour la détermination des différentes caractéristiques physico-chimiques (de 1 à 50 g par exemple). Ces sous échantillons peuvent éventuellement subir un traitement physique (broyage) ou chimique (attaque acide). Il est donc nécessaire de s'assurer que toutes ces étapes ne « dégradent » pas les analytes recherchés.

De plus, en parallèle à cette préparation, le système analytique nécessite un étalonnage à partir de solutions contenant l'analyte recherché à des concentrations définies. Une fois le modèle d'étalonnage construit, le signal obtenu pour l'échantillon permettra de définir sa concentration.

Il est donc nécessaire de disposer d'outils étalonnés et justes pour lesquels il n'existe pas de différence significative entre la valeur mesurée et la valeur vraie, qui permettent de vérifier l'ensemble du protocole analytique.

Ainsi, pour l'analyse des pesticides dans l'eau à l'état d'ultra traces, les étapes d'extraction peuvent représenter les deux-tiers du temps d'analyse et sont donc une source majeure de l'incertitude finale [3]. Les MRC sont nécessaires à la validation des étapes d'étalonnage ainsi qu'à la validation du protocole analytique complet .

2.2. Caractéristiques

Les MRC [6] sont définis comme des matériaux de référence, accompagnés d'un certificat, dont une (ou plusieurs) valeur de la propriété est certifiée par une procédure qui établit son raccordement à une réalisation exacte de l'unité dans laquelle les valeurs de la propriété sont exprimées et pour laquelle chaque valeur certifiée est accompagnée d'une incertitude à un niveau de confiance indiqué.

Ces matériaux doivent répondre à de nombreuses caractéristiques : homogénéité, stabilité dans le temps, valeur donnée avec son incertitude.

L'homogénéité est indispensable afin de s'assurer que quel que soit le flacon du matériau et quelle que soit la prise d'essai prélevée au sein d'un même flacon, les prises d'essai, en terme de matrice et de concentration d'analyte, soient identiques.

Préparer et qualifier un matériau demande un investissement en temps, homme et finance non négligeable. Il est donc très intéressant de pouvoir disposer d'un matériau dont toutes les caractéristiques physico-chimiques soient stables dans le temps (sur plusieurs années). De plus, pour un laboratoire ayant mis en place une carte de contrôle sur un MRC défini, il serait dommage qu'il perde l'information acquise par l'obligation de changer de MRC tous les mois.

La valeur associée à une caractéristique physico-chimique n'est pas une valeur exacte mais un ensemble de valeurs probables, caractérisées par une valeur moyenne associée à une incertitude.

De plus, il est très important d'avoir une bonne adéquation entre le MRC et la matrice analysée. En effet, lors d'une analyse, il est possible d'avoir des composés qui interfèrent, c'est-à-dire qui diminuent ou exaltent le signal de l'analyte recherché. Ceux-ci sont présents dans un milieu donné et absents dans d'autres. Il n'est donc pas judicieux d'utiliser un MRC d'eau souterraine pour valider une méthode portant sur des eaux résiduaires.

3. DEVELOPPEMENT D'UN MATERIAU DE REFERENCE POUR L'ANALYSE DES HERBICIDES DANS LES EAUX

Comme nous l'avons vu précédemment, il est important de valider une méthode d'analyses en utilisant un MRC dont la matrice est la plus proche possible de celle analysée. Pour les pesticides, de nombreuses études ont mis en évidence le manque de stabilité de ces composés en solution dans l'eau pour une période relativement longue (quelques années), alors qu'un MRC doit avoir une durée de validité de quelques années. Il est donc parfois nécessaire, comme dans cette étude, de trouver un autre support que la matrice de l'échantillon pour conserver les analytes ainsi que les interférents liés à l'eau.

3.1. Etude de faisabilité d'un MRC

Les composés suivants, appartenant à deux familles de pesticides, ont été sélectionnés :

- les triazines : atrazine, déisopropylatrazine (DIA), dééthylatrazine (DEA), simazine, terbutylazine et terbutryne.
- les phénylurées : chlortoluron, diuron, isoproturon et linuron.

Réalisé en 2002, ce choix, sauf pour la terbutylazine et la DIA, repose sur la fréquence de détection de ces triazines et phénylurées dans les eaux [7]. De plus, ils sont répertoriés dans la liste des cinquante pesticides vendus dans des quantités supérieures à 500 tonnes par an en Europe. La terbutylazine, suite à l'interdiction de l'emploi de l'atrazine, entre dans le mélange utilisé pour son remplacement sur les cultures de maïs et a donc été ajouté. Malgré son interdiction d'emploi, l'atrazine reste toujours détectée dans les eaux ; de ce fait, deux de ses métabolites, la DEA et la DIA ont été inclus dans cette étude.

Afin de réaliser un kit le plus complet possible, deux types de matériaux de référence (MR) ont été retenus :

- des ampoules scellées : les pesticides ciblés sont stockés :
 - ☞ en solution dans l'acétonitrile,
 - ☞ à sec après évaporation du solvant ayant permis leur préparation.

- des cartouches d'extraction : Un échantillon d'eau dopée par les composés d'intérêt est percolé sur un support SPE (Solid Phase Extraction) afin d'y retenir ceux-ci avec d'autres constituants de l'échantillon. Deux supports polymériques ont été évalués : un copolymère de divinylbenzène fonctionnalisé par des groupements de N-vinylpyrrolidone (Oasis HLB, Waters) et un copolymère de polystyrène divinylbenzène (ENVI Chrom P, Supelco). Les laboratoires d'analyse devront donc réaliser l'élution des composés.

Ces matériaux ont été préparés à deux niveaux de concentration, ciblés par rapport à la réglementation (0,15 µg/l pour une eau potable et 0,50 µg/l pour une eau de surface) puis ils ont été stockés sous différentes conditions de température : Tambiante, T=0,5°C et T=-18°C pendant un an. Tous les mois, l'évolution de la concentration des composés a été étudiée par l'analyse du contenu des ampoules et des cartouches.

La présentation détaillée des résultats pour chaque composé, chaque type de matériau et chaque condition de stockage a fait l'objet d'une publication [8]. Entre le début et la fin de l'étude, l'évolution a été quantifiée en pourcentage de quantité retrouvée par rapport à celle initialement présente (taux de récupération). Pour résumer, les composés ont été classés selon trois familles de comportement :

- famille non exploitable (figure 1) : soit les composés ont été totalement dégradés ou leurs taux de récupération au bout des neuf mois d'étude sont inférieurs à 10% ;
- famille à tendance (figure 2): la concentration des composés évolue dans le temps ;
- famille sans tendance (figure 3) : la concentration des pesticides n'évolue pas significativement dans le temps.

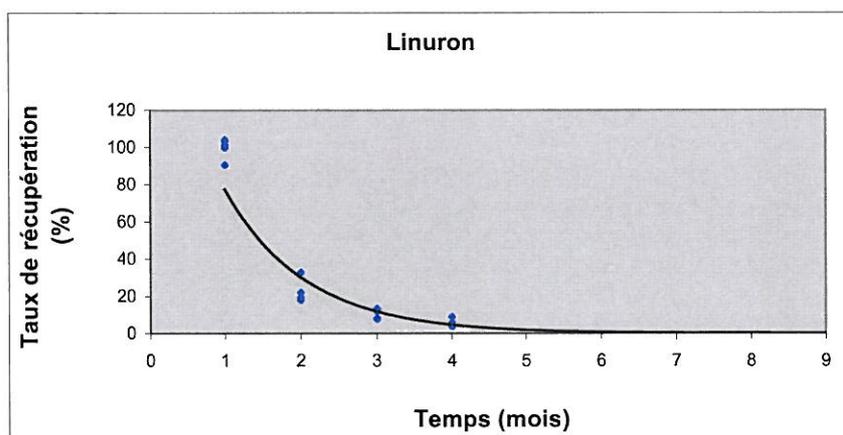


Figure 1 : Exemple « famille non exploitable » : Linuron stocké en ampoule après évaporation à sec et conservation à température ambiante

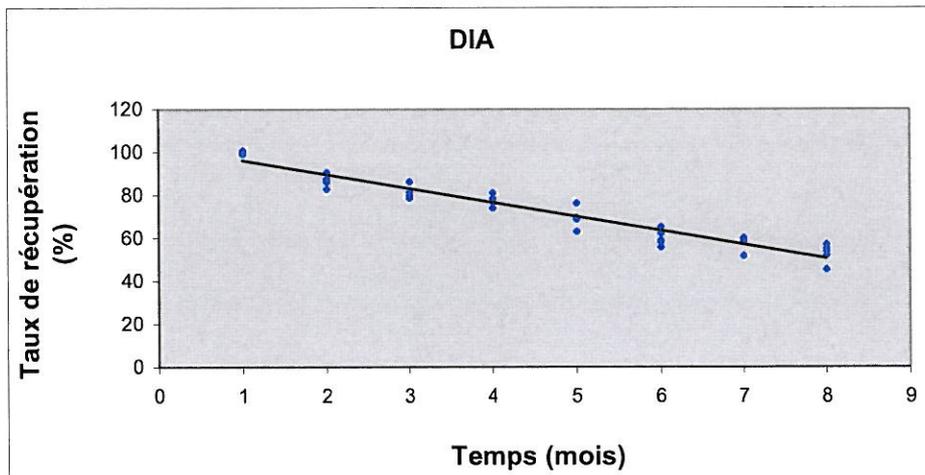


Figure 2 : Exemple « famille à tendance » DIA stockée en ampoule après évaporation à sec et conservation à température ambiante

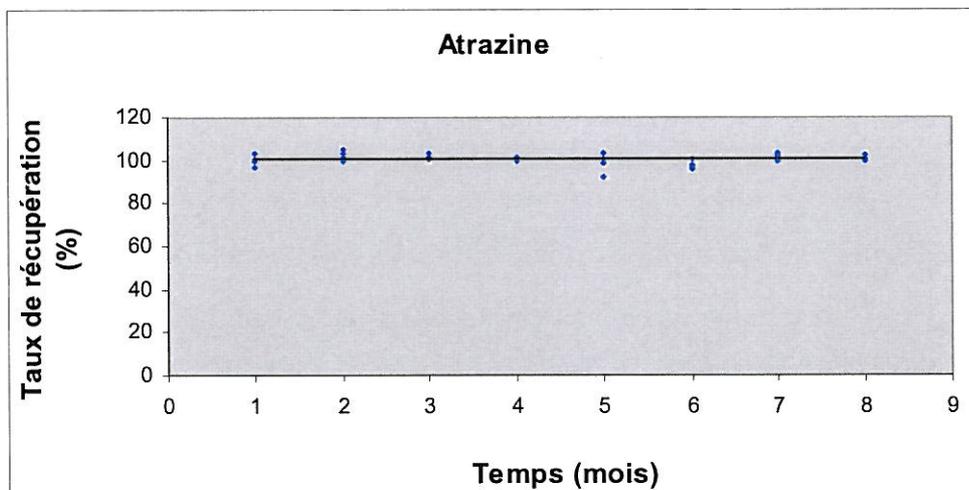


Figure 3 : Exemple « famille sans tendance » Atrazine stockée en ampoule après évaporation à sec et conservation à T= - 18°C

L'ensemble des résultats a montré que les composés sont stables lorsqu'ils sont en solution dans l'acétonitrile dès la température ambiante, alors qu'il est nécessaire de les stocker à -20 °C lorsqu'ils sont à sec dans une ampoule. Lorsqu'ils sont fixés sur les cartouches, la température de stockage doit être inférieure à 0,5 °C. Les comportements observés sont identiques quel que soit le niveau de concentration.

Le MR retenu a donc été un kit comprenant :

- des ampoules contenant les pesticides en solution dans l'acétonitrile,

- des cartouches (Oasis HLB, Waters) traitées par percolation d'une eau potable contenant les pesticides sélectionnés.

Par précaution, ils seront stockés à - 20°C.

3.2. Comportement du MR lors d'un circuit inter laboratoires

Afin de tester les conditions d'utilisation du MR (conditions d'envoi, réception et analyse avec différentes méthodes), un essai inter laboratoires, impliquant une quinzaine de participants, a été organisé [9].

Les coefficients de variation des deux composants du matériau testé varient entre 14 et 30 % selon les composés, ce qui pour un circuit impliquant des laboratoires utilisant des méthodes différentes est très satisfaisant en comparaison à d'autres campagnes [10,11].

Au vu de l'ensemble des résultats (faisabilité et essai inter laboratoires), une campagne de certification a alors été réalisée.

3.3. Production et certification du matériau

Ce matériau de référence, sous forme d'un kit est constitué de :

- deux ampoules contenant environ 1,2 ml d'une solution d'herbicides (atrazine, dééthylatrazine, désisopropylatrazine, simazine, terbutryne, terbutylazine, chlortoluron, linuron, diuron, et isoproturon) dans l'acétonitrile (concentration pour chaque pesticide ≈ 0,1 mg/l) ;
- trois cartouches de préconcentration sur lesquelles ont été percolées 250 ml d'eau de consommation dopée avec une solution d'herbicides dans l'acétonitrile de manière à atteindre une concentration d'environ 0,50 µg/l de chaque composé dans l'eau.

Ce matériau est destiné à l'étalonnage des appareils de mesure et/ou à la validation des méthodes analytiques permettant la détermination des herbicides dans les eaux.

3.3.1. Préparation des matériaux

La préparation des matériaux a nécessité la réalisation de solutions multi-composés par dilutions successives après mise en solution des composés purs.

Après préparation, la solution est mise dans des ampoules qui sont scellées aussitôt par un verrier.

Pour les cartouches, 180 litres d'eau du robinet ont été prélevés le même jour. Avant passage sur cartouche selon le protocole décrit ci-après, 5 l d'eau sont dopés avec 5 ml de solution de pesticides.

Les cartouches sont d'abord conditionnées avec 3 ml d'acétonitrile, 3 ml de méthanol, 3 ml d'eau puis 250 ml d'eau dopée sont percolés. Des étapes de rinçage à l'eau et de séchage sous flux d'azote sont ensuite réalisées avant de les stocker dans des conditions particulières (à l'abri de la lumière et à une température inférieure à -15°C). Toutes ces étapes ont été réalisées avec le robot ASPEC IV (GILSON).

Il a été vérifié au préalable que le scellement des ampoules n'altérerait pas la solution mise à l'intérieur et que la fiabilité du robot était suffisante pour garantir une bonne homogénéité des cartouches.

Les préparations des ampoules et des cartouches ont nécessité respectivement 3 jours et trois semaines.

Quatre cent cinquante ampoules scellées et six cents cartouches ont été produites.

3.3.2. Homogénéité

L'homogénéité a été vérifiée sur deux séries de dix ampoules et dix cartouches (Tableau 1).

Composé	Ampoules CV (%)	Cartouches CV (%)
Atrazine	1,2	0,9
Deéthylatrazine	1,4	0,7
Deisopropylatrazine	1,1	3,2
Simazine	1,5	0,9
Terbutryne	1,3	1,4
Terbutylazine	0,9	1,2
Chlortoluron	1,4	2,9
Diuron	1,4	1,3
Isoproturon	1,2	0,6
Linuron	1,3	1,6

Tableau 1 : Homogénéité des ampoules et cartouches

3.3.3 Stabilité

Tout au long de la durée de vie du matériau, des analyses sont réalisées chaque mois, pendant la première année, puis tous les six à douze mois. Lors de la première année et conformément à l'étude de faisabilité il n'a pas été mis en évidence d'évolution significative des concentrations comme le montrent à titre d'exemple les figures 4 et 5.

Suite du rapport page suivante

Laboratoire	Techniques analytiques	
Bouisson Bertrand Laboratoires	CPL – SM ² (67 % des participants)	
MMA/APO		
BRGM ORLEANS		
CTCPA		
Département de l'Économie et de la Santé (DES) Service de Protection de la Consommation (SPCo) - Genève		
IANESCO		CPL – UV (28 % des participants)
Institut Départemental d'Analyse et de Conseil		
Pôle Organique de l'INERIS		
ISSeP (Institut de Scientifique de Service Public) - Belgique		CPG – TSD (5 % des participants)
LECA / ESPCI		
LDA 22		
Laboratoire Départemental D'Analyses de la Drôme		
Laboratoire national de métrologie et d'essais (LNE)		
Micropolluants Technologie		
Nestlé Waters MT Laboratoire chimie - PTC Waters		
Pôle Analytique des Eaux /LABO/CEE Plouzané		
SGS Multilab – Laboratoire de l'Essonne		

*CPG : chromatographie en phase gazeuse,
 CPL : chromatographie en phase liquide,
 SM² : spectrométrie de masse en tandem,
 TSD : détecteur thermoionique,
 UV : absorption UV.*

Tableau 2 : Laboratoires ayant participé à l'essai de certification et les techniques mises en œuvre

Suite du rapport page suivante

3.3.5. Certification

A partir des résultats des laboratoires, l'exploitation statistique a été réalisée en s'appuyant sur les normes d'exploitation des essais interlaboratoires NF ISO 5725-2[6] et NF ISO 5725-5[7]. La première phase a été de détecter à partir de tests statistiques d'homogénéité (Grubbs et Cochran) les valeurs aberrantes. L'exclusion de certaines données s'est appuyée sur l'adéquation des conclusions statistiques et techniques. La deuxième phase, à partir des résultats retenus, a été de quantifier les paramètres résumant au mieux le MR, la moyenne et l'écart-type de reproductibilité. Les résultats de ce traitement sont résumés dans les tableaux 3 et 4.

Composé	A	B	C	D
Atrazine	14	-	-	14
Deéthylatrazine	14	-	-	14
Deisopropylatrazine	14	N	-	13
Simazine	14	-	-	14
Terbutryne	13	C, K	-	11
Terbutylazine	14	-	-	14
Chlortoluron	15	-	-	15
Diuron	15	-	-	15
Isoproturon	15	-	-	15
Linuron	15	-	-	15

*A : nombre de laboratoires ayant fourni des résultats,
 B : laboratoires éliminés par test d'homogénéité des variances,
 C : laboratoires éliminés par test d'homogénéité des moyennes,
 D : nombre de laboratoires conservés pour la certification.*

Tableau 3 : Données statistiques pour les ampoules

Composé	A	B	C	D
Atrazine	15	-	-	15
Deéthylatrazine	15	-	-	15
Deisopropylatrazine	15	-	-	15
Simazine	15	-	-	15
Terbutryne	14	-	-	14
Terbutylazine	15	-	-	15
Chlortoluron	16	-	-	16
Diuron	16	-	-	16
Isoproturon	16	-	-	16
Linuron	16	-	-	16

*A : nombre de laboratoires ayant fourni des résultats,
 B : laboratoires éliminés par test d'homogénéité des variances,
 C : laboratoires éliminés par test d'homogénéité des moyennes,
 D : nombre de laboratoires conservés pour la certification.*

Tableau 4 : Données statistiques pour les cartouches

La valeur assignée au MRC est la moyenne des résultats des laboratoires et l'incertitude-type est donnée par l'écart-type de reproductibilité. Cette incertitude correspond à l'incertitude sur le résultat d'une analyse de ce MRC réalisée par un laboratoire travaillant dans les mêmes conditions qu'un des laboratoires du circuit. Les tableaux 5 et 6 regroupent les valeurs certifiées du MRC.

Composé	Concentration (mg/l)	Incertaince élargie k=2 (mg/l)
Atrazine	0,103	0,022
Deéthylatrazine	0,098	0,034
Deisopropylatrazine	0,089	0,025
Simazine	0,113	0,029
Terbutryne	0,122	0,039
Terbutylazine	0,099	0,044
Chlortoluron	0,116	0,029
Diuron	0,104	0,019
Isoproturon	0,128	0,032
Linuron	0,112	0,038

Tableau 5 : Valeurs certifiées pour les ampoules

Les concentrations dans les cartouches sont exprimées en µg de composé par litre d'eau. Sur chaque cartouche, 0,25 l d'eau ont été percolés.

Composé	Concentration (µg/l)	Incertaince élargie k=2 (µg/l)
Atrazine	0,395	0,088
Deéthylatrazine	0,49	0,12
Deisopropylatrazine	0,41	0,13
Simazine	0,36	0,11
Terbutryne	0,407	0,093
Terbutylazine	0,39	0,10
Chlortoluron	0,39	0,11
Diuron	0,39	0,12
Isoproturon	0,50	0,12
Linuron	0,41	0,12

Tableau 6 : Valeurs certifiées pour les cartouches

Afin de pouvoir répondre aux besoins des laboratoires d'analyse, un matériau de référence certifié pour l'analyse des herbicides dans les eaux, se présente sous forme de kit :

- deux ampoules scellées contenant les composés en solution dans l'acétonitrile, qui peuvent servir à la vérification de l'étalonnage ou bien au dopage d'eaux constituant des matrices complexes ;
- trois cartouches sur lesquelles a été percolée une eau contenant les composés et qui représentent un échantillon réel.

De la conception à la certification de ce matériau de référence, ce travail a nécessité 5 années d'étude. De plus, ce MRC est en conformité avec le guide ISO 34 qui spécifie les conditions de production, de conservation de l'échantillon et de stabilité.

3.3.6. Conséquences

L'exploitation statistique des résultats des essais inter laboratoires a permis de mettre en évidence que quel que soit le composé, les laboratoires experts ayant participé à cette certification, présentent des répétabilités (dispersion des résultats de l'analyse d'un même échantillon au sein d'un même laboratoire) du même ordre de grandeur, et ce quel que soit le composé étudié (tableau 7).

Composé	Ampoules Répétabilité (%)	Ampoules Reproductibilité (%)	Cartouches Répétabilité (%)	Cartouches Reproductibilité (%)
Atrazine	5,5	10,7	4,8	12,3
DEA	6,7	17,2	9,9	17,4
DIA	4,9	13,9	7,3	17,6
Simazine	3,9	12,9	5,3	14,7
Terbutryne	2,8	16,2	6,1	13,1
Terbutylazine	6,1	22,2	4,7	14,1
Chlortoluron	6,5	12,5	6,3	15,2
Diuron	4,7	9,2	7,4	17,3
Isoproturon	6,8	12,4	9,4	17,1
Linuron	7,0	17,2	7,1	17,5

Tableau 7 : Répétabilité et reproductibilité observées lors de la campagne de certification

Par contre, concernant la reproductibilité, une dispersion plus importante peut être observée et en particulier pour les ampoules. Ceci met en évidence que pour la détermination des herbicides et en particulier lorsque ceux-ci sont en solution, la dispersion des résultats est très dépendante des laboratoires dans lesquels sont réalisées les analyses. Cette dispersion pourrait être due à un biais instrumental mais dans ce cas, la reproductibilité observée, sur les cartouches et les ampoules, pour chaque molécule devrait être du même ordre de grandeur. Or ce n'est pas le cas.

Nous pensons que ces observations sont dues au fait que pour les cartouches un protocole strict d'éluion avait été fourni au laboratoire, alors que pour les solutions les laboratoires étaient libres d'appliquer la préparation de leur choix, ce qui s'est traduit par une injection directe pour certains, un changement de solvant pour d'autres ainsi que des dilutions.

De plus, au vu de ces résultats (reproductibilité élevée), certains herbicides, comme par exemple la terbutylazine, sembleraient présenter des difficultés lors de leur détermination.

Les laboratoires experts ayant participé à cette étude sont pour la majorité des laboratoires accrédités pour ce type d'analyse (neuf sur seize). Lors de l'exploitation des résultats, il est apparu que les laboratoires écartés pour une inhomogénéité de variance ou pour valeur aberrante, sont des laboratoires sous accréditation.

4. MISE A DISPOSITION D'UN MRC POUR LA DETERMINATION DES PESTICIDES DANS LES EAUX DANS LE CADRE D'AQUAREF

Le matériau développé contient dix composés dont quatre font partie de la DCE : atrazine, simazine, diuron et isoproturon. Ces molécules avaient été sélectionnées car ce sont des composés quantifiés en routine dans les laboratoires. Des essais d'aptitude ont déjà mis en évidence des reproductibilités inter laboratoires relativement importantes pouvant atteindre 100% pour des concentrations largement supérieures aux Normes de Qualité Environnementales (NQE : de 0,2 à 1 µg/l selon le composé). Le matériau a été certifié à des concentrations de l'ordre de 0,5 µg/l avec une incertitude d'environ 25% ce qui est au seuil de concentration considéré très satisfaisant. Au regard de sa concentration et de son incertitude, ce MRC devient un outil indispensable aux laboratoires d'analyses afin de tester leur capacité à doser des pesticides à des teneurs proches des NQE .

4.1. MRC : Herbicides dans les eaux

Le MRC développé précédemment avait une durée de validité de deux ans. Afin de pouvoir étendre la durée de vie de ce MRC, il a été décidé de continuer à surveiller la concentration des ampoules et des cartouches tout au long de l'année 2008.

Trois flacons et trois ampoules ont donc été analysées. Il a été décidé de vérifier la stabilité en calculant l'écart normalisé :

$$E_N = \frac{C_{réf} - C_{mes}}{\sqrt{u_{réf}^2 + u_{mes}^2}}$$

avec : E_N : écart normalisé
 $C_{réf}$: concentration certifiée
 C_{mes} : concentration mesurée
 $u_{réf}^2$: incertitude type de la concentration certifiée
 u_{mes}^2 : incertitude type de la concentration mesurée

Si $E_N < 2$, il n'existe pas de différence significative entre la concentration mesurée et la concentration certifiée. Les résultats obtenus, par exemple au mois de novembre, sont regroupés dans les tableaux 7 et 8.

Composé	Valeur certifiée en mg/l	Incertitude type	Valeur mesurée en mg/l	Incertitude type	Ecart normalisé
Atrazine	0.103	0.011	0.106	0.002	0.27
DEA	0.098	0.017	0.095	0.002	-0.18
DIA	0.089	0.013	0.076	0.004	-0.96
Simazine	0.113	0.015	0.115	0.001	0.13
Terbutryne	0.122	0.020	0.118	0.001	-0.20
Terbutylazine	0.099	0.022	0.099	0.002	0.00
Chlortoluron	0.116	0.015	0.103	0.001	-0.86
Diuron	0.104	0.010	0.103	0.001	-0.10
Isoproturon	0.128	0.016	0.119	0.001	-0.56
Linuron	0.112	0.019	0.104	0.002	-0.42

Tableau 7 : Valeurs certifiées pour les 10 pesticides dans les ampoules

Composé	Valeur certifiée en µg/l	Incertitude type	Valeur mesurée en mg/l	Incertitude type	Ecart normalisé
Atrazine	0.395	0.044	0.43	0.004	0.79
DEA	0.49	0.06	0.464	0.009	-0.43
DIA	0.41	0.06	0.397	0.009	-0.21
Simazine	0.36	0.06	0.372	0.006	0.20
Terbutryne	0.407	0.047	0.444	0.008	0.78
Terbutylazine	0.39	0.05	0.432	0.019	0.79
Chlortoluron	0.39	0.06	0.368	0.002	-0.37
Diuron	0.39	0.060	0.429	0.013	0.64
Isoproturon	0.5	0.06	0.47	0.006	-0.50
Linuron	0.41	0.06	0.412	0.01	0.03

Tableau 8 : Valeurs certifiées pour les 10 pesticides dans les cartouches

Il apparaît que tous les écarts normalisés sont inférieurs à 2. Il n'existe donc pas de différence significative entre les valeurs. Les composés contenus dans les ampoules et les cartouches sont stables au-delà de deux ans.

4.2. Fabrication d'un deuxième MRC

Le LNE, fort de l'expérience de la production du MRC « herbicides dans les eaux », se propose donc de réaliser la faisabilité et la stabilité, étapes essentielles à la fabrication d'un MRC, pour de nouveaux pesticides. Il a été décidé de conserver la présentation du nouveau matériau sous forme de kit : ampoules et cartouches.

L'agriculture française utilise environ cinq cent substances actives qui constituent le principe actif des pesticides . Ces matières actives entrent dans la composition de plus de huit mille produits commercialisés . Comme il a été impossible de prendre en compte toutes les molécules pour la fabrication de ce second MRC, un choix a dû être réalisé suivant des critères basés sur :

- la circulaire du ministère DCE 2006/16,
- le dossier 2006 de l'Institut Français de l'Environnement (IFEN) établi à partir des données de 2003 et 2004 sur l'état des cours d'eau et des nappes souterraines ; Ce dossier fait également état des principales molécules quantifiées dans les eaux souterraines et superficielles en 2003 et 2004,
- de listes de pesticides recherchés principalement par les DDASS de l'Eure et de Paris,
- de contacts de la DGCCRF,
- de demandes formulées par certains laboratoires ayant participé à la campagne de certification du précédent MRC.

Les composés retenus sont : le 2,4D, l'aldicarbe, l'amidosulfuron, l'AMPA , l'aminotriazole, l'azoxystrobine, le carbofuran, le dicamba, le dichlorprop-p, le diquat dibromure, l'endosulfan, le filpronil, le fluazipop-p-butyl , le foramsulfuron., le glyphosate, le krésoxim méthyl, le malathion, le mancozèbe, le 2,4 MCPA, le mécoprop, le paraquat dichlorure, la pymétozine, la trifluraline, le chlorfenvinphos, le chlorpyrifos ethyl, le lindane, l'alachlore et l'alpha-endosulfan. Parmi tous ces composés, cinq font partie de la DCE : l'alachlore, l'endosulfan, le chlorpyrifos ethyl, le chlorfenvinphos et la trifluraline.

Cette étude est en cours et a démarré par la sélection d'adsorbants pour les cartouches.

5. CONCLUSION

Cette étude a permis d'étendre la validité du MRC à trois ans et donc de le mettre à la disposition des acteurs d'Aquaref travaillant dans le domaine de l'analyse des pesticides.

Au vu des résultats de la campagne de certification, il est important, même pour des laboratoires accrédités de disposer de MRC présentant des concentrations proches des NQE, afin d'évaluer régulièrement la justesse des protocoles analytiques mis en œuvre. Et ce d'autant plus, que la concentration des échantillons des essais inter laboratoires sont supérieurs au NQE. De plus, des efforts sont à mener dans le cadre d'AQUAREF afin que la détermination des herbicides dans les eaux soit plus homogène et comparable au sein des laboratoires d'analyses.

De plus, nous avons montré que pour les analytes qui ne sont pas stables dans des matrices aqueuses, il est possible de trouver des solutions qui permettent de fournir un des outils importants de la validation des méthodes d'analyse que sont les matériaux de référence certifiés.

A présent, le LNE a mis en place pour l'analyse des pesticides un protocole d'évaluation, de suivi et de certification de matériaux de référence et se propose, de fournir un nouveau MRC dont les composés et les concentrations seront adaptés à une demande consensuelle des laboratoires et, ou à la réglementation.

Paris, le 28 avril 2009

**La Responsable du
Pôle Chimie et Biologie**



Sophie VASLIN-REIMANN

**La Responsable du département
Biomédical et Chimie Organique**



Béatrice LALERE

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Marschal A., 1997, Proc BERM-7, Antwerpen , Belgium
- [2] ISO Guide 32. ISO, Geneva, Switzerland
- [3] Majors R.E., 1991, LC-GC, **4** p10
- [4] Quevauviller P., 2004, Trends Anal. Chem., **23** p171
- [5] Emons H., Linsinger T.P.J., Gawlik B.M., 2003, Trends Anal. Chem., **23** p442
- [6] ISO Guide . ISO, Geneva, Switzerland
- [7] Etudes et Travaux IFEN, « les pesticides dans les eaux », septembre 2000
- [8] J. Deplagne, J. Vial, V. Pichon*, Béatrice Lalere, G. Hervouet and M.-C. Hennion, Feasibility study of a reference material for water chemistry: Long term stability of triazine and phenylurea residues stored in vials or on polymeric sorbents, Journal of Chromatography A, 1123 (2006) 31-37
- [9] K. El Mrabet, M. Poitevin, J. Vial*, V. Pichon, S. Amarouche, G. Hervouet, B. Lalere, An Interlaboratory Study to evaluate potential Matrix Reference Materials for pesticides in Water, Journal of Chromatography A, 1134 (2006) 151-161
- [10] S.A. Senseman, T.C. Mueller, M.B. Riley, R.D. Wauchope, C. Clegg, R.W. Young, L.M. Southwick, H.A. Moye, J.A. Dumas, W. Mersie, J.D. Mattice, R.B. Leyy, Interlaboratory comparison of extraction efficiency of pesticides from surface laboratory water using solid-phase extraction disks, J. Agric. Food Chem., 51 (2003) 3748-3752
- [11] M.B. Riley, J.A. Dumas, E.E. Gbur, J.H. Massey, J.D. Mattice, W. Mersie, T.C. Mueller, T. Potter, S.A. Senseman, E. Watson, Pesticide extraction efficiency of two solid phase disk types after shipping, J. Agric. Food Chem., 53 (2005) 5079-5083
- [12] NF ISO 5725-2 Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthode de mesure partie 2 : Méthode de base pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode de mesure normalisée
- [13] NF ISO 5725-5 Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthode de mesure Partie 5 : Méthodes alternatives pour la détermination de la fidélité d'une méthode de mesure normalisée (analyses robustes).

Suite du rapport page suivante

ANNEXE 1

**CERTIFICAT DU MATERIAU DE REFERENCE
Herbicides dans les eaux**

Référence du Matériau : SL-MR-2-PEE-01

Numéro de lot : PESTEUAU06-1

Numéro d'échantillon : Amp n°
Amp n°
Cart. n°
Cart. n°
Cart. n°

1. DESCRIPTION DU MATERIAU DE REFERENCE ET UTILISATION PREVUE

Ce matériau de référence est constitué de :

- ◆ Deux ampoules contenant environ 1,2 ml d'une solution d'herbicides (atrazine, dééthylatrazine, deisopropylatrazine, simazine, terbutryne, terbutylazine, chlortoluron, linuron, diuron, et isoproturon) dans l'acétonitrile ;
- ◆ Trois cartouches de préconcentration sur lesquelles ont été percolées 250 ml d'eau de consommation dopée avec une solution d'herbicides dans l'acétonitrile.

Ce matériau est prévu pour l'étalonnage des appareils de mesure et/ou la validation des méthodes analytiques permettant la détermination des herbicides dans les eaux.

2. INSTRUCTIONS D'UTILISATION

2.1. Stockage

Dès réception, les ampoules et les cartouches doivent être conservées respectivement à une température maximale de +4°C et -15°C.

2.2. Manipulation

2.2.1. Ampoules

La solution contenue dans l'ampoule scellée peut soit

- être analysée directement en vérifiant que la quantité d'acétonitrile ne perturbe pas l'analyse (compatibilité du solvant avec la phase mobile),
- être évaporée puis reprise avec un solvant ou un mélange de solvants (compatibilité du solvant avec la phase mobile),
- servir au dopage d'une eau.

Un volume adéquat pour l'analyse sera prélevé.

2.2.2. Cartouches

Les cartouches d'extraction doivent être sorties du congélateur et mises à température ambiante entre trente et quarante cinq minutes avant leur utilisation.

Le protocole de traitement des cartouches est le suivant :

- Elution avec 6 ml d'acétonitrile,
- Evaporation de l'éluat, à sec si nécessaire, et reprise de l'extrait avec un solvant ou un mélange de solvants (compatibilité du solvant avec la phase mobile).

3. DATE DE CERTIFICATION ET PERIODE DE VALIDITE

Date de certification : juillet 2006

Les études de stabilité montrent qu'il n'est pas à craindre de variation significative de la concentration initiale des herbicides d'ici **août 2009**, dès lors que le Matériau de référence est conservé dans son conditionnement d'origine, et que les conditions de stockage (2.1.) et d'utilisation (2.2.) sont respectées.

4. VALEURS CERTIFIEES

Les valeurs ont été certifiées au cours d'un essai inter laboratoires décrit en 5.

4.1. Ampoules

Les concentrations dans les ampoules sont exprimées en mg de composé par litre de solution.

Composé	Concentration (mg/l)	Incertitude élargie k=2 (mg/l)
Atrazine	0,103	0,022
Deéthylatrazine	0,098	0,034
Deisopropylatrazine	0,089	0,025
Simazine	0,113	0,029
Terbutryne	0,122	0,039
Terbutylazine	0,099	0,044
Chlortoluron	0,116	0,029
Diuron	0,104	0,019
Isoproturon	0,128	0,032
Linuron	0,112	0,038

4.2. Cartouches

Les concentrations dans les cartouches sont exprimées en µg de composé par litre d'eau. Sur chaque cartouche, 0,25 l d'eau ont été percolés.

Composé	Concentration (µg/l)	Incertitude élargie k=2 (µg/l)
Atrazine	0,395	0,088
Deéthylatrazine	0,49	0,12
Deisopropylatrazine	0,41	0,13
Simazine	0,36	0,11
Terbutryne	0,407	0,093
Terbutylazine	0,39	0,10
Chlortoluron	0,39	0,11
Diuron	0,39	0,12
Isoproturon	0,50	0,12
Linuron	0,41	0,12

Les incertitudes élargies mentionnées dans les tableaux ci-dessus correspondent à deux fois l'écart-type de reproductibilité estimé au cours d'un essai inter laboratoires.

Note 1 : La reproductibilité (répétabilité et effet laboratoire) inclue les incertitudes liées à l'homogénéité.

Note 2 : L'incertitude associée à la stabilité dans le temps (étudiée en plus de l'intercomparaison) est négligeable.

5. PREPARATION

5.1. Préparation des ampoules

Des solutions mères ont été préparées par gravimétrie pour chaque pesticide en mettant en solution des composés « purs » (pureté variant de 96 à 99,5 %) dans l'acétonitrile.

5.2. Préparation des cartouches

Les cartouches d'extraction ont été préparées avec l'ASPEC-XL4 de GILSON. Une eau de consommation exempte des composés recherchés a été prélevée, dopée puis homogénéisée avant percolation sur les cartouches d'extraction selon le protocole suivant.

L'eau de consommation a été dopée avec une solution contenant les composés recherchés dans l'acétonitrile. Cette dernière a été préparée à partir de composés « purs » (pureté variant de 96 à 99,5 %), mis en solution dans l'acétonitrile..

5.3. Homogénéité

L'homogénéité a été vérifiée par le LNE et le LECA/ESPCI sur deux séries de 10 ampoules et cartouches.

5.4. Stabilité

Une étude précédente a mis en évidence que les matériaux préparés sont stables pendant deux ans (Feasibility study of a reference material for water chemistry: Long term stability of triazine and phenylurea residues stored in vials or on polymeric sorbents ; J. Deplagne, J. Vial, V. Pichon*, Béatrice Lalere, G. Hervouet and M.-C. Hennion ; Journal of Chromatography A , 1123 (2006) 31-37). Des essais de stabilité sont réalisés pendant la durée de validité de ce matériau.

suite du certificat page suivante

5.5. Laboratoires participants à l'essai interlaboratoires et techniques analytiques

Laboratoire	Technique analytique
Bouisson Bertrand Laboratoires	CPL – UV
MMA/APO	CPL – UV
BRGM ORLEANS	CPL – SM ²
CTCPA	CPL – SM ²
Département de l'Économie et de la Santé (DES) Service de Protection de la Consommation (SPCo) - Genève	CPL – SM ²
IANESCO	CPL – UV
Institut Départemental d'Analyse et de Conseil	CPL – SM ²
Pôle Organique de l'INERIS	CPG – TSD / CPL – UV
ISSeP (Institut de Scientifique de Service Public) - Belgique	CPL – SM ²
LECA / ESPCI	CPL – UV
LDA 22	CPL – SM ²
Laboratoire Départemental D'Analyses de la Drôme	CPL – SM ²
Laboratoire national de métrologie et d'essais (LNE)	CPL – SM ²
Micropolluants Technologie	CPL – SM ²
Nestlé Waters MT Laboratoire chimie - PTC Waters	CPL – SM ²
Pôle Analytique des Eaux /LABO/CEE Plouzané	CPL – SM ²
SGS Multilab – Laboratoire de l'Essonne	CPL – SM ²

CPG : chromatographie en phase gazeuse,
 CPL : chromatographie en phase liquide,
 SM² : spectrométrie de masse en tandem,
 TSD : détecteur thermoionique,
 UV : absorption UV.

Fin du rapport final