

## Pyréthroïdes

### Méthode d'analyse dans les sédiments

#### Généralités

<b>Nom de la famille de substances</b>	Pyréthroïdes [119]
<b>Nom des substances individuelles</b>	Tétraméthrine (CAS 7696-12-0) Lambda-Cyhalothrine (CAS 91465-08-6) Cis-Perméthrine (CAS 61949-76-6) Trans-Perméthrine (CAS 61949-77-7) Deltaméthrine (CAS 52918-63-5)
<b>Code SANDRE des substances individuelles</b>	Tétraméthrine : [5921] Lambda-Cyhalothrine : [1094] Cis-Perméthrine : [5682] Trans-Perméthrine : [5683] Deltaméthrine : [1149]
<b>Matrice analysée [code SANDRE du support]</b>	Sédiment : [6] en eau de surface continentale
<b>Principe de la méthode</b>	Extraction aux micro-ondes par du dichlorométhane, puis purification en phase solide sur de la silice et analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse triple quadripôle en mode impact électronique et quantification par étalonnage interne.
<b>Acronyme</b>	MAE/GC/MS-MS
<b>Domaine d'application</b>	Tétraméthrine : 1 à 60 µg/kg MS Lambda-Cyhalothrine : 1 à 60 µg/kg MS Cis-Perméthrine : 2 à 120 µg/kg MS Trans-Perméthrine : 2 à 120 µg/kg MS Deltaméthrine : 1 à 60 µg/kg MS

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

- Utiliser de la verrerie calcinée.
- Protéger les échantillons et les extraits de la lumière : dégradation de la deltaméthrine et de la lambda-cyhalothrine.

Selon la publication de K. Maštovská et S.J. Lehotay, il est recommandé de ne pas utiliser d'acétonitrile ou d'acétone comme solvant d'injection qui, dans le cas où le liner est sale, contribuent à la dégradation des pyréthriinoïdes comprenant un groupement "cyano" (deltaméthrine et lambda-cyhalothrine) en formant un diastéréoisomère. Avec la méthode d'analyse décrite dans cette fiche méthode, ces diastéréoisomères sont identifiés et sont chacun élués 0,2 min avant le composé parent.

- Ne pas fixer la température de l'injecteur au-delà de 250 °C : si la température d'injection est supérieure à 250°C, la deltaméthrine s'isomérisse.
- Les effets matriciels (phénomènes de discrimination/adsorption dans l'injecteur) sont limités par l'emploi d'agents protecteurs (L-Gluconolactone et D-Sorbitol) en solution dans l'acétonitrile, par injection en mode sandwich lors de l'analyse des étalons et des extraits (décrit ci-après). Bien que la solution d'agents protecteurs soit préparée dans l'acétonitrile, aucune dégradation de la deltaméthrine et de la lambda-cyhalothrine n'est observée lors de l'analyse.
- Conditionner la laine de quartz (utilisée pour la filtration des extraits) par lavage au dichlorométhane avec par exemple un système d'extraction par solvant pressurisé à chaud (PFE). Plusieurs filtres (filtre en cellulose Whatman™ de grade 2V, filtre en cellulose Fisherbrand de grade 122) ont été testés et ils peuvent également être source d'interférents.

### Interférents (préciser la matrice)

Interférents identifiés : composé non identifié (supposé être du diéthylène glycol dibenzoate, dipropylène glycol dibenzoate ou du N-propyl benzamide) provenant de la laine de quartz (ou des filtres) et interférant sur les transitions de la tétraméthrine. La laine de quartz doit impérativement être conditionnée (conditions décrites ci-dessus).

**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

<b>Fraction analysée :</b>	Particule < 2 mm de sédiments [32]
<b>Conditionnement et conservation des échantillons</b>	
- Nature du contenant de stockage :	Flacon en verre ambré ou protégé de la lumière par une feuille en aluminium. Bouchon avec membrane en PTFE ou en aluminium.
- Conditionnement du contenant :	Flacon calciné 8 heures à 500 °C.
- Conservation :	Conservation des échantillons à 4°C ± 2°C (durée de conservation non déterminée).
<b>Pré-traitement des échantillons liquide ou solide</b>	Tamisage humide < 2mm Lyophilisation Broyage < 250 µm

### Analyse

<b>Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)</b>	Sédiment : 0,5 g de sédiment sec
---	----------------------------------

<b>Extraction</b>  - Micro-ondes	<p>Dans un sabot de pesée contenant 0,5 g de sédiment lyophilisé, ajouter 5 µL de la solution d'étalon interne (deltaméthrine-d5 et cis-perméthrine-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> en solution dans l'hexane à 10 et 2 ng/µL respectivement).</p> <p>Transférer le contenu du sabot de pesée dans un matras, ajouter 12 mL de dichlorométhane en prenant soin de rincer le sabot de pesée. Ajouter un barreau aimanté et boucher.</p> <p>Extraction aux Micro-ondes CEM MARS 6™ en mode solvant avec agitation selon la méthode suivante :</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Rampe 1 : 6 min jusqu'à 50 °C à 600 W</li><li>- Rampe 2 : 8 min jusqu'à 80 °C à 900 W</li><li>- Maintien à 80 °C pendant 5 min à 900 W.</li><li>- Refroidissement.</li></ul> <p>Filtration de l'extrait refroidi à température ambiante sur laine de quartz conditionnée (*) avec récupération en tube borosilicate calciné. Concentration de l'extrait sous flux d'azote à 35 °C, à quasi siccité. Reprise par 0,5 mL d'hexane avec agitation pendant 10 s.</p> <p>(*) La laine de quartz est conditionnée par du dichlorométhane pressurisé à chaud (PFE).</p>
<b>Purification</b>	<p>Purification en phase solide sur cartouche SPE SiOH (Chromabond® 500 mg - 3 cc) :</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Conditionnement de la cartouche par 5 mL hexane/dichlorométhane (1 : 1 ; v/v)</li><li>- Chargement de l'extrait hexane (0,5 mL).</li><li>- Rinçage du tube de chargement avec 5 mL d'hexane</li><li>- Elution de la cartouche avec les 5 mL d'hexane ayant servi au rinçage du tube (non récupéré)</li><li>- Elution par 3 fois 5 mL d'un mélange hexane/dichlorométhane (1 : 1 ; v/v) et 1 fois 5 mL de dichlorométhane, les 4 fractions sont récupérées.</li><li>- Concentration à sec des 4 fractions réunies sous flux d'azote, à 35 °C et reprise par 200 µL d'hexane.</li></ul>
<b>Conservation de l'extrait</b>	<p>Non évaluée, conserver les extraits à -20 °C et à l'abri de la lumière en cas d'analyses différées.</p>
<b>Volume ou masse finale avant analyse :</b>	<p>200 µL (hexane).</p>

### - Analyte Protectants (AP)

Les sites actifs présents tout au long de la chaîne analytique peuvent provoquer des phénomènes d'adsorption, de trainée de pic et/ou de dégradation de certains pesticides sensibles. Ces phénomènes peuvent se produire pour un système « propre » lors de l'injection d'une gamme en solvant par exemple car les sites actifs vont préférentiellement agir sur les pesticides. Dans d'autres cas, ils peuvent également s'accroître à mesure que le système s'encrasse. Un moyen pour contourner ce problème est l'ajout en excès, à la fois dans les étalons et dans les échantillons, de composés hydroxylés bloquant les sites actifs par des liaisons hydrogènes. Ces composés sont appelés « analyte protectants » ou AP. Un mélange de plusieurs substances de volatilité différente permet de couvrir toute la durée de l'analyse et ainsi de « protéger » tous les composés analysés.

Les substances retenues sont préparées individuellement en solution à 50 mg/mL dans un mélange Acétonitrile (ACN)/Eau MilliQ (EMQ).

Substances	CAS#	Solvant	C mg/ml	Nom de la solution individuelle
D-gluconolactone	90-80-2	ACN/EMQ 6:4	50	AP1
D-sorbitol	50-70-4	ACN/EMQ 1:1	50	AP2

Un mélange (Mix AP -1) est ensuite réalisé dans l'acétonitrile aux concentrations suivantes :

Substances	CAS#	Nom de la solution individuelle	Volume prélevé de solution individuelle (mL)	Volume final d'ACN (qsp, mL)	C mg/ml
D-gluconolactone	90-80-2	AP1	4	10	20
D-sorbitol	50-70-4	AP2	2		10

La solution d'AP finale (Mix A -2) est ensuite préparée dans l'acétonitrile à partir de la solution MIX AP-1, aux concentrations suivantes :

Substances	CAS#	Nom de la solution individuelle	Volume prélevé de solution individuelle (µL)	Volume final d'ACN (qsp, mL)	C µg/ml
D-gluconolactone	90-80-2	Mix AP -2	300	10	600
D-sorbitol	50-70-4				300

Cette solution est utilisée lors des injections (voir ci-dessous).

#### Chromatographie :

Colonne : HP 5MS-UI (30 m X 0,25 mm ID x 0,25 µm (Agilent 19091S-433UI))  
Débit d'hélium sur la colonne à 1,3 mL/min.

### Méthode analytique utilisée :

Injecteur: Split/splitless Agilent  
 Insert: Ultra Inert Liner, Splitless, Single Taper, Wool (Agilent 5190-2293)  
 Injection en mode splitless pendant 1 min (puis split à 100 mL/min et gaz saver de 40 mL/min à 7 min).  
 Température de l'injecteur : 250 °C.  
 Volume d'injection de l'extrait : 1 µL, en mode sandwich (\*\*).

Utilisation d'agents protecteurs (AP) : lors de l'injection des étalons et des extraits, la solution MIX AP-2 (voir ci-dessus) est injectée en mode sandwich : programmation de l'automate d'injection en « mode sandwich » (\*\*): 1 µL d'échantillon, 1 µL d'air, 1 µL de solution MIX AP-2 et 1 µL d'air

Programmation en température du four :

Température (°C)	Rampe (°C/min.)	Durée (min.)
50	/	1
310	10	5

Température de la ligne de transfert : 310 °C.

#### Spectrométrie de masse :

Mode d'ionisation : impact électronique (70 eV)

Analyseur : triple quadripôle

Température de la source : 230 °C

Cellule de collision : « Quench gas » (Helium) = 4 mL/min et gaz de collision (azote) = 1,5 mL/min

Composés	Temps de rétention (min)	Transition de quantification en uma (énergie de collision en eV)	Transition de qualification en uma (énergie de collision en eV)
Tétraméthrine I	22,44	164 > 107 (8)	164 > 77 (20)
Tétraméthrine II *	22,55		
Lambda-cyhalothrine	23,53	181 > 152 (21)	197 > 141 (12)
Cis-Perméthrine	24,25	183 > 153 (17)	183 > 168 (11)
Cis-Perméthrine <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	24,25	189 > 159 (17)	/
Trans-Perméthrine	24,37	183 > 153 (17)	183 > 168 (11)
Deltaméthrine	26,74	181 > 152 (21)	181 > 127 (25)
Deltaméthrine-d5	26,74	185 > 156 (21)	/

\* Tétraméthrine I et tétraméthrine II correspondent aux 2 énantiomères qui composent la tétraméthrine. Ils éluent chromatographiquement sous la forme de 2 pics qui sont séparés à la ligne de base mais dont la distribution massique de chacun n'est pas connue. Ils sont donc chromatographiquement traités et intégrés comme une somme de pics.

<b>Equipements<sup>1</sup> (modèles utilisés) :</b>	Chromatographe en phase gazeuse Agilent 7890B avec un injecteur SSL (split/splitless) couplé à un spectromètre de masse Agilent 7010B type quadripôle avec source HES (High efficiency source). Automate GILSON GX 240 pour l'étape de purification.
<b>Type d'étalonnage</b>	Interne
<b>Modèle utilisé</b>	Linéaire pondéré 1/x.
<b>Etalons / Traceurs utilisés</b>	Deltaméthrine-d5 pour la deltaméthrine et cis-perméthrine- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> pour les autres pyréthriinoïdes.
<b>Domaine de concentration</b>	Deltaméthrine, lambda-cyhalothrine et tétraméthrine de 1 à 150 ng/mL dans l'hexane Cis-Perméthrine et trans-perméthrine de 2 à 300 ng/mL dans l'hexane.
<b>Méthode de calcul des résultats</b>	Etalonnage interne en mode dilution isotopique sauf pour la trans-perméthrine, lambda-cyhalothrine et tétraméthrine pour lesquels l'étalon interne est la cis-perméthrine <sup>13</sup> C <sub>6</sub> .
<b>Rendement</b>	Cis-perméthrine et deltaméthrine : le rendement est corrigé pour chaque échantillon par leur homologue marqué. Tétraméthrine, trans-perméthrine et lambda-cyhalothrine : le rendement est corrigé par la cis-perméthrine <sup>13</sup> C <sub>6</sub> .
<b>Blancs</b>	Blanc matrice : le protocole analytique est réalisé sur sédiment sec non dopé.  Soustraction du blanc lorsque la valeur est supérieure à la LQ/3.

### Références de la méthode

<b>La méthode est dérivée des références suivantes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Poster : F. Murcia, K. Le Menach, P. Pardon, S. Augagneur, N. Armstrong, N. Tapie, I. Auby, H. Budzinski, Approche multirésidus pour le suivi des pesticides dans différents compartiments (eau, sédiment, huîtres) de l'environnement aquatique du bassin d'Arcachon</li> <li>- M.L Hladik, K.L. Smalling, K.M. Kuivila, 2009, Methods of analysis-Determination of pyrethrinoid insecticides in water and sediment using gas chromatography/mass spectrometry: U.S. Geological Survey Techniques and Methods 5-C2, 18p.</li> <li>- K. Mařtovská, S.J. Lehotay, 2004, Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues - Journal of Chromatography A, 1040, 259–272</li> </ul>
<b>Norme dont est tirée la méthode</b>	/
<b>Niveau de validation selon Norman</b>	Niveau 1

<sup>1</sup> 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

## Paramètres de validation de la méthode

<b>Norme utilisée</b> <b>Domaine de validation</b>	<b>NF T90-210 (mai 2009)</b> Tétraméthrine : 1 à 60 µg/kg Lambda-Cyhalothrine : 1 à 60 µg/kg Cis-Perméthrine : 2 à 120 µg/kg Trans-Perméthrine : 2 à 120 µg/kg Deltaméthrine : 1 à 60 µg/kg																																			
<b>Matériaux de référence utilisés</b>	Pas de matériaux de référence disponible.  Les essais sont réalisés sur 1 échantillon composite avec un COT de 1,85% qui a été constitué par un mélange de 12 sédiments de rivière lyophilisé présentant des teneurs individuelles en COT de < 0,4 à 4,35 %.																																			
<b>Blancs analytiques</b> (concentration ou résultat maximum acceptable)	Les valeurs de blanc analytiques sont soustraites : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tétraméthrine : une interférence a été observée au laboratoire (voir partie « interférents »), elle a été quantifiée à partir d'une transition spécifique et sa teneur a été retranchée des résultats de la tétraméthrine.</li> <li>- Cis-Perméthrine : la moyenne de la valeur de blanc observée sur l'échantillon moyen de sédiment non dopé est de <math>1,3 \pm 0,2</math> ng/mL d'extrait (sur l'ensemble des séries d'essais, n =12), elle est comprise entre LQ/3 et LQ. Lors de la validation de méthode, la valeur de chaque blanc obtenu lors d'une série d'essais a été soustraite du résultat des échantillons de la série.</li> </ul>																																			
<b>Rendement</b>  <b>- par niveau de concentration</b>	L'étude de rendement est réalisée dans des conditions de fidélité intermédiaire sur un échantillon composite de 12 sédiments de rivière lyophilisé dopé à 4 niveaux de concentrations différents. <div style="text-align: center; margin: 10px 0;"> <b>Rendement relatif moyen et écart type (%)</b>  <b>(n=10 par niveau de concentration)</b> </div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-bottom: 10px;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Composés</th> <th style="text-align: center;">1 µg/kg</th> <th style="text-align: center;">2 µg/kg</th> <th style="text-align: center;">12 µg/kg</th> <th style="text-align: center;">48 µg/kg</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Tétraméthrine</td> <td style="text-align: center;">59 ± 9</td> <td style="text-align: center;">71 ± 13</td> <td style="text-align: center;">75 ± 16</td> <td style="text-align: center;">71 ± 17</td> </tr> <tr> <td>Lambda-Cyhalothrine</td> <td style="text-align: center;">85 ± 18</td> <td style="text-align: center;">88 ± 17</td> <td style="text-align: center;">92 ± 14</td> <td style="text-align: center;">102 ± 11</td> </tr> <tr> <td>Deltaméthrine</td> <td style="text-align: center;">89 ± 18</td> <td style="text-align: center;">89 ± 7</td> <td style="text-align: center;">91 ± 7</td> <td style="text-align: center;">98 ± 4</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;"></th> <th style="text-align: center;">2 µg/kg</th> <th style="text-align: center;">4 µg/kg</th> <th style="text-align: center;">24 µg/kg</th> <th style="text-align: center;">76 µg/kg</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cis-Perméthrine</td> <td style="text-align: center;">96 ± 4</td> <td style="text-align: center;">97 ± 5</td> <td style="text-align: center;">102 ± 12</td> <td style="text-align: center;">99 ± 4</td> </tr> <tr> <td>Trans-Perméthrine</td> <td style="text-align: center;">101 ± 5</td> <td style="text-align: center;">104 ± 5</td> <td style="text-align: center;">108 ± 11</td> <td style="text-align: center;">108 ± 5</td> </tr> </tbody> </table> <p>Un biais négatif systématique est observé pour la tétraméthrine (pas de correction de rendements appliqué car EI déjà utilisé).          L'étalon cis-perméthrine <sup>13</sup>C<sub>6</sub> n'est pas complètement représentatif du comportement de la tétraméthrine lors des phases de préparation.</p>	Composés	1 µg/kg	2 µg/kg	12 µg/kg	48 µg/kg	Tétraméthrine	59 ± 9	71 ± 13	75 ± 16	71 ± 17	Lambda-Cyhalothrine	85 ± 18	88 ± 17	92 ± 14	102 ± 11	Deltaméthrine	89 ± 18	89 ± 7	91 ± 7	98 ± 4		2 µg/kg	4 µg/kg	24 µg/kg	76 µg/kg	Cis-Perméthrine	96 ± 4	97 ± 5	102 ± 12	99 ± 4	Trans-Perméthrine	101 ± 5	104 ± 5	108 ± 11	108 ± 5
Composés	1 µg/kg	2 µg/kg	12 µg/kg	48 µg/kg																																
Tétraméthrine	59 ± 9	71 ± 13	75 ± 16	71 ± 17																																
Lambda-Cyhalothrine	85 ± 18	88 ± 17	92 ± 14	102 ± 11																																
Deltaméthrine	89 ± 18	89 ± 7	91 ± 7	98 ± 4																																
	2 µg/kg	4 µg/kg	24 µg/kg	76 µg/kg																																
Cis-Perméthrine	96 ± 4	97 ± 5	102 ± 12	99 ± 4																																
Trans-Perméthrine	101 ± 5	104 ± 5	108 ± 11	108 ± 5																																

**Limite de quantification (LQ)**

Validée selon la norme NF T90-210 :2009 (plan B) par dopage des composés dans le sédiment.

Substances	LQ (µg/kg)
Lambda-Cyhalothrine	1
Deltaméthrine	1
Cis-Perméthrine	2
Trans-Perméthrine	2

**Limite de détection (LD)**

Non vérifiée.

**Incertitudes (%) sur les résultats**

L'évaluation de l'incertitude est réalisée en utilisant la norme ISO 11352, par ajout des composés dans un sédiment avec réalisation de 2 répliquats pendant 6 jours différents à 4 niveaux de concentration. Elle prend en compte l'incertitude liée au biais et l'incertitude liée à la fidélité.

Elle est exprimée avec un facteur d'élargissement :  $k=2$ .

**- par niveau de concentration**

Composé	Incertitude élargie en % ( $k = 2$ )			
	1 µg/kg	2 µg/kg	12 µg/kg	48 µg/kg
Tétraméthrine	52	54	65	74
Lambda-Cyhalothrine	66	56	42	32
Deltaméthrine	62	31	30	28

Composé	Incertitude élargie en % ( $k = 2$ )			
	2 µg/kg	4 µg/kg	24 µg/kg	76 µg/kg
Cis-Perméthrine	48	29	40	24
Trans-Perméthrine	38	28	40	30

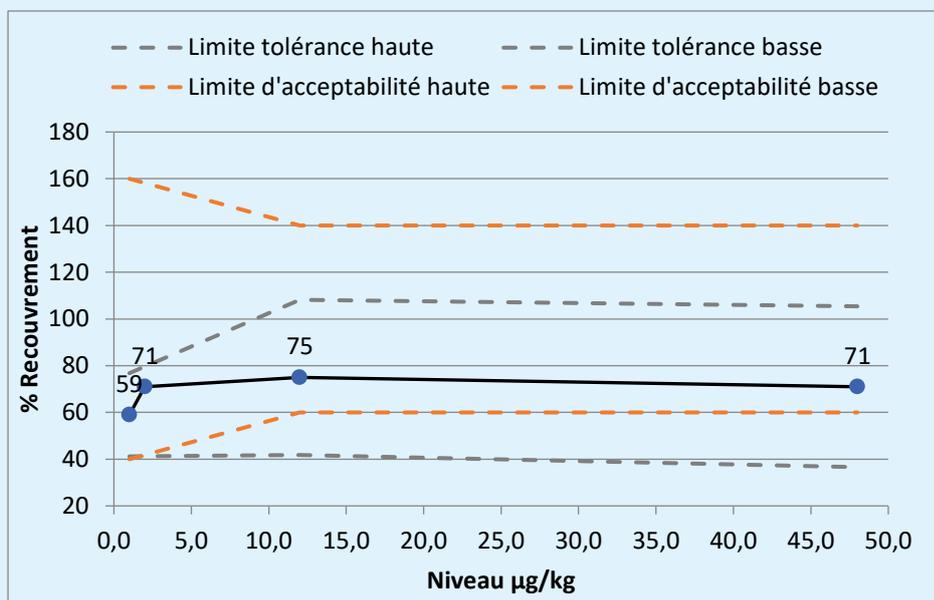
**Profils d'exactitude :**

Les critères d'exactitude sont de 60% à la LQ puis de 40% au-delà de  $5xLQ$ .

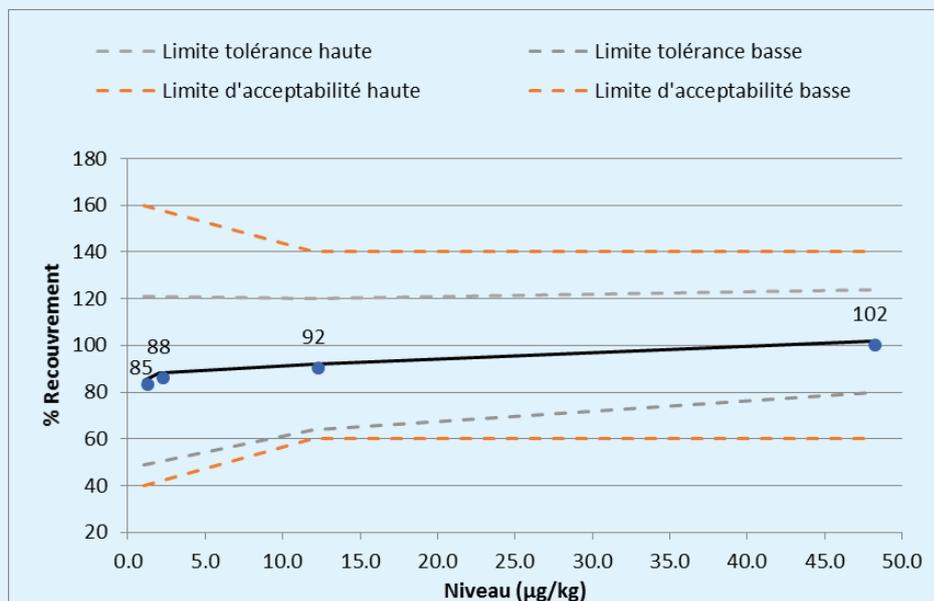
Pour la tétraméthrine, ce critère d'exactitude n'est pas atteint pour les raisons suivantes :

- L'absence d'un étalon interne spécifique permettant de corriger efficacement le rendement pour chaque échantillon (l'homologue marqué de ce composé n'était pas disponible à la date de la mise en œuvre de ces travaux) et générant un biais sur tout le domaine de l'application.
- La nécessité de soustraire le signal d'une interférence répondant à la transition de quantification de la tétraméthrine.

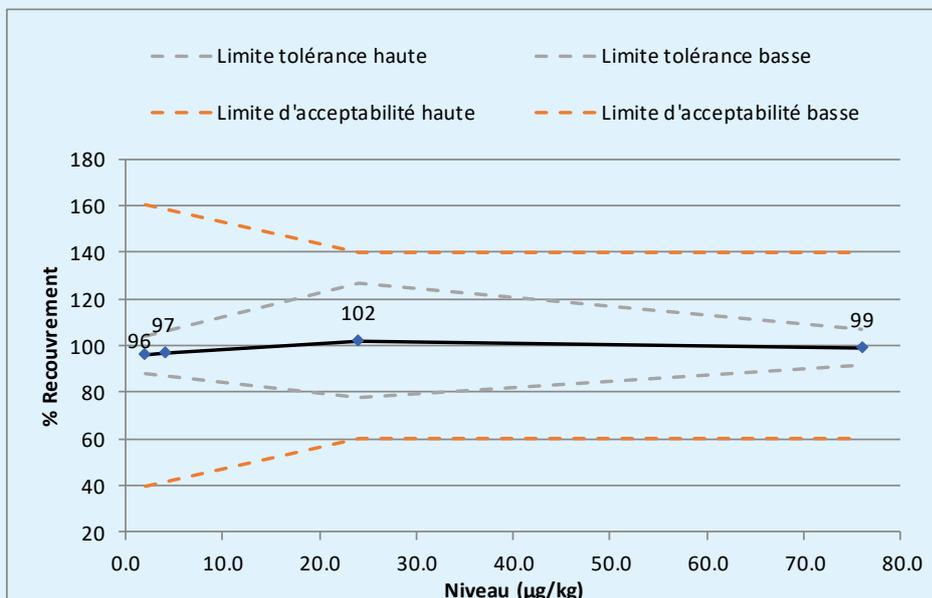
### - Tétraméthrine



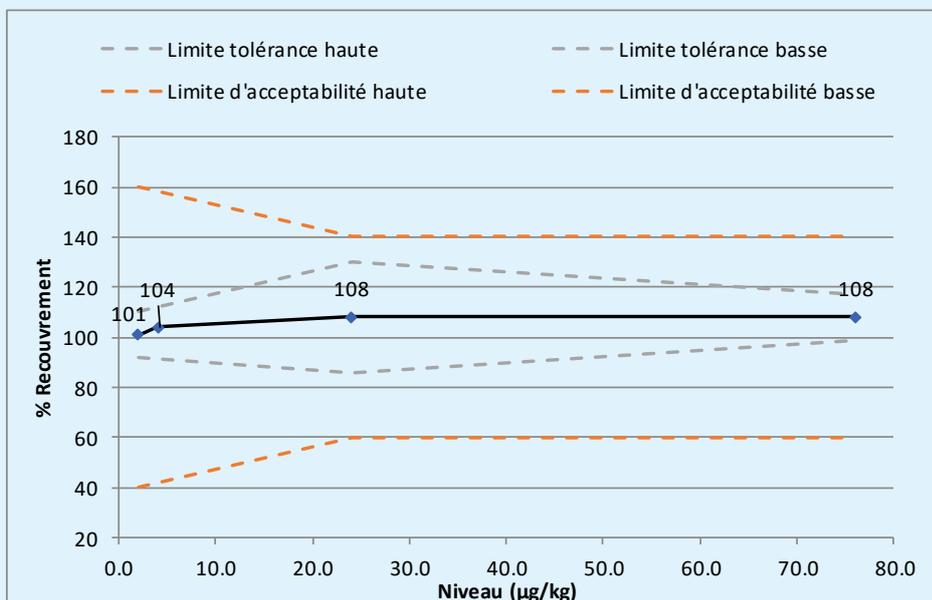
### - Lambda-cyhalothrine



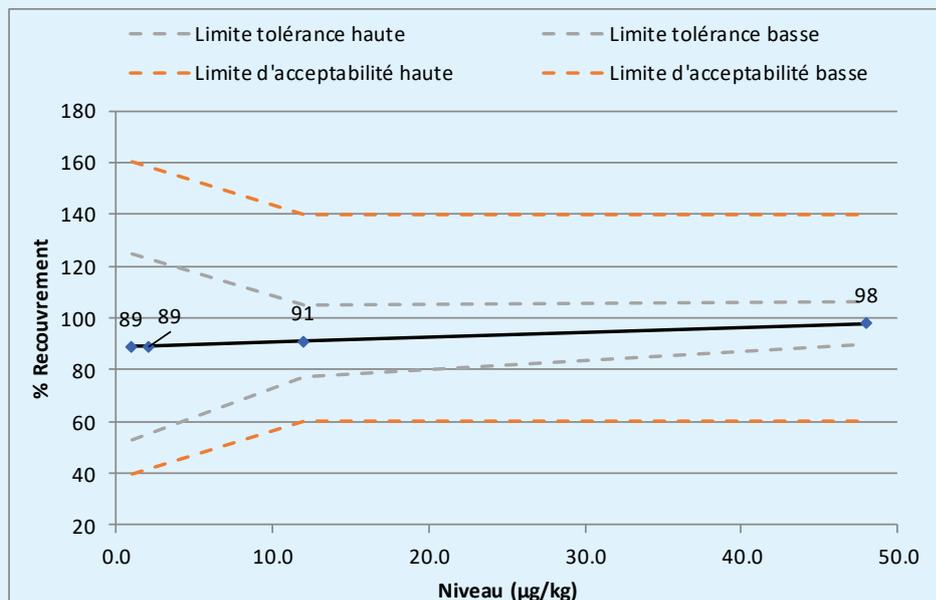
### - Cis-Perméthrine



### - Trans-Perméthrine



- **Deltaméthrine**



**Contacts**

<b>Auteurs</b>	Claudine CHATELLIER, François LESTREMAU
<b>Institut</b>	INERIS
<b>Contact</b>	francois.lestremau@ineris.fr