

Produits phytosanitaires

Méthode d'analyse dans les eaux - Phase dissoute

Généralités

Nom de la famille de substances	Produits phytosanitaires (herbicides, fongicides et insecticides)																																														
Nom des substances individuelles	<p>Acétochlore (ATC), Atrazine (ATZ), Azoxystrobine (AZS), Chlorfenvinphos (CFV), Chlorpyriphos ethyl (CPE), Chlorpyriphos méthyl (CPM), Chlortoluron (CTU), Dichloroaniline (DCA), Dichlorophénylméthyl urée (DCPMU), Diflufénicanil (DFF), Dimétomorphe (DMM), Diuron (DIU), Fénitrothion (FNT), Flumioxazine (FMX), Flufénoxuron (FFX), Isoproturon (IPU), Linuron (LINU), Métolachlore (MTC), Norflurazon (NFZ), Procymidone (PCM), Simazine (SMZ), Spiroxamine (SPX) et Tébuconazole (TBZ)</p> <p>La méthode a aussi été validée pour des composés deutérés : diuron D6, chlorpyriphos ethyl D10, chlorpyriphos méthyl D6, fenitrothion D6, linuron D6, tébuconazole D6 ; et testée mais non validée pour : Carbendazime (CBZ), et Norflurazon désméthyl (NFZD)</p>																																														
Code SANDRE des substances individuelles	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Acétochlore :</td><td style="text-align: right;">1903</td></tr> <tr><td>Atrazine :</td><td style="text-align: right;">1107</td></tr> <tr><td>Azoxystrobine :</td><td style="text-align: right;">1950</td></tr> <tr><td>Chlorfenvinphos :</td><td style="text-align: right;">1464</td></tr> <tr><td>Chlorpyriphos ethyl :</td><td style="text-align: right;">1083</td></tr> <tr><td>Chlorpyriphos méthyl :</td><td style="text-align: right;">1540</td></tr> <tr><td>Chlortoluron :</td><td style="text-align: right;">1136</td></tr> <tr><td>3,4 Dichloroaniline :</td><td style="text-align: right;">1586</td></tr> <tr><td>1-(3,4-Dichlorophényl)-3-méthyl urée :</td><td style="text-align: right;">1929</td></tr> <tr><td>Diflufénicanil :</td><td style="text-align: right;">1814</td></tr> <tr><td>Dimétomorphe :</td><td style="text-align: right;">1403</td></tr> <tr><td>Diuron :</td><td style="text-align: right;">1177</td></tr> <tr><td>Fénitrothion :</td><td style="text-align: right;">1187</td></tr> <tr><td>Flumioxazine :</td><td style="text-align: right;">2023</td></tr> <tr><td>Flufénoxuron :</td><td style="text-align: right;">1676</td></tr> <tr><td>Isoproturon :</td><td style="text-align: right;">1208</td></tr> <tr><td>Linuron :</td><td style="text-align: right;">1209</td></tr> <tr><td>Métolachlore :</td><td style="text-align: right;">1221</td></tr> <tr><td>Norflurazon :</td><td style="text-align: right;">1669</td></tr> <tr><td>Procymidone :</td><td style="text-align: right;">1664</td></tr> <tr><td>Simazine :</td><td style="text-align: right;">1263</td></tr> <tr><td>Spiroxamine :</td><td style="text-align: right;">2664</td></tr> <tr><td>Tébuconazole :</td><td style="text-align: right;">1694</td></tr> </table>	Acétochlore :	1903	Atrazine :	1107	Azoxystrobine :	1950	Chlorfenvinphos :	1464	Chlorpyriphos ethyl :	1083	Chlorpyriphos méthyl :	1540	Chlortoluron :	1136	3,4 Dichloroaniline :	1586	1-(3,4-Dichlorophényl)-3-méthyl urée :	1929	Diflufénicanil :	1814	Dimétomorphe :	1403	Diuron :	1177	Fénitrothion :	1187	Flumioxazine :	2023	Flufénoxuron :	1676	Isoproturon :	1208	Linuron :	1209	Métolachlore :	1221	Norflurazon :	1669	Procymidone :	1664	Simazine :	1263	Spiroxamine :	2664	Tébuconazole :	1694
Acétochlore :	1903																																														
Atrazine :	1107																																														
Azoxystrobine :	1950																																														
Chlorfenvinphos :	1464																																														
Chlorpyriphos ethyl :	1083																																														
Chlorpyriphos méthyl :	1540																																														
Chlortoluron :	1136																																														
3,4 Dichloroaniline :	1586																																														
1-(3,4-Dichlorophényl)-3-méthyl urée :	1929																																														
Diflufénicanil :	1814																																														
Dimétomorphe :	1403																																														
Diuron :	1177																																														
Fénitrothion :	1187																																														
Flumioxazine :	2023																																														
Flufénoxuron :	1676																																														
Isoproturon :	1208																																														
Linuron :	1209																																														
Métolachlore :	1221																																														
Norflurazon :	1669																																														
Procymidone :	1664																																														
Simazine :	1263																																														
Spiroxamine :	2664																																														
Tébuconazole :	1694																																														
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Eau [3] : Eau douce de surface																																														

Principe de la méthode	Principales étapes : - Filtration des échantillons d'eau - Extraction sur barreau aimanté SBSE, après ajout d'un traceur analytique - Désorption liquide - Reprise dans solvant d'injection et ajout d'un étalon interne d'injection - Dosage par LC-MS-MS.
Acronyme	SBSE / LD / LC-MS-MS
Domaine d'application	Limite inférieure : LQ Limite supérieure : dépend du dernier point de gamme injecté, du volume désorbé et de la dilution de l'échantillon (à titre d'indication pour un dernier point de gamme à 100 µg/L, un volume désorbé de 200 µL et sans dilution de l'échantillon : 5 µg/L). Dans tous les cas, < 10 µg/L pour des raisons de contamination des barreaux.
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	- Utilisation de solvants commerciaux de qualité « HPLC » ou « pesticides » - Rinçage de la verrerie lavée à l'acétone de qualité « pestipur® »
Interférents (préciser la matrice)	Interférents identifiés : Aucun Matrices testées : Eau Evian® et eau de surface

AVERTISSEMENT : Il convient que l'utilisateur de cette méthode connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Cette méthode n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur. Certains des solvants utilisés dans le mode opératoire sont toxiques et dangereux. Les manipuler avec précaution.

Il est absolument essentiel que les essais conduits conformément à cette méthode soient exécutés par du personnel ayant reçu une formation adéquate.

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée :	Eau : Phase dissoute [3]
Conditionnement et conservation des échantillons - Nature du contenant de stockage : - Lavage du contenant : - Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :	Flacons en verre ou en PET bruns Lavage à la machine, rinçage à l'acétone 24 heures à 4 °C Les tests pour la conservation des barreaux ont été réalisés. Après extraction, les barreaux se conservent au congélateur jusqu'à désorption.
Filtration : - Type de filtre et méthode de nettoyage : - Type de support de filtration :	- Filtres Whatman en microfibre de verre GF/F, porosité de 0,7 µm, diamètre de 47 mm (préalablement rincés avec 200 mL d'eau ultrapure et séchés au moins 2 heures à l'étuve à 105 °C) - Système de filtration en verre (1 litre) Sartorius

Analyse

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

Eau : Eau douce de surface **20 mL**

Extraction

- Micro-extraction

SBSE (Stir Bar Sorptive Extraction) / LD (Liquid Desorption)

Conditionnement des barreaux :

Avant utilisation, les barreaux sont placés à l'étuve à 50°C pendant 24h puis conditionnés 30 minutes aux ultrasons dans un tube en verre Borex® 16x100 mm avec 10 mL d'un mélange méthanol / dichlorométhane (50/50, v/v). Les barreaux SBSE sont ensuite séchés sur chiffon Kimwipes® puis passés 1 heure à l'étuve à 50°C.

Extraction et désorption chimique

Peser 2,0 g de NaCl, ajouter l'échantillon d'eau dopé au Linuron et agiter pour dissoudre le NaCl.

Insérer ensuite le SBSE et placer le tout sous agitation (800 tr/min) pendant 3h. Ensuite, retirer le SBSE à l'aide d'un barreau aimanté, le rincer à l'eau MilliQ® et le sécher sur Kimwipes®.

Pour la désorption chimique, le SBSE est placé 15 minutes aux ultrasons dans un vial avec insert préalablement rempli avec 200µL d'un mélange méthanol / acétonitrile (50/50, v/v). Rajouter des glaçons dans le bac à ultrasons pour éviter une trop forte élévation de température. A l'aide d'un barreau aimanté, retirer le SBSE de l'insert et le sécher sur Kimwipes®. Rincer le barreau SBSE 30 minutes aux ultrasons dans un tube en verre Borex® 16*100 mm avec 10mL d'un mélange méthanol / acétonitrile (50/50, v/v), le sécher sur Kimwipes®. Après le rinçage, reconditionner le barreau SBSE une nuit à l'étuve à 50°C.

Pour la mise en vial, ajouter dans un insert 10µL d'une solution en Diuron D6 (étalon interne d'injection) à 20µg/L, 150µL d'eau HPLC et 40µL d'extrait désorbé.

Si le dosage peut être réalisé dans les 48h, l'extrait est stocké au réfrigérateur avec la gamme étalon correspondante, sinon l'ensemble est conservé au congélateur jusqu'à l'analyse par HPLC/MS/MS.

Conservation de l'extrait

Si l'analyse par LC-MS-MS ne peut pas être réalisée dans les 48h suivant l'extraction, les extraits sont conservés au congélateur avec la gamme d'étalonnage extraite correspondante

Volume ou masse finale avant analyse :

200 µL

Méthode analytique utilisée :

LC-MS-MS

Séparation HPLC.

- Colonne : C18 Atlantis T3 Waters (100 mm x 2,1 mm x 3 µm) ;
- Température de colonne : 30 ± 5 °C
- Gradient : phase mobile (A) eau acidifiée (0,1 % v/v acide formique à

- 99 %) (B) acétonitrile acidifié (0,1 % v/v acide formique à 99 %)
- Débit : 0,3 mL/minutes
 - Durée d'analyse : 25 min
 - Gradient :
 - 0 - 2 min : 90% (A) / 10% (B)
 - 2 - 3 min : 90% (A) / 10% (B) → 30% (A) / 70% (B)
 - 3 - 4 min : 30% (A) / 70% (B)
 - 4 - 5 min : 30% (A) / 70% (B) → 20% (A) / 80% (B)
 - 5 - 15 min : 20% (A) / 80% (B)
 - 15 - 15,1 min : 20% (A) / 80% (B) → 90% (A) / 10% (B)
 - 15,1 - 25 min : 90% (A) / 10% (B)

Ionisation par électrospray en mode positif (ESI+)

Molécule	Ion précurseur (m/z) [M+H] ⁺	Ion fils 1 (m/z)	Ion fils 2 (m/z)
ATC	270	224	148
ATZ	216	174	104
AZS	404	372	344
CFV	359	155	99
CPE	352	200	97
CPE D10	360	199	163
CPM	322	125	290
CPM D6	328	131	291
CTU	213	72	140
DFF	395	266	246
DMM	388	301	165
DIU	233	72	46
DIU D6	239	78	52
DCA	162	127	74
DCPMU	219	162	127
FNT	278	125	109
FNT D6	284	249	131
FFX	489	158	141
FMX	355	327	77
IPU	207	72	165
LINU	249	160	182
LINU D6	255	159.9	185
MTC	284	252	176
NFZ	304	284	88
PCM	284	256	-
SMZ	202	132	124
TBZ	308	70	125
TBZ D6	314	72	125
SPX	298	144	100

Equipements ¹ (modèles utilisés) :

API 4000, Applied Biosystems

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

Type d'étalonnage	Interne
Modèle utilisé	Linéaire (1/x)
Etalons / Traceurs utilisés	Traceur de méthode globale : IPU D6 + traceur d'injection : diuron D6 à 1 µg/L
Domaine de concentration	0,1 à 100 µg/L
Méthode de calcul des résultats	Utilisation du rendement : Non. Quantification avec une gamme d'étalonnage extraite.
Rendement	
Blancs	

Références de la méthode

La méthode est dérivée de la publication suivante	MARGOUM C., GUILLEMAIN C., YANG X., COQUERY M. (2013). Stir bar sorptive extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of pesticides in water samples: method validation and measurement uncertainty. Talanta, 116, p.1-7.
Norme dont est tirée la méthode	S/O
Niveau de validation selon Norman	Niveau 2

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée	NF T90-210 (2009)
Domaine de validation	De LQ à 10 µg/L maximum
Matériaux de référence utilisés	S/O
Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)	Des blancs solvants doivent être injectés en début de série d'analyses pour s'assurer de la stabilité de la ligne de base et de la propreté du système, puis régulièrement au cours de l'analyse et des blancs SBSE afin de vérifier l'absence de contamination.
Rendement - par niveau de concentration	Les rendements moyens obtenus après extraction d'une eau (Evian®) dopée à 3 niveaux de concentrations (LQ, 20 et 80% du domaine, n=10 pour chacun) sont compris entre 77 et 95 % (RSD<15%).

**Limite de quantification(LQ)
Limite de détection (LD)**

Composé	LQ (µg/L)	Composé	LQ (µg/L)
FNT	0,5	TBZ	0,1
DCA	0,05	DFF	0,2
DCPMU	1	ATC	0,05
IPU	0,1	ATZ	0,005
DMM	0,1	CPE-d10	0,01
PCM	0,2	CPM	0,05
AZS	0,02	CPM-d6	0,05
NFZ	0,2	CTU	0,05
CFV	0,1	FMX	0,2
LINU	0,1	FNT-d6	0,1
CPE	0,05	LINU-d6	0,005
FFX	0,2	MTC	0,005
DIU	1	SMZ	0,05
SPX	0,02	TBZ-d6	0,005

Incertitudes (%) sur les résultats

Incertitudes élargies (k=2) déterminées expérimentalement dans des eaux de natures différentes à 3 niveaux de concentrations (LQ, 20% et 80% du domaine)

- par niveau de concentration

Molécule	Incertitude (%)		
	@LQ	@20 %	@80 %
FNT	18	16	20
DCA	21	16	15
DCPMU	14	13	18
IPU	22	19	19
DMM	21	22	18
PCM	13	20	15
AZS	16	16	19
NFZ	17	12	15
CFV	24	17	15

Molécule	Incertitude (%)		
	@LQ	@20%	@80%
LINU	18	16	22
CPE	19	16	13
FFX	20	17	18
DIU	20	18	20
SPX	16	17	21
TBZ	21	17	24
DFF	22	18	14
ATC	49	24	15
ATZ	34	22	18
CPE-d10	36	16	10
CPM	14,	14	12
CPM-d6	30	17	12
CTU	21	18	20
FMX	9	10	9
FNT-d6	17	15	8
LINU-d6	23	15	12
MTC	21	13	10
SMZ	21	18	15
TBZ-d6	24	23	5

Contacts

Auteurs

Christelle Margoum

Institut

Irstea (Cemagref) Lyon

Contact

christelle.margoum@irstea.fr