

Pesticides

Méthode d'analyse dans les sédiments

Généralités

Nom de la famille de substances	Carbamate, carboxamide, chloroacétanilide, dicarboximide, dinitroaniline, morpholine, organophosphoré, oxadiazole, phénylurées, pyridazinone, strobilurine, triazine, triazole.
Nom des substances individuelles	Acétochlore, alachlore, atrazine, carbendazime, carbofuran, chlorfenvinphos, chlorpyrifos, cyproconazole, 1-(3,4-dichlorophényl)-3-méthyl urée (DCPMU), 1-(3,4-dichlorophényl)-urée (DCPU), déséthylatrazine (DEA), déséthylterbuthylazine (DET), désisopropylatrazine (DIA), diflufenican, diméthoate, diméthomorphe, flusilazole, hexazinone, 1-(4-isopropylphényl)-3-méthyl urée (IPPMU), 1-(4-isopropyl phényl) urée (IPPU), isoproturon, kresoxim-méthyl, linuron, métolachlore, métoxuron, norflurazon, oxadiazon, pendiméthaline, procymidone, pyrimicarbe, simazine, tébuconazole, terbuthylazine.
Code SANDRE des substances individuelles	Voir Tableau 5.
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Sédiments de rivière [6]
Principe de la méthode	Cette fiche décrit des conditions analytiques d'une méthode multi-résidus ayant pour but d'analyser des pesticides sur sédiments. L'extraction est réalisée par solvant sous pression ou « pressurized fluid extraction » (PFE), puis l'extrait est purifié au moyen d'une extraction sur phase solide (SPE) et analysé par chromatographie gazeuse et liquide couplées à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS et LC-MS/MS).
Acronyme	GC-EI-MS/MS et LC-ESI-MS/MS
Domaine d'application	Sédiment de rivière constitué majoritairement de sable et contenant moins de 2 % de matière organique.
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	Granulométrie et teneur en matière organique (perte au feu).

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

Une purification de l'extrait est nécessaire, notamment afin d'éviter un encrassement rapide de l'injecteur et/ou de la tête de colonne GC et aussi pour réduire certains effets matriciels (phénomènes de discrimination dans l'injecteur ou d'extinction de signal en electrospray). Concernant l'analyse GC, l'ajout d'une pré-colonne (retention gap) est envisageable et selon les volumes injectés et l'équipement employé, un mode d'injection en mode splitless avec une surpression (transfert accéléré des analytes en tête de colonne) est préférable à une injection en mode PTV.

Interférents (préciser la matrice)

Interférents identifiés :

La méthode utilisée consiste à réaliser, sur des échantillons réels (sédiments de rivière), des ajouts dosés (n=10) à des teneurs au moins équivalentes à celles déjà présentes dans les échantillons et couvrant tout le domaine de mesure évalué lors de l'étude de linéarité.

Les valeurs de chaque droite dite "de recouvrement" ont été calculées ainsi :

Valeur après ajout – valeur avant ajout = f (ajout théorique)

Nous avons vérifié que les coefficients **a** (pente) et **b** (ordonnée à l'origine) des deux droites de recouvrement étaient respectivement et significativement non différents de **1** et de **0** (t-test bilatéral, $\alpha=0,01$ et 8 degrés de libertés).

Matrices testées :

sédiment de rivière (matière organique : $16,5 \text{ mg.g}^{-1}$, fraction minérale : 96,4 % sable, 3,6 % argiles et limons).

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 :

Sédiments : fraction analysée inférieure à 2 mm [32]

Conditionnement et conservation des échantillons

- Protocole :

Réaliser l'échantillonnage (20 g minimum) en prélevant les sédiments de surface (couche superficielle < 2 cm).

- Nature du contenant de stockage :

Barquettes en aluminium ou flacons à col large en verre.

- Lavage du contenant :

Rincer les contenants avec de l'eau déminéralisée, puis nettoyer à l'aide d'un détergent alcalin. Rincer avec de l'eau déminéralisée, puis ultra pure et enfin de l'éthanol (95 %).

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

Conservation jusqu'à 6 mois à -18°C .

Pré-traitement des échantillons liquide ou solide

Tamisage à 2 mm.
Séchage des sédiments congelés au moyen d'un lyophilisateur Alpha 1-2 LD® plus (CHRIST).

Analyse

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

10 g de sédiment sec

Extraction

- PFE (T°C, P, solvant d'extraction, nombre de cycles, % de flush)

Système d'extraction ASE 200® (Dionex) avec module multisolvants. Placer un filtre de cellulose/fibre de verre au fond de la cellule de 22 mL, ajouter 10 g de sédiment sec puis compléter avec du sable de Fontainebleau (réduit le volume de solvants nécessaire à l'extraction, env. 30-40 mL au total).

- pression : 100 bars,
- température : 115°C,
- solvant : mélange binaire méthanol/dichlorométhane (85/15, v/v),
- 2 cycles d'extraction,
- 30 % de flush

Purification

(type de purification, paramètres de purification, méthode de concentration)

Utiliser des cartouches SPE à support échangeur d'anions fort du type Oasis MAX® (6 mL, 150 mg, Waters).

- L'extrait issu de l'étape PFE est dans en premier temps évaporé sous azote (ou RapidVap® (Thermo)/TurboVap® (Zymark) si disponible) jusqu'à 10 mL (l'échantillon est en solution dans du méthanol à ce stade). Les cartouches SPE sont alors disposées sur un manifold (par ex. Visiprep® (Supelco)) où l'on a préalablement placé des tubes en verre de récupération de 15 mL.
- Les cartouches sont conditionnées avec 6 mL de dichlorométhane, puis 6 mL de méthanol. Faire percoler (environ 5 mL.min⁻¹) les échantillons à purifier après avoir vidé les tubes de récupération. Cette étape permet de retenir les interférents anioniques (acides humiques par ex.), les composés d'intérêt étant majoritairement élués grâce au méthanol contenu dans l'extrait à purifier. Une deuxième fraction de 3 mL de dichlorométhane est ensuite utilisée pour l'élution des analytes les plus hydrophobes qui pourraient être encore retenus sur le support polymérique du type polystyrène-divinylbenzène.
- On collecte, regroupe et homogénéise les deux fractions dans les tubes de récupération de 15 mL puis on concentre l'extrait jusqu'à 1 mL avec une évaporation sous azote (ou utilisation d'un RapidVap® (Thermo)/TurboVap® (Zymark) si disponible).

Séparer ensuite cet extrait en 2 :

- prélever une aliquote de 500 µL dans laquelle on ajoute 3 étalons internes (5 µL d'une solution à 10 ng.µL⁻¹ de carbofuran d3, diuron d6 et méthomyl d3). Evaporer à sec, reprendre avec 500 µL d'un mélange eau : acétonitrile (90 : 10, v/v) avant analyse HPLC-ESI-MS/MS ou conservation.
- - ajouter 4 étalons internes (5 µL d'une solution à 10 ng.µL⁻¹ d'atrazine d5, chlorpyriphos d10, métolachlor d6 et tébuconazole d6) dans les 500 µL d'extrait restant. Evaporer à sec, reprendre dans 500 µL d'acétate d'éthyle avant analyse GC-MS/MS ou conservation.

Conservation de l'extrait

Conserver les extraits à -18°C (conservation maximale d'un mois).

Volume ou masse finale avant analyse :

500 µL (extrait repris dans l'acétate d'éthyle ou un mélange eau : acétonitrile).

Méthode analytique utilisée :

Indiquer les paramètres complets de la méthode (exemple pour la chromatographie : gradient, phase mobile, débit, T °C, colonne, mode de détection)

Pour la détection par masse : mode d'ionisation et ions de quantification et de confirmation

Analyse LC-MS/MS

Colonne Gemini-NX C18 (100 mm x 2 mm i.d, 3 µm) avec une précolonne du type SecurityGuard cartridges Gemini-NX C18 (4 x 2.0 mm, 5 µm) (Phenomenex).

Phase mobile : A (acétonitrile) et B (tampon acétate d'ammonium 5 mM).

Débit : 400 µL.min⁻¹

Volume d'injection : 50 µL

Tableau 1. Gradient d'élution HPLC

Temps (min)	A (%)	B (%)
0	10	90
1	10	90
4	30	70
8	40	60
9.5	80	20
10.5	80	20
11	10	90
15	10	90

Paramètres source electrospray et analyseurs : température interface : 100 °C, mode d'ionisation positif, tension de capillaire : + 5500 V, gaz de nébulisation : 45 psi, gaz séchant : 75 psi, température gaz séchant 450 °C, résolution unitaire.

Tableau 2. Détection ESI-MS/MS, transitions SRM et étalons internes associés

Analytes et étalons internes	Etalon interne associé	DP ¹	Première transition	CE ²	Deuxième transition	CE ²
Carbendazime	Méthomyl d3	26	192/160	27	192/105	53
Carbofuran	Carbofuran d3	41	222/165	17	222/123	31
DCPMU	Diuron d6	35	219/127	40	219/162	40
DCPU	Diuron d6	30	205/127	40	205/162	40
Diméthoate	Méthomyl d3	41	230/199	13	320/125	29
Diuron	Diuron d6	25	233/72	40	233/46	40
IPPMU	Diuron d6	30	193/94	30	193/151	30
IPPU	Diuron d6	30	179/137	30	179/94	30
Isoproturon	Diuron d6	30	207/72	35	207/165	35
Linuron	Diuron d6	30	249/160	30	249/182	30
Métoxuron	Diuron d6	30	229/72	40	229/46	40
Carbofuran d3	N/A	41	225/123	31		
Diuron d6	N/A	25	239/78	40		
Méthomyl d3	N/A	11	166/88	15		

¹ Declustering potential (V)² Collision energy (V)

Analyse GC-MS/MS

Rxi-5Sil MS (Restek) (30 m x 0,25 mm, 0,25 μ m) ou équivalent (DB-5ms, VF-5ms, CP-Sil 8 Low-Bleed/MS, DB-5ms UI, Rtx-5Sil MS, etc.). Possibilité d'installer une pré-colonne/retention gap désactivé (5 m x 0,32 mm)

Phase mobile : Hélium

Débit : 1,2 mL.min⁻¹

Injecteur : 280°C, Split/splitless en mode splitless avec surge (surpression), voie de split fermée 0,5 minutes puis ouverture avec débit de fuite de 100 ml.min⁻¹, surpression de 350 kPa pendant 0,5 minutes.

Volume d'injection : 1 μ L

Température ligne de transfert : 250°C

Tableau 3. Gradient de température du four GC

	°C.min ⁻¹	Température (°C)
t0 (isotherme 0,5 min)	N/A	50
Rampe 1	17	190
Rampe 2	4	220
Rampe 3	20	300
Isotherme 5,26 min	N/A	300

Paramètres de détection : mode d'ionisation du type impact électronique (EI), courant d'émission : 25 μ A, pression du gaz de collision (Argon) : 1,2 mTorr, acquisition en mode selected reaction monitoring (SRM), cycle-time : 200 ms, résolution unitaire, température de source : 250 °C.

Tableau 4. Détection EI-MS/MS, transitions SRM et étalons internes associés

Analytes et étalons internes	Etalon interne associé	Première transition	CE ¹	Deuxième transition	CE ¹
Acétochlore	Atrazine d5	223/132	15	223/146	15
Alachlore	Atrazine d5	188/160	10	188/132	15
Atrazine	Atrazine d5	200/104	20	200/122	20
Chlorfenvinphos	Atrazine d5	323/267	15	267/159	15
Chlorpyriphos	Métolachlore d6	314/258	15	314/286	12
Cyproconazole	Tébuconazole d6	222/125	20	224/127	20
DEA	Atrazine d5	172/94	10	172/104	10
DET	Atrazine d5	186/104	10	186/83	10
DIA	Atrazine d5	173/110	10	173/145	5
Diiflufenican	Tébuconazole d6	394/266	10	266/246	10
Diméthomorphe	Tébuconazole d6	301/165	10	387/301	12
Flusilazole	Tébuconazole d6	233/152	20	233/165	20
Hexazinone	Atrazine d5	171/85	10	171/71	10
Kresoxim-méthyl	Tébuconazole d6	206/89	30	206/116	15
Métolachlore	Métolachlore d6	238/162	15	162/133	15
Norflurazon	Tébuconazole d6	303/145	20	305/145	20
Oxadiazon	Atrazine d5	258/175	10	304/260	10
Pendiméthaline	Tébuconazole d6	252/162	12	252/191	12
Procymidone	Atrazine d5	283/96	15	283/255	10
Pyrimicarbe	Atrazine d5	238/166	10	166/96	15
Simazine	Atrazine d5	201/172	10	201/138	10
Tébuconazole	Tébuconazole d6	250/125	20	252/127	20
Terbutylazine	Atrazine d5	214/104	10	214/132	10
Atrazine d5	N/A	205/105	20	N.D.	
Chlorpyriphos d10	N/A	324/260	10	N.D.	
Métolachlore d6	N/A	242/166	10	N.D.	
Tébuconazole d6	N/A	256/125	10	N.D.	

¹ Collision energy (eV)

**Equipements¹
(modèles utilisés) :**

TRACE GC ULTRA® (THERMO Scientific) muni d'un passeur d'échantillons liquides AS 3000® Autosampler (THERMO Scientific) et couplé à spectromètre de masse Quantum® GC (THERMO Scientific) équipé d'un triple quadripôle. Le pilotage du système se fait via le logiciel Xcalibur® 2.1

Chaîne HPLC : ULTIMATE 3000® dual gradient micro (Dionex).

Spectromètre de masse : API 2000® triple quadrupole mass spectrometer (Applied Biosystems/MDS SCIEX) piloté avec le logiciel Analyst 1.5.2.

Type d'étalonnage

Interne

Modèle utilisé

Linéaire

Etalons / Traceurs utilisés

Etalons internes : atrazine d5, carbofuran d3, chlorpyriphos d10, diuron d6, méthomyl d3, métolachlore d6, tébuconazole d6.

Domaine de concentration

Avant chaque série, préparer un étalonnage en au moins 5 points selon ISO 8466-1 sur le domaine de travail :

Tableau 5. Gamme de concentrations instrumentales et codes SANDRE des analytes

Pesticides	Codes SANDRE	Gamme de linéarité instrumentale (ng.mL ⁻¹)
Acétochlore	1903	2 – 500
Alachlore	1101	2 – 500
Atrazine	1107	5 - 500
Carbendazime	1129	1 - 100
Carbofuran	1130	1 - 100
Chlorfenvinphos	1464	2 – 500
Chlorpyriphos-éthyl	1083	1 - 500
Cyproconazole	1680	2 – 500
DCPMU	1929	5 - 100
DCPU	1930	5 - 100
DEA	1108	5 - 500
DET	2045	2 – 500
DIA	1109	5 - 500
Diflufenican	1814	2 – 500
Diméthoate	1175	1 - 100
Diméthomorphe	1403	1 - 500
Diuron	1177	2 - 100
Flusilazole	1194	2 – 500
Hexazinone	1673	2 – 500
IPPMU	2738	1 - 100
IPPU	2847	1 - 100
Isoproturon	1208	1 - 100
Kresoxim-méthyl	1950	1 - 500
Linuron	1209	1 - 100

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

Pesticides	Codes SANDRE	Gamme de linéarité instrumentale (ng.mL ⁻¹)
Métolachlore	2974	2 – 500
Métoxuron	1222	1 - 100
Norflurazon	1669	2 – 500
Oxadiazon	1667	2 – 500
Pendiméthaline	1234	2 – 500
Procymidone	1664	1 - 500
Pyrimicarbe	1528	1 - 500
Simazine	1263	2 – 500
Tébuconazole	1694	2 – 500
Terbuthylazine	1268	2 – 500

Méthode de calcul des résultats

Rendement
Blancs

Utilisation du rendement : Correction par le calcul

Blanc :

Appareillage : blancs solvants d'injection

Méthode : application du protocole complet à 10 g de sable de Fontainebleau

Soustraction du blanc : Oui

Références de la méthode**La méthode est dérivée de la publication suivante**

S. Lissalde, N. Mazzella, V. Fauvelle, F. Delmas, P. Mazellier, B. Legube, 2011. Liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method for thirty-three pesticides in natural water and comparison of performance between classical solid phase extraction and passive sampling approaches. Journal of Chromatography A 1218, 1492-1502.

Norme dont est tirée la méthode

/

Niveau de validation selon Norman

Niveau 1

Paramètres de validation de la méthode**Norme utilisée**

NF T90-210 (version mai 2009)

Domaine de validation

Tableau 6. Gammes de concentrations des analytes dans l'échantillon

Pesticides	Minimum (ng.g ⁻¹)	Maximum ^a (ng.g ⁻¹)
Acétochlore	0.6	79
Alachlore	0.5	76
Atrazine	0.7	70
Carbendazime	0.1	10
Carbofuran	0.1	11
Chlorfenvinphos	0.4	63
Chlorpyriphos-éthyl	0.5	93
Cyproconazole	0.3	65

Pesticides	Minimum (ng.g ⁻¹)	Maximum ^a (ng.g ⁻¹)
DCPMU	0.5	11
DCPU	0.6	12
DEA	0.5	77
DET	0.4	78
DIA	0.7	67
Diflufenican	0.4	58
Diméthoate	0.1	15
Diméthomorphe	0.6	51
Diuron	0.2	11
Flusilazole	0.5	68
Hexazinone	0.4	60
IPPMU	0.1	13
IPPU	0.1	13
Isoproturon	0.1	13
Kresoxim-méthyl	0.3	68
Linuron	0.1	12
Métolachlore	0.3	77
Métoxuron	0.2	17
Norflurazon	0.4	57
Oxadiazon	0.4	60
Pendiméthaline	0.4	67
Procymidone	0.3	65
Pyrimicarbe	0.3	85
Simazine	0.8	64
Tébuconazole	0.4	62
Terbuthylazine	0.4	68

^a Dilution à réaliser si la teneur initiale est hors gamme.

Matériaux de référence utilisés

Non disponibles.

Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)

< LD

Rendement - par type de matrice

Sédiment de rivière (matière organique : 16,5 mg.g⁻¹, fraction minérale : 96,4 % sable, 3,6 % argiles et limons).

- par niveau de concentration

Deux niveaux de concentration à 10 et 40 ng.g⁻¹ (n=10) pour l'analyse LC-MS/MS et 100 et 400 ng.g⁻¹ (n=10) pour l'analyse GC-MS/MS

- par molécule (si moyenne préciser le nombre de répétitions et l'écart-type)

Tableau 7. Rendements des analytes

Pesticides	Rendements % (C.V.,%)
Acétochlore	63 (14.2)
Alachlore	66 (16.7)
Atrazine	71 (19.7)
Carbendazime	96 (19.4)

Pesticides	Rendements % (C.V.,%)
Carbofuran	94 (18.1)
Chlorfenvinphos	80 (33.1)
Chlorpyriphos-éthyl	54 (10.8)
Cyproconazole	77 (10.9)
DCPMU	94 (23.2)
DCPU	81 (14.9)
DEA	65 (20.2)
DET	64 (20.6)
DIA	75 (25.8)
Diflufenican	86 (11)
Diméthoate	68 (11.6)
Diméthomorphe	99 (11)
Diuron	94 (15.9)
Flusilazole	74 (12)
Hexazinone	83 (31.6)
IPPMU	76 (13.6)
IPPU	75 (11.7)
Isoproturon	74 (12.2)
Kresoxim-méthyl	74 (11.5)
Linuron	85 (18.5)
Métolachlore	65 (24.6)
Métoxuron	60 (9.9)
Norflurazon	87 (11.2)
Oxadiazon	84 (25)
Pendiméthaline	75 (22)
Procymidone	77 (21)
Pyrimicarbe	59 (12.2)
Simazine	78 (24.8)
Tébuconazole	81 (14.8)
Terbutylazine	73 (26.7)

Correction des concentrations avec les rendements.

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

Limites de quantification validées selon la norme NF T90-210 (version de septembre 2008) avec le dopage du sédiment (0,5 ou 1 ng.g⁻¹) et test d'exactitude (LQ +/- 60 % x LQ).

Tableau 8. Limites de quantification et de détection par analyte

Pesticides	LQ (ng.g ⁻¹)	LD (ng.g ⁻¹)
Acétochlore	0.8	0.3
Alachlore	0.8	0.3
Atrazine	1.4	0.5
Carbendazime	0.5	0.2
Carbofuran	0.5	0.2
Chlorfenvinphos	0.6	0.2
Chlorpyriphos-éthyl	0.9	0.3
Cyproconazole	0.6	0.2

Pesticides	LQ (ng.g ⁻¹)	LD (ng.g ⁻¹)
DCPMU	0.5	0.2
DCPU	0.6	0.2
DEA	1.5	0.5
DET	0.8	0.3
DIA	1.3	0.4
Diflufenican	0.6	0.2
Diméthoate	0.7	0.2
Diméthomorphe	0.5	0.2
Diuron	0.5	0.2
Flusilazole	0.7	0.2
Hexazinone	0.6	0.2
IPPMU	0.7	0.2
IPPU	0.7	0.2
Isoproturon	0.7	0.2
Kresoxim-méthyl	0.7	0.2
Linuron	0.6	0.2
Métolachlore	0.8	0.3
Métoxuron	0.8	0.3
Norflurazon	0.6	0.2
Oxadiazon	0.6	0.2
Pendiméthaline	0.7	0.2
Procymidone	0.6	0.2
Pyrimicarbe	0.8	0.3
Simazine	0.6	0.2
Tébuconazole	0.6	0.2
Terbutylazine	0.7	0.2

Incertitudes (%) sur les résultats

Non évaluées

Contacts**Auteurs**

Nicolas Mazzella

Institut

Cemagref – UR REBX

Contactnicolas.mazzella@irstea.fr