

Métabolite M700F001

Méthode d'analyse dans l'eau (fraction aqueuse)

Généralités

Nom de la famille de substances	Pyrazole
Nom des substances individuelles	M700F001 Synonymes : 3-(Difluorométhyl)-1-méthyl-1H-pyrazole-4-carboxylique Acid ; CSAA798670 ; sedaxane métabolite 01 ; NOA449410 ; pyrazole acid. Métabolite commun aux pesticides : benzovindiflupyr (8042), fluxapyroxade (7342) et sedaxane (7724)
Code SANDRE des substances individuelles	Non référencé dans le SANDRE Code CAS : 176969-34-9
Matrice analysée	Eau : [3] Eaux souterraines
Principe de la méthode	<p>L'échantillon d'eau est analysé par SPE en ligne et UPLC/MSMS après ajout d'un étalon interne. La quantification se fait par étalonnage interne.</p> <p>La méthode propose le choix de 2 étalons internes :</p> <ul style="list-style-type: none"> - l'homologue marqué M700F001 D4, - le mécoprop D3. <p>L'homologue marqué M700F001-D4 a été synthétisé spécialement pour ce développement par un fournisseur de composés marqués. Cependant ce composé n'étant pas commercialisé et son identité n'étant pas rigoureusement confirmée par le fournisseur, un autre étalon interne marqué commercialisé, a été sélectionné : le mécoprop D3 qui possède une fonction acide comme le métabolite d'intérêt et est détecté en ESI-.</p> <p>Les performances de la méthode sont donc présentées dans les 2 cas, quantification du M700F001 avec le M700F001 D4 ou avec le mécoprop D3. La validation a été réalisée en présence simultanée des deux étalons internes.</p>
Acronyme	SPEon line-UPLC/MSMS
Domaine d'application	30 à 1000 ng/L

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 :

Phase aqueuse : [3]

Conditionnement et conservation des échantillons

- Nature du contenant de stockage :
- Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :

Les échantillons sont conservés à l'obscurité à 4°C en flacon en verre.

L'étude de stabilité a été réalisée sur une eau souterraine (MES < 2 mg/L ; COT 0,5 mg/L ; conductivité de 450 µS/cm) dopée à 200 ng/L et conservées à 4°C pendant 14 jours à l'obscurité, en l'absence et en présence de 3 composés parents du M700F001 (sedaxane, benzovindiflupyr et fluxapyroxade) à 500 ng/L chacun. Les essais ont été réalisés avec les pas de temps de 0, 2, 3, 7, 10 et 14 jours avec des triplicats pour chaque journée. Des essais de congélation (-18°C) pendant 10 et 14 jours ont également été réalisés, en triplicats.

Le critère d'instabilité maximale acceptable est fixé à 20%.

Le M700F001 est stable jusqu'à 14 jours, conservé à l'obscurité à $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ou par congélation à -18°C.

La formation de M700F001 via les composés parents n'a pas été constatée dans ce délai.

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai

1 mL

Volume avant analyse :

1 mL d'échantillon auquel on ajoute 50 µL d'étalon interne (6 µg/L pour le M700F001 D4 et 0,6 µg/L pour le mécoprop D3, dans le méthanol) et 50 µL d'une solution d'acide formique à 2% (v/v), soit un volume total de 1,1 mL.

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

SPE en ligne :

Colonne Xbridge C18 Direct Connect HP (3 cm x 2,1mm ID x 10 µm, Waters), non thermostatée

Température de l'échantillon : 10°C

Volume d'injection : 100 µL

Vitesse de prélèvement : 250 µL/min

Temps de chargement : 1 min

Temps (min)	Débit (mL/min)	Eau + 0,1% d'acide formique (%)	Méthanol (%)
0	1,0	100	0
1,00	1,0	100	0
1,01	0,3	0	100
6,00	0,3	0	100
6,01	1,0	0	100
7,00	1,0	0	100
7,01	1,0	100	0
10,00	1,0	100	0

Chromatographie :

Colonne HSS-T3 (10 cm x 2,1 mm x 1,8 µm, Waters)

Température de colonne : 50 °C

Phase mobile : 0,3 mL/min

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

Voie B : Méthanol avec 0,01% d'acide formique (v/v)

Temps (min)	Voie A (%)	Voie B (%)
0	100	0
1,0	100	0
4,5	0	100
6,0	0	100
6,1	100	0
10,0	100	0

Temps de rétention du M700F001 : 3,7 min

Temps de rétention du M700F001 D4 : 3,7 min

Temps de rétention du mécoprop D3 : 5,1 min

Spectrométrie de masse :

Mode d'ionisation : ionisation électrospray, mode négatif

Température de la source : 150 °C

Température de désolvatation : 600 °C

Débit gaz du cône : 150 L/h

Débit gaz de désolvatation : 800 L/h

Capillaire : 3,0 KV

Conditions d'ionisation et de fragmentation :

	Tension de cône (V)	Quantification		Confirmation	
		Transition (m/z)	Energie de collision (eV)	Transition (m/z)	Energie de collision (eV)
M700F001	10	175>91	19	175>111	16
M700F001 D4	20	179>120	15	179>107	15
Mécoprop D3	10	216>144	15	216>71	1

Equipements

Chromatographe ultra haute pression Acquity® (Waters) équipé d'une pompe Acquity QSM (pour la SPE en ligne), d'une pompe Acquity BSM et d'un passeur d'échantillons automatique réfrigéré, avec dispositif d'injection permettant d'introduire une prise d'essai jusqu'à 1000 µL.
Spectromètre de masse en tandem (triple quadripôle) XEVO-TQXS® (Waters) en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring).

Type d'étalonnage

Interne

Modèle utilisé
Etalons / Traceurs utilisés

Linéaire pondéré en 1/x (dans les 2 cas) .
Etalon interne : M700F001 D4 ou mécoprop D3.
Préparation d'une solution méthanolique à 500 mg/L à partir du produit pur, puis dilution dans le méthanol à 10 mg/L.

Domaine de concentration

15 à 3000 ng/L
Solutions d'étalonnage préparées dans l'eau de qualité HPLC/MS. L'eau d'Evian peut convenir également.

Méthode de calcul des résultats

Rendement
Blancs

Etalonnage dans l'eau de qualité HPLC/MS. L'eau d'Evian peut convenir également.
Sans objet, l'étalon interne marqué permet de corriger du rendement.
Blanc méthode (eau HPLC/MS) inférieur à la limite de détection.
Soustraction du blanc : non

Références de la méthode

Norme dont est tirée la méthode

/

Niveau de validation selon Norman

Niveau 1

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée
Domaine de validationNF T 90-210:2009
30 à 1000 ng/L

Blancs analytiques

Blanc analytique (eau de qualité HPLC/MS) inférieur à la limite de détection

Rendement

Détermination des rendements moyens par ajout du M700F001 (30 à 1000 ng/L) dans 6 échantillons d'eau souterraine différents (pH 6,2 à 7,9 ; COT < 0,5 à 1,4 mg/L ; conductivité 316 à 694 µS/Cm ; MES < 2 mg/L) dans des conditions de fidélité intermédiaire (6 x 2 réplicats).

- par niveau de concentration

Avec l'utilisation de l'étalon interne M700F001 D4 :

Niveau (ng/L)	Rendement moyen (n=12) (%)	Ecart-type (%)
30	103%	8%
100	99%	3%
1000	99%	2%

Avec l'utilisation de l'étalon interne mécoprop D3 :

Niveau (ng/L)	Rendement moyen (n=12) (%)	Ecart-type (%)
30	94%	8%
100	92%	7%
1000	93%	5%

Commentaires :

Des différences de comportement des molécules ont été constatées :

- entre les 2 étalons internes, par rapport au composé M700F001 :

Le comportement de l'étalon interne M700F001 D4 est plus proche de M700F001 que celui de l'étalon interne mécoprop D3.

- entre les différentes eaux souterraines :

Pour l'eau souterraine la plus chargée en COT (1,4 mgC/L ; les autres eaux étant $\leq 0,6$ mgC/L) et en conductivité (694 μ S/cm ; les autres eaux étant ≤ 444 μ S/cm), l'ESO 3, les réponses du composé M700F001 et de l'étalon M700F001 D4 sont plus faibles de 10% par rapport aux 5 autres eaux. Cette caractéristique n'affecte pas le comportement du mécoprop D3 ; sa réponse est identique dans toutes les eaux et ne mime pas l'effet matrice observé pour le M700F001 dans l'eau ESO 3.

Taux de récupération moyen et CV pour les 3 niveaux de concentration (30-100-1000 ng/l) (%)

	M700F001	M700F001-D4	Mecoprop-D3
ESO 1 (n=8)	91 - 1	95 - 2	102 - 1
ESO 2 (n=8)	93 - 1	97 - 2	106 - 2
ESO 3 (n=8)	80 - 3	86 - 1	102 - 1
ESO 4 (n=8)	93 - 3	93 - 7	99 - 1
ESO 5 (n=8)	91 - 3	98 - 2	100 - 2
ESO 6 (n=8)	92 - 3	96 - 2	101 - 1
Toutes (n=48)	90 - 6	94 - 5	101 - 3

Cependant, les résultats obtenus avec l'étalon interne mécoprop D3 satisfont les critères de la norme NF T 90 210 avec les eaux souterraines utilisées. L'incertitude observée est un peu plus élevée avec le mécoprop D3.

Dans le cas d'eaux souterraines plus chargées (COT et conductivité), une vérification du comportement similaire entre M700F001 et mécoprop-D3 pourra être réalisée par un ajout dosé, afin de ne pas sous-estimer la concentration en M700F001.

Limite de quantification (LQ)

30 ng/L

La limite de détection peut être obtenue en divisant par 3 la limite de quantification.

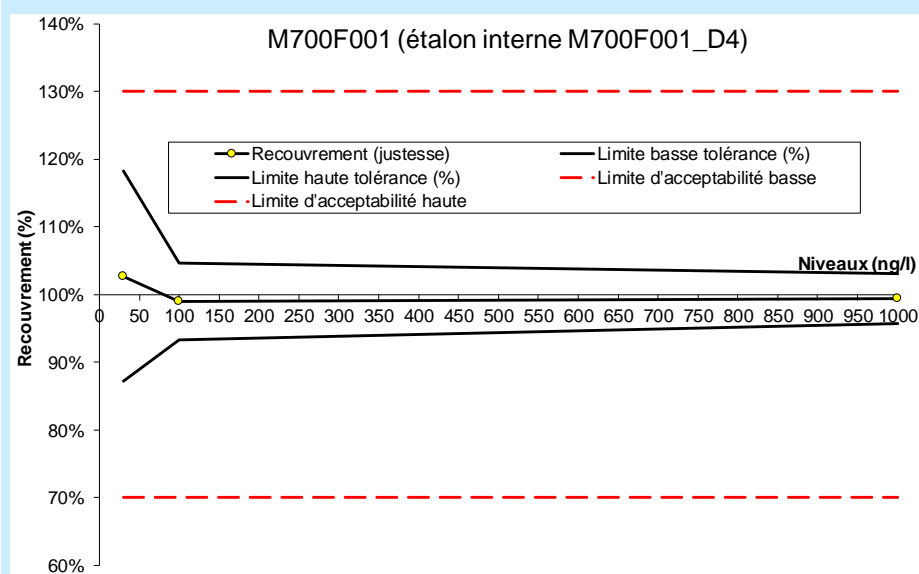
Incertitudes (%) sur les résultats

Détermination de l'incertitude de mesure par ajout du M700F001 (30 à 1000 ng/L) dans 6 échantillons d'eau souterraine différents, analysés dans des conditions de fidélité intermédiaire (6 x 2 réplicats).

L'évaluation de l'incertitude prend en compte l'incertitude liée au biais et l'incertitude liée à la fidélité. Elle est exprimée avec un facteur d'élargissement : $k = 2$:

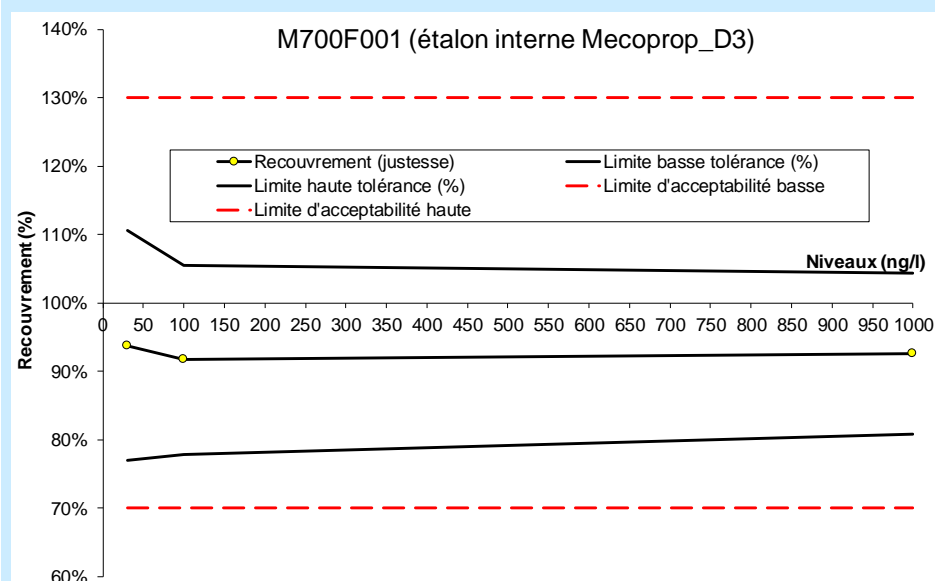
- avec l'utilisation de l'étalon interne M700F001 D4 :

	30 à 100 ng/L	>100 ng/l
M700F001	20%	10%



- avec l'utilisation de l'étalon interne Mécoprop D3 :

	30 à 1000 ng/L
M700F001	30%



Contacts

Auteur	Sébastien Bristeau
Institut	BRGM
Contact	l.amalric@brgm.fr