

Méthode d'analyse du fipronil utilisée dans le cadre de la campagne EMNAT en 2018

Méthode d'analyse dans l'eau – Phase dissoute

Généralités

Nom de la famille de substances	Insecticide, acaricide	
Nom des substances individuelles et Code SANDRE	Nom	SANDRE
	Fipronil	2009
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Eau [3] : Eau douce de surface Eau marine	
Principe de la méthode	Micro-Extraction sur Phase Solide et couplage Chromatographie en phase Gazeuse et Spectrométrie de Masse en tandem	
Acronyme	SPME-GC/MSMS	
Domaine d'application	Sans objet	
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	Sans objet	
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	Sans objet	
Interférents (préciser la matrice)	Interférents identifiés : Aucun Matrices testées : Eau de surface et eau marine	

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée :	Eau : Phase dissoute [3]
Conditionnement et conservation des échantillons	
- Protocole :	Echantillon conservé à -20°C dans flacon verre 22 mL avec bouchon et septa PTFE.
- Nature du contenant de stockage :	Verre
- Lavage du contenant :	Flacon verre 22 mL lavé avec lave-vaisselle de laboratoire (cycle de lavage chimie avec détergent et rinçage avec neutralisant et eau osmosée) puis calciné 6 h à 450 °C.

- Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température...):	Test de stabilité à : <ul style="list-style-type: none"> • 5 °C (T + 2 h, T + 1 j, T + 2 j, T + 3 j, T + 7 j) sur eau naturelle de surface exempte des substances d'intérêt enrichie avec les composés d'intérêt à 10 LQ : pas de dégradation / adsorption observée • 12 °C (T + 2 h, T + 1 j, T + 3 j, T + 7 j) sur eau naturelle de surface exempte des substances d'intérêt enrichie avec les composés d'intérêt à 10 LQ : pas de dégradation / adsorption observée • -20 °C (T0, T + 1 mois) sur eau minérale exempte des substances d'intérêt enrichie avec les composés d'intérêt à 1 LQ : pas de dégradation / adsorption observée
---	--

Filtration :	
- Type de filtre et méthode de nettoyage :	- Filtre de verre GFF (0,7 µm) calciné à 450 °C pendant 6 h.
- Type de support de filtration :	- Support de filtration en verre lavé avec lave-vaisselle de laboratoire (cycle de lavage chimie avec détergent et rinçage avec neutralisant et eau osmosée) puis calciné 6 h à 450 °C.

Pré-traitement des échantillons liquide ou solide	Aucun
--	-------

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)	Eau : Eau douce de surface 9 mL Eau marine 9 mL
---	--

Extraction	
- Micro-extraction (support, durée d'exposition, température, sel)	Micro-Extraction sur Phase Solide (SPME) : Fibre PDMS/DVB (65 µm), Temps d'extraction : 30 min Température d'extraction : 50 °C, Temps de désorption : 3 min Température de désorption : 250 °C

Conservation de l'extrait	Sans objet
----------------------------------	------------

Volume ou masse finale avant analyse :	9 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

Conditions chromatographiques :

Colonne : HP5 MS (5% Phényl)-méthylpolysiloxane de longueur : 30 m, de diamètre interne : 0,25 mm et d'épaisseur de phase stationnaire : 0,25 µm.

Gaz vecteur : Hélium 6.0, débit : 1,3 mL/min.

Injecteur type Split/Splitless avec insert verre désactivé de 0,75 mm, mode splitless à température 250 °C, ouverture vanne de purge à 3 min

Gradient chromatographique :

Température initiale (°C)	Rampe (°C /min.)	Température finale (°C)	Durée finale (min.)
70	10	300	10

Conditions spectrométrie de masse triple quadripôle :

Mode d'ionisation : impact électronique (70 eV)

Délai solvant : 5 min

Température de la ligne de transfert : 290 °C

Température de la source : 230 °C

Température des quadripôles : 150 °C

Débit gaz collision : Azote 5.0 1,5 mL/min et Hélium 6.0 à 2,5 mL/min

Tension du multiplicateur d'électron : réglée automatiquement par le tune instrumental avec un gain supplémentaire de 0,5

Acquisition en mode MRM (Multi Reaction Monitoring)

Composés	MRM(s) quantifiant(s) (EC, eV)	MRM qualifiants (EC, eV)
Fipronil	367>213(25)	367>255 (25)
Fipronil ¹⁵ N ¹³ C	371>213 (30)	373>215 (30)

Equipements (modèles utilisés) :

Chromatographe en phase Gazeuse : GC7890 Agilent Technologies
Spectromètre de masse : QQQ 7010 Agilent Technologies
Passeur automatique d'échantillons : MPS Robotic Gerstel

Type d'étalonnage

Interne

Modèle utilisé

Dilution isotopique : fipronil ¹⁵N ¹³C

Calcul des coefficients de réponse : eau ultra pure enrichie à la LQ (0,8 ng/L) avec ajout de l'étalon interne à 4 ng/L.

Calcul des rendements de quantification : eau ultra pure enrichie à la LQ (0,8 ng/L) avec ajout de l'étalon interne à 4 ng/L.

Calcul des rendements de quantification matrice modèle : eau minérale enrichie à la LQ (0,8 ng/L) avec ajout de l'étalon interne à 4 ng/L.

Vérification des coefficients de réponse, rendement de quantification et limite de quantification contractuelle en début et fin de chaque séquence analytique (10 échantillons).

Ajout du composé étalon interne dans les échantillons à analyser à la concentration de 4 ng/L.

Domaine de concentration Sans objet

Méthode de calcul des résultats

Rendement

Utilisation du rendement : NON
Vérification d'intervalle de conformité
Correction par le calcul : NON
Etalonnage en matrice : OUI

Matrice utilisée : eau minérale
Appareillage : identique analyses échantillons
Réactifs : identique analyses échantillons
Méthode : identique analyses échantillons

Blancs

Soustraction du blanc : OUI
La limite de quantification est conditionnée par la quantité de composé quantifiée dans le blanc protocole.

Références de la méthode

La méthode est dérivée de la publication suivante Sans objet

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée Sans objet

Domaine de validation Sans objet

Matériaux de référence utilisés Sans objet

Blancs analytiques
(concentration ou résultat maximum acceptable)

Blancs système analytique (SPME-GC/MSMS) réalisés sans matrice : blancs fibre spme en début, fin de séquence et tous les 5 échantillons.

Blancs méthode analytique (SPME-GC/MSMS) réalisés avec matrice eau ultra pure en début, fin de séquence et tous les 5 échantillons.

Blancs méthode (filtration, SPME-GC/MSMS) réalisés avec matrice eau minérale, ajout composés étalons internes à chaque campagne de prélèvement en triplicat.

Le fipronil n'a pas été détecté dans les blancs de contrôle.

Rendement

- **Par type de matrice**

Le rendement a été déterminé par analyse d'eau minérale exempte des substances d'intérêt enrichie à 10 LQ (8 ng/L) 1 fois par campagne soit 3 réplicats.

- Par niveau de concentration

Substances	matrice / [C](ng/L)	R %	matrice / [C](ng/L)	R %	matrice / [C](ng/L)	R %
Fipronil	8,9	92	8,5	97	8,2	87

Limite de quantification(LQ)
(indiquez la méthode de détermination en précisant la matrice testée)

Les limites de quantification et de détection ont été déterminées par analyse d'une eau minérale exempte des substances d'intérêt enrichie à la LQ (0,8 ng/L) 2 fois par campagne, avant et après filtration, soit 6 réplicats par modalité. Pour la limite de quantification : comparaison de la limite de quantification théorique et de la limite de quantification quantifiée et vérification que le rapport signal/bruit observé est au moins égal à 9 pour la transition de quantification et que le rapport TQ/TC soit conforme.

Substances	LQ (ng/L) théorique	LQ (ng/L) quantifiée	LD (ng/L) théorique	LD (ng/L) quantifiée
Fipronil eau non filtrée	0,84 ± 0,03	0,73 ± 0,09	0,28 ± 0,01	0,24 ± 0,03
Fipronil eau filtrée	0,84 ± 0,03	0,73 ± 0,06	0,28 ± 0,01	0,24 ± 0,02

Incertitudes (%) sur les résultats

Les incertitudes ont été déterminées selon le principe d'exactitude de la LQ présumée, comme défini par la NF T 90-210, sur eaux de référence (EVIAN® verre), par 12 essais en conditions de fidélité intermédiaire (avec facteur d'élargissement $k = 2$).

Composés	CV reprod (%)	LQ vérifiée	CV (%) NON filtrée	CV (%) filtrée	Incertitude /LQ en % (k=2) $2 \times CV_{FI}$
Fipronil	12	oui	12,2	12	24

Contacts

Auteurs Le Ménach Karyn, Dévier Marie-Hélène, Labadie Pierre, Budzinski Hélène

Institut EPOC UMR 5805 équipe LPTC

Contact AQUAREF : azziz.assoumani@ineris.fr, beatrice.lalere@lne.fr, jp.ghestem@brgm.fr