

Méthode d'analyse de la 4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one, du brodifacoum, du DEET, du difénacoum, du flocoumafen, de l'octylisothiazolinone 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	Biocides	
Nom des substances individuelles et Code SANDRE	Nom	SANDRE
	4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one	8301
	Brodifacoum	5546
	DEET	5797
	Difénacoum	2982
	Flocoumafen	5633
	Octylisothiazolinone	8302
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Eau [3] : Eau douce de surface Eau marine Eau résiduaire	
Principe de la méthode	Injection directe échantillon avec couplage Chromatographie en phase Liquide et Spectrométrie de Masse en tandem	
Acronyme	InjDir-LC/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 : Matrices testées : Pour les eaux résiduaires, nécessité éventuelle de diluer par 5 pour diminuer les effets matriciels.	

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 : • 5 °C (T + 2 h, T + 1 j, T + 2 j, T + 3 j, T + 7 j) sur eau naturelle de surface 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 enrichie avec les composés d'intérêt à 10 LQ : pas de dégradation / adsorption observée • -2 0°C (T0, T + 1 mois) sur eau minérale 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 1 mL Eau marine 1 mL Effluent de STEP 1 mL
---	---

Extraction

- Micro-extraction (support, durée d'exposition, température, sel)	Sans objet
--	------------

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

Volume ou masse finale avant analyse :	1 mL, injection 100 µL
---	------------------------

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 : Luna Omega Polar C18 de longueur : 10 cm, de diamètre interne : 2,1 mm et de diamètre de particule 1,6µm

Température colonne : 45 °C

Composition phase mobile :

Voie A : Eau MilliQ 0,1 % acide formique 5 mM acétate d'ammonium

Voie B : Méthanol

Débit : 0,4 mL/min

Gradient chromatographique :

Temps (min)	% Voie A	% Voie B
0	95	5
8,5	15	85
9	0	100
9,5	0	100
10	95	5
13	95	5

Conditions spectrométrie de masse triple quadripôle :

Mode d'ionisation : ESI JetStream

Température désolvatation : 120 °C

Débit désolvatation : 14 L/min

Température gaz gainant : 200° C

Débit gaz gainant : 11 L/min

Tension capillaire : 3000 V

Nozzle Voltage : 0 V

Ion Funnel : HP 200 LP100

Température des quadripôles : 100 °C

Delta EMV : 200 V

Acquisition en mode Dynamique MRM (Multi Reaction Monitoring)

Temps de cycle : 800 ms

Composés	MRM(s) quantifiant(s) (EC, eV)	MRM qualifiants (EC, eV)
4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one	282,0>169,8 (12)	282,0>57,1 (20)
Brodifacoum	523,1,0>334,9 (20)	523,1>178 (32)
Brodifacoum d4	527,1>334,9(20)	x
DEET	192,1>118,9 (16)	192,1>90,9 (32)
DEET d7	199,2>125,7(16)	x
Difénacoum	445,2>257 (16)	445,2>165(44)
Flocoumafen	543,2>159,1 (36)	543,2>355,2(20)
Octylisothiazolinone	214,1>101,9(12)	214,1>84(42)
Octylisothiazolinone d17	231,2>103(116)	x

Equipements (modèles utilisés) :

Chromatographe en phase Liquide (pompe binaire, passeur multisampler, four colonne) : chaîne 1290 Agilent Technologies

Spectromètre de masse : QQQ 6495 Agilent Technologies

Type d'étalonnage

Interne X
Externe-X

Modèle utilisé	Quantification par étalonnage interne (dilution isotopique) : Brodifacoum d4; DEET d7 ; Octylisothiazolinone d17 Calcul des coefficients de réponse : eau minérale enrichie à la LQ (4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one 50 ng/L ; Brodifacoum 50 ng/L ; DEET 100 ng/L) ; Difénacoum 2 ng/L ; Flocoumafen 90 ng/L; Octylisothiazolinone 5 ng/L avec ajout de l'étalon interne à Brodifacoum d4 50 ng/L; DEET d7 100 ng/L ; Octylisothiazolinone d17 5 ng/L. Calcul des rendements de quantification : eau minérale enrichie à la LQ (4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one 50 ng/L ; Brodifacoum 50 ng/L ; DEET 100 ng/L) ; Difénacoum 2 ng/L ; Flocoumafen 90 ng/L; Octylisothiazolinone 5 ng/L avec ajout de l'étalon interne à Brodifacoum d4 50 ng/L; DEET d7 100 ng/L ; Octylisothiazolinone d17 5 ng/L. Vérification des coefficients de réponse, rendement de quantification et limite de quantification contractuelle en début, milieu et fin de chaque séquence analytique. Calcul des rendements de quantification : eau minérale enrichie à la LQ 4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one 50 ng/L ; Brodifacoum 50 ng/L ; DEET 100 ng/L) ; Difénacoum 2 ng/L ; Flocoumafen 90 ng/L; Octylisothiazolinone 5 ng/L avec ajout de l'étalon interne à Brodifacoum d4 50 ng/L; DEET d7 100 ng/L ; Octylisothiazolinone d17 5 ng/L Vérification du rendement de quantification et limite de quantification contractuelle en début, milieu et fin de chaque séquence analytique
Etalons / Traceurs utilisés	<u>Quantification externe</u> (ajout dosé en matrice à la LQ) Analyse d'un échantillon suivi de l'analyse du même échantillon avec ajout dosé à la LQ (4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one 50 ng/L ; Brodifacoum 50 ng/L ; DEET 100 ng/L) ; Difénacoum 2 ng/L ; Flocoumafen 90 ng/L; Octylisothiazolinone 5 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
Blancs	Matrice utilisée : eau minérale Appareillage : identique analyses échantillons Réactifs : identique analyses échantillons Méthode : identique analyses échantillons 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 et méthode (LC/MSMS) réalisés avec matrice eau ultra pure, 2 blancs d'injection entre chaque échantillon. 4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one; Brodifacoum; ; Difénacoum; Flocoumafen; n'ont pas été détectés dans les blancs de contrôle. DEET et Octylisothiazolinone sont détectés à des niveaux bien plus faibles que les LQ contractuelles

Blancs méthode (filtration, LC/MSMS) réalisés avec matrice eau minérale à chaque campagne de prélèvement en triplicat. 4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one; Brodifacoum; DEET ; Difénacoum; Flocoumafen et Octylisothiazolinone n'ont pas été détectés dans les blancs de contrôle.

Rendement

- Par type de matrice

Le rendement a été déterminé par analyse d'eau minérale enrichie à 10LQ 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 %
4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one	811	86	654	101	358	85
Brodifacoum	694	96	560	56,5	360	74
DEET	964	100	878	109	827	82
Difénacoum	18	68	16	84	13	85
Flocoumafen	1373	41	1106	30	730	81
Octylisothiazolinone	62	96	52	103	35	75

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 enrichie à la LQ 2 fois par campagne, avant et après filtration, soit 6 réplicats par modalité. Pour la limite de quantification : vérification que le rapport signal/bruit observé est égal à 9 pour la transition de quantification et que le rapport TQ/TC soit conforme. Les résultats sont la moyenne des 6 réplicats réalisés.

Substances	LQ (ng/L) théorique	LQ (ng/L) quantifiée	LD (ng/L) théorique	LD (ng/L) quantifiée
4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one eau non filtrée	49 ± 4	40 ± 9	16 ± 1	13 ± 3
4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one eau filtrée	49 ± 4	41 ± 12	16 ± 1	13 ± 4
Brodifacoum eau non filtrée	52 ± 8	49 ± 5	17 ± 3	16 ± 2
Brodifacoum eau filtrée	53 ± 8	50 ± 11	17 ± 3	17 ± 4
DEET eau non filtrée	101 ± 14	81 ± 12	34 ± 5	27 ± 4
DEET eau filtrée	100 ± 14	86 ± 11	33 ± 5	29 ± 4
Difénacoum eau non filtrée	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Difénacoum eau filtrée	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Flocoumafen eau non filtrée	85 ± 16	106 ± 42	28 ± 5	35 ± 13
Flocoumafen eau filtrée	89 ± 16	93 ± 16	30 ± 5	31 ± 5
Octylisothiazolinone eau non filtrée	4,8 ± 1,0	4,0 ± 1,0	1,6 ± 0,3	1,3 ± 0,3
Octylisothiazolinone eau filtrée	4,7 ± 1,0	3,6 ± 0,6	1,6 ± 0,3	1,2 ± 0,2

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	Incertitude /LQ en % ($k = 2$) $2 \times CV_{FI}$
4,5-dichloro-2-octyl-1,2-thiazol-3(2H)-one	36
Brodifacoum	34
DEET	13
Difénacoum	30
Flocoumafen	44
Octylisothiazolinone	34

Contacts

Auteurs Pardon Patrick, 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