

Méthode d'analyse de la méthyl nonyl kétone, de la métofluthrine, du fipronil, du chlorfénapyr, de la d-phénothrine et de la cyfluthrine utilisée dans le cadre de la campagne EMNAT en 2018

Méthode d'analyse dans le sédiment

Généralités

Nom de la famille de substances	Biocides
Nom des substances individuelles	Méthyl nonyl kétone Métofluthrine Fipronil Chlorfénapyr d-Phénothrine Cyfluthrine
Code SANDRE des substances individuelles	Méthyl nonyl kétone : 8315 Métofluthrine : 8311 Fipronil : 2009 Chlorfénapyr : 2861 d-Phénothrine : 8307 Cyfluthrine : 1681
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Sédiments [6] en eau de surface continentale
Principe de la méthode	Extraction par fluide chauffé et pressurisé (ASE) et analyse par couplage Chromatographie en phase Gazeuse et Spectrométrie de Masse en tandem.
Acronyme	ASE-GC/MSMS
Domaine d'application	
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	
Interférents (préciser la matrice)	Sans objet

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée :	Sédiments : fraction analysée inférieure à 2 mm
Conditionnement et conservation des échantillons	<p>Echantillon conservé à -20°C dans flacon verre 1 L ambré avec bouchon et septa PTFE.</p> <p>Après lyophilisation, échantillon conservé à température ambiante dans flacon verre 1 L ambré avec bouchon et septa PTFE.</p> <p>Flacon verre 1 L ambré 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.</p>
Filtration :	/
Pré-traitement des échantillons liquide ou solide	Tamissage humide à 2 mm, lyophilisation, broyage < 250 µm et quartage.

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)	Sédiments 2 g sec
Dérivation - Conditions (réactifs, solvants, pH, température et durée)	
Extraction - Autre (préciser)	<p><u>Extraction par fluide chauffé et pressurisé (PFE, ASE) :</u> Cellule : 22 mL Chauffage : 5 min, 90°C Statique : 6 min Purge : 120 sec, 90% Nombre de cycle : 2 Pression : 100 bar Solvant : dichlorométhane</p> <p>Concentration par évaporateur vortex sous vide (RapidVap) : Température : 50°C Pression : 700 mbar Vitesse d'agitation : 40%</p> <p>Concentration par évaporateur flux gaz : Température : 40°C Gaz : azote 4.5</p>
Purification	/
Conservation de l'extrait	Congélation -20°C
Minéralisation	Sans objet
Volume ou masse finale avant analyse	120µL

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 UI (5%-Phenyl)-methylpolysiloxane) 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

Volume injecté : 1 µL

Injecteur type Split/Splitless avec insert verre désactivé de 4 mm ID, mode splitless pulsé à température 250°C et à pulse de 25 psi, ouverture vanne de purge à 1,5 min.

Gradient chromatographique :

Température initiale (°C)	Rampe (°C/min.)	Température finale (°C)	Durée (min.)
50	10	300	2

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 spectrométrie de masse triple quadrupôle :

Mode d'ionisation : impact électronique (70 eV)

Délai solvant : 3 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 cc/min et Hélium 6.0 à 2,5 cc/min

Tension du multiplicateur d'électron : réglée automatiquement par le tune instrumental avec un gain supplémentaire de 3

Acquisition en mode MRM (Multi Reaction Monitoring)

Composés	MRM(s) quantifiant(s) (EC, eV)	MRM qualifiants (EC, eV)	MRM qualifiants (EC, eV)
Méthyl nonyl kétone	170,1>85 (10)	58,1>43,1 (10)	71>43,1 (10)
Métofluthrine	176>124,9 (25)	108,9>41,1(25)	108,9>67 (10)
Fipronil	367>213(25)	367>255 (25)	
Chlorfénapyr	362,8>246,8 (35)	136,8>102 (15)	246,7>226,9 (20)
Phénothrine	122,9>81 (10)	122,9>41,1 (30)	
Cyfluthrine	163>127 (4)	163>91 (10)	
Fipronil ¹⁵ N ¹³ C	371>213 (30)	373>215 (30)	X
Trans-cyfluthrine d6	168,8>132,9 (10)	168,8>96 (15)	X
Trans-cyperméthrine d6	168,8>95,9 (20)	168,8>132,9 (5)	X
Propiconazole d5	264>172,8 (10)	264>191,8 (5)	X

Equipements (modèles utilisés) :

Chromatographe en phase Gazeuse : GC7890 Agilent Technologies

Spectromètre de masse : QQQ 7000C Agilent Technologies

Passeur automatique d'échantillons : MPS 2 Gerstel

Type d'étalonnage

Interne X

Modèle utilisé

Dilution isotopique :

Composés	Composés étalonnage interne	Concentration étalons interne en matrice (ng/g)
Méthyl nonyl kétone	Trans-cyperméthrine d6	50
Métofluthrine	Trans-cyperméthrine d6	50
Fipronil	Fipronil ¹⁵ N ¹³ C	0,1
Chlorfénapyr	Trans-cyperméthrine d6	50
Phénothrine	Trans-cyperméthrine d6	50
Cyfluthrine	Trans-cyfluthrine d6	2

Dilution isotopique, marqueurs d'injection (calcul du taux de récupération des composés étalons internes) :

Composés	Composés étalonnage interne	Concentration étalons marqueurs d'injection en matrice (ng/g)
Trans-cyperméthrine d6	Propiconazole d5	20
Fipronil ¹⁵ N ¹³ C	Propiconazole d5	20
Trans-cyfluthrine d6	Propiconazole d5	20

Calcul des coefficients de réponse : injection d'un mélange de solution standard à la LQ (0,4 à 1800 ng/mL éthyl acétate) et 10 LQ (4 à 18000 ng/mL éthyl acétate) en début et fin de chaque séquence analytique (10 échantillons).

Calcul des rendements de quantification : injection d'un mélange de solution standard à la LQ (0,4 à 1800 ng/mL éthyl acétate) et 10 LQ (4 à 18000 ng/mL éthyl acétate) en début et fin de chaque séquence analytique (10 échantillons).

Calcul des rendements de quantification : injection, en début de séquence analytique, d'un témoin solution standard à la LQ (0,4 à 1800 ng/mL éthyl acétate) et 10 LQ (4 à 18000 ng/mL éthyl acétate) réalisé pour chaque série analytique de 10 échantillons.

Composés	Concentration LQ (ng/mL EA)	Concentration 10LQ (ng/mL EA)
Méthyl nonyl kétone	100	1000
Métofluthrine	450	4500
Fipronil	0,4	4
Chlorfénapyr	1800	18000
Phénothrine	410	4100
Cyfluthrine	20	200
Fipronil ¹⁵ N ¹³ C	2	2
Trans-cyfluthrine d6	80	80
Trans-cyperméthrine d6	1900	1900
Propiconazole d5	1500	1500

Etalons / Traceurs utilisés

Domaine de concentration

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 : sable de Fontainebleau
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

/

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée

Domaine de validation

Matériaux de référence utilisés

Blancs analytiques
(concentration ou résultat
maximum acceptable)

Blancs système analytique (GC/MSMS) : réalisés par injection de blanc solvant (éthyl acétate) en début, fin de séquence et tous les 2 échantillons.

Blancs manipulation (ASE-GC/MSMS) : réalisés sans matrice avec ajout de solution d'étalonnage interne à chaque série d'analyses (1 blanc manipulation pour 10 échantillons).

Blancs méthode (ASE-GC/MSMS) : réalisés avec matrice sable de Fontainebleau avec ajout de solution d'étalonnage interne à chaque campagne de prélèvement en triplicat.

Les composés métofluthrine, fipronil, phénothrine et cyfluthrine n'ont pas été détectés dans les blancs de contrôle.

Le composé méthyl nonyl cétone a été détecté dans les blancs de contrôle à la concentration de $1,3 \pm 0,9$ ng/g pour les blancs méthode (n=3) et à la concentration $0,7 \pm 0,3$ ng/g pour les blancs manipulation (n=8).

Le composé chlorfénapyr a été détecté dans les blancs manipulation à la concentration de $0,006 \pm 0,003$ ng/g (n=8).

Rendement

- par type de matrice

Le rendement a été déterminé par analyse d'une matrice exempte des substances d'intérêt, sable de Fontainebleau, enrichie à 10 LQ (0,1-500 ng/g) 1 fois par campagne.

- par niveau de concentration

- par molécule

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

Substances	matrice [C](ng/g)	R (%)
Méthyl nonyl kétone	30	101
Métofluthrine	100	113
Fipronil	0,1	106
Chlorfénapyr	500	114
Phénothrine	100	111
Cyfluthrine	5	107

Limite de quantification(LQ)

Limite de détection (LD)

(indiquez la méthode de détermination en précisant la matrice testée)

Les limites de quantification et de détection ont été déterminés par analyse d'une matrice exempte des substances d'intérêt, sable de Fontainebleau, enrichie à 1 LQ (0,01-50 ng/g) : 2 contrôles par campagne soit n=2. 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	LQ1 (ng/g) théorique	LQ1 (ng/g) quantifiée	LQ2 (ng/g) théorique	LQ2 (ng/g) quantifiée
Méthyl nonyl kétone	3	3	2	2
Métofluthrine	11	14	10	10
Fipronil	0,01	0,01	0,01	0,01
Chlorfénapyr	47	55	43	45
Phénothrine	10	12	10	9
Cyfluthrine	0,5	0,5	0,5	0,5

Substances	LD1 (ng/g) théorique	LD1 (ng/g) quantifiée	LD2 (ng/g) théorique	LD2 (ng/g) quantifiée
Méthyl nonyl kétone	0,9	1,0	0,8	0,8
Métofluthrine	3,7	4,6	3,5	3,4
Fipronil	0,004	0,003	0,003	0,003
Chlorfénapyr	15,3	18,3	14,3	14,9
Phénothrine	3,4	3,8	3,2	3,0
Cyfluthrine	0,2	0,2	0,2	0,2

Incertitudes (%) sur les résultats

Les incertitudes ont été évaluées comme étant la fidélité intermédiaire à la LQ présumée en mettant en œuvre le protocole de vérification défini dans la déterminées selon le principe d'exactitude de la LQ

présupposée, comme défini par la NF T 90-210, sur sédiment de référence (sable de Fontainebleau), par 12 essais en conditions de fidélité intermédiaire (avec facteur d'élargissement k=2).

- par type de matrice

Composés	CV reprod (%)	LQ vérifiée	Incertitude /LQ en % (k=2) 2 x CV _{FI}
Méthyl nonyl cétone	23	oui	46
Métofluthrine	17	oui	35
Fipronil	16	oui	31
Chlorfénapyr	20	oui	39
Phénothrine	17	oui	34
Cyfluthrine	15	oui	30

- par niveau de concentration

- par molécule

(reproductibilité avec méthode de détermination)

Contacts

Auteurs	Le Ménach Karyn, Dévier Marie-Hélène, Labadie Pierre, Budzinski Hélène
Institut	EPOC UMR5805 équipe LPTC
Contact	AQUAREF : azziz.assoumani@ineris.fr , beatrice.lalere@lne.fr , jp.ghestem@brgm.fr