

Contexte et objectifs

Les métabolites des pesticides de la famille des chloroacétamides, utilisés comme herbicides en agriculture, sont recherchés dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine. La directive cadre 98/83/CE établit des limites de qualité pour les pesticides et leurs métabolites pertinents à 0,1 µg/L par substance individuelle et 0,5 µg/L pour la somme des pesticides et métabolites pertinents. Le laboratoire LABÉO réalise cette analyse sous agrément « Santé » et accréditation par une méthode de dosage en SPE-LC-MS/MS.

- Suivi nécessaire de la présence émergente des métabolites de chloroacétamides dans les eaux douces
- ✓ forme ESA (acide ethane sulfonique) et forme OXA (acide oxanilique)

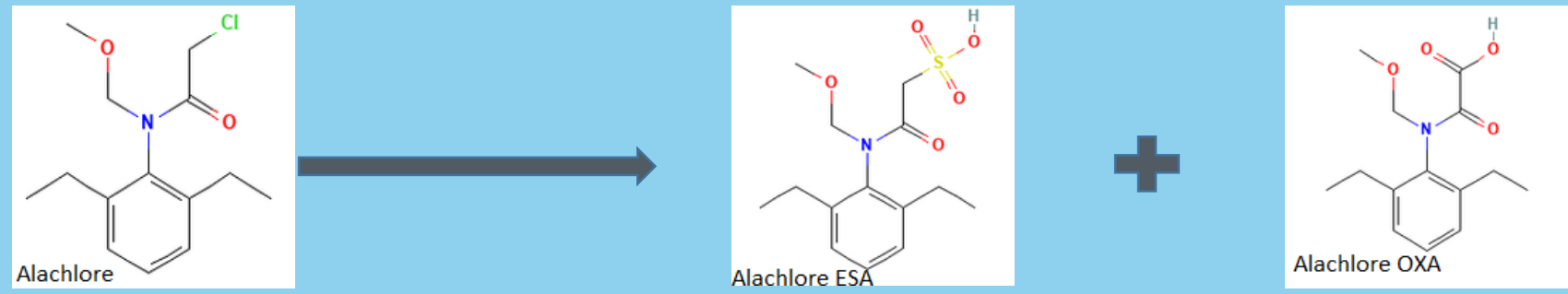


Fig. 1 : Structures chimiques de l'alachlore (substance mère) et ses métabolites dans l'environnement : alachlore ESA et alachlore OXA

- Domaine d'application "eaux douces" : eaux de captage, eaux de distribution, eaux de surface

Objectifs :

- Faire évoluer la méthode SPE-UPLC-MS/MS vers une méthode en injection directe ID-UPLC-MS/MS plus rapide et de sensibilité au moins équivalente
- Ajouter 4 nouveaux métabolites dont 2 classés pertinents
 - ✓ desphenyl-Chloridazon, methyl-desphenyl-Chloridazon, butachlor ESA et OXA
- Atteindre les performances cibles de la méthode : LQ 0,010 µg/L avec un écart maximal acceptable (EMA) de 40 % à la LQ et 30 % aux autres niveaux

MATERIEL & METHODE

VALIDATION DE LA METHODE SELON LA NORME NF T90-210

21 métabolites à intégrer dans la nouvelle méthode dont 4 nouveaux (*)		
Acétochlore ESA	Methyl-desphenylchloridazon*	Flufenacet OXA
Acétochlore OXA	Diméthachlore CGA 369873	Métazachlore ESA
Alachlore ESA	Diméthachlore ESA	Métazachlore OXA
Alachlore OXA	Diméthachlore OXA	Métolachlore ESA
Butachlore ESA *	Diméthénamide ESA	Métolachlore OXA
Butachlore OXA *	Diméthénamide OXA	Propachlore ESA
Desphenylchloridazon*	Flufenacet ESA	Propachlore OXA

METHODE SPE-LC-MS/MS EN PRODUCTION



Fig 2. Chaîne Agilent LC 1290 couplé au spectromètre de masse Agilent TQ-6470

- Gamme étalonnage : 1 à 100 µg/L
- Volume injection : 10 µL

Paramètres UPLC identiques : mêmes phases mobiles

- Colonne Acquity UPLC BEH C18 : 150 x 2,1 mm, 1,7 µm (Waters®)
- Température du four : 65 °C
- Débit de phase mobile : 0,45 mL/min

METHODE ID-LC-MS/MS DEVELOPPEE

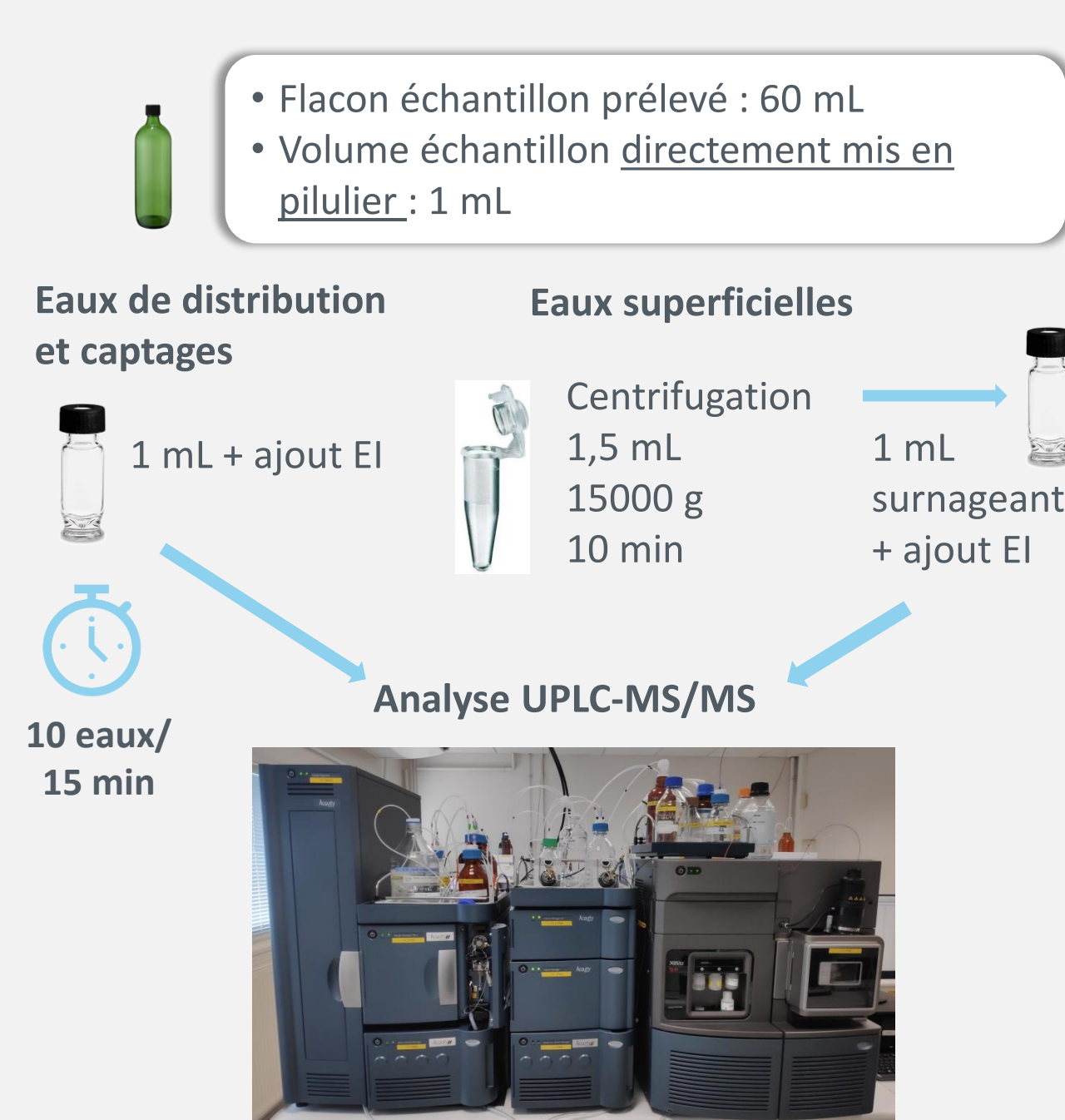


Fig 3. Ensemble UPLC I-Class Waters couplé au spectromètre de masse Waters Xevo TQ-XS

- Gamme étalonnage : 0,002 à 2 µg/L
- Volume injection : 80 µL

Tableau 1 : Gradient de solvants LC

Temps (min)	EUP+5mM Acétate Ammonium (%)	Méthanol (%)
0	90	10
5	75	25
7.5	66	34
10.5	66	34
11	10	90
12	10	90
12.1	90	10
15	90	10

Paramètres MS-MS pour l'identification des composés d'intérêt :

- Mode ESI+/ESI-
- 2 transitions (S/N > 10 pour la quantification, S/N > 3 pour la confirmation)
- Ratio isotopiques des 2 transitions : +/- 30 % max.
- Déviation du temps de rétention < 2,5 %
- Critères de déviation des étalons internes (-40 à + 80 % selon molécules)

- ✓ **Etude d'étalonnage** réalisée avec 5 gammes de 0,002 à 2 µg/L en étalonnage interne préparées dans l'eau d'Evian avec 80 mg/L de thiosulfate de sodium

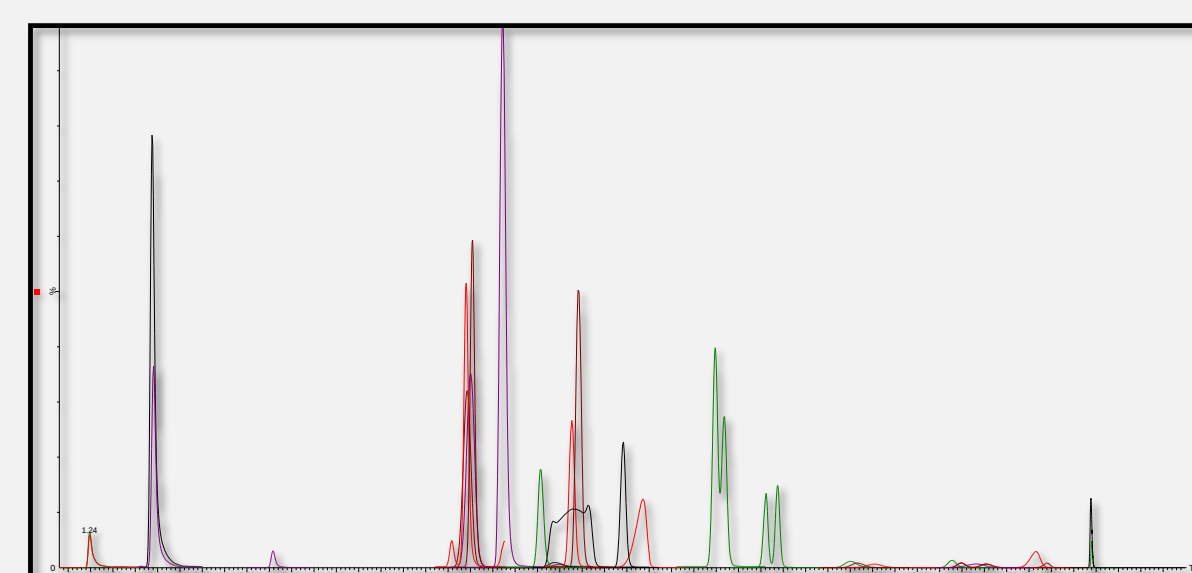


Fig. 4 : TIC MRM du mélange de 21 métabolites et 10 étalons internes marqués dans l'Evian en 15 min

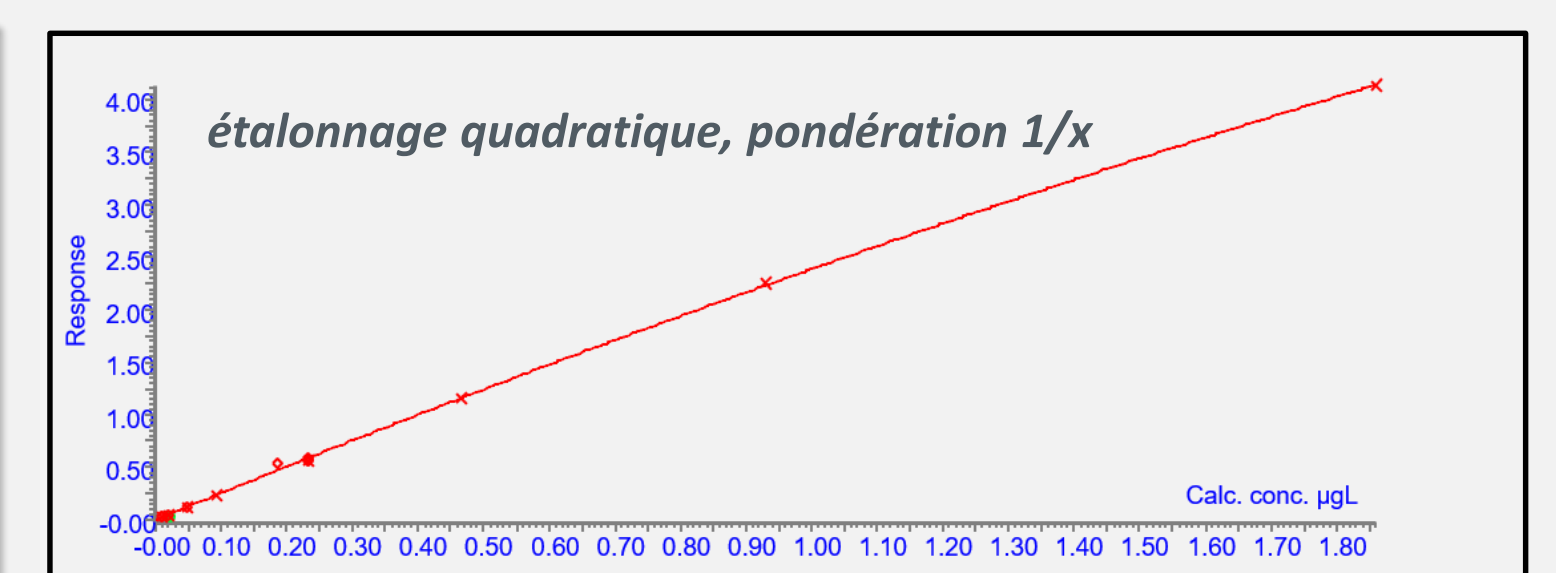


Fig. 5 : Etalonnage interne de l'acétochlore ESA de 0,010 à 2 µg/L

- ✓ **Etude d'exactitude** réalisée en conditions de répétabilité et reproductibilité sur 6 eaux différentes (captage, distribution et superficielle) à 3 niveaux de dopages (niveaux LQ, à 0,4 µg/L, et 1,6 µg/L)
- ✓ **Etude de robustesse** réalisée sur 6 eaux de distribution, 6 eaux de captage, 6 eaux superficielles à 3 niveaux de dopages (niveaux LQ, à 0,4 µg/L, et 1,6 µg/L)

Tableau 2 : Profil d'exactitude du propachlore OXA (en µg/L)

Niveaux	Niveau LQ	Niveau 2	Niveau 3
Valeur de référence (µg/L)	0,005	0,40	1,60
Fidélité			
Écart-type de répétabilité (S _{répét})	0,0005	0,007	0,020
Écart-type de fidélité (S _{F1})	0,0005	0,008	0,058
Coefficient de variation de répétabilité (CV _{répét})	9,0%	1,6%	1,3%
Coefficient de variation de fidélité (CV _{F1})	9,0%	2,0%	3,6%
Justesse			
Biais (%)	6,3%	1,9%	0,8%
Etude de l'exactitude avec la norme NF T90-210			
Limite haute d'acceptabilité	0,007	0,52	2,08
Limite haute de tolérance	0,006	0,42	1,73
Limite basse de tolérance	0,004	0,39	1,50
Limite basse d'acceptabilité	0,003	0,28	1,12
Conclusion : l'exactitude de la méthode	est vérifiée	est vérifiée	est vérifiée
Estimation des incertitudes selon la norme ISO 11352 avec la norme NF T90-210			
Incertitude-type de fidélité (u _F) =	9,0%	2,0%	3,6%
Incertitude-type due au biais (u _b) =	11,0%	7,6%	7,5%
Incertitude relative élargie avec k=2 (U%)	28,4%	15,7%	16,7%

Objectifs de performance :
Ecart Maximal
Acceptable 40 %
à la LQ et 30 %
niveaux 2 et 3

- ✓ **3 niveaux de limites de quantification (LQ) validées : objectif initial à 0,010 µg/L**
- 0,005 µg/L validé pour 9 composés sur 21
- 0,020 µg/L validé pour 4 composés sur 21
- 0,010 µg/L validé pour 8 composés sur 21

✓ Etude de justesse

- Résultats des essais interlaboratoires AGLAE conformes
- Comparaison de résultats d'analyses avec la méthode SPE-LC-MS/MS accréditée
- Utilisation de références croisées

Discussion

- Gain de productivité par suppression de l'étape de préparation SPE : 6 heures -> 15 min
- Réduction du volume d'échantillon prélevé : 500 mL -> 60 mL
- Réduction de solvants, de consommables et de l'impact environnemental
- Ajout de nouveaux étalons internes pour une meilleure correction des effets matrices

- Temps d'analyse LC-MS/MS équivalent : gradient LC de 15 min inchangé pour conserver la séparation chromatographique des métabolites, notamment pour acetochlor ESA et alachlore ESA
- La méthode d'analyse est validée pour les 21 molécules
- L'étude de robustesse est conforme pour les 18 eaux de différentes origines testées
- L'objectif de limite de quantification est atteint ou dépassé pour 80% des métabolites analysés

Conclusion

Cette nouvelle méthode permet d'analyser quantitativement 21 métabolites de chloroacétamides et du chloridazon en injection directe-UPLC-MS/MS, en supprimant l'étape de préparation de l'échantillon tout en conservant des limites de quantification performantes.

Plus rapide à mettre en œuvre, moins coûteuse, cette méthode a été validée selon la norme ISO NF T90-210 et accréditée COFRAC en portée flexible FLEX3 dans le cadre du LAB GTA 05. LABÉO prélève et analyse les échantillons issus des 5 départements normands et participe ainsi au suivi de la qualité sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine.

Ces analyses permettent d'évaluer la contamination des ressources en eau par les métabolites de pesticides et de garantir au consommateur une eau conforme aux limites de qualité.