

DEVELOPPEMENT DE MATERIAUX DE REFERENCE : DETERMINATION DES TRIAZINES ET PHENYLUREES DANS L'EAU

J. Deplagne¹, V. Pichon¹, J. Vial¹, M.C. Hennion¹,
B. Lalere², S. Amarouche², P. Charlet², G. Hervouët²

1 : Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles de la ville de Paris
Laboratoire Environnement et Chimie Analytique
10, rue Vauquelin
75 231 Paris Cedex 05

2 : Laboratoire National de Métrologie et d'Essais
1 rue Gaston Boissier
75724 Paris Cedex 15

Résumé

Les matériaux de référence (MR) font partie des différents outils servant à la validation d'un protocole analytique. Il n'en existe pas actuellement pour la détermination des herbicides dans les eaux.

Aussi nous avons évalué l'aptitude d'un MR pour l'analyse des triazines et phénylurées dans les eaux. Cette étude a été réalisée en deux étapes :

- Etude faisabilité du MR intra-laboratoire ;
- Etude du comportement du MR lors d'un essai interlaboratoires.

Les résultats obtenus ont montré que le matériau développé pouvait être candidat à une certification.

Abstract

The reference materials (RM) represent one of the tools of the analytical method validation. Nowadays, it does not exist for the analysis of the herbicides in water.

Therefore, we have assessed the RM ability for the analysis of triazines and phenylureas in water. This study was performed in two steps :

- Intralaboratory feasibility study of the RM ;
- RM behaviour study during an interlaboratory testing.

The results have pointed out that the developed material could be a candidate for certification.

Une analyse chimique est réalisée le plus souvent en plusieurs étapes :

- La préparation de l'échantillon composée d'une ou plusieurs étapes successives qui consistent en des extractions solide-liquide ou liquide-liquide, concentrations, purifications, reprise dans un solvant...
- La séparation des analytes sur colonne chromatographique suivie d'une détection sélective.

- La quantification des composés ciblés basée sur la comparaison d'un signal obtenu à partir d'une solution d'analyte de concentration connue, et d'un signal donné par une solution de concentration inconnue obtenue après préparation de l'échantillon.
- Expression du résultat : calcul de la concentration et évaluation de l'incertitude.

Une étude [1] a mis en évidence qu'une étape d'extraction, étape clé du traitement de l'échantillon, peut représenter les deux tiers du temps d'analyse et constitue une des sources d'incertitude prépondérante du protocole analytique. La validation du processus global de l'analyse passe par l'utilisation de matériaux de référence (MR) à matrices (composés dans une matrice dont les caractéristiques sont bien définies). Si ce type de matériaux est de plus en plus développé pour de nombreux composés stables dans différentes matrices, il n'existe, à l'heure actuelle aucun MR pour la détermination des herbicides dans les eaux.

Afin de répondre à la demande des laboratoires d'analyses souhaitant disposer de tels MR, nous avons étudié la possibilité de réaliser ce produit.

Une première étude a porté sur la fabrication, les conditions de stockage et le suivi dans le temps de plusieurs matériaux candidats. Dans un deuxième temps, une campagne interlaboratoires a permis d'étudier le comportement de ces MR lors de leur utilisation par des laboratoires utilisant des méthodes différentes.

Etude de la faisabilité d'un M.R.

Choix des composés et des matériaux

Deux familles d'herbicides ont été sélectionnées (figure 1) :

- les triazines : désisopropylatrazine (DIA), dééthylatrazine (DEA), simazine, atrazine, terbutylazine et terbutryne.
- Les phénylurées : chlortoluron, diuron, isoproturon et linuron.

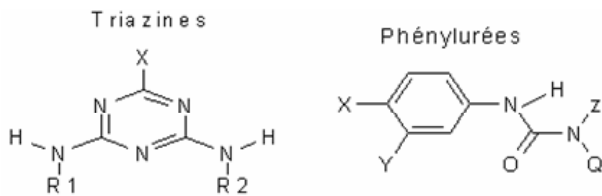


Figure 1 : Formules développées des triazines et phénylurées

Ce choix, sauf pour la terbutylazine et la DIA, repose sur la fréquence de détection de ces triazines et phénylurées dans les eaux [2]. De plus, ils sont répertoriés dans la liste des cinquante pesticides vendus dans des quantités supérieures à 500 tonnes par an en Europe. La terbutylazine, suite à l'interdiction de l'emploi de l'atrazine, entre dans le mélange utilisé pour son remplacement sur les cultures de maïs et a donc été ajouté. Malgré son interdiction d'emploi, l'atrazine reste toujours détectée dans les eaux ; de ce fait, deux de ses métabolites, la DEA et la DIA ont été inclus dans cette étude.

Comme ces composés ne sont pas stables dans une matrice aqueuse, il n'a pas été possible de prendre des eaux comme matrice potentielle du MR. Deux types de matériaux ont été retenus :

- Des ampoules scellées : les pesticides ciblés sont stockés :
 - ↪ en solution dans l'acétonitrile,
 - ↪ à sec après évaporation du solvant.
- Des cartouches d'extraction : les analytes et la matrice sont « fixés » après percolation d'un échantillon d'eau dopée sur une phase solide. Deux types de polymères ont été sélectionnés : un copolymère de divinylbenzène fonctionnalisé par des groupements de N-vinylpyrrolidone (Oasis HLB, Waters) et un copolymère de polystyrène divinylbenzène (ENVI Chrom P, Supelco).

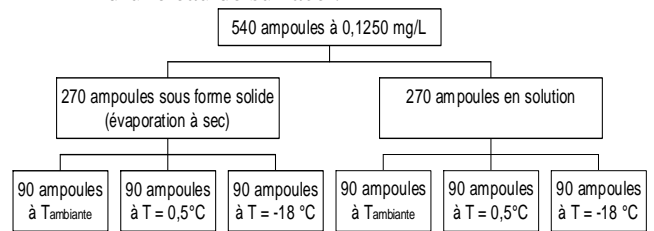
Préparation des matériaux candidats

Deux niveaux de concentrations dans les eaux ont été ciblés par rapport à la réglementation sur les concentrations maximales de pesticides tolérées dans les eaux (0,15 µg/l dans une eau potable et 0,50 µg /l dans une eau de surface).

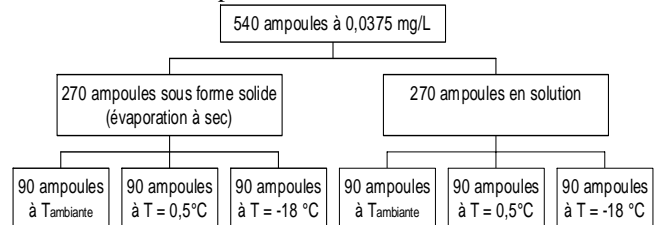
Les matériaux ont été stockés sous trois conditions de température : Tambiante , T=0,5°C et T=-18°C.

Les différents matériaux candidats ont donc été préparés et stockés dans la figure 2.

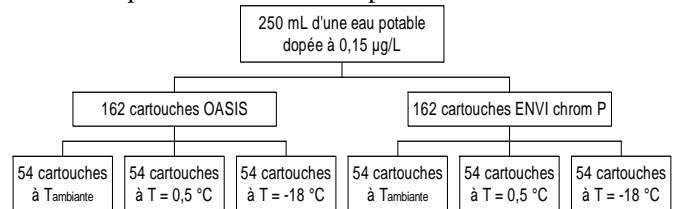
- **Matériaux sous forme d'ampoules représentatifs d'une eau de surface :**



- **Matériaux sous forme d'ampoules représentatifs d'une eau potable :**



- **Matériaux sous forme de cartouche représentatifs d'une eau potable :**



- **Matériaux sous forme de cartouche représentatifs d'une eau de surface :**

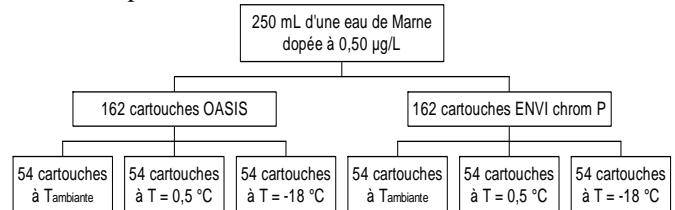


Figure 2 : différents matériaux étudiés

Stabilité des matériaux dans le temps

Pendant un an, tous les mois, cinq ampoules et trois cartouches pour chaque type de matériau, à chaque niveau de concentration et à chaque température de stockage ont été analysés. Le taux de récupération de chaque composé est exprimé en pourcentage.

Si certains composés comme par exemple le linuron (figure 3) sont dégradés rapidement sous certaines conditions, d'autres le sont également mais restent en quantité suffisante pour être analysables (exemple de la DIA, figure 4). Enfin, dans certains matériaux candidats d'autres composés, comme l'atrazine, semblent stables (figure 5).

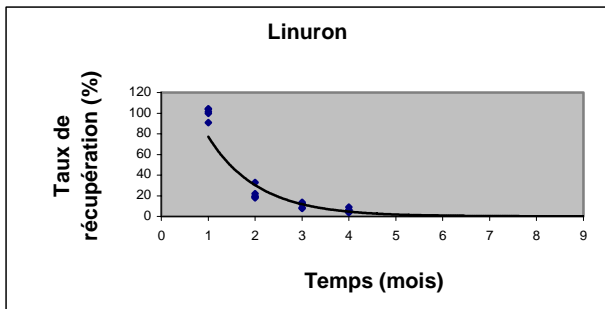


Figure 3 : Linuron stocké en ampoule après évaporation à sec et à température ambiante

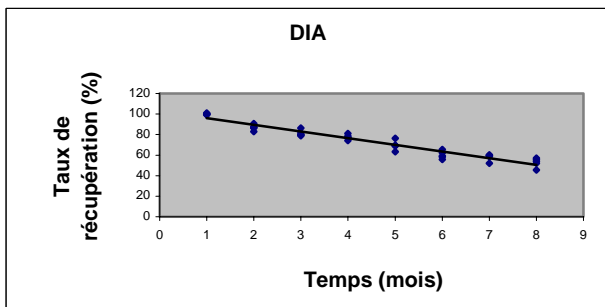


Figure 4 : DIA stockée en ampoule après évaporation à sec à température ambiante

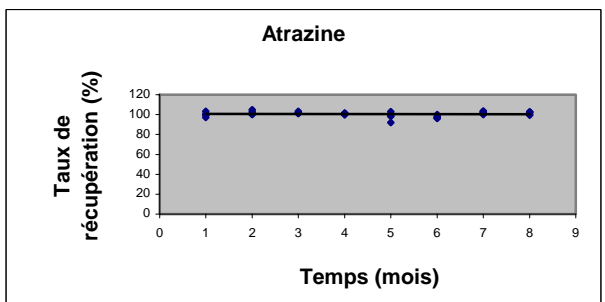


Figure 5 : Atrazine stockée en ampoule après évaporation à sec à T=-18°C

Comme il serait fastidieux de présenter les résultats pour chaque composé pour chaque matériau sous forme de graphe, il a été décidé de qualifier et de quantifier l'évolution des composés dans les différents matériaux au cours du temps à partir des tendances de variation (Tableaux 1, 2, 3 et 4). Trois familles de comportement ont été observées :

- Famille non exploitables (NE) : soit les composés ont été totalement dégradés ou les taux de récupération des composés au bout des mois d'étude sont inférieurs à 10%.
- Famille sans tendance (ST) : la concentration des pesticides n'évolue pas significativement dans le temps.
- Famille à tendance : la concentration des composés évolue dans le temps ; entre le début et la fin de l'étude, l'évolution a été quantifiée : de 0 à 10% : <10 ; de 10 à 20% : <20 ; de 0 à -10% : >-10 ; de -10 à -20% : >-20 ; de -20 à -50% : >-50 ; au delà de -50% : <-50.

Pesticide	T ambiante		T=0,5°C		T=-18°C	
	Sol.	Sec	Sol.	Sec	Sol.	Sec
Atrazine	ST	>-50	>-10	>-20	>-10	ST
Chlortoluron	>-20	<-50	ST	>-10	ST	<10
DEA	ST	<-50	ST	>-20	>-10	ST
DIA	ST	<-50	ST	>-20	>-10	ST
Diuron	>-20	<-50	ST	ST	ST	<10
Isoproturon	>-10	<-50	ST	>-20	ST	ST
Linuron	ST	NE	ST	<-50	>-10	ST
Simazine	<20	ST	<10	<10	<20	<20
Terbutryne	<10	>-50	ST	>-50	ST	ST
Terbutylazine	ST	>-50	>-20	>-50	>-20	ST

Tableau 1 : Ampoules à 0,0375 mg/l

Pesticide	T ambiante		T=0,5°C		T=-18°C	
	Sol.	Sec	Sol.	Sec	Sol.	Sec
Atrazine	ST	>-50	>-10	ST	ST	ST
Chlortoluron	>-10	>-50	ST	ST	<10	<10
DEA	ST	<-50	>-10	>-20	ST	<10
DIA	ST	>-50	ST	>-10	ST	ST
Diuron	>-10	>-50	ST	ST	ST	ST
Isoproturon	>-10	>-50	ST	ST	<10	<10
Linuron	ST	<-50	>-10	>-50	ST	ST
Simazine	ST	ST	<10	<10	ST	<10
Terbutryne	ST	>-50	>-10	>-20	ST	ST
Terbutylazine	ST	>-50	>-20	>-10	ST	ST

Tableau 2 : Ampoules à 0,1250 mg/l

Pesticide	T ambiante		T=0,5°C		T=-18°C	
	Oasis	Envi	Oasis	Envi	Oasis	Envi
Atrazine	>-50	>-20	ST	ST	ST	ST
Chlortoluron	NE	NE	ST	>-20	ST	>-10
DEA	NE	NE	ST	>-20	ST	ST
DIA	NE	NE	ST	ST	>-10	ST
Diuron	>-50	NE	ST	ST	ST	<10
Isoproturon	NE	NE	>-20	ST	ST	ST
Linuron	>-50	NE	ST	>-10	ST	ST
Simazine	ST	ST	ST	ST	>10	<20
Terbutryne	ST	>-20	ST	ST	ST	<20
Terbutylazine	>-50	NE	ST	>-20	ST	ST

Tableau 3 : Cartouches d'eau potable

Pesticide	T ambiante		T=0,5°C		T=-18°C	
	Oasis	Envi	Oasis	Envi	Oasis	Envi
Atrazine	>-10	>-10	ST	ST	>-10	>-10
Chlortoluron	NE	NE	ST	>-10	ST	ST
DEA	NE	NE	ST	>-20	ST	>-10
DIA	NE	NE	>-20	>-20	>-20	ST
Diuron	>-50	NE	ST	>-10	<10	<10
Isoproturon	NE	NE	>-10	>-10	ST	ST
Linuron	>-50	>-20	ST	ST	ST	ST
Simazine	>-10	>-10	ST	ST	ST	ST
Terbutryne	>-20	>-20	ST	ST	<10	<10
Terbutylazine	ST	ST	ST	ST	ST	ST

Tableau 4 : Cartouches d'eau de surface

Quelle que soit la concentration étudiée, les pesticides en solution dans les ampoules paraissent être stables dans le temps y compris lorsque la température de stockage est l'ambiante. Cette température est à déconseiller pour les ampoules contenant les molécules à sec, de même que la température aux alentours de 0,5°C : la dégradation des

composés est d'autant plus rapide que la température est élevée.

Les résultats observés avec les cartouches montrent une bonne stabilité de l'ensemble des analytes à condition que ces supports soient stockés à des températures inférieures à 0,5°C. Par précaution, il a été décidé de stocker les cartouches à -18°C. Les cartouches Envi Chrom P ont été abandonnées pour la suite de l'étude car le volume du polymère peut varier lors de la préparation de l'échantillon entraînant des difficultés de mise en œuvre.

Comportement du MR lors d'un circuit interlaboratoires

Afin de poursuivre l'étude sur les MR développés, un circuit interlaboratoires a été organisé avec des laboratoires volontaires. Quinze laboratoires reconnus pour la mesure des pesticides dans les eaux ont accepté de participer à cet essai. Il a permis de tester les conditions d'utilisation du produit : envoi, réception, et analyse avec d'autres méthodes.

Préparation du circuit

Des ampoules contenant des pesticides en solution dans l'acétonitrile à une concentration de l'ordre de 0,125 mg/l ont été préparées et stockées à -18°C. Des cartouches ont été préparées à partir de la percolation de 250 ml d'eau potable dopée à une concentration pour chaque pesticide de l'ordre de 0,500 µg/l et conservées à -18°C.

Un prélèvement aléatoire d'ampoules et de cartouches n'a pas mis en évidence un défaut d'homogénéité entre les différents matériaux (Tableau 5).

Pesticide	CV (%) Cart.	CV (%) Amp.
Atrazine	1,9	3,7
Chlortoluron	0,6	1,9
DEA	1,8	6,3
DIA	0,4	4,0
Diuron	0,8	2,5
Isoproturon	0,4	1,9
Linuron	1,5	2,4
Simazine	1,0	4,3
Terbutryne	0,9	4,8
Terbutylazine	1,9	4,8

Tableau 5 : Coefficient de variation (CV) des ampoules et cartouches

Pour toute la durée de cette étude (depuis la préparation des MR jusqu'au rendu des résultats), la stabilité des MR a été évaluée et aucune dégradation de l'un des analytes recherchés dans les deux MR préparés n'a été mise en évidence.

Cette campagne, basée sur le volontariat des participants, a regroupé quinze laboratoires.

Chaque participant a reçu :

- Une ampoule scellée à analyser : évaporer à sec et reprendre les composés dans un mélange eau/acétonitrile, de composition équivalente au gradient de départ de l'analyse ;

- Une ampoule scellée, 250 ml d'eau potable et une cartouche neuve : après dopage de l'eau avec l'ampoule, les composés sont extraits par la cartouche (cartouche équivalente à celle ayant servi à préparer les MR) selon un protocole fourni ;
- Des cartouches traitées : elles doivent être éluées selon un mode opératoire décrit dans le protocole fourni, trois cartouches ont été envoyées afin d'évaluer les dispersions intra et interlaboratoires.

Chaque laboratoire a du rendre un résultat par pesticide pour l'ampoule, un pour l'eau dopée et un par cartouche.

Résultats

Le premier point positif réside dans le rendu des résultats : l'ensemble des laboratoires ayant reçu les MR ont retourné des résultats.

Un exemple des répartition des valeurs par rapport à la valeur de dopage des matériaux est présenté ci-après pour chaque MR pour la DEA (figures 6, 7 et 8).

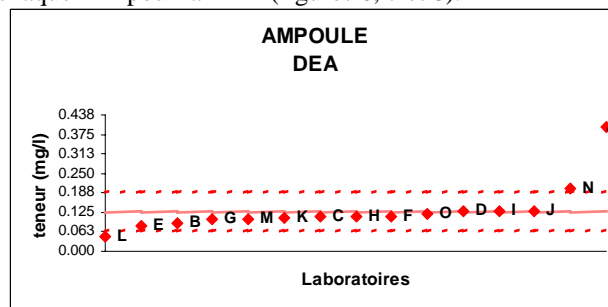


Figure 6 : Résultats ordonnés des laboratoires pour la DEA dans l'ampoule scellée

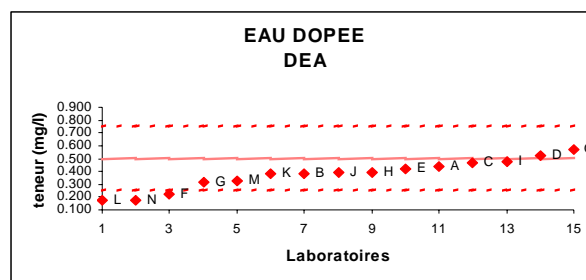


Figure 7 : Résultats ordonnés des laboratoires pour la DEA dans l'eau dopée

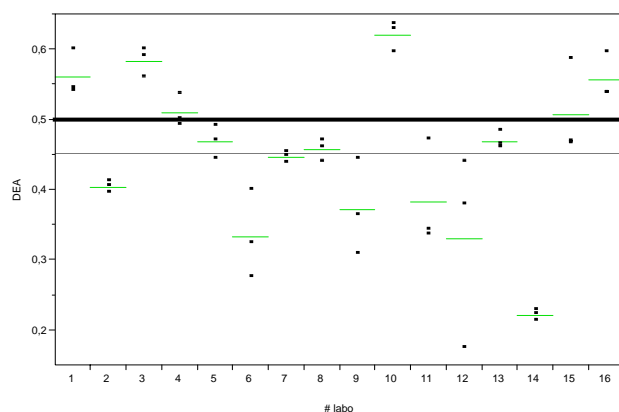


Figure 8 : Résultats des laboratoires pour la DEA pour les cartouches

Comme il est difficile de présenter ici tous les résultats reçus ainsi que les différents outils statistiques ayant permis le traitement des données, pour chaque MR étudié un tableau résumera l'information par la moyenne l'écart-type et le coefficient de variation de chaque composé, et ce pour chaque matériau étudié.

Pesticides	Moyenne (µg/l)	Ecart-type (µg/l)	CV (%)
Atrazine	0,1086	0,0153	14,1
DEA	0,1105	0,0149	13,5
DIA	0,1181	0,0532	45,1
Simazine	0,1065	0,0182	17,1
Terbutryne	0,1205	0,0214	17,7
Terbutylazine	0,1143	0,0162	14,1
Chlortoluron	0,1213	0,0196	16,2
Diuron	0,1193	0,0192	16,1
Isoproturon	0,1234	0,0235	19,1
Linuron	0,1174	0,0187	16,0

Tableau 6 : Bilan des résultats sur les ampoules

Pesticides	Moyenne (µg/l)	Ecart-type (µg/l)	CV (%)
Atrazine	0,3982	0,0757	19,0
DEA	0,4073	0,0928	22,8
DIA	0,3772	0,0720	19,1
Simazine	0,3781	0,0873	23,1
Terbutryne	0,4183	0,0729	17,4
Terbutylazine	0,3941	0,0756	19,2
Chlortoluron	0,4487	0,0926	20,6
Diuron	0,4345	0,1023	23,5
Isoproturon	0,4619	0,1090	23,6
Linuron	0,4298	0,1044	24,3

Tableau 7 : Bilan des résultats sur l'eau dopée

Pesticides	Moyenne (µg/l)	Ecart-type (µg/l)	CV (%)
Atrazine	0,3996	0,0941	23,6
DEA	0,4593	0,1102	24,0
DIA	0,3853	0,1508	39,1
Simazine	0,3728	0,0908	24,4
Terbutryne	0,4096	0,0830	20,3
Terbutylazine	0,3902	0,1053	27,0
Chlortoluron	0,4287	0,1070	25,0
Diuron	0,4255	0,1015	23,9
Isoproturon	0,4346	0,1241	28,6
Linuron	0,4077	0,1110	27,2

Tableau 8 : Bilan des résultats sur les cartouches

Le coefficient de variation est compris entre 14 et 30 %, excepté pour la DIA qui est le composé le plus polaire et donc le plus difficile à analyser.

Ces valeurs sont relativement satisfaisantes car n'ont été éliminés que les laboratoires dont la valeur s'éloignait de $\pm 50\%$ de la valeur cible pour les ampoules et l'eau dopée. Concernant les cartouches, les données d'un seul laboratoire ont été retirées pour les calcul car elles ont été détectées comme aberrantes.

Même si un protocole a été envoyé aux laboratoires, ceux-ci n'ont pas toujours pu le suivre rigoureusement

car il ne pouvait être totalement adapté aux méthodes mises en œuvre au sein du laboratoire. Les variations observées sur les MR ne sont donc pas dues uniquement à la dispersion des matériaux mais reflètent également les différentes méthodes utilisées.

Selon les remarques des laboratoires, il apparaît que ces matériaux, que ce soit les ampoules, l'eau dopée ou les cartouches sont des outils de validation du protocole analytique avec des approches différentes. Les ampoules permettraient d'évaluer la justesse des solutions étalon des laboratoires, les eaux dopées de valider le processus d'extraction et les cartouches de réaliser la quantification avec une matrice et donc en présence d'interférents potentiels.

Conclusion

Dans un premier temps, il a été mis en évidence que des Matériaux de Référence pour l'analyse des pesticides pouvaient être réalisés (composés en solution dans une ampoule scellée et composés « piégés » sur un support avec la matrice). Leurs conditions de stockage et d'expédition doivent être contrôlées (à l'abri de la lumière et à une température inférieure à -18°C pouvant augmenter jusqu'à $0,5^{\circ}\text{C}$ sur une courte période).

La campagne inter-laboratoires a permis de tester les matériaux avec plusieurs techniques différentes. Les coefficients de variation (CV) des différents MR testés varient entre 14 et 30 %, ce qui pour un circuit impliquant des laboratoires utilisant différentes méthodes est très satisfaisant surtout si l'on compare à d'autres circuits ayant affichés des CV supérieurs à 25%.

Au vu de tous ces résultats, une campagne de certification de ces matériaux va être réalisée.

Références

[1] R.E. Majors, LC-GC International, 1991,N°4,10.

[2] Etudes et Travaux IFEN, « les pesticides dans les eaux », septembre 2000