

Détermination de pesticides dans les eaux par HPLC. Application pour la validation d'un matériau de référence

S. Khim-Heang et C. Corvi

Service du chimiste cantonal, CP. 166, CH-1211 Genève 4, Suisse

An analytical method for pesticides determination in waters involving preconcentration by liquid-liquid extraction followed by HPLC using a diode array detector described. The use of this detector allows simultaneous determination at various wavelenghts, increases the sensitivity and identification of products. This method was applied to certify reference material which consists of lyophilised river water spiked with pesticides having a dry residue concentration of 0.3 to 20 µg/g. The method was validated by testing the recovery as well as the repeatability.

Les normes européennes [1] comme les normes suisses [2] fixent, pour les pesticides, la valeur limite dans une eau potable à 0,1 µg/L par antiparasitaire ou à 0,5 µg/L pour le total de ces substances. A cette échelle de concentration, une analyse directe n'est pas réalisable et une préconcentration préalable est nécessaire.

Notre laboratoire a mis au point, il y a déjà plusieurs années, une méthode de dosage des pesticides dans les eaux basée sur les opérations suivantes :

- extraction liquide/liquide par le dichlorométhane,
- dosage par chromatographie liquide haute performance (HPLC) avec détecteur à barrette de diodes.

Cette méthode a été utilisée pour le dosage de divers pesticides, notamment la simazine, l'atrazine et la terbutylazine dans les eaux du Léman et de ses affluents [3].

Elle est ici appliquée dans le cadre de la certification d'un matériau de référence récemment préparé par l'Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, Bruxelles). De nombreux autres laboratoires ont participé à cette opération de validation, dont les résultats feront l'objet d'une publication.

Une fois achevée sa certification, le matériau de référence permettra de faciliter la mise au point de nouvelles méthodes et de mieux en contrôler la fiabilité.

Matériel et méthodes

Réactifs et produits

Acétone, méthanol et dichlorométhane sont de qualité « pro analysis » (Merck, Suisse). L'acétonitrile de qualité HPLC

provient de J.T. Baker, Allemagne. L'eau distillée est filtrée sur membrane 0,45 µm/ (Millipore, Suisse). Les solutions mères de standards à 1 mg/mL sont préparées à partir de standards en poudre (Dr. Ehrenstorfer, Allemagne) dilués dans l'acétone, à l'exception des solutions standards à 0,2 mg/mL d'atrazine et de simazine qui sont préparées dans le méthanol. Une vérification de la concentration de ces standards est effectuée par comparaison avec des solutions préparées à partir d'un standard fourni par l'IRMM.

Chromatographie en phase liquide

L'équipement HPLC est un système binaire de Hewlett-Packard modèle 1090 muni d'un détecteur à barrette de diodes. La colonne analytique de 25 × 0,46 cm, Supelcosil™ ABZ⁺ (Supelco), est de type phase inverse avec une granulométrie de 5 µm. La température de la colonne est de 40 °C. La phase mobile est un mélange eau-acétonitrile. Afin d'obtenir une bonne résolution en conservant une durée d'analyse raisonnable, 2 programmes de gradient d'éluion s'imposent :

- Conditions 1 : 25 % d'acétonitrile (CH₃CN) au temps initial, puis augmentation de 0,5 % par minute.
- Conditions 2 : 65 % CH₃CN au temps initial, puis augmentation de 0,5 % par minute.

La deuxième condition est utilisée pour le dosage de la perméthrine.

Le débit de la phase mobile est de 1 mL/min et le volume d'injection de 50 µL.

Détection simultanée à quatre longueurs d'onde

Les spectres d'absorption obtenus par détecteur à barrette de diodes montrent que l'on a affaire à trois types de spectres : simazine et atrazine ont la même allure avec un λ_{\max} à 220 nm, ce qui est aussi le cas pour le carbaryl. Linuron, propanil et fénamiphos ont un λ_{\max} à 250 nm, tandis que la longueur d'onde la plus sensible pour la perméthrine se trouve proche de 200 nm.

La détection aux longueurs d'onde correspondant à des maximums d'absorption, 220 nm et 250 nm, permet d'augmenter la sensibilité. La détection simultanée à d'autres longueur d'onde (210 nm, 225 nm) permet une confirmation des résultats d'analyse.

Préparation des échantillons (matériau de référence à certifier)

Le matériau de référence IRMM a été produit à partir d'une eau de rivière enrichie en pesticides, puis lyophilisée. Un standard « d'eau à l'état solide », stable et transportable, a ainsi été obtenu. Il contient 7 pesticides (carbaryl, atrazine,

simazine, fénamiphos, propanil et perméthrine) à une concentration comprise entre 0,3 et 20 µg/kg.

Cependant, la perte en pesticides lors de la lyophilisation est importante et peut s'élever jusqu'à 95 % de la quantité utilisée pour le dopage. La concentration réelle de l'échantillon doit donc être analysée de manière précise avant commercialisation du produit.

Le schéma analytique (Fig. 1) montre les étapes de l'analyse.

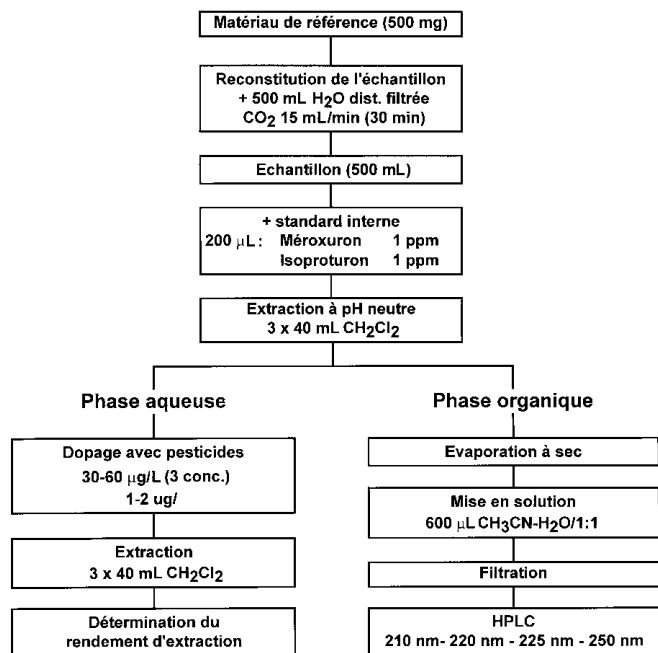


Figure 1. Schéma analytique de la méthode de préconcentration et de dosage des pesticides polaires dans le matériau de référence.

L'échantillon lyophilisé est reconstitué pour retrouver l'état initial d'une eau de rivière : 500 mg d'échantillon sont dissous dans 500 mL d'eau distillée et filtrée dont la température est voisine de 20 °C. À l'abri de la lumière, la solution est agitée avec barbotage de CO₂ (15 mL/min) pendant 30 minutes. Une mesure du pH et de la conductivité des solutions, blancs et échantillons, ainsi obtenues est effectuée pour s'assurer d'une bonne dissolution. Le blanc est un échantillon lyophilisé d'eau de la même rivière, mais non enrichie en pesticides.

La préconcentration par extraction liquide-liquide doit être effectuée rapidement, moins de 15 minutes après la mise en solution. Au préalable, 200 µL d'une solution acétonique renfermant 1 mg/L de métoxuron et 1 mg/L d'isoproturon sont ajoutés comme standard interne. Sans modifier le pH du milieu, la phase aqueuse est extraite par 3 fois 40 mL de dichlorométhane.

La phase organique est évaporée à sec (Rotavapeur à 40 °C et 800 mbar), reprise dans 600 µL de phase mobile, mélange eau-acétonitrile (1 : 1), et filtrée sur 0,45 µm (ISO-DISC P-34 Supelco), puis chromatographiée.

Résultats et discussion

La figure 2 illustre le chromatogramme du standard obtenu à 225 nm et 250 nm avec le gradient condition 1. Dans le cas de la perméthrine (Fig. 3), la double détection avec le gradient condition 2 se fait à 210 nm et 225 nm.

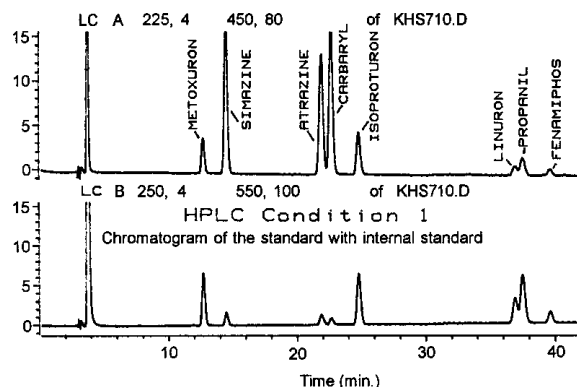


Figure 2. Chromatogramme d'une solution de référence de pesticides. Gradient : conditions 1. Détection UV-DAD à 225 (haut) et 250 nm (bas).

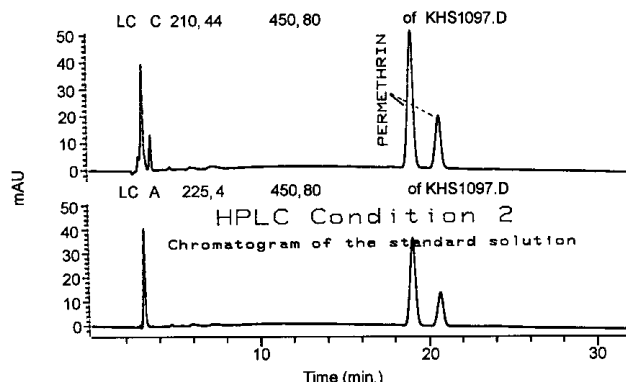


Figure 3. Chromatogramme d'une solution standard de perméthrine. Gradient : conditions 2. Détection UV-DAD à 210 (haut) et 225 nm (bas).

La figure 4 correspond au chromatogramme du blanc et la figure 5 à celui du matériau de référence étudié. On observe une teneur élevée en simazine, atrazine et carbaryl et une teneur très faible en linuron, propanil et fénamiphos. La détection à 250 nm permet d'augmenter la sensibilité pour ces derniers. La séparation du pic d'atrazine et de carbaryl devient complète par une simple dilution de la solution injectée.

Linéarité

Par injection de solutions standards à différentes concentrations, nous avons établi le domaine de linéarité pour chaque composé. Pour les 7 pesticides recherchés, le domaine de

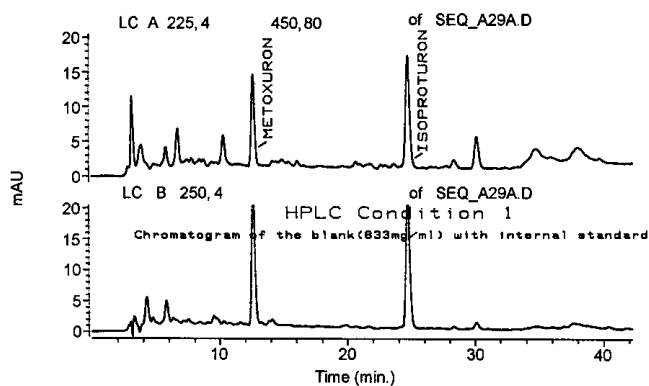


Figure 4. Chromatogramme du blanc avec standards internes (metoxuron et isotroturon). Gradient : conditions 1. Détection UV-DAD à 225 (haut) et 250 nm (bas).

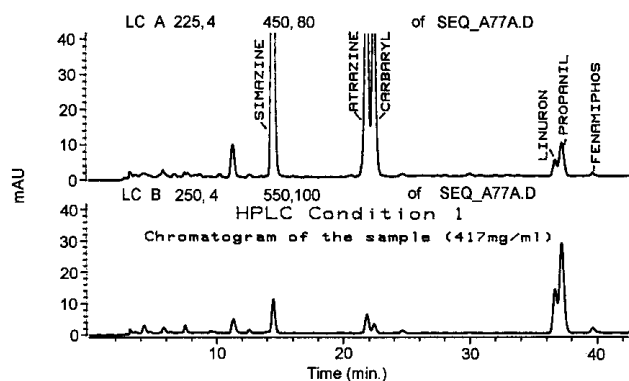


Figure 5. Chromatogramme du matériau de référence. Gradient : conditions 1. Détection UV-DAD à 225 (haut) et 250 nm (bas).

linéarité s'étend dans une fourchette de concentrations allant de 0,5 à 10 mg/L.

L'échantillon est préparé de façon à se trouver, pour chaque pesticide, dans la zone de linéarité.

Recouvrement

Les tests pour déterminer le rendement de récupération lors de l'extraction doivent être effectués dans une eau ayant la même matrice que l'échantillon. Pour cela, nous avons récupéré la phase aqueuse après en avoir extrait les pesticides (Fig. 1) et l'avons enrichie avec les 7 pesticides. Trois échantillons dopés sont préparés avec des concentrations situées entre 30 et 60 µg/L de chaque produit et un quatrième avec des concentrations comprises entre 1 et 2 µg/L. L'extraction de ces solutions est effectuée 36 heures après le dopage afin de permettre le meilleur équilibre possible avec le milieu. La phase organique est ensuite traitée de la même manière que dans le cas des autres analyses.

Les résultats montrent un rendement de récupération proche de 100 % pour les 7 pesticides étudiés. La figure 6 donne la moyenne des 4 résultats. La déviation standard de ceux-ci varie entre 1 et 5 %, à l'exception du carbaryl pour lequel elle est de 8 %.

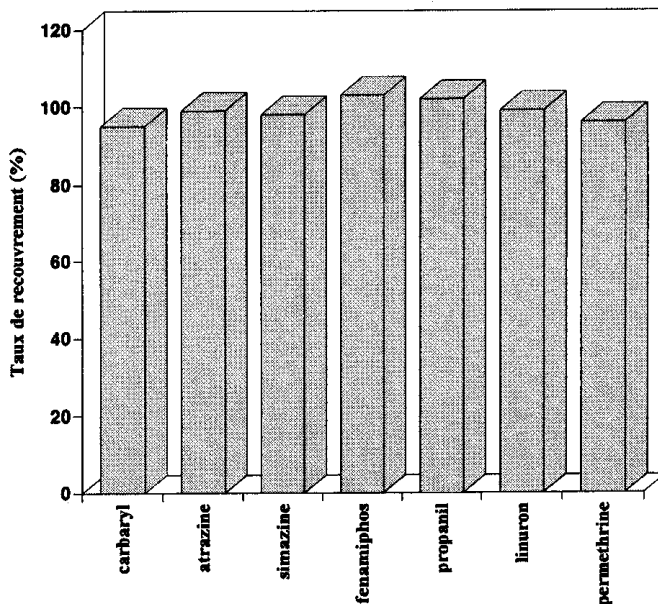


Figure 6. Taux de recouvrement lors de l'extraction des pesticides (moyenne pour 5 déterminations).

Conclusion

Dans le cadre de la certification d'un matériau de référence les résultats obtenus par notre laboratoire sont très proches de la moyenne des résultats des autres laboratoires.

Ce résultat a pu être obtenu grâce à des procédures de contrôle à chaque étape de l'analyse : contrôle du standard, utilisation d'un standard interne, contrôle du rendement de récupération et utilisation d'une technique de détection à plusieurs longueurs d'onde permettant une confirmation tant au niveau qualitatif que quantitatif.

Toutefois, pour la perméthrine, la faible teneur de l'échantillon et une matrice trop chargée n'ont pas permis la détermination quantitative correcte de ce composé.

Remerciements

Nous remercions le Docteur Olivier Zali pour sa collaboration et pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

Références

1. Directive du Conseil du 15 juillet 1980, relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine, Directive 80/778/CEE.
2. Ordonnance sur les substances étrangères et les composants dans les denrées alimentaires (OSEC) du 26 juin 1995.
3. Corvi, C.; Khim-Heang, S. Surveillance des produits phytosanitaires dans les eaux des affluents du bassin lémanique, Rapports de la Commission internationale pour la protection des eaux du Léman (CIPEL), Campagne 1996, Lausanne, 1997; pp 125-144.