
**Qualité de l'eau — Dosage du glyphosate
et de l'AMPA — Méthode par
chromatographie liquide à haute
performance (CLHP) et détection
fluorimétrique**

*Water quality — Determination of glyphosate and AMPA — Method
using high performance liquid chromatography (HPLC) and fluorometric
detection*
(standards.iteh.ai)

ISO 21458:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a4c872b2-2cee-4e61-a37e-4fbb7499b5e/iso-21458-2008>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21458:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a4c872b2-2cee-4e61-a37e-4fbb7499b5e/iso-21458-2008>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2008

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Principe	1
4 Interférences	2
5 Réactifs	2
6 Appareillage	4
7 Échantillonnage	5
8 Mode opératoire	5
9 Étalonnage	7
10 Évaluation	8
11 Expression des résultats	9
12 Rapport d'essai	9
Annexe A (informative) Étalon interne généralement utilisé	10
Annexe B (informative) Données de fidélité	11
Annexe C (informative) Chromatogrammes	12
Bibliographie	14

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 21458 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 2, *Méthodes physiques, chimiques et biochimiques*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 21458:2008
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a4c872b2-2cee-4e61-a37e-4fbb7499b5e/iso-21458-2008>

Qualité de l'eau — Dosage du glyphosate et de l'AMPA — Méthode par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et détection fluorimétrique

AVERTISSEMENT — Il convient que l'utilisateur de la présente Norme internationale connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. La présente Norme internationale n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur. Certains des solvants utilisés dans le mode opératoire sont toxiques et dangereux. Les manipuler avec précaution.

IMPORTANT — Il est absolument essentiel que les essais conduits conformément à la présente Norme internationale soient exécutés par du personnel ayant reçu une formation adéquate.

L'application de la méthode à l'analyse de l'eau de surface doit faire l'objet de contrôles des interférences complémentaires.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode permettant de doser le glyphosate ainsi que son principal métabolite, l'acide aminométhylphosphonique (AMPA), dans l'eau potable, l'eau souterraine et l'eau de surface. La limite de quantification est d'environ 0,05 µg/l. Il est possible d'appliquer cette méthode à d'autres types d'eau à condition que la méthode soit à chaque fois validée.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 6058, *Qualité de l'eau — Dosage du calcium — Méthode titrimétrique à l'EDTA*

ISO 6059, *Qualité de l'eau — Dosage de la somme du calcium et du magnésium — Méthode titrimétrique à l'EDTA*

ISO 8466-1, *Qualité de l'eau — Étalonnage et évaluation des méthodes d'analyse et estimation des caractères de performance — Partie 1: Évaluation statistique de la fonction linéaire d'étalonnage*

3 Principe

La présente méthode repose sur la dérivation en milieu basique du glyphosate et de l'AMPA (voir Tableau 1) avec du 9-fluorenylméthyl chloroformate (FMOC-Cl), suivie d'une analyse par chromatographie liquide sur une colonne à phase polaire, reliée à un détecteur de fluorescence.

Les composés sont quantifiés par étalonnage externe ou étalonnage interne ou encore par la méthode des ajouts dosés. Les composés sont identifiés en comparant les temps de rétention ou en appliquant la méthode des ajouts dosés.

Tableau 1 — Composés dosés à l'aide de cette méthode

Nom	Formule moléculaire	Masse molaire g/mol	Numéro CAS
Glyphosate <i>N</i> -(phosphonométhyl) glycine	C ₃ H ₈ NO ₅ P	169,1	1071-83-6
AMPA acide aminométhylphosphonique	CH ₆ NO ₃ P	111,0	1066-51-9

4 Interférences

Les substances répondant aux longueurs d'ondes choisies et dont les temps de rétention sont identiques aux composés à analyser peuvent provoquer des interférences au cours du dosage. Il est nécessaire d'en tenir compte, surtout lors de l'analyse des échantillons d'eau autres que des échantillons d'eau souterraine ou d'eau potable.

La présence de cations divalents, tels que le calcium, le cuivre, le fer ou le zinc, peut conduire dans certains cas à une sous-estimation de la teneur en glyphosate et en AMPA suite à la formation de complexes (voir Référence [9]), auquel cas un traitement préalable est nécessaire (voir 8.1).

La présence de chlore libre utilisé dans les eaux traitées peut provoquer des pertes de glyphosate par oxydation; dans ce cas le thiosulfate de sodium est utilisé pour atténuer ses effets (voir Article 7).

5 Réactifs

Utiliser des réactifs de qualité analytique reconnue ou de qualité CLHP, s'ils sont disponibles, sauf spécification contraire. Les réactifs ne doivent contenir aucune substance susceptible d'interférer avec les composés à analyser.

5.1 Eau, de qualité 1 telle que définie dans l'ISO 3696, ou de qualité supérieure.

5.2 Thiosulfate de sodium, Na₂S₂O₃, n° CAS 7772-98-7.

5.3 Acétonitrile, CH₃CN, de qualité CLHP, n° CAS 75-05-8.

5.4 Éther diéthylique, C₄H₁₀O, n° CAS 60-29-7.

5.5 Substances de référence (voir Tableau 1).

5.5.1 Glyphosate, de pureté > 97 % en fraction massique, n° CAS 1071-83-6.

5.5.2 AMPA, de pureté > 97 % en fraction massique, n° CAS 1066-51-9.

5.5.3 Étalon interne, de pureté > 97 % en fraction massique (voir Annexe A pour les composés principaux).

Il est possible d'utiliser des solutions disponibles dans le commerce d'une concentration de 10 µg/ml dans l'eau, par exemple.

5.5.4 Solution mère de glyphosate et d'AMPA, 1,0 g/l.

À l'aide de glyphosate (5.5.1) et d'AMPA (5.5.2), préparer une solution mère contenant 1,0 g/l de chacun des composés dans de l'eau (5.1), par exemple par dissolution de 20 mg de chacun des composés dans l'eau (5.1), dans une fiole jaugée (6.8) de 20 ml.

Cette solution peut être stockée à $4\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant environ un an.

5.5.5 Solution de concentration intermédiaire de glyphosate et d'AMPA, 30 µg/l.

Pour obtenir une solution à 30 µg/l, procéder à des dilutions successives de la solution mère de glyphosate et d'AMPA (5.5.4).

NOTE Il est possible d'obtenir cette solution en ajoutant 200 µl de la solution mère (5.5.4) à 20 ml d'eau (5.1) dans une fiole jaugée (6.8); puis en ajoutant 60 µl de la solution ainsi obtenue à 20 ml d'eau (5.1), dans une autre fiole jaugée (6.8).

Cette solution peut être stockée à $4\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant environ une semaine.

5.5.6 Solution mère d'étalon interne, 30 µg/l.

Dissoudre l'étalon interne (5.5.3) dans de l'eau (5.1) et diluer pour obtenir une concentration massique de 30 µg/l, dans une fiole jaugée (6.8).

Cette solution peut être stockée à $4\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant environ une semaine.

5.6 Solution d'hydroxyde de potassium, $c(\text{KOH}) = 3\text{ mol/l}$, (n° CAS 1310-58-3).

Dissoudre 16,8 g d'hydroxyde de potassium dans environ 70 ml à 80 ml d'eau (5.1), dans une fiole jaugée (6.8) de 100 ml et diluer au trait avec de l'eau.

Cette solution peut être stockée à $4\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant environ trois mois.

5.7 Acide chlorhydrique, $c(\text{HCl}) = 4\text{ mol/l}$, n° CAS 7647-01-0.

Ajouter lentement à 340 ml d'eau (5.1) 160 ml d'HCl concentré (37 % en fraction massique) dans une fiole jaugée (6.8) de 500 ml, en agitant à l'aide d'un barreau magnétique. Cette solution peut être stockée à $4\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant environ trois mois.

5.8 Solution de dihydrogénophosphate de potassium, $c(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 0,05\text{ mol/l}$, pH 5,4, n° CAS 7778-77-0.

Dissoudre $6,8\text{ g} \pm 0,05\text{ g}$ de dihydrogénophosphate de potassium dans 1 000 ml d'eau. Ajuster avec la solution d'hydroxyde de potassium (5.6) pour obtenir un pH de $5,4 \pm 0,05$.

Cette solution peut être stockée pendant environ une semaine.

5.9 Solution d'acide oxalique dihydraté, $\rho(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4, 2\text{ H}_2\text{O}) = 100\text{ g/l}$, n° CAS 6153-56-6.

Dissoudre $50\text{ g} \pm 0,05\text{ g}$ d'acide oxalique dihydraté dans 500 ml d'eau.

Cette solution peut être stockée à $4\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant environ deux mois.

5.10 Phase mobile.

Mélanger 300 ml d'acétonitrile (5.3) et 700 ml de tampon de dihydrogénophosphate de potassium (5.8).

Cette solution peut être stockée pendant environ une semaine.

5.11 Solution de tétraborate de sodium décahydraté, $c(\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}) = 0,05 \text{ mol/l}$, n° CAS 1303-96-4.

Dissoudre $19 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ de tétraborate de sodium décahydraté dans 1 000 ml d'eau.

Cette solution peut être stockée à $4 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant environ un mois.

5.12 Solution de 9-fluorenylméthyl chloroformate, $\rho(\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_2) = 1 \text{ mg/ml}$, n° CAS 28920-43-6.

Dissoudre 50 mg de 9-fluorenylméthyl chloroformate (FMOC-Cl; 97 % en fraction massique) dans 50 ml d'acétonitrile (5.3).

Cette solution peut être stockée à $4 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant environ deux semaines.

5.13 Acide phosphorique, 85 % (acidimétrique), n° CAS 7664-38-2.

6 Appareillage

Le matériel ou les composés susceptibles d'entrer en contact avec l'échantillon doivent être exempts de tout résidu qui pourrait provoquer une interférence inacceptable dans les blancs.

L'utilisation de verrerie peut provoquer des pertes de glyphosate par adsorption. Il est par conséquent recommandé d'utiliser des matériaux à usage unique, dans la mesure du possible (voir 6.1 et 6.2). Pour la même raison, contrôler que les filtres susceptibles d'être utilisés pour les échantillons avant l'analyse par CLHP ne conduisent pas à des pertes de substances.

6.1 Tubes d'essai en plastique à usage unique avec bouchon à vis, d'une capacité d'environ 20 ml pour la dérivation.

6.2 Bouteilles en polyoléfine, d'une capacité d'environ 50 ml, pour l'échantillonnage.

6.3 Seringue, pour la solution étalon de glyphosate et d'AMPA, de concentration massique de $30 \text{ } \mu\text{g/l}$ (5.5.5), et pour l'étalon interne de concentration massique de $30 \text{ } \mu\text{g/l}$ (5.5.6).

6.4 Colonne analytique: colonne à phase polaire: par exemple colonne chromatographique de silice greffée NH_2 , dont le diamètre des particules de silice est compris entre $3 \text{ } \mu\text{m}$ et $5 \text{ } \mu\text{m}$, d'un diamètre intérieur compris entre 2 mm et 4,6 mm et d'une longueur de 250 mm. Il est recommandé d'utiliser une colonne de garde adaptée.

Il est possible d'utiliser d'autres types de colonnes, par exemple une colonne à phase inversée C_{18} , dont le diamètre des particules de garnissage est compris entre $3 \text{ } \mu\text{m}$ et $5 \text{ } \mu\text{m}$, d'un diamètre intérieur compris entre 2 mm et 4,6 mm et d'une longueur de 250 mm. Voir les conditions d'élution à la Figure C.2 lors de l'utilisation d'une colonne C_{18} .

6.5 Flacons pour passeur automatique, de 2 ml, avec bouchon en polytétrafluoréthylène.

ATTENTION — Ne pas nettoyer les flacons avec un détergent ou des agents corrosifs avant utilisation.

6.6 Chromatographe liquide à haute performance (CLHP), comprenant:

6.6.1 Dispositif, permettant l'élution de la phase mobile (5.10) par injection manuelle ou automatique, conçu pour le travail analytique.

6.6.2 Système de dégazage.

6.6.3 Four de colonne CLHP avec unité de régulation de la température, à $35 \text{ }^\circ\text{C}$.

6.6.4 Détecteur de fluorescence, $\lambda_{\text{exc}} = 260 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{em}} = 310 \text{ nm}$.

6.7 pH-mètre.

6.8 Fioles jaugées, ISO 1042,^[10] classe A, de capacité 20 ml, 100 ml, 500 ml.

ATTENTION — Ne pas nettoyer les fioles jaugées avec un détergent ou des agents corrosifs avant utilisation.

7 Échantillonnage

Remplir à ras bord les bouteilles en polyoléfine (6.2) avec l'eau à analyser.

Dans le cas d'échantillons contenant du chlore libre, ajouter environ 2 mg de thiosulfate de sodium (5.2) ou de tout autre agent réducteur du chlore par 100 ml d'échantillon.

Les échantillons d'eau à analyser peuvent être stockés à l'abri de la lumière à $4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant une semaine ou congelés dans des bouteilles en polyoléfine (6.2) jusqu'à un mois. Il convient que la température de congélation soit d'au moins -20 °C .

8 Mode opératoire

8.1 Traitement préalable

Déterminer la dureté de l'eau comme spécifié dans l'ISO 6058 et/ou l'ISO 6059. Si la dureté, $c(\text{CaCO}_3)$, est supérieure à 3 mmol/l, il est recommandé de procéder à un traitement préalable de l'échantillon pour libérer la partie de la substance d'essai susceptible de participer à une complexation avec des cations divalents (Référence [9]). Deux méthodes de traitement préalable sont proposées (8.1.1 et 8.1.2), au choix de l'utilisateur. Une troisième option de traitement préalable peut être appropriée dans certains cas (8.1.3).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a4c872b2-2cee-4e61-a37e-1f1b56221e/iso-21458-2008>

8.1.1 Première option de traitement préalable

Ajuster 3 ml d'échantillon à pH 1 avec environ 200 μl d'acide chlorhydrique (5.7). Agiter le mélange énergiquement et attendre 1 min. Neutraliser l'échantillon entre pH 6 et pH 7 avec la solution d'hydroxyde de potassium (5.6). Procéder ensuite comme spécifié en 8.2.

8.1.2 Seconde option de traitement préalable

Ajouter à 30 ml d'échantillon 300 μl de solution d'acide oxalique dihydraté (5.9). Vérifier que le pH se situe entre 2 et 3. Agiter le mélange énergiquement et attendre 1 h. Neutraliser l'échantillon avec la solution d'hydroxyde de potassium (5.6). Procéder ensuite comme spécifié en 8.2.

8.1.3 Troisième option de traitement préalable

Ajouter à 4 ml d'échantillon 0,625 ml de tampon de tétraborate de sodium décahydraté (5.11) et 50 μl d'EDTA (1 g/l, pH = 9 ajusté par addition d'hydroxyde de potassium). Agiter le mélange. Le stocker pendant 24 h à $4\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$. Prélever sans agiter 3 ml d'échantillon limpide. Procéder ensuite comme spécifié en 8.2.

8.2 Dérivation

Après avoir, le cas échéant, décongelé l'échantillon (voir Article 7), mélanger soigneusement la solution, en prélever une partie aliquote de 3 ml et la verser dans un tube d'essai avec bouchon à vis à usage unique (6.1). Ajouter 50 μl d'étalon interne (5.5.6) pour obtenir une concentration massique d'environ 0,5 $\mu\text{g/l}$.

Ajouter 0,5 ml de tampon de tétraborate de sodium décahydraté (5.11) et laisser reposer pendant environ 15 min.

Ajouter environ 3 ml d'éther diéthylique (5.4), mélanger énergiquement pendant 2 min puis laisser reposer pendant 15 min.

Prélever 1,5 ml de la phase aqueuse et ajouter 0,25 ml d'acétonitrile (5.3). Ajouter ensuite 0,25 ml de FMO-CI (5.12).

Laisser le mélange réagir à température ambiante pendant 60 min. Arrêter la dérivation en ajoutant 40 µl d'acide phosphorique (5.13) et homogénéiser.

NOTE 1 Un temps de réaction de 30 min est suffisant pour obtenir un rendement de 100 %; les dernières 30 min permettent toutefois d'obtenir une meilleure élimination de l'excès de réactif. Cet excès de réactif peut en effet réduire la durée de vie de la colonne analytique et causer également des interférences.

NOTE 2 Pour certains échantillons, une dérivation lente engendre moins de pics d'interférence sur le chromatogramme. Éliminer l'acétonitrile en excès qui accélère le processus. Laisser le mélange réagir à température ambiante pendant 18 h. Arrêter la dérivation en ajoutant 40 µl d'acide phosphorique (5.13) et homogénéiser.

Ajouter 2 ml d'éther diéthylique (5.4) et mélanger pendant 2 min. Laisser le mélange reposer pendant 1 h, puis transférer une partie aliquote de la phase aqueuse dans un flacon (6.5) en vue de l'analyse. Analyser l'extrait aqueux ou le stocker à 4 °C ± 3 °C jusqu'à 2 semaines (4 semaines dans un congélateur).

Si la quantification des composés s'effectue par la méthode des ajouts dosés, préparer trois tubes d'essai avec bouchon à vis différents comme indiqué dans le Tableau 2. Laisser les solutions reposer pendant 15 min et procéder à la dérivation.

Tableau 2 — Préparation des échantillons dopés dans trois tubes d'essai différents avec bouchons à vis (6.1)

	Ajout dosé (0 µg/l, 0,5 µg/l et 1 µg/l)		
Tampon de tétraborate de sodium (5.11)	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
Échantillons	3 ml	3 ml	3 ml
Solution de concentration intermédiaire de glyphosate et d'AMPA, µg/l (5.5.5)	0 µl	50 µl	100 µl

8.3 Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

8.3.1 Exigences générales

Utiliser l'équipement conformément aux instructions fournies par le fabricant. S'assurer que le bruit de fond du détecteur est faible et que la dérive de la ligne de base est négligeable. En raison de l'utilisation de la phase mobile contenant un tampon, il est recommandé de rincer régulièrement la colonne analytique ainsi que le système chromatographique conformément aux instructions du fabricant.

8.3.2 Conditions chromatographiques

Séparer le dérivé de glyphosate et d'AMPA par CLHP en utilisant une colonne en phase inverse et des conditions de travail adaptées (voir par exemple 5.10, 6.4 et Annexe C). Ajuster le débit de l'éluant et le débit d'injection en fonction des dimensions de la colonne (diamètre intérieur, diamètre de particule) afin d'obtenir la meilleure forme du pic et la résolution maximale. Les longueurs d'ondes optimales pour l'acquisition sont de 260 nm pour l'excitation et de 310 nm pour l'émission.

8.4 Enregistrement des blancs

Dans le cadre du contrôle qualité du mode opératoire d'analyse, déterminer la contribution des réactifs et du matériau en analysant une quantité équivalente d'eau (5.1) de la même façon que l'échantillon. En cas de présence de pics interférents dans la solution à blanc (généralement plus de 10 % de la valeur mesurée la plus basse), rechercher systématiquement les sources de contamination afin d'être en mesure de les éliminer.

8.5 Confirmation et identification des substances

Identifier un composé cible dans le chromatogramme en comparant son temps de rétention au temps de rétention de la substance de référence. Pour une identification correcte, il convient que le temps de rétention corresponde à $\pm 1\%$ (± 10 s) au temps de rétention du dernier passage de la solution d'étalonnage. En cas d'utilisation d'étalons internes, la rétention de ces étalons peut servir à confirmer la rétention absolue de l'élément à analyser.

En l'absence de pic dans le temps de rétention normal et en présence d'un chromatogramme normal à tout autre point de vue, il est possible de conclure à l'absence de la substance en question.

Si un élargissement des pics se produit, les conditions d'analyse peuvent être modifiées de façon à séparer l'interférence. Il est également possible d'utiliser une colonne C₁₈ au lieu de la colonne NH₂.

NOTE Le temps de rétention du glyphosate et de l'AMPA diminuant à chaque injection, des passages fréquents des solutions étalons sont nécessaires, tous les 6 échantillons par exemple.

9 Étalonnage

9.1 Méthode de l'étalon externe sur l'intégralité du mode opératoire

La dérivation et l'analyse sont réalisées *in situ*. Il n'est pas nécessaire de déterminer les rendements de dérivation tant que les étalons et les échantillons sont analysés dans les mêmes conditions.

Avant chaque série d'analyses, établir la courbe d'étalonnage à partir de 5 points au moins, comme spécifié dans l'ISO 8466-1, dans la plage de travail (de 0,05 µg/l à 2,0 µg/l) en utilisant la solution étalon intermédiaire (5.5.5). Il est préférable d'utiliser une eau de référence comme matrice d'étalonnage (eau d'une dureté connue et stable, la plus proche possible des échantillons).

Pour chaque composé, établir une fonction d'étalonnage

Pour chaque substance, reporter sur l'axe des ordonnées les valeurs mesurées y_{ie} (surface du pic ou unités d'intégration, en fonction de la situation) et sur l'axe des abscisses la concentration massique correspondante ρ_{ie} .

Déterminer la fonction d'étalonnage linéaire, Équation (1), à l'aide des coordonnées (ρ_{ie} , y_{ie}) des séries de mesure. La valeur mesurée de la substance i , y_{ie} , en fonction de l'unité dont dépend l'évaluation, aire de pic par exemple; obtenue à partir de l'étalonnage, est donnée par:

$$y_{ie} = a_i \rho_{ie} + b_i \quad (1)$$

où

a_i est la pente de la courbe d'étalonnage de la substance i (qui correspond au coefficient de réponse spécifique de la substance), par exemple l'aire de pic, en litres par microgramme;

b_i est l'ordonnée à l'origine de la courbe d'étalonnage, pour la substance i ;

ρ_{ie} est la concentration massique de la substance i , en microgrammes par litre.

9.2 Méthode de l'étalon interne sur l'intégralité du mode opératoire

L'utilisation d'un étalon interne pour déterminer les concentrations de glyphosate et d'AMPA réduit énormément les risques d'erreurs faites au cours de l'injection ou dues aux pertes d'échantillon lors des étapes de traitement préalable, aux différences entre les volumes d'extraits aqueux finaux et aux effets de matrice. Ce calcul est généralement disponible sous forme d'option dans les programmes de quantification des logiciels d'analyse des données de la plupart des fabricants.