

ANALYSE DE SUBSTANCES PRIORITAIRES DANS LES SEDIMENTS

**ÉVALUATION DES CONDITIONS D'EXTRACTION, DE PURIFICATION ET D'ANALYSE
DES CHLOROALCANES A CHAÎNE COURTE (SCCP)
DANS LES SEDIMENTS**

Action I-A-02 : Amélioration des méthodes d'analyses

O. Diago, F. Lestremau
Janvier 2011

Programme scientifique et technique
Année 2010

Document final

Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2010 dans le cadre du partenariat ONEMA - Aquaref 2010, au titre de l'action 2 (programmation ONEMA 12-4).

Auteur(s) :

Olivier Diago
Etablissement INERIS
olivier.diago@ineris.fr

François Lestremou
Etablissement INERIS
francois.lestremou@ineris.fr

Vérification du document :

Séverine Schiavone
Cemagref
severine.schiavone@cemagref.fr

Les correspondants

Onema : Pierre-François Staub, pierre-francois.staub@onema.fr

Référence du document : Olivier Diago et François Lestremou - Évaluation des conditions d'extraction, de purification et d'analyse des chloroalcanes à chaîne courte (SCCP) dans les sédiments - Rapport AQUAREF 2010 - 22p.

Droits d'usage :	<i>Accès libre</i>
Couverture géographique :	<i>International</i>
Niveau géographique :	<i>National</i>
Niveau de lecture :	<i>Professionnels, experts</i>
Nature de la ressource :	<i>Document</i>

1. GLOSSAIRE	8
2. CONTEXTE.....	9
3. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	9
4. OBJECTIF	10
5. MATERIELS ET METHODES.....	11
5.1 Solutions étalons.....	11
5.2 Instrumentation chromatographique	11
5.3 Echantillons sédiments	11
5.4 Etalonnage : modèle et domaine	11
5.5 Dopage des sédiments	12
5.6 Méthodes d'extraction.....	12
5.6.1 PLE.....	13
5.6.2 Soxhlet.....	13
5.6.3 Extraction liquide/solide par agitation mécanique.....	13
5.6.4 Ultrasons.....	13
5.7 Matériel de purification.....	13
6. RESULTATS.....	14
6.1 Optimisation des paramètres d'extraction et de purification.....	14
6.1.1 Essai initial : extraction par PLE et purification suivant la norme ISO/DIS 12010 [15] 14	
6.1.2 Optimisation du mode de purification.....	15
6.1.3 Comparaison des méthodes d'extraction.....	18
6.2 Validation de l'extraction par PLE à la concentration de 400 µg/kg dans les sédiments.....	19
7. CONCLUSION	19
8. REFERENCES.....	21
9. LISTE DES ANNEXES	22

Liste des annexes :

- Annexe 1 : Revue bibliographique relatives aux SCCP dans les sédiments,
- Annexe 2 : Condition chromatographique des analyses des SCCP,
- Annexe 3 : Gamme solvant pour les SCCP,
- Annexe 4 : Paramètres d'extraction PLE (d'après [10]),
- Annexe 5 : Conditions initiales du protocole d'extraction par PLE et purification suivant la norme ISO/DIS 12010,
- Annexe 6 : Vérification de la récupération des composés cibles lors de l'étape de purification,
- Annexe 7 : Optimisation des conditions de purification entre les PCB et les SCCP,
- Annexe 8 : Protocole d'analyse des SCCP dans les sédiments,
- Annexe 9 : Validation des conditions d'extraction des SCCP dans les sédiments.

ÉVALUATION DES CONDITIONS D'EXTRACTION, DE PURIFICATION ET D'ANALYSE DES CHLOROALCANES A CHAÎNE COURTE (SCCP) DANS LES SEDIMENTS

O. DIAGO, F. LESTREMAU

RESUME

Une méthode pour l'analyse des chloroalcanes à chaîne courte (SCCP) dans les sédiments a été développée. Le test de différentes méthodes d'extraction (extraction liquide/solide par agitation, soxhlet, ultrasons, solvant pressurisé à chaud (PLE)) a démontré que l'extraction par PLE est la plus adaptée pour de telles analyses au regard des performances obtenues et de la facilité d'utilisation de cette technique. Les méthodes de purification et notamment la séparation entre les SCCP et les PCB ont été également particulièrement étudiées. Des concentrations de l'ordre de 400 µg/kg (poids sec), correspondant à une valeur proche du tiers de celle estimée pour la Norme de Qualité Environnementale (NQ/3) des SCCP dans les sédiments [1], ont ainsi pu être quantifiées.

Mots clés (thématique et géographique) :
PLE, sédiments, SCPP

EVALUATION OF EXTRACTION AND PURIFICATION TECHNIQUES FOR THE ANALYSIS OF SHORT CHAIN CHLORINATED PARAFFINS IN SEDIMENTS

O. DIAGO, F. LESTREMAU

ABSTRACTS

A method for the analysis of short chain chlorinated paraffins (SCCP) in sediments has been developed. The comparison of various extraction techniques (liquid/solid extraction, soxhlet, ultrasons, pressurized solvent extraction (PLE) highlighted that PLE could be recommended for such analysis due to the performances obtained and its ease of use. Purification techniques and in particular the removal of PCB from samples containing SCCP has been investigated. Quantification of concentration about 400 µg/kg of SCCP in sediments, corresponding to the estimated level of EQS/3 for SCCP in sediments [1], could be reached.

Key words (thematic and geographical area) :
SCCP, sediments, PLE

PRÉAMBULE

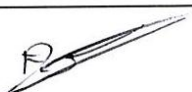


Le présent rapport a été établi sur la base des informations fournies à l'INERIS, des données (scientifiques ou techniques) disponibles et objectives et de la réglementation en vigueur.

La responsabilité de l'INERIS ne pourra être engagée si les informations qui lui ont été communiquées sont incomplètes ou erronées.

Les avis, recommandations, préconisations ou équivalents qui seraient portés par l'INERIS dans le cadre des prestations qui lui sont confiées, peuvent aider à la prise de décision. Etant donné la mission qui incombe à l'INERIS de par son décret de création, l'INERIS n'intervient pas dans la prise de décision proprement dite. La responsabilité de l'INERIS ne peut donc se substituer à celle du décideur.

Le destinataire utilisera les résultats inclus dans le présent rapport intégralement ou sinon de manière objective. Son utilisation sous forme d'extraits ou de notes de synthèse sera faite sous la seule et entière responsabilité du destinataire. Il en est de même pour toute modification qui y serait apportée.

L'INERIS dégage toute responsabilité pour chaque utilisation du rapport en dehors de la destination de la prestation.

	Rédaction	Vérification	Approbation
NOM	F. LESTREMAU	M.P STRUB	N. ALSAC
Qualité	Ingénieur au Pôle « Caractérisation de l'Environnement » Direction des Risques Chroniques	Ingénieur au Pôle « Caractérisation de l'Environnement » Direction des Risques Chroniques	Responsable du Pôle « Caractérisation de l'Environnement » Direction des Risques Chroniques
Visa			

1. Glossaire

DCM :	Dichlorométhane
ECNI :	Capture d'électron en ionisation négative (Electron Capture Negative Ionisation)
GC/MS :	Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse
GPC :	Chromatographie par gel de perméation
HRMS :	Spectrométrie de masse haute résolution
IT :	Trappe d'ions
LD :	Limite de détection
LQ :	Limite de quantification
LRMS :	Spectrométrie de masse basse résolution
NQ :	Norme de qualité
PCB :	Polychlorobiphényles
PLE :	Méthode d'extraction automatique par solvant pressurisé (Pressurized liquid extraction)
SCCP :	Polychloroalcanes à chaîne courte (Short Chain Chlorinated Paraffin)
SPE :	Extraction en phase solide
v/v :	volume/volume

2. Contexte

Les chloroalcanes, ou paraffines chlorées, sont des mélanges de n-alcanes polychlorés, produits par la réaction du chlore avec certaines fractions de paraffines issues de la distillation du pétrole. La longueur de la chaîne carbonée des produits commerciaux est généralement comprise entre C₁₀ et C₃₀ et se présente sous une formule générale C_xH_{(2x+2)-y}Cl_y. Le contenu en chlore est généralement compris entre 40 et 70 % en masse. On distingue les chloroalcanes à chaîne courte (C₁₀-C₁₃), qui sont traités ici, ceux à chaîne moyenne (C₁₄-C₁₇), à chaîne longue (C₁₈-C₂₀) et les cires au delà de C₂₄. Les chloroalcanes C₁₀-C₁₃ sont plus couramment appelés paraffines chlorées à chaîne courte (Short Chain Chlorinated Paraffin: SCCP). Le numéro CAS le plus utilisé pour les désigner est le 85535-84-8.

En faisant varier la longueur de la chaîne carbonée et le pourcentage de chlore, les SCCP offrent une gamme de propriétés très différentes et sont ainsi très employés dans l'industrie. Ils sont le plus couramment utilisés comme fluides d'usinage de métaux (fluides de refroidissement et lubrification), retardateurs de flamme, imperméabilisants de textiles ou dans des peintures, mastics et adhésifs et se retrouvent, de ce fait, largement répandus dans l'environnement.

Les chloroalcanes à chaîne courte (C₁₀ à C₁₃) sont considérés comme particulièrement nocifs. Suite à une étude sur les rats, ils ont été classés comme très toxiques pour les organismes aquatiques et cancérigènes. Ils font partie de la liste des substances prioritaires dangereuses selon la directive cadre eau et leurs rejets doivent être ainsi supprimés [2]. La directive 98/98/CE les classe dans les substances dangereuses pour l'environnement, nocives et *cancérogènes catégorie 3* [3].

3. Synthèse bibliographique

La toxicité des chloroalcanes à chaîne courte sur l'environnement étant connue depuis de nombreuses années, beaucoup de travaux analytiques peuvent être retrouvés dans la littérature, notamment sur les sédiments.

Les différentes études consacrées aux sédiments ont été référencées dans deux revues sur le devenir des chloroalcanes dans l'environnement [4,5]. Un tableau récapitulatif des différentes publications consacrées à l'analyse des SCCP dans cette matrice [6-12] peut être consultée en annexe 1.

L'extraction est conduite principalement au Soxhlet avec des solvants pouvant inclure le dichlorométhane, l'hexane ou l'acétone. Quelques publications font référence à des extractions par micro-ondes [9] ou par PLE [6,12].

Dans les sédiments, le soufre est un interférant majeur qui peut venir perturber la détection des éléments cibles, il est ainsi nécessaire de l'éliminer des extraits. De nombreuses publications [4,5] mentionnent l'utilisation de cuivre traité à l'acide qui permet de le piéger.

D'autres polluants organiques notamment les PCB peuvent également provoquer des interférences de l'analyse des SCCP. Une seconde étape de purification, souvent avec Florisil®, est généralement mise en œuvre. Tous les composés cibles ainsi que les composés interférants organiques sont piégés sur ce support. Une extraction par l'hexane permet généralement d'éluer d'abord les PCB puis les SCCP sont récupérés par ajout de dichlorométhane et d'hexane.

L'analyse est effectuée en chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectromètre de masse par capture d'électron en ionisation chimique par (ECNI). Quelques travaux mentionnent ce mode d'analyse avec un appareil à haute résolution [6,8].

Les échantillons à analyser contenant un mélange complexe de chloroalcanes à chaîne courte et non une seule substance, il est particulièrement délicat d'obtenir une méthode de quantification fiable. La réponse obtenue sera en effet dépendante de la teneur en chlore du composé, qui peut varier suivant les différents échantillons. Une méthode de quantification indépendante de la composition de l'échantillon en chlore a été développée. De nombreuses publications font référence à la méthode mise au point par Tomy *et al.* [13]. Basée sur ces travaux, une nouvelle méthode de quantification a été développée qui exploite la relation entre la réponse de fragments particuliers qui permettent d'obtenir une quantification pour des échantillons avec des niveaux de chlore différents [14]. Une régression multilinéaire est utilisée, basée sur le ratio de 2 fragments et comparée à la réponse obtenue pour l'étalon interne. Cette étude a également servi pour l'élaboration du projet de norme ISO/DIS 12010 [15].

4. Objectif

Le but de l'étude a consisté à comparer différentes techniques d'extraction des SCCP (extraction liquide/solide par agitation, soxhlet, ultrasons, solvant pressurisé à chaud (PLE)) et à optimiser la purification pour la mesure des SCCP dans les sédiments.

Les meilleures conditions déterminées ont ensuite fait l'objet d'une validation de méthode à la limite de quantification (LQ).

Les NQ réglementaires n'existent pas à ce jour pour les sédiments. Un objectif de $NQ/3 = 580 \mu\text{g}/\text{kg}$ (poids sec) de limite de quantification a été établi. Cette valeur correspond à la concentration divisée par 3 reportée dans la fiche Aquaref dédiée aux SCCP et qui a été calculée par rapport au seuil NQE défini dans l'eau [1].

5. Matériels et méthodes

5.1 Solutions étalons

Pour les études d'extraction, de purification et de validation : une solution représentative de SCCP, le Chlorowax® 500C (mélange technique de SCCP à 59%Cl) a été utilisé (solution à 10 µg/mL dans le toluène; Accustandard).

Un étalon interne d'injection, le 1,2,5,5,6,9,10 heptachlorodécane (10 µg/ml dans le toluène, Ehrnstoffer) a été employé.

5.2 Instrumentation chromatographique

Toutes les analyses ont été effectuées en utilisant un chromatographe en phase gazeuse Agilent® 6890N équipé d'un spectromètre de masse 5973N (simple quadropole).

L'injection était effectuée en split/splitless.

Les analyses étaient effectuées en mode d'ionisation chimique par capture d'électron (ECNI) avec du méthane en gaz réactant.

Les conditions chromatographiques détaillées sont décrites en annexe 2.

5.3 Echantillons sédiments

Des échantillons de sédiments du canal de Nimy-Blatton ont été utilisés (Belgique). Ils avaient été, préalablement aux extractions, séchés à l'étuve.

Ils ont été ensuite broyés et homogénéisés. Un broyeur planétaire à billes (Pulverisette6®, Fritsch) a été utilisé avec une vitesse de 250 tour/minute pendant 2 min. Les sédiments ont été ensuite tamisés et la fraction comprise entre 80 µm et 1 mm a été conservée.

5.4 Etalonnage : modèle et domaine

Un mélange de référence, le Chlorowax® 500C (mélange technique de SCCP à 59% Cl) a été choisi comme représentatif des mélanges de SCCP.

Pour les SCCP, plusieurs ions représentatifs des différents isomères peuvent être suivis. Ainsi, les ions 327, 375, 409 et 423 ont été enregistrés. Pour l'étalon interne, l'ion 348 a été suivi.

Un étalonnage avec des concentrations allant de 10 ng/mL à 2 100 ng/mL de Chlorowax® 500C (correspondants à 10 jusqu'à 2 100 µg/kg de sédiments) a été effectué. Les aires obtenues sont divisés par celles déterminées pour l'étalon interne (concentration: 50 ng/mL). Dans la gamme de solvant étudiée, une droite d'étalonnage linéaire a été obtenue pour une gamme allant de 20 à 2 100 ng/mL (correspondants à 20 - 2 100 µg/kg de sédiments) (annexe 3).

Les rendements d'extraction ont été calculés par rapport à l'étalonnage en solvant établi avec cette solution. Les résultats obtenus avec les différents ions ont garanti l'identité des SCCP détectés notamment par rapport aux interférences (les PCB produisent un signal avec l'ion 327 mais pas avec les autres ions suivis par les SCCP).

Remarque : Les études effectuées ici se sont concentrées sur un seul mélange représentatif des SCCP présentant un pourcentage en chlore fixe et les déterminations de rendements relatifs ont donc été calculées par rapport à ce mélange en solvant.

Il doit être précisé que pour la détermination des SCCP dans des échantillons inconnus, le projet de norme ISO/DIS 12010 [15] recommande un étalonnage avec un modèle combinant 2 différents ions et une régression linéaire multiple. Ce modèle est ainsi capable de refléter et de quantifier des échantillons comportant des taux de chlore différents. Cette approche a également été testée par l'INERIS et est décrite dans un rapport associé à la qualité de l'eau [16].

5.5 Dopage des sédiments

Les échantillons de sédiments ont été dopés directement par l'ajout d'une quantité de la solution mère de Chlorowax® 500C. L'échantillon a été pesé avant et après dopage ce qui a permis de connaître précisément la quantité déposée sur le sédiment. L'échantillon a été homogénéisé par agitation mécanique pendant 1 nuit et soumis à l'étape d'extraction.

Des blancs effectuées par extraction par ASE sur les échantillons non dopés n'ont pas révélés de contamination en SCCP.

5.6 Méthodes d'extraction

Les tests sur les méthodes d'extraction ont été effectués sur 1 g de sédiments sec ?.

5.6.1 PLE

La méthode d'extraction automatique par solvant pressurisé (PLE) développée par Tomy *et al.* [12], avec un mélange DCM/hexane (1/1 v/v), a été utilisée. Les paramètres d'extraction PLE sont décrits en annexe 4.

5.6.2 Soxhlet

Un mélange de solvant identique à celui utilisé avec le PLE (200 ml hexane/DCM 1/1 v/v) a été utilisé pour l'extraction des composés cibles par soxhlet pendant 16 heures. Le solvant d'élution a été concentré sous flux d'azote jusqu'à 0,5 mL. Il a été ensuite repris par 5 mL d'hexane pour subir l'étape de purification.

5.6.3 Extraction liquide/solide par agitation mécanique

Les sédiments ont été immergés dans 100 mL d'hexane/DCM (1/1 v/v) pendant 20 minutes et secoués par agitation mécanique. Le solvant a été récupéré et concentré par un flux d'azote jusqu'à 0,5 mL d'hexane. L'extrait a été ensuite repris par 5 mL d'hexane pour y subir l'étape de purification.

5.6.4 Ultrasons

Les sédiments ont été immergés dans 100 mL d'hexane/DCM (1/1 v/v) et soumis à la sonication pendant 30 minutes. Le solvant a été récupéré et concentré par un flux d'azote jusqu'à 0,5 mL. Il a été ensuite repris par 5 mL d'hexane pour y subir l'étape de purification.

5.7 Matériel de purification

Pour effectuer la purification, du cuivre activé a été utilisé.

Le cuivre a d'abord été traité par une solution d'acide chlorhydrique pendant 1 heure puis lavé à l'eau jusqu'à l'obtention d'un pH neutre. Le cuivre activé est ensuite séché au four.

Du Florisil® (60/100 mesh) (Sigma) a été utilisé pour la phase de purification.

Les détails de la purification sont décrits dans la section 6 (résultats).

Après la purification, l'échantillon a été concentré à sec puis repris dans 1 mL d'hexane. 50 ng d'étalon d'injection, le 1,2,5,5,6,9,10 heptachlorodécane, est ajouté à l'extrait avant injection.

6. Résultats

6.1 Optimisation des paramètres d'extraction et de purification

L'analyse des SCCP a fait l'objet d'une étude récente à l'INERIS sur la matrice eau [16] pour l'élaboration d'une fiche méthode Aquaref [1] puis lors de la participation à l'essai interlaboratoires de validation de la norme ISO/DIS 12010 [15].

Nous nous sommes inspirés de ces travaux pour les essais initiaux sur les sédiments. Lors d'échange avec l'auteur de la norme ISO/DIS 12010 (Sabine Geiß, Thüringer Landesanstalt für Umwelt und Geologie, Jena, Allemagne), il nous a été néanmoins suggéré d'adapter la méthode de purification en raison de la quantité plus importante d'interférents attendue dans les sédiments.

6.1.1 Essai initial : extraction par PLE et purification suivant la norme ISO/DIS 12010 [15]

Le protocole d'extraction est détaillé en annexe 5. L'extraction a été effectuée par PLE avec et la phase de purification basée sur celle décrite dans la norme ISO/DIS 12010 [15]. La colonne de purification, identique à celle utilisée dans cette norme, était composée d'1 g de Na_2SO_4 , de 2,5 g de cuivre et 3 g de Florisil®. L'élution des composés de la cartouche avait été testée initialement avec du dichlorométhane (DCM) au lieu de l'acétone car il avait été constaté, lors d'étude précédente sur l'analyse des SCCP dans l'eau, des taux de récupération faibles avec l'acétone.

Les échantillons dans l'hexane ont été passés sur la colonne de purification, puis la colonne a été lavée par 5x2 mL d'hexane, puis par 2 fractions de 2 mL 85/15 (v/v) hexane/DCM et enfin une fraction de 2x2 mL d'hexane/DCM (1/1 v/v).

L'analyse des blancs a montré que les premières fractions prélevées dans l'hexane contenaient de nombreux composés interférants.

Les sédiments ont ensuite été dopés avec une solution étalon à 10 $\mu\text{g/g}$ (10 mg/kg) et extraits suivant le protocole décrit en annexe 5. Aucune réponse n'a pu être obtenue pour les SCCP en GC/MS.

Une analyse des extraits en GC/MS en mode full scan a révélée que de grandes quantités de soufre étaient encore présentes indiquant que la purification n'était pas adaptée, notamment la quantité de cuivre utilisée. Le passage de l'échantillon étant rapide, le temps de contact entre le cuivre et le soufre a été probablement trop court ce qui n'autorise pas une élimination efficace de celui-ci.

Il peut être également supposé que les nombreux composés extraits de la matrice ont saturé les supports lors de la phase de purification.

6.1.2 Optimisation du mode de purification

La méthode de purification n'était donc pas adaptée pour l'analyse des SCCP dans les sédiments. Des modifications ont été effectuées afin d'optimiser la partie purification des échantillons.

Afin de vérifier que les composés cibles n'ont pas été piégés lors de l'étape de purification, 10 µg de solution dopée de SCCP a été injectée directement dans la colonne de purification. 4 colonnes différentes de purification ont été testées, contenant différentes fractions de cuivre, de Na₂SO₄ et de Florisil® (voir annexe 6). Aucune différence n'a été constatée entre les réponses obtenues au cours des 4 expériences. Ces tests ont également permis de prouver qu'aucun SCCP n'était extrait par la fraction hexane. Les SCCP sont extraits à moitié dans la fraction hexane/DCM 85/15 (v/v) et à moitié dans la fraction hexane/DCM 50/50 (v/v). Pour vérification, une élution par du DCM a été effectuée après l'élution en hexane/DCM 50/50 (v/v) et l'analyse de cette fraction a confirmé que tous les SCCP avaient été récupérés dans les fractions précédentes.

Cette expérience a donc démontré que la purification n'affecte pas le recouvrement de SCCP et que le problème constaté précédemment provenait probablement d'une interférence due à une élimination incomplète du soufre.

6.1.2.1 Optimisation de l'ajout de cuivre nécessaire à la purification

Les évaluations initiales de ce protocole ont ainsi démontré les limites de l'application aux sédiments. Le protocole a ainsi été modifié pour se rapprocher de celui développé dans [12].

L'étape de purification au cuivre a été effectuée après l'extraction par PLE. Le cuivre activé a été directement ajouté à l'extrait de 5 mL d'hexane. Le mélange a été agité manuellement puis laissé reposé pour homogénéisation pendant 15 min. Cette procédure permet de laisser suffisamment de temps de contact et de réaction entre le soufre et le cuivre activé. Le mélange hexane/cuivre activé a ensuite été déposé sur la colonne remplie de 10 g de Florisil®.

Afin d'optimiser la quantité de cuivre nécessaire à la purification, des expériences en utilisant des ratios égaux à 0,1, 0,2, 0,5 et 1 g de cuivre activé/ g de sédiment ont été effectuées. Les tests avec des ratios de 0,1 et 0,2 ont démontré que de larges quantités de soufre étaient encore présentes ce qui limitait l'extraction et l'exactitude de mesure des SCCP.

Des valeurs d'extraction plus performantes ont été obtenues avec des ratios de 0,5 et 1. Un ratio 1 g de cuivre activé/ g de sédiments a été choisi ce qui pour 1 g de sédiment correspond à 1 g de cuivre activé.

Comme les expériences ont été effectuées avec des échantillons secs, aucun agent desséchant n'a été employé. Dans le cas de présences de traces d'eau, du Na₂SO₄ peut être rajouté directement dans la cellule d'extraction PLE.

6.1.2.2 Interférence des PCB

Dans les sédiments utilisés, des interférences ont été néanmoins constatées notamment pour l'ion 327. Pour la mesure d'échantillons inconnus, si la méthode de quantification des SCCP employée est celle recommandée par la norme ISO/DIS 12010 [15], l'utilisation de l'ion 327 est préconisé afin d'obtenir une meilleure exactitude des résultats. Afin de pouvoir envisager d'utiliser ce mode de calcul, il est indispensable d'éliminer tous les composés, dont les PCB, qui sont susceptibles de produire un ion 327.

Des optimisations préliminaires pour la purification des SCCP envers les PCB ont été effectuées et sont détaillées en annexe 7. A la suite de ces essais, afin de définir précisément les fractions d'élutions, une expérience a été réalisée avec trois solutions synthétiques: l'une contenant des PCB, une autre des SCCP et une dernière un mélange SCCP et PCB.

Reprenant le protocole utilisé pour des échantillons réels, les solutions diluées dans 5 mL d'hexane ont été déposées en tête de colonne. L'élution a d'abord été effectuée avec 30 mL d'hexane puis 5 ajouts de 10 mL d'hexane chacun pour un volume total d'hexane de 80 mL. 3 élutions successives avec 10 mL d'hexane/acétone à 85/15 (v/v) ont été effectuées et enfin 2 élutions successives d'hexane/acétone 50/50 (v/v), une de 20 mL et une autre de 10 mL. Toutes ces fractions ont été collectées, concentrées à sec, reprises dans 1 mL d'hexane et analysées par GC/MS.

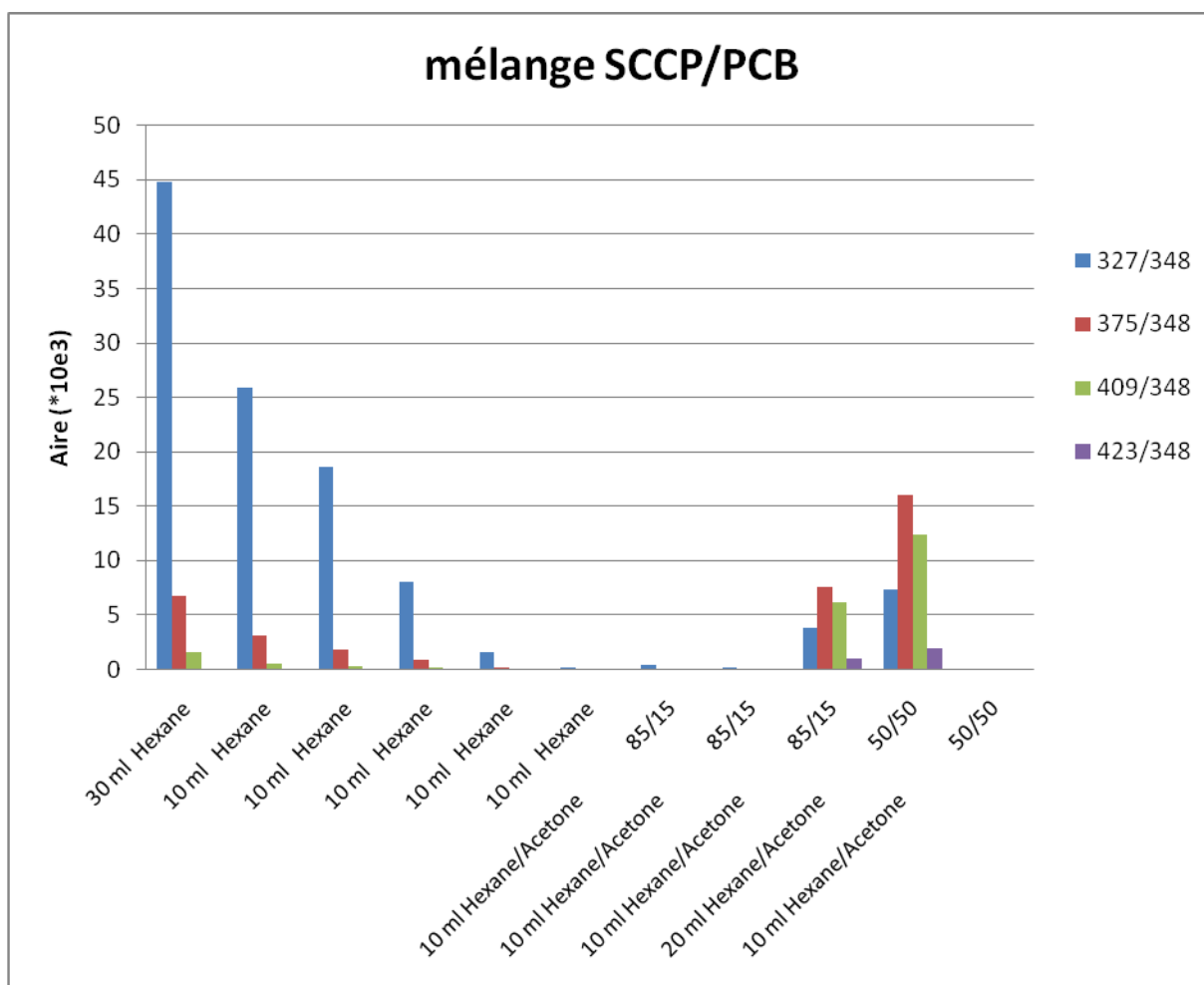


Figure 1. Composition détaillée des différentes fractions après élution hexane/acétone sur colonne Florisil® pour un mélange de PCB et SCCP.

L'ion 327 en bleu à gauche (élution par hexane) correspond aux PCB et à droite correspond aux SCCP.

Le résultat du test pour le mélange PCB/SCCP est détaillé en figure 1. Cette expérience démontre que les PCB sont élués dans la partie hexane alors que les SCCP sont élués dans les dernières fractions 85/15 (v/v) hexane/acétone et les fractions 50/50 (v/v) hexane/acétone. Les résultats de ces expériences avec les SCCP ou les PCB individuellement corrélerent le résultat trouvé pour le mélange.

Le protocole de purification a été établi sur ces observations : passage de l'échantillon, puis de 80 mL d'hexane pour enlever les PCB puis une fraction 85/15 (v/v) hexane/acétone. Enfin, les SCCP sont élués dans la deuxième fraction de 20 mL de 85/15 hexane/acétone et dans la fraction 50/50 (v/v) hexane/acétone. Les 2 dernières fractions sont combinées et concentrées.

En cas de problème (matrices différentes et plus chargées par exemple), il convient d'analyser les fractions 85/15(v/v) hexane/acétone et 50/50 (v/v) hexane/acétone séparément.

Si des PCB sont encore présents dans la fraction 85/15(v/v), on peut re-purifier cette fraction. Alternativement, pour un grand nombre d'échantillons, la méthode d'élution (volume de solvant) peut être redéveloppée selon le protocole décrit ci-dessus.

6.1.3 Comparaison des méthodes d'extraction

A la suite de l'optimisation de la méthode de purification, 4 méthodes d'extraction, extraction liquide/solide, soxhlet, ultrasons et PLE, ont été comparées à l'aide des échantillons de sédiments et protocoles analytiques décrits dans la partie 5.

Les méthodes d'extraction ont été testées à une concentration de 400 µg/kg (correspondant à un niveau légèrement inférieur à la NQ/3 estimée de 580 µg/kg) avec 3 essais et 1 blanc pour chaque méthode.

Pour tous les blancs des différentes extractions, aucun SCCP n'a été retrouvé.

En concordance avec les données observées dans la littérature, pour les différentes extractions, des rendements d'extraction proches de 100% ont été constatés.

Toutes les techniques testées permettent donc de récupérer efficacement les SCCP, comme le montre le tableau 1.

Tableau 1. Comparaison de méthodes d'extraction des SCCP dans les sédiments (n = 3 par essai)

	% Rendement d'extraction	% Ecart type
Extraction liquide/solide	100	4
Soxhlet	100	/
PLE	105	7
Ultrasons	94	31

Pour les résultats au Soxhlet, un seul résultat a pu être déterminé en raison de problèmes instrumentaux durant les expériences.

Le méthode du Soxhlet nécessite une quantité importante de solvant, de temps (16h) et surtout de verrerie, multipliant les sources potentielles de contamination. Pour les extractions liquide/solide et ultrasons, la matrice solide est dispersée dans le liquide d'extraction et il n'est pas toujours aisé de pouvoir séparer les 2 phases (besoin possible de centrifugation ou de casser l'émulsion,...). La comparaison de ces 2 techniques, d'après les résultats obtenus, permet de constater qu'un écart type plus important est observé avec les ultrasons.

L'extraction par PLE représente le meilleur compromis en matière de temps, consommation de solvant, facilité d'utilisation et performances. Cette technique a donc été choisie comme référence.

6.2 Validation de l'extraction par PLE à la concentration de 400 µg/kg dans les sédiments

Le protocole final d'extraction et de purification est décrit en annexe 8.

La validation du niveau de concentration correspondant à environ NQ/3 s'est établie avec cette méthode en dopant les sédiments avec 400 ng de Chlorowax® 500 sur 1 g de sédiment pour obtenir une concentration de 400 µg/kg.

Les analyses ont été réalisées 10 fois, les résultats détaillés sont exposés en annexe 9.

Un rendement moyen d'extraction de 106% est obtenu avec un écart type de 7%.

7. Conclusion

Une méthode pour l'extraction et l'analyse des SCCP dans les sédiments à la concentration de 400 µg/kg, correspondant à une valeur proche de la NQ/3 estimée, a été testée.

L'extraction par PLE a été choisie, pour ses performances et sa mise en œuvre plus facile par rapport aux autres méthodes d'extraction testées (extraction liquide/solide par agitation, soxhlet, ultrasons).

Les conditions de purification ne doivent pas être négligées car le soufre et les PCB peuvent perturber la récupération des SCCP et doit être éliminé par utilisation de cuivre activé.

La séparation par colonne de Florisil®, pour éliminer les PCB des SCCP, est cependant l'étape la plus délicate. Pour des colonnes remplies au laboratoire, il est particulièrement important de les remplir avec homogénéité. En effet, les conditions d'élution peuvent être perturbées dans le cas contraire. Dans ce cas ou pour des échantillons très différents, les conditions d'élution (volumes d'élution) peuvent être re-optimisés ou, alternativement, les extraits contenant des PCB résiduels, purifiés à nouveau. Ceci n'est cependant particulièrement important que pour l'ion 327 et les interférences provenant des PCB, les autres ions (375, 409, 423) ne subissant pas d'interférences des PCB.

Dans le cas d'une purification maîtrisée et pour l'analyse d'échantillons inconnus avec différents mélanges de SCCP entraînant des niveaux variables de chlore, il est conseillé d'utiliser la méthode de quantification basée sur le projet de norme ISO/DIS 2010, ce mode de calcul permettant de considérer ces différences de composition en chlore [15].

Pour une analyse d'échantillon, un étalon interne doit être employé. Le 1,2,5,5,6,9,10 heptachlorodécane, utilisé dans cette étude comme étalon d'injection peut être choisi. D'autres étalons internes peuvent aussi être utilisés, tels que le 1,1,1,3,10,11-Hexachloroundécane ou le 1,1,1,3,11,13,13,13-Octachlorotridecane recommandés par la norme ISO/DIS 2010 [15].

8. Références

- [1] Fiche méthode Aquaref MA-08 « Chloroalcanes à chaîne courte- méthode d'analyse dans les eaux douces et souterraines - phase dissoute », (disponible à l'adresse Aquaref : <http://www.aquaref.fr>)
- [2] Directive-cadre sur l'eau (2000/60/CE) du 23 octobre 2000
- [3] Rapport INERIS, Données technico-économiques sur les substances chimiques en France, Chloroalcanes C10-C13, Brignon J-M, 2005
- [4] Feo M.L., Eljarrat E., Barcelo D., Trends in Anal. Chem., 2009, 28, 778-791
- [5] Bayen S., Obbard J.P., Thomas G.O., Environ. Int, 2006, 32, 915-929
- [6] Tomy G.T., Stern G.A., Lockhart W.L., Muir C.G., Environ. Sci. Tech., 1999, 33, 2858-2863
- [7] Petra S., Tejnarova P.S, Coelhan M., Kostrohounova, Parlar H., Holoubek I., Chemosphere, 2005, 58, 253-262
- [8] Nicholls C.R., Allchin C.R., Law R.J., Environ Poll., 2001, 114, 415-430
- [9] Parera J., Santos F.J., Galceran M.T., J. Chromatogr. A, 2004, 1046, 19-26
- [10] Přibylková P, Klánová J., Holoubek I, Environ. Poll., 2006, 144, 248-254
- [11] Castells P., Parera J., Santos F.J., Galceran M.T., 2008, 70, 1552-1562
- [12] Tomy G.T., Stern G.A., Anal. Chem., 1999, 71, 4860-4865
- [13] Tomy, G.T., Stern G.A., Muir D.C.G., Fisk A.T., Cymbalisty C.D., Westmore J.B., Anal. Chem., 1997, 69, 2762-2771
- [14] Geiß S., Einax J.W., Scott S.P., Clean, 2010 38, 57-76
- [15] 2nd Draft ISO/DIS 12010 « Water Quality- determination of short chain polychlorinated alkanes (SCCP) in water- Method using gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS) and electron capture negative ionisation (ECNI) », 2010
- [16] Rapport INERIS- DRC-CARA-NOVA-Laboratoire de spectrométrie de masse- Développement de méthode - Dosage des chloroalcanes C₁₀-C₁₃ en CG/SM-ECNI- 2008

9. Liste des annexes

Annexes	Désignation
Annexe 1	Revue bibliographique relatives aux SCCP dans les sédiments
Annexe 2	Condition chromatographique des analyses des SCCP
Annexe 3	Gamme solvant pour les SCCP
Annexe 4	Paramètres d'extraction PLE (d'après [10])
Annexe 5	Conditions initiales du protocole d'extraction par PLE et purification suivant la norme ISO/DIS 12010
Annexe 6	Vérification de la récupération des composés cibles lors de l'étape de purification
Annexe 7	Optimisation des conditions de purification entre les PCB et les SCCP
Annexe 8	Protocole d'analyse des SCCP dans les sédiments
Annexe 9	Validation des conditions d'extraction des SCCP dans les sédiments

Annexe 1

Revue bibliographique relative aux SCCP dans les sédiments							
	Préparation avant extraction	Type d'extraction (masse sur poids sec)		Validation extraction	Purification	Analyse	Limite de détection
[6]	Ajout de octachloronaphtalène pour traceur d'extraction	Soxhlet DCM 16 h	PLE DCM 100 °C 2000 Psi 30 mns	Non	Purification par cuivre Séparation de 3 fractions par SPE Florisil®	GC/ECNI-HRMS	11 ng-g
[7]	Séchage à l'air ambiant pendant 1 mois	20 g par DCM Soxtec 40 mns		Ajout de Cereclor 63L à 1000 et 1400 ng-g (91 et 114%)	Purification par cuivre Séparation par SPE Silica Gel GPC pur retenir les interférents	GC/LRMS-ECNI	0,5 ng-g (Sec)
[8]	Séchage à l'air ambiant	Soxhlet DCM 16h		Ajout de SCCP (non spécifié) 1-2 mg-kg 84 %	Séparation par SPE Silica Gel	GC-ECNI-HRMS	200 ng-g
[9]	Séchage à l'air ambiant	MAE 15 mns 115°C par nHexane-Acétone 1 :1		Ajout de C10-C13 avec 63% Cl SCCP à 200 et 400 ng-g 90 %	Séparation de 2 fractions par SPE Florisil®	GC-ECNI-MS	1,5 ng-g
[10]	Séchage à l'air ambiant	10 g par Soxtec® avec DCM 60 mns		Enrichissement par Cereclor® 63L à 1000 et 100 ng-g 103 et 92%	Purification par cuivre Séparation par SPE Silica Gel	GC-ECNI-IT-MS	10 ng-g
[11]	Séchage à l'air ambiant	10 g mélangés à 20 sulfate de sodium anhydre et 20 g de cuivre Soxhlet 16 h avec DCM		Dopage à 0,4 µg-g	Séparation de 23 fractions par SPE Florisil®	GC-ECNI-MS	1 ng-g
[12]	Séchage par congélation	PLE avec Hexane/DCM (1 :1) puis traité au sulfate de sodium anhydre et cuivre		Enrichi à 10 µg et 1 ug	Purification par Florisil®	GC-ECNI-MS	

Annexe 2

Conditions chromatographiques des analyses des SCCP

- Colonne : DB5 MS (5 % diphényl et 95 % diméthyl) polysiloxane)

Longueur : 15 m, diamètre interne : 0,25 mm,
Epaisseur de phase stationnaire : 0,25 µm.

- Gaz vecteur : Hélium.
- Débit : 1,3 mL/min.
- Volume injecté : 3 µL.
- Température de l'injecteur : 275 °C.
- Programmation en température du four :

Temperature (°C)	Rampe (°C/min.)	Pallier (min.)
100	-	2
280	70	2,5
320	70	7

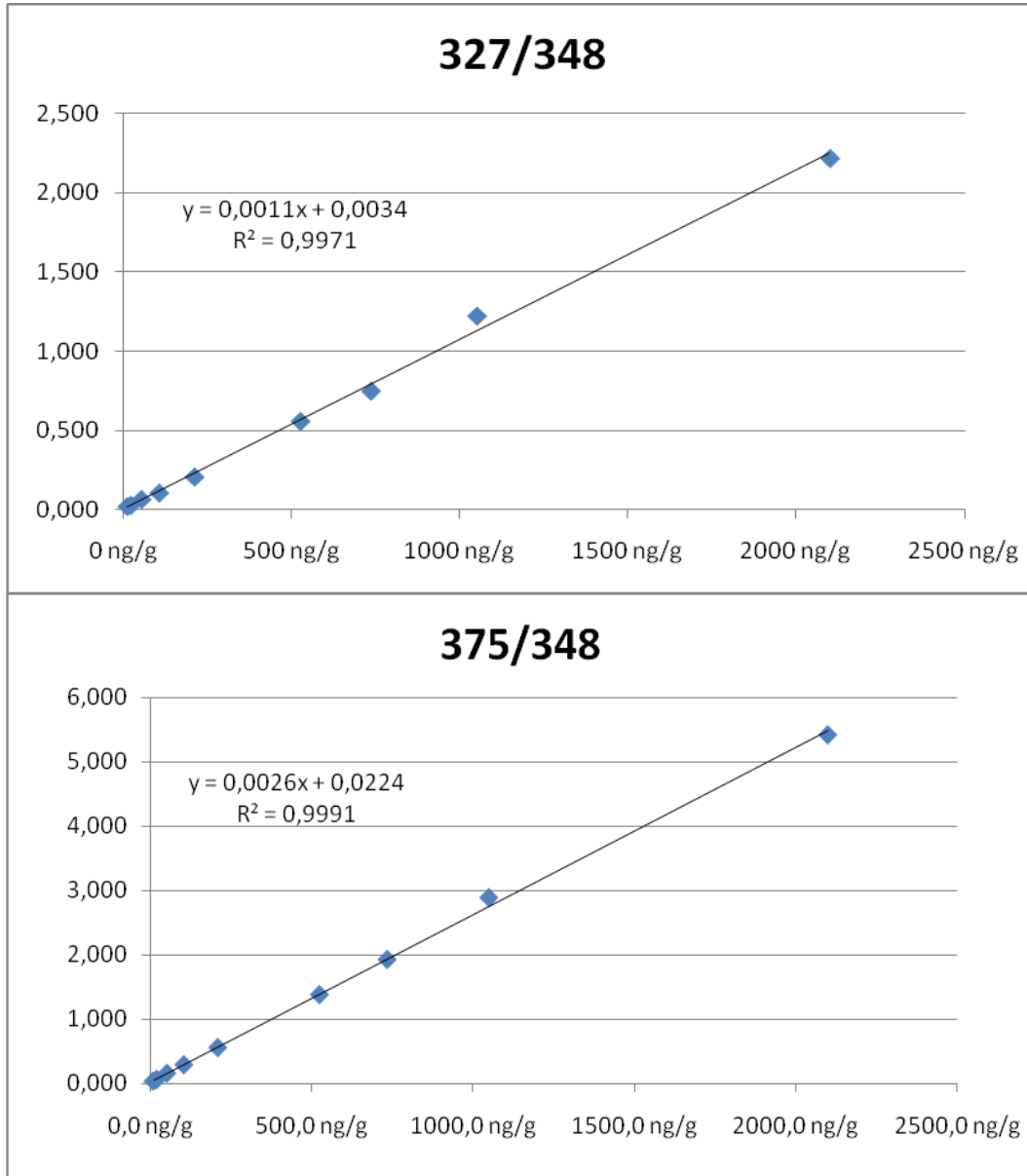
- Conditions spectrométriques :

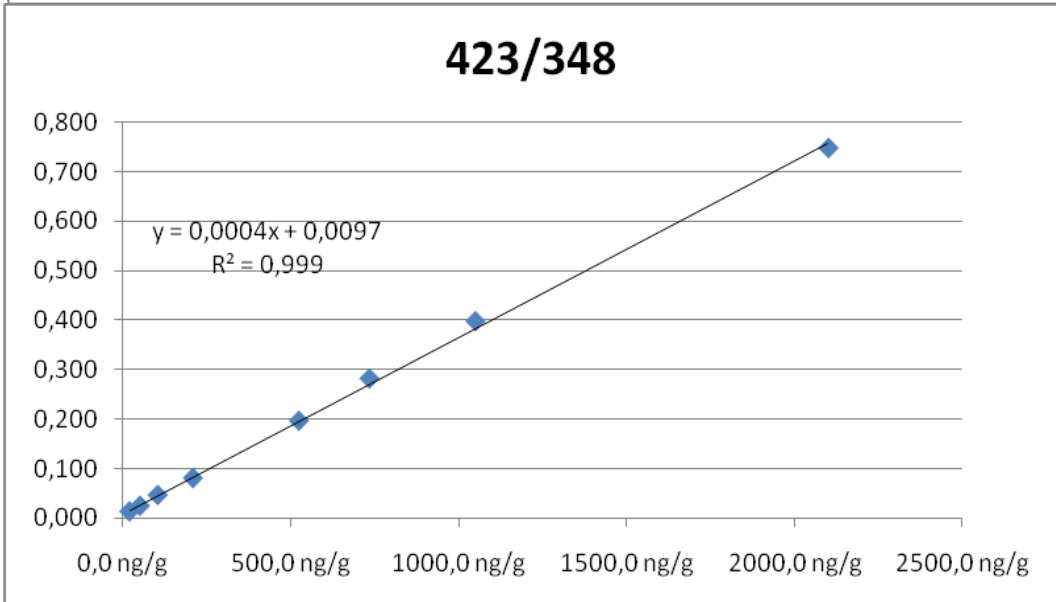
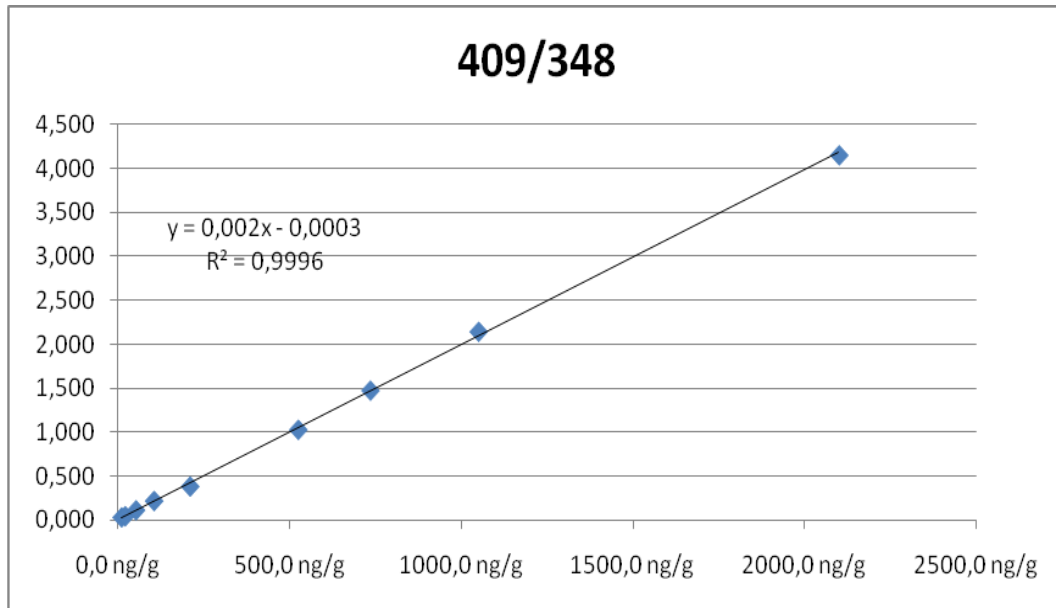
- Température de la source : 150 °C.
- Température du quadropôle : 106 °C.
- Courant d'ionisation : 50 µA.
- Energie d'électrons : 150 eV.
- Gaz de thermalisation : CH₄.
- Mode d'acquisition : SIM (*Selected Ion Monitoring*)

Composé(s)	Ions suivis (u.m.a)
SCCP	327 ; 375 ; 409 ; 423
1,2,5,5,6,9,10- Heptachlorodecane	348

Annexe 3

Gamme solvant pour les SCCP





Ordonnée en rapport d'aire d'ions

Annexe 4

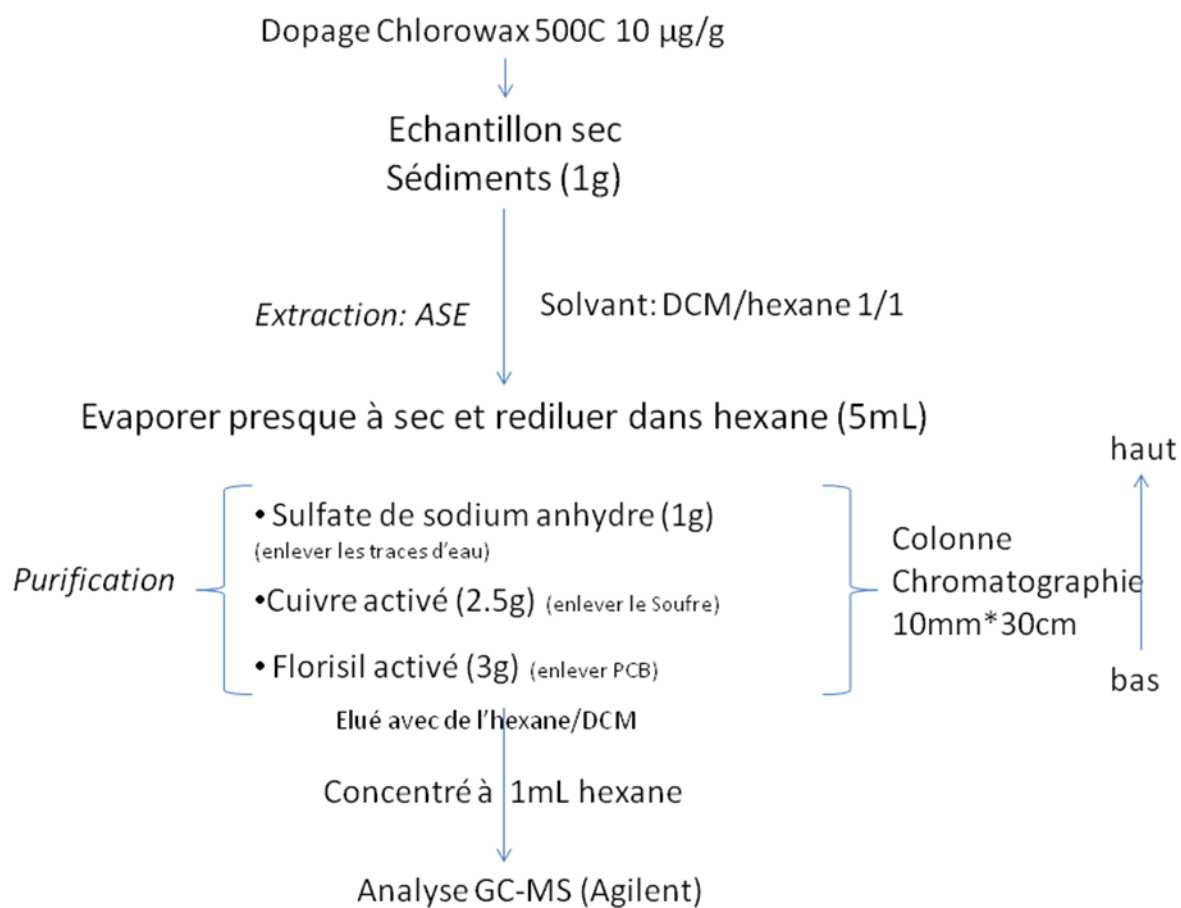
Paramètres d'extraction PLE (d'après [12])

ASE 250® (Dionex)

Paramètres	Conditions analytiques
Cellule	33 ml
Solvant	DCM/hexane (1 : 1, v/v)
Pression	136 Bar (pas de réglage)
Température	100 °C
Preheat time	0
Static time	10 min
Flush volume	60 %
Purge time	200 sec
Nombre de cycles	2

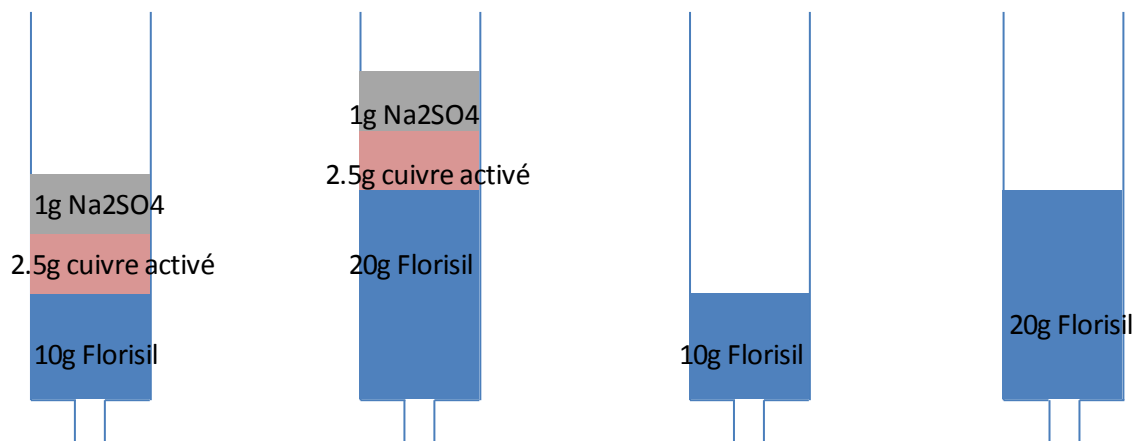
Annexe 5

Conditions initiales du protocole d'extraction par PLE et purification suivant le projet de norme ISO/DIS 12010 [15]



Annexe 6

Vérification de la récupération des composés cibles lors de l'étape de purification



Annexe 7

Optimisation des conditions de purification entre les PCB et les SCCP

La littérature et la norme ISO/DIS 12010 [15] font référence à des interférences provenant des PCB. Le pic des PCB est d'ailleurs aisément identifiable des SCCP car la trace chromatographique est généralement bien distincte de celle des SCCP. Le chromatogramme ci-dessous (figure 2) montre ainsi, en mode SIM avec l'ion 327, la comparaison d'une solution de PCB avec la solution collectée dans l'hexane contenant les composés interférants. Les 2 parties se recouvrent parfaitement et confirment qu'il est donc indispensable de maîtriser la séparation des composés cibles par rapport aux PCB afin d'obtenir une quantification pour l'ion 327.

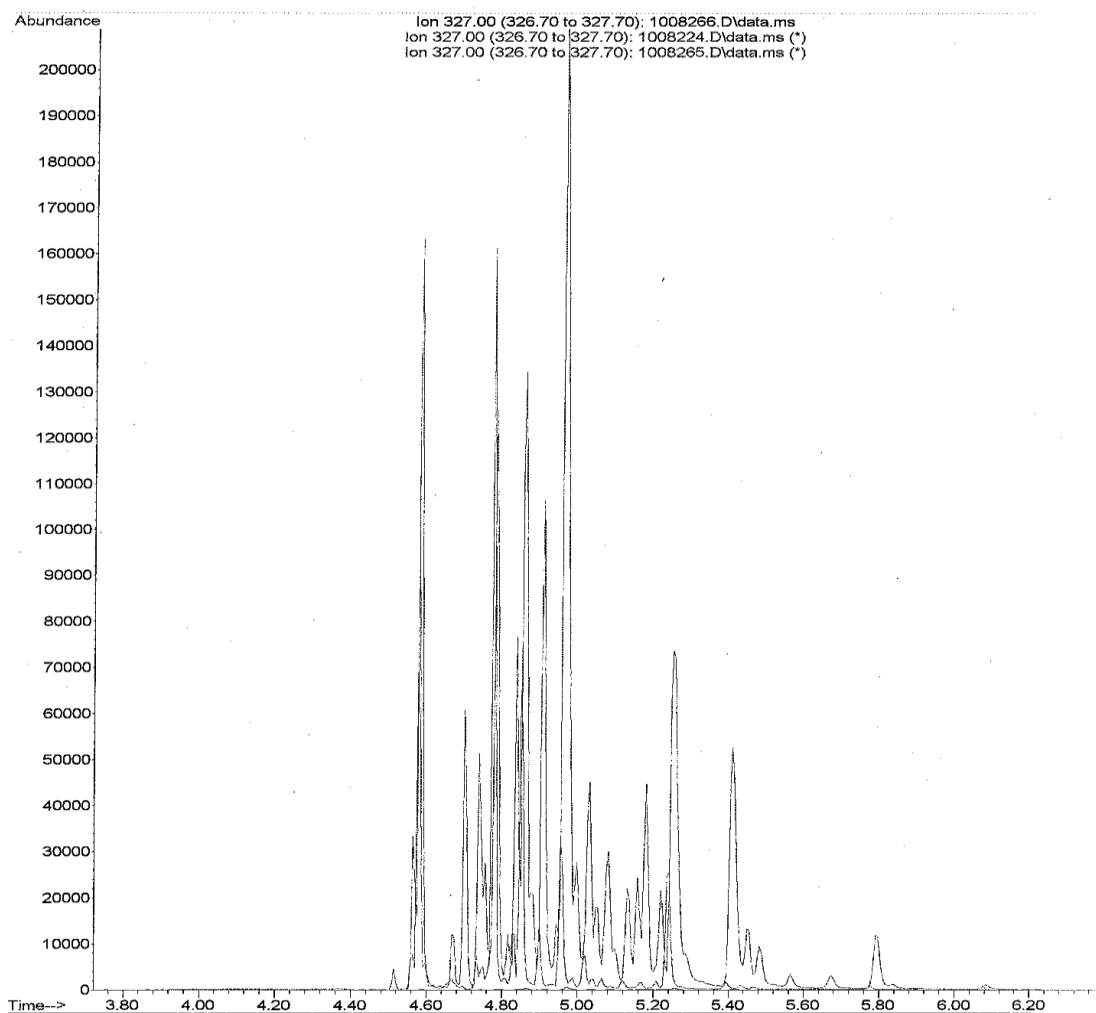


Figure 2. Superposition d'échantillon de PCB et fraction hexane

Un test avec une solution de PCB a été effectué sur colonne Florisil® (20 g). Une solution en PCB contenant une quantité de 10 µg a été versée sur colonne et éluée

avec 4 fractions: 50 mL d'hexane, 2 fraction de 30 mL de hexane/DCM 1/1, 1 fraction de hexane/DCM 1/1.

Une répartition égale des PCB s'est effectuée sur les 3 premières fractions. Aucun PCB n'a été retrouvé dans la dernière fraction. Ce résultat est en contradiction avec de nombreuses publications [7, 10, 9] qui considèrent l'élution totale des PCB par l'hexane sur ce type de support ce qui, dans ce cas, n'est pas vérifié.

La quantité de Florisil® a été divisée par 2 car 10 g est la quantité la plus utilisée pour l'analyse de sédiments d'après la littérature [4]. Il peut être supposé que 20 g entraîne une rétention trop importante ce qui pourrait expliquer l'élution des PCB avec l'ajout important de dichlorométhane. Les expériences de purifications menées avec le DCM et l'hexane n'ont cependant pu aboutir, au mieux, qu'à une séparation partielle des PCB et des SCCP. Ainsi, le DCM a été remplacé par de l'acétone, comme spécifié dans la norme ISO/DIS 12010 [15], car il permet d'être plus sélectif. L'acétone permet d'obtenir une spécificité plus importante comme cela est constaté en figure 3 et 4 (ci-dessous) où les SCCP sont élués exclusivement avec 50/50 hexane/acétone alors que les PCB sont élués majoritairement en hexane et sont retrouvés dans les 2 fractions successives 85/15 et 50/50 hexane/acétone. Un test a été effectué avec le toluène en remplacement de l'hexane en solvant d'élution mais les résultats n'ont pas été concluants avec des SCCP élués dans la fraction toluène. La purification Florisil® (10 g) avec élution hexane/acétone a été choisie.

Les composés (10 µg de SCCP et PCB) étaient traités sur 10 g de Florisil® sur des colonnes de 2 cm de diamètre et la vitesse d'élution réglée à 2 mL/min (vitesse basée sur l'hexane pur). Le remplissage des colonnes chromatographiques avec du Florisil® doit également être effectué avec une grande attention. En effet, un remplissage irrégulier de la colonne chromatographique va entraîner la formation de chemins préférentiels et modifier la séparation et les volumes d'élution des composés cibles.

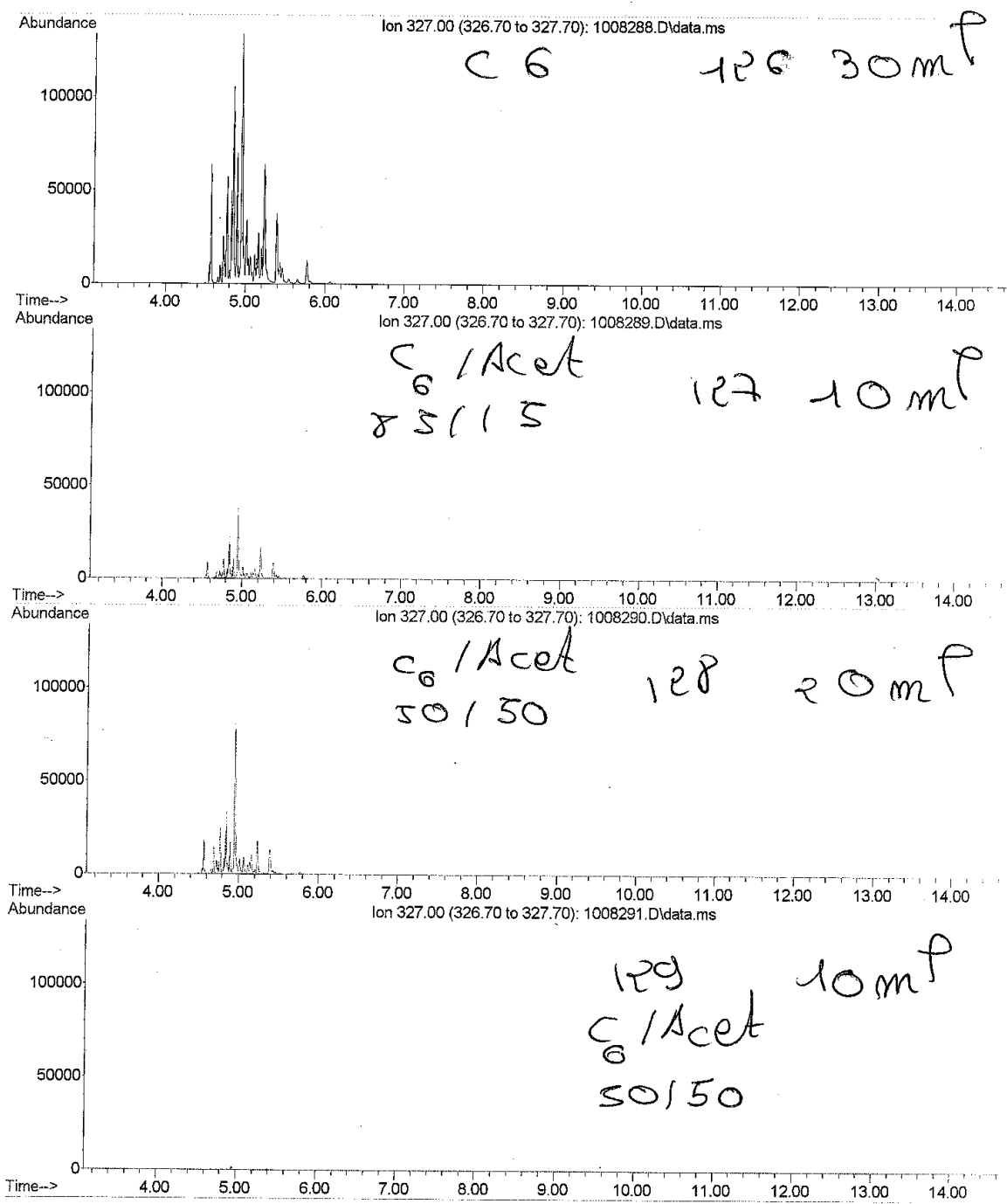


Figure 3. Analyse de fraction de PCB éluée par hexane/acétone sur colonne Florisil®

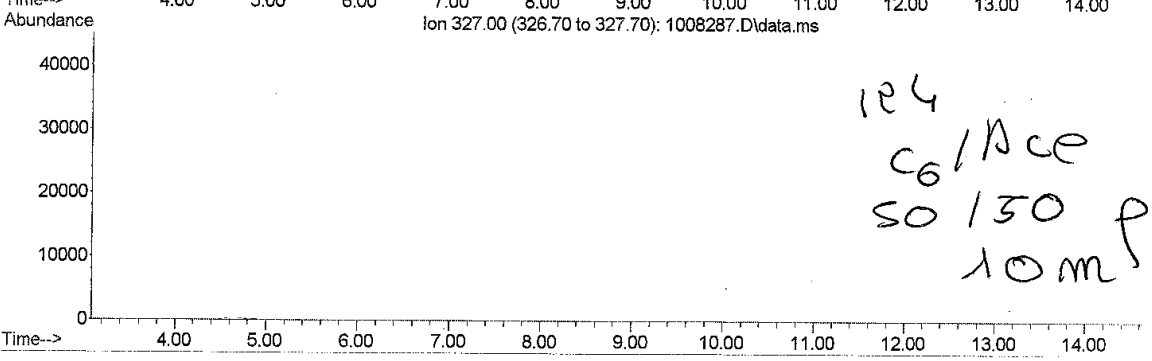
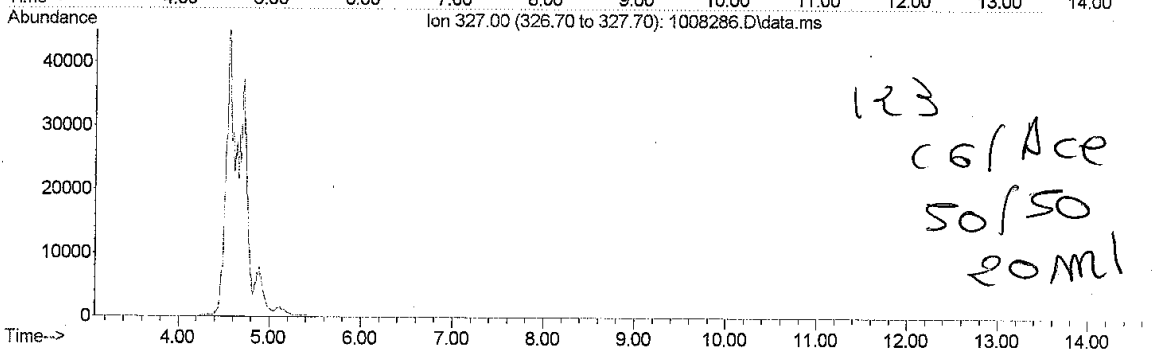
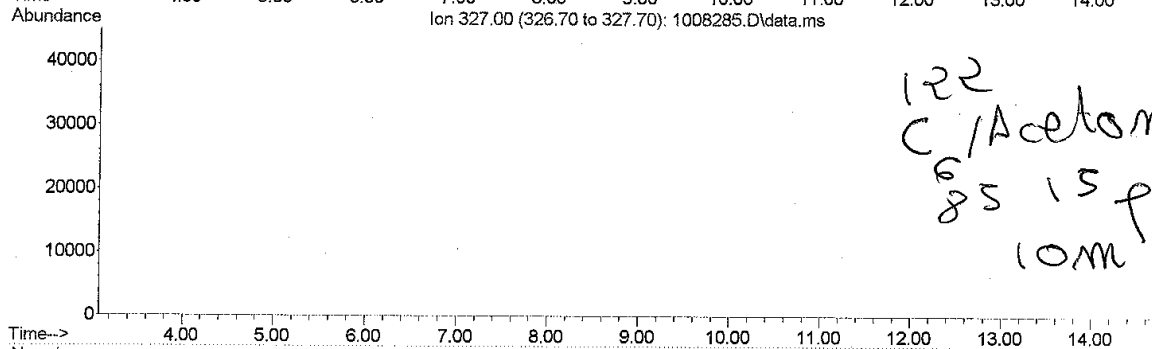
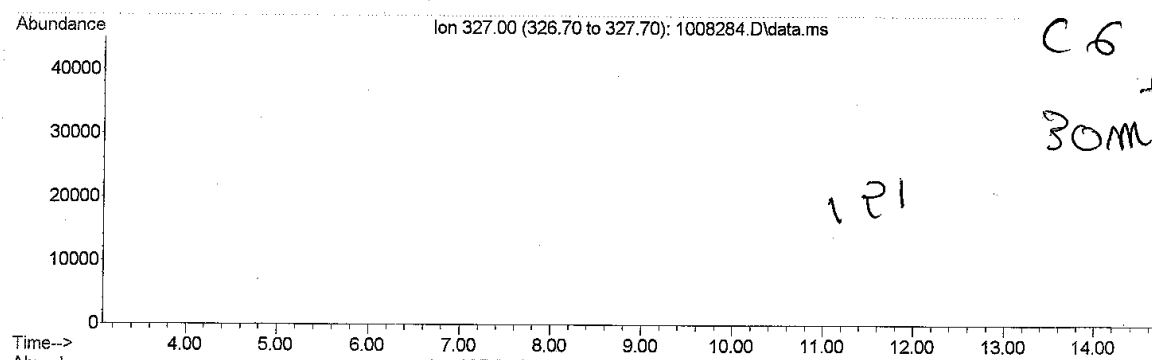
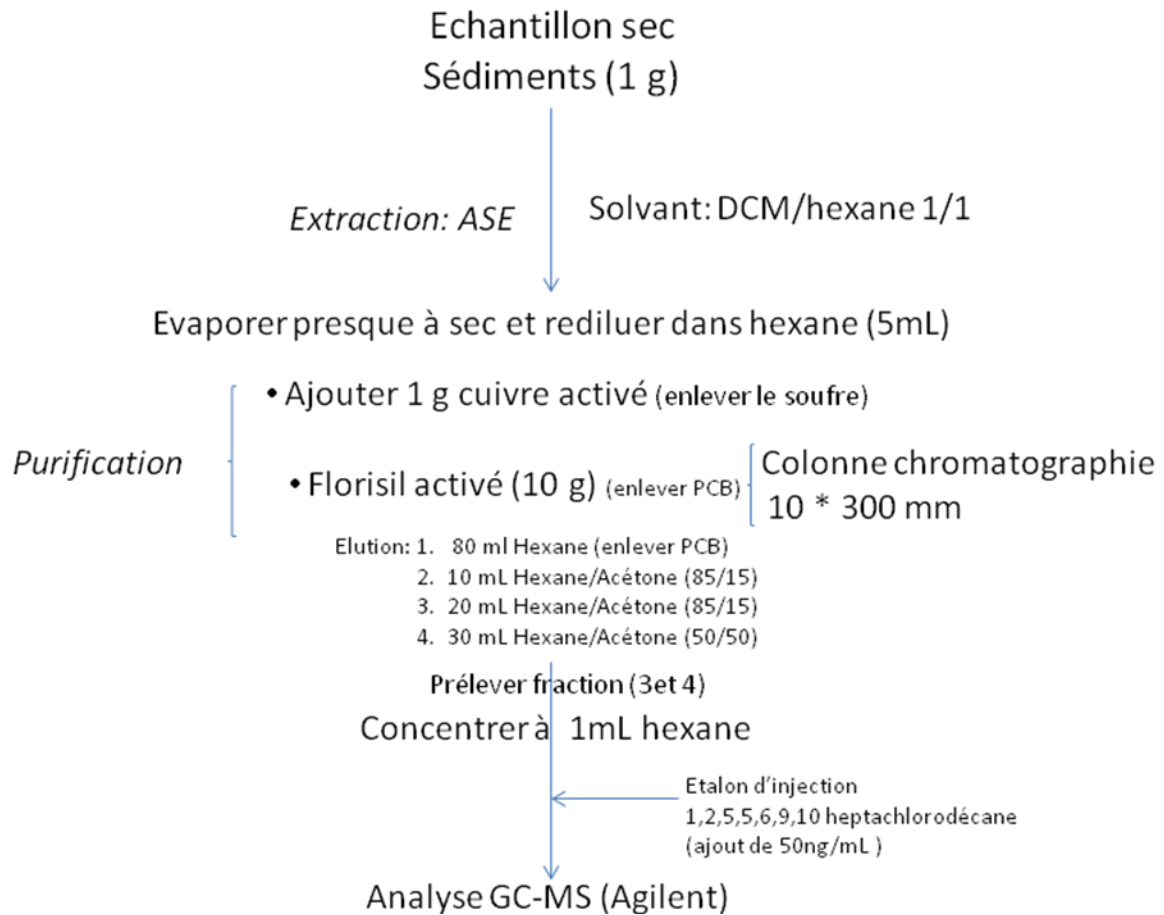


Figure 4. Analyse d'une (de) fraction(s) de SSCP éluée(s) par hexane/acétone sur colonne Florisil®

Annexe 8

Protocole d'analyse des SCCP dans les sédiments



Annexe 9

Validation des conditions d'extraction des SCCP dans les sédiments

Expérience	valeur retrouvée (µg/kg)	valeur dopée (µg/kg)	%
1	501,4	426,9	117%
2	432,1	415,7	104%
3	395,3	390,8	101%
4	422,0	410,7	103%
5	365,6	350,9	104%
6	442,5	391,8	113%
7	411,6	419,3	98%
8	442,3	403,5	110%
9	377,1	382,3	99%
10	423,1	367,0	115%
		Moyenne	106%
		Ecart type	7%