

Développement de la technique SBSE: automatisation, extension de la technique aux composés polaires ("valise SBSE")

Action n° IIB01 - 4 Développement et optimisation des
technologies innovantes de prélèvement et d'analyse

J-L. Gonzalez, A. Laës-Huon, C. Podeur, P. Rousseaux,
B. Forest, L. Bignon, J. Guyomarch

Septembre 2014

Programme scientifique et technique
Année 2013

Rapport Final

En partenariat avec



Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2012-2013.

Auteur (s) :

Jean-Louis Gonzalez

Jean.Louis.Gonzalez@ifremer.fr

*Ifremer, Département "Biogéochimie et Ecotoxicologie" Centre de Méditerranée, ZP de Brégaillon
CS 20330- 83507 La Seyne/mer cedex*

Agathe Laës-Huon

Agathe.Laes@ifremer.fr

Christian Podeur

Christian.Podeur@ifremer.fr

Patrick Rousseaux

Patrick.Rousseaux@ifremer.fr

Bertrand Forest

Bertrand.Forest@ifremer.fr

Laurent Bignon

Laurent.Bignon@ifremer.fr

*Ifremer, Département REM, Unité RDT (Recherches et Développements Technologiques), Centre de
Brest - BP 70 - 29280 Plouzané*

Julien Guyomarch,

Julien.Guyomarch@cedre.fr

CEDRE, Service Recherche & Développement, 715 rue Alain Colas - CS 41836 - 29218 Brest Cedex

Vérification du document :

Catherine Berho BRGM, Direction des laboratoires

Unité Chimie Environnementale

3, avenue Claude Guillemin

BP 36009 - 45060 Orléans Cedex 2

C.Berho@brgm.fr

Christelle Margoum

Irstea - UR MALY, LAMA Laboratoire de chimie des milieux aquatiques

5 rue de la Doua, CS 70077

69 626 Villeurbanne Cedex

christelle.margoum@irstea.fr

Les correspondants

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

ONEMA-DAST, Le Nadar Hall C - 5 square Nadar - 94300 Vincennes

Etablissement : Philippe Nicolas, Philippe.Nicolas@ifremer.fr

Ifremer, RBE, Unité Biogéochimie et Ecotoxicologie - Rue de l'Île d'Yeu, BP 21105, 44311 Nantes
Cedex 03

Référence du document : Jean-Louis Gonzalez, Agathe Laës-Huon, Christian Podeur, Patrick Rousseaux, Bertrand Forest, Laurent Bignon et Julien Guyomarch - Développement de la technique SBSE: automatisation, extension de la technique aux composés polaires ("valise SBSE") - Rapport Final AQUAREF 2014 - 51 p.

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

I. Contexte p.11

II. Développement de la méthode "valise SBSE" p. 13

III. Validation p.16

III.1. Choix des matériaux p. 16

III.2. Bruit de fond et choix d'une procédure de nettoyage p. 16

III.3. Validation analytique: évaluation de la sensibilité du système p. 18

IV. Validation du protocole d'analyse par SBSE : qualification du prototype de prélèvement et d'extraction automatisés ("Valise SBSE") p. 20

IV.1. Validation du protocole de chargement des boucles d'injection p. 21

IV.2. Validation du protocole analytique p. 21

IV.2.1. Vérification des blancs p. 21

IV.2.2. Réponse des étalons internes p. 22

IV.2.3. Analyses quantitatives p. 22

IV.2.3.1. Analyse simultanée des HAPs, PCBs et pesticides p. 22

IV.2.3.2. Analyse spécifique des HAPs p. 22

V. Essais "Terrain" p. 26

V.1. Conditions générales d'utilisation p. 26

V.2. Echantillons analysés et modes d'extraction p. 26

V.3. Comparaison SBSE labo / SBSE valise p. 27

V.3.1. Comparaison SBSE labo / SBSE valise pour les échantillons de Pierrefonds p. 27

V.3.2. Autres sites de prélèvement p. 27

VI. Conclusions et Perspectives p. 28

VII. Références p. 29

Annexe p. 31

Liste des annexes :

Repère	Désignation	Nombre de pages
Annexe	Manuel d'utilisation du système SBSE automatisé ("Valise SBSE")	20

Développement de la technique SBSE: automatisation, extension de la technique aux composés polaires ("valise SBSE") - Rapport Final AQUAREF 2014 - 51 p.

J-L. Gonzalez, A. Laës-Huon, C. Podeur, P. Rousseaux, B. Forest, L. Bignon et J. Guyomarch

RESUME

La technique d'extraction/concentration SBSE (Stir Bar Sorptive Extraction) couplée à l'analyse par Chromatographie en Phase Gazeuse et Détection par Spectrométrie de Masse (GC/MS) présente de nombreux avantages (sensibilité et simplicité du protocole de préparation des échantillons) et permet des applications très diverses et l'extraction de très nombreux composés (hydrophobes et polaires). Cette technique est particulièrement bien adaptée au développement d'un système autonome permettant de prélever l'eau du milieu et de procéder à l'extraction des échantillons (l'analyse des barreaux par GC/MS étant effectuée par la suite au laboratoire). A partir de 2005, un module SBSE autonome permettant de prélever et d'extraire *in situ* a été développé. Les solutions technologiques qui ont été trouvées grâce à ce premier prototype ont servi de base aux développements ultérieurs, notamment la version automatisée et portable de la technique SBSE ("valise SBSE") qui fait l'objet de la convention ONEMA/Ifremer 2012. Cette nouvelle version permet l'introduction des réactifs de dérivation afin de pouvoir aussi doser, en plus des hydrophobes, des composés polaires.

Mots clés (thématique et géographique) : SBSE, contaminants organiques hydrophobes et polaires, automatisation.

SBSE technique development: automation, extension to polar compounds ("SBSE suitcase") - Final Report AQUAREF 2014 - 51 p.

J-L. Gonzalez, A. Laës-Huon, C. Podeur, P. Rousseaux, B. Forest, L. Bignon and J. Guyomarch

ABSTRACT

The SBSE technique (Stir Bar sorptive extraction) coupled with analysis by Gas Chromatography and Mass Spectrometry Detection (GC/MS) has many advantages (sensitivity and simplicity of sample preparation protocol) and allows a variety of applications and extraction of many compounds (hydrophobic and polar molecules). This technique is particularly well suited to the development of an autonomous system to collect water and make the extraction of samples. Since 2005, an autonomous SBSE module (sampling and *in situ* sample extraction) has been developed. Technological solutions that have been found with this first prototype served as basis for further developments, including automated and portable version of the SBSE technique ("suitcase SBSE"). This new version allows the introduction of reactants in order to analyze both polar compounds in addition to hydrophobic ones.

Key words (thematic and geographical area) : SBSE, hydrophobic and polar organic contaminants, automation.

I. Contexte

La mise en place de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) implique une surveillance de la contamination chimique de toutes les masses d'eau (de surface, souterraines). Le nombre des masses d'eau "à surveiller", la fréquence d'échantillonnage requise, ainsi que la difficulté de mesurer des contaminants à l'état de trace dans des matrices complexes (notamment dans le cas de l'eau de mer), sont les difficultés majeures qu'il faut résoudre. Classiquement, l'analyse des contaminants chimiques (métaux, composés organiques) se fait après des opérations d'échantillonnage et de traitement relativement longues, nécessitant des laboratoires spécialisés et du personnel très qualifié. Dans ce contexte, il semble pertinent de développer des systèmes automatisés et portables facilitant les opérations d'échantillonnage (notamment dans les DOM) et permettant de concentrer et extraire avant analyse les contaminants hydrophobes et hydrophiles.

Les techniques d'échantillonnage passif, basées sur un échantillonnage (extraction/préconcentration) directement dans l'échantillon ou *in situ*, permettent de résoudre une partie importante des difficultés. Cet échantillonnage "passif" se fait grâce à une phase "réceptrice" (fonction de la famille de contaminants à échantillonner), extraite et analysée ensuite en laboratoire. Cette approche permet de réduire de façon notable le temps et les coûts associés au prélèvement et au traitement des échantillons (Lohmann and Muir, 2010; Mazzela *et al*, 2011; Mills *et al*, 2011). Certains échantillonneurs passifs présentent aussi l'avantage d'obtenir des mesures "intégrées" dans le temps et d'accéder à des concentrations très faibles, inaccessibles pour certains composés par les techniques classiques.

La technique SBSE (Stir Bar Sorptive Extraction) permet, à partir d'un échantillon d'eau de faible volume, d'extraire et concentrer de nombreux contaminants organiques, notamment des composés faisant partie de la liste des substances prioritaires fixée par la DCE. Habituellement l'analyse de ces composés nécessite le prélèvement d'un volume important sur site et requiert des étapes d'extraction/concentration réalisés par du personnel qualifié. Cette méthode développée par Balthussen *et al.* (1999), Sandra *et al.* (2003) et David *et al.* (2003) a été appliquée à l'eau de mer pour la première fois par Roy *et al.* (2005) pour les HAP et a été étendue à d'autres composés (PCB et certains pesticides) dans le cadre d'une collaboration Ifremer/Cedre.

Cette technique simple et rapide permet d'analyser les composés extraits à des niveaux de concentration très faibles. De plus, les possibilités de cette méthode peuvent être accrues par l'ajout de réactifs (anhydride acétique, carbonate de potassium par exemple) lors de la phase d'extraction (dérivation *in situ*) ce qui permet d'accéder à l'analyse de composés plus polaires.

L'automatisation de cette méthode présente un potentiel important et de nombreux avantages: transfert de la technique plus facile et utilisation simplifiée par un plus grand nombre de personnes (notamment celles qui sont en charge de la surveillance de la contamination des milieux aquatiques), amélioration de la reproductibilité des résultats, déclenchement automatique des extractions (programmées ou suite à des événements: crue, tempête...), échantillonnage pseudo-intégratif (en déclenchant plusieurs prélèvements ponctuels dans le temps) ou intégratif (avec une version en "flux continu").

A partir de 2005, l'automatisation et la "marinisation" de certaines techniques d'échantillonnage passif (DGT et SBSE) ont permis des développements technologiques originaux: la station benthique FRAME (financement par la région PACA et l'Agence de l'eau RMC), permettant d'évaluer l'influence d'événements météorologiques violents sur la contamination du milieu; les modules automatisés SBSE (commandes Véolia Anjou Recherche) et DGT.

La station FRAME (Fig. 1) permet l'acquisition en continu des paramètres physiques du milieu (conductivité, température, pression, turbidité, vitesse et direction du courant, hauteur des vagues, taux d'érosion et de dépôt), de détecter l'événement météorologique (tempête, crue) et d'échantillonner *in situ*, suite à l'événement, des contaminants métalliques par DGT et organiques par SBSE (Gonzalez *et al*, 2006; 2008; 2009; 2010a; b; 2011).

A partir de la technologie développée, un système portable a été réalisé pour pouvoir être utilisé dans le cadre de la surveillance de la contamination chimique des masses d'eau. Cette version automatisée et portable de la technique SBSE ("valise") a été développée par l'Ifremer en collaboration avec le CEDRE (Fig. 1). Cette nouvelle version permet, en plus de la solution étalon, l'introduction des réactifs de dérivation afin de pouvoir aussi doser des composés polaires (Laës-Huon *et al* 2011). Cette technique peut être appliquée aux eaux marines et continentales, elle est

particulièrement pertinente dans les zones dépourvues de laboratoires adaptés et éloignées des laboratoires d'analyse.



Station benthique FRAME



"Valise SBSE" (dimensions: L 630 mm x l 492 mm x h 352 mm)

Figure 1: Applications de la technique SBSE automatisée

Le présent rapport accompagne le manuel d'utilisation de la "valise SBSE" (livrable prévu) et présente l'état d'avancement de cette nouvelle version "surface" qui peut être utilisée sur paillasse ou sur le terrain (c.f. II.). Il est à noter que l'ensemble des résultats concernant la validation de la méthode pour les composés polaires n'est pas présenté ici. Cette validation réalisée au Cedre a fait l'objet d'un rapport (Balcon et Guyomarch, 2011).

Dans le cadre du programme d'activité AQUAREF, les objectifs principaux de cette action étaient de:

- contribuer au développement de systèmes automatisés et portables permettant d'échantillonner et concentrer, *in situ* (eaux douces et salées) et en laboratoire, les contaminants organiques (hydrophobes et polaires);
- finaliser le conditionnement sous forme de "valise" du système automatisé SBSE développé et la validation des protocoles d'extraction pour des composés polaires et apolaires;
- former et faire tester par des "opérateurs terrain" l'opérationnalité de ces "valises" pour le prélèvement d'eau et l'extraction de différents contaminants organiques, notamment dans des zones dépourvues de laboratoires adaptés et éloignées des laboratoires d'analyse.

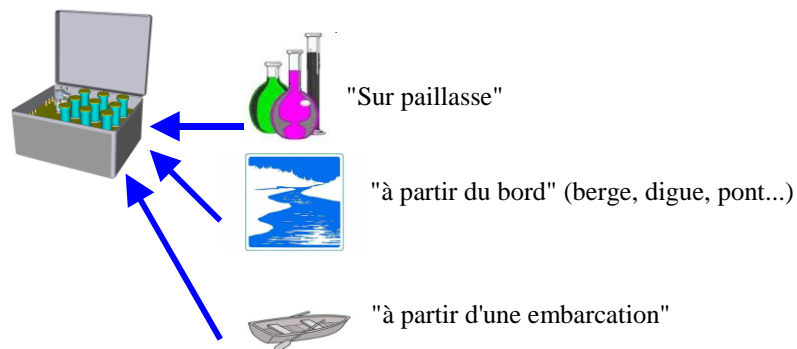
En 2012, le conditionnement sous forme de "valise terrain" du système automatisé SBSE a été terminé ainsi que la réalisation de l'IHM (Interface Homme Machine) qui permet le pilotage et la programmation de séquences de fonctionnement : temps d'échantillonnage, addition des réactifs, procédures de nettoyage ... (voir Manuel d'utilisation). Au cours du développement différents aspects ont été validés (bruit de fond, compatibilité des matériaux, sensibilité analytique...).

En 2013, des "opérateurs terrain" ont été formés afin de tester l'opérationnalité du système dans des conditions "DOM" ("résistance" au transport, fonctionnement en conditions locales, comparaison par rapport à l'extraction SBSE "classique").

II. Développement de la méthode "valise SBSE"

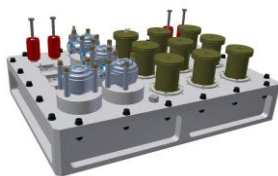
L'objectif de l'automatisation de la technique SBSE était de pouvoir collecter l'échantillon et réaliser l'extraction soit à partir d'un prélèvement ("sur pailleasse") soit à partir d'un échantillon "*in situ*" (version immergée) ou à partir de la surface (Fig. 2). Dans tous les cas, cette version est basée sur des prélèvements ponctuels (volume d'échantillon connu) déclenchés manuellement, programmés ou sur "événement".

Version surface: "Valise SBSE"



Version immergée:

Module SBSE autonome



Module SBSE associé à la station benthique FRAME ("petits fonds")



Figure 2: Différentes possibilités d'utilisation du module SBSE automatisé. A la différence de la version de surface, la version immergée a été conçue pour pouvoir fonctionner à des profondeurs <100m.

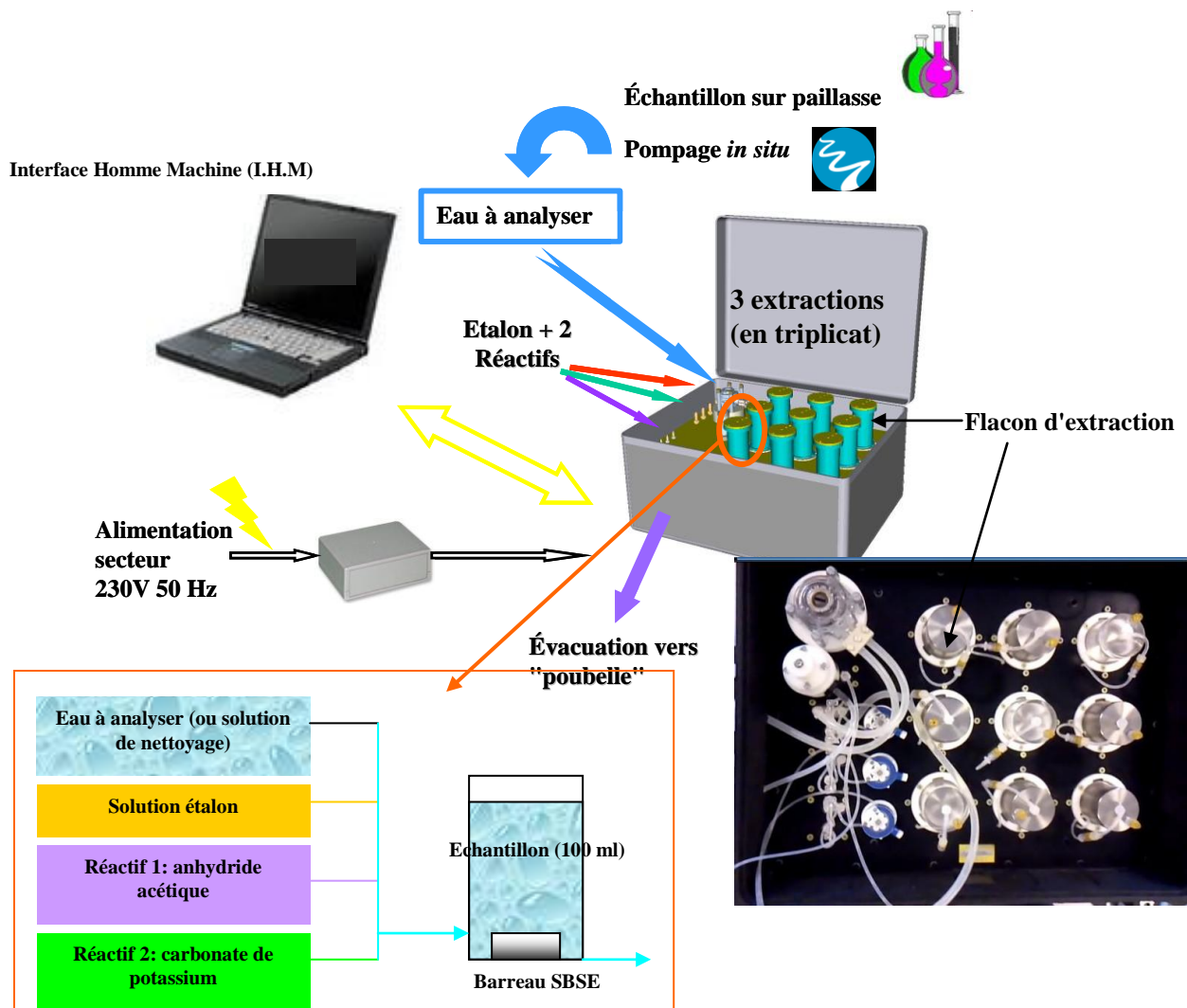


Figure 3: Principe de fonctionnement de la "valise SBSE". L'eau est pompée dans des "flacons d'extraction" (100 ml) dans lesquelles le barreau est mis en rotation (le barreau est ensuite analysé en GC/MS). La particularité de cette version est de permettre l'injection de réactifs dans les "chambres d'extraction" via trois pompes annexes.

Dans sa version actuelle (Fig. 3), le système est constitué de 9 "flacons d'extraction" en titane (permettant 3 extractions en triplicat du même échantillon) dans lesquels le remplissage, les ajouts de solution étalon et de réactifs ainsi que la vidange se font grâce à des pompes péristaltiques et des électrovannes pilotés via l'I.H.M. (Interface Homme-Machine).

Le système d'ouverture et fermeture des flacons par rotation "quart de tour" facilite les opérations de mise en place et récupération des barreaux SBSE, ainsi que les opérations de nettoyage. Dans le cas des composés plus polaires, l'ajout de réactifs est nécessaire afin de transformer ces composés en molécules moins polaires (dérivation *in situ*) pouvant être extraites par SBSE. L'injection de volumes précis de la solution étalon ou des réactifs de dérivation se fait grâce à des boucles d'injection.

L'I.H.M. installée sur un ordinateur permet de contrôler et programmer toutes ces opérations via une interface RS 232. Il est possible de programmer des séquences de fonctionnement différentes (moment de l'échantillonnage, addition des réactifs et volumes, temps d'extraction, procédures de

nettoyage ...). Le système peut être piloté suivant différents modes: manuel, programmé... (voir Manuel d'utilisation).

L'ensemble est conditionné dans une valise "tout terrain" qui regroupe les neufs "flacons d'extraction", les actionneurs (pompes péristaltiques, électrovannes, agitateurs) et l'électronique de commande. L'appareil est alimenté en eau à analyser par pompage (cf. Annexe). L'eau rejetée, ainsi que les réactifs, sont collectés dans une "poubelle".

L'extraction classique consiste à prélever 100 ml d'eau de mer à analyser dans un flacon en verre, préalablement pyrolysé à 400°C, et d'y ajouter les étalons internes deutérés. Le barreau aimanté est plongé directement dans la matrice liquide et est agité à 700 tr/min pendant 2h (HAPs)/16h (PCBs et pesticides). La solution d'étalons internes ainsi que les solutions de calibration sont préparées dans le méthanol. Le barreau d'extraction a une longueur de 20 mm et l'épaisseur de film de la phase PDMS (polydiméthylsiloxane) est de 0,5 mm.

Le principe est le même pour l'extraction par valise. 100 ml d'eau de mer ainsi que les étalons internes deutérés sont pompés par la valise. Les barreaux aimantés sont préalablement placés dans les flacons d'extraction.

Après l'extraction, et pour les deux modes, le barreau aimanté est récupéré puis rincé avec de l'eau douce afin d'enlever les traces de sels. Le barreau aimanté est ensuite placé dans l'unité de désorption thermique composée par un TDU (Thermal Desorption Unit) monté en série avec un injecteur à programmation de température (CIS : Cooled Injection System). Le barreau est introduit dans le TDU maintenu à une température de 50°C et le CIS est refroidi à -10°C par de l'azote liquide. Les molécules à analyser sont donc désorbées dans le TDU puis recondensées dans le CIS avant d'être analysées au GC/MS/MS.

La liste des molécules cibles ainsi que les abréviations utilisées dans ce rapport sont présentées ci-dessous :

Composés HAPs	Abréviations	Composés PCBs, Pesticides	
Naphtalène	N		
Benzothiophène	BT	PCB 138	Alachlore
2-méthylnaphtalène	2-MN	PCB 156	Aldrine
Biphényle	B	PCB 180	Metolachlore
Acénaphthylène	ANA	PCB 169	Chlorpyrifos
Acénaphthène	ANY	PCB-7	Parathion
Fluorène	F	PCB 28	Isodrine
Dibenzothiophène	DBT	PCB-52	Metazachlore
Phénanthrène	P	PCB-35	Chlorfenvinphos
Anthracène	A	PCB 101	2-4-dde
Fluoranthène	FL	PCB 77	Endosulfan alfa
Pyrène	PY	PCB 135	4-4-dde
2-méthylfluoranthène	2-MFL	PCB 118	Dieldrine
Benzo[a]anthracène	B[a]A	PCB 153	2-4-ddd
Chrysène	C	PCB 105	Endrine
Benzo[b]fluoranthène	B[b]FL	Alpha-BHC	Endosulfan beta
Benzo[k]fluoranthène	B[k]FL	Hexachlorobenzene	4-4ddd
Benzo[e]pyrène	B[e]PY	Beta-BHC	2,4-ddt
Benzo[a]pyrène	B[A]PY	Gama bhc	Endosulfan sulfate
Pérylène	PE	Diazinon	4-4ddt
Indéno[1,2,3-cd]pyrène	IND	Delta-BHC	Hexazinone
Dibenzo[a,h]anthracène	DBA	Acetochlore	

Benzo[g,h,i]pérylène

BPE

Methylparathion

III. Validation

A chaque étape du développement du système, différents aspects techniques et analytiques ont du être évalués et validés.

III.1. Choix des matériaux

Dans un premier temps, une partie importante du développement a porté sur le choix des matériaux compatibles avec les composés qui seront analysés pour éviter les risques de contamination ainsi que des phénomènes d'adsorption des composés sur les parois ce qui pourrait réduire leur extraction. Du fait que l'extraction de certains composés nécessite l'ajout de réactifs (dérivation *in situ*), les matériaux utilisés doivent être compatibles avec les réactifs utilisés qui peuvent être corrosifs.

Les différents composants du système (joints, raccords, tubes, ...) ont été testés afin d'identifier les plus "inertes" (Fig. 4), dans le cas de l'analyse de molécules hydrophobes mais également pour des composés polaires extraits après dérivation (Guyomarch *et al*, 2013). L'aluminium, initialement utilisé pour fabriquer les "flacons" d'extraction de 100 mL où est réalisée l'extraction, a été remplacé par du titane du fait de processus de dégradation en condition acide.

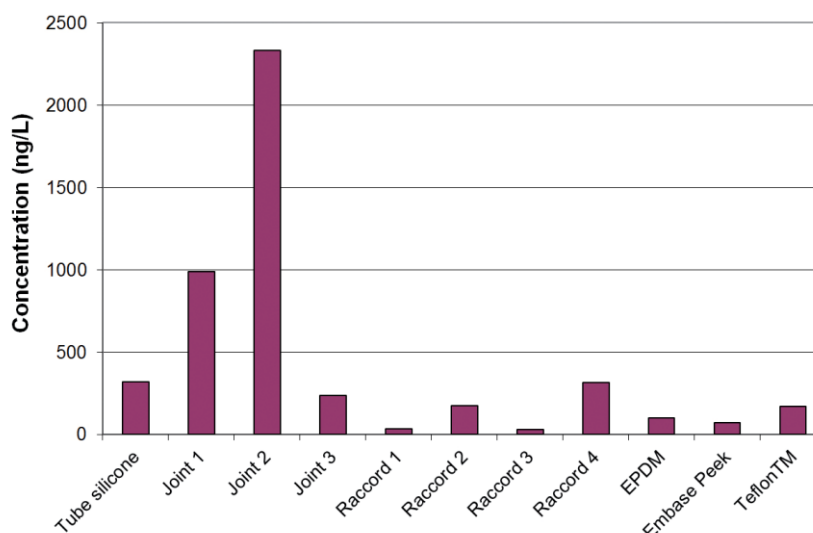


Figure 4: Choix des matériaux. Exemple des concentrations en bisphénol A mesurées (après immersion des matériaux dans l'eau osmosée pendant 3 jours) pour différents matériaux constituant le système SBSE automatisé (Guyomarch *et al*, 2013).

Le joint 1 en silicone (Resi concept), présent à l'intérieur des flacons d'extraction, semble contribuer le plus fortement à la contamination. Le test effectué sur un second joint en silicone (joint 2, Stacem), qui n'entre pas dans la conception du dispositif, est encore moins concluant car il présente le niveau de contamination en bisphénol A le plus élevé de la série de tests. Il n'y a donc pas à ce jour de solution de remplacement du joint 1 qui soit satisfaisante et d'autres matériaux devront être testés. L'ensemble de ces résultats est détaillé dans le rapport *Cedre* rédigé en 2009 (R.11.39C).

III.2. Bruit de fond et choix d'une procédure de nettoyage

Les tests réalisés à réception du système, après fabrication et assemblage du dispositif, ont permis de mesurer une éventuelle contamination générée lors de la fabrication. De plus, cette phase a aussi permis d'évaluer l'influence des différents matériaux et composés utilisés pour sa conception, qui génèrent nécessairement un bruit de fond plus élevé que dans les conditions d'extraction "classique" de laboratoire (réalisées directement dans des flacons en verre pyrolysés).

Ces tests ont montré que, si le système était initialement contaminé, la procédure de rinçages successifs à l'eau osmosée et à l'éthanol est efficace (Guyomarch *et al*, 2013). Les niveaux des blancs obtenus après nettoyage sont comparables à ceux du laboratoire (Fig. 5).

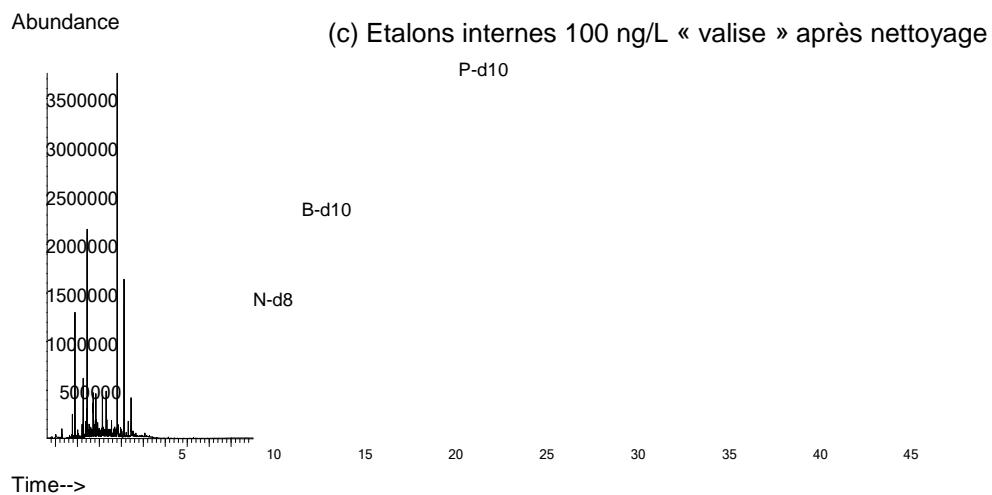
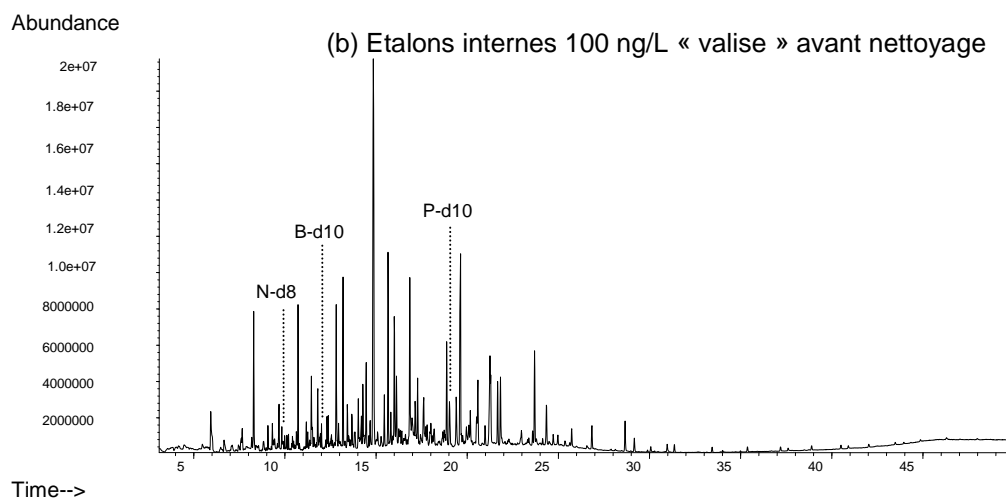
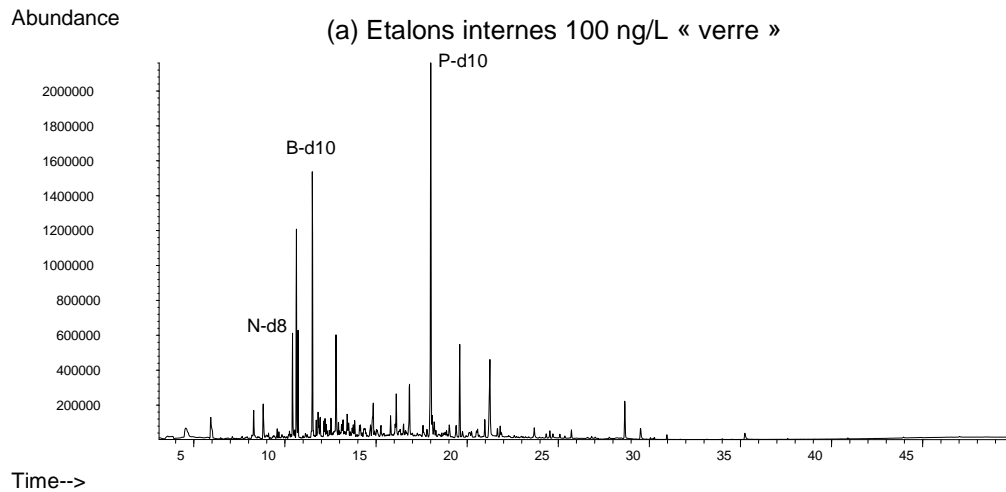


Figure 5 : Comparaison de blancs d'eau de mer avant et après décontamination (Etude 2012)

Le niveau du bruit de fond a également été estimé dans le cas de molécules polaires, en particulier celles susceptibles d'être relarguées par les matières plastiques qui n'ont pu être totalement éliminées lors de la phase de conception. Des analyses qualitatives et quantitatives ont été réalisées sur le bisphénol A. Le niveau du bruit de fond s'est avéré relativement élevé, de l'ordre du $\mu\text{g/L}$.

III.3. Validation analytique: évaluation de la sensibilité du système

La sensibilité du système a été évaluée sur de l'eau de mer en la comparant aux extractions SBSE "classiques" de laboratoire (cf. II), ainsi qu'aux normes de qualité environnementales (NQE) requises par l'application de la Directive Cadre sur l'Eau. Les molécules cibles concernées par la DCE sont des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), des polychlorobiphényles (PCB), des pesticides et des chlorophénols. Cette comparaison indique que l'extraction via le système SBSE automatisé réduit la sensibilité de la méthode d'un facteur proche de 3 (Tab. 1) mais tout en restant en accord avec les exigences de la DCE (Guyomarch *et al*, 2013).

Ces performances ont pu être améliorées après passage d'une détection par simple quadripôle (MS) à de la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). L'optimisation et le développement de la méthode SBSE-TD (thermo-désorption)/GC/MS/MS ont permis l'analyse simultanée des composés classiques (HAPs, PCBs, pesticides organochlorés) mais aussi plus volatils: HAPs dérivés alkylés, dérivés ramifiés et BTEX. L'analyse de composés plus polaires avec dérivation *in situ* a également été réalisée pour les phénols et chlorophénols (2-chlorophénol, 2,4-dichlorophénol, 4-chloro-3-méthylphénol, 2,4,5-trichlorophénol, 2,4,6-trichlorophénol, pentachlorophénol) (Fig. 6).

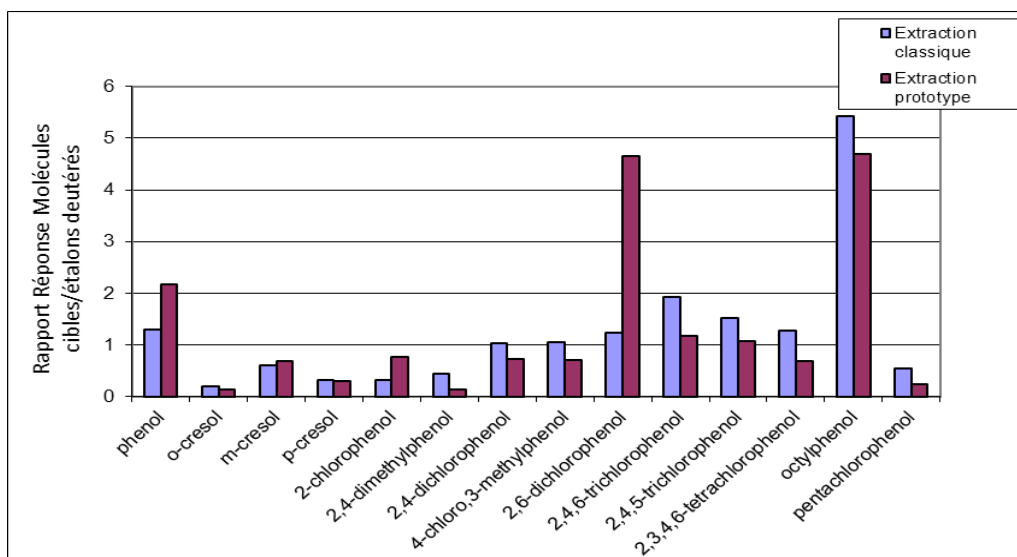


Figure 6 : Comparaison des rapports de réponse Molécules cibles/étalons internes deutérés après extraction classique (flacon en verre) et par le prototype.

Tableau 1: Limites de quantification obtenues selon les protocoles classiques de laboratoire et avec l'utilisation du système automatisé, comparées aux normes de qualité environnementales (Guyomarch *et al.*, 2013).

Composés	LQ laboratoire (ng/L)	LQ système (ng/L)	NQE (ng/L)
PAHs	0.04 - 0.3	0.2 - 1.1	2 - 2400
Pesticides	0.03 - 0.4	0.1 - 1.1	5 - 600
PCBs	0.02 - 0.1	0.2 - 1.0	1
Chlorophénols	0.1 - 0.6	0.3 - 1.2	200 - 1000

Composés	LQ laboratoire (ng/L)	LQ prototype (ng/L)	NQE eaux de surface intérieures (µg/L)
Naphtalène	0,20	0,40	2.4
Benzothiophène	0,11	0,84	
Biphényl	0,13	0,40	1.7
Acénaphtylène	0,04	0,30	0.4
Acénaphène	0,07	0,39	0.7
Fluorène	0,15	0,31	0.3
Dibenzothiophène	0,08	0,37	
Phénantrène	0,24	0,83	0.11
Anthracène	0,07	0,34	0.1
Fluoranthène	0,09	0,24	0.1
Pyrène	0,10	0,39	0.024
Benzo[a]anthracène	0,10	0,41	0.005
Chrysène	0,04	0,71	0.006
Benzo[b]fluoranthène +	0,12	0,41	0.03
Benzo[k]fluoranthène	0,10	0,74	
Benzo[e]pyrène	0,04	0,21	0.05
Benzo[a]pyrène	0,05	0,35	
Pérylène	0,14	0,88	
Indeno(1,2,3-cd)pyrène+	0,25	1,14	s = 0.002
Benzo(g,h,i)pérylène	0,20	0,85	
Dibenzo(a,h)anthracène	0,18	0,45	0.00006
PCB 7	0,02	0,23	0.001
PCB 28	0,06	0,38	0.001
PCB 52	0,05	0,79	0.001
PCB 35	0,04	0,45	0.001
PCB 35	0,06	0,56	0.001
PCB 101	0,05	1,05	0.001
PCB 135	0,03	0,09	0.001
PCB 105	0,04	0,88	0.001
PCB 138	0,02	0,30	0.001
PCB 118	0,03	1,04	0.001
PCB 153	0,03	0,77	0.001
PCB 156	0,03	0,69	0.001
PCB 180	0,02	0,74	0.001
PCB 169	0,02	0,74	0.001

Alpha-BHC Atrazine Beta-BHC gamma-BHC Diazinon Delta-BHC Aldrine Endosulfan alpha Endosulphan beta Isodrine Dieldrine Endrine Alachlore Metolachlore Metazachlore Endosulfan sulfate 2,4'_DDE 4,4'-DDE 2,4'_DDD 4,4'-DDD 2,4'_DDT 4,4'-DDT	0,14 0,05 0,15 0,25 0,02 0,40 0,04 0,04 0,03 0,04 0,03 0,04 0,03 0,05 0,06 0,17 0,02 0,03 0,06 0,06 0,06 0,17 0,26	0,40 0,77 0,67 0,75 0,38 1,86 0,31 0,31 0,10 0,63 0,39 0,38 0,39 0,30 0,74 0,29 0,94 0,95 0,67 0,76 0,83 0,86	0,6 0.010 0.005 0.005 0.010 0.005 0.010
phenol o-cresol m-cresol p-cresol 2-chlorophenol 2,4-dimethylphenol 2,4-dichlorophenol 4-chloro,3-methylphenol 2,6-dichlorophenol 4-ter-butylphenol 2,4,6-trichlorophenol 2,4,5-trichlorophenol 2,3,4,6-tetrachlorophenol 4-ter-octylphenol octylphenol pentachlorophenol nonylphenol	0,41 0,58 0,56 0,51 0,05 0,43 0,23 0,29 0,29 0,19 0,24 0,27 0,38 0,11 0,13 0,23 0,05	1,11 1,18 1,16 0,67 0,70 0,64 0,38 1,05 0,71 0,95 0,27 0,30 0,45 0,53 0,50 0,37 0,95	600 600 920 410 1000 200

IV. Validation du protocole d'analyse par SBSE : qualification du prototype de prélèvement et d'extraction automatisés ("*Valise SBSE*")

Suite aux premiers essais de "validation" , des essais plus spécifiques ont été réalisés afin de valider les procédures décrites dans le *Manuel d'utilisation du système SBSE automatisé ("*Valise SBSE*")*, notamment en vérifiant les conditions et durées de chargement des boucles d'injection de réactifs et d'échantillons, et pour valider le système pour l'analyse des molécules dont les méthodes avaient été développées lors des études précédentes, et enfin, qualifier le système lors d'une utilisation terrain.

Compte tenu des difficultés rencontrées lors des essais réalisés en juin 2013, notamment pour ce qui concerne les séquences automatiques sur des triplicats, des modifications sur le pilotage du système ont été apportées avant de réaliser une nouvelle série de tests en septembre 2013.

IV.1. Validation du protocole de chargement des boucles d'injection

Le protocole d'introduction des étalons internes deutérés, qui est réalisée par l'intermédiaire d'une boucle d'injection, a été ajusté en fonction des longueurs et diamètres réels des tuyaux. Ce point est particulièrement critique dans la mesure où tous les rendements d'extraction, et donc les analyses quantitatives associées, dépendent des quantités réellement introduites.

Afin de vérifier que les étalons internes étaient correctement introduits dans les flacons d'extraction de la valise, différents tests ont été nécessaires, notamment sur les différentes positions des flacons et sur les différents tuyaux d'injection des réactifs.

Les conditions opératoires résultant de cette phase préliminaire ont été fixées comme suit :

- Introduction des deutérés par la boucle de 221 cm de long pour un diamètre interne de 2,4 mm, le temps de chargement étant fixé à 80 secondes
- le temps de chargement des flacons d'extraction (Fig. 3) a été fixé à 42 secondes

Il est à noter que ces conditions sont le résultat de différents essais réalisés au cours de deux périodes de tests distinctes, au cours des mois de juin et d'octobre 2013, des modifications étant apportées dans l'intervalle au dispositif électronique de contrôle.

IV.2. Validation du protocole analytique

IV.2.1. Vérification des blancs

Une fois les conditions d'introduction des étalons internes définies, la première étape de validation a consisté à vérifier l'éventuelle contamination du système. Si ce point avait été rapidement résolu lors des études précédentes, la présence d'un bruit de fond significatif n'a pu être complètement solutionnée, même après de nombreux rinçages successifs. Ainsi, la figure 7 montre la différence d'abondances et de nombre de pics entre un blanc obtenu par désorption d'un barreau utilisé en condition d'extraction "classique" de laboratoire (blanc *Verre*) et un blanc *Valise*. Les teneurs des composés générant cette contamination n'ont pas été mesurées. Elles sont cependant supérieures aux concentrations des pics de phase issus de la désorption thermique des barreaux (notamment les premiers pics du chromatogramme bleu de la figure 7).

Ce niveau de contamination s'est avéré persistant, le blanc *Valise* présenté étant obtenu après 5 rinçages réalisés selon le protocole défini précédemment.

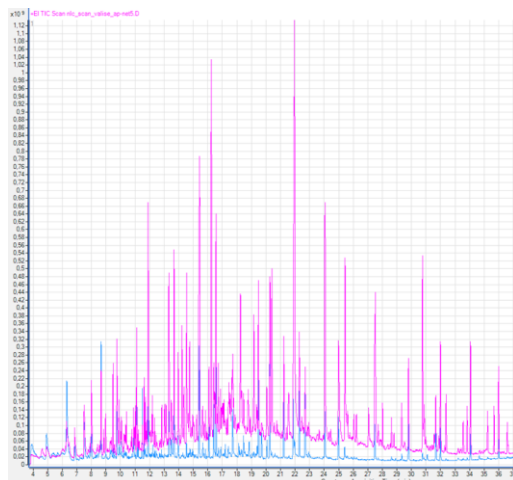


Figure 7: Chromatogrammes en mode SCAN d'un blanc *Verre* (en bleu) et d'un blanc *Valise* (en rose).

Ces conditions devraient être améliorées par un démontage de l'appareil, un nettoyage complet (c.f. "Manuel") et un changement des différents tuyaux. Ces maintenances devraient *a priori* être réalisées après chaque campagne de prélèvements de terrain.

IV.2.2. Réponse des étalons internes

Avant de valider le système en analyse quantitative, des tests ont été réalisés pour évaluer la réponse des étalons internes deutérés. Il apparaît que le naphthalène d_8 et le biphényle d_{10} répondent moins bien lorsque l'on passe par l'intermédiaire de la valise (Fig. 8). Par ailleurs, de manière surprenante, l'éthyle parathion d_{10} ne semble pas affecté par les différences de rendement d'extraction.

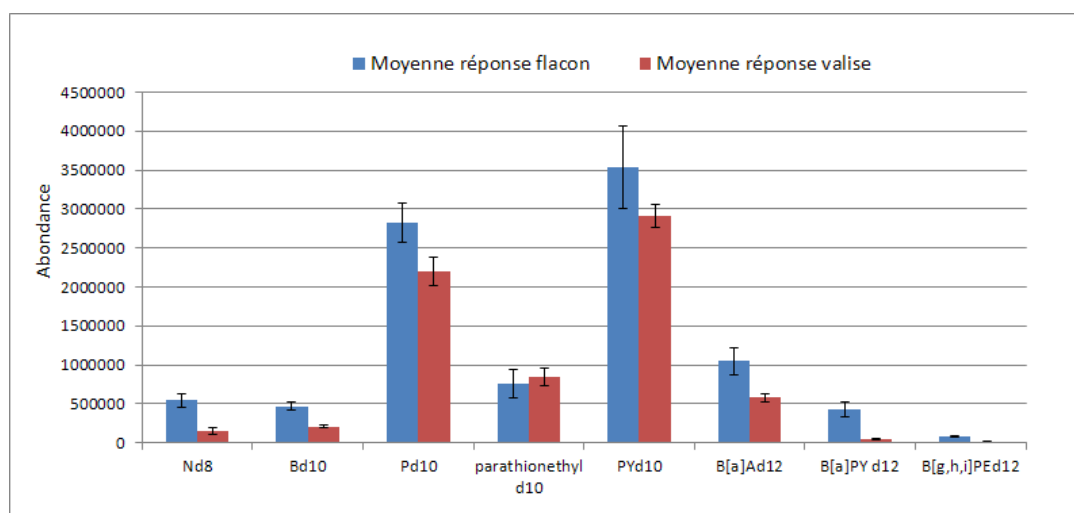


Figure 8: Comparaison des extractions *valise* (en rouge)/*verre* (en bleu) des différents étalons internes deutérés dans de l'eau de mer (triplicat). Les abondances correspondent à la réponse du signal GC/MS/MS

IV.2.3. Analyses quantitatives

IV.2.3.1. Analyse simultanée des HAPs, PCBs et pesticides

Une première série de calibrations réalisées dans les conditions *verre* et *valise* a montré, de manière générale, une baisse importante de sensibilité en comparaison aux essais précédents. Cependant, des différences selon la nature des composés ont été mises en évidence, les PCBs et pesticides répondant bien aux faibles concentrations (la gamme considérée étant de 0,5 à 10 ng/L avec 16 heures d'extraction). Lors de la seconde phase de validation, ces essais ont été à nouveau réalisés à la concentration de 10 ng/L. Le tableau 2 présente les rapports d'abondance composé/étalon interne lors de l'extraction avec la valise et la méthode utilisant des flacons en verre. Les observations formulées précédemment ont été confirmées, les HAPs semblant majoritairement affectés par la transposition des méthodes laboratoire à la valise. Les réponses obtenues après extraction avec la valise (abondance du signal GC/MS/MS) sont bien plus faibles que celles obtenues avec une extraction classique.

IV.2.3.2. Analyse spécifique des HAPs

Les essais à faible concentration ayant montré, dans le cas des HAPs spécifiquement, semble-t-il, des pertes de sensibilité et des écarts significatifs avec les protocoles de laboratoire, des essais ont été ciblés sur cette famille de molécules.

L'objectif étant dans un premier temps d'identifier les sources de variabilité, les tests sont réalisés à des concentrations élevées, fixées à 10 et 100 ng/L pour chacune des molécules cibles.

Des tests ont été réalisés, dans un premier temps, en introduisant simultanément les HAPs parents et les étalons internes deutérés sans utiliser la boucle d'injection mais en passant uniquement par la voie "échantillon". Les tests ont été réalisés à des concentrations de 10ng/L. Les analyses quantitatives ont été réalisées à partir de calibrations en flacons en verre. Les résultats présentés figure 9 montrent une surestimation des concentrations, en particulier pour les poids moléculaire croissants, ce qui peut s'expliquer par une absorption préférentielle des étalons internes lourds par les différents éléments constitutifs du système. En effet, les concentrations sont calculées par des rapports d'abondance HAP/HAPd, et les valeurs fortes sont dues à des faibles réponses des deutérés.

Tableau 2: Comparaison des rapports d'abondance après extraction avec la valise et dans des flacons en verre.

Composé		A/A _g verre	A/A _g valise	Composé		A/A _g verre	A/A _g valise
Naphtalène	N	0,28	1,87	PCB 105		0,15	0,08
Benzothiophène	BT	0,09	0,14	PCB 138		0,07	0,11
2-méthylnaphtalène	2-MN	0,03	0,83	PCB 156		0,05	0,02
Biphényle	B	0,01	0,06	PCB 180		0,01	0,01
Acénaphtylène	ANA	0,02	0,04	PCB 169		0,03	0,01
Acénaphène	ANY	0,02	0,09	Alpha-BHC		0,76	1,71
Fluorène	F	0,04	0,42	hexachlorobenzène		0,14	0,05
Dibenzothiophène	DBT	0,17	0,78	Beta-BHC		0,01	0,24
Phénanthrène	P	1,42	7,28	Gamma-BHC		0,06	0,25
Anthracène	A	0,11	4,02	Diazinon		0,01	0,01
Fluoranthène	FL	0,08	0,92	Delta-BHC		0,03	0,02
Pyrène	PY	0,06	0,36	Acétochlore		0,01	0,01
Benzo[a]anthracène	B[a]A	0,23	0,28	Méthylparathion		0,02	0,03
Chrysène	C	0,18	0,32	Alachlore		0,01	0,00
Benzo[b]fluoranthène	B[b]F	0,25	0,72	Aldrine		0,03	0,04
Benzo[k]fluoranthène	B[k]F	0,20	0,48	Métolachlore		0,09	0,06
Benzo[e]pyrène	B[e]P	0,21	0,67	Chlorpyrifos		0,08	0,09
Benzo[a]pyrène	B[A]P	0,12	0,41	Parathion		0,18	0,21
Pérylène	PE	0,18	0,41	Isodrine		0,02	0,00
Indeno[123, cd]pyrène	IN	0,18	0,41	Métazachlore		0,01	0,01
Dibenzo(a,h)anthracène	DBA	0,29	0,77	Chlorfenvinphos		0,07	0,07
Benzo(ghi) pérylène	BPE	0,20	0,94	2,4-DDE		0,07	0,01
PCB-77		1,18	1,34	Endosulfan alpha		0,00	0,01
PCB 28		0,25	0,32	4,4-DDE		0,06	0,01
PCB-52		0,21	0,37	Dieldrine		0,01	0,01
PCB-35		0,20	0,08	2,4-DDD		0,12	0,06
PCB 101		0,08	0,13	Endrine		0,01	0,02
PCB 77		0,07	0,02	4,4-DDD		0,11	0,06
PCB 135		0,01	0,01	2,4-DDT		0,06	0,01
PCB 118		0,04	0,02	4,4-DDT		0,17	0,06

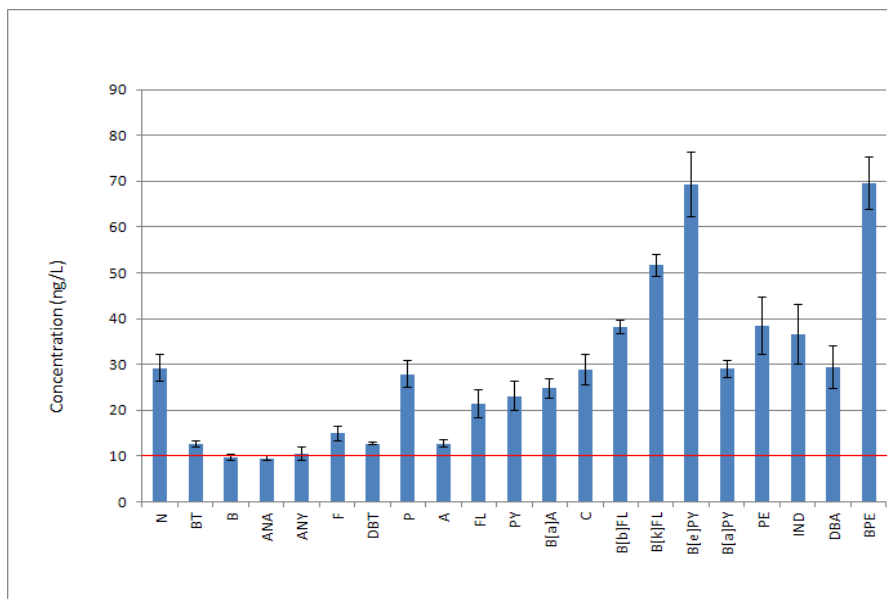


Figure 9: Quantification des 21 HAPs après injection simultanée des étalons internes et molécules cible sans utiliser la boucle d'injection et extraction sur barreaux (procédure *valise*) (n= 6)

Afin de comprendre les différences de rendements d'extraction, une seconde série de tests a été réalisée à la même concentration, pour les 9 positions (9 "flacons" d'extraction de la valise), en utilisant pour l'extraction des barreaux préalablement dopés par les étalons internes. Les calibrations ont été dans ce cas également réalisées avec des barreaux dopés dans des flacons de verre.

Les résultats présentés dans la figure 10 sont plus proches des valeurs attendues (la valeur 100 représente la quantité de HAP effectivement introduite), à l'exception notable du fluorène et du phénanthrène. Pour ce qui est des molécules les plus lourdes, les concentrations sont dans ce cas sous-estimées, ce qui pourrait s'expliquer par un équilibre déplacé vers le barreau.

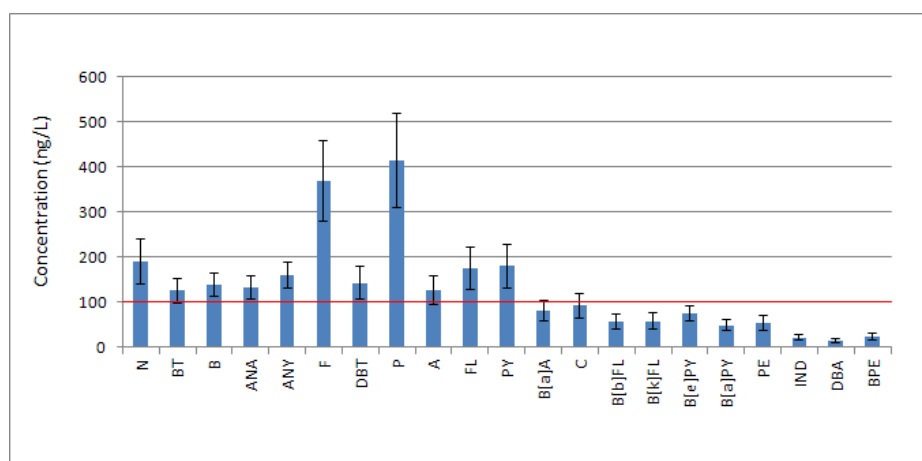


Figure 10: Quantification des 21 HAPs après injection simultanée des étalons internes et molécules cible et extraction sur barreaux (procédure *valise*) (n= 9)

Les résultats de ces études spécifiques aux HAPs semblent indiquer des équilibres entre la phase aqueuse et la phase PDMS différents de ceux rencontrés pour les tests de laboratoire. Ces différences peuvent s'expliquer par un niveau de contamination en molécules apolaires qui ne permettent pas de réellement compenser les différences de rendements d'extractions. Par la suite, il conviendrait d'éliminer ces interférences qui semblent situées au niveau des "flacons" d'extraction compte tenu des résultats des procédures simplifiées qui ont été testées.

V. Essais "Terrain"

En novembre 2013, la valise SBSE a été envoyée à La Réunion pour une série d'essais.

Un des premiers objectifs était de tester la "résistance" du système aux conditions de transport et de stockage. Le matériel a été reçu en parfait état et il a pu être mis en fonctionnement lors de la réception.

Les essais ont été réalisés dans les locaux de l'ARVAM (Agence pour la Recherche et la VALorisation Marines). Deux personnes ont été formées à l'utilisation de l'appareil qui restera sur site pour les tests en laboratoire, notamment la comparaison sur des échantillons d'eau de l'extraction "classique" et de l'extraction via la valise SBSE.

Ces essais indiquent que l'appareil peut être mis en oeuvre et utilisés après 1 à 2 jours de formation. Cette première utilisation par du personnel formé a permis aussi d'améliorer certains points de l'IHM et du Manuel d'utilisation.

V.1. Conditions générales d'utilisation

Au cours des premiers tests en laboratoire, en ce qui concerne les conditions générales d'utilisation, les opérateurs ont constaté:

- un développement de moisissures (et suspicion de développement de biofilm) après un certain laps de temps sans utilisation (stockage à l'obscurité et un peu d'eau résiduelle dans les tuyaux);
- la formation de bulles dans les boucles de réactifs (de manière récurrente), que le changement de tuyau n'as pas changé;
- après passage d'un échantillon chargé (MES et phytoplancton) suivi d'un nettoyage à l'eau désionisée (MilliQ), il y a eu des dépôts et développement de biofilm dans l'embase des flacons d'extraction;
- la fragilité des tuyaux au niveau des pompes péristaltiques; après avoir déplacé les tuyaux entre deux pompes de réactif, les tuyaux "sautaient" et cela engendrait une fuite au niveau des branchements (le problème résolu en remplaçant les tuyaux par des nouveaux);
- que l'un des joints au niveau des embases des flacons est fragilisé (légères fissures observées mais pas de fuites constatées, flacon n°2).

Ces problèmes devront être résolus au retour et reconditionnement en métropole. La valise a été renvoyée en métropole, des tests de fonctionnement doivent être réalisés. A terme, il conviendra également d'introduire dans la procédure d'utilisation une analyse systématique de blancs.

V.2. Echantillons analysés et modes d'extraction

Des extractions ont été réalisées (en triplicat) simultanément sur les mêmes échantillons, en appliquant le protocole de laboratoire "classique" et en effectuant des extractions à l'aide de la valise SBSE (prélèvements effectués sur le site de Pierrefonds, en champ proche et en champ lointain, échantillons 1 à 4). Les analyses ont été réalisées au CEDRE après envoi des barreaux SBSE.

Tableau 3: Références des échantillons analysés à la Réunion en novembre 2013.

Site	Station	SBSE labo	Valise SBSE
Saint-Pierre Pierrefonds	Champ Lointain	2a, 2b, 2c	3a, 3b, 3c
Saint-Pierre Pierrefonds	Champ Proche	1a, 1b, 1c	4a, 4b, 4c
Rivière St Suzanne au Radier	station Aval		5a, 5b, 5c
Le GOL			6a, 6b, 6c
Etang de St Paul		7a, 7b, 7c	
Saint-Jean aval			8a, 8b, 8c

V.3. Comparaison SBSE labo / SBSE valise

V.3.1. Comparaison SBSE labo / SBSE valise pour les échantillons de Pierrefonds

Afin d'identifier les éventuels biais dus aux contaminations, les résultats présentés (Fig. 11) regroupent l'ensemble des molécules ayant été quantifiées au-delà de 1 ng/L dans au moins l'un des échantillons avec au moins une des deux techniques (*valise* ou *flacon de verre*). Cette comparaison permet d'identifier l'effet "échantillon" en comparaison de l'effet "valise".

Les résultats montrent un bon accord entre les deux techniques d'analyses, l'effet "valise" étant perceptible sur certains HAP de faible poids moléculaire, la contamination générée par le système étant de l'ordre d'une dizaine (naphtalène) à une centaine (biphényle) de ng/L. Il est à noter que l'ensemble des quantifications a été réalisé en étalonnage externe, ce qui entraîne généralement plus de variabilité, même si des questions concernant les rendements d'extraction d'étalons internes avaient été soulevées lors de la phase de validation.

Enfin, et en accord avec les essais de validation réalisés au *Cedre*, les molécules autres que les HAPs, c'est-à-dire les PCBs et les pesticides, ne posent pas de difficulté. Même si peu de composés ont été quantifiés, il y a très peu d'écart entre les deux techniques, et ce pour des concentrations traces, de l'ordre de quelques ng/L. Un éventuel effet "barreaux" ou "réactif" est par ailleurs à écarter du fait de l'effet "échantillon" manifeste.

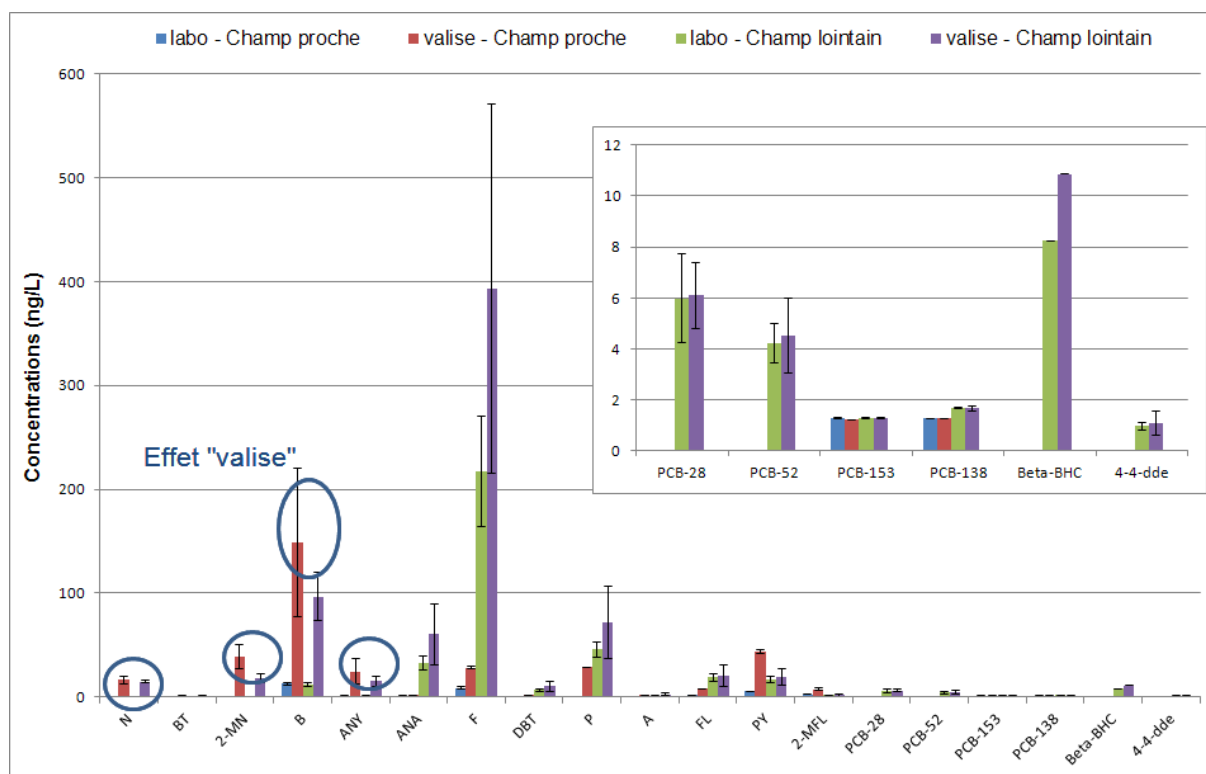


Figure 11: Comparaison des résultats d'analyse selon les protocoles *labo* (extraction SBSE "classique") et *valise* (échantillons de la station de Pierrefonds en champ proche et en champ lointain). Le nom des substances (en abscisse) est explicité dans le tableau 2 (n= 3)

V.3.2. Autres sites de prélèvement

Les résultats des analyses effectuées sur les 4 autres sites (Tab. 3 et Fig. 12) ne peuvent être comparés entre-elles car les 2 protocoles (extraction SBSE "classique" et *valise*) n'ont pas été réalisés simultanément. Cependant, compte tenu des observations formulées précédemment, il apparaît que la *valise* SBSE permet de quantifier à des faibles niveaux plusieurs PCBs et pesticides. Par ailleurs, les 3 échantillons extraits par l'intermédiaire de la *valise*, même s'ils sont d'origine diverses, permettent de confirmer la surestimation de la concentration de certains composés, notamment le biphényle.

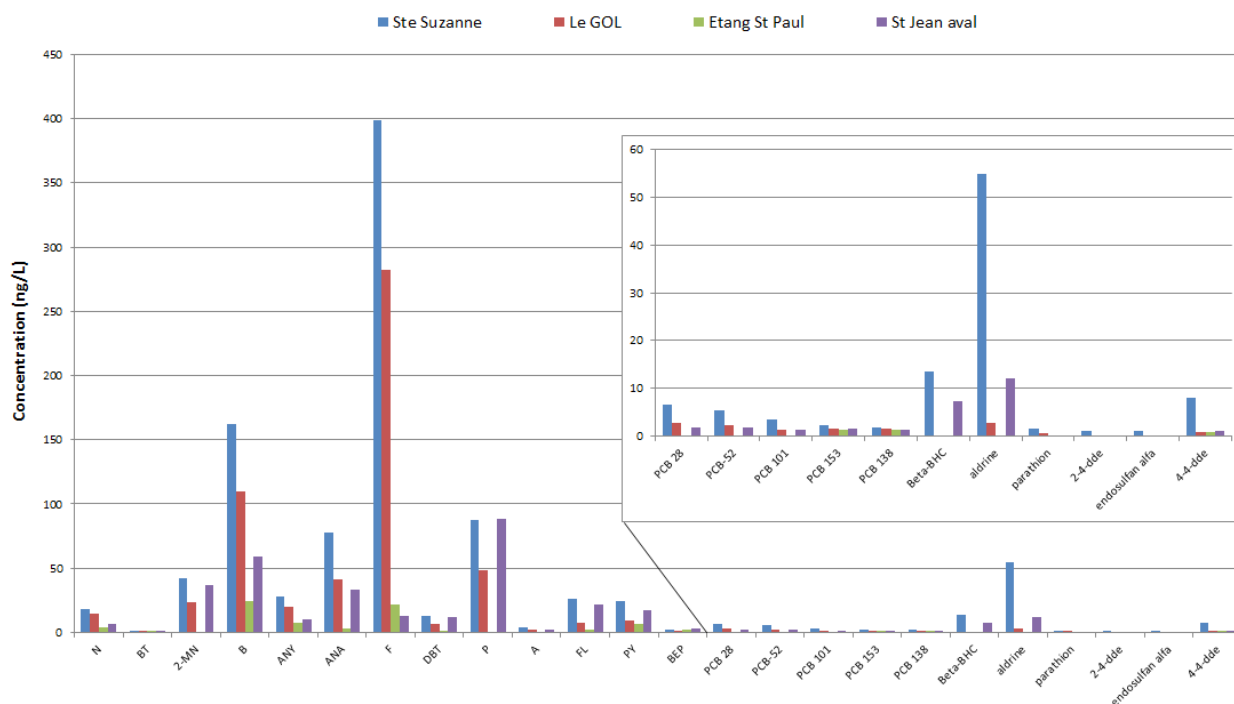


Figure 12: Comparaison des résultats d'analyse pour différents sites de prélèvements par la valise SBSE (à l'exception des extractions réalisées selon le protocole classique à l'Etang St Paul).

VI. Conclusions et Perspectives

Les travaux réalisés dans le cadre de la collaboration avec le Cedre montrent que l'utilisation de la technique SBSE-TD/GC/MS avec la possibilité de dérivation *in situ* permet d'accroître de façon notable le nombre de composés extractibles par cette technique (hydrophobes par la SBSE classique et hydrophiles par la dérivation *in situ*, (cf Annexe 2 du Manuel d'utilisation du système SBSE automatisé). De plus, l'automatisation de la méthode et son conditionnement sous forme de "valise terrain" permet: une mise en œuvre plus simple (par du personnel préalablement formé) et un transfert de la technique plus facile; l'amélioration de la reproductibilité et de la comparabilité des résultats; un déclenchement automatique des extractions (programmé ou suite à des événements), un échantillonnage pseudo-intégratif ou intégratif (avec une version à "flux continu" qui reste à développer).

L'optimisation et le développement des méthodes analytiques permettent avec la version actuelle l'analyse simultanée des composés "classiques" hydrophobes mais aussi de molécules plus volatiles: HAPs, PCBs et pesticides; HAPs et dérivés alkylés; HAPs, dérivés ramifiés et BTEX. L'analyse de composés plus polaires avec dérivation *in situ* a également été validée pour les phénols et chlorophénols. Par contre l'analyse synchrone de composés polaires et apolaires semble réalisable et doit être vérifiée.

Les essais terrain de la valise SBSE réalisés en 2013 à La Réunion ont montré la "résistance" du système aux conditions de transport, les possibilités de transfert de la technique à du personnel préalablement formé et ont contribué à la réalisation du Manuel d'utilisation. Les premiers résultats obtenus confirment l'intérêt du système, en termes de sensibilité et de facilité de mise en œuvre. Une phase de mise au point supplémentaire a cependant été nécessaire afin de fiabiliser son utilisation en mode "séquences". Par ailleurs, le bruit de fond sur certains composés s'est révélé significatif dans l'objectif d'analyses de traces, en particulier les composés de la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs). Il conviendra d'éliminer ces interférences, *a priori* localisées au niveau des cellules d'extraction ou dans la ligne d'alimentation en échantillon.

L'application terrain du système a confirmé la surestimation des concentrations de certains HAPs, essentiellement les plus légers (poids moléculaires inférieur ou égal à celui du phénanthrène). La possibilité de quantifier à l'état de traces les autres molécules de la famille des PCBs ainsi que divers pesticides, a été démontrée lors des essais comparatifs (valise et protocole "classique"). Il

conviendra de confirmer ces conclusions, notamment en complétant ces premières comparaisons après avoir diminué le bruit de fond en HAPs.

Outre une utilisation dans le domaine de la surveillance de la qualité chimique des masses d'eau, les développements réalisés pourraient trouver différentes applications dans le cadre du marché important du contrôle de la qualité des eaux pour les services d'eau potable (contrôle en amont dans les zones de pompage, en aval dans les zones de rejets après traitement par les stations d'épuration). D'autres applications sont aussi envisageables dans le domaine du suivi des pollutions accidentelles qui requiert des outils faciles d'utilisation et rapidement mis en oeuvre.

En complément de ces études, des essais ont été menés afin de simplifier le protocole, en dopant directement les barreaux par les étalons internes. Cette méthode offre de nouvelles perspectives d'utilisation du système. Ces procédures sans solvants et sans produits chimiques sont particulièrement adaptées à des applications plus opérationnelles nécessitant une logistique et des contraintes de transport minimales.

VII. Références

Balcon L. et Guyomarch J. (2011) Application marine *in situ* de la technique d'analyse SBSE : développement d'un nouveau prototype de prélèvement. Rapport CEDRE R.11.39.C/5221, juillet 2011, 26 p.

Baltussen E., Sandra P., David F. and Cramers C. (1999) Stir bar Sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles. *Journal of Microcolumn separations*, 11, 737-747.

David F., Tienpont B. and Sandra P. (2003) Stir-bar sorptive extraction of trace organic compounds from aqueous matrices. *LCGC Europe*, 21, 108-121.

Gonzalez J-L., Masset, J-F. , Cadiou , J-F., Dupont J., Gendry A., Guyomarch J., Le Piver D., Leveque J-P., Podeur C., Rolin J-F., Rousseaux P., Sauzade D. et R. Vuillemin (2006) Surveillance de la contamination chimique des eaux côtières : développement d'un Système de Fond, Régional, Autonome, de Mesure et d'Echantillonnage (FRAME). Atelier Expérimentation et Instrumentation, Brest, 30 janvier - 1 février 2006.

Gonzalez J-L, Guyomarch J, Podeur C., Rousseaux P., Legrand J., Leveque J-P, Viaene J-M, Verney R., Voudoukas M. (2008) Rôle d'événements météorologiques violents sur la contamination chimique des eaux: utilisation d'un système autonome de mesure et d'échantillonnage (Station FRAME) - Premiers résultats. Atelier Expérimentation et Instrumentation, Toulouse, 29 mai - 30 mai 2008.

Gonzalez J-L, Guyomarch J, Legrand J., Podeur C., Rousseaux P., Verney R., Viaene J-M (2009). FRAME - Autonomous benthic station for physico-chemical measurements and passive sampling: Assessing the impact of weather events on chemical contamination of water. Conference on DGT and the Environment, Sardinia, Italy , 7th to 9th October 2009.

Gonzalez J-L, Guyomarch J, Legrand J., Podeur C., Rousseaux P., Verney R., Viaene J-M (2010a). FRAME: Autonomous benthic station for assessing the impact of weather events on chemical contamination of water. 20th SETAC Europe Annual Meeting "Science and Technology for Environmental Protection", Seville, 24-27 mai 2010.

Gonzalez J-L, Guyomarch J, Podeur C., Rousseaux P., Legrand J., Viane J-M., Verney R. (2010b). Station benthique FRAME (système autonome de mesure et d'échantillonnage passif). Evaluation de l'impact d'événements météorologiques violents sur la contamination chimique des eaux. Colloque sur la Flotte océanographique française, 3 -4 mars 2010, Marseille.

Gonzalez J-L., Guyomarch J., Podeur C., Rousseaux P., Legrand J., Viane J-M., Verney R. (2011) Évaluation du rôle d'événements météorologiques violents sur la contamination chimique des masses d'eau : développement d'un Système de Fond, Régional, Autonome, de Mesure et d'Echantillonnage

(Station FRAME) ANR EXTREMA Colloque de restitution finale" Episodes météo-climatiques extrêmes et redistribution des masses sédimentaires et des polluants associés au sein d'un système côtier, Cadarache, 4-5 mai 2011.

Guyomarch J., Corre A-L., Laes-Huon A., Podeur C. et Gonzalez J-L. (2013) Analyse par SBSE de contaminants organiques en milieu marin: développement de systèmes automatisés de prélèvement et d'extraction. Spectra Analyse n° 291, Avril - Mai 2013, 29-32.

Laës-Huon A., Podeur C., Gonzalez J-L. , Guyomarch J. , Balcon A-L., Van Ganse S. (2011), Application marine in situ d'échantillonneurs passifs, Rapport d'exécution abondement Institut Carnot Ifremer Edrome.

Lohmann R. and Muir D. (2010). Global Aquatic Passive Sampling (AQUA-GAPS): Using passive samplers to monitor POPs in the waters of the world. Environmental Science and Technology, 44, 860-864.

Mazzella N., M. Coquery, C. Miège, C. Berho, J.-P. Ghestem, A. Togola, J.-L. Gonzalez, C. Tixier, S. et Lardy-Fontan (2011). Applicabilité des échantillonneurs passifs dans le cadre de la DCE. Rapport Final Aquaref, Action II-B01-Développement et optimisation des technologies innovantes de prélèvement et d'analyse, 80 p.

Mills G. A., Greenwood R., Vrana B., Allan I. J. and Ocelka T. (2011). Measurement of environmental pollutants using passive sampling devices - a commentary on the current state of the art. Journal of Environmental Monitoring, 13, 2979-2982.

Roy G., Vuillemin R. and Guyomarch J. (2005) On-site determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in seawater by stir bar sorptive extraction (SBSE) and thermal desorption GC-MS. Talanta, 6 (3), 540-546.

Sandra, P; Tienpont, B; David, F. 2003. Multi-residue screening of pesticides in vegetables, fruits and baby food by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-capillary gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1000 (1-2): 299-309.

ANNEXE

Manuel d'utilisation du système SBSE automatisé ("Valise SBSE")

Manuel d'utilisation du système SBSE automatisé ("Valise SBSE")

Nouvelle mise à jour (février 2014) par:

J-L GONZALEZ et C. PODEUR (Ifremer)

Département Ressources Biologiques et Environnement
Unité Biogéochimie et Ecotoxicologie

Département Recherche et Développements Technologique
Service Systèmes Mécaniques et Instrumentaux

N. Le.CUFF, J. RECEVEUR et J. GUYOMARCH (CEDRE)

Service Recherche & Développement (Brest)



Diffusion :

confidentielle 0

restreinte

libre 0

Ce manuel est l'un des livrables réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2012-2013: Action n° IIB01 - 4 Développement et optimisation des technologies innovantes de prélèvement et d'analyse.

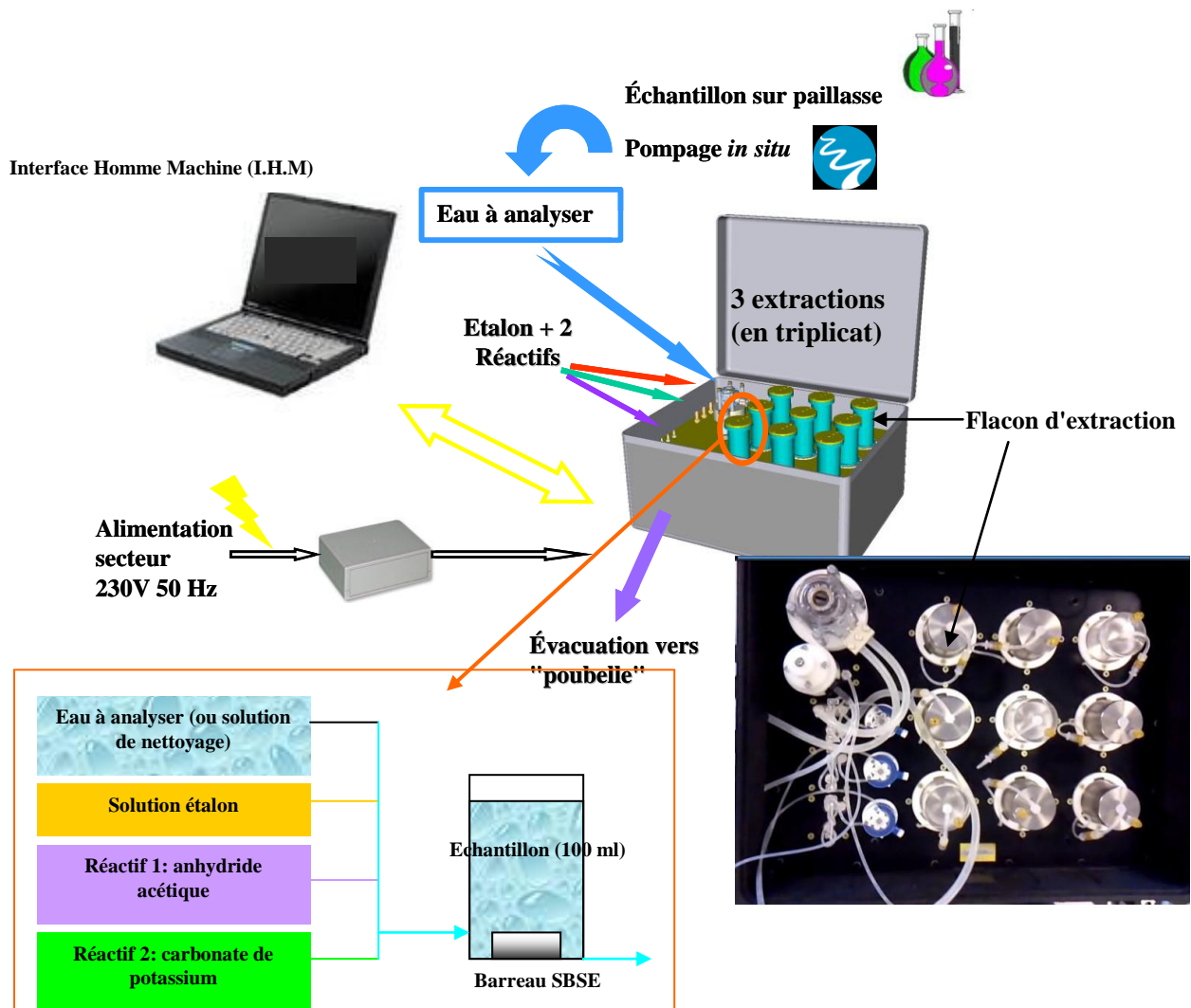
Il a été réalisé suite à la mise à jour et modifications du "GUIDE DE L'UTILISATEUR DE L'APPAREIL SBSE IS N°2 IFREMER" N° F710020 (C. Podeur et A. Laes-Huon, avril 2011). Cette nouvelle version a bénéficié des apports et suggestions de R. Davy et H. Cambert de l'ARVAM (Agence de Recherche et VALorisation Marines) qui ont été les premiers "utilisateurs terrain" de la valise.

Sommaire

1. Description de l'appareil
 - 1.1. Composition du système
 - 1.2. Interfaces
 2. Installation du logiciel
 3. Utilisation de l'appareil
 - 3.1. Ouverture du logiciel
 - 3.2. Choix du port série
 - 3.3. Synchronisation des horloges
 - 3.4. Conditionnement de l'appareil
 - 3.4.1. Nettoyage de l'appareil
 - 3.4.2. Chargement des réactifs
 4. Les modes de pilotage du SBSE 2
 - 4.1. Le mode "Manuel"
 - 4.2. Le mode "Programmation de séquences"
 - 4.3. Le mode "Planification des extractions en mode automatique"
 5. Récupération des barreaux
 7. Mode "Expert"
- ANNEXE 1: Nettoyage de l'appareil**
- ANNEXE 2: Préparation des réactifs**

1. Description de l'appareil

1.1. Composition du système



L'appareil SBSE IS N°2 IFREMER comporte 3 triplicats d'extraction. Il est conditionné dans une valise de dimensions : longueur 630 mm x largeur 492 mm x hauteur 352 mm, qui contient les neuf flacons, les actionneurs (pompes péristaltiques, électrovannes, agitateurs) et l'électronique de commande.

L'alimentation électrique conditionnée dans un boîtier plastique est extérieure à l'appareil. Connectée au secteur 230 V/50 Hz, elle fournit l'énergie via un câble électrique basse tension muni d'une fiche se connectant sur la partie gauche de l'appareil.

L'appareil est alimenté en eau à analyser par pompage. L'eau rejetée, ainsi que les réactifs ajoutés, par l'appareil doivent être collectés dans une « poubelle ».

Une IHM (Interface Homme Machine) installée sur un ordinateur pilote programme les séquences de fonctionnement via une interface RS 232.

Des flacons transparents sont livrés avec l'instrument pour visualiser le fonctionnement, ils servent uniquement à des fins de vérification du fonctionnement ou de démonstration.

1.2. Interfaces

Interface Electrique	
Alimentation secteur 230 V/50Hz	Fiche secteur 10/16A 2 pôles + terre
Liaison avec l'ordinateur	Interface RS-232
Interface Hydraulique	
Alimentation en eau	Tube Masterflex Silicone Platinium LS T15 Ø int 4,8 mm
Evacuation de l'eau	Tube Masterflex Silicone Platinium Ø int 3,2 mm x 6
Alimentation en réactifs	Tube Masterflex Silicone Platinium Ø int 1,6 mm (ou 2.4 mm) x 3

2. Installation du logiciel

La configuration minimale requise de l'ordinateur est :

- Microsoft Windows XP SP3, Ecran 1280 x 1024

Installer le logiciel de commande de l'appareil en suivant les instructions données.

3. Utilisation de l'appareil

L'appareil peut être piloté suivant 3 modes principaux:

- Manuel (permet de sélectionner et contrôler une seule **action** à la fois).
- Programmation de séquences (pour réaliser ou programmer et sauvegarder des séquences de plusieurs actions).
- Planification des extractions en mode automatique (permet de définir les dates de déclenchement de chaque extraction).

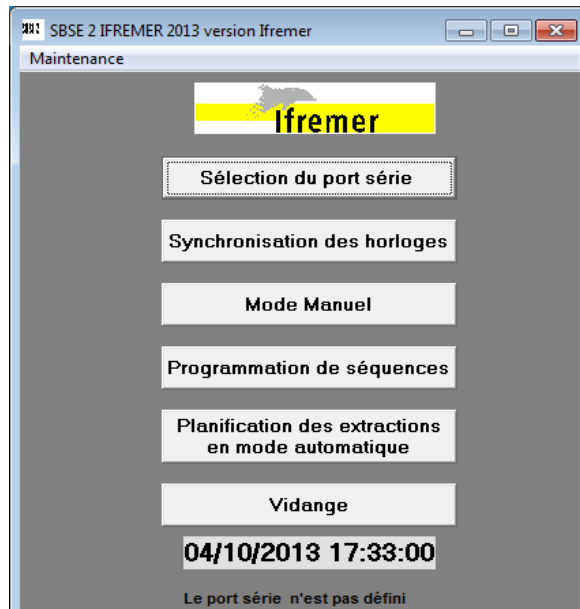
3.1. Ouverture du logiciel



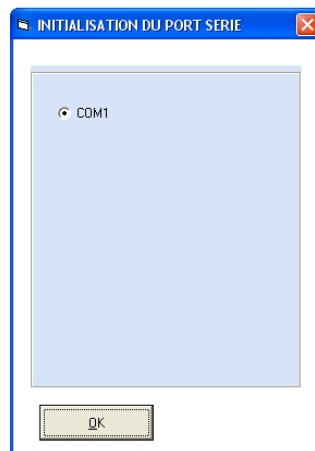
L'ouverture du logiciel permet d'accéder à la fenêtre principale des menus.

3.2. Choix du port série

Dans la fenêtre principale activer le bouton **Sélection du port série** pour ouvrir la fenêtre



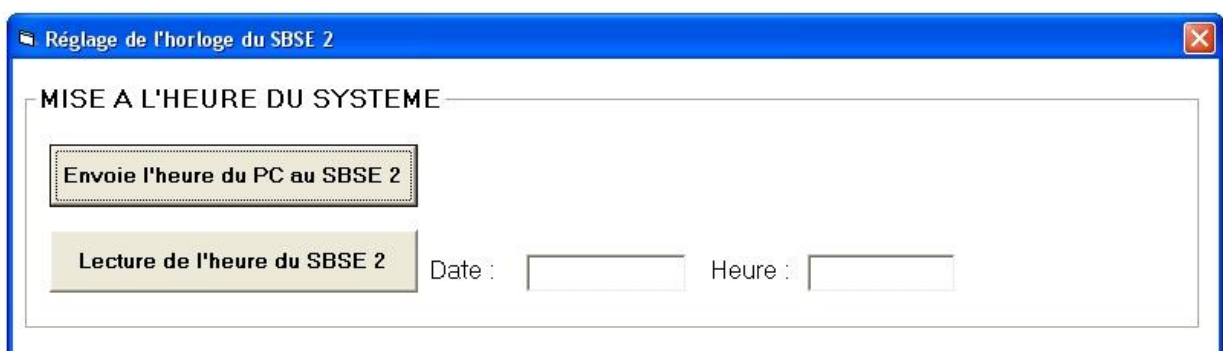
suivante



Choisir le port série connecté à la valise SBSE et valider par **OK** pour activer le port.

3.3. Synchronisation des horloges

Dans la fenêtre principale activer **Synchronisation des horloges** pour ouvrir la fenêtre suivante



Activer le premier bouton afin de transférer l'heure du PC au SBSE 2.
Activer le second bouton pour vérifier que les horloges sont synchrones.

3.4. Conditionnement de l'appareil

Les différentes opérations sont à réaliser avec des gants en latex "non poudrés".

3.4.1. Nettoyage de l'appareil

Avant toute chose, il faudra s'assurer que l'appareil a été nettoyé suite à la dernière utilisation ([Annexe 1](#)).

Après le nettoyage complet, l'appareil peut être conditionné.

Si l'appareil n'a pas été utilisé depuis longtemps il peut être nettoyé complètement ou partiellement ([Annexe 1](#)).

IMPORTANT: un **bouchon situé sous la valise** peut être dévissé et retiré lors des différentes opérations afin d'indiquer une éventuelle fuite et d'en limiter les problèmes . **Il faut le remettre en place quand l'utilisation de la valise est terminée.**

3.4.2. Chargement des réactifs

Les longueurs des boucles d'injection sont à définir en fonction du volume de réactif que l'on veut injecter. L'appareil permet d'injecter 3 réactifs (étalon, K_2CO_3 , anhydride acétique...).

A titre indicatif, les tuyaux en silicone utilisés ont un diamètre intérieur (\varnothing) de 1.6 ou 2.4 mm, les longueurs (L) à utiliser sont fonction du volume de réactif à injecter [$L(\text{cm}) \times \pi \times (\varnothing\text{cm}/2)^2 = V(\text{cm}^3)$]. Les temps de remplissage sont donnés à titre indicatif: **il faut procéder aux différentes vérifications des temps lors de changements de tuyaux** de pompage, en effet les débits des pompes pourraient avoir changé (le flacon d'extraction de "démonstration" transparent est très utile lors de l'optimisation de ces timings).

Volume de réactif	Longueur de tube (cm)		Temps de remplissage (en s)	
	$\varnothing 1.6$ mm	$\varnothing 2.4$ mm	$\varnothing 1.6$ mm	$\varnothing 2.4$ mm
500 μL	24.7	11.05		
1 mL	49.7	22.1	20	
10mL	497.3	221		80

Pour remplir le circuit avec les réactifs, utiliser le mode Manuel.

Sélectionner l'action "**Remplissage boucle**" et le numéro du réactif que l'on veut utiliser. Lancer l'action et l'arrêter quand le réactif est correctement chargé (plus de bulles dans les tuyaux).

On peut aussi utiliser le mode Programmation de séquences et charger la séquence chargement des réactifs.

Le temps des actions enregistrées dans la séquence peut être modifié. Pour cela sélectionner l'action, modifier la durée et valider par le bouton . Cette nouvelle séquence peut être sauvegardée dans le fichier.

La préparation des différents réactifs qui peuvent être utilisés (solution d'étalonnage, K_2CO_3 : 6,61g de K_2CO_3 dans 50ml d'eau déionisée, l'anhydride acétique...) est décrite dans l'[annexe 2](#).

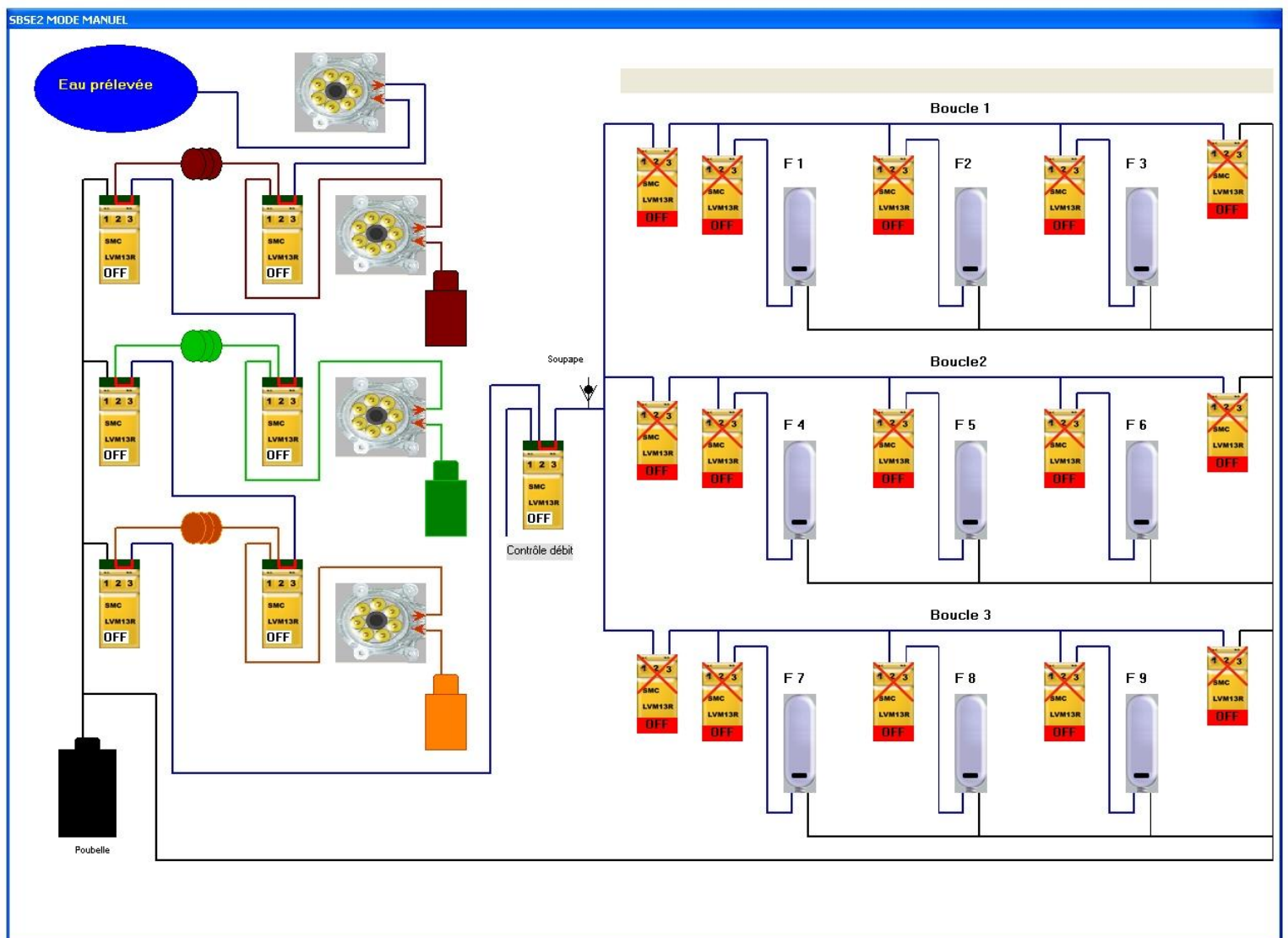
Vous pouvez maintenant introduire les "twisters" (barreaux SBSE) dans les flacons (ouverture $\frac{1}{4}$ de tour) afin de lancer les opérations d'extraction.

4. Les modes de pilotage du SBSE 2

La fenêtre principale donne accès à quatre modes de pilotage du SBSE 2:

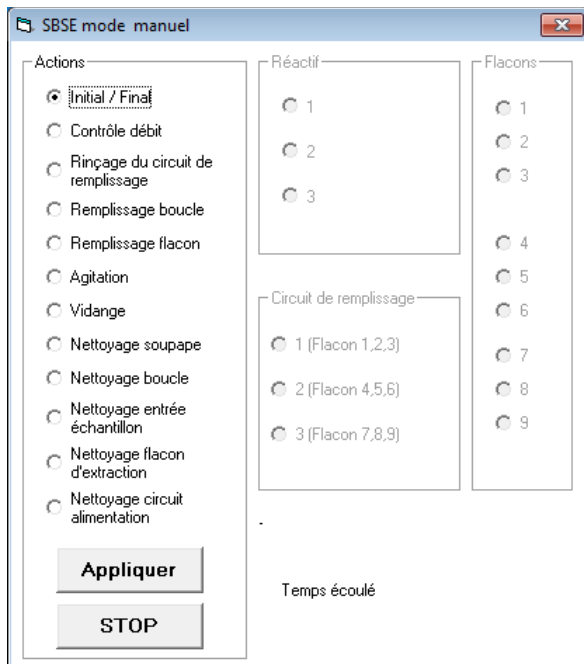
- Manuel (permet de sélectionner et contrôler une seule **action** à la fois).
- Programmation de séquences (pour réaliser ou programmer et sauvegarder des séquences de plusieurs actions).
- Planification des extractions en mode automatique (permet de définir les dates de déclenchement de chaque extraction).
- Vidange (qui permet de vider automatiquement l'eau contenue dans les flacons d'extraction).

L'activation d'un mode ouvre la fenêtre de pilotage du mode activé ainsi que la fenêtre synoptique du SBSE 2 ci-dessous (sauf en mode Planification des extractions en mode automatique)



4.1. Le mode "Manuel"

Dans la fenêtre principale, activer le bouton **Mode manuel** pour ouvrir la fenêtre synoptique SBSE 2 et la fenêtre suivante.



Cette fenêtre permet de sélectionner et piloter une seule action à la fois.

- Sélectionner une action puis lancer celle-ci en cliquant sur le bouton **Appliquer**.

Le temps écoulé s'affiche en bas à droite de la fenêtre, le circuit hydraulique activé est représenté par des flèches sur la fenêtre synoptique.

- L'arrêt de l'action est obtenu en activant le bouton **STOP**.

Terminologie des différentes actions:

"Initial/Final": lorsque l'on ouvre le mode manuel ou que l'on arrête une action en cliquant sur le bouton **stop** le curseur se met sur "initial /final".

"Contrôle débit": permet de vérifier le débit du circuit d'échantillonnage/remplissage.

"Rinçage du circuit de remplissage": Rinçage du circuit de remplissage du triplicat sélectionné.

"Agitation": lance la rotation des barreaux SBSE dans le triplicat sélectionné (pour information la vitesse de rotation des twisters est 500 tr/mn).

"Vidange": permet (en fin d'extraction) de vider le flacon sélectionné.

"Nettoyage soupape": opération importante qui permet de nettoyer la soupape tarée (sécurité) pour éviter les surpressions.

"Nettoyage boucle": rince avec solution de nettoyage (eau distillée, éthanol à 50%, réactif) la boucle d'injection du réactif correspondant. Identique à l'action **"Remplissage boucle"** qui permet de remplir la boucle avec le réactif.

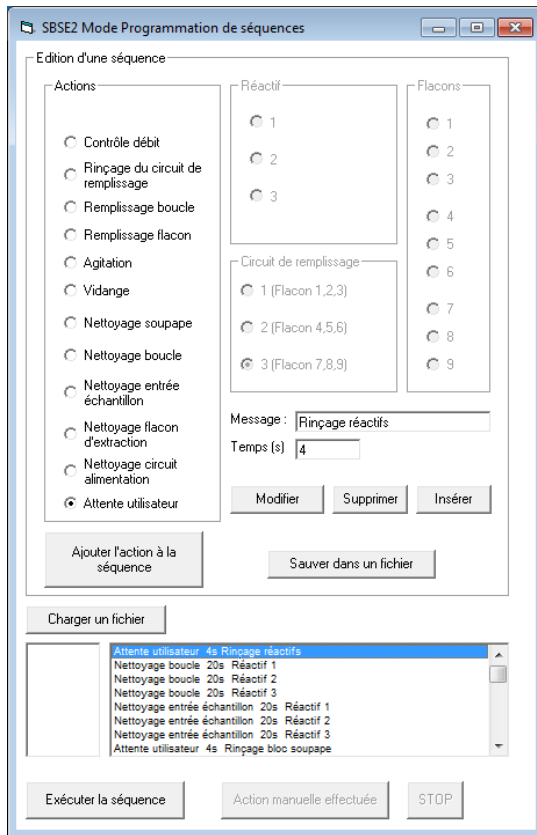
"Nettoyage entrée échantillon": rince avec la solution de nettoyage (eau distillée, éthanol à 50%, échantillon) le circuit d'entrée de l'échantillon.

"Nettoyage flacon d'extraction": rince avec la solution de nettoyage (eau distillée, éthanol à 50%, échantillon) le circuit de remplissage et le flacon d'extraction sélectionné.

"Nettoyage circuit d'alimentation": rince avec la solution de nettoyage (eau distillée, éthanol à 50%, échantillon) le circuit de remplissage du triplicat sélectionné.

4.2. Le mode "Programmation de séquences"

Dans la fenêtre principale activer le bouton **Programmation de séquences** pour ouvrir la fenêtre synoptique SBSE 2 et la fenêtre suivante.



Cette fenêtre permet de réaliser ou programmer et sauvegarder une séquence de plusieurs actions.

- Sélectionner une action, indiquer le temps en secondes, insérer l'action en validant le bouton **Ajouter l'action à la séquence**. Sélectionner une nouvelle action, indiquer le temps puis **Ajouter l'action à la séquence** etc ...
- Pour modifier une action dans la séquence, sélectionner l'action dans la séquence, choisir une nouvelle action et indiquer le temps puis valider par le bouton **Modifier**
- Pour insérer une action dans une séquence, sélectionner l'action postérieure dans la séquence, choisir une nouvelle action et indiquer le temps puis valider par le bouton **Insérer**
- Lancer la séquence en activant le bouton **Exécuter la séquence**

L'action active ainsi que son temps écoulé s'affiche dans la fenêtre, le circuit hydraulique activé est représenté sur le synoptique.

Vous pouvez sauvegarder la séquence dans un fichier en validant le bouton **Sauver dans un fichier**.

Vous pouvez charger et réaliser une séquence sauvegardée dans le fichier en validant le bouton **Charger le fichier**.

4.3. Le mode "Planification des extractions en mode automatique"

Ce mode donne accès à la fenêtre de paramétrage du système SBSE en définissant les dates de déclenchement de chaque extraction.

The screenshot shows the 'SBSE2 Planification des extractions en mode automatique...' window. It is divided into several sections:

- DUREE D'AGITATION:** A section with two input fields: 'Temps d'agitation' set to '0' and 'heure(s)' set to '10', and 'minute (s)' set to '10'.
- REACTIFS:** A section with three rows, each containing a checked checkbox, a label ('Réactif 1()', 'Réactif 2()', 'Réactif 3()'), and a time selection dropdown. The times are '00:00:20', '00:00:15', and '00:00:10' respectively.
- REPLISSAGE FLACON:** A section with a label 'Temps en secondes' and an input field containing the value '47'.
- DATE ET HEURE DU DEMARRAGE DE L'EXTRACTION:** A section with three rows, each containing a checked checkbox, a label ('Flacons 1,2,3', 'Flacons 4,5,6', 'Flacons 7,8,9'), and a date/time selection dropdown. The dates are '04/10/2013 11:02:24', '04/10/2013 11:23:09', and '04/10/2013 11:43:54' respectively.

At the bottom of the window, there are four buttons:

- 'Programmer le SBSE 2'
- 'Date du jour +5 minutes'
- 'Départ immédiat du triplicat de mesure du flacon sélectionné'
- 'Complète les dates à la suite'

Il faut préalablement s'assurer de la bonne synchronisation des dates et heures de l'ordinateur et de l'horloge interne du système SBSE. (voir 3.3).

Ouvrir la fenêtre du mode Planification des extractions en mode automatique, indiquer la durée d'agitation, choisir le ou les réactifs ainsi que les durées de chargement de ces derniers (Voir tableau chapitre 3.4.2), puis indiquer la durée du remplissage des flacons (42 s semble être le temps idéal, les réactifs sont tous introduits et le volume total fait 100 ml). Il est cependant conseillé de procéder aux différentes vérifications des temps lors de changements de tuyaux de pompage, en effet les débits des pompes pourraient avoir changé, le flacon d'extraction de "démon" transparent est très utile lors de l'optimisation de ces timings.

Dans la fenêtre "Date et heure de réveil des triplicats", sélectionner le premier triplicat (Flacon 1,2,3) et choisir la date et l'heure à laquelle l'alarme de prélèvement doit être déclenchée.

Le nombre de triplicats commandés peut être inférieur à 3, cependant ils doivent être déclenchés dans l'ordre.

Le lancement du cycle est effectué en cliquant sur le bouton **Programmer le SBSE 2**.

L'activation du bouton **Date du jour + 5 min** permet d'actualiser la date du premier triplicat (flacon 1,2,3). Le bouton **Complète les dates à la suite** actualise les dates des triplicats sélectionnés suivants (temps du cycle plus 10 min entre deux triplicats). **Pour information la vitesse de rotation des twister est 500 tr/min.**

L'ordinateur peut être déconnecté une fois que l'ordre de départ de mesure est lancé.

ATTENTION : l'alimentation électrique doit rester connectée et en position "marche".

La pompe doit être connectée à l'échantillon d'eau à prélever.

5. Récupération des barreaux

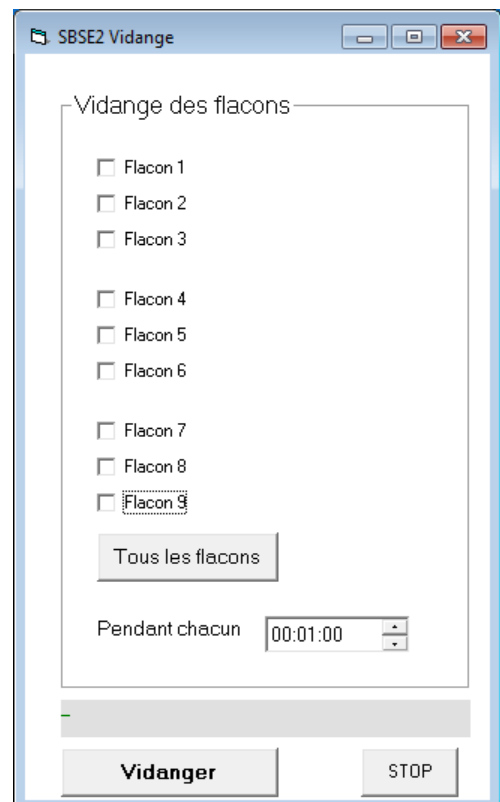
Eteindre l'alimentation électrique, puis la remettre en marche afin de réinitialiser l'appareil. Connecter l'ordinateur au port série et lancer le logiciel.

Dans la fenêtre principale sélectionner le mode **Vidange** (ce mode va permettre de vider automatiquement une partie de l'eau contenue dans les flacons).

ATTENTION : Introduire le tuyau d'alimentation de la pompe vers une **POUBELLE**.

- Sélectionner les flacons à vider.
- Indiquer le temps de vidange : 1 min.
- Vérifier si la pompe est connectée à la poubelle.
- Lancer la séquence en validant le bouton **Vidanger**.

Lorsque la séquence est terminée, ouvrir les flacons et récupérer les twisters.



Préalablement, mettre des gants en latex "non poudrés". Les barreaux sont récupérés avec une pince inox (préalablement pyrolysée) et rincé au-dessus d'un erlenmeyer propre (au cas où le barreau tombe) avec de l'eau "ultra pure". Le barreau est alors séché sur papier absorbant propre puis introduit dans son conditionnement initial. Il est important d'éviter tout contact avec le barreau (autre que la pince et le papier).

6. Le mode "Expert"

Ce mode permet de commander un ou plusieurs actionneurs directement à partir du synoptique et est réservé à des fins de maintenance .

Depuis la fenêtre principale, placer le curseur en haut à gauche sur la case "maintenance" et valider "test composants"

Le synoptique apparaît, vous pouvez piloter individuellement chaque actionneur.



ANNEXE 1: Nettoyage de l'appareil

Les différentes opérations sont à réaliser avec des gants en latex "non poudrés.

1. Nettoyage par pyrolyse (avant stockage de l'appareil)

Les flacons peuvent être nettoyés par pyrolyse à 400°C. Il faut préalablement démonter les raccords et les clapets et nettoyer les flacons à l'éthanol-eau désionisée (MilliQ) 50/50 (de préférence, mieux pour éliminer les composés apolaires et moins toxique) ou au dichlorométhane.

2. Nettoyage des joints toriques (entre chaque série d'analyses)

Les joints sont nettoyés dans l'éthanol puis rincés à l'eau désionisée (MilliQ).

3. Procédures de nettoyage "partiel" (entre chaque série d'analyses ou suite à une période de stockage)

Connecter les bidons ou poches contenant les solutions de nettoyage (eau désionisée (MilliQ), éthanol-eau eau désionisée (MilliQ) 50/50...) aux pompes de prélèvement.

Le tuyau d'évacuation de l'appareil doit être connecté à la poubelle.

Actions à réaliser dans le mode Manuel.

- "**Nettoyage soupape**": opération importante qui permet de nettoyer la soupape tarée (sécurité) pour éviter les surpressions. Le nettoyage peut être réalisé avec de l'eau désionisée (MilliQ) et/ou de l'éthanol- eau désionisée (MilliQ) 50/50.

- "**Nettoyage boucle**": rince avec la solution de nettoyage (eau désionisée (MilliQ), éthanol-eau désionisée (MilliQ) 50/50) la boucle d'injection du réactif correspondant. A faire pour chaque boucle d'injection de réactif qui sera utilisé.

- "**Nettoyage entrée échantillon**": rince avec la solution de nettoyage (eau désionisée (MilliQ), éthanol- eau désionisée (MilliQ) 50/50, échantillon) le circuit d'entrée de l'échantillon. A faire pour chaque réactif utilisé.

- "**Nettoyage flacon d'extraction** ": rince avec la solution de nettoyage (eau désionisée (MilliQ), éthanol- eau désionisée (MilliQ) 50/50, échantillon) le circuit de remplissage et le flacon d'extraction sélectionné.

- "**Nettoyage circuit d'alimentation**": rince avec la solution de nettoyage (eau désionisée (MilliQ), éthanol- eau désionisée (MilliQ) 50/50, échantillon) le circuit de remplissage du triplicat sélectionné.

Il est possible d'utiliser, via le mode Programmation de séquences, des séquences de nettoyage complètes pré-programmées.

4. Procédure de nettoyage complet de l'appareil (avant stockage de l'appareil)

4.1. Nettoyage des supports des flacons

- Démonter les joints toriques transparents et les nettoyer comme indiqué en 2.
- Nettoyer les supports avec une pissette d'eau désionisée (MilliQ).
- Sécher à l'aide de papier propre.
- aspirer le liquide restant avec une pipette Pasteur (pyrolysée si possible).
- Nettoyer les supports avec de l'éthanol- eau désionisée (MilliQ) 50/50.

- aspirer le liquide restant avec une pipette Pasteur (pyrolysée si possible). On peut utiliser la même que précédemment.
- Rincer avec une pissette d' eau désionisée (MilliQ).
- aspirer le liquide restant avec une pipette Pasteur (pyrolysée si possible). On peut utiliser la même que précédemment.
- Replacer les joints dans leurs logements.

4.2. Nettoyage général de l'appareil SBSE 2

- Mettre en place les flacons sur les supports et connecter les tuyaux d'évacuation.
- Introduire les tuyaux d'alimentation des pompes dans le bidon ou la poche contenant le produit nettoyant.

Dans la fenêtre principale sélectionner le mode **Programmation de séquences** et charger la séquence **nettoyage général de l'appareil**. Il est possible de modifier les temps des actions enregistrées dans la séquence. Pour cela sélectionner l'action, modifier la durée et valider par le bouton **modifier**. Vous pouvez sauvegarder cette nouvelle séquence dans le fichier.

- Lancer la séquence en activant le bouton **Exécuter la séquence**.

Lorsque la séquence est achevée les flacons restent pleins. Pour les vider utiliser le mode **Vidange** accessible depuis la fenêtre principale.

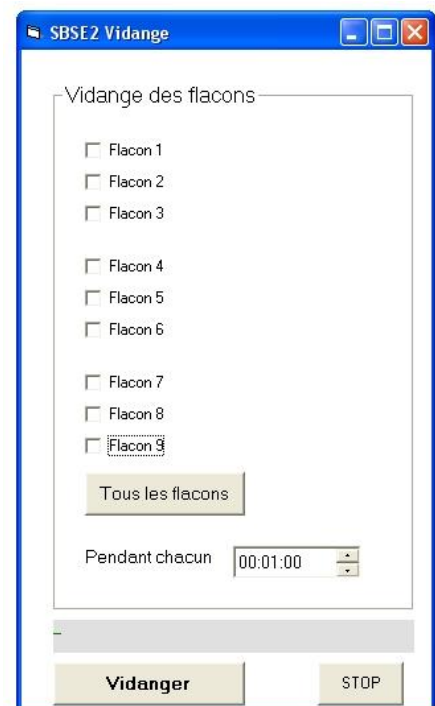
Ce mode va permettre de vider automatiquement l'eau contenue dans les flacons.

ATTENTION : Introduire le tuyau d'alimentation de la pompe dans un bidon POUBELLE afin de ne pas polluer le produit ayant servi au nettoyage.

- Sélectionner les flacons à vider
- Indiquer le temps de vidange : 1 min
- Vérifier si la pompe d'alimentation est connectée à la poubelle
- Lancer la séquence en validant le bouton **Vidanger**.

Effectuer le nettoyage général de l'appareil SBSE 2 en appliquant la procédure décrite précédemment avec les produits suivants :

- eau désionisée (MilliQ)
- éthanol- eau désionisée (MilliQ) 50/50
- eau désionisée (MilliQ) pour le rinçage final



ANNEXE 2: Préparation des réactifs

Les diverses solutions sont à préparer dans des flacons en verre préalablement passés au four à 400°C.

- Analyse des HAPs, PCBs et pesticides

Afin de quantifier les HAPs, PCBs et pesticides, la technique de l'étalonnage interne a été appliquée. Des HAPs et pesticides deutérés sont donc à ajouter aux échantillons d'eau à analyser avant extraction : Naphtalène-d₈, Biphényl-d₁₀, Phénanthrène-d₁₀, Chrysène-d₁₂, Ethylparathion-d₁₀, Pyrène-d₁₀, Benzo[a]anthracène-d₁₂, Benzo[a]pyrène-d₁₂ et le Benzo[g,h,i]pérylène-d₁₂.

La solution d'étalons internes est fournie par Carlo Erba. Elle est conditionnée dans des ampoules de 1ml et les composés sont dans le méthanol à une concentration de 10µg/ml. Le reste de la solution est à conserver au congélateur.

Pour préparer la solution d'étalon interne, prendre **1 ml (ou 100µl si la concentration de la solution mère est de 100µg/ml)** de l'ampoule et compléter à 1L dans du méthanol. Ensuite, il faut ajouter 10 ml de cette solution à chacun des échantillons d'eau à analyser (100 ml). La solution est à conserver au réfrigérateur et est utilisable 1 mois.

- Analyse des phénols et alkylphénols

Le composé deutéré à utiliser pour la quantification des phénols et alkylphénols est le 4-(3,6-diméthyl-3-heptyl)phénol-3,5-d₂. Il est fourni en solution par Sigma Aldrich à une concentration de 10µg/ml dans des ampoules de 1 ml (référence n°33569).

Prendre 100µl de la solution standard et compléter à 1L avec du méthanol. Le reste de l'ampoule est à conserver au congélateur.

Dans les échantillons d'eau (100 ml), ajouter 1 g de carbonate de potassium (ACS reagent Sigma Aldrich) afin d'augmenter le pH de la solution à environ 10,5. Puis, il faut ajouter 10 ml de la solution contenant l'étalon interne, suivi par 0,5 ml d'anhydride acétique (Sigma Aldrich). La réaction provoquant un dégagement gazeux, il est important de ne pas fermer entièrement le bouchon du flacon lors de l'extraction. La solution du 4-(3,6-diméthyl-3-heptyl)phénol-3,5-d₂ est **à conserver au réfrigérateur et est utilisable 1 mois**.