

Développement de la technique SBSE : extension de la technique aux composés du tributylétain et du mercure

J-L. Gonzalez, J. Guyomarch

Février 2017

Document final

En partenariat avec



Avec le soutien de



Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme scientifique et technique AQUAREF pour l'année 2015, dans le cadre du thème G "Méthodes et Technologies innovantes".

Auteurs :

Jean-Louis Gonzalez

*Ifremer, Département RBE Unité "Biogéochimie et Ecotoxicologie" Centre de Méditerranée, ZP de Bregailon CS 20330- 83507 La Seyne/mer cedex
jean.louis.gonzalez@ifremer.fr*

Julien Guyomarch,

*CEDRE, Service Recherche & Développement, 715 rue Alain Colas - CS 41836 - 29218 Brest Cedex
julien.guyomarch@cedre.fr*

Vérification du document :

Marina Coquery et Christelle Margoum, Irstea
Enrica Alasonati, LNE

Les correspondants

Onema : Pierre-François Staub, pierre-francois.staub@onema.fr
ONEMA-DAST, Le Nadar Hall C - 5 square Nadar - 94300 Vincennes

Ifremer : 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 : J-L. Gonzalez, J. Guyomarch - Développement de la technique SBSE : extension de la technique aux composés du tributylétain et du mercure - Rapport AQUAREF 2015 - 16 p.

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. CONTEXTE	7
2. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	8
2.1 Tributylétain	8
2.2 Mercure et méthylmercure.....	8
3. METHODES CHOISIES.....	9
4. ANALYSE DU TRIBUTYLETAIN	9
4.1 Protocole.....	9
4.2 Conditions d'analyse	10
4.3 Résultats	11
4.4 Test de stabilité	12
5. ANALYSE DU MERCURE	13
5.1 Extraction liquide-liquide	13
5.2 Essais d'un nouveau composé de dérivation : tétratphénylborate de sodium (NaBPh ₄).....	13
6. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	13
7. RÉFÉRENCES.....	14

Développement de la technique SBSE : extension de la technique aux composés du tributylétain et du mercure
Gonzalez J-L., Guyomarch J.

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). Les composés du tributylétain et du mercure font partie des substances prioritaires à mesurer dans le cadre de la DCE. Comme la plupart des composés présents dans l'environnement marin, ces éléments sont présents à des niveaux très faibles. La mesure de leur concentration dans la colonne d'eau requiert la mise en oeuvre de techniques d'échantillonnage "ultra-propres", de filtration et d'analyse complexes qui sont à l'heure actuelle maîtrisées principalement par des laboratoires spécialisés. Dans le cadre de cette action, l'objectif sera dans un premier temps de valider un protocole d'extraction et de concentration via la technique SBSE pour les composés du tributylétain et du mercure, puis de tenter de combiner les deux méthodes en une seule.

Les résultats sur le tributylétain sont encourageants malgré une grande sensibilité de la réaction de dérivation *in situ* à la qualité et à la préparation des réactifs. Il est donc envisageable de le détecter au niveau des normes de qualité environnementales. La détermination de la limite de quantification est donc conditionnée à une meilleure maîtrise des rendements de réaction.

Les dérivés du mercure ont posé plus de problèmes et il n'a pas été possible à ce jour d'obtenir de réponses satisfaisantes. Il conviendra de comprendre pour la suite de refaire une synthèse des méthodes de dérivation existantes.

Mots clés (thématique et géographique) : eaux naturelles, milieu marin, SBSE, composés du tributylétain, mercure, méthylmercure

SBSE TECHNIQUE: extension to tributyltin compounds and mercury
Gonzalez J-L., Guyomarch J.

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). Tributyltin compounds and mercury are among the priority substances to be measured in the context of the WFD. Since most of the compounds present in the marine environment, these elements are present at trace levels. Measuring their concentration in the water column requires the implementation of complex "ultra-clean" sampling, filtration and analysis techniques. As part of this action, the objective is initially to validate an extraction and concentration protocol via the SBSE technique for tributyltin compounds and mercury, and then to try to combine their analyses in a single method.

The results obtained on tributyltin are encouraging in spite of the high sensitivity of the *in situ* derivatization reaction to the quality and preparation of the reagents. It seems possible to develop a field method which enables detections at levels in agreement with environmental quality standards. The determination of limits of quantification will thus result from this better control of the derivatization yields.

Mercury derivatives have raised more problems and questions, and it was not possible to obtain satisfactory responses. The next step of the study should consist in the synthesis of existing derivatization methods.

Key words (thematic and geographical area): natural waters, sea waters, SBSE, tributyltin compounds, mercury, methylmercury.

1. 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. Le nombre des masses d'eau impliquées, 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. Classiquement, l'analyse des contaminants chimiques se fait après des opérations d'échantillonnage et de traitement relativement longues, nécessitant des laboratoires spécialisés et du personnel très qualifié. Les techniques par micro-extraction, basées sur un échantillonnage (extraction/préconcentration) directement dans l'échantillon et applicables directement sur site, permettent de résoudre une partie importante des difficultés. 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).

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 (Togola, 2014). Cette méthode SBSE, développée initialement 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. La SBSE a été étendue à d'autres composés (PCB et certains pesticides) dans le cadre d'une collaboration Ifremer/Cedre. Cette technique permet d'analyser les composés extraits à des niveaux de concentration très faibles, de l'ordre du ng/L (Balthussen *et al.*, 1999).

De plus, les possibilités de cette méthode "automatisable" (Guyomarch *et al*, 2013; Gonzalez *et al*, 2014) 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 tels que les alkylphénols et chlorophénols (Guyomarch, 2013).

Les composés du tributylétain (TBT) et du mercure font partie des substances prioritaires à mesurer dans le cadre de la DCE. Comme la plupart des composés présents dans l'environnement marin, ces éléments sont présents à des niveaux très faibles, de l'ordre du ng/L (la norme de qualité environnemental, NQE, est de 0,2 ng/L). La mesure de leur concentration dans la colonne d'eau requiert la mise en oeuvre de techniques d'échantillonnage "ultra-propres", de filtration et d'analyse complexes qui sont à l'heure actuelle maîtrisées principalement par des laboratoires de recherche.

La technologie SBSE a également fait l'objet d'automatisation (Gonzalez *et al*, 2013; Guyomarch *et al*, 2013). Le prototype ainsi développé réalise de manière autonome et programmée les étapes de prélèvement, d'extraction, ainsi que l'addition de réactifs de dérivation dans sa nouvelle version. De sensibilité analytique proche des protocoles de laboratoire, il peut être appliqué à la surveillance de la contamination chimique des masses d'eau (marines et continentales) pour différentes familles de composés hydrophobes (HAP, PCB, pesticides dont organochlorés). De plus, dans sa nouvelle version automatisée qui permet l'introduction des réactifs de dérivation, elle donne accès à des composés polaires. La liste des molécules cibles peut être étendue à d'autres familles de composés, en faisant appel à d'autres réactions de dérivation *in situ*. A ce titre, les organo-étains semblent de bon candidats (Camino-Sanchez *et al.*, 2012).

Dans le cadre de cette action, l'objectif sera dans un premier temps de valider un protocole d'extraction et de concentration *via* la technique SBSE pour les composés du tributylétain (nous nous concentrerons dans un premier temps sur le TBT) et du mercure (le mercure (II) et le méthylmercure ont été ciblés dans cette étude). Quelques travaux ont mis en évidence les possibilités de la technique SBSE pour doser ces composés à des concentrations de l'ordre du ng/L (Vercauteren *et al*, 2001, Devos *et al*, 2005; Prieto *et al*, 2008; Ito *et al*, 2008; 2009; Devos *et al*, 2012).

Cette proposition s'inscrit dans la suite des actions menées pour développer et améliorer des

outils innovants pouvant être utilisés dans le cadre de la surveillance. Les résultats obtenus pourront contribuer à la rédaction de nouvelles fiches "Méthodes d'extraction/concentration par SBSE" et à alimenter les réflexions sur l'utilisation potentielle de cette technique dans des échantillonneurs passifs. Ces travaux permettront aussi d'aider aux choix et à l'adaptation des stratégies de surveillance applicables pour répondre à la DCE, notamment en ce qui concerne le choix de matrices pertinentes.

Le présent rapport présente la bibliographie concernant l'utilisation de la méthode SBSE pour l'analyse des organo-étains dont le TBT, et du Hg total généralement combiné avec le MeHg, ainsi que les protocoles d'analyse choisis pour les premiers essais qui ont été réalisés en 2016.

2. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1 TRIBUTYLETAIN

En 2015, l'article Richter *et al.* (2015) fait un état de l'art des différentes techniques utilisées pour la détermination du TBT. En ce qui concerne l'utilisation de la technique SBSE, seule l'étude de Devos *et al.* (2012) est citée. Il semble donc qu'à ce jour la méthode publiée par Devos *et al.* soit la référence en ce qui concerne la détermination du TBT dans l'eau par SBSE-TD-GCxGC-MS/MS. De plus, seule cette méthode permet d'atteindre les sensibilités analytiques requises par la DCE (LOQ de l'ordre de 10 pg/L pour une NQE de 200 pg/L).

D'autres articles ont été recensés quant à la détermination des organo-étains, dont le TBT, dans l'ordre chronologique:

- Prieto *et al.* 2008: Analyse du méthyl mercure et du butyl-étain par HS-SBSE-TD-GC-MS
- Camino-Sanchez *et al.* 2012: Détermination du TBT dans l'eau de mer par SBSE-SD-LC-MS/MS
- Cacho *et al.* 2013: Détermination des composés organo-étain par HSSE-TD-GC-MS
- Neng *et al.* 2014: Détermination du TBT dans l'eau par SBSE-LD-GC-MS
- Coscolla *et al.* 2014: Détermination des composés organo-étain par HS-SPME-GC-MS/MS
- Moscoso-Perez *et al.* 2015: Détermination des composés organo-étain dans l'eau par HS-SPME-GC-QqQ-MS/MS

Ces méthodes n'offrent cependant pas la possibilité de réaliser des analyses de manière simple, rapide, et avec la sensibilité requise pour des suivis environnementaux. A titre d'exemple, le fait de désorber les barreaux par un solvant puis d'injecter par voie liquide (Neng *et al.*, 2014), et non par désorption thermique, accroît considérablement les limites de détection (23 ng/L contre moins de 0,1 ng/L). De même, les techniques par headspace et/ou par SPME ne permettent pas d'atteindre la sensibilité requise du fait de rendement d'extraction insuffisants.

Par ailleurs, une récente étude sur les développements de la SBSE est parue (He *et al.* 2014). Dans cet article, les seules références au TBT sont relativement anciennes : Van Hoeck *et al.* 2009 (multi-SBSE extraction-single desorption-capillary GS/MS), Vercauteren *et al.* 2001 (ICP-MS) et Prieto *et al.* 2008 (HS-SBSE). Ce papier donne cependant quelques éléments généraux concernant le développement SBSE (automatisation, nouveaux barreaux, couplage SBSE avec techniques analytiques...).

2.2 MERCURE ET METHYLMERCURE

Prieto *et al.* (2008) présentent une méthode qui combine l'analyse du TBT avec celle du méthylmercure, par headspace - SPME. Mishra *et al.* (2005) ont développé une méthode pour la détermination du méthylmercure et du mercure (II) dans un écosystème marin (analyse d'échantillons d'eau de mer, de sédiment et d'organismes vivants) par SPME-GC-MS. Ils utilisent la réaction de phénylation avec le tétraphénylborate de sodium qui semble plus facile à manipuler et plus stable que le tétraéthylborate de sodium (en milieu tamponné à pH 4,5, le mercure (II) et le méthylmercure réagissent avec le tétraphénylborate de sodium pour former respectivement le diphenylmercure et le méthyl-phénylmercure).

De même que pour l'analyse du TBT évoqué précédemment, les méthodes qui font appel à la SPME ou à l'headspace ne semblent pas suffisamment sensibles. Aussi, dans l'objectif de

quantifier simplement à de faibles niveaux le mercure (II) et le méthylmercure, les articles qui font référence pour la quantification par SBSE du méthylmercure (et du mercure II) sont les études de Ito *et al.* (2008 et 2009).

Cette méthode combine une dérivation *in situ* (alkylation par du tetraethylborate de sodium) à une extraction SBSE, ce qui permet d'atteindre des limites de quantification de respectivement 10 et 20 ng/L pour ces deux composés sur des volumes d'échantillons de 10 mL (les NQE sont de 70 ng/L pour le "mercure et composés").

3. METHODES CHOISIES

Les deux méthodes identifiées comme base de travail dans cette étude seront appliquées sur respectivement pour le tributylétain (Devos *et al.*, 2012), le méthylmercure et mercure (II) (Ito *et al.*, 2009). Elles feront dans un premier temps l'objet d'essais séparés. Les barreaux utilisés pour ces essais ont des volumes de phase de PDMS de 47 µL (20 mm et épaisseur de film de 0,5 mm).

Les essais ont pour objectifs de vérifier les performances analytiques pour des volumes d'échantillons de 50 mL (similaire ou sensiblement plus élevé que dans les protocoles publiés), ainsi que pour des conditions et des systèmes analytiques différents. Il conviendra également d'identifier des étalons internes appropriés permettant de compenser les rendements de réaction lors des étapes de dérivation *in situ*.

Les résultats obtenus pourront être analysés et validés par la comparaison à des données obtenues par d'autres méthodes, notamment en ce qui concerne Hg, à des mesures DGT qui permettent d'évaluer la spéciation de Hg par la comparaison de mesures réalisées avec des résines différentes: Sphéron-Thiol / Chelex100 (Gonzalez *et al.*, 2012) et des mesures de spéciation de Hg (méthylmercure) sur des échantillons d'eau par CV-AFS, cette technique étant parfaitement maîtrisée par l'unité "Biogéochimie et écotoxicologie" de l'Ifremer (Cossa *et al.*, 2003).

Dans un second temps, et compte tenu de la proximité des deux protocoles de préparation d'échantillon, il semble intéressant de pouvoir combiner l'analyse du tributylétain avec celle du mercure et de son dérivé méthylé.

4. ANALYSE DU TRIBUTYLETAIN

En ce qui concerne l'analyse du TBT, la méthode développée par Devos *et al.* (2012) semble pertinente au vu des sensibilités requises et du matériel analytique dont dispose le Cedre. Cette technique consiste à dériver *in situ* le TBT en substituant le chlore par un groupement éthyle, avant extraction par SBSE puis injection dans la GC-MS/MS par désorption thermique. Le Cedre a réalisé des essais préliminaires afin de reproduire les résultats de l'étude. Il est apparu difficile, dans les conditions expérimentales décrites dans l'article, de réaliser la dérivation *in situ*. : les réactifs de dérivations sont très instables et certaines solutions doivent être préparées sous atmosphère inerte. Si l'analyse des étalons internes s'est avérée satisfaisante après extraction SBSE, les réponses obtenues après dérivation se sont révélées très faibles. Les causes de ces faibles rendements semblaient liées à la qualité des réactifs utilisés. De même, Devos *et al.*, 2012 décrivent la présence d'un composé interférent pour des teneurs de TBT inférieures au ng/L et qui ne peut être séparé de la molécule cible que par la technique GCxGC. Ce composé, qu'ils étaient *a priori* les seuls à avoir identifié comme mentionné dans la publication, n'a pas été mis en évidence lors de ces essais préliminaires réalisés au Cedre.

4.1 PROTOCOLE

Les essais effectués en 2016 ont été réalisés selon le protocole décrit par Devos *et al.* (2012), avec des réactifs acquis pour l'occasion du fait de leur faible stabilité. Des solutions de calibration ont été préparées, de 0,03 ng/L à 2 ng/L. La technique de l'étalonnage interne a été appliquée, l'étalon interne étant le tributylétain deutéré (TBT d₂₇). Les essais sont réalisés en duplicats.

Dans une bouteille de 60 mL sont introduits 50 mL d'eau de mer , ainsi que le TBT d₂₇ et le TBT dans 2,5 mL d'éthanol. A cette solution, sont ensuite ajoutés 5 mL de solution tampon (pH 5.3) ainsi que 1 mL de la solution de dérivation de tétraéthylborate de sodium. La solution est agitée au vortex pendant 1 minute puis placée aux ultrasons pendant 10 minutes. Il est à noter que l'eau de mer provient d'un aquarium situé à Brest (Océanopolis) ; elle a été préalablement filtrée et désinfectée par UV.

Les barreaux permettant l'extraction par la technique SBSE sont introduits et agités pendant 2 heures à 750 tours/minute à l'abri de la lumière. Les barreaux sont ensuite retirés du milieu, rincés puis séchés. Le TBT et le TBT d₂₇ sont désorbés thermiquement et ensuite analysés par GC/MS/MS.

4.2 CONDITIONS D'ANALYSE

La désorption thermique des composés concentrés par la phase de PDMS permet d'introduire les analytes dans le couplage GC-MS. Cette étape est réalisée par un désorbeur thermique (TDU : Thermal Desorption Unit) monté en série avec un injecteur à programmation de température (CIS : Cooled Injection System). Le barreau SBSE à analyser est placé dans un tube étanche à l'air situé sur le passeur d'échantillon puis introduit dans le TDU maintenu à la température de 50°C tandis que le CIS est refroidi à -50°C par de l'azote liquide. Le TDU est alors chauffé jusqu'à 260°C à 60°C/min ; la durée de désorption, en mode "splitless", est fixée à 6 minutes. Les molécules ainsi libérées sont condensées dans un liner à chicanes disposé dans le CIS, avant d'être injectées dans le couplage GC-MS/MS par une montée en température rapide (de -50°C à 300°C à 12°C/s).

L'analyse est effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection par spectrométrie de masse en tandem (GC/MS/MS). Le chromatographe en phase gazeuse est un Agilent 7890N équipé d'un système d'injection multifonctions Combipal MPS2 (Gerstel, Suisse) utilisé en mode "splitless". La température de l'interface est de 300°C. Le programme de température du four est: de 50°C (1 min) à 250°C, à 10°C/min, puis 300°C à 40°C/min. Le gaz vecteur est de l'hélium à débit constant (1mL/min). La colonne capillaire est une HP 5-ms (Agilent, Middelburg, Pays-Bas): 30m x 0,25mm ID x 0,25µm (épaisseur de film). Le chromatographe est couplé à un détecteur par spectrométrie de masse (triple quadripôle Agilent 7000). L'analyse quantitative des différents composés (Tab. 1) est effectuée en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring): l'ion précurseur, obtenu après une première fragmentation au niveau de la source, subit une seconde fragmentation dans la cellule de collision, à une énergie donnée. Deux ions fils sont alors sélectivement détectés, l'un servant à la quantification (*Quantifier*), l'autre à la confirmation de la nature de la molécule (*Qualifier*).

Tableau 1 : Transitions MRM utilisées lors de l'analyse du TBT

Echantillon	Quantifier	Qualifier	Energie de collision Quantifier / Qualifier (eV)	
TBT	291.2 → 178.9	291.2 → 122.8	10	20
TBT d ₂₇	318.2 → 189.9	318.2 → 125.8	10	30

4.3 RESULTATS

La figure 1 présente un chromatogramme type et la figure 2 un exemple de courbe de calibration.

La réaction de dérivation ayant montré une variabilité importante (CV de l'ordre de 20% sur l'ensemble de la gamme), les limites de quantification n'ont pas pu être calculées dans un domaine compatible avec l'application de la DCE (LOQ requise de 0,06 ng/L pour une NQE de 0,2 ng/L). S'il n'est pas possible de le quantifier précisément, il est cependant possible de détecter le TBT à de très faibles teneurs, inférieures à 0,03 ng/L, plus bas niveau de concentrations testées. En l'état, cette technique représente donc un outil de diagnostic précieux (analyses simples et rapides) qui peut représenter une première étape d'évaluation de la qualité du milieu avant de faire éventuellement appel à des méthodes plus précises mais généralement plus complexes à mettre en œuvre.

Sous condition de mieux maîtriser la réaction de dérivation, il semble possible d'atteindre des limites de quantification de l'ordre du tiers de la NQE comme préconisé, soit environ 0,06 ng/L (il est à noter que les LOQ sont généralement déterminées au Cedre selon des profils d'exactitude). Il est probable que cela impose des contraintes de préparation d'échantillon supplémentaires (meilleure filtration des échantillons réels par exemple).

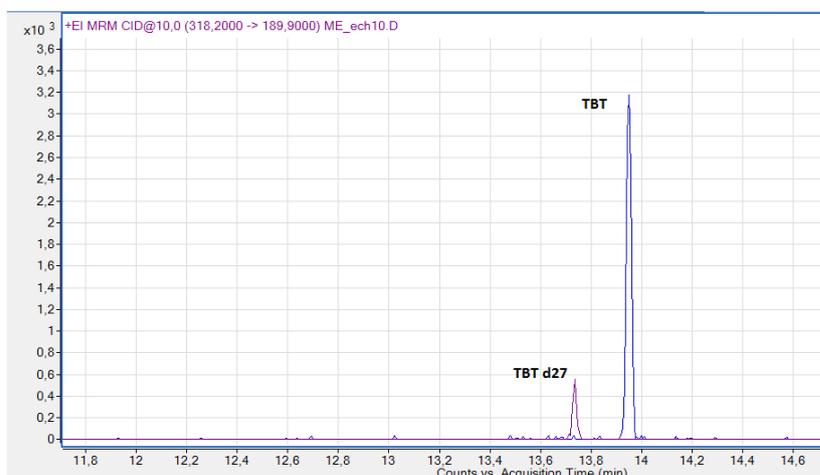


Figure 1 : Exemple de chromatogramme du TBT et TBT d₂₇ obtenu par analyse SBSE-GC/MS/MS (concentrations de respectivement 3 ng/L et 1 ng/L)

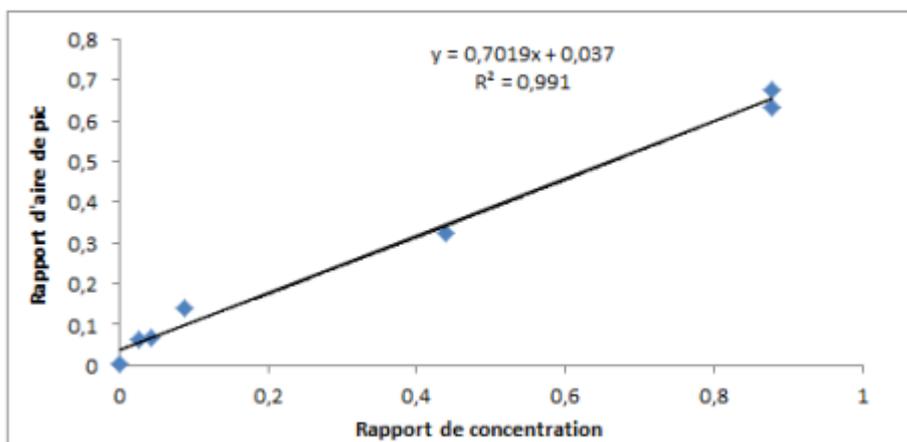


Figure 2 : Droite d'étalonnage du TBT

4.4 TEST DE STABILITE

Le test de stabilité vise à estimer la capacité de l'étalon interne TBT d_{27} à compenser les pertes éventuelles de TBT entre la prise d'échantillons et les opérations de dérivation/extraction. En effet, à l'inverse des méthodes développées précédemment qui impliquaient des phases de dérivations *in situ* (cas des chlorophénols et alkylphénols: Guyomarch, 2014), la conversion du TBT requiert l'ajout de réactifs peu stables qui doivent être préparés au laboratoire. Aussi, en cas de campagne de prélèvement, la question de la conservation des échantillons se pose, et en particulier celle de la capacité du TBT d_{27} à compenser les pertes de TBT.

Afin de maximiser ces phénomènes, le test a été réalisé à température ambiante sur une durée de 2 semaines. Ce test est cependant très préliminaire et ne vise qu'à obtenir une première idée sur les temps de conservation des échantillons.

Le test de stabilité a été réalisé sur un niveau de concentration de 2 ng/L en TBT et 1 ng/L en TBT $_{27}$ (dans des bouteilles ambrées de 60 mL et contenant 50 mL d'eau de mer).

Chaque semaine, une bouteille était extraite en appliquant le même protocole décrit précédemment. Les barreaux SBSE ont également été analysés par GC-MS/MS avec les mêmes conditions d'analyse que pour les essais précédents. La figure 3 montre les résultats obtenus pour ce test de stabilité en suivant dans le temps le rapport des aires de TBT et TBT $_{27}$ après dérivation *in situ*.

Il apparaît que le TBT d_{27} permet de compenser des pertes pendant 7 jours, mais pas au-delà. Cette période est cependant suffisamment longue compte tenu des délais généralement observés entre les campagnes de prélèvements et l'extraction au laboratoire.

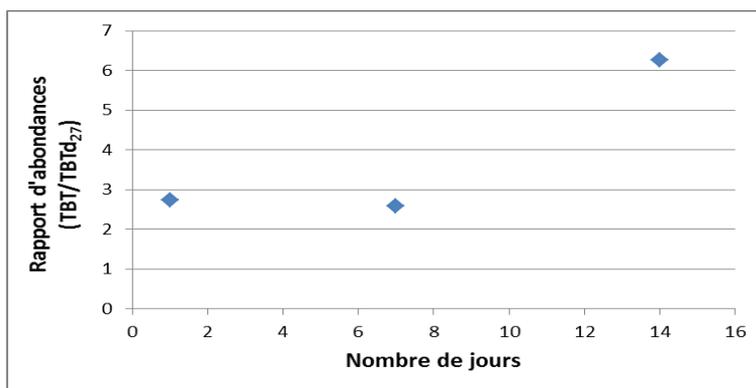


Figure 3 : Résultats du test de stabilité du TBT

5. ANALYSE DU MERCURE

Ces essais ont été réalisés selon la méthode de référence (Ito *et al.*, 2009), qui consiste à convertir *in situ* le mercure (II) et méthylmercure, par réaction avec le NaBEt₄ en milieu tamponné (pH de 5), en respectivement diéthylmercure et éthyl-méthylmercure. L'extraction réalisée par SBSE est suivie d'une analyse par GC-MS/MS (GC-MS dans la publication de référence), l'injection étant réalisée par désorption thermique. Les essais de dérivation et d'extraction SBSE n'ont pas permis d'identifier les molécules cibles, la phase de PDMS générant un bruit de fond important en mode Scan. Divers essais complémentaires ont été menés afin de tenter d'identifier les dérivés du mercure *a priori* générés par la réaction, en simplifiant par exemple le signal en réalisant des extractions liquide-liquide. Un autre réactif de dérivation identifié dans la littérature (Mishra *et al*, 2005), le tétraphénylborate de sodium, a également été testé.

5.1 EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE

Pour tenter d'identifier les composés formés lors de la réaction de dérivation *in situ*, il a été décidé de simplifier les chromatogrammes en réalisant des injections de solvant et non des désorptions thermiques de barreaux, qui induisent un bruit de fond élevé (présence des pics de phase de PDMS sur tout le chromatogramme).

Des tests en eau de mer et en eau douce par extraction liquide-liquide ont également été réalisés selon Ito *et al* (2009) à un niveau de 5 µg/L. Cette concentration élevée a été choisie pour tenir compte de la plus faible quantité injectée après extraction liquide-liquide (toujours en comparaison de la désorption thermique). Dans une ampoule à décanter de 60 mL, sont ajoutés 50 mL d'eau, 1 mL de solution tampon d'acétate (2M, pH = 5), ainsi que la solution de méthylmercure ou d'éthylmercure. La dérivation se fait par ajout de 50 µL de NaBEt₄ à 0.5% (m/v). L'extraction se fait par 3x5 mL de dichlorométhane. Quelques gouttes de la solution récupérée sont directement déposées sur le tube de désorption puis analysées par GC-MS. Les résultats n'ont pas été concluants.

5.2 ESSAIS D'UN NOUVEAU COMPOSE DE DERIVATION : TERATPHENYLBORATE DE SODIUM (NaBPh₄)

Des essais ont été réalisés en eau de mer et en eau douce selon le protocole de Mishra *et al.* (2005). Dans une bouteille de 30 mL, sont introduits 14,6 mL d'eau puis 10 mL de solution tampon (1M, pH = 4.5), 1 µL de méthyl mercure ou d'éthyl mercure à 0.8 µg/mL (concentration dans l'eau de 55 ng/L) et 400 µL de solution de dérivation de NaBPh₄ à 1%. Dix minutes plus tard, la solution est extraite à l'aide des barreaux pendant 15 min à 750 rpm. Les molécules cibles qui auraient ainsi été dérivées n'ont cependant pas été identifiées.

En parallèle, des essais avec le cet agent de dérivation (NaBPh₄) dérivation ont été réalisés sur le TBT, l'objectif final étant toujours de combiner les deux méthodes en une seule. Les tests menés sur trois niveaux de gamme (0.5, 1 et 2 ng/L) n'ont pas permis d'obtenir le dérivé phénylés (phényltributylétain), ce qui est en accord avec des références sur le sujet (Cai, 2003) qui montrent une moindre réactivité de cet agent.

6. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'analyse par la technique SBSE du TBT, du mercure et dérivés implique de procéder à des réactions de dérivations *in situ*. Dans le cas du tributylétain, la réaction de dérivation a montré une variabilité importante et les limites de quantification n'ont pas pu être calculées pour des teneurs inférieures au ng/L, domaine de concentration qui était ciblé. Il apparaît cependant possible de détecter le TBT à de très faibles teneurs, inférieures à 0,03 ng/L, plus bas niveau de concentrations testées. Il semble possible d'atteindre des limites de quantification de l'ordre du tiers de la NQE comme préconisé, soit environ 0,06 ng/L, mais en s'imposant *a priori* des contraintes de préparation d'échantillon. En particulier, il est possible qu'une filtration plus poussée des échantillons soit nécessaire. Aussi, une étude plus systématique de tous les paramètres liés à la préparation d'échantillon devra être menée : température, salinité, taux de

MES, temps de conservation des réactifs, ...

La technique développée, même si elle présente en l'état des insuffisances, représente un outil de diagnostic précieux, la limite de détection (<0,03 ng/L) étant basse au regard de la NQE (0,2 ng/L). De plus, le TBT d₂₇, utilisé en tant qu'étalon interne, semble pouvoir compenser les éventuelles pertes de TBT, ce qui est intéressant pour des campagnes de terrain réalisées avec une logistique limitée (campagne sur plusieurs jours sans possibilités de congélation par exemple). La méthode est pertinente et elle reste à valider, notamment par des essais terrain. Dans la suite de cette action, nous allons tester la méthode en milieu naturel (rade de Brest et de Toulon) dans sa version "standard" et sa version *in situ*.

Au sein d'Aquaref, la consolidation et diffusion de la méthode pourrait se faire via une "fiche méthode" et une normalisation.

Les dérivés du mercure ont posé plus de problèmes et il n'a pas été possible, à ce jour, et ce malgré des essais réalisés selon diverses approches, d'obtenir de réponses satisfaisantes. De même que pour le TBT, une étude plus systématique de tous les paramètres expérimentaux devra être conduite afin d'obtenir les composés issus de la dérivation *in situ*, et ce de façon reproductible.

7. RÉFÉRENCES

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.

Cai Y. (2003) Derivatization and vapor generation methods for trace element analysis and speciation. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 19, 577-592.

Cacho J.I., Campillo N., Vinas, P. and Hernández-Córdoba M. (2013) Headspace Sorptive extraction for the analysis of organotin compounds using thermal desorption and gas chromatography with mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1279, 1-6.

Camino-Sanchez F.J., Zafra-Gomez A., Oliver-Rodriguez B. and Ruiz-Naranjo I. (2012) Validation of a method for the determination of tributyltin in seawater by stir bar sorptive extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1263, 14-20.

Coscolla C., Navarro-Olivares S., Marti P. and Yusa V. (2014) Application of the experimental design of experiments (DoE) for the determination of organotin compounds in water samples using HS-SPME and GC-MS/MS, *Talanta*, 119, 544-552.

Cossa, D., Averty, B., Bretaudeau, J., Senard, A.S. (2003) Spéciation du mercure dissous dans les eaux marines. Méthodes d'analyse en milieu marin. Technical report. Ifremer, France.

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

Devos C., Vliegen M., Willaert B., David F., Moens L. and Sandra P. (2005). Automated headspace-solid-phase microextraction-retention time locked-isotope dilution GC/MS for the analysis of organotin compounds in water and sediments samples. *Journal of Chromatography A*, 1079: 408.

Devos C., David F. and Sandra P. (2012) A new validated analytical method for the determination of tributyltin in water samples at the quantification level set by the European Union. *Journal of Chromatography A*, 1261, 151-157.

Gonzalez J-L., Munaron D., Podeur C., Tapie N., Budzinski H., Maruszczak N., Montero N., Belzunce M-J. (2012) Contribution au développement et à l'amélioration des techniques d'échantillonnage passif (DGT et POCIS) - Rapport final AQUAREF 2012, 61 p.

Gonzalez J.-L., Laës-Huon A., Podeur C., Rousseaux P., Forest B., Bignon L. et Guyomarch J. (2014) Développement de la technique SBSE: automatisation, extension de la technique aux composés polaires ("valise SBSE") - Rapport Final AQUAREF 2014 - 51 p.

Guyomarch J. (2013) Analyse par SBSE de contaminants organiques en milieu marin : développement de systèmes automatisés de prélèvement et d'extraction. SBSE technical meeting, Paris, 11-12 février 2013. 25 p.

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.

He M., Chen B. and Hu B. (2014) Recent developments in stir bar sorptive extraction, Anal Bioanal Chem, 406:2001-2026.

Ito R., Kawaguchi M., Sakui N., Honda H., Okanouchi N., Saito K. and Nakazawa H. (2008) Mercury speciation and analysis in drinking water by stir bar sorptive extraction with in situ propyl derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr A, 1209(1-2):267-70.

Ito R., Kawaguchi M., Sakui N., Okanouchi N., Saito K. Seto Y. and Nakazawa H. (2009) Stir bar sorptive extraction with in situ derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry for trace analysis of methylmercury and mercury(II) in water sample. Talanta, 11, 77(4):1295-8.

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.

Minganti, V., Capelli, R. De Pellegrini, R. Fresenius (1995). Evaluation of different derivatization methods for the multi-element detection of Hg, and Sn compounds by gas chromatography-microwave induced plasma-atomic emission spectrometry in environmental samples. Journal of Analytical Chemistry, 351, 471-477.

Mishra S., Tripathi R.M., Bhalke S., Shukla V.K., Puranik V.D. (2005). Determination of methylmercury and mercury (II) in a marine ecosystem using solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. Analytica Chimica Acta, 551, 192-198

Moscoso-Perez C., Fernández-González V., Moreda-Pineiro J., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo S. and Prada-Rodríguez D. (2015) Determination of organotin compounds in waters by headspace solid phase microextraction gas chromatography triple quadrupole tandem mass spectrometry under the European Water Framework Directive, Journal of Chromatography A, 1385, 85-93.

Neng N.R., Santalla R.P. and Nogueira J.M.F. (2014) Determination of tributyltin in environmental water matrices using stir bar sorptive extraction with in-situ derivatisation and large volume injection-gas chromatography-mass spectrometry, Talanta 126, 8-11.

Prieto A., Zuloaga O., Etxebarria N., Fernandez L.A., Marcic C. and de Diego A. (2008) Simultaneous speciation of methylmercury and butyltin species in environmental samples

by headspace-stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1185, 130-138.

Richter J., Fettig I., Philipp R. and Jakubowski N. (2015) Tributyltin - critical pollutant in whole water samples - development of traceable measurement methods for monitoring under the European Water Framework Directive (WFD) 2000/60/EC, *Environ Sci Pollut Res*. DOI: 10.1007/s11356-015-4614-4.

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.

Togola A. (2014). Etude bibliographique : potentialités et limites de la technique SBSE pour l'analyse de substances organiques dans les eaux. Action D - Amélioration des opérations d'analyses physico-chimiques. BRGM - AQUAREF, 30 p.

Van Hoeck E., Canale F., Cordero C., Compennolle S., Bicchi C. and Sandra P. (2009) Multiresidue screening of endocrine-disrupting chemicals and pharmaceuticals in aqueous samples by multi-stir bar sorptive extraction-single desorption-capillary gas chromatography/mass spectrometry, *Anal Bioanal Chem*, 393:907-919, DOI 10.1007/s00216-008-2339-7.

Vercauteren J., Peres C., Devos C., Sandra P., Vanhaecke F., and Moens L. (2001) Stir Bar Sorptive Extraction for the Determination of ppq-Level Traces of Organotin Compounds in Environmental Samples with Thermal Desorption-Capillary Gas Chromatography- ICP Mass Spectrometry, *Anal. Chem*, 73, 1509- 1515.