

## **Application de la membrane silicone pour la quantification des composés hydrophobes dissous dans les eaux de surface**

*Pesticides organochlorés, organophosphorés et autres phytosanitaires*

### **Méthode d'échantillonnage dans l'eau douce de surface**

Références de la méthode .....	2
Généralités .....	2
Protocole analytique .....	3
— Préparation, exposition et conservation des dispositifs et des échantillons .....	3
— Analyse .....	9
Contacts .....	10

## Références de la méthode

- La méthode qui suit est dérivée de(s) la publication(s) suivante(s) : /
- Code SANDRE de la méthode  
Sans objet

## Généralités

- Nom de la famille de substances

Pesticides organophosphorés  
Pesticides organochlorés  
Autres phytosanitaires

- Code SANDRE des substances

4,4'-DDT	[1148]	Endosulfan sulfate	[1742]
2,4'-DDD	[1143]	Endrine	[1181]
2,4'-DDE	[1145]	Ethion	[1183]
2,4'-DDT	[1147]	Ethoprophos	[1495]
4,4' dichlorobenzophenone	[3165]	Fénitrothion	[1187]
4,4'-DDD	[1144]	Fenthion	[1190]
4,4'-DDE	[1146]	Fipronil	[2009]
Aclonifène	[1688]	Flurochloridone	[1675]
Aldrine	[1103]	Folpel	[1192]
Alpha endosulfan	[1178]	Heptachlore	[1197]
Anthraquinone	[2013]	Heptachlore époxyde endo trans	[1749]
Bêta endosulfan	[1179]	Heptachlore époxyde exo cis	[1748]
Bifenox	[1119]	Hexachlorobenzène	[1199]
Biphényle	[1584]	Hexachlorocyclohexane alpha	[1200]
Bromophos éthyl	[1123]	Hexachlorocyclohexane bêta	[1201]
Bromophos méthyl	[1124]	Hexachlorocyclohexane delta	[1202]
Bromopropylate	[1685]	Hexachlorocyclohexane epsilon	[2046]
Cadusafos	[1863]	Hexachlorocyclohexane gamma	[1203]
Captane	[1128]	Isodrine	[1207]
Carbophenothion	[1131]	Lambda cyhalothrine	[1094]
Chlorfenvinphos	[1464]	Malathion	[1210]
Chlorfenvinphos cis	-	Méthoxychlore	[1511]
Chlorfenvinphos trans	-	Mévinphos	[1226]
Chlorpyriphos éthyl	[1083]	Oxadiazon	[1667]
Chlorpyriphos méthyl	[1540]	Parathion éthyl	[1232]
Cyperméthrine	[1140]	Parathion méthyl	[1233]
Deltaméthrine	[1149]	Pendiméthaline	[1234]
Diazinon	[1157]	Pentachlorobenzène	[1888]
Dichlorvos	[1170]	Phosalone	[1237]
Dicofol	[1172]	Piperonyl butoxide	[1709]
Dieldrine	[1173]	Propoxur	[1535]

Diflufénicanil	[1814]	Pyriméthanil	[1432]
Diméthoate	[1175]	Terbuphos	[1267]
Disulfoton	[1492]	Trifluraline	[1289]

▪ **Type de dispositif**

Membrane silicone en polydiméthylsiloxane (PDMS) de référence SSP-M823®, d'épaisseur 250 µM

▪ **Matrice analysée**

Eau [3] :

- Eau douce de surface

▪ **Principe et théorie**

La membrane silicone en PDMS est un dispositif d'échantillonnage intégratif passif de composés organiques dont le coefficient de partage octanol/eau ( $\log K_{ow}$ ) est généralement compris entre 4 et 8. Ce dispositif est utilisé dans les eaux de surface pour l'échantillonnage des composés phytosanitaires, des pesticides organochlorés et organophosphorés, des PCB.

La membrane contient des composés de référence de performance (en anglais, Performance Reference Compounds - PRC), qui sont des analogues marqués ou des substances que l'on ne retrouvera pas dans le milieu naturel.

La membrane est exposée dans le milieu (cours d'eau...) et accumule les composés organiques.

Après exposition, la membrane est extraite au dichlorométhane au laboratoire ; l'extrait est purifié par chromatographie par perméation de gel (GPC) avant analyse par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (GC/MSMS).

Le laboratoire réalise l'analyse des membranes réceptionnées et l'analyse d'une membrane non exposée (contrôle de lot ou T0), afin que le prestataire puisse ensuite exploiter les résultats avec les concentrations des PRC retrouvés dans les échantillons, au regard de la teneur initiale en PRC.

▪ **Fraction échantillonnée**

- Support d'investigation : MEMB-SIL-M823 ; code Sandre 92
- Fraction analysée : phase réceptrice de l'EIP - MEMB-SIL-M823 ; code Sandre 324

## Protocole analytique

---

### — Préparation, exposition et conservation des dispositifs et des échantillons

▪ **Conditionnement et préparation des échantillonneurs**

Il est nécessaire de manipuler les membranes avec des gants, sur une pailleasse propre en verre ou recouverte d'une feuille d'aluminium.

## | Préparation et conservation avant exposition

Le laboratoire conserve les membranes neuves selon les recommandations du fournisseur jusqu'à leur envoi au client pour leur exposition dans le milieu.

Identifier les lots de membranes afin de conserver au laboratoire à minima 2 membranes par lot, pour réaliser le contrôle de lot/ T0, qui sert également de blanc de laboratoire, et un contrôle du protocole par dopage sur la membrane (voir ci-après).

## | PRC utilisé(s)

PRC	Code SANDRE
2-Chlorobiphenyl (CB1)	-
3-Chlorobiphenyl (CB2)	-
4-Chlorobiphenyl (CB3)	-
2,6-Dichlorobiphenyl (CB10)	[8529]
3,5-Dichlorobiphenyl (CB14)	[8552]
2,2',4,6-Tetrachlorobiphenyl (CB50)	-
2,3,4-Trichlorobiphenyl (CB21)	-
2,2',4,6,6'-Pentachlorobiphenyl (CB104)	[8550]
2,2',3,4,6,6'-Hexachlorobiphenyl (CB145)	[8553]
3,3',4,5-Tetrachlorobiphenyl (CB78)	[8557]
Acénaphène d10	-
Fluorène d10	-
Phénanthrène d10	-
D10-Fluoranthene	-
Chrysène d12	-
D12-Benzo(a)pyrène	-

### ■ Exposition des échantillonneurs

Consulter le rapport Aquaref suivant pour l'exposition des membranes dans le milieu et les conditions à respecter :

« **Opérations d'échantillonnage par échantillonneurs intégratifs passifs en cours d'eau et eau littorale dans le cadre des programmes de surveillance DCE – Edition 2021** »

[http://www.aquaref.fr/system/files/2021-Guide\\_EIP\\_echantillonnage-VF.pdf](http://www.aquaref.fr/system/files/2021-Guide_EIP_echantillonnage-VF.pdf)

L'ensemble des informations concernant l'échantillonnage intégratif passif est disponibles sur le site Aquaref :

[EIP - Echantillonnage Intégratif Passif | AQUAREF - Laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques](#)

## | Précautions particulières

Après exposition et avant l'envoi au laboratoire, bien nettoyer la membrane avec un papier adsorbant humidifié avec de l'eau sur le terrain, en cas de présence de biofilm ou résidus.

## ■ Récupération et élution / dialyse de la phase réceptrice

En amont, préparer les solutions étalons nécessaires :

- Solution d'étalons de PRC :

Réaliser une solution dans l'acétone à 10 mg/L pour chaque PRC.

- Solution d'étalons pour l'extraction :

Réaliser une solution avec les étalons internes d'extraction (Atrazine-d5, Biphenyl-d10, Diazinon-d10, Oxadiazon methyl-d3) à 2 mg/L chacun dans l'hexane.

- Solution d'étalon de purification :

Réaliser une solution de transnonachlor à 10 mg/L dans le dichlorométhane.

Tous les solvants utilisés sont de qualité pour analyse de résidus.

L'eau est de qualité HPLC.

### | Récupération

A réception au laboratoire, les membranes exposées peuvent être stockées au congélateur (-20 ± 4°C) jusqu'à leur traitement, si besoin. Une durée de stockage de 4 mois peut être appliquée.

Si cela n'a pas été fait sur le terrain avant l'envoi au laboratoire, bien nettoyer la membrane avec un papier adsorbant humidifié avec de l'eau, en cas de présence de biofilm ou résidus. Si la membrane doit être congelée, ce nettoyage doit être fait avant la mise au congélateur.

### | Extraction

Il est nécessaire de manipuler les membranes avec des gants, sur une pailasse propre en verre ou recouverte d'une feuille d'aluminium.

Extraction de la membrane :

Enrouler avec précaution la membrane sur elle-même et la déposer dans un flacon en verre de 250 mL à col large ambré.

Ajouter 100 µL de la solution d'étalons pour l'extraction directement sur la membrane.

Ajouter directement au moins 100 mL de dichlorométhane de façon à ce que la membrane soit recouverte. Bien veiller à ce que la membrane soit recouverte car elle se déplie et flotte. Fermer le flacon.

Laisser en contact pendant 1 nuit à température ambiante (pas d'agitation).

Collecter le dichlorométhane dans un flacon (biberon) pour turbovap®, en versant doucement pour ne pas verser la membrane ou obturer le col du flacon.

Ajouter 100 mL de dichlorométhane dans le flacon contenant la membrane et recommencer la mise en contact pour une durée de 4h.

Récupérer le dichlorométhane et l'ajouter à la première fraction.

Evaporer le dichlorométhane jusqu'à 0,5 mL, au turbovap à 30°C.

Transférer l'extrait dans un flacon en verre de 10 mL. Rincer le biberon au dichlorométhane, avec 1 mL puis 1,5 mL et réunir ces volumes dans le flacon de 10 mL.

Procéder à l'étape de purification de l'extrait.

Sécher la membrane sous hotte sur une feuille de papier aluminium pour éliminer les traces de dichlorométhane et la peser pour reporter cette masse avec les résultats (la masse initiale de la membrane est de 10 g environ).

## | Purification

### **Purification de l'extrait :**

La purification est réalisée par chromatographie par perméation de gel.

### Matériel :

- Chromatographe à perméation sur gel (Gilson) composé d'une pompe (322) et équipé d'une colonne poreuse thermostatée à l'aide d'un four.
- Détecteur UV, visible (Gilson DAD 171)
- Passeur d'échantillon (Gilson GXS-271) avec collecteur de fraction et pompe (402).
- Colonne Waters Envirogel 19x150 mm (WAT 036555) et 19x300 mm (WAT036554) en série.
- Précolonne Waters Envirogel 4,6x30 mm (WAT 186001913).

### Conditions :

Phase mobile : dichlorométhane à 4 mL/min

Température du four : 30°C

Volume d'injection : 1 mL

### Collecte :

La méthode collecte au total 96 mL de dichlorométhane :

fraction n°1 = collecte du silicone de 0 à 16 min (64 mL),

fraction n°2 = collecte des composés de 16 à 24 min (32 mL).

### EN DEBUT DE MANIPULATION, évaluer le temps de collecte des fractions pour séparer le silicone :

Il s'agit de déterminer le temps de chromatographie dans le GPC permettant d'obtenir une première fraction contenant le silicone qui ne sera pas conservée, et une seconde fraction qui contient les composés d'intérêt à analyser.

Pour cela :

- injecter sur le chromatographe GPC un point étalon des composés à analyser (correspondant à la gamme étalon pour la méthode d'analyse GC/MSMS du laboratoire), à 200 µg/L dans le dichlorométhane,
- réaliser une collecte de fractions toutes les minutes,
- analyser les fractions en GC/MSMS pour évaluer la quantité de composés récupérés dans les différents extraits collectés. Commencer par analyser les dernières fractions avec les composés d'intérêt afin de limiter l'encrassement de l'appareil d'analyse. Ne pas analyser les fractions contenant la silicone au risque de polluer le système analytique

Avec la méthode décrite ici la séparation de fraction a lieu à environ 16 minutes.

Cette étape n'est plus à faire tant que le système GPC est utilisé dans les mêmes conditions. En cas d'arrêt ou de changement de conditions d'élution, il sera nécessaire de recalibrer cette séparation de fractions.

**Purification des échantillons :**

- Mettre 1,386 mL de l'échantillon (prélevé dans l'extrait d'échantillon de 3 mL) et 14 µL de la solution d'étalon de purification (transnonachlor) dans un tube à centrifuger.
- Centrifuger à 5000 rpm pendant 1 minute.
- Prélever le surnageant et le placer dans un tube d'échantillon pour GPC. Boucher le tube pour limiter l'évaporation de l'extrait.
- Mettre le tube d'échantillon sur le passeur du GPC ainsi que 2 flacons de collecte identifiés, pour récupérer les fractions 1 (silicone) et 2 (composés d'intérêts i.e. les contaminants ciblés, les PRC, et les étalons d'extraction et de purification) de l'échantillon après la séparation par les colonnes GPC.
- Evaporer le tube de collecte de la fraction n°2 à 30°C jusqu'à 0,5 mL, sous azote, au turbovap®.
  
- Si besoin, selon la méthode d'analyse du laboratoire, procéder à un changement de solvant en ajoutant 5 mL du solvant d'injection et en évaporant à nouveau jusqu'à 0,5 mL.
  
- Transférer en vial d'analyse.
- Ajouter les étalons internes d'injection des méthodes d'analyse GC/MSMS propres au laboratoire (non décrites ici). Le vial est prêt à être injecté en GC/MSMS.

Remarques :

- Le tube de collecte Fraction 1 contenant le silicone peut être conservé au congélateur, en cas d'anomalie lors de la purification, afin de vérifier si besoin l'absence des composés d'intérêts (refaire une séparation des fractions pas GPC).
- En raison du dichlorométhane, il est nécessaire de purger les pompes et le diluteur du GPC à l'isopropanol à chaque fin de série de purification.
- Les colonnes de purification Envirogel ne doivent pas être exposées à l'isopropanol ni à l'air. Elles doivent être stockées dans le dichlorométhane.

**| Autres**

Les contrôles dans la série d'analyse sont les suivants :

**Vérification du système de purification :**

Chaque série de purification en GPC est contrôlée avec une solution contenant les PRC, les composés recherchés et les étalons d'extraction et de purification, préparée dans le dichlorométhane selon le tableau suivant. Cette solution suit les mêmes conditions de purification que les échantillons.

<b>Composés</b>	<b>Concentration (mg/L)</b>
2-Chlorobiphenyl (CB1)	0,25
3-Chlorobiphenyl (CB2)	0,25
4-Chlorobiphenyl (CB3)	0,25
2,6-Dichlorobiphenyl (CB10)	0,25
3,5-Dichlorobiphenyl (CB14)	0,25
2,2',4,6-Tetrachlorobiphenyl (CB50)	0,25
2,3,4-Trichlorobiphenyl (CB21)	0,25
2,2',4,6,6'-Pentachlorobiphenyl (CB104)	0,25
2,2',3,4,6,6'-Hexachlorobiphenyl (CB145)	0,25

Composés	Concentration (mg/L)
3,3',4,5-Tetrachlorobiphenyl (CB78)	0,25
Acénaphthène d10	2,5
Fluorène d10	2,5
Phénanthrène d10	2,5
D10-Fluoranthene	2,5
Chrysène d12	0,5
D12-Benzo(a)pyrène	0,5
Composés organophosphorés	0,5
Composés organochlorés	0,5
Phytosanitaires	0,5
Transnonachlor	10
Etalons d'extraction : Atrazine-d5, Biphenyl-d10, Diazinon-d10, Oxadiazon methyl-d3	2

**Contrôle de la méthode :**

Chaque série d'extraction est contrôlée en dopant une membrane neuve du lot correspondant à celui des échantillons, avec une solution contenant les composés recherchés et les étalons d'extraction et de purification, qui suit l'ensemble du protocole. Elle est préparée dans le dichlorométhane selon le tableau suivant.

Composés	Concentration (mg/L)
Composés organophosphorés	0,5
Composés organochlorés	0,5
Phytosanitaires	0,5
Transnonachlor	10
Etalons d'extraction : Atrazine-d5, Biphenyl-d10, Diazinon-d10, Oxadiazon methyl-d3	2

**Contrôle de lot/T0 :**

Une membrane neuve doit être analysée afin de déterminer les concentrations des PRC dans les mêmes conditions que les échantillons. Les concentrations de PRC dans le contrôle de lot seront transmises avec celles mesurées dans les échantillons, car ils constituent la valeur initiale des PRC avant exposition des membranes dans le milieu.

Les contrôles dans chaque échantillon sont les suivants :

**Etalons d'extraction :**

Le suivi de la récupération de l'atrazine-d5, diazinon-d10, biphenyl-d10 et oxadiazon méthyle-d3 permet de vérifier le protocole complet du laboratoire. Les critères sont à définir par le laboratoire lors de la mise en place et validation de sa méthode.

**Etalon de purification :**

Le suivi de la récupération du transnonachlor permet de vérifier l'étape de purification en GPC. Les critères sont à définir par le laboratoire lors de la mise en place et validation de sa méthode.

## — Analyse

### ■ Technique analytique utilisée

En raison de la purification GPC de l'extrait, la technique d'analyse utilisée correspond à la méthode habituelle/classique du laboratoire pour les composés recherchés. Les méthodes d'analyse ne sont donc pas décrites dans ce document.

### ■ Correction par les rendements

Il n'y a pas de correction de rendement pour les composés à analyser. Le laboratoire utilise les contrôles internes (les traceurs de l'étape d'extraction des membranes, et ceux de l'étape de purification des extraits) avec ses propres critères, pour valider ses résultats.

L'exploitation des résultats est faite par le client du laboratoire, à partir des concentrations des PRC dans les échantillons et dans la membrane non exposée.

### ■ Effets de matrice

Aucun effet matrice caractéristique n'a été observé.

### ■ Dilution(s)

Si nécessaire (concentrations hors gamme d'étalonnage), l'extrait peut être dilué avant réanalyse, en veillant à quantifier correctement les PRC et les étalons internes.

## | Autres

### Rendu du résultat :

Après détermination de la concentration de chaque composé (les composés à rechercher et les PRC) dans l'extrait de l'échantillon, la masse de chaque composé est calculée en ng :

$$M = C \times V$$

Avec :

- M : masse du composé en ng.
- C : concentration dans l'extrait en ng/mL
- V : volume de l'extrait pour analyse en mL

Pour chaque échantillon, le résultat des composés à rechercher et des PRC est donc exprimé en ng par outil.

La masse de la membrane sèche de chaque échantillon est exprimée en g et transmise dans le fichier de résultats.

Se référer également à l'outil pour le calcul des concentrations des substances dans l'eau à partir des quantités fixées sur EIP disponible sur le site Aquaref :

[EIP - Echantillonnage Intégratif Passif | AQUAREF - Laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques](#)

## Contacts

---

- **Auteurs**  
Anne TOGOLA (BRGM)
  
- **Contact**  
[a.togola@brgm.fr](mailto:a.togola@brgm.fr)
  
- **Partenaire(s)**  
Ian ALLAN (Ifremer - NIVA)