

ANALYSE DES POLYBROMODIPHENYLEETHERS (PBDE) DANS LES EAUX DE SURFACE BRUTES PAR EXTRACTION PAR BARREAU AIMANTE ABSORBANT (SBSE)

I-A-02 action 5a

Claudine Chatellier et Francois Lestremau
Janvier 2013

Programme scientifique et technique
Année 2012

Document final

Contexte de programmation et de réalisation

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

Auteur (s) : Claudine Chatellier et François Lestremau

Claudine Chatellier

INERIS

Email : claudine.chatellier@ineris.fr

François Lestremau

INERIS

Email : francois.lestremau@ineris.fr

Vérification du document :

Béatrice Lalère

LNE

Beatrice.lalere@lne.fr

Les correspondants

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

Etablissement : François Lestremau, INERIS, francois.lestremau@ineris.fr

Référence du document : François LESTREMAU - Analyse des polybromodiphényléthers (PBDE) dans les eaux de surface brutes par extraction par barreau aimanté absorbant (SBSE) - Rapport AQUAREF 2012 - 73 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. GLOSSAIRE.....	13
2. INTRODUCTION	13
3. MATERIELS ET METHODES.....	16
4. RESULTATS	17
4.1 Optimisation de l'analyse des PBDE par SBSE	17
4.1.1 Etat de l'art	17
4.1.2 Choix du format de SBSE.....	17
4.1.3 Cinétique d'absorption et volumes d'échantillon	18
4.1.4 Analyse du BDE 209	19
4.2 Performances analytiques dans la fraction dissoute.....	20
4.2.1 Vérification de l'étalonnage par injection liquide.....	20
4.2.2 Evaluation de la méthode dans l'eau d'EVIAN®.	20
4.2.3 Evaluation de la méthode dans l'eau de l'Oise.....	24
4.3 Performances analytiques dans l'eau brute.....	25
5. CONCLUSION.....	29
6. REFERENCES	31
7. LISTE DES ANNEXES	33
Tableau 1. Estimation des limites de quantification pour 20 mL et 100 mL d'échantillon (en ng/L) .	21
Tableau 2. Rendement de l'extraction par SBSE selon le volume d'échantillon avec des dopages entre 2 et 200 pg	23
Tableau 3. Analyse de l'eau de l'Oise (non dopée) par SBSE (n=3).....	24
Tableau 4. Analyse de l'eau de l'Oise dopée à 10 ng/L par SBSE (n=3)	25
Tableau 5. Détermination des rendements en conditions de fidélité intermédiaire pour une concentration correspondant à 20 % de la gamme de linéarité (n=12).....	27
Tableau 6 Détermination des rendements en conditions de fidélité intermédiaire pour une concentration correspondant à 80 % de la gamme de linéarité (n=12).....	27
Tableau 7 Détermination des concentrations obtenues en conditions de fidélité intermédiaire pour de l'eau de l'Oise non dopée (n=12)	28
Figure 1. Montage d'une unité de thermodésorption/chromatographe en phase gazeuse/ spectromètre de masse (Source photo Gerstel®)	16
Figure 2. Cinétique de sorption de 10 ng/L par BDE avec 20 mL d'eau d'Evian®	18
Figure 3 Cinétique de sorption de 10 ng/L par BDE avec 100 mL d'eau d'Evian®	19
Figure 4 Domaine de linéarité pour le BDE 209 avec 100 mL d'échantillon.....	22
Figure 5. Schéma explicatif de la démarche d'analyse des eaux brutes par SBSE	25
Figure 6 Rendements de récupération obtenus avec 3 différentes méthodes d'extraction avec le méthanol (dopage avec 10 ng/L pour tous les BDE sauf le BDE 209 à 100ng/L).....	26

Liste des annexes :

Annexe 1 : Conditions expérimentales utilisées pour l'analyse des PBDE

Annexe 2 : Chromatogramme sur nouvel insert droit par rapport au chromatogramme sur ancien insert (avec restriction et laine de quartz)

Annexe 3 : Exemple de domaine de linéarité des PBDE -Injection liquide

Annexe 4 : Exemple de domaine de linéarité des PBDE avec extraction SBSE sur 20 ml d'eau d'Evian

Annexe 5 : Exemple de domaine de linéarité des PBDE avec extraction SBSE sur 100 ml d'eau d'Evian

Annexe 6 : Rendement de l'extraction par SBSE avec 20mL d'échantillon. Quantité trouvée / Quantité à extraire

Annexe 7 : Rendement de l'extraction par SBSE avec 100mL d'échantillon. Quantité trouvée / Quantité à extraire

Annexe 8 : Exemple de différences de l'état des SBSE après usage

Annexe 9 : Conditions d'extraction des filtres par vortex et PFE

RESUME

L'extraction par barreau aimanté absorbant (Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)), a été évaluée pour l'analyse des polybromodiphényléthers (PBDE) dans les eaux de surface brutes.

Les (PBDE) ont été classés comme substances prioritaires par la Directive Cadre Eau (DCE). La NQE (Norme de Qualité Environnementale) dans l'eau pour ces composés est extrêmement basse, à 0,5 ng/L pour la somme des 6 PBDE identifiés par la DCE (BDE 28, 47, 99, 100, 153 et 154).

Ainsi, des méthodes d'analyse des PBDE dans les eaux brutes à un niveau de traces doivent être développées. Dans ce cadre, cette étude a évalué l'utilisation de la technique d'extraction par SBSE et analyse par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse pour atteindre ce niveau de concentration.

Cette technique, basée sur un barreau aimanté recouvert d'une couche polymérique constituée de polydiméthylsiloxane (PDMS), permet d'extraire et de pré-concentrer les composés cibles d'un échantillon aqueux. Les composés piégés sont ensuite thermodésorbés dans le système analytique. L'association de ces deux étapes permet d'atteindre des limites de quantification extrêmement basses.

Des études d'optimisation ont d'abord été mises en œuvre sur une matrice d'eau de source. Des barreaux de dimensions de 0,5*20 mm ont été choisis afin de minimiser les risques d'effets de mémoire. Des cinétiques d'absorption ont permis de déterminer que le temps d'extraction optimal est de 8 H pour un échantillon de 20 mL et d'au moins 14 H pour un échantillon de 100 mL.

Les tests sur 20 mL d'échantillon ont permis d'obtenir des limites de quantification de l'ordre de 0,1 ng/L pour la majorité des composés testés. Des limites de quantification 5 fois inférieures (0,02 ng/L) ont été atteintes sur des échantillons de 100 mL. Des gammes de linéarité ont été obtenues dans tous les cas dans les plages de concentration testées (jusqu'à 30 ng/L pour 20 et 100 mL d'échantillon).

Le BDE 209, dont l'analyse par SBSE n'avait pas été rapportée dans la littérature, a pu être analysé grâce à l'utilisation d'un liner droit. En utilisant 100 mL d'échantillon, il est possible de réaliser la quantification de ce composé sur une gamme comprise entre 0,5 et 100 ng/L.

L'analyse des PBDE dans l'eau brute a été effectuée en filtrant dans un premier temps l'échantillon. Les filtres ayant collecté la fraction particulaire ont été extraits par du méthanol par extraction par fluide chaud pressurisé. Cet extrait dans le méthanol est ajouté à la fraction dissoute de l'échantillon filtré. L'extraction par SBSE est alors appliquée à cette solution.

Par cette approche, les tests en fidélité intermédiaire ont permis d'obtenir des rendements compris entre 82 et 133% pour tous les BDE testés à des concentrations de 4 et 16 ng/L avec des coefficients de variations inférieurs à 20% dans tous les cas. En termes de sensibilité, les critères fixés par la DCE pour la mesure des PBDE semblent atteignables dans la matrice eau naturelle.

Récapitulatif des caractéristiques de la méthode proposée et comparaison par rapport aux autres méthodes de référence

	Limite de quantification	Volume échantillon	Mise en oeuvre	Temps opérateur	Possible limitation de la méthode
Méthode proposée Eau filtrée	BDE 28-183 0.02 ng/L BDE 209 0.2 ng/L	100 mL	SBSE		
Méthode proposée Eau brute	Même ordre qu'eau filtrée	100 mL	Extraction PFE MES + SBSE		
MA-04	BDE 28-183 1 ng/L BDE 209 10 ng/L	1000 mL	Extraction ELL		LQ>>NQE

Mots clés (thématique et géographique) :

SBSE, PBDE, eau de surface brute

ABSTRACTS

Stir bar sorptive extraction (SBSE) has been evaluated for the analysis of polybromodiphenylethers (PBDE) in whole surface water.

PBDE have been included as priority substances by the water framework directive (WFD). The EQS (Environmental quality standards) for these compounds in water is extremely low, at 0.5 ng/L for the sum of the 6 BDE (BDE 28, 47, 99, 100, 153, 154).

Therefore, analytical methods for PBDE in whole water at traces level must be developed. In this frame, this study has evaluated the use of SBSE and analysis by gas chromatography/mass spectrometer to reach such required level.

This technique, based on a stir bar covered by a polymeric layer of the absorbant polydimethylsiloxane (PDMS), can pre-concentrate target compounds from a water sample. The extracted compounds are then thermo-desorbed in the analytical system which allows to obtain very low quantification limits.

Optimisation of the method was preliminary carried out with a spring water. Stir bars of 0.5*20 mm were selected to minimize carry over. Sorption kinetics were determined and an equilibrium time of 8 H was obtained for a 20 mL sample and at least 14 H for a 100 mL sample.

Limits of quantification ca. 0.1 ng/L were obtained with 20 mL sample. For 100 mL sample, limit of quantification 5 times lower (0.02 ng/L) were observed. A linear fit was observed in all cases within tested ranges (up to 30 ng/L for 20 and 100 mL of sample).

BDE 209, which analysis by SBSE has not been previously reported in literature, could be determined with a straight liner. By using 100 mL of sample, it is possible to carry out quantification of this compound in a range between 0.5 and 100 ng/L.

The analysis of PBDE in whole water has been carried out by filtering in first instance the sample. The filters which collected the particular matter were extracted by methanol and pressurized fluid extraction. This extract in methanol was added to the dissolved fraction of the filtered sample. The extraction by SBSE was then applied to this solution.

Using this approach, criteria established by WFD for measurement of PBDE appeared reachable for a natural water matrix.

Summary of the characteristics of the proposed method and comparison with reference methods :

	Quantification limit	Sample volume	Technique	Operating time	Possible limitation of the method
Proposed method Filtered water	BDE 28-183 0.02 ng/L BDE 209 0.2 ng/L	100 mL	SBSE		
Proposed method Whole water	Same range as filtered water	100 mL	Extraction PFE suspended matter + SBSE		
MA-04	BDE 28-183 1 ng/L BDE 209 10 ng/L	1000 mL	Extraction LLE		LOQ>>EQS

Key words (thematic and geographical area) :

SBSE, PBDE, whole surface water

PRÉAMBULE

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

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

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

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

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

	Rédaction	Vérification	Approbation
NOM	François LESTREMAU	Marie-Pierre STRUB	Nicolas ALSAC
Qualité	Ingénieur à l'Unité « Innovation pour la Mesure » Direction des Risques Chroniques	Ingénieur au Pôle « Caractérisation de l'Environnement » Direction des Risques Chroniques	Responsable de Pôle « Caractérisation de l'Environnement » Direction des Risques Chroniques
Visa			

1. GLOSSAIRE

ACN	Acétonitrile,
BDE	Bromodiphényléthers,
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse,
PBDE	Polybromodiphényléthers,
PFE	Extraction par solvant pressurisé (Pressurized Fluid Extraction),
PDMS	Polydiméthylsiloxane,
PTV	Injecteur à programmation de température,
SPE	Extraction sur phase solide (Solid Phase Extraction),
SBSE	Extraction par barreau aimanté absorbant (Stir Bar Sorptive Extraction).

2. INTRODUCTION

Les polydibromodiphényléthers (PBDE)

Les polybromodiphényléthers (PBDE) ont été classés comme substances prioritaires par la Directive Cadre Eau [1]. En théorie, 209 congénères sont possibles mais ils ont été majoritairement produits sous la forme de 3 mélanges contenant les penta, octa et deca BDE. Leur usage s'est progressivement réduit depuis 2004 suite à l'interdiction des penta et octa BDE et de la directive RoSH [2]. Etant des molécules persistantes, ils sont encore retrouvés dans les milieux naturels et particulièrement toxiques à de très faibles teneurs.

La NQE (Norme de Qualité Environnementale) dans l'eau pour ces composés est ainsi extrêmement basse, à 0,5 ng/L pour la somme des 6 PBDE identifiés (BDE 28, 47, 99, 100, 153 et 154) par la DCE (soit 0,083 ng/L individuellement, dans l'hypothèse d'une répartition homogène des différents congénères).

Ce sont des composés hydrophobes dont le coefficient de partage eau-octanol ($\log K_{ow}$) se situe entre 5 et 9. Dans les milieux aquatiques, ils sont être principalement présents dans les compartiments les plus hydrophobes: les sédiments, les matières en suspension pour les eaux brutes ou encore le biote. Ainsi, des méthodes d'analyse des PBDE dans les eaux brutes à des concentrations faibles doivent être développées.

Les méthodes développées jusqu'à maintenant, par GC/MS/NCI (fiche méthode MA-04 [3]) ou par GC/MS/MS (fiche méthode MA-40 [4]), ne permettent pas d'atteindre les niveaux de quantification fixés par la DCE. Ainsi, des méthodes alternatives d'analyses doivent être évaluées afin de pouvoir répondre aux exigences fixées.

L'Extraction par barreau aimanté absorbant (SBSE)

L'extraction par barreau aimanté absorbant (Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)), commercialisé sous le nom de Twister® par la société Gerstel, est une technique analytique qui consiste à utiliser un barreau aimanté recouvert d'une couche polymérique constituée de polydiméthylsiloxane (PDMS). Cette technique est principalement utilisée pour l'analyse de micropolluants organiques dans les échantillons aqueux.

Son mode d'utilisation consiste à le plonger dans l'échantillon. Le PDMS, polymère amorphe se présentant sous forme de gel, se comporte comme un liquide organique. Les extractions se produisent ainsi par un mécanisme d'absorption ce qui permet de limiter les phénomènes de compétition de sorption.

Le barreau aimanté produit une agitation qui favorise ainsi le transfert de masse et l'extraction des molécules cibles vers le PDMS. A la fin de l'échantillonnage, les composés piégés par le SBSE sont thermodésorbés dans un matériel spécifique et analysés par chromatographie en phase gazeuse.

Intérêt du potentiel de la SBSE par rapport aux techniques classiques

Cette technique permet de préconcentrer les analytes dans le SBSE et de les injecter en totalité directement dans le système analytique. Ainsi, des limites de quantification extrêmement basses peuvent être obtenues. Cela est particulièrement avantageux en comparaison des techniques d'extraction traditionnelles où les analytes sont extraits de l'échantillon en solvant puis ce dernier concentré à un volume généralement égal à 1 mL, pour injecter 1 µL dans le système analytique. Ainsi, dans ces conditions, seulement 1/1000 de ce qui était contenu dans l'échantillon va atteindre le détecteur. L'injection de plus gros volumes est possible mais cela implique également qu'une partie de la matrice extraite avec les analytes va aussi être injectée en plus grande quantité. Ainsi, l'encrassement du système analytique sera plus rapide. Des méthodes de purification doivent être dans ce cas mises en œuvre, rallongeant et complexifiant le protocole analytique.

La SBSE combine à la fois cette étape de préconcentration d'échantillon et de purification. Seuls les composés hydrophobes sont extraits ce qui limite les effets d'encrassement du matériel analytique. Pour les composés les plus hydrophobes comme les PBDE une grande partie des analytes présents dans l'échantillon sont extraits (de 5 % à 100 % de chacun des analytes selon leur affinité pour la phase PDMS) puis thermodésorbés vers le système analytique. Par rapport aux injections d'extrait liquides, les limites de quantification sont grandement améliorées car une plus grande quantité d'analyte présent dans l'échantillon est détecté (de 5 à 100% contre 0.1% (1/1000) en injection d'extrait liquide).

Par rapport à la micro-extraction sur phase solide (SPME) qui utilise également du PDMS, le plus grand volume de la phase extractante (100 µl pour le SBSE contre 0.5 µL pour la SPME) permet d'obtenir de meilleures sensibilités.

Pour l'échantillonnage, différents paramètres (cinétique de l'extraction, teneur en sel, teneur en solvant,...) peuvent influencer la capacité extractante du polymère et doivent ainsi être optimisés.

Théorie du SBSE

Le processus d'extraction est basé sur un équilibre qui s'établit entre la phase stationnaire (PDMS) et l'échantillon aqueux.

En considérant un modèle du premier ordre, la relation suivante s'établit :

$$C_{PDMS}(t) = C_{w,0} * \frac{k_1}{k_2} * (1 - e^{-k_2 * t}) \quad (\text{Eq. 1})$$

Avec :

$C_{PDMS}(t)$ concentration de l'analyte dans le SBSE en fonction du temps, t.

$C_{w,0}$ concentration initiale de l'analyte dans l'échantillon aqueux

k_1 et k_2 respectivement constantes d'absorption et d'élimination.

Lorsque l'équilibre chimique est atteint, on obtient :

$$m_{w,0} = m_{PDMS} + m_w$$

$$K_{PDMS,w} = \frac{C_{PDMS}}{C_w} = \frac{m_{PDMS}}{m_w} * \frac{V_w}{V_{PDMS}} = \frac{m_{PDMS}}{m_w} * \beta \quad (\text{Eq. 2})$$

Avec :

$m_{w,0}$: masse d'analyte présente dans l'échantillon initialement puis distribuée entre le PDMS (m_{PDMS}) et l'eau (m_w).

m_{pdms} : masse d'analyte présent dans la phase PDMS

m_w : masse d'analyte présent dans l'échantillon d'eau

$K_{PDMS,w}$: Coefficient de partition pour un analyte entre la phase PDMS et l'eau

C_{PDMS} : Concentration de l'analyte dans la phase PDMS

C_w : Concentration de l'analyte dans l'eau

V_w : Volume d'eau

V_{PDMS} : Volume de la phase PDMS

Le coefficient de partition $K_{PDMS,w}$ peut être également défini comme étant le rapport entre la concentration de l'analyte dans le PDMS (C_{PDMS}) et la phase aqueuse (C_w). Cette partition dépend directement du ratio du volume de l'échantillon à celui de la phase stationnaire:

$$\beta = V_w/V_{PDMS} \quad (\text{Eq. 3}).$$

Plus le volume de PDMS est important, plus l'extraction sera importante.

Le rendement d'extraction peut être ainsi défini selon :

$$R = \frac{m_{PDMS}}{m_{w,0}} = \frac{K_{PDMS,w}}{K_{PDMS,w} + \beta} \quad (\text{Eq. 4})$$

En conclusion, l'extraction par SBSE est un processus d'absorption basé sur un équilibre entre la phase PDMS et l'échantillon aqueux et qui est principalement dépendant des propriétés des analytes étudiés ainsi que des volumes utilisés.

La SBSE et les PBDE

Quelques publications font mention de l'analyse des PBDE par la SBSE dans les eaux [5-9]. Ces publications font référence à l'analyse des PBDE seulement dans la fraction dissoute. Ces analyses ne prennent donc pas en compte la présence potentielle des PBDE sur les matières en suspension, fraction dans laquelle ils sont pourtant susceptibles d'être les plus présents.

Cette étude se propose d'évaluer l'apport de l'extraction SBSE pour la détermination des PBDE dans l'eau brute à des concentrations par BDE de l'ordre de 0.02 ng/L (correspondant avec une répartition homogène des 6 BDE à NQE/3). Certains paramètres essentiels de l'extraction par SBSE ont été évalués (dimensions du barreau, cinétique d'absorption, volume d'échantillon,...).

Les 6 BDE considérés par la DCE ont été étudiés, auxquels nous avons ajouté les BDE 183 et 209 car ils peuvent également être couramment retrouvés dans l'environnement. Des tests dans la fraction dissoute ont été d'abord effectués afin d'évaluer les limites de quantifications accessibles.

Ainsi, afin de pouvoir prendre en compte la fraction piégée sur les matières en suspensions, des essais dans l'eau brute ont été réalisés. Les échantillons d'eau brute sont filtrés et la fraction dissoute est conservée. Le filtre contenant les matières en suspension est extrait par extraction solide/liquide. Les extraits du filtre et la partie filtrée sont réunis et la SBSE appliquée sur cette solution.

3. MATERIELS ET METHODES

Les BDE 28, 47, 99, 100, 153, 154, 183 et 209 ont été étudiés. Les concentrations ont été calculées par rapport aux étalons internes BDE 77, 140 et ¹³C-BDE 209.

Les analyses ont été effectuées par chromatographie gazeuse (GC) couplée à la spectrométrie de masse (MS) en mode d'ionisation chimique négative. Ce mode d'ionisation est celui qui permet d'obtenir les meilleures performances pour l'analyse des PBDE par MS.

Les conditions analytiques détaillées (préparations des échantillons, conditions chromatographiques et spectrométriques) sont décrites en annexe 1.

Pour les analyses par thermodésorption des SBSE, un équipement spécifique est nécessaire. L'unité de thermodésorption est ainsi connectée au dessus de l'injecteur du GC (figure 1). Les SBSE à analyser sont placés dans des tubes en verre. Lors de l'analyse, ces tubes sont ainsi insérés dans le thermodésorbeur. Sous l'effet de la chaleur, les composés piégés sont libérés du PDMS et entraînés par le gaz vecteur (de l'hélium). Durant la phase de désorption, ces composés sont ensuite focalisés dans l'injecteur GC qui est maintenu à une température basse. A la fin de cette phase, un gradient de température en mode flash est alors appliqué à l'injecteur GC pour transférer les analytes en tête de colonne chromatographique.

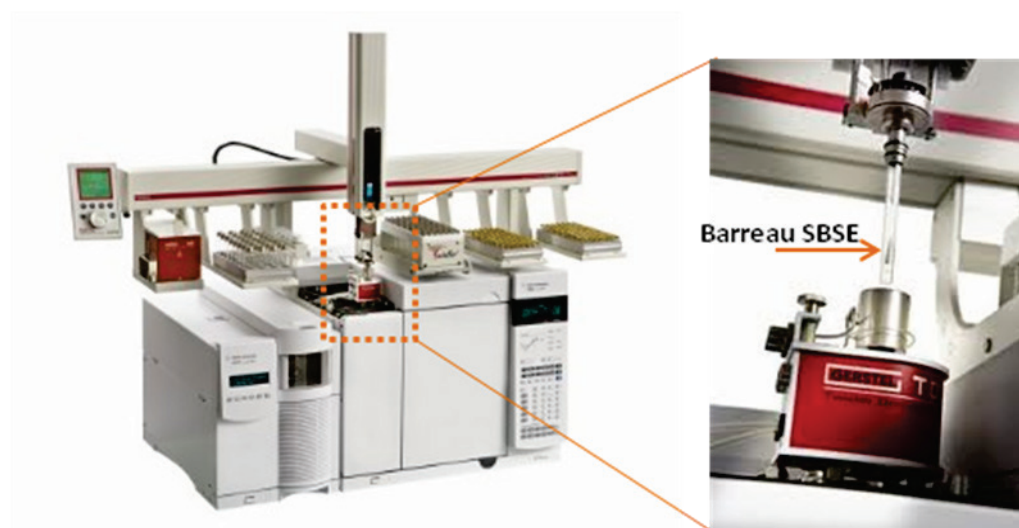


Figure 1. Montage d'une unité de thermodésorption/chromatographe en phase gazeuse/ spectromètre de masse (Source photo Gerstel®)

4. RESULTATS

4.1 OPTIMISATION DE L'ANALYSE DES PBDE PAR SBSE

4.1.1 ETAT DE L'ART

Quelques travaux ont été consacrés à l'analyse des PBDE par la SBSE dans les eaux. Une étude [8] a particulièrement considéré les différents paramètres pouvant affecter l'extraction des PBDE par SBSE.

Ainsi, dans ces travaux, les paramètres de désorption ont été étudiés notamment le temps de désorption (entre 5 et 10 min), la température de désorption (250-300 °C) le débit de gaz lors de la désorption (50-100 mL/min) et la température de cryo-focalisation ou focalisation par cryogénie dans l'injecteur à programmation de température (-130 à 40 °C).

Les valeurs optimales ont été reprises pour ce travail et s'établissent ainsi :

- Temps de désorption : 10 min
- Température de désorption : 300 °C
- Débit de désorption : 50 mL/min

La température de cryo-focalisation ou focalisation par cryogénie optimale a été établie à 30 °C : les PBDE étant peu volatils, cette température n'entraîne pas de perte, il n'est donc pas nécessaire d'utiliser une température plus basse.

L'ajout de sel a été considéré dans cette publication [8]. Le sel est principalement ajouté pour réduire la solubilité de certains composés dans la phase aqueuse et favoriser ainsi le passage vers la phase hydrophobe (PDMS). Cette publication n'a pas déterminé d'amélioration significative de l'extraction des PBDE par ajout de sel, nous ne l'avons donc pas utilisé pour cette étude.

La température lors de l'extraction par SBSE dans les échantillons aqueux doit être maintenue suffisamment basse afin de ne pas déplacer l'équilibre vers la désorption mais elle doit être également constante pour ne pas créer de variations dans l'extraction des analytes. Ainsi tous les essais ont été effectués à 30 °C dans une enceinte thermostatée.

La vitesse d'agitation du barreau a été maintenue à 300 tr/min pendant les extractions.

L'addition de méthanol a un effet positif sur l'extraction des PBDE de l'échantillon aqueux [8]. De 20 à 30 % v/v de méthanol permettent d'obtenir de meilleurs rendements. Pour les expériences de cette étude, 20 % de méthanol a été utilisé pour l'extraction.

4.1.2 CHOIX DU FORMAT DE SBSE

Pour cette étude, 2 formats de SBSE ont été testés :

- Barreau de 20 mm de long avec film de PDMS de 0,5 mm d'épaisseur
- Barreau de 20 mm de long avec film de PDMS de 1,0 mm d'épaisseur

Lors d'essais préliminaires, les barreaux de SBSE ont été analysés 2 fois successivement afin de vérifier les éventuels effets de mémoire. Selon la concentration évaluée, avec les barreaux de (20 x 1,0 mm), des effets de mémoires représentant entre 3 et 30 % de l'intensité obtenue lors de l'injection précédente ont été observés pour le composé le plus lourd élué (BDE-183). Ceci indiquait que les composés les plus lourds étaient difficilement élués du SBSE lors de la phase de désorption (à cause de l'épaisseur du film, ces substances n'ont probablement pas le temps d'être extraites du PDMS).

Un barreau avec une épaisseur de phase réduite (la plus faible disponible commercialement) (20 x 0,5 mm) a été ainsi utilisé par la suite ce qui a permis de réduire les effets de mémoire (entre non détectable pour les plus légers jusqu'à 5 % pour le BDE 183). Des tests (comportant 5 réplicats chacun) ont également démontré que la quantité de PBDE extraite était identique avec des barreaux (20 * 1,0 mm) et des barreaux (20 * 0,5 mm) ce qui est en corrélation avec la littérature [8].

4.1.3 CINÉTIQUE D'ABSORPTION ET VOLUMES D'ÉCHANTILLON

Le principe du SBSE repose sur l'équilibre entre la répartition des analytes dans la phase aqueuse et la phase polymérique. La première étape consiste ainsi à déterminer les cinétiques d'extraction des composés cibles par rapport au volume d'échantillon et de polymère utilisé.

Les tests préliminaires ont été menés avec de l'eau d'Evian® dopée à une concentration de 10 ng/L par congénère.

Test avec 20 mL d'échantillon (+ 5mL de MeOH)

Une cinétique d'extraction a été effectuée avec des temps d'échantillonnage allant jusqu'à 14 H (correspondant à une nuit d'extraction).

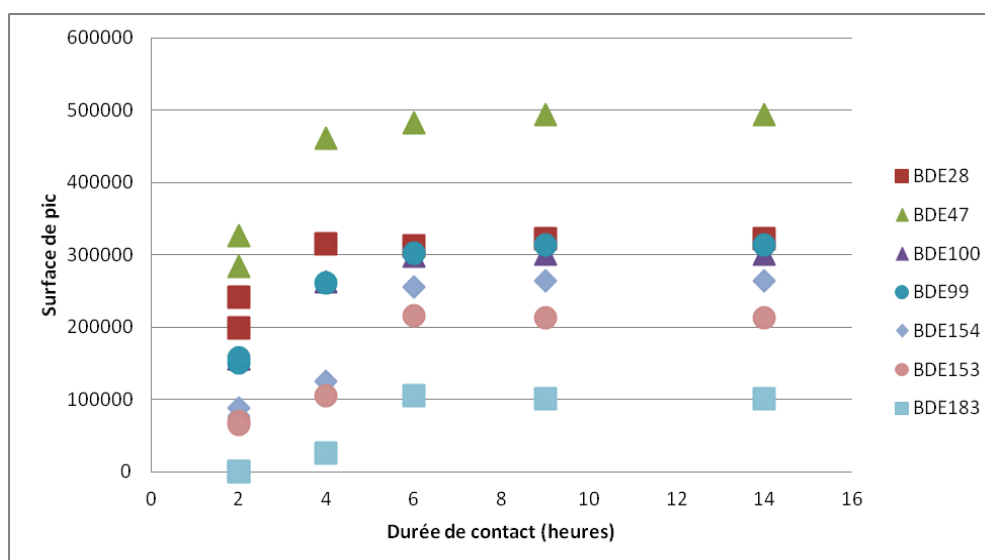


Figure 2. Cinétique de sorption de 10 ng/L par BDE avec 20 mL d'eau d'Evian®

Pour 20 mL, la cinétique est rapide durant les 4 premières heures. Un état d'équilibre est ensuite atteint pour tous les composés à des temps compris entre 6H et 10H.

Test avec 100 mL d'échantillon (+ 25 mL de MeOH)

Une cinétique a également été effectuée avec 100 mL d'échantillon avec 20 % v/v de méthanol.

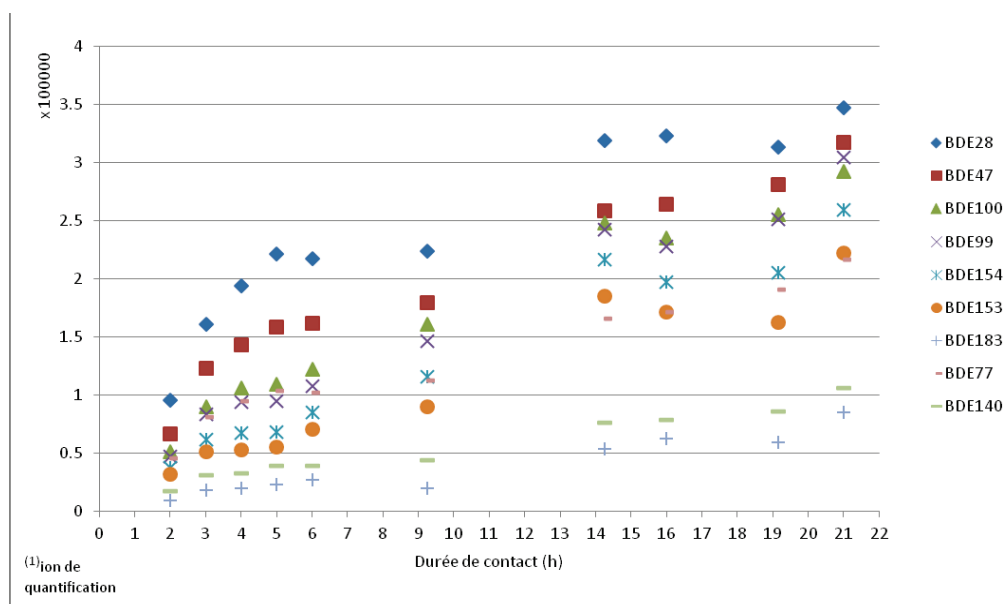


Figure 3 Cinétique de sorption de 10 ng/L par BDE avec 100 mL d'eau d'Evian®

Pour 100 mL, la cinétique est rapide dans les 6 premières heures avec une quantité extraite multipliée par 2 entre 2 et 6 heures de contact. Elle est ensuite plus lente et atteint une quantité extraite multipliée par 5 à partir de 14 heures de contact pour ensuite tendre vers un plateau.

L'équilibre est plus lent à atteindre avec 100 mL qu'avec 20 mL car un plateau est pratiquement obtenu au bout de 14H. La cinétique de l'équilibre entre les analytes dans la phase aqueuse et la phase PDMS est dépendante du volume de ces 2 phases. Ainsi, lorsque le volume de la phase organique demeure identique pendant que le volume de l'échantillon est augmenté de 20 à 100 mL, l'équilibre s'établit plus lentement.

Dans la pratique, 14H correspond à une nuit d'échantillonnage, facile à mettre en œuvre au laboratoire. Ce temps est donc adapté à la fois techniquement et sur le plan organisationnel pour une extraction SBSE.

Afin d'avoir le maximum de sensibilité et également d'un point de vue pratique, on retiendra 14 heures minimum de contact.

4.1.4 ANALYSE DU BDE 209

Les différentes publications se rapportant à l'analyse des PBDE ne mentionnent jamais l'analyse du BDE 209 [5-9]. Lors des essais préliminaires, ce BDE n'est jamais retrouvé après extraction d'échantillons dopés. Ce composé étant le plus hydrophobe de tous les BDE, il devrait être majoritairement extrait par le barreau SBSE. Il est cependant probable qu'il n'est pas libéré lors de la thermodésorption ou qu'il s'adsorbe au niveau de la zone d'injection ou de transfert vers la colonne.

Le point critique de l'analyse du BDE 209 est ainsi supposé dans la zone entre la chambre de désorption du thermodésorbiteur chauffée à 300 °C et le liner de l'injecteur PTV qui présente une restriction avec laine de quartz, ce qui induit :

- un temps de résidence trop important dans l'injecteur et/ou
- une distance de transfert trop importante

par rapport à la stabilité thermique du BDE 209.

On peut conclure sur la perte du BDE 209 que soit il est instable thermiquement et se dégrade, soit il s'adsorbe.

Les essais préliminaires ont été effectués avec un liner avec restriction et comportant de la laine de quartz. Ce type de liner était utilisé pour l'analyse des BDE avec des extraits en solvant et injection liquide. La laine de verre a pour fonction de protéger les colonnes chromatographiques d'interférents et aussi de fixer les BDE lors de la volatilisation du solvant d'injection. Ces problèmes ne sont pas rencontrés lors d'une injection par SBSE car il n'y a pas de solvant et les interférents ne sont pas extraits (ou désorbés du barreau). Des essais supplémentaires ont été effectués avec un liner droit et sans laine de verre.

Le BDE 209 qui était totalement absent avec un liner en laine de quartz est observé avec un liner droit. Les chromatogrammes correspondant à ces injections sont exposés en annexe 2.

Ce type de liner a donc été sélectionné pour les études de tests sur eaux brutes.

4.2 PERFORMANCES ANALYTIQUES DANS LA FRACTION DISSOUE

4.2.1 VERIFICATION DE L'ETALONNAGE PAR INJECTION LIQUIDE

Une gamme d'étalonnage de 0,1 à 30 ng/mL dans l'isooctane pour les BDE 28/47/99/100/153/154/183 et de 1 à 300 ng/mL pour le BDE 209 a été injectée et analysé par GC/MS (5 ng/mL pour les étalons internes BDE 77 et 140, 50 ng/mL pour le ¹³C BDE 209).

Limite de quantification.

Sur la base de l'hypothèse d'une extraction de 1L d'eau par extraction liquide-liquide (ELL) et concentrer l'extrait à 1 mL (après ou non purification), la limite de quantification estimée serait de 0,5 ng/L d'eau.

La fiche méthode MA-04 [3] validée par l'INERIS et qui reprend ce mode opératoire annonce une LQ de :

- 1 ng/L pour les BDE 28 ; 47 ; 99 ; 100 ; 154 ; 153 et 183
- 10 ng/L pour le BDE 209.

Les limites de quantification atteintes avec ce mode opératoire sont largement supérieures aux NQE exigées ce qui justifie les essais entrepris avec la SBSE.

Domaine de linéarité.

Les courbes d'étalonnage sont présentées en annexe 3.

Le domaine de linéarité des BDE 28, 47, 99, 100, 154, 153 et 183 s'établit entre 0,5 ng/mL et 30 ng/mL.

Le domaine de linéarité du BDE 209 s'établit entre 5 ng/mL et 300 ng/mL.

4.2.2 EVALUATION DE LA METHODE DANS L'EAU D'EVIAN®.

Des essais dans l'eau d'Evian ont été effectués avec 20 mL et 100 mL. Les temps de prélèvement ont été choisis pour correspondre un état de pseudo-équilibre comme déterminé avec les cinétiques d'absorption. Ainsi pour 20 mL, 8H de prélèvement ont été choisis alors que pour 100 mL, les durées de prélèvements étaient de 14 H 40 minutes correspondant à une nuit d'extraction.

Limites de quantification.

Les limites de quantification ont été estimées pour chaque volume d'échantillon testé.

Tableau 1. Estimation des limites de quantification pour 20 mL et 100 mL d'échantillon (en ng/L)

	BDE28	BDE47	BDE99	BDE100	BDE153	BDE154	BDE183
20 mL	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
100 mL	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

Une amélioration de la sensibilité d'un facteur 5 est observée avec 100 mL d'échantillon.

L'extraction avec ce volume d'échantillon nécessite un temps d'extraction plus long. Cependant, l'objectif de cette étude étant d'atteindre des limites de quantification de l'ordre de 0,02 ng/L, des analyses avec un prélèvement de 100 mL ont été retenus pour la suite de l'étude.

Ces tests ont été effectués avec un liner avec laine de quartz donc aucune valeur n'a été obtenue pour le BDE 209.

Des tests ultérieurs avec un liner droit ont permis d'estimer la limite de quantification pour le BDE 209 avec 100 mL d'échantillon à 0,2 ng/L.

Domaine de linéarité.

Pour 20 mL, le domaine de linéarité des BDE 28, 47, 99, 100, 154, 153 et 183 est établi entre 0,1 ng/L et 30 ng/L d'eau.

Pour 100 mL, le domaine de linéarité des BDE 28, 47, 99, 100, 154, 153 et 183 est établi entre 0,02 ng/L et 20 ng/L d'eau.

Pour le BDE 183 qui est un octa-BDE, l'utilisation de l'insert droit a permis d'avoir un meilleur transfert entre la chambre de désorption du thermodésorbeur et la tête de colonne de chromatographie. Ainsi, le domaine de linéarité pour ce composé est identique aux autres BDE avec le liner droit alors qu'il était beaucoup plus réduit avec le liner avec laine de verre.

Des exemples de résultats de linéarité sont présentés en annexe 4 et 5.

Pour le BDE 209, son domaine de linéarité est défini de 0,2 ng/L à 10 ng/L par une régression linéaire dont le coefficient de corrélation (R^2) est de 0,99.

Au-delà de 10 ng/L, il est observé (figure 4) que :

- un deuxième domaine peut être établi pour des concentrations allant de 10 ng/L à 100 ng/L. La régression linéaire tracée avec ces points présente un coefficient de détermination (R^2) de 0,98. L'essai de régression donne une pente 2 fois plus faible que pour la régression établie entre 0,2 et 10 ng/L.
- le point à 200 ng/L n'est pas aligné avec le domaine 10-100 ng/L, ce qui démontre une saturation du signal. Le domaine de travail se situe donc jusqu'à 100 ng/L.

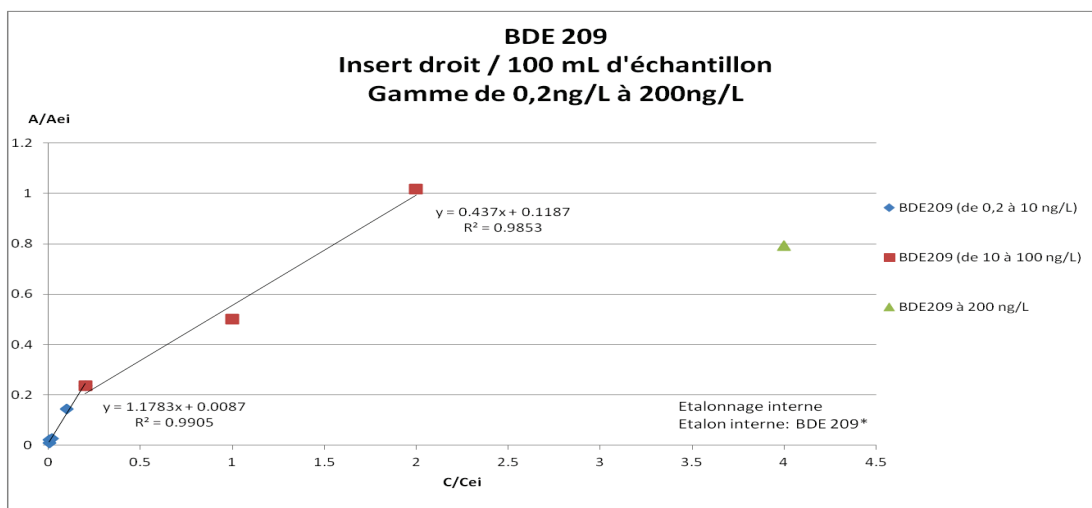


Figure 4 Domaine de linéarité pour le BDE 209 avec 100 mL d'échantillon

Rendements d'extraction des SBSE

A la différence des extractions liquide/liquide ou liquide/solide (SPE), la SBSE n'est pas une technique qui prétend extraire la totalité d'une substance d'un échantillon. Comme évoqué dans les parties précédentes, son fonctionnement est basé sur un état d'équilibre qui s'établit entre la présence des analytes dans l'échantillon aqueux et la phase PDMS du SBSE. Cette répartition est fonction des propriétés des analytes, notamment l'hydrophobicité, des volumes de l'échantillon et de la phase extractante. La quantification des composés doit ainsi être effectuée impérativement par un étalonnage en matrice aqueuse, de l'eau de source par exemple.

Les rendements d'extraction ont ainsi été calculés dans cette étude pour connaître la proportion d'analytes qui est prélevé de l'échantillon par BDE et l'influence du volume d'échantillon.

Lors des essais qui permettaient d'établir la gamme d'étalonnage par injection liquide de 3 µL d'étalon, la sensibilité analytique par rapport à la quantité de BDE injectée est obtenue.

Afin d'établir les rendements d'extraction obtenus par SBSE, selon les conditions expérimentales décrites auparavant, une gamme d'étalonnage a été réalisée dans l'eau d'Evian® pour 20 et 100 mL.

En raisonnant en quantité, nous pouvons accéder au rendement d'extraction par SBSE. En effet, la sensibilité analytique est déterminée grâce aux injections liquides : la quantité introduite étant connue et la réponse analytique également. Par ailleurs, les résultats d'analyses obtenus par SBSE ne permettent d'accéder qu'à la quantité de composés désorbés de la SBSE et non à la quantité présente dans l'échantillon d'eau.

De ce fait, nous pouvons établir les rendements de l'extraction par SBSE par composés et par niveau de quantité à extraire.

Les rendements obtenus pour une même quantité à extraire mais dans des volumes différents, donc pour des concentrations différentes au final, sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 2. Rendement de l'extraction par SBSE selon le volume d'échantillon avec des dopages entre 2 et 200 pg

Quantité de BDE à extraire dans l'échantillon d'eau		2pg	4pg	10pg	20pg	100pg	200pg
Concentration correspondante	20 mL	0,1ng/L	0,2ng/L	0,5ng/L	1ng/L	2ng/L	5ng/L
	100 mL	0,02ng/L	0,04ng/L	0,06ng/L	0,1ng/L	0,2ng/L	0,5ng/L
Volume de prise d'essai		Rendement obtenu en fonction de la prise d'essai d'échantillon d'eau					
BDE28	20ml	58%	32%	30%	27%	23%	24%
	100ml	33%	29%	21%	21%	19%	19%
BDE47	20ml	59%	36%	28%	27%	21%	20%
	100ml	56%	55%	26%	18%	17%	15%
BDE100	20ml	60%	34%	26%	23%	19%	18%
	100ml	62%	52%	26%	22%	16%	14%
BDE99	20ml	61%	36%	27%	23%	20%	18%
	100ml	46%	48%	23%	19%	16%	14%
BDE154	20ml	34%	21%	21%	20%	17%	16%
	100ml	21%	17%	13%	14%	13%	12%
BDE153	20ml	55%	20%	23%	21%	17%	15%
	100ml	14%	14%	12%	13%	13%	11%
BDE183	20ml	53%	16%	20%	14%	10%	8%
	100ml	22%	20%	12%	7%	7%	5%

(Les résultats complets pour les extractions avec 20 et 100 mL sont présentés en annexe 6 et 7)

Les rendements d'extraction sont généralement légèrement meilleurs avec 20 mL qu'avec 100 mL. Cette observation est en accord avec la théorie car le volume de la phase de la SBSE est identique dans les 2 cas. Ainsi, le ratio volume échantillon/phase SBSE est moins important avec 20 mL d'échantillon donc de meilleurs rendements d'extraction sont attendus avec ce volume d'échantillon.

De meilleurs rendements sont également obtenus pour les concentrations les plus faibles testées. Ainsi, pour 20 mL d'échantillon, des rendements entre 61 et 34 % sont constatés à 2 pg injectés (0,1 ng/L) et descendent entre 6 et 21 % pour 600 pg injectés (30 ng/L). La même tendance est observée pour des extractions avec 100 mL d'échantillon.

Il est également à noter que les rendements sont d'autant meilleurs que le BDE a un faible degré de bromation.

Ce type d'observation est ainsi en opposition avec une hydrophobicité (ou log K_{ow}) supérieures pour les composés les plus lourds ce qui aurait pu laisser supposer une meilleure extraction avec ces composés.

Etude des effets mémoires de l'analyse des PBDE par SBSE

Ces essais ont été réalisés dans le but d'étudier l'effet mémoire potentiel des SBSE après désorption.

Pour cet essai effectué en triplicat, un dopage à 100 pg est réalisé directement à partir d'une solution à 5 pg/ μ L de chaque BDE dans l'acétone (sauf BDE209 qui est à 50 pg/ μ L).

20 µL de cette solution sont déposés directement sur la SBSE, le barreau subit une «maturation » pendant 2 heures pour laisser le solvant s'évaporer. Il est ensuite désorbé dans les conditions analytiques habituelles et cela 5 fois successivement.

Il est à noter que cet essai a été effectué avec des SBSE qui paraissaient les plus altérés visuellement (annexe 8).

Les désorptions successives des SBSE montrent qu'il n'existe pas ou peu d'effet mémoire pour les BDE 27, 48, 100, 99, 154, 153, 183 et 209.

Seule la deuxième désorption montre des traces de BDE 28 et 209 (marqué et non marqué) mais à des valeurs inférieures ou égales à 1 % de celles obtenues lors de la première désorption.

4.2.3 EVALUATION DE LA METHODE DANS L'EAU DE L'OISE.

Des échantillons d'eau de l'Oise filtrée (100 mL) sans et avec dopage par composés cibles ont été analysés (caractéristiques physico-chimiques de l'eau de l'Oise en annexe 1). Chaque expérience a été effectuée en triplicat.

Matrice non dopée de l'eau de l'Oise

Les résultats sont présentés dans le Tableau 3

Tableau 3. Analyse de l'eau de l'Oise (non dopée) par SBSE (n=3)

	Moyenne	CV
	(ng/L)	%
BDE28	nd	/
BDE47	0,10	57%
BDE100	0,09	22%
BDE99	0,15	17%
BDE154	nd	/
BDE153	nd	/
BDE183	nd	/
BDE209	/	/

Pour le BDE 209, il n'a pas été détecté dans un des échantillons, et les 2 autres ont fourni une valeur de 1,19 (proche de la LQ) et 107 ng/L. Une contamination d'un des échantillons a ainsi pu se produire expliquant cette valeur aberrante.

Matrice dopée à 10 ng/L de l'eau de l'Oise

Tableau 4. Analyse de l'eau de l'Oise dopée à 10 ng/L par SBSE (n=3)

	Valeur cible	Moyenne	Coefficient de variation
	(ng/L)	(ng/L)	%
BDE 28	10	10,96	5%
BDE 47	10	10,23	1%
BDE 100	10	9,55	1%
BDE 99	10	10,56	3%
BDE 154	10	10,49	1%
BDE 153	10	11,04	1%
BDE 183	10	12,64	1%
BDE 209	100	118,38	7%

Des valeurs proches des valeurs de dopage sont retrouvées pour tous les composés testés. Les coefficients de variation sont particulièrement bas (entre 1 et 7 % pour le BDE209) ce qui démontre la répétabilité de la méthode.

4.3 PERFORMANCES ANALYTIQUES DANS L'EAU BRUTE

Les PBDE sont des composés hydrophobes majoritairement associés à la fraction particulaire. Il est donc indispensable de considérer cette fraction. La SBSE ne peut extraire que les analytes contenus dans les fractions dissoutes.

Afin de pouvoir prendre en compte la fraction piégée sur les matières en suspensions, une stratégie analytique a été mise en place.

Ainsi, les échantillons d'eau brute sont filtrés et la fraction dissoute est conservée. Le filtre contenant les matières en suspension est extrait par extraction solide/liquide. Les extraits du filtre et la partie filtrée sont réunis et la SBSE appliquée sur cette solution (voir figure ci-dessous).

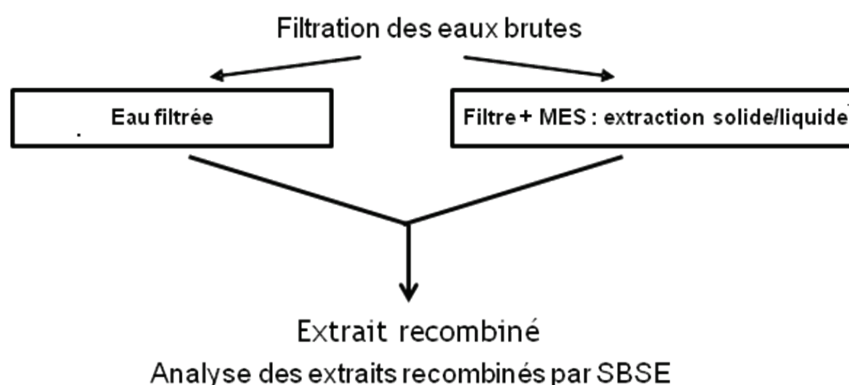


Figure 5. Schéma explicatif de la démarche d'analyse des eaux brutes par SBSE

Des études d'optimisation ont été effectuées sur l'extraction des PBDE dans la fraction particulaire notamment avec un solvant compatible avec les extractions par SBSE, le méthanol.

Les essais préliminaires ont été effectués avec des solutions d'eau de l'Oise contenant 50 mg/L de MES sur des matrices non dopées et dopées à 10 ng/L. Une étape de maturation d'au moins 48 H a été respectée après dopage de la solution de PBDE, afin de laisser le temps à l'équilibre de partition fraction dissoute/fraction liée aux MES de s'établir. Des triplicats ont été effectués dans chaque cas.

Analyse par SBSE après extraction solide/liquide (méthanol) des MES

3 différentes stratégies ont été utilisées pour l'extraction des MES par du méthanol.

- les filtres avec les MES ont été insérés dans des tubes en verre puis immergés avec 5 mL de MeOH, soumis à agitation mécanique par vortex (10 min) puis centrifugés. Le surnageant est récupéré et ajouté à la partie filtrée. Du méthanol est ajouté pour compléter le volume de MeOH à 25 mL puis l'extraction par SBSE effectuée.
- les filtres avec les MES ont été insérés dans des tubes en verre puis immergés avec 5 mL de MeOH, soumis à agitation mécanique par vortex (10 min) puis centrifugés. Le surnageant est récupéré et ajouté à la partie filtrée. Ce processus est répété 2 fois. Du méthanol est ajouté pour compléter le volume de MeOH à 25 mL puis l'extraction par SBSE effectuée.
- les filtres avec les MES sont extraits par extraction par solvant pressurisé (PFE) avec du méthanol comme solvant extractant. Le volume extrait (~15mL) est ajouté à la partie filtrée. Du méthanol est ajouté pour compléter le volume de MeOH à 25 mL puis l'extraction par SBSE effectuée.

(Les conditions expérimentales d'extraction par vortex et PFE sont indiquées en annexe 9)

Dans tous les cas, les analyses des matrices non dopées ont révélées des taux de contamination faibles en PBDE (<0.4 ng/L pour le BDE 99).

Pour les matrices dopées, les résultats suivants ont été obtenus :

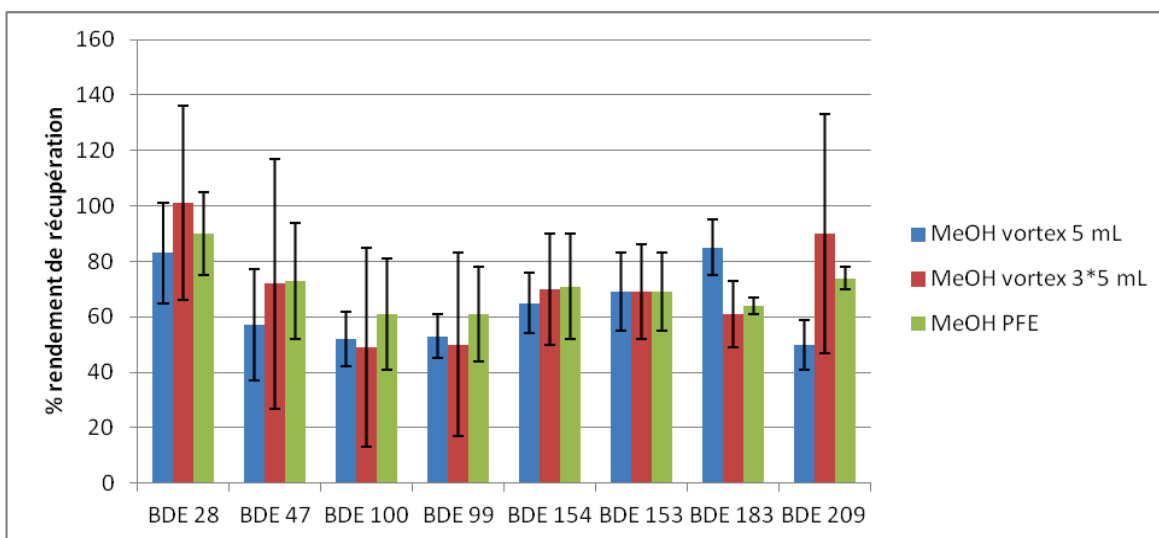


Figure 6 Rendements de récupération obtenus avec 3 différentes méthodes d'extraction avec le méthanol (dopage avec 10 ng/L pour tous les BDE sauf le BDE 209 à 100ng/L)

Globalement, de meilleurs rendements de récupération ont été obtenus par PFE. Cette technique a ainsi été sélectionnée pour la suite des expériences.

Tests en conditions de fidélité intermédiaire de l'analyse des PBDE par SBSE avec des eaux brutes.

Des essais ont été réalisés avec 12 replicats à 20 et 80 % de la gamme en conditions de fidélité intermédiaire. Les rendements sont calculés par comparaison aux courbes de calibration obtenues par extraction dans de l'eau d'Evian®.

Tableau 5. Détermination des rendements en conditions de fidélité intermédiaire pour une concentration correspondant à 20 % de la gamme de linéarité (n=12)

	Valeur théorique (ng/L)	Moyenne (ng/L)	Rendement (%)	CV (%)
BDE 28	4,00	4,69	117%	11%
BDE 47	4,00	4,34	108%	15%
BDE 100	4,00	4,12	103%	17%
BDE 99	4,00	4,20	105%	16%
BDE 154	4,00	4,31	108%	10%
BDE 153	4,00	4,31	108%	7%
BDE 183	4,00	3,98	99%	13%
BDE 209	40,00	34,26	86%	9%

Des rendements satisfaisants (entre 80 et 120 %) sont déterminés pour tous les PBDE étudiés. Les coefficients de variation sont tous inférieurs à 20 %.

Tableau 6 Détermination des rendements en conditions de fidélité intermédiaire pour une concentration correspondant à 80 % de la gamme de linéarité (n=12)

	Valeur théorique (ng/L)	Moyenne (ng/L)	Rendement (%)	CV (%)
BDE28	16,00	21,32	133%	14%
BDE47	16,00	18,28	114%	10%
BDE100	16,00	15,82	99%	11%
BDE99	16,00	15,39	96%	12%
BDE154	16,00	17,44	109%	11%
BDE153	16,00	16,69	104%	11%
BDE183	16,00	13,23	83%	16%
BDE209	160,00	130,44	82%	18%

A l'exception du BDE 28 qui est surdosé, des rendements compris entre 80 et 120 % sont obtenus pour tous les BDE. Les coefficients de variation sont tous inférieurs à 20 %.

Pour les essais à la LQ estimée, à ces teneurs, il était difficile de trouver une matrice vierge non contaminée. Des expériences ont donc été effectuées directement sur de l'eau de l'Oise (MES= 30,1 ± 2 mg/L) en condition de fidélité intermédiaire.

Tableau 7 Détermination des concentrations obtenues en conditions de fidélité intermédiaire pour de l'eau de l'Oise non dopée (n=12)

	Moyenne (ng/L)	Ecart type (ng/L)	CV (%)
BDE 28	0,025	0,005	21%
BDE 47	0,081	0,013	16%
BDE 100	0,079	0,018	23%
BDE 99	0,175	0,018	10%
BDE 154	0,034	0,008	24%
BDE 153	0,012	0,004	35%
BDE 183	0,018	0,008	44%
BDE 209	5,320	3,341	63%

Des valeurs extrêmement basses (entre 0,012 jusqu'à 0,175 ng/L) ont été déterminées pour tous les BDE, à l'exception du BDE 209 retrouvé à 5,3 ng/L. Les coefficients de variation sont inférieurs à 25 % pour tous les BDE à l'exception du BDE 153, BDE 183 et du BDE 209. Pour le BDE 153, la valeur mesurée est en dessous de la LQ estimée. Pour les 2 composés les plus lourds (BDE 183 et 209), à ces teneurs, des variations sur l'intégration des pics (BDE 183) ou l'instabilité du composé (BDE 209) engendrent une plus grande variabilité.

Vieillessement des SBSE

Lors de cette étude, nous n'avons pas effectuée de travail spécifique sur le vieillissement des SBSE. Cependant, il a été constaté des changements d'apparence des SBSE après réutilisation (annexe 8). Ce changement n'a toutefois pas affecté les rendements et résultats obtenus en comparaison avec des SBSE neufs.

5. CONCLUSION

La DCE a imposé la mesure des PBDE dans les eaux brutes à des teneurs extrêmement basses (0,5 ng/L pour la somme des BDE 28, 47, 99, 100, 153, 154). La SBSE apparaît comme une technique permettant d'atteindre ces bas niveaux.

Pour résumer l'ensemble des travaux présentés ici, l'utilisation de barreau SBSE (20 * 0,5 mm) a été privilégiée pour réduire les effets de mémoire. Des échantillons de 100 mL avec un temps de prélèvement supérieur à 14 heures ont été utilisés pour augmenter la quantité de BDE extraite et la sensibilité analytique. Ainsi, les limites de quantification ont pu être estimées à 0,02 ng/L par BDE avec une gamme de linéarité s'étendant jusqu'à 20 ng/L.

Le BDE 209 dont l'analyse n'avait pas été rapportée dans la littérature a pu être analysé grâce à l'utilisation d'un liner droit pour des concentrations comprises entre 0.5 et 100 ng/L.

L'analyse des PBDE dans l'eau brute a été effectuée en séparant les 2 phases et en les recombinant pour extraction SBSE. Cette méthode est applicable en utilisant du méthanol comme solvant d'extraction des filtres et dans les échantillons liquides pour la SBSE.

Par cette technique, les critères fixés par la DCE pour la mesure des PBDE semblent accessible dans la matrice eau naturelle.

En perspectives, il reste à mener des tests spécifiques pour étudier le vieillissement afin de déterminer la « durée de vie » d'un barreau et l'influence sur les performances telles que le rendement ou les limites de quantification.

Des tests pourraient aussi être effectués afin de définir des méthodes optimales de lavage/reconditionnement des SBSE particulièrement pour des échantillons complexes contenant de nombreux interférents susceptibles de rester fixés sur le barreau SBSE.

Le couplage de la SBSE avec une analyse de type GC/MS/MS pourrait permettre d'abaisser les limites de quantification et d'améliorer la robustesse de la méthode notamment par l'utilisation d'étalon interne isotopiquement marqué correspondant à chaque BDE étudié.

En perspective générale, cette méthode est potentiellement applicable à toutes les familles de composés compatibles avec l'extraction par SBSE (HAP, phtalates, pesticides,...) particulièrement celles pour lesquelles des limites de quantification très basses (<1 ng/L) doivent être obtenues.

6. REFERENCES

- [1] Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil de l'Union européenne du 23/10/2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
- [2] DIRECTIVE 2002/95/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 27 janvier 2003 relative à la limitation de l'utilisation de certaines substances dangereuses dans les équipements électriques et électroniques. (Directive RoSH)
- [3] Laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques (AQUAREF). Fiche méthode MA4 - Famille des PBDE - Méthode d'analyse dans l'eau-phase totale (MES < 0,05 g/L) et phase dissoute (MES > 0,05 g/L): http://www.aquaref.fr/system/files/Fiche_MA_4_PBDE_0.pdf
- [4] Laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques (AQUAREF). Fiche méthode MA40 : Famille des PBDE - Méthode d'analyse dans eau-phase totale (MES < 0,1 g/L) et phase dissoute (MES > 0,1 g/L) par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse en tandem
- [5] Llorca-Porcel, J.; Martinez-Sanchez, G.; Alvarez, B. ; Cobollo, M.A.; Valor, I. ; Analysis of nine polybrominated diphenyl ethers in water samples by means of stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry, ANALYTICA CHIMICA ACTA, 569, 2006, 113-118
- [6] Camino-Sanchez, F. J.; Zafra-Gomez, A.; Cantarero-Malagon, S.; Vilchez, J., Validation of a method for the analysis of 77 priority persistent organic pollutants in river water by stir bar sorptive extraction in compliance with the European Water Framework Directive, TALANTA, 89 , 2012, 322-334
- [7] Prieto, A.; Telleria, O.; Etxebarria, N.; Fernandez, L. A.; Usobiaga, A.; Zuloaga, O., Simultaneous preconcentration of a wide variety of organic pollutants in water samples Comparison of stir bar sorptive extraction and membrane-assisted solvent extraction, JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A, 1214, 2008, 1-10
- [8] Prieto, A.; Zuloaga, O.; Usobiaga, A.; Etxebarria, N.; Fernandez, L. A., Use of experimental design in the optimisation of stir bar sorptive extraction followed by thermal desorption for the determination of brominated flame retardants in water samples , ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY, 390, 2008, 739-748
- [9] Perez-Carrera, E.; Leon, Victor M. L.; Parra, A. G.; Gonzalez-Mazo, E., Simultaneous determination of pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in seawater and interstitial marine water samples, using stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry, JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A, 1170, 2007, 82-90
- [10] Camino-Sanchez, F. J.; Zafra-Gomez, A.; Perez-Trujillo, J. P.; Conde-Gonzalez, J. E.; Marques, J. C.; Vilchez, J., Validation of a GC-MS/MS method for simultaneous determination of 86 persistent organic pollutants in marine sediments by pressurized liquid extraction followed by stir bar sorptive extraction ,CHEMOSPHERE, 84, 2011, 869-881

7. LISTE DES ANNEXES

Annexe	Désignation	Nombre de pages
Annexe 1	Conditions expérimentales utilisées pour l'analyse des PBDE	5
Annexe 2	Chromatogramme sur nouvel insert droit par rapport au chromatogramme sur ancien insert (avec restriction et laine de quartz)	2
Annexe 3	Exemple de domaine de linéarité des PBDE - Injection liquide	1
Annexe 4	Exemple de domaine de linéarité des PBDE avec extraction SBSE sur 20 ml d'eau d'Evian	1
Annexe 5	Exemple de domaine de linéarité des PBDE avec extraction SBSE sur 100 ml d'eau d'Evian	1
Annexe 6	Rendement de l'extraction par SBSE avec 20mL d'échantillon. Quantité trouvée / Quantité à extraire	1
Annexe 7	Rendement de l'extraction par SBSE avec 100mL d'échantillon. Quantité trouvée / Quantité à extraire	1
Annexe 8	Exemple de différences de l'état des SBSE après usage	1
Annexe 9	Conditions d'extraction des filtres par vortex et PFE	1

ANNEXE 1

Conditions expérimentales utilisées pour l'analyse des PBDE

Solutions étalons

Les solutions commerciales suivantes ont été utilisées.

Pour les composés d'intérêt :

BDE 28/47/99/100/154/153/183/209 : CIL EO-5278 à 1 µg/mL sauf BDE209 à 10 µg/mL dans le nonane.

(Code sandre pour les substances étudiés : BDE 28 : 2920, BDE 47 : 2919, BDE 99 : 2916, BDE 100 : 2915, BDE 153 : 2912, BDE 154 : 2911, BDE 183 : 2910, BDE 209 : 1815)

Pour les composés utilisés comme étalon interne :

BDE 140 : fournisseur : CIL ref : BDE-140-CS à 50 µg/mL dans le nonane

BDE 77 : fournisseur : CIL ref : BDE-77-CS à 50 µg/mL dans le nonane

¹³C BDE 209 : fournisseur : CIL ref : EO-5003-0 à 50 µg/mL dans le nonane.

Pour les composés d'intérêts, les solutions sont ensuite diluées à la concentration désirée dans :

- l'isooctane lorsqu'il s'agit d'essais en injection liquide.
- l'acétone lorsqu'il s'agit d'essais en milieu, ceci afin de pouvoir réaliser les dopages dans l'eau.

Pour les étalons internes, les solutions sont toujours diluées dans l'acétone.

Matrices Aqueuses

Eau d'Evian® utilisée exclusivement pour l'étalonnage.

Eau de l'Oise utilisée pour les tests en matrice représentative (teneur en MES mesurée à 22,8 mg/L).

Matériaux d'essais

Une matrice d'eau de l'Oise avec un taux de MES définis (50 mg/L) a été préparée. Cela a été effectué en dopant une matrice d'eau de l'Oise filtrée avec une préparation de sédiment (caractéristiques physico-chimiques de l'eau de l'Oise dans le tableau ci-dessous).

pH	7,8
Conductivité (µS/cm)	655
COT (mg/L)	2,87
COD (mg/L)	2,48
Anions	
Cl ⁻ (mg/L)	29,4
NO ₃ ⁻ (mg/L)	22,8
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0,11
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	34,6
Cations	
Na ⁺ (mg/L)	15,3
NH ₄ ⁺ (mg/L)	0,03
K ⁺ (mg/L)	3,47
Ca ²⁺ (mg/L)	110
Mg ²⁺ (mg/L)	7,22

Préparation d'échantillon phase dissoute.

Filtration de 3L d'eau de l'Oise à 22,8 mg/L sur filtre en fibre de verre PAL® type A/E.

Préparation d'échantillon phase totale avec 50 mg/L de MES

Préparation des MES

La détermination du taux d'humidité de l'échantillon de sédiment a été effectuée et permis de déterminer un taux de sédiment à 22,8% (en g/g).

Préparation d'une solution d'ajout en MES :

→ L'ajout de 11 g de la solution de sédiment à 22,8% à 100 mL d'eau de l'Oise a permis d'obtenir une solution théorique à 25,1 mg/mL de MES.

La vérification du taux de MES par mesure du taux d'humidité à 105°C a permis de déterminer une valeur réelle de la solution à 25 mg/mL en MES.

100 mL de cette solution à 25 mg/mL est ensuite diluée 5 fois par ajout de 400 mL d'eau de l'Oise filtrée afin d'obtenir une solution à 5 mg/mL.

Préparation du milieu phase totale à 50 mg/L :

1 mL de la solution en MES à 5mg/mL est mélangé à 100 mL d'eau de l'Oise filtrée pour obtenir une solution à 50 mg/L.

Cette solution est ensuite dopée 100 µL d'une solution de dopage dans l'acétone à la concentration de travail désirée.

Cette préparation est placée sous agitation mécanique par barreau aimanté (autre que SBSE) pendant au moins 48 H pour maturation.

Analyses par GC-MS

Séparation chromatographique

La séparation des PBDE a été réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse 6890N (Agilent) équipé d'un injecteur PTV-CIS4 (Gerstel) fonctionnant en mode solvant vent avec un liner droit de 2 mm de diamètre interne (ref Gerstel® : 013911-010-00) et d'un passeur d'échantillon MPS 2 (Gerstel®).

La colonne utilisée est une Rtx®-1614 (Restek) de 15 m x 0,25 mm d.i. avec une épaisseur de film de 0,10 µm (Crossbond® 5% phényle/95% méthyle siloxane).

De l'hélium de pureté 99,9999 % a été utilisé en tant que gaz vecteur à un débit de 1,3 mL/min. Dans les conditions de température, de configuration (diamètre et longueur de colonne), la pression est de 37 KPa.

Pour les étalonnages en liquide, 3 µL ont été injectés (seringue de 10 µL de chez SGE Analytical Science).

Pour les analyses TDU/CIS4, un mode TDU-Splitless/CIS4-solvant vent est utilisé (le débit renseigné en vent flow sur le CIS4 correspond au débit de désorption sur le TDU, soit 50 mL.min⁻¹). La température de transfert entre le TDU et le CIS4 est de 300°C.

Programmation de température du four

Température (°C)	Rampe (°C.min ⁻¹)	Durée (min.)
90	-	1,5
200	30	0
265	5	0
320	50	8

Paramètres spécifiques du TDU et de l'analyse des SBSE

Programme de température du corps du TDU (Temperature program)			Programme de transfert TDU-injecteur CIS	
Temps	Température (°C)	Durée (min)	Mode de température	Mode de débit
Initial	300°C	1 min (<i>delay time*</i>) avant insertion SBSE pour l'équilibration du TDU	Température fixée à 300°C (<i>Transfer temp mode : fixed - transfer temp : 300°C</i>)	Splitless (<i>Desorption mode : splitless</i>)
		1 min (<i>initial time*</i>) après insertion SBSE pour l'équilibration du TDU + SBSE		
1 min après équilibre	300°C (<i>rate = 30°C.min⁻¹ en paramètre par défaut</i>)	9 min (<i>Hold time</i>)		

- *paramètre obligatoire de 1 min minimum.

Le paramètre Sample mode est en « sample remove » : le SBSE est sorti du TDU à la fin de la désorption.

Programmation de température et de débit de gaz (split) du CIS4

Durée	Température	Débit de gaz
De 0 à 0,4 min (Vent time = 0,4 min)	60°C (en injection liquide) 30°C (en SBSE)	Fuite ouverte à 150 mL.min ⁻¹ (en injection liquide) à 50 mL.min ⁻¹ (en SBSE) (Vent flow)
De 0,4 à 4 min.	12 °C.sec ⁻¹ jusqu'à 340 °C	1,3 mL.min ⁻¹
De 4 min à 10 min (Purge time = 4 min)	340°C	Fuite ouverte à 100 mL.min ⁻¹ (en injection liquide) à 150 mL.min ⁻¹ (en SBSE) (Purge flow)

La température de la ligne de transfert entre le chromatographe et le spectromètre de masse est de 320 °C.

La thermo-désorption du SBSE dans le TDU a lieu avant la séquence de programmation du PTV et du four, qui eux, démarrent en même temps :

Temps (min)	Programmation TDU	Programmation PTV	Programmation Four
0	X		
10	X		
10,1		X	X
37,3		X	X

Détection :

La détection des PBDE a été opérée par un spectromètre de masse 5973N (Agilent) en mode ionisation chimique négative.

Le gaz réactant utilisé est le méthane avec un débit de 4 mL/min (réglage à 40 dans le set-up, pour 40% d'ouverture de la vanne).

Le courant d'ionisation est fixé à 50 μ A et l'énergie des électrons à 150 eV.

La source est maintenue à une température de 226°C et le quadrupole à 176°C.

L'acquisition a été effectuée en mode SIM (Selected Ion Monitoring), les ions suivis sont les ions bromures (masses de 79 et 81) pour tous les PBDE excepté le BDE-209 et ^{13}C -BDE-209 respectivement suivis avec les ions de m/z 487 et 495.

La quantification des PBDE a été réalisée par étalonnage interne. Le BDE-77 sert d'étalon interne pour les BDE-28, 47, 99 et 100 ; le BDE 140 est utilisé pour les BDE-153, 154 et 183 ; et le BDE-209 est corrigé par un étalon marqué le ^{13}C -BDE-209.

Détails des masses détectées pour le mode Selected Ion Monitoring

Composé	Ion quantifiant (u. m. a)	Ion qualifiant (u. m. a)
BDE-28	79	81; 327
BDE-47	79	81; 325
BDE-77	79	81; 403
BDE-99	79	81; 403
BDE-100	79	81; 403
BDE-140	79	81; 563
BDE-139	79	81; 563
BDE-153	79	81; 563
BDE-154	79	81; 563
BDE-183	79	81; 564
BDE-209	487	485
^{13}C -BDE-209	495	489

Vérification et/ou Conditionnement des SBSE :

Après désorption et analyse, les SBSE sont de nouveau analysés selon la méthode analytique, ceci afin de s'assurer qu'il ne reste plus de traces de BDE : les SBSE sont ainsi « vérifiés ».

Dans le cas de faibles teneurs analysées, il ne reste plus de traces de BDE, dans le cas de fortes teneurs analysées des traces de BDE peuvent subsister, alors :

- Si les teneurs observées ne sont pas trop importantes (un signal correspondant à 5 fois le bruit de fond, par exemple) une troisième désorption est généralement suffisante, sinon :
- Si les teneurs observées sont encore importantes (un signal supérieur à 5 fois le bruit de fond, par exemple) un conditionnement sur un appareillage indépendant (type conditionneur de tube, par exemple) comportant un porte tube avec un flux d'hélium à 50 ml/min pouvant être chauffé à 300 °C peut-être une alternative de conditionnement. En effet, il suffit de :

- mettre les SBSE à l'intérieur d'un tube en quartz vide, de le boucher aux extrémités avec de la laine de quartz silanisée.
- monter le tube dans le porte-tube chauffant,
- vérifier que le débit d'hélium est de 50 ml/min
- chauffer le montage à 300°C pendant 30 min (voir 1 h ou même 2h)

Il ne faut jamais mettre les SBSE à chauffer sous atmosphère contenant de l'oxygène (dans un cristalliseur en quartz dans un four de GC par exemple) au risque de voir la phase PDMS se dégrader.

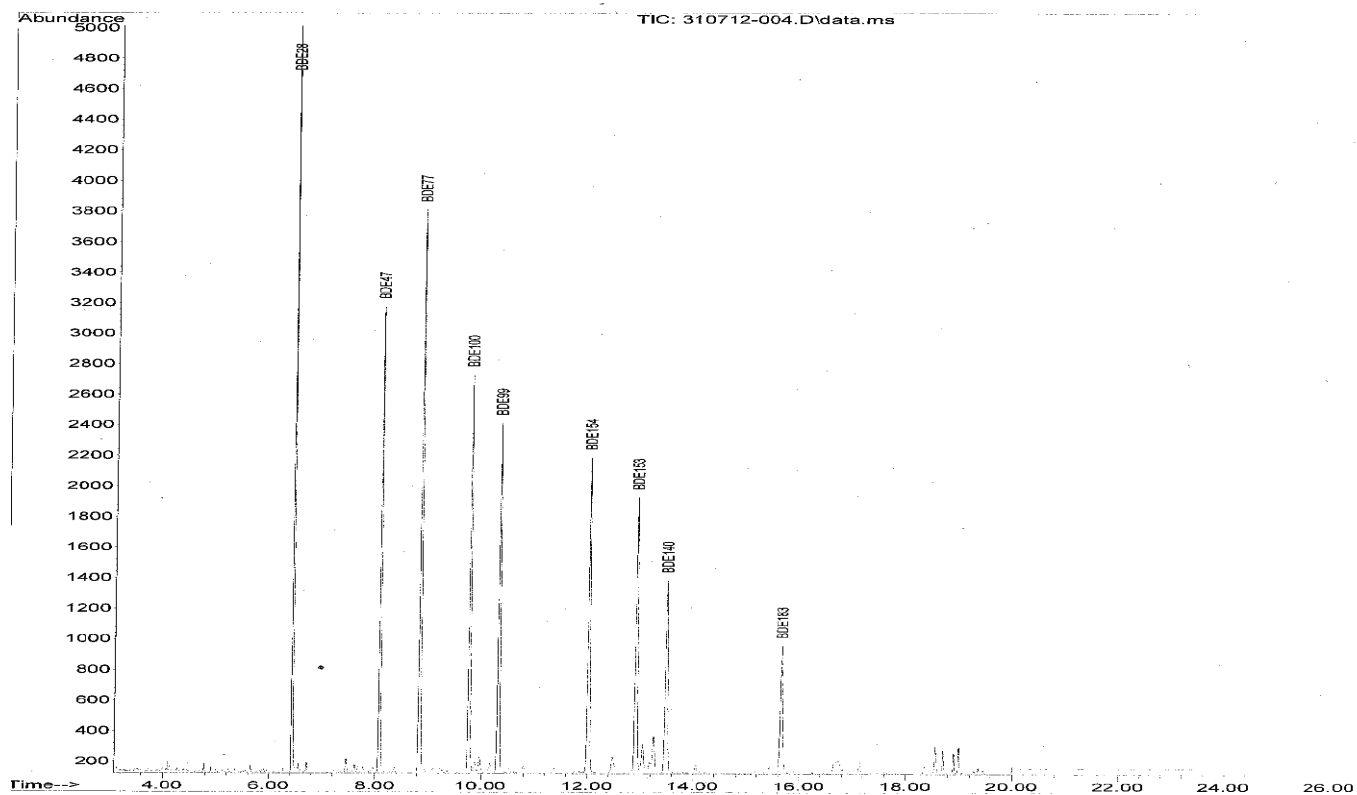
- Dans le cas de la persistance de composés non (peu) volatils (BDE 183, par exemple), ou par préférence ou par choix, un conditionnement chimique peut être réalisé par immersion des SBSE, pendant 1 à 5 jours, dans :
 - de l'acétonitrile
 - un mélange 80 :20 acétonitrile/méthanol.
 - un mélange 50 :50 dichlorométhane/méthanol. Cette solution va faire gonfler la phase, et au fil du temps peut causer une dégradation due soit à une solubilisation lente du PDMS ou soit à une attaque de trace d'HCl parfois présents dans les solvants chlorés.

ANNEXE 2

Chromatogramme sur nouvel insert droit par rapport au chromatogramme sur ancien insert (avec restriction et laine de quartz)

Liner avec laine de quartz

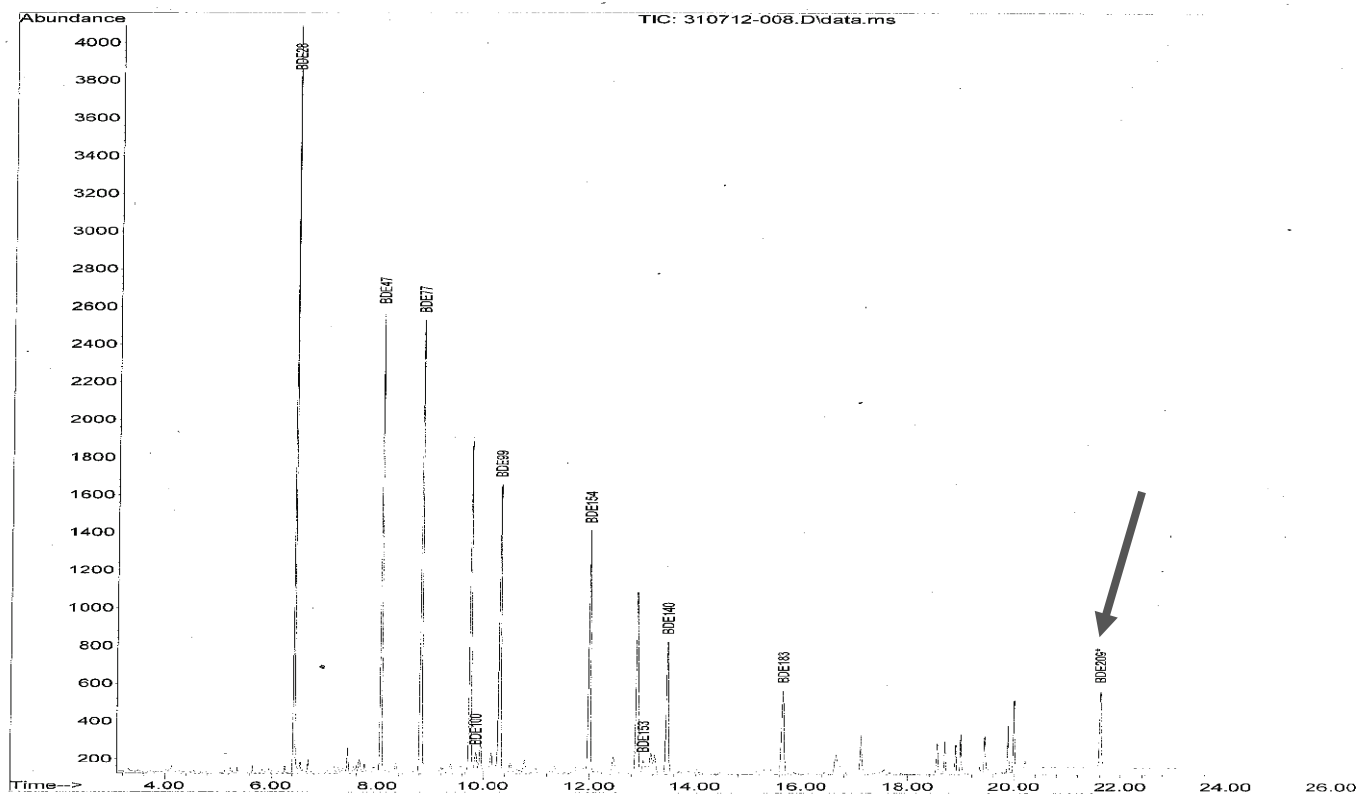
File : C:\msdchem\1\DATA\2012\12-07\SBSE\310712-004.D
Operator : CCT
Acquired : 31 Jul 2012 13:47 using AcqMethod SBSE-PBDENCI-160712-SBSE3.M
Instrument : GCMS
Sample Name: SBSE3- dop dir 100pg dans liner-CCT310712-003
Misc Info :
Vial Number: 4



Réf. : DRC-13-126811-01282A

Liner droit (la flèche indique le pic correspondant au BDE 209)

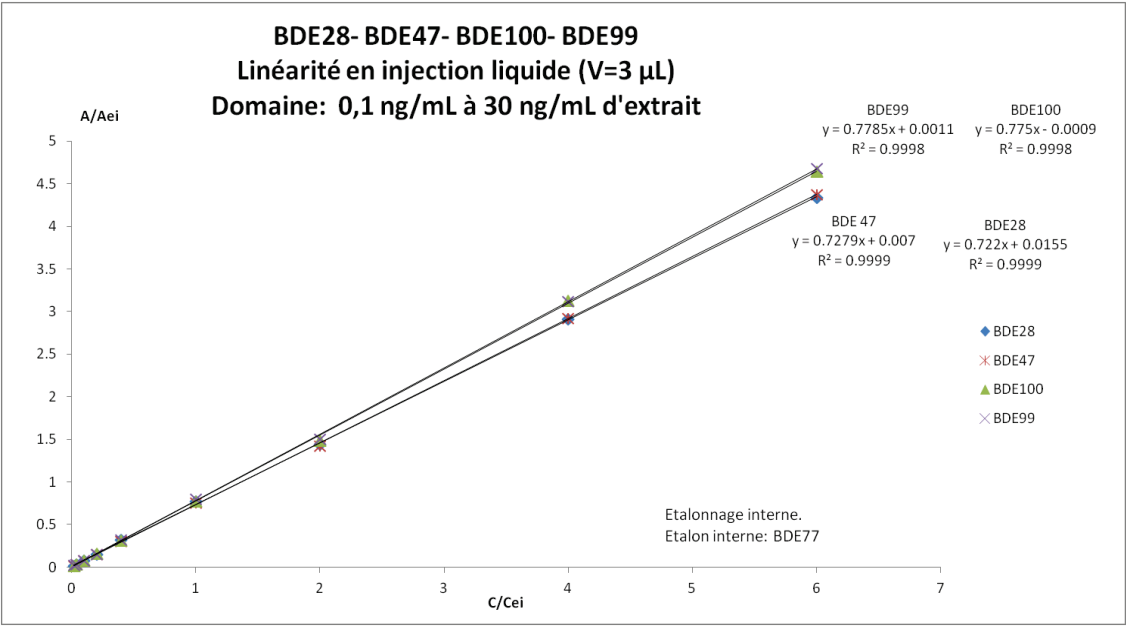
File : C:\msdchem\1\DATA\2012\12-07\SBSE\310712-008.D
Operator : CCT
Acquired : 31 Jul 2012 18:04 using AcqMethod SBSE-PBDENCI-160712-SBSE3.M
Instrument : GCMS
Sample Name: SBSE1-dop dir 100pg dans liner-CCT310712-006
Misc Info :
Vial Number: 2



ANNEXE 3

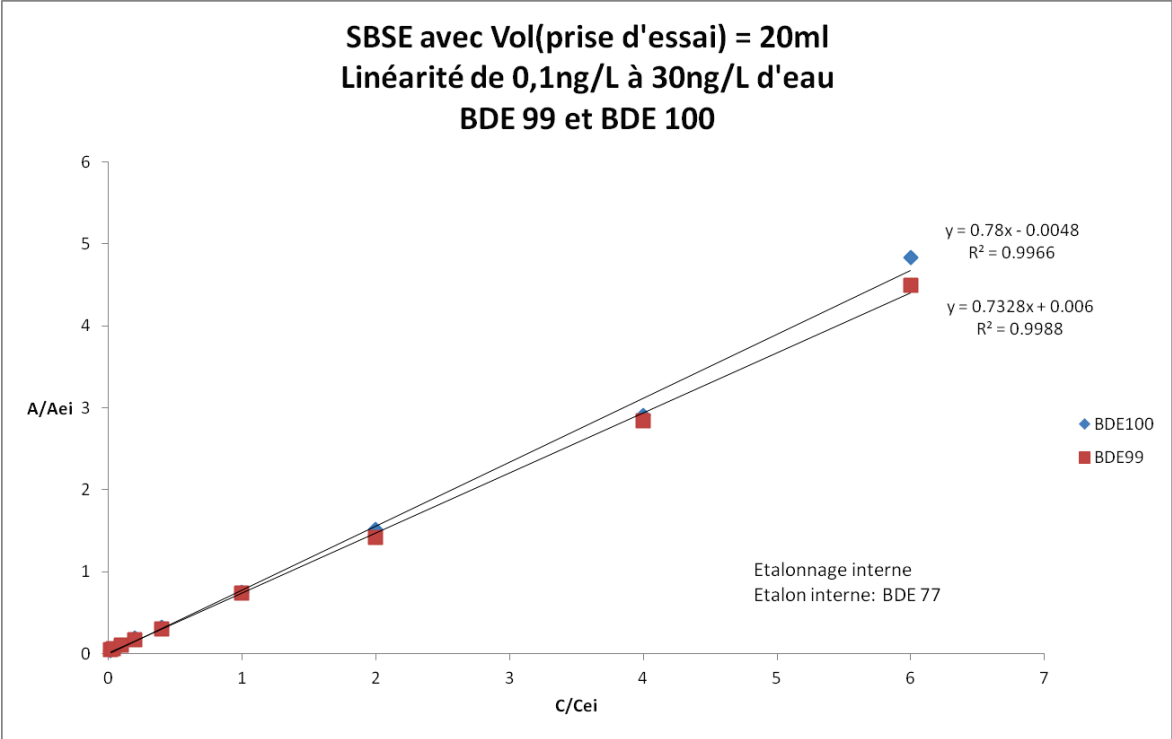
Exemple de domaine de linéarité des PBDE
Injection liquide

(Volume injecté de 3 µL)



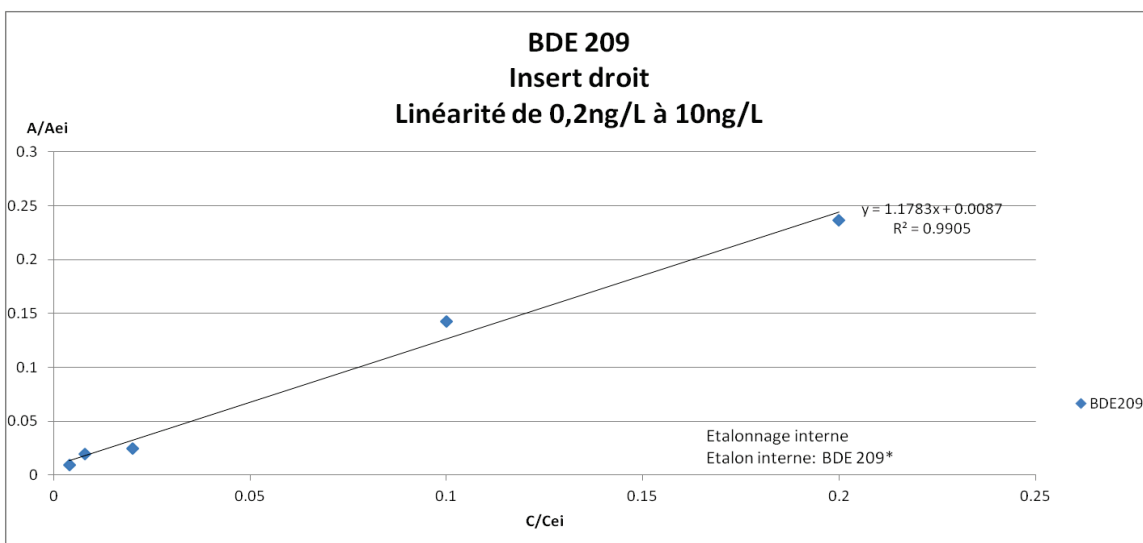
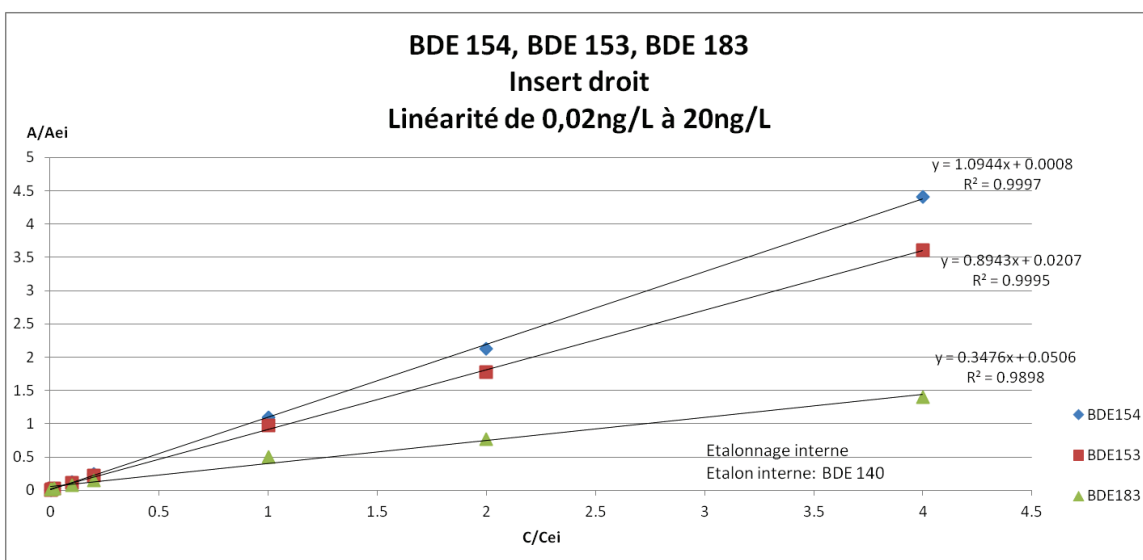
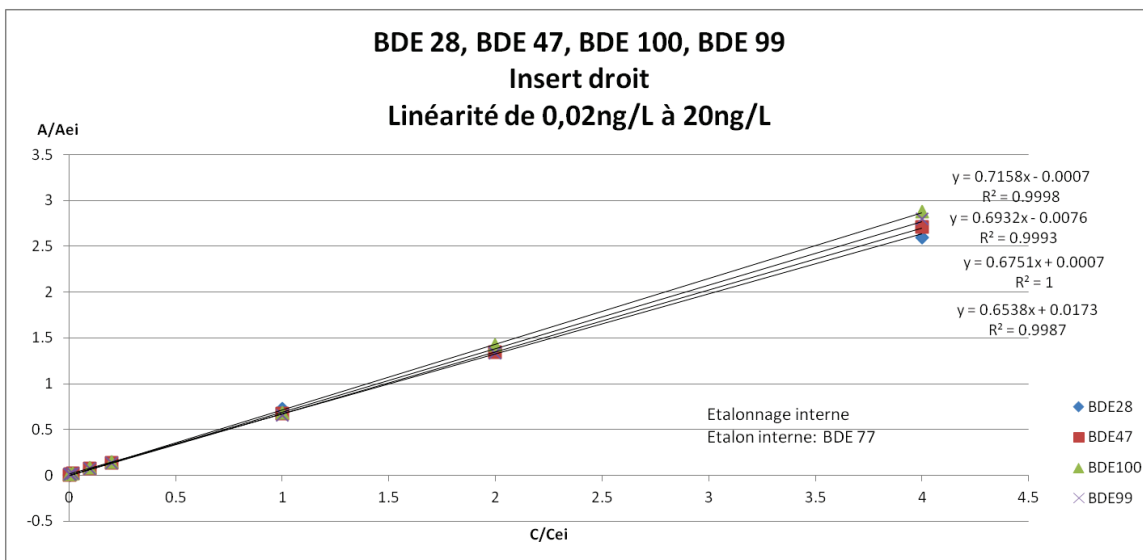
ANNEXE 4

Exemple de domaine de linéarité des PBDE
avec extraction SBSE sur 20 ml d'eau d'Evian®



ANNEXE 5

Exemple de domaine de linéarité des PBDE
avec extraction SBSE sur 100 ml d'eau d'Evian®



ANNEXE 6

Rendement de l'extraction par SBSE sur 20mL d'échantillon.
Quantité trouvée / Quantité à extraire

Concentration de l'échantillon	0.1ng/L	0.2ng/L	0.5ng/L	1ng/L	2ng/L	5ng/L	10ng/L	20ng/L	30ng/L
Volume d'échantillon en contact SBSE	0.02L	0.02L	0.02L	0.02L	0.02L	0.02L	0.02L	0.02L	0.02L
Quantité à extraire	2pg	4pg	10pg	20pg	40pg	100pg	200pg	400pg	600pg
BDE28	58.5%	32.2%	29.9%	27.2%	24.8%	23.2%	24.4%	23.7%	21.5%
BDE47	58.6%	36.5%	28.3%	27.3%	21.8%	20.7%	19.8%	20.9%	16.4%
BDE100	60.4%	33.6%	26.2%	23.2%	19.6%	18.8%	17.9%	19.0%	15.5%
BDE99	61.5%	36.2%	27.4%	23.4%	19.3%	19.6%	17.7%	19.5%	14.6%
BDE154	34.0%	21.5%	20.7%	19.7%	17.0%	17.3%	16.0%	16.6%	13.3%
BDE153	55.3%	19.9%	23.2%	21.2%	16.2%	17.1%	15.2%	14.4%	11.7%
BDE183	53.2%	15.5%	20.4%	14.3%	8.0%	9.6%	7.6%	5.3%	5.8%

ANNEXE 7

Rendement de l'extraction par SBSE sur 100mL d'échantillon.
Quantité trouvée / Quantité à extraire

100mL d'échantillon. Quantité trouvée / Quantité à extraire

Concentration dans l'eau (ng/L)	0.02	0.04	0.06	0.1	0.2	0.5	1	2	5	10	20	30
Volume en contact SBSE (L)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Quantité à extraire (pg)	2	4	6	10	20	50	100	200	500	1000	2000	3000
BDE28	33%	29%	22%	21%	21%	19%	19%	19%	17%	17%	16%	17%
BDE47	56%	55%	33%	26%	18%	17%	17%	15%	15%	15%	15%	14%
BDE100	62%	52%	36%	26%	22%	17%	16%	14%	13%	14%	13%	13%
BDE99	46%	48%	33%	23%	19%	16%	16%	14%	13%	13%	14%	13%
BDE154	21%	17%	15%	13%	14%	13%	13%	12%	12%	12%	12%	11%
BDE153	14%	14%	12%	12%	13%	13%	13%	11%	11%	11%	10%	9%
BDE183	22%	20%	12%	12%	7%	7%	7%	5%	5%	5%	4%	3%

ANNEXE 8

Exemple de différences de l'état des SBSE après usage

SBSE 1



SBSE 2



ANNEXE 9

Conditions d'extraction des filtres par vortex et PFE

Les extractions par vortex ont été réalisées sur agitateur vortex FB15024 (Ficher Scientific) réglé à 10 Hz. La centrifugeuse utilisée était un modèle 3-16PK (Sigma), réglée à 3500 rpm.

Les extractions par PFE ont été réalisées sur un système ASE 200 (Dionex) couplé à un contrôleur de solvant. Du sable de Fontainebleau est ajouté au filtre dans la cellule afin de combler l'espace non occupé, un filtre en cellulose est placé à chaque extrémité. L'extraction est réalisée à 70 bar et 80 °C à l'aide de méthanol.

Conditions d'extraction détaillées pour l'extraction par fluide pressurisé

Système ASE 200 (Dionex®)

Paramètres	Conditions analytiques
Cellule	11 mL
Solvant	Méthanol
Pression	70 bar
Température	80°C
Temps de préchauffage	0
Extraction statique	10 min
Volume de rinçage	60%
Temps de purge (N2)	120 sec
Nombre de cycles	1