

RAPPORT D'ETAPE

Convention ONEMA-LNE n° 1187/08 - Document DMSI/5 - Page 1/26

Programme AQUAREF 2008

ETUDE DE STABILITE D'UN MATERIAU EAU AVEC DES CONCENTRATIONS PROCHES DES NQE (METAUX, HAP) EN VUE DE L'ORGANISATION D'UN ESSAI COLLABORATIF

Rédactrices : Paola FISICARO, Julie CABILLIC

Février 2009

**La reproduction de ce document n'est autorisée que sous sa forme intégrale
Il comporte 26 pages**

Etude de stabilité d'un matériau eau avec des concentrations proches des NQE (Métaux, HAP) en vue de l'organisation d'un essai collaboratif.

Titre : Etude de stabilité d'un matériau eau avec des concentrations proches des NQE (Métaux, HAP) en vue de l'organisation d'un essai collaboratif.

Auteur : Laboratoire National de métrologie et d'Essais

Sujet (mots-clés) : étude de stabilité, métaux dans eau, HAP dans eau, HAP avec autres supports, SPE, essais inter laboratoires, dilution isotopique

Résumé : Etude de stabilité des 4 métaux exigés par la DCE à leur valeur NQE, sauf le mercure à une valeur 10 fois supérieure à la NQE. Nouvelle étude de stabilité à faire pour le mercure à la valeur de sa NQE. Etude de stabilité des 7 composés HAP demandés par la DCE à des concentrations supérieures à la NQE afin de sélectionner un support qui garantirait une longue période de stabilité. Ces composés sont plus délicats à stabiliser dans une eau que dans un solvant. De nouveaux essais avec un support SPE sont en cours, après avoir détecté une pollution dans le système d'extraction. De même des essais avec ajout de 10% de propanol dans les flacons d'échantillonnage montrent une diminution de l'adsorption des HAP par les parois.

Diffuseur : AQUAREF

Contributeurs :

Date de publication : 2009-02-01

Type : Texte

Format : .pdf

Identifiant :

Langue : FR

Couverture géographique :

Couverture temporelle :

Droits d'usage : domaine public

URL :

SYNTHESE

Les laboratoires d'analyses des substances chimiques dans le domaine de l'eau exercent leur activité sous accréditation COFRAC¹ et dans le cadre d'un agrément réglementaire selon les dispositions de l'arrêté du 29 novembre 2006 (et arrêtés complémentaires). Ces laboratoires participent régulièrement à des essais inter laboratoires (dits essais collaboratifs ou essais d'aptitude) afin d'évaluer leur performance analytique pour les substances faisant partie de leur accréditation. Ces essais collaboratifs sont proposés en France par des organisateurs de comparaisons interlaboratoires (OCIL) comme l'Association Générale des Laboratoires d'Analyse de l'Environnement (AGLAE²), le Bureau Interprofessionnel d'Etudes Analytiques (BIPEA³) ou l'Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS⁴). Un nouveau consortium vient de se créer au niveau européen, le PT-WFD⁵, qui réunit les organisateurs allemands, italiens, hongrois, anglais, slovènes, néerlandais et certains français (BIPEA, INERIS et Institut Pasteur de Lille).

Ces essais d'aptitude sont aussi recensés au niveau européen dans la banque de données EPTIS⁶.

Leur objectif est d'obtenir actuellement autant de valeurs quantifiées par substance que de participants, en nombre souvent supérieur à 20, afin d'appliquer convenablement des traitements statistiques parfaitement définis. Aussi, les échantillons qui sont fabriqués pour les campagnes ou circuits d'essais contiennent des substances qui ont la plupart du temps des concentrations suffisamment élevées pour être quantifiées. Elles sont donc au-dessus des Normes de Qualité Environnementales (NQE) que les directives eaux et les récents textes réglementaires nationaux fixent pour les dites substances.

Dans de telles conditions, l'aptitude des laboratoires d'analyses au niveau de la NQE des substances réglementées n'est pas démontrée.

La robustesse d'une méthode analytique se mesure avec la moyenne et la dispersion des valeurs fournies par les participants à un essai d'aptitude. Plus la dispersion est importante et plus la moyenne des valeurs s'éloigne de la valeur assignée ou de la valeur de référence, indiquent que la méthode analytique utilisée n'est pas suffisamment maîtrisée par les laboratoires, ceci sans évoquer encore l'incertitude sur le résultat.

Dans le cadre des travaux AQUAREF, il est donc apparu utile d'étudier la faisabilité d'échantillons d'eau contenant des substances (métaux et Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques ou HAP) à des concentrations proches des NQE visées par les textes, notamment au niveau de la stabilité dans le temps, en prévision de l'organisation d'un essai collaboratif avec les laboratoires d'analyses, en s'appuyant sur la logistique et le dépouillement statistique d'un OCIL.

La première démarche de ce type a été initiée dans le cadre d'un projet de l'Association Européenne des Laboratoires Nationaux de Métrologie (EURAMET n°924 pour les métaux). L'OCIL français qui va gérer le projet 924 est le BIPEA après la réalisation d'une nouvelle étude de stabilité du mercure par les pilotes du projet LNE-PTB et BAM. Pour les composés HAP, un appel à participation à un nouveau projet EURAMET vient d'être lancé par le LNE avec décision en mai 2009.

¹ www.cofrac.fr

² www.association-aglae.fr

³ www.bipea.org

⁴ www.ineris.fr

⁵ www.pt-wfd.eu

⁶ www.eptis.bam.de

Ce rapport, après un rappel sur les différentes possibilités de traçabilité de la valeur assignée offerte par les normes et guides, décrit les étapes de l'étude de stabilité de l'échantillon pour les composés métalliques, en signalant la difficulté propre au mercure, puis des HAP en détaillant les difficultés rencontrées avec une matrice eau, alors que ces composés sont stables dans d'autres préparations.

L'étude de stabilité des composés HAP dans une eau n'est pas complètement achevée, suite au recommencement d'une partie des travaux. Les résultats fournis ici sont donc des résultats partiels.

Les principaux résultats obtenus sont les suivants :

- Pour les métaux, cette étude préliminaire a permis d'affirmer que les composés métalliques, Cd, Ni et Pb dans une eau naturelle de surface filtrée et acidifiée à 2 % HNO_3 sont stables dans le temps et qu'il n'y a pas d'effet flacons. En ce qui concerne le Hg, sa stabilité a été prouvée à des teneurs 10 fois supérieures aux NQE. Une étude supplémentaire de stabilité du mercure à la valeur de sa NQE est programmée. Les résultats seront fournis à AQUAREF dès leur disponibilité.
- Cette étude démontre aussi que les composés organiques HAP dans l'eau sont plus délicats à stabiliser, alors que ces composés sont stables plus de 10 mois dans des solutions à base d'acétonitrile.

Ce qui confirme l'absence de matériaux de référence pour les HAP dans une matrice eau. Il existe cependant des solutions alternatives avec d'autres supports permettant d'offrir une stabilité sur le long terme comme des solvants, des supports SPE ou encore des pastilles, mais l'effet « matrice » et l'interaction entre les composés et la matrice ne sont pas reproduit.

Les premiers résultats ont aussi montré l'extrême sensibilité à la pollution du système d'extraction de la SPE qui a été détecté au niveau des NQE dans le cadre de cette étude.

Cette pollution peut se produire en analyse de routine sans qu'elle soit détectée aussi nettement. Des tests pour améliorer cette étape sont encore en cours au LNE. Ils portent sur l'ajout de 10% de propanol dans les flacons d'échantillonnage afin de réduire encore plus l'adsorption des HAP sur les parois du flacon. Les premiers résultats sont encourageants. Cette partie viendra compléter ce rapport dès la fin des tests, dans une version mise à jour.

Ce rapport a été réalisé au titre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2008 dans le cadre du partenariat ONEMA – LNE 2008, au titre de l'action 3.1 «Analyse et amélioration des pratiques des opérateurs (prélèvements et analyses)» du domaine «chimie AQUAREF».

Suite du rapport page suivante

SOMMAIRE

SYNTHESE	3
1. CONTEXTE	6
2. Etude de stabilité de substances prioritaires métalliques	7
2.1. Technique d'analyse : la dilution isotopique par ICP/MS	8
2.2. Analyse des échantillons	10
2.3. Evaluation des incertitudes de mesure	11
2.4. Bilan pour les métaux	11
2.5. Références pour la partie métaux	12
3. ETUDE DE STABILITE DE SUBSTANCES PRIORITAIRES ORGANIQUES	13
3.1. Synthèse des méthodes d'analyse des HAP dans l'eau	14
3.1.1. Stockage des échantillons	14
3.1.2. Extraction des HAP dans l'eau	15
3.1.3. Analyse des HAP	17
3.2. Méthodes mise en œuvre	18
3.2.1. Extraction de l'échantillon	18
Extraction liquide liquide	18
Extraction sur phase solide [7,8,9]	18
3.2.2. Protocole d'extraction sur phase solide	19
3.2.3. Analyse de l'échantillon	20
3.3. Etude de stabilité	21
3.3.1. Stabilité des HAP dans l'eau	21
3.3.2. Solutions alternatives	23
3.4. Bilan de la partie organique	24
3.5. Bibliographie pour la partie organique	24
4. CONCLUSION D'ENSEMBLE	26

1. CONTEXTE

L'accréditation des laboratoires d'analyses devrait être un moyen essentiel pour l'assurance de la qualité et pour l'assurance de la comparabilité des résultats.

Après la mise en place de la norme ISO/CEI 17025 [1], les laboratoires ont renforcé leur besoin de développer des schémas de traçabilité spécifiques aux analyses chimiques et physico-chimiques.

Une façon d'assurer le plus haut niveau de traçabilité est l'utilisation de MRC (via le certificat d'étalonnage) comme échantillon testé mais cela représenterait un coût très élevé pour les organisateurs et donc pour les laboratoires. Par ailleurs leur nombre est assez restreint. Bien que les MRC disponibles soient environ 20 000 identifiés dans la banque de données COMAR [2], leur nombre couvrent insuffisamment les besoins des utilisateurs dans le domaine de l'eau, sédiments et biotes.

Les essais inter laboratoires servent à évaluer les performances des laboratoires d'analyse. Au niveau européen, la banque de données EPTIS [3] recense plus de 800 essais d'aptitude couvrant l'ensemble des différents secteurs d'activité, particulièrement celui de la chimie. Le nombre de paramètres et de matrices étudiées lors de ces intercomparaisons est très important, par exemple 250 paramètres uniquement dans le domaine de l'eau.

Les essais d'aptitude sont donc un outil indispensable qui permettent de pallier le manque de MRC dans certains secteurs. De ces essais découlent une valeur consensuelle issue de l'analyse statistique de l'ensemble des mesures. Même si une justesse relative peut être obtenue par chaque participant avec la comparaison de leur mesure et de la valeur consensuelle, aucune traçabilité métrologique n'est accordée à cette valeur, pouvant de ce fait entraîner des problèmes d'interprétation et d'exploitation des résultats par la présence de biais éventuels.

Dans le guide ISO 43-1 [4] une certaine hiérarchisation en terme de traçabilité au SI dans les méthodes pour la détermination de la valeur assignée est établie :

- 1 - Valeurs calculées par un modèle mathématique ;
- 2 - Valeurs de référence certifiées ;
- 3 - Valeurs de référence ;
- 4 - Valeurs consensuelles basées sur laboratoires sélectionnés ;
- 5 - Valeurs consensuelles de l'ensemble des participants.

La valeur consensuelle de l'ensemble des participants se situe au niveau le plus bas dans cette échelle pour garantir la traçabilité et c'est la méthode habituellement utilisée par les organisateurs d'essais d'aptitude. La valeur assignée et son incertitude sont calculées soit à partir de méthode robuste, ISO 5725-5 algorithme A [5], qui permet de travailler sur la totalité des résultats, soit avec la méthode classique, ISO 5725-2, en éliminant des valeurs aberrantes par les tests de Cochran et Grubbs [6].

La performance des laboratoires est le plus souvent évaluée par le z-score ($z = (x_i - X) / S^*$, avec x_i valeur de l'échantillon par le laboratoire i ; X moyenne des résultats des laboratoires et S^* l'écart type robuste.

Des valeurs de référence obtenues à l'aide de méthodes primaires apparaissent comme une bonne alternative. En les comparant aux valeurs consensuelles des laboratoires, elles permettent de mettre en évidence des écarts éventuels occasionnés par des biais analytiques.

Un essai de stabilité vise à déterminer le degré d'instabilité du matériau de référence (MR) après la préparation, ou pour confirmer sa stabilité. Même les matériaux « stables » peuvent montrer une instabilité pour l'une ou plusieurs propriétés. Une distinction est faite entre la stabilité dans des conditions spécifiques de stockage (stabilité à long terme), et les conditions de transport [7].

Comme dans le cas d'une étude d'homogénéité, les aspects d'assurance qualité sont aussi importants que l'évaluation de l'incertitude due aux effets d'instabilité.

La stabilité à long terme concerne l'instabilité des valeurs d'une propriété du MR dans des conditions spécifiques de stockage. Il est donc important de spécifier ces conditions et d'étudier la stabilité du matériau dans les mêmes conditions. Une température de référence appropriée devrait être choisie de façon à être pratiquement certain que le matériau sera stable à cette température.

La stabilité à court terme est seulement appropriée comme composante d'incertitude quand la stabilité d'un MR est affectée par les conditions spécifiques de transport (par exemple du producteur à l'utilisateur) en plus des conditions de stockage.

2. Etude de stabilité de substances prioritaires métalliques

L'impact toxicologique des éléments en trace métalliques dépend de leur forme chimique, de leur concentration, du contexte environnemental, de la possibilité de passage dans la chaîne du vivant.

On distingue en particulier les trois métaux mercure, plomb, cadmium, pour lesquels d'une part on n'a pas pu mettre en évidence de rôle positif pour l'activité biologique, et qui d'autre part peuvent être à l'origine de maladies graves ; ils peuvent causer des problèmes sérieux de santé comme un retard de croissance et du développement, des troubles du comportement, des perturbations des systèmes biorégulateurs responsables de troubles étiquetés fonctionnels ou psychosomatiques, des problèmes neuro-dégénératifs et finalement des lésions organiques et la maladie cancéreuse.

L'intoxication par quelques métaux, tels le mercure et le plomb peuvent aussi entraîner des phénomènes d'auto-immunité, dans lesquels le système immunitaire du patient attaque ses propres cellules.

Dans le cadre de la nouvelle directive cadre sur l'eau de 2008, une liste de substances prioritaires de polluants organiques et métalliques a été établie en précisant les Normes de Qualités Environnementales (NQE) à atteindre afin de garantir un bon état chimique des eaux de surface en Europe. Ces NQE apparaissent très basses pour certains polluants car elles ont été déterminées essentiellement sur des critères toxicologiques. D'où l'importance que les valeurs rapportées par la France soient fournies par des laboratoires d'analyses dont les performances sont en phases avec ces NQE.

Les essais inter laboratoires sont des bons outils pour évaluer les performances des laboratoires d'analyse.

Au niveau international, "l'Association Européenne des Laboratoires Nationaux de Métrologie" (EURAMET) a démarré un projet co-piloté par le LNE et ses homologues allemands (PTB, BAM). Ce projet vise à établir la traçabilité métrologique des mesures effectuées par les laboratoires d'analyse pour les substances prioritaires métalliques retenues par la DCE. A travers des comparaisons inter laboratoires, ce projet a pour objectif de démontrer la comparabilité des résultats obtenus par des laboratoires de différents pays européens.

2.1. Technique d'analyse : la dilution isotopique par ICP/MS

Les valeurs de référence lors de cette étude de stabilité ont été établies par dilution isotopique appliquée à la technique ICP/MS (de l'anglais : Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry).

La technique DI-ICP/MS est reconnue comme méthode potentiellement primaire par le Comité Consultatif pour la Quantité de Matière (CCQM) du CIPM (Comité International des Poids et mesures). Elle est maintenant largement utilisée pour la certification de matériaux de référence à « matrice » et constitue désormais l'un des maillons essentiels de la chaîne de traçabilité pour les analyses d'éléments traces.

A l'exception de quelques uns d'entre eux qui sont monoisotopiques (Na, Al, Co, As, ...), les éléments chimiques présentent en général plusieurs isotopes stables ; la masse atomique d'un élément représente donc la moyenne des masses atomiques de chaque isotope, pondérées par leur abondance naturelle. Le principe de la dilution isotopique peut être illustré, figure 1, par la détermination du nombre total d'atomes N_x d'un élément présentant deux isotopes stables A et B, fig (1-a). Si une quantité connue, N_{sp} , de ce même élément mais de composition isotopique modifiée artificiellement, appelé *spike*, fig (1-b), est ajouté à l'échantillon, un mélange peut être effectué, fig (1-c), et le rapport isotopique R_{mix} mesuré expérimentalement.

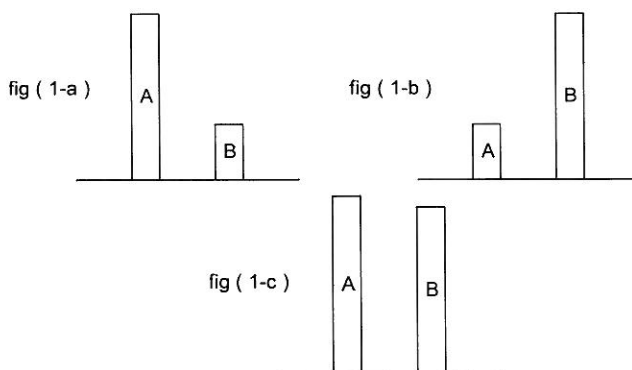


Figure 1 : Principe de la dilution isotopique

De la mesure de ce rapport altéré par l'ajout de *spike*, on détermine la concentration de l'élément à doser par la formule suivante :

$$C_x = \frac{m_{sp} \times C_{sp}}{m_x} \left[\frac{R \left(\frac{NA}{NB} \right)_{mix} \times Ab(B)_{sp} - Ab(A)_{sp}}{Ab(A)_x - R \left(\frac{NA}{NB} \right)_{mix} \times Ab(B)_x} \right] - \text{blanc} \quad (1)$$

avec:

$C_x \Rightarrow$ concentration inconnue à déterminer

$m_{sp} \Rightarrow$ masse du spike ajoutée

$C_{sp} \Rightarrow$ concentration de l'élément dans la solution de spike

$m_x \Rightarrow$ masse d'échantillon prélevée

$R \left(\frac{NA}{NB} \right)_{mix} \Rightarrow$ rapport isotopique mesuré dans le mélange

$Ab \Rightarrow$ abondance en % pondéral

$Ab(A)_{sp} \Rightarrow$ abondance de l'isotope A dans le spike

$Ab(A)_x \Rightarrow$ abondance naturelle de l'isotope A dans l'échantillon

$Ab(B)_x \Rightarrow$ abondance naturelle de l'isotope B dans l'échantillon

Il apparaît que la concentration Cx est directement liée à la mesure du rapport altéré des deux isotopes A et B de l'élément à doser, $R\left(\frac{NA}{NB}\right)_{mix}$ et à la quantité de spike (msp x csp) ajoutée dans l'échantillon. Les abondances des deux isotopes, AB, dans l'échantillon, et le "spike" sont, à quelques exceptions près, des constantes dont les valeurs sont données par la commission IUPAC (Union internationale de chimie pure et appliquée) et par le fournisseur de spike. Il est cependant connu que quelques éléments chimiques peuvent présenter des abondances isotopiques naturelles variables géologiquement comme le plomb ou hydrogéologiquement tel le bore en particulier.

Les gros atouts de la dilution isotopique pour les chimistes analystes peuvent se résumer ainsi :

- absence d'effet de matrice en raison des opérations effectuées sur l'échantillon lui-même,
- caractère absolu de la méthode car ne nécessitant pas d'étalonnage préalable de l'appareil,
- sélectivité puisque basée sur la mesure d'un rapport d'isotopes d'un même élément.

Un protocole métrologique de la dilution isotopique est représenté par le diagramme synoptique ci-dessous, figure 2.

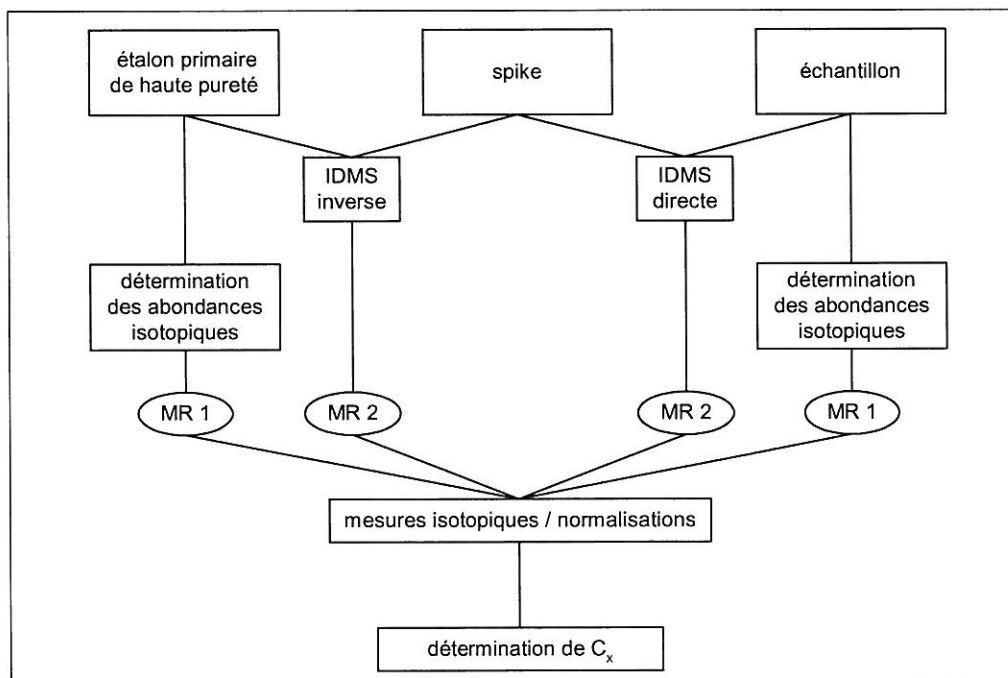


Figure 2 : Approche métrologique de la dilution isotopique : double DI-ICP/MS

2.2. Analyse des échantillons

Des tests préliminaires ont été entrepris sur un premier lot d'une eau filtrée et acidifiée à 2 % HNO_3 avec des teneurs pour les composés métalliques voisins (Ni et Pb) ou supérieures (Cd et Hg) aux NQE : Cd # 0,6 $\mu\text{g/l}$, Hg # 0,5 $\mu\text{g/l}$ (stabilisé avec BrCl), Ni # 20 $\mu\text{g/l}$ et Pb # 8 $\mu\text{g/l}$. Ces essais ont été menés sur 10 flacons, en PFA pour Cd, Ni et Pb et en verre pour Hg, avec pour objectifs de tester :

- La stabilité dans le temps des polluants métalliques (intra flacons),
- L'éventualité d'un effet inter flacons,
- L'éventualité d'une contamination (désorption), apportée par les flacons PFA et verre.

Cette étude a été menée sur 3 mois. Les analyses ont été effectuées par dilution isotopique ICP/MS, une analyse sur chaque élément par flacon et par séquence. Une analyse de la variance, ANOVA, sur l'ensemble des résultats a montré qu'il n'y avait pas d'effet flacons et que la stabilité au cours du temps était satisfaisante : la reproductibilité sur les moyennes $U_R = 2 S_R$ est voisine de 2 % relatif pour le Hg, Ni, et Pb et de 5 % pour le Cd.

Les stabilités des quatre métaux sont représentées sur les figures 3-6 :

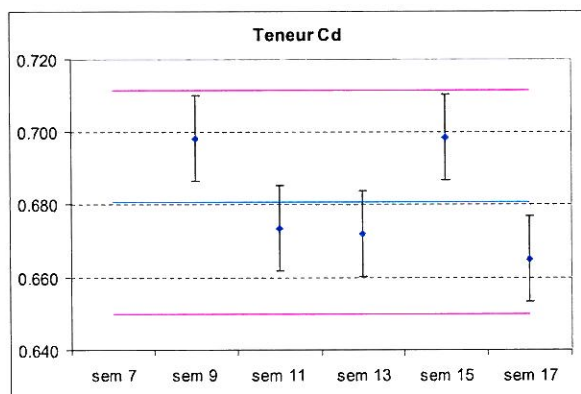


Figure 3 : Stabilité du Cd

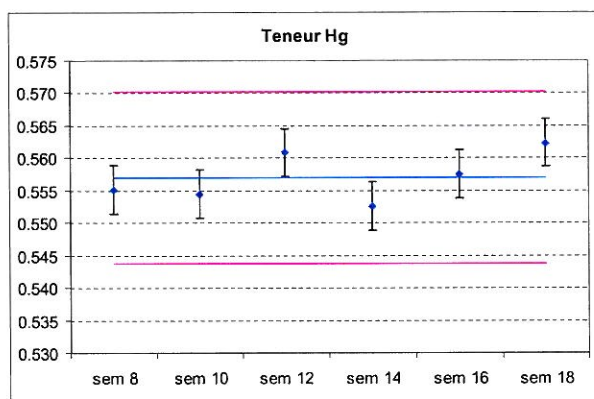


Figure 4 : Stabilité du Hg

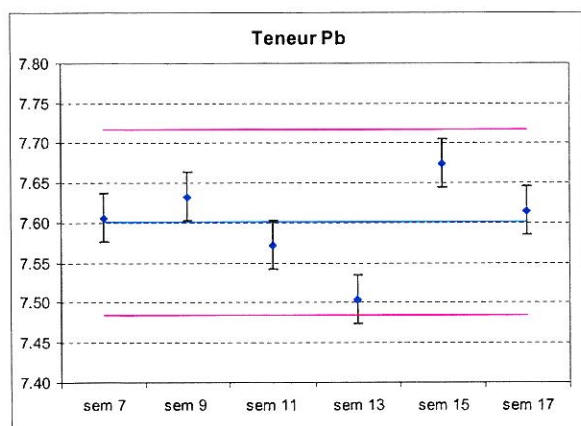


Figure 5 : Stabilité du Pb

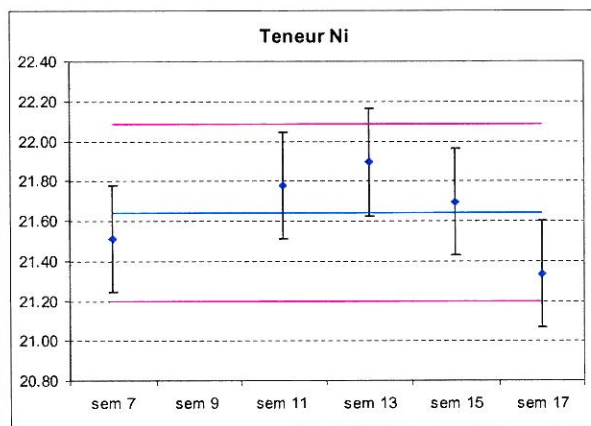


Figure 6 : Stabilité du Ni

En ce qui concerne les tests de contamination, ils ont été effectués sur 5 flacons PFA et 5 flacons verre remplis de blanc de réactifs, 2 % HNO_3 , et analysés durant 3 mois. Les analyses ont été comparées, à chaque séquence, à celles obtenues sur des solutions identiques fraîchement préparées. Aucun effet de désorption n'a été constaté. Il convient de noter que le mercure a été analysé en direct sans utiliser la technique des vapeurs froides avec une limite de quantification voisine de $\text{LQ}_{\text{Hg}} \# 0,030 \mu\text{g/l}$ (ICP/MS à secteur magnétique).

En vue d'organiser un essai inter laboratoires dans le cadre du projet EURAMET 924, un deuxième échantillon a été analysé. Il s'agit d'une eau souterraine dopée à des teneurs voisines des NQE pour les quatre composés métalliques (Cd $0.1 \mu\text{g/l}$, Ni $20 \mu\text{g/l}$, Pb $10 \mu\text{g/l}$ et Hg $0.05 \mu\text{g/l}$ -stabilisé avec $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Les études préliminaires ont montré des difficultés de préparation des échantillons à très faibles teneurs, spécifiquement pour le Hg. Dans ce contexte, une étude supplémentaire est programmée entre les pilotes du projet EURAMET afin d'améliorer la caractérisation du futur matériau candidat.

2.3. Evaluation des incertitudes de mesure

L'association de l'incertitude au résultat d'une mesure est une étape essentielle pour assurer la traçabilité et la comparabilité des valeurs, et pour finaliser la validation de la méthode appliquée.

En adoptant l'approche développée dans le GUM [8], on associe une incertitude type à chaque variable et on applique la loi de propagation des incertitudes.

Cette approche pour l'évaluation des incertitudes est intéressante car elle nous permet d'évaluer le poids des différentes composantes de l'incertitude du résultat traduisant de l'importance du paramètre sur l'expression final de U , à travers les coefficients de sensibilité $(\partial f / \partial x_i)$.

Les incertitudes associées aux valeurs de référence données ont été calculées en prenant en compte l'incertitude associée à l'ajout de métaux dans la solution (ajout obtenu par gravimétrie), celle associée à la teneur de métaux présente dans la matrice avant le dopage et l'incertitude due à l'instabilité, selon l'équation ci-dessus :

$$U_{\text{grav}} = 2 (u_{\text{aj}}^2 + u_{\text{mat}}^2 + u_{\text{stab}}^2)^{0.5}$$

2.4. Bilan pour les métaux

Cette étude préliminaire a permis d'affirmer que les composés métalliques, Cd, Ni et Pb dans une eau naturelle de surface filtrée et acidifiée à 2 % HNO_3 sont stables dans le temps et qu'il n'y a pas d'effet flacons. En ce qui concerne le Hg, sa stabilité a été prouvée à des teneurs 10 fois supérieures aux NQE.

Maintenant, dans le cadre du projet EURAMET, une intercomparaison est organisée pour les mêmes composés métalliques, regroupant une centaine de laboratoires d'analyse européens sur une eau naturelle souterraine mais aux teneurs NQE notamment pour le Hg. Cet exercice est géré en France par le BIPEA.

Dans ce cadre, une étude supplémentaire de stabilité du mercure est programmée entre les pilotes du projet EURAMET. Les résultats seront fournis à AQUAREF dès leur disponibilité.

La méthode utilisée pour déterminer la valeur a été la dilution isotopique appliquée à la technique ICP-MS. Cette méthode permet d'atteindre une haute exactitude des mesures avec des incertitudes très faibles.

Cependant, la principale contrainte est la lourdeur du protocole métrologique de la double dilution isotopique. Son transfert direct vers les laboratoires d'analyse de routine n'apparaît donc guère envisageable. En revanche sa mise en œuvre lors de campagnes nationales d'essais d'aptitudes en vue de fournir des valeurs de références suscite un grand intérêt de la part des organisateurs de ces campagnes afin d'assurer la traçabilité des analyses effectuées par les laboratoires de routine.

2.5. Références pour la partie métaux

- [1] NF EN ISO/CEI 17025, prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais, AFNOR 2000
- [2] COMAR, www.comar.bam.de
- [3] EPTIS, www.eptis.bam.de
- [4] Guide ISO / CEI 43-1, Essais d'aptitude des laboratoires par inter comparaisons – Partie 1, 1996
- [5] NF ISO 5725-5, Application de la statistique, Partie 5-1998
- [6] NF ISO 5725-2, Application de la statistique, Partie 2-1998
- [7] ISO GUIDE 35, Matériaux de référence : Principes généraux et statistiques en vue de la certification, 2006
- [8] Guide ISO, Guide pour l'expression des incertitudes de mesure (GUM) ; NF ENV13005 : 1999

Suite du rapport page suivante

3. ETUDE DE STABILITE DE SUBSTANCES PRIORITAIRES ORGANIQUES

Parallèlement aux essais de stabilité dans le temps des composés métalliques dans l'eau, des essais similaires ont été réalisés pour des composés organiques.

La DCE exige le suivi de 33 substances prioritaires dont les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques, plus communément appelés HAP, qui sont jugés comme les plus dangereux pour l'environnement et la population. Plusieurs d'entre eux sont classés comme probables ou possibles cancérogènes, pouvant en particulier provoquer l'apparition de cancers du poumon en cas d'inhalation [1,2].

De plus, la Directive du conseil 98/83/CE sur la qualité de l'eau destinée à la consommation humaine a fixé le maximal admissible à 0,0010 µg/L pour le benzo[a]pyrène et à 0,100 µg/L pour la somme de quatre HAP spécifiés (benzo[b]fluoranthène, benzo[k]fluoranthène, benzo[ghi]pérylène, indéno[1,2,3-cd]pérylène), alors que la Directive de 2008 fixe les NQE à 0,05 µg/L pour le benzo[a]pyrène et à 0,032 µg/L pour la somme des 4 composés spécifiés.

Au cours de notre étude, il a été décidé de suivre la stabilité dans l'eau de sept composés. Le Benzo[a]pyrène car c'est le HAP le plus retrouvé dans l'environnement et pour lequel la réglementation est la plus stricte. Puis six autres composés : Naphtalène, fluoranthène, benzo[b]fluoranthène, benzo[k]fluoranthène, indéno[1,2,3-cd]pérylène et le benzo[ghi]pérylène.

Ces sept HAP représentent le comportement analytique de l'ensemble des HAP (figure 2).

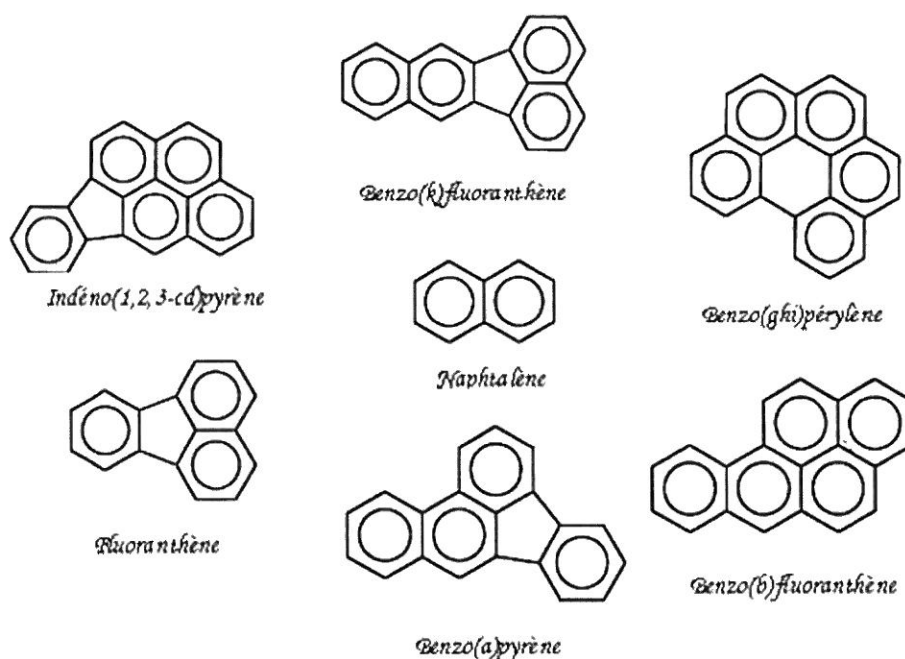


Figure 2 : Hydrocarbures aromatiques polycycliques étudiés

Suite du rapport page suivante

3.1. Synthèse des méthodes d'analyse des HAP dans l'eau

L'analyse des HAP dans l'eau se décompose en plusieurs étapes : stockage, extraction et analyse. Tout au long de ce processus, il est nécessaire de prendre des précautions afin de conserver des molécules dont les propriétés physico-chimiques (photo-sensibilité, caractère hydrophobe, ...) sont différentes.

3.1.1. Stockage des échantillons

Les propriétés physico-chimiques des HAP sont liées à leur structure : à partir du naphtalène (deux cycles aromatiques) qui peut être considéré comme moyennement soluble (32 mg/L), la solubilité décroît rapidement avec le nombre de cycles aromatiques (du mg/L au µg/L). Il en est de même pour la volatilité des HAP, dont le point d'ébullition augmente avec le poids moléculaire. Ce sont également des composés photosensibles. Pour toutes ces raisons, il est indispensable de prendre des précautions lors du stockage des échantillons d'eaux contenant des HAP.

La norme européenne EN ISO 17993 : 2002 pour l'analyse des HAP dans l'eau, préconise un stockage de l'échantillon dans des flacons (de préférence en verre) à +4°C en veillant à le protéger de la lumière jusqu'à la phase d'extraction. Il est également précisé, qu'au cours du stockage des échantillons, des pertes de HAP peuvent se produire du fait de l'adsorption sur les parois des récipients et c'est pourquoi il faut s'assurer que l'extraction soit effectuée dans un délai de 24 h après échantillonnage. Ce phénomène d'adsorption s'explique par la faible solubilité dans l'eau et le caractère hydrophobe de ces composés [3].

Cependant, le centre d'expertise en analyse environnementale du Québec a réalisé de nombreuses études sur la stabilité des composés organiques dans les eaux et notamment les HAP ([4], [5] et [6]). Ils montrent que le délai d'extraction de 7 jours, dans de l'eau de source, est acceptable [4] si les échantillons sont conservés à 4°C, à l'abri de la lumière et acidifiés à pH<2 (Tableau 1) :

Jour	% de la valeur ajoutée en BAP	
	Seul	Mélange
0	100	100
1	90	100
3	70	83
7	70	83

Tableau 1 : Résultats des essais de stabilité du Benzo[a]pyrène (BAP) dans l'eau [2]

Ces différents résultats nous prouvent que la conservation des HAP dans l'eau est délicate. Il est parfois nécessaire de prendre quelques précautions, par exemple, il peut être ajouté un solvant à l'échantillon pour diminuer les risques d'adsorption des HAP sur les parois du flacon [3]. En effet, le solvant va mouiller le verre et éviter les interactions avec les HAP.

3.1.2. Extraction des HAP dans l'eau

L'eau n'est pas un solvant compatible avec les techniques d'analyse utilisées pour doser les HAP. En effet, que ce soit une analyse par chromatographie liquide ou gazeuse, il est nécessaire de « transférer » les composés dans un solvant organique. De plus, les teneurs extrêmement faibles des HAP dans les eaux imposent une concentration de l'échantillon, car la sensibilité des détecteurs utilisés pour le dosage de ces composés ne permet pas l'analyse directe des échantillons.

Il existe plusieurs principes d'extraction qui peuvent être appliqués aux HAP dans les eaux. Les plus courants sont l'extraction liquide-liquide et l'extraction sur phase solide.

Extraction liquide-liquide

Selon la norme européenne EN ISO 17993 :2002 F, les HAP sont extraits par extraction liquide-liquide. Les différentes étapes de cette technique sont :

- *agitation* : l'échantillon d'eau et le solvant sont introduits dans un flacon puis agités. Les composés à extraire sont ainsi mis en contact avec le solvant avec lequel ils ont plus d'affinité qu'avec l'eau et donc « transférés » dans la phase organique,
- *décantation* : la solution est mise à décanter dans une ampoule afin de séparer les deux phases. La phase contenant les composés est appelée « extrait » et l'autre phase est appelée « raffinat »,
- *séparation des phases* : les deux phases sont isolées et l'extrait est récupéré,
- *séchage de l'extrait* : le sulfate de sodium anhydre est utilisé comme agent de séchage de l'extrait, afin d'en éliminer toute trace d'eau,
- *concentration* : l'extrait est évaporé avec un évaporateur rotatif jusqu'à un volume inférieur à 10 mL puis évaporé sous flux d'azote jusqu'à un volume de l'ordre de 1 mL.

Cependant, c'est une technique nécessitant une mise en œuvre longue ainsi que l'utilisation d'une quantité importante de solvant. En effet, l'extraction d'un litre d'échantillon nécessite l'utilisation d'une cinquantaine de millilitres de solvant, ce qui n'est pas compatible avec la réduction de rejets de substances dangereuses. De plus, cela nécessite un temps d'évaporation particulièrement long pouvant entraîner la perte et/ou la dégradation des HAP. Cette technique est de plus en plus remplacée par l'extraction sur phase solide qui présente de nombreux avantages, comme l'automatisation de l'extraction et le faible volume de solvant d'élution.

Extraction sur phase solide

La SPE, analogue de la chromatographie d'élution, est basée sur l'utilisation de supports d'extraction de nature variée et permet la concentration de traces de molécules organiques dans les matrices aqueuses. Elle peut également permettre une purification simultanée de l'extrait. La SPE peut être décomposée en quatre étapes (figure 3) :

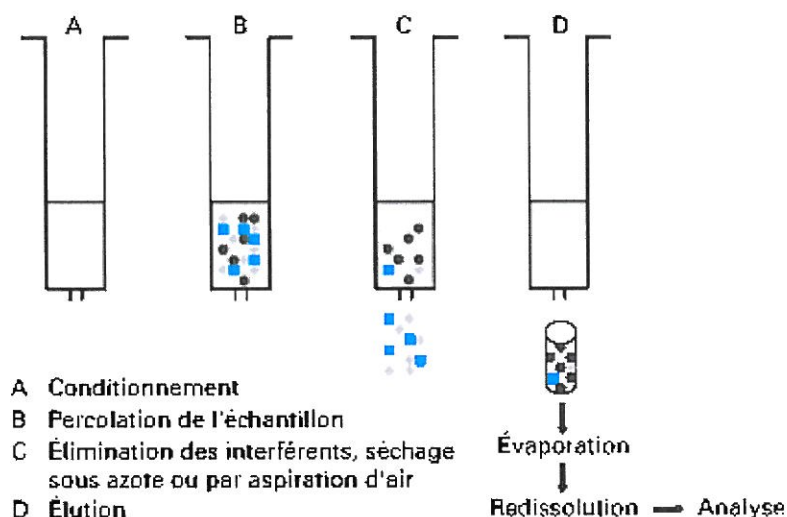


Figure 3 : Etapes de l'extraction sur phase solide

A. Le conditionnement du support solide

Cette étape consiste à percoler un solvant à travers le support pour le mouiller et solvater les groupements fonctionnels présents à sa surface. Elle peut mettre en œuvre plusieurs solvants successifs, dans le but parfois d'éliminer certaines impuretés qui pourraient être présentes dans le matériel de départ (phase solide et contenant). Néanmoins, le dernier solvant de conditionnement utilisé doit avoir une nature compatible avec celle de l'échantillon percolé soit de l'eau pour cette étude.

B. Percolation de l'échantillon

Il s'agit de l'étape clé au cours de laquelle, les composés ciblés et éventuellement d'autres composés présents dans l'échantillon se fixent sur le support solide et sont ainsi extraits de l'échantillon.

C. Le lavage

Cette étape consiste à percoler un solvant de faible force éluante de manière à éluier certains interférents tout en maintenant fixés les composés ciblés. Elle ne permet d'éliminer que des composés co-extraits plus faiblement retenus sur l'adsorbant que les composés étudiés.

D. L'éluion

Cette dernière étape est réalisée avec un solvant approprié, spécifiquement choisi pour éliminer les interactions mises en jeu entre les composés ciblés et le support solide, en évitant d'éluier des composés co-extraits et non recherchés fortement retenus sur le support solide. Le volume nécessaire à l'éluion doit être le plus petit possible pour avoir un taux d'enrichissement maximal. Après éluion des analytes du support solide, une fraction de l'éluat peut soit être analysée directement, soit être évaporée à sec et reprise dans un volume minimum de solvant. Injecté partiellement dans le système d'analyse, le solvant de redissolution est judicieusement choisi de manière à être compatible avec la phase mobile initiale.

3.1.3. Analyse des HAP

Le LNE a développé une méthode de référence métrologique pour l'analyse des HAP dans l'eau : la dilution isotopique associée à la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (DI / GC-MS).

Cependant, une autre technique, permettant d'atteindre des NQE plus basses, est la chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur de fluorescence (HPLC-fluo).

La dilution isotopique associée à la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (DI/GC-MS)

La chromatographie en phase gazeuse est une technique qui permet de séparer les différents constituants d'un mélange. Elle concerne toutes les molécules volatiles ou susceptibles d'être vaporisées sans décomposition lors du chauffage à température élevée et sous pression. La séparation des composés repose sur la distribution des constituants entre une phase mobile (gaz vecteur qui entraîne les constituants à travers la colonne) et une phase stationnaire solide (contenue dans la colonne).

La spectrométrie de masse est une technique de détection très puissante et très sensible qui permet de déterminer des structures moléculaires.

La chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur de fluorescence (HPLC-fluo)

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une technique de séparation des éléments d'un mélange basée sur l'utilisation de deux phases : une phase mobile qui déplace l'échantillon, et une phase stationnaire située dans la colonne. Suivant la nature des deux phases utilisées, les éléments à séparer se répartissent de façon sélective en fonction de leur poids moléculaire, leur taille ou leur charge.

La fluorimétrie est une méthode très sensible pour analyser des composés fluorescents ; elle permet de détecter ces composés à des concentrations très faibles et de manière très sélective. La fluorescence est la propriété qu'ont certaines molécules de ré-émettre de la lumière, lorsqu'elles sont éclairées à des domaines de longueur d'onde qui leurs sont propres. La longueur d'onde d'excitation est ajustée à la nature de la molécule étudiée. La hauteur du pic de fluorescence obtenue donne une information quantitative.

Cette technique permet d'atteindre des NQE très inférieures à celles obtenues en DI / GC-MS. Elle n'est pas considérée comme méthode de référence métrologique mais elle pourrait être utilisée lorsque l'analyse par DI / GC-MS n'est plus suffisante.

Suite du rapport page suivante

3.2. Méthodes mise en œuvre

3.2.1. Extraction de l'échantillon

Extraction liquide liquide

Cette méthode a été validée au sein de notre laboratoire, quelques résultats sont présentés dans le tableau 1 :

	naphtalène	fluoranthène	benzo[b]fluoranthène	benzo[k]fluoranthène	benzo[a]pyrène	indeno[1,2,3-cd]pyrène	benzo[ghi]pérylène
Rendement Moyen sur deux extraction (% par rapport à une valeur de référence)	90	80	96	96	82	102	96

Les résultats sont donnés avec une incertitude de $\pm 10\%$

Tableau 2 : Résultats de l'extraction liquide liquide des HAP dans 1 litre d'eau

Bien que les résultats obtenus avec cette méthode soient très satisfaisants, nous avons choisi d'utiliser la méthode SPE qui est automatisable et permet de réduire la consommation de solvant.

Extraction sur phase solide [7,8,9]

Choix de la phase adsorbante

Le choix de l'adsorbant est très important, car il faut que le support soit suffisamment rétentif pour éviter de perdre les composés lors de l'étape de percolation de l'échantillon et à la fois pas trop pour éviter l'utilisation de volume trop important de solvant lors de l'élution. Nous avons donc choisi de tester trois types de cartouches en s'appuyant sur la bibliographie et les préconisations de nos fournisseurs :

- Oasis HLB (Waters) : copolymère synthétisé à partir d'un équilibre entre un monomère hydrophile et un monomère lipophile. Il présente une mouillabilité unique lui conférant une haute capacité de rétention et d'excellents rendements sans s'assécher.
- C18 (Interchim) : phase standard en silice. Elle est très apolaire et permet des interactions hydrophobes avec une large variété de composés organiques.
- C18 PAH (Macherey Nagel) : silice ayant subi des modifications octadécyle spéciales pour l'enrichissement des HAP.

Nous avons réalisé, avec chacune des trois cartouches, l'extraction d'une eau dopée avec un mélange des sept HAP à étudier. Les concentrations obtenues ont été comparées à l'analyse d'une solution étalon, n'ayant pas subi d'extraction et appelé solution de référence (la concentration de la solution de référence = concentration théorique de l'extrait obtenu). Les résultats sont résumés dans le tableau 3 :

Cartouches	Rendement (% par rapport à la valeur de référence)						
	naphtalène	fluoranthène	benzo[b]fluoranthène	benzo[k]fluoranthène	benzo[a]pérylène	indeno[1,2,3-cd]pyrène	benzo[ghi]pérylène
OASIS HLB	95	103	95	94	98	94	91
C18	91	143	88	85	78	47	77
C18 PAH	90	143	89	87	79	46	76

Les résultats sont donnés avec une incertitude de $\pm 10\%$

Tableau 3 : Résultats des essais de phases adsorbantes

L'Oasis HLB permet d'obtenir les meilleurs rendements pour l'ensemble des HAP étudiés alors que les deux autres cartouches donnent des rendements plus faibles et en particulier pour l'indeno[1,2,3-cd]pyrène ($< 50\%$). Nous avons donc choisi d'utiliser l'OASIS HLB pour notre étude.

3.2.2. Protocole d'extraction sur phase solide

Test d'évaporation

Avant d'optimiser le protocole d'extraction, nous avons évalué les risques de pertes ou de dégradation des HAP au cours de l'étape d'évaporation de la fraction d'élution. Pour cela, des essais basés sur l'évaporation d'un volume de dichlorométhane, correspondant au volume de l'extrait après SPE, dopé avec le mélange de HAP ont permis de vérifier que l'évaporation sous azote jusqu'à un volume inférieur à 1 mL, n'entraînait pas de pertes significatives des composés étudiés (tableau 4).

	Naphtalène	Fluoranthène	Benzo[b]fluoranthène	Benzo[k]fluoranthène	Benzo[a]pyrène	Indeno[1,2,3-cd]pyrène	Benzo[ghi]pérylène
Rendement (% par rapport à une solution de référence)	80	83	99	110	111	113	83

Les résultats sont donnés avec une incertitude de $\pm 10\%$

Tableau 4 : Résultats des tests d'évaporation

Optimisation du protocole d'extraction sur phase solide [10]

Nous avons optimisé les différentes étapes de la SPE (cf. p 11) et nous obtenons le protocole suivant :

Conditionnement : 5 mL Dichlorométhane, 5mL Méthanol, 5mL Eau

Percolation : 1 L d'échantillon (eau dopée)

Lavage : eau

Séchage : sous flux d'azote

Elution : 8 ml de dichlorométhane

3.2.3. Analyse de l'échantillon

Par DI / GC-MS

Le chromatographe gazeux utilisé pour l'étude est un Clarus 600 de chez PerkinElmer couplé à un spectromètre de masse Clarus 600C de PerkinElmer. La séparation est réalisée sur une colonne avec une phase apolaire composée de 5 % phenyl, 95 % diméthylpolysiloxane, de longueur 60 m, de diamètre interne 0.25 mm, et d'épaisseur de phase 0.25 µm.

La méthode chromatographique a été optimisée pour assurer un bon compromis entre un temps d'analyse court et une bonne séparation des HAP. Les conditions retenues sont décrites ci dessous :

- Température de l'injecteur : 270 °C
- Volume d'injection : 1 µL
- Débit de gaz : 0.9 mL/min
- Injection en mode : splitless
- Programmation de four : 50 °C maintenue 2 min
5 °C/minute jusqu'à 290 °C
290 °C maintenue 35 min
- Ligne de transfert : 270 °C
- Température de la source : 250 °C

Tout au long de l'étude de stabilité, pour s'affranchir de la dérive et des variations du signal du détecteur, il est nécessaire d'utiliser un étalon interne. Nous avons choisi le 6 méthylchrysène : il est de nature chimique proche des composés à analyser, son temps de rétention se situe au milieu du chromatogramme et il ne coélue pas avec un autre composé. Il sera ajouté avant injection dans l'extrait et sera utilisé pour calculer les rendements : nous ne comparerons pas les aires des pics des composés mais les rapports des aires des pics des composés avec l'aire du pic de l'étalon interne.

HPLC – Fluo

La méthode analytique a été mise au point sur un appareil HPLC/Fluo de Thermo Surveyor avec une colonne apolaire de longueur 250 mm et de diamètre 4 mm. La méthode développée par le LNE, à partir de la norme NF EN ISO 17993 (juillet 2004), est décrite ci après :

Temps (min)	Acétonitrile (%)	Eau (%)	Débit (mL/min)
2.00	50	50	1
20.00	85	15	1
25.00	100	0	1
32.00	100	0	1
34.00	50	50	1
40.00	50	50	1

Tableau 4 : Programmation des gradients de solvant

Les longueurs d'onde d'excitation et d'émission pour chaque composé ont été optimisées (voir tableau 5) :

Composés	Longueur d'onde d'excitation (nm)	Longueur d'onde d'émission (nm)
Naphtalène	275	350
Fluoranthène	270	440
Benzo[b]fluoranthène	220	500
Benzo[k]fluoranthène	290	430
Benzo[a]pyrène	290	430
Benzo [ghi]pérylène	290	430
Indeno[123-cd]pyrène	250	500

Tableau 5 : Longueurs d'onde d'excitation et d'émission

L'HPLC fluo est une technique très sensible et répétable qui est utilisée dans les laboratoires d'analyse en routine. Elle permet d'atteindre des concentrations plus basses que celles atteintes en GC-MS d'où l'importance de l'inclure dans nos techniques d'analyse des HAP.

3.3. Etude de stabilité

Comme nous l'avons expliqué précédemment, la conservation des HAP dans l'eau nécessite une attention particulière. En effet, la norme exige un délai maximum de 24 heures de conservation des échantillons d'eau avant leur extraction. Or, même avec toutes les précautions prises par les organisateurs d'essais inter laboratoires, ce délai peut être de plusieurs jours. Il faut être certain que le matériau fabriqué pour l'essai inter laboratoires soit stable sur plusieurs jours, jusqu'à son analyse.

3.3.1. Stabilité des HAP dans l'eau

Il n'existe pas à ce jour de matériau de référence de HAP dans l'eau. Hors, il est important d'évaluer la performance des laboratoires sur l'analyse des HAP dans la matrice puisque celle ci peut avoir des effets sur l'extraction ou l'analyse. Si l'effet matrice n'est pas pris en compte, cela peut conduire à de très fortes erreurs par excès ou par défaut lors du dosage des HAP.

C'est pourquoi, nous avons donc testé un matériau contenant des HAP dans l'eau.

a- Préparation des flacons

Comme nous l'avons vu précédemment, les HAP sont sensibles à la lumière, c'est la raison pour laquelle les échantillons d'eau sont stockés dans des flacons en verre brun de 1 litre. Lors du remplissage des flacons, nous avons préalablement fait couler l'eau du robinet, pendant quelques minutes, pour être sûr d'avoir un prélèvement le plus homogène possible. Afin d'étudier l'influence de l'acidité sur la conservation des HAP dans l'eau, nous avons analysé en duplicata, chaque jour d'essai, l'eau du robinet dopée mais aussi l'eau du robinet dopée et acidifiée à pH = 4 : il a donc été nécessaire de remplir 24 flacons.

Les flacons ont tous été remplis au même moment et avant le dopage, 12 d'entre eux ont été acidifiés avec de l'acide acétique à pH = 4. Les échantillons sont agités avant d'être conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur extraction comme le préconise la norme.

b- Planning des essais

Les essais de stabilité se déroulent sur 12 jours. Les échantillons sont extraits en duplicata, aux instants t suivant la préparation, selon le planning suivant :

t=0 jour	t=1 jour		t=3 jours			t=6 jours		t=8 jours			t=11 jours
-------------	-------------	--	--------------	--	--	--------------	--	--------------	--	--	---------------

Nous avons choisi de démarrer les analyses chromatographiques trois jours après le début des essais (à $t=3$ jours). De cette façon, les échantillons ont été analysés en continu, afin de minimiser les erreurs liées aux variations du signal de l'appareil au cours du temps.

c- Résultats

Lors du dépouillement des résultats de l'essai de stabilité, nous avons obtenu des rendements anormalement élevés et une grande dispersion des rendements obtenus. Nous avons recherché les causes de cette dispersion des résultats qui ne correspond pas à la reproductibilité observée lors de la validation du protocole d'analyse. Ceci nous a amené à constater la présence d'une pollution du système d'extraction survenu au cours des essais. En effet, les blancs d'extraction réalisés avant l'essai de stabilité ne présentaient pas de problème.

D'une manière générale, il semble que, pour certains composés, l'échantillon est stable sur au minimum huit jours. Par exemple, pour l'indeno[1,2,3-cd]pyrène, nous avons obtenu les résultats présentés sur la figure 4 :

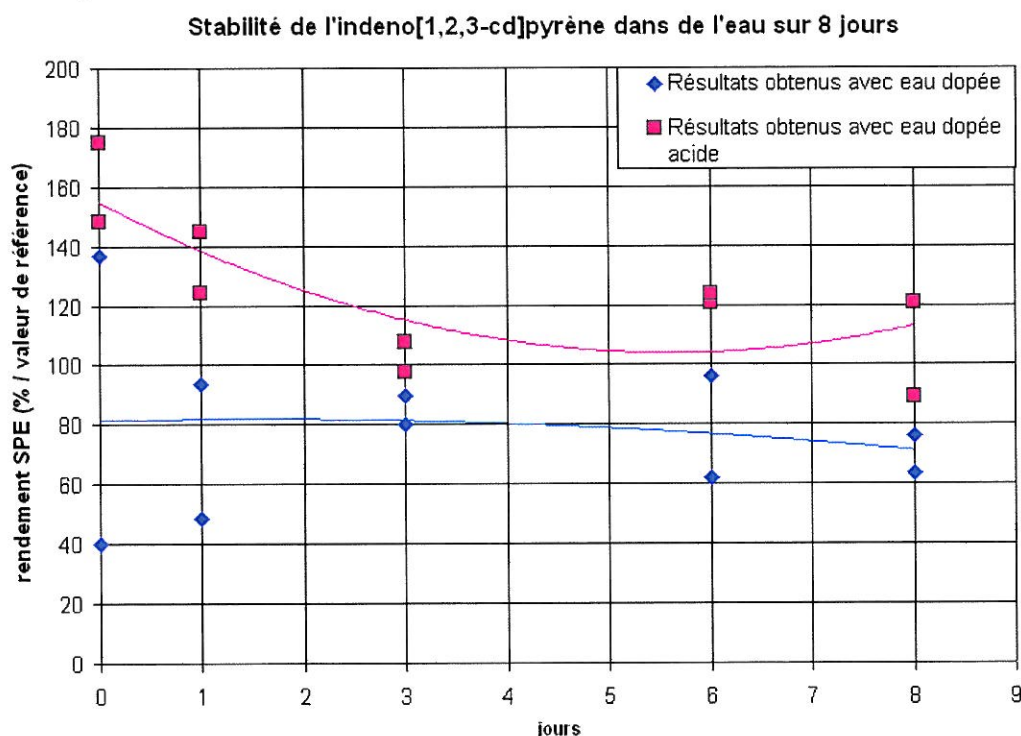


Figure 4 : Résultats de l'essai de stabilité obtenus avec l'indeno[1,2,3-cd]pyrène

A l'exception du premier échantillon qui a des valeurs très élevées, nous remarquons que les résultats sont dispersés autour de la valeur de rendement de 100%. Il ne semble pas y avoir de perte de ce composé au bout de huit jours de conservation.

Mais au vue de la dispersion des essais, nous ne pouvons pas conclure sur la différence observée entre l'eau acidifiée et non acidifiée. En effet, même si sur la figure 5, les résultats en eau acide semblent meilleurs qu'en eau non acide, cela n'est pas le cas pour tous les composés. Les résultats sont trop dispersés pour en tirer une conclusion.

Nous avons résolu nos problèmes de pollution du système et de nouveaux essais sont en cours de réalisation. De plus, en parallèle, nous avons lancé une nouvelle série d'essai suite à de nouvelles recherches bibliographiques. En effet, l'article de Busetti et al. [3] préconise l'ajout de 10% de propanol dans les flacons d'échantillonnage pour diminuer l'adsorption des HAP sur les parois. Les premiers essais sont encourageants.

3.3.2. Solutions alternatives

Ces essais de stabilité montrent toute la difficulté de conserver les HAP dans l'eau. C'est pourquoi il n'existe pas à ce jour de matériaux de référence de HAP dans l'eau [11] mais des matériaux de référence de HAP sur des supports tels que : des solvants, des supports SPE ou bien encore des pastilles. Ils sont fabriqués dans le but de disposer de matériaux de référence stable sur le long terme en tant que solutions alternatives à un matériau de référence de HAP dans l'eau. Il est clair que de disposer d'un MRC d'eau naturellement pollué en HAP représente le meilleur moyen pour les laboratoires de valider leur protocole analytique.

Comme les HAP ne sont pas stables dans ce milieu, il est nécessaire de recourir à d'autres moyens. Une première solution est d'ajouter des HAP à de l'eau. L'avantage est que le laboratoire dispose d'un MR qu'il peut ajouter à tous les types de matrices qu'il rencontre dans ses analyses et donc tester toutes les interférences qu'il peut être amené à avoir lors de ses analyses de routines. Le principal désavantage est que ces ajouts ne permettent pas de tester l'efficacité de l'extraction au niveau de certaines interactions matrice-composé.

Les MRC sous forme de pastille sont simples d'utilisation car il suffit de les dissoudre directement dans la matrice d'intérêt. Mais il leur a été souvent reproché de pouvoir perdre une partie des analytes par des effets d'abrasion qui entraîne la formation de poudre. De plus, le fait d'être sous forme solide ne permet pas de faire varier la quantité ajoutée.

C'est pourquoi le LNE a préféré développer en parallèle aux MRC des solutions étalons ainsi que des cartouches SPE

Le LNE a développé deux de ces matériaux en parallèle de l'étude de stabilité des HAP dans l'eau :

- des solutions contenant les analytes qui pourront être ajoutées à des matrices sélectionnées par l'utilisateur. Elles ont l'avantage de garder « l'effet matrice » mais ne peuvent pas simuler les interactions naturellement créées entre l'analyte et la matrice.

Les MRC sous forme de solutions permettent de pouvoir tester toutes les concentrations souhaitées (LQ, seuils réglementaires ou NQE, gamme de travail) mais peuvent limiter la solubilité de certains composés de l'eau et donc faciliter leur extraction.

Le LNE a réalisé des solutions de HAP dans l'acétonitrile et leur stabilité, à température ambiante et à l'abri de la lumière, a été suivie sur dix mois (figure 5).

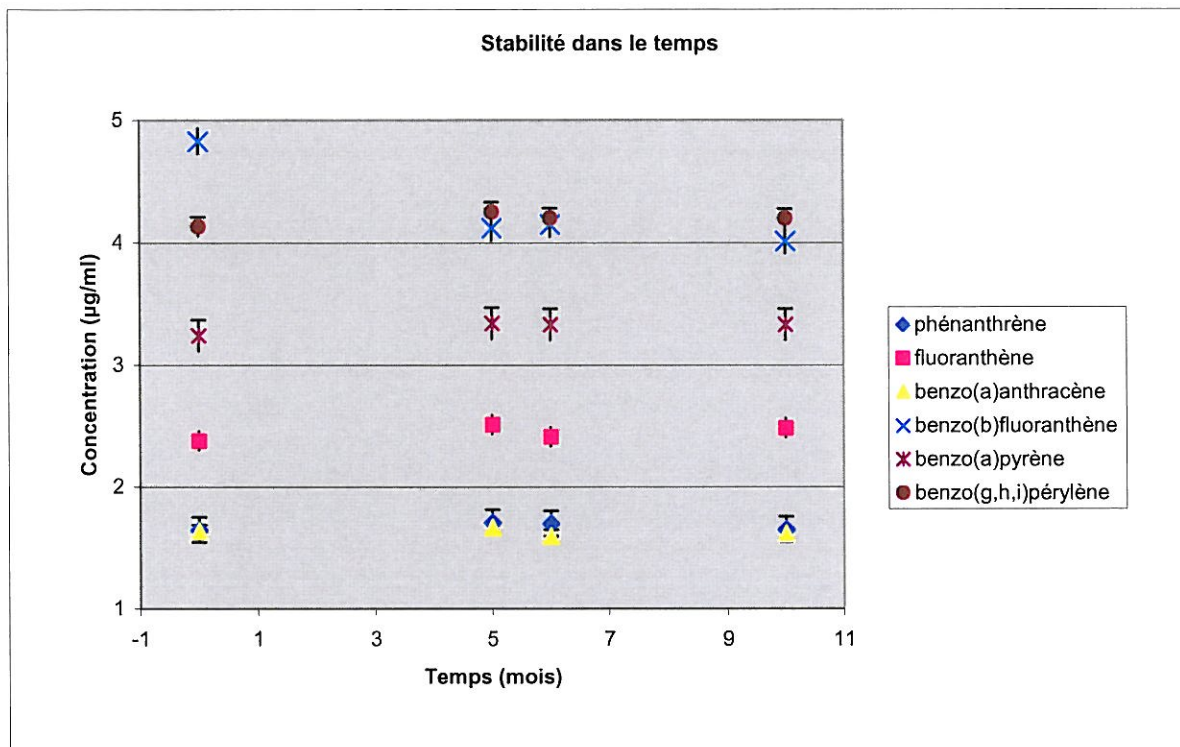


Figure 5 : Résultats de la stabilité d'une solution de HAP dans l'acétonitrile

Nous pouvons remarquer que, quels que soient les composés et leurs concentrations, il n'existe pas de différence significative entre le début et la fin de l'étude. Ce qui signifie que ces solutions sont stables sur plusieurs mois.

- Les supports SPE impliquent une séparation d'une partie de la matrice. Les composés sont piégés dans la phase adsorbante ainsi que certains constituants de la matrice qui ont été retenus par la cartouche (cela concerne les composés apolaire). Les cartouches sont conservés à 4°C avant l'élution des composés par le solvant adéquat pour analyse.
Après avoir sélectionné l'adsorbant le mieux adapté à la rétention des HAP, des essais de stabilité sont en cours de réalisation.

3.4. Bilan de la partie organique

Les résultats obtenus confirment la difficulté à conserver les échantillons d'eau contenant des HAP. En effet, les phénomènes d'adsorption des composés sur les parois du verre entraînent des erreurs supplémentaires pour la détermination de la concentration finale. C'est pourquoi il est nécessaire de prendre des précautions de manipulation comme, par exemple, ajouter 10% de propanol dans l'eau pour éviter l'adsorption. Les résultats des essais de stabilité sont donc en cours de validation dans le but de fournir un matériau de référence pour le lancement d'une inter comparaison.

3.5. Bibliographie pour la partie organique

- [1] The "Carcinogenic" Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, A. Luch Imperial College Press, London (2005) ISBN 1-86094-417-5.

- [2] Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) : évaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérogènes : approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique – FET) et approche par mélanges, B. Doornaert, A. Pichard, Rapport INERIS (2003).
- [3] Determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous and solid samples from an Italian wastewater treatment plant, F.Buseti, Atheists, M.Cuomo, S.Badoer, P.traverse, Journal of Chromatography A, 1102 (2006) 104-115.
- [4] Methods for taking and preserving samples for the application of the regulation respecting the quality of drinking water, centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, DR-09-03, 2005.
- [5] Validation du délai d'extraction du benzo[a]pyrène dans l'eau potable, Parlons accréditation du centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, vol.1, n°2, mai 2004.
- [6] Mode de conservation pour l'échantillonnage de rejets liquides, centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, DR-09-04, 2004.
- [7] Extraction sur phase solide pour l'analyse de composés organiques, V. Pichon, Technique de l'ingénieur.
- [8] Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds, R.M. Marcé, F. Borrul, Journal of Chromatography A, 885 (200) 273-290.
- [9] Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation using solid-phase extraction and column liquid chromatography, Guyla Kiss, Zita Varga-Puchony, Jozsef Hlavay, Journal of chromatography A, 725 (1996) 261-272.
- [10] Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in drinking water, Waters application note, WA31764.127, 2003.
- [11] Final report on existing AQS tools and RMs, European analytical quality control in support of the water framework directive via the water information system for Europe.

Suite du rapport page suivante

4. CONCLUSION D'ENSEMBLE

Les travaux présentés dans ce rapport permettent d'affirmer que les composés métalliques, Cd, Ni et Pb dans une eau naturelle de surface filtrée et acidifiée à 2 % HNO_3 sont stables dans le temps et qu'il n'y a pas d'effet flacons pour cette matrice et aux concentrations testées.

En ce qui concerne le Hg, sa stabilité a été prouvée à des teneurs 10 fois supérieures aux NQE.

Maintenant, dans le cadre du projet EURAMET, une intercomparaison pour les mêmes composés métalliques est organisée avec une centaine de laboratoires d'analyses européens sur une eau naturelle souterraine aux teneurs NQE notamment pour le Hg. Cet exercice est géré en France par le BIPEA.

Dans ce cadre, une étude supplémentaire de stabilité du mercure est programmée entre les pilotes du projet EURAMET. Les résultats seront fournis à AQUAREF dès leur disponibilité (prévision fin 2009-début 2010).

Ce rapport démontre aussi que les composés organiques HAP dans l'eau sont plus délicats à stabiliser, alors que ces composés sont stables plus de 10 mois dans des solutions à base d'acétonitrile, mais encore en phase d'étude pour les supports SPE.

Les premiers résultats ont aussi montré l'extrême sensibilité à la pollution du système d'extraction de la SPE qui a été détecté au niveau des NQE dans le cadre de cette étude.

Cette pollution peut se produire en analyse de routine sans qu'elle soit détectée aussi nettement. Des tests pour améliorer cette étape sont encore en cours. Ils portent sur l'ajout de 10% de propanol dans les flacons d'échantillonnage afin de réduire encore plus l'adsorption des HAP sur les parois du flacon. Les premiers résultats sont encourageants. Cette partie viendra compléter ce rapport dès la fin des tests, dans une version finale.

Une fois la stabilité du matériau vérifié, un essai inter laboratoire pourra être organisé pour les laboratoires de routine.

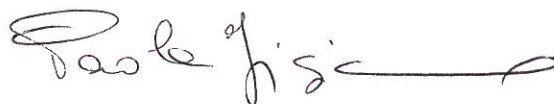
Paris, le 02 mars 2009

**La Responsable du
Pôle Chimie et Biologie**



Sophie VASLIN-REIMANN

**La Responsable du Département
Biomédical et Chimie Inorganique**



Paola FISICARO