

APPLICATION DE LA METHODOLOGIE QUECHERS SUR L'EXTRACTION DES PESTICIDES ET DES POLYBROMODIPHENYLEETHERS (PBDE) DANS LES SEDIMENTS

EVALUATION PRELIMINAIRE

II-B action 9

Jérôme Beaumont, Simon Godin, Nicolas Riem,
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) : Jérôme Beaumont, Simon Godin, Nicolas Riem et François Lestremau

Jérôme Beaumont
INERIS
Email : jerome.beaumont@ineris.fr

Nicolas RIEM
INERIS
Email : nicolas.riem@ineris.fr

Francois Lestremau
INERIS
Email : francois.lestremau@ineris.fr

Vérification du document :

Julie Cabillic
LNE
Email : Julie.cabillic@lne.fr

Eva Lionard
IRSTEA
Email : eva.lionard@irstea.fr

Cécile Miège
IRSTEA
Email : cecile.miege@irstea.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 - Application de la méthodologie Quechers sur l'extraction des pesticides et des polybromodiphényléthers (PBDE) dans les sédiments - Evaluation préliminaire - Rapport AQUAREF 2012 - 69 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	15
3. EVALUATION DE LA METHODE QUECHERS POUR L'ANALYSE DES POLYBROMODIPHENYLEETHERS (PBDE) DANS LES SEDIMENTS	16
3.1 Contexte	16
3.2 Conditions analytiques	17
3.3 Protocole d'extraction Quechers	17
3.4 Optimisation de la procédure analytique	18
3.5 Bilan sur la procédure analytique testée pour l'analyse des PBDE dans les sédiments	24
4. EVALUATION DE LA METHODE QUECHERS POUR L'ANALYSE DE PESTICIDES DANS LES SEDIMENTS	24
4.1 Contexte	24
4.2 Conditions analytiques	25
4.3 Protocole d'extraction quechers	25
4.4 Etude des performances de la méthode QuECHERS pour l'analyse des pesticides dans les sédiments	26
4.5 Bilan sur l'analyse des pesticides dans les sédiments par QueChers	33
5. CONCLUSION	34
6. REFERENCES	35
7. LISTE DES ANNEXES	37

Tableau 1 Rendement calculé par comparaison avec la valeur de référence en % (CV entre parenthèse en %).....	23
Tableau 2 Liste des pesticides considérés pour l'étude	25
Tableau 3 Récupération moyenne des étalons internes des pesticides étudiés (n=3) dans les sédiments sec dopés à 100 ng/g (entre parenthèses les coefficients de variation (CV)) (les analytes sont classés par ordre de temps de rétention)	27
Tableau 4 Récupération moyenne des pesticides (n=3) dans les sédiments secs dopés à 100 ng/g (entre parenthèses les CV).....	28
Tableau 5 Rendement (en%) calculés en comparaison avec la valeur de certification du matériau certifié (CRM804-050) sec (entre parenthèse, les incertitudes calculées en % avec n=3). Dans la dernière colonne, les valeurs pour la dieldrine et l'endrine calculées en utilisant l'alpha-endosulfan-d ₄ comme étalon interne (EI).	29
Tableau 6 Récupération moyenne des étalons internes des pesticides étudiés (n=3) dans les sédiments humides dopés à 100 ng/g (entre parenthèses les coefficients de variation (CV)).....	30
Tableau 7 Moyenne des taux de récupération des composés cibles (en %) et coefficient de variation (entre parenthèse en %) (n=10).....	31
Tableau 8 Rendements (en%) de l'effet de l'adjonction d'eau calculés en comparaison avec la valeur de certification du matériau certifié (CRM804-050) (entre parenthèse, les incertitudes calculées en % avec n=3).	33

Figure 1: Description schématique de la procédure analytique (DSPE dispersive solid phase extraction, C ₆ : hexane, DCM : dichlorométhane)	17
Figure 2 Comparaison des rendements d'extraction en fonction de l'adsorbant utilisé dans la procédure analytique (m _{ads} =200 mg et reprise dans l'hexane) n=3 ; sédiment dopé à 10 ng/g /BDE sauf BDE-209 (100ng/g).....	19
Figure 3 Chromatogrammes des extraits de sédiment dopé à 10 ng/g /BDE (sauf BDE-209 (100ng/g)) en fonction de l'adsorbant (m _{ads} = 200 mg et reprise dans l'hexane), comparaison avec un extrait brut (sans purification).	20
Figure 4 Comparaison des rendements pour l'évaluation de l'inertie du Florisil® pour une masse d'adsorbant de 200 et 500 mg, sédiments dopés à 10 ng/g (sauf BDE 209 à 100 ng/g), n=3.....	21
Figure 5 Comparaison des rendements d'extraction en fonction du mode d'extraction mis en œuvre (adsorbant: 500 mg de Florisil® et reprise à l'isooctane) ; sédiments dopés à 10 ng/g (sauf BDE 209 à 100 ng/g), (n=3).....	22
Figure 6 Résultats de l'analyse du sédiment de référence BROCC-02 (adsorbant: 500 mg de Florisil® et reprise isooctane) n=3 ; BDE 77, 140, 181 et 209* utilisé comme étalon interne	23
Figure 7 : Protocole QuEChERS (en rouge, le paramètre rajouté pour utilisation sur sédiment « mouillé »).....	26
Figure 8 Essais sur matériau certifié (CRM804-050) sec. En vert, les valeurs pour la dieldrine et l'endrine calculées en utilisant l'alpha-endosulfan-d ₄ comme étalon interne (EI).	29
Figure 9 Effet de l'adjonction d'eau (10% et 20%) au sédiment avant extraction sur le CRM804-050.....	33

Liste des annexes :

Annexe 1 :	Conditions expérimentales utilisées pour l'analyse des PBDE dans les sédiments,
Annexe 2 :	Chromatogramme type de l'analyse des PBDE (10 ng/mL par BDE, 100 ng/mL pour le BDE209 dans l'isooctane),
Annexe 3 :	Conditions expérimentales utilisées pour l'analyse des pesticides dans les sédiments,
Annexe 4 :	Etude de la perte des pesticides par adsorption sur les phases adsorbantes (C18 et PSA) utilisées pour la purification,
Annexe 5 :	Protocole de préparation des sédiments pour l'analyse des pesticides,
Annexe 6 :	Chromatogramme d'un étalon de pesticides à 100 ng/mL dans l'acétonitrile obtenu par GC/MS/MS,
Annexe 7 :	Chromatogramme d'un extrait de sédiment à 10 ng/g dans l'acétonitrile obtenu par GC/MS/MS.

APPLICATION DE LA METHODOLOGIE QUECHERS SUR L'EXTRACTION DES PESTICIDES ET DES POLYBROMODIPHENYLETHERS (PBDE) DANS LES SEDIMENTS

JEROME BEAUMONT, SIMON GODIN, NICOLAS RIEM ET FRANÇOIS LESTREMAU

RESUME

L'analyse des micropolluants contenus dans les sédiments requiert généralement un processus complexe comprenant plusieurs étapes successives d'extraction et de purification d'échantillons. La méthode la plus généralement utilisée est l'extraction par solvant pressurisé qui extrait les composés cibles mais également de nombreux composés interférents de la matrice. De plus, cette technique est relativement coûteuse car elle nécessite un équipement spécifique. La technique QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) apparaît comme une alternative simple en œuvre, peu coûteuse et entraînant une faible consommation de solvant. Cette technique a été évaluée dans cette étude pour l'analyse de pesticides et des polybromodiphényléthers (PBDE) dans les sédiments.

Pour les PBDE, des optimisations de méthode ont permis de sélectionner 500 mg de Florisil® comme adsorbant le plus adapté pour la purification par extraction sur phase solide par dispersion (DSPE). En utilisant cette approche avec une extraction par un mélange hexane/dichlorométhane (20/80 v/v) par agitation au vortex, des rendements d'extractions supérieurs à 80 % ont été obtenus pour la majorité des BDE testés. Des résultats comparables aux méthodes de référence ont également pu être obtenus sur un sédiment de référence.

Pour les pesticides, la méthode et protocole de purification utilisés pour l'extraction dans les fruits et légumes ont été repris. Ainsi, une extraction avec agitation par vortex avec de l'acétonitrile et une purification par DSPE avec des tubes contenant 400 mg de sulfate de sodium, 400 mg de silice greffée C₁₈ et 400 mg de PSA (adsorbant contenant des amines primaires et secondaires) ont été utilisés.

Avec cette approche, des rendements compris entre 80 et 120 % ont été obtenus pour la majorité des composés testés. Sur les sédiments de référence, des résultats satisfaisants ont également été obtenus.

Mots clés (thématique et géographique) :

Quechers, PBDE, pesticides, sédiments

APPLICATION OF QUECHERS METHODOLOGY FOR THE EXTRACTION OF PESTICIDES AND POLYBROMINATED DIPHENYLETHER (PBDE) IN SEDIMENTS

JEROME BEAUMONT, SIMON GODIN, NICOLAS RIEM ET FRANÇOIS LESTREMAU

ABSTRACTS

The analysis of micropollutants present in sediments generally requires to carry out a complex protocol including several successive steps for sample extraction and purification. The most popular method, the extraction by pressurized fluid, is very efficient for extracting the target analytes but also for all the other potentially interfering components that might be present within the matrix. Moreover, this technique is relatively expensive since dedicated equipment is needed. The Quechers (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) approach can be regarded as an alternative technique easy to handle, relatively cheap and with low solvent consumption. This technique has been evaluated in this study for the analysis of pesticides and polybrominated diphenylether (PBDE) in sediments.

For PBDE, method optimizations showed that 500 mg of the adsorbant Florisil® was most suited for the purification step by dispersive solid phase extraction (DSPE). Using this approach combined with an hexane/dichloromethane (20/80 v/v) extraction by vortex agitation, extraction yield over 80 % were obtained for most of the BDE studied. Similar results to reference methods were also determined when tested on reference material.

For pesticides, the same method and purification protocol as used for the extraction in fruits and vegetables was applied. Therefore, an extraction with vortex agitation using acetonitrile and a purification step by DSPE with tube including 400 mg of sodium sulfate, 400 mg of C18 and 400 mg of PSA was carried out.

With this approach, recoveries ranging from 80 to 120 % were obtained for most of tested compounds. With reference material, satisfying results were also observed.

Key words (thematic and geographical area) :

Quechers, PBDE, pesticides, sediments

PRÉAMBULE


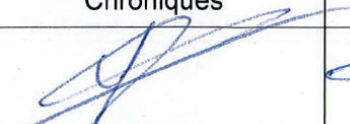

Le présent rapport a été établi sur la base des informations fournies à l'INERIS, des données (scientifiques ou techniques) disponibles et objectives et de la réglementation en vigueur.

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 équivalents 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,
CV	Coefficient de variation,
CRM	Matériaux de référence certifiés (Certified Reference Material),
DCM	Dichlorométhane,
DSPE	Extraction sur phase solide par dispersion (dispersive solid phase extraction),
EI	Etalon Interne,
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse,
GC/MS/MS	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem,
LQ	Limite de quantification,
LSE	Extraction liquide/solide,
PBDE	Polybromodiphényléthers,
PFE	Extraction par solvant pressurisé (Pressurized Fluid Extraction),
PSA	Amine primaire et secondaire (primary and secondary amines),
PTV	Volatilisation par programmation de température,
QuEChERS	Quick (rapide), Easy (facile), Cheap (bon marché), Effective (efficace), Rugged (robuste) and Safe (sûre),
SPE	Extraction sur phase solide (Solid Phase Extraction),
US	Extraction par ultrasons.

2. INTRODUCTION

L'analyse des micropolluants contenus dans les sédiments requiert généralement un processus complexe de plusieurs étapes successives. En effet, les composés doivent dans un premier temps être extraits de la matrice. Une étape de purification doit ensuite être mise en œuvre afin de retirer les substances qui pourraient interférer lors de l'analyse.

L'extraction par solvant pressurisé (PFE) est majoritairement utilisée pour les matrices solides depuis ces dernières années par rapport à d'autres techniques comme le Soxhlet ou les ultrasons. Cette technique permet généralement de récupérer efficacement les composés piégés dans les matrices de sédiments en minimisant le temps d'extraction et le volume de solvant utilisé.

Cependant, les extractions sont effectuées dans des conditions de haute température (> 100 °C) et pression (~ 100 bar) et ne sont donc pas sélectives. Ainsi, une grande partie (voire la totalité) des autres interférents présents dans la matrice vont également être extraits en même temps que les composés cibles. De ce fait, des méthodes très élaborées de purification des extraits doivent être mise en œuvre afin de retirer ces nombreuses substances potentiellement interférentes.

De plus, les instruments de PFE et les consommables associés sont relativement coûteux ce qui peut constituer un frein à leur présence et utilisation comme technique de référence dans tous les laboratoires de routine.

En 2003, Anastassiades *et al.* ont développé une nouvelle méthode d'extraction des pesticides dans les fruits et légumes [1]. Les auteurs voulaient alors disposer d'une méthode d'extraction qui soit simple, rapide et bon marché. Cette méthode d'extraction a été baptisée QuEChERS pour Quick (rapide), Easy (facile), Cheap (bon marché), Effective (efficace), Rugged (robuste) and Safe (sûre).

Pour les pesticides dans les fruits et légumes, cette méthode offre ainsi de nombreux avantages. Tout d'abord, elle apparaît aussi efficace et robuste que les méthodes d'extraction conventionnelles (PFE, Soxhlet, ultrasons...) [1]. De plus, elle est constituée d'étapes ne durant que quelques minutes, ainsi les durées d'extraction et de purification d'extrait sont fortement réduites par rapport aux méthodes traditionnelles. Ensuite, elle représente une méthode d'extraction peu coûteuse que cela soit en termes d'investissement (centrifugeuse + vortex) qu'en termes de consommable et de solvant utilisé. Enfin, cette technique d'extraction est considérée comme relativement douce (extraction avec l'acétonitrile et agitation mécanique) minimisant ainsi les risques d'extraction d'interférents et simplifiant à priori l'analyse chromatographique.

Une norme européenne, NF EN 15562, parue en décembre 2009, est dédiée au QuEChERS et en définit le domaine d'applicabilité dans les matrices alimentaires ainsi que le protocole analytique [2].

Certains travaux parus dans la littérature ont démontré l'applicabilité de cette technique à des matrices environnementales dont les sédiments [3-8].

Le but de cette étude vise ainsi à étudier l'applicabilité de cette technique sur l'analyse de composés tels que les polybromodiphényléthers (PBDE) et certains pesticides dans les sédiments.

Principe et généralités sur la méthode QuEChERS

Le principe de la méthode QuEChERS décrite dans la norme NF EN 15662 [2] pour les végétaux fait apparaître 3 grandes étapes :

1. Une extraction Liquide/Solide des végétaux.

Celle de la norme NF EN 15562 préconise l'utilisation de l'acétonitrile avec une agitation manuelle de 1 min.

Cependant, pour notre étude, nous avons considéré que le principe de l'extraction par QuEChERS reposait sur une extraction par solvant par agitation. Ainsi, dans cette optique, n'importe quel solvant adapté à l'extraction peut être utilisé. Afin de pouvoir effectuer des séries en parallèle, un vortex a été utilisé dans cette étude.

2. Un ajout de tampons et de sels peut être effectué pour favoriser la séparation des phases et le transfert préférentiel des pesticides vers un compartiment.

Cette étape est particulièrement importante si l'échantillon contient beaucoup d'eau. Pour l'analyse de sédiments secs, cette étape n'a pas été considérée. L'échantillon traité est alors centrifugé et le surnageant prélevé et éventuellement concentré.

3. Une purification dispersive de l'extrait sur différentes phases solides. Elle est effectuée par ajout d'un ou plusieurs adsorbants (C_{18} , d'adsorbant à amines primaires et secondaires (PSA),...). Le mélange est ensuite agité manuellement pendant 1 min. Les composés interférents de la matrice vont venir se piéger sur les adsorbants. Le surnageant est récupéré et injecté dans l'appareil analytique.

3. EVALUATION DE LA METHODE QUECHERS POUR L'ANALYSE DES POLYBROMODIPHENYLEETHERS (PBDE) DANS LES SEDIMENTS

3.1 CONTEXTE

Les polybromodiphényléthers (PBDE) ont été classés comme polluants prioritaires par la directive cadre eau [9]. Les PBDE sont des molécules très lipophiles dont le coefficient de partage eau-octanol ($\log K_{ow}$) se situe entre 5 et 9. Ainsi, dans les milieux aquatiques, ils sont retrouvés majoritairement dans les sédiments.

Pour leurs analyses dans ces milieux, 2 documents servent principalement de référence : la méthode EPA 1614 [10] publiée en 2007 relative à l'analyse des PBDE dans les eaux, les sols, les sédiments et les tissus, et également la norme ISO 22032 [11] publiée en 2006 concernant les sédiments et les boues d'épuration. En France, AQUAREF a également publié une méthode d'analyse (fiche MA5 [12]) basée sur la norme ISO 22032 [11]. Le principe utilisé est le même pour ces 3 documents, il s'agit d'une extraction solide-liquide suivi d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Les extractions sont effectuées par PFE ce qui implique une purification assez poussée à la suite. La norme ISO 22032 recommande une purification par chromatographie en colonne de verre avec 3 couches distinctes (silice activée, silice activée acide, silice activée basique). Ce procédé nécessite beaucoup de temps de préparation et de mise en œuvre.

Une purification simplifiée implique l'utilisation d'alumine activée basique en remplacement des 3 couches. Ce type de purification permet d'obtenir des résultats similaires à la purification par 3 couches. S'il est plus pratique d'utilisation que la méthode multicouche, ce protocole de purification est également long à mettre en œuvre et consomme relativement beaucoup de solvant (~ 100 mL).

Afin de simplifier le protocole analytique incluant l'extraction et la purification, le but de cette étude est de déterminer si le traitement de type QuEChERS peut être appliqué au PBDE et de comparer les résultats à ceux obtenus avec les méthodes traditionnelles telles que le PFE ou les ultrasons.

Pour cette étude, les BDE de la DCE 28, 47, 99, 100, 153,154 ainsi que les BDE 183 et 209 ont été considérés.

Note : Les PBDE se réfèrent à un mélange ou à plusieurs composés bromodiphényléthers. Les BDE ne désignent que les formes individuelles d'où l'utilisation de ces 2 termes.

3.2 CONDITIONS ANALYTIQUES

Toutes les conditions expérimentales (réactifs et étalons, échantillons utilisés, conditions analytiques, procédure de dopage des échantillons) sont décrites en annexe 1. Un exemple de chromatogramme type en solvant est également présenté en annexe 2.

3.3 PROTOCOLE D'EXTRACTION QUECHERS

La stratégie analytique initiale qui a été utilisée est basée sur les travaux de Fontana *et al.* [13]. Elle est décrite schématiquement dans la figure ci-dessous.

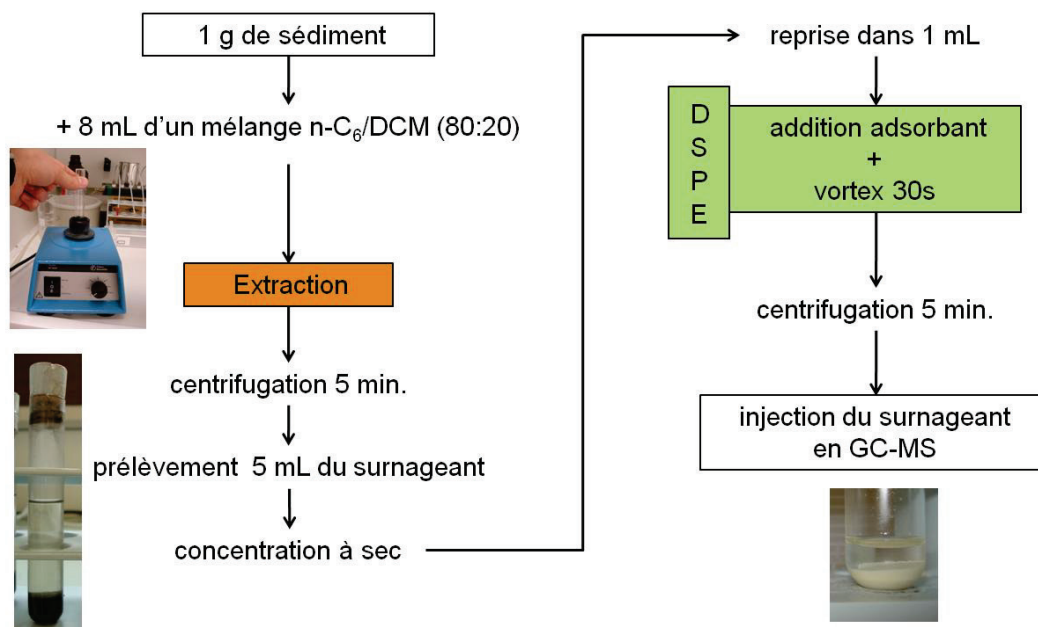


Figure 1: Description schématique de la procédure analytique (DSPE dispersive solid phase extraction, C₆ : hexane, DCM : dichlorométhane)

Le choix du solvant d'extraction est basé sur la procédure utilisée par Fontana *et al.*[13] et sa composition est également proche des mélanges utilisés par la norme ISO 22032 (hexane/DCM). Les PBDE n'étant pas des substances volatiles, le solvant d'extraction est concentré à sec puis repris dans 1 mL d'hexane. La purification est alors accomplie grâce à l'extraction par dispersion de phase solide (dispersive solid phase extraction (DSPE)).

A la différence des extractions sur phase solide où l'extrait est passé à travers une cartouche (SPE), cette procédure implique l'ajout d'une quantité de support extractant directement dans l'extrait. Le mélange est agité pour favoriser l'interaction entre les 2 phases. Les impuretés sont alors fixées sur ces adsorbants ce qui permet la purification.

La neutralité de la purification par rapport aux composés cibles doit cependant être vérifiée. Après la purification et une centrifugation, le surnageant est prélevé et directement injecté dans le système de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Plusieurs étapes de ce protocole ont été optimisées :

- Purification
 - Les 4 phases suivantes ont été évaluées: silice greffée C18, alumine basique, silice et Florisil®.
 - Masse d'adsorbant : des essais avec 200 et 500 mg sur l'adsorbant sélectionné ont été effectués.
- Solvant de reprise : La reprise de l'échantillon avant DSPE était initialement réalisée dans l'hexane. Ceci impliquait un changement de solvant avant l'injection en GC-MS, c'est-à-dire que le surnageant était prélevé après la DSPE, ramené à sec et repris dans 1 mL d'isooctane (l'étalonnage ayant été réalisé dans l'isooctane). Toutefois, ce changement de solvant étant long, la possibilité de reprendre directement l'extrait dans l'isooctane et de réaliser la DSPE dans ce solvant a été évaluée.
- Extraction : plusieurs techniques d'extraction alternatives au PFE (ultrasons, agitation manuelle, par vortex, par contact) ont été évaluées.

3.4 OPTIMISATION DE LA PROCEDURE ANALYTIQUE

L'optimisation de la procédure analytique est effectuée en plusieurs étapes dont la première est l'étape de purification. En effet, à la différence de la purification par extraction sur phase solide où les analytes sont piégés sur l'adsorbant, la purification par adsorbant dispersif doit piéger les composés interférents de la matrice. Il faut donc s'assurer que les adsorbants ne retiennent pas les composés d'intérêt tout en purifiant l'extrait. Une fois cette étape achevée, les optimisations liées à l'extraction peuvent être mises en œuvre.

• Etape de purification

4 phases adsorbantes ont été évaluées : C18, alumine basique, silice et Florisil®.

- Test de l'inertie des adsorbants en solvant dopé.

Dans un premier temps, l'absence d'adsorption des supports adsorbants testés a été estimée dans le cas de la DSPE avec du solvant dopé. Le solvant est préalablement dopé avec 10 ng de PBDE puis 200 mg d'adsorbant était ajouté. Le mélange était ensuite agité par vortex pendant 1 min. Les rendements pour ces expériences ont montré que des pertes importantes avaient lieu lors de la DSPE sur alumine basique et silice (rendements de purification de l'ordre de 50 % pour l'alumine basique et de l'ordre de 70 % pour la silice).

A l'inverse, les rendements de purification sur Florisil® et C18 se situent autour de 90 %, démontrant ainsi une absence d'interaction de ces adsorbants avec les PBDE.

- Rendement d'extraction sur sédiments dopés avec purification par DSPE avec les adsorbants considérés

L'application de la procédure d'extraction avec ces 4 adsorbants ($m_{\text{adsorbant}} = 200 \text{ mg}$ et reprise dans l'hexane) pour l'extraction en triplicat de sédiment dopé à 10ng/g par BDE a donné les résultats présentés figure 2. Les rendements observés pour la silice et l'alumine basique confirment ceux obtenus avec les tests de l'inertie des adsorbants. Des rendements très satisfaisants (entre 80 et 120 %) sont cependant atteints sur Florisil® et C18, indiquant que la méthode extrait efficacement les PBDE du sédiment dopé vers le solvant. Les valeurs aberrantes obtenues pour le rendement du BDE-209 et du ^{13}C -BDE-209 ont pour cause un problème au niveau de la détection de ces molécules dans l'analyse de l'étalon qualité servant de référence (signal trop faible à cause d'un probable encrassement du système). La purification apportée par la DSPE est mise en évidence dans les chromatogrammes de la figure 3. Pour l'extrait brut, les pics sont plus larges et un bruit de fond important apparaît au niveau du segment de temps du BDE-209.

La purification par DSPE permet ainsi de corriger de manière significative ces problèmes d'interférences. La phase greffée C_{18} semble cependant moins efficace que le florilil comme le montre le chromatogramme en figure 3 ainsi que la coloration persistante des extraits qui a été obtenue après purification sur cet adsorbant.

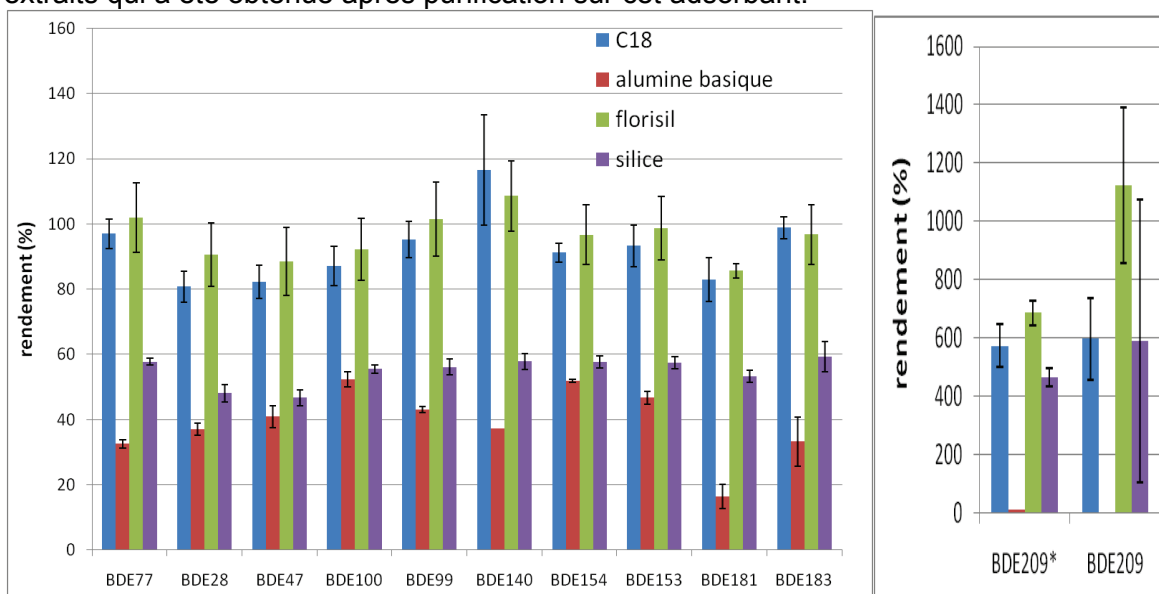


Figure 2 Comparaison des rendements d'extraction en fonction de l'adsorbant utilisé dans la procédure analytique ($m_{\text{ads}} = 200 \text{ mg}$ et reprise dans l'hexane) $n=3$; sédiment dopé à 10 ng/g /BDE sauf BDE-209 (100ng/g)

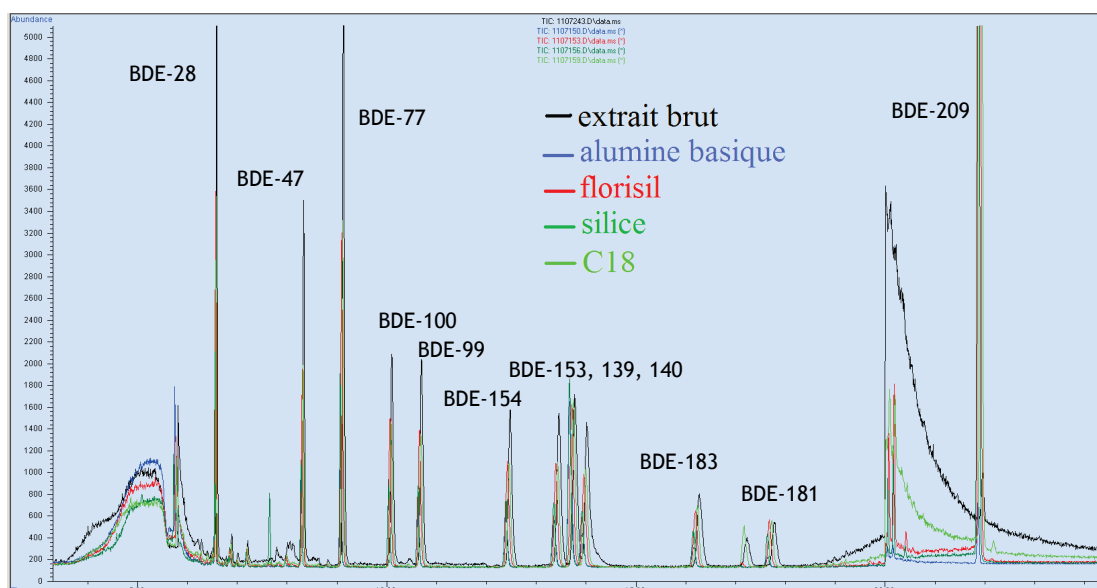


Figure 3 Chromatogrammes des extraits de sédiment dopé à 10 ng/g /BDE (sauf BDE-209 (100ng/g)) en fonction de l'adsorbant ($m_{ads} = 200$ mg et reprise dans l'hexane), comparaison avec un extrait brut (sans purification).

D'après les rendements observés et en prenant en compte l'efficacité de la purification, le Florisil® a été sélectionné comme adsorbant pour la suite de l'optimisation.

- Etude de la masse d'adsorbant nécessaire

L'utilisation de 500 mg d'adsorbant au lieu de 200 mg n'a pas affecté significativement les rendements en prenant en compte l'incertitude obtenue. Mis à part pour les BDE 77, 140, 181, 183 et 209, les résultats ne sont pas statistiquement différents entre 200 et 500 mg. D'une manière générale, les barres d'erreur sont plus faibles pour 500 mg que pour 200 mg (figure 4). De plus, en moyenne, un décalage des temps de rétention par rapport au chromatogramme de référence (en solvant) d'environ 0,2 min est observé pour une masse d'adsorbant de 200 mg. Ce décalage est réduit à 0,1 min pour 500 mg d'adsorbant ce qui démontre l'effet de la purification avec cette masse utilisée.

La largeur des pics est également diminuée et le bruit de fond au niveau du segment de temps du BDE-209 atténué (pour cette expérience, des problèmes de recouvrement ont cependant été constatés pour le BDE 209 avec 200 et 500 mg de Florisil®). Ces éléments ont donc orienté la procédure vers l'utilisation d'une masse de Florisil® de 500 mg.

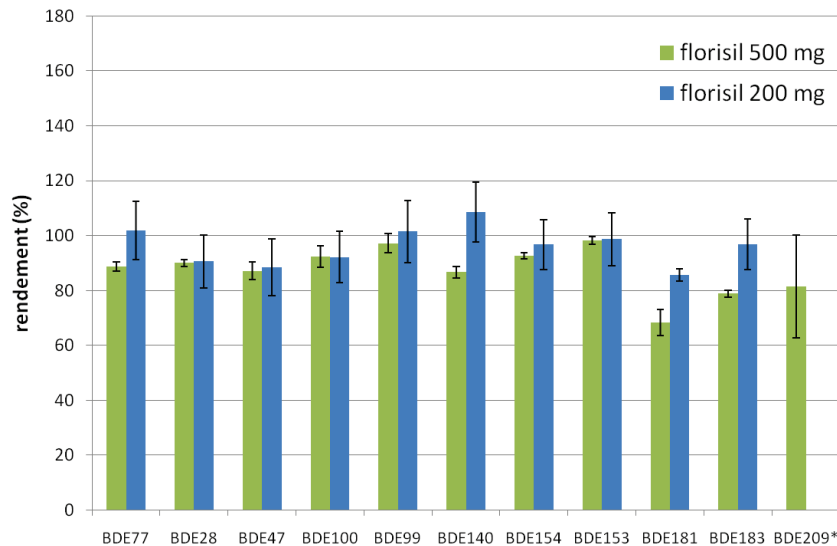


Figure 4 Comparaison des rendements pour l'évaluation de l'inertie du Florisil® pour une masse d'adsorbant de 200 et 500 mg, sédiments dopés à 10 ng/g (sauf BDE 209 à 100 ng/g), n=3

- Etude du solvant de reprise

Concernant le solvant de reprise, aucune différence n'est observable sur les rendements selon que l'extrait concentré soit repris avec de l'hexane ou de l'isooctane. Toutefois, les PBDE semblent avoir une moins bonne affinité pour l'isooctane que pour l'hexane, conduisant à une chute de l'ordre de 10 % des rendements de purification. Le gain de temps apporté par la reprise dans l'isooctane (auquel cas le surnageant est directement injecté en GC-MS) et les rendements toujours satisfaisants (> 80 %) ont conduit à l'utilisation de l'isooctane pour la reprise de l'extrait.

- Etude des méthodes d'extraction

La technique Quechers implique une technique d'extraction douce, typiquement une agitation manuelle pendant 1 min. Afin de comparer différentes techniques de ce type, 4 méthodes d'extraction ont été testées: extraction par ultrasons (US) pendant 30 min, l'agitation par vortex pendant 1 min, l'agitation manuelle pendant 1 min et un simple contact entre le solvant et l'échantillon pendant 10 min.

La figure 5 présente les rendements obtenus en fonction des modes d'extraction utilisés.

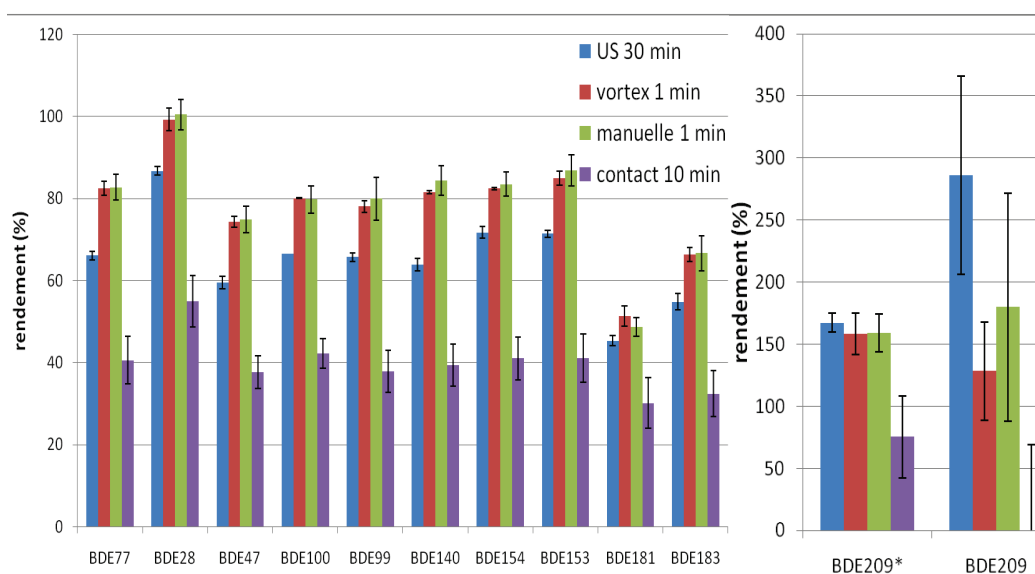


Figure 5 Comparaison des rendements d'extraction en fonction du mode d'extraction mis en œuvre (adsorbant: 500 mg de Florisil® et reprise à l'isooctane) ; sédiments dopés à 10 ng/g (sauf BDE 209 à 100 ng/g), (n=3)

Les rendements obtenus par agitation manuelle et par vortex sont supérieurs à ceux obtenus par US, excepté pour le BDE 209 (ce dernier étant plus apolaire, les interactions hydrophobes avec le sédiment sont plus fortes, il paraît donc cohérent qu'il requiert plus d'énergie pour être extrait). La répétabilité est moins bonne pour l'agitation manuelle que pour le vortex, ceci semble logique si l'on considère que le facteur humain y est nettement plus prononcé. La mise en contact du sédiment avec le solvant ne fournit que des rendements d'extraction de l'ordre de 40 % et ne permet pas d'extraire le BDE-209, ceci vient donc justifier la nécessité d'une forme d'agitation. Les rendements absolus élevés obtenus pour le BDE-209 démontrent que ce composé est difficile à analyser car des pertes ou interactions peuvent se produire sur les différents éléments de l'appareil chromatographique (injecteur, colonne,..). Il est ainsi indispensable pour l'analyse de ce composé d'utiliser un étalon interne isotopique qui puisse prendre en compte ces phénomènes.

- Validation des résultats sur sédiment de référence

Les résultats de l'analyse du sédiment de rivière de référence BROCC-02 par les méthodes d'extraction par ultrasons et par vortex sont présentés figure 6.

Les résultats sont comparés avec ceux obtenus pour l'analyse de cet échantillon avec la méthode de référence ISO 22032. Cette méthode consiste à effectuer une extraction par PLE avec de l'hexane/DCM (1/1) puis une purification avec une colonne multicouche comme décrite par la norme [10].

Avec les techniques par Vortex et ultrasons, le BDE-28 est surestimé par rapport à la concentration annoncée, ce qui peut être attribué à la correction par l'étalon interne utilisé (BDE-77) qui est 20 % moins bien extrait que ce composé (figure 6 et tableau 1). Avec les techniques par vortex et ultrasons, les BDE-47 et 99 sont eux sous-estimés de 25 %, bien que le rendement en étalon interne (BDE 77) soit représentatif pour ces composés.

Il est probable que les interactions entre ces BDE et la matrice pour le sédiment de référence soient différentes de celles obtenues avec le sédiment dopé utilisé dans cette étude, conduisant ainsi à des rendements d'extraction différents. La détermination du BDE-209 est finalement la plus juste alors qu'il s'agit habituellement du composé dont l'analyse est problématique. C'est cependant le seul composé pour lequel un étalon isotopique spécifique est utilisé (C^{13} BDE 209) ce qui permet d'effectuer une correction spécifique et ainsi de retrouver un résultat en phase avec la valeur de référence.

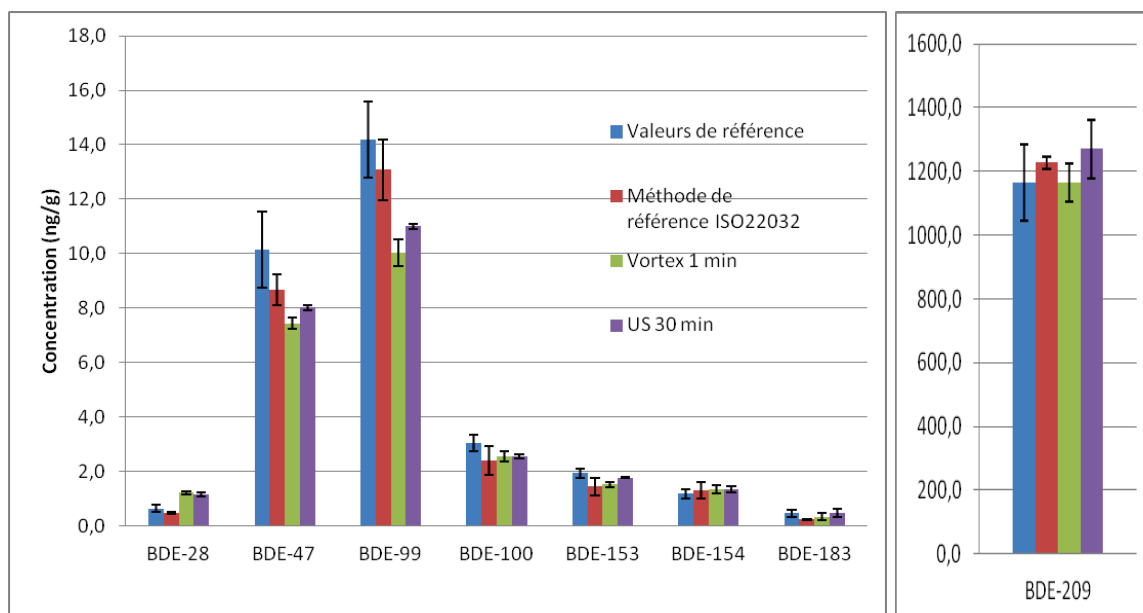


Figure 6 Résultats de l'analyse du sédiment de référence BROC-02 (adsorbant: 500 mg de Florisil® et reprise isoocthane) n=3 ; BDE 77, 140, 181 et 209* utilisé comme étalon interne

	Méthode de référence ISO22032	Vortex 1 min	US 30 min
BDE-28	76 (6)	192 (6)	181 (6)
BDE-47	85 (7)	73 (3)	79 (1)
BDE-99	92 (9)	71 (5)	77 (1)
BDE-100	79 (22)	83 (8)	83 (3)
BDE-153	75 (23)	79 (6)	92 (1)
BDE-154	111 (23)	114 (12)	115(7)
BDE-183	50 (9)	73 (41)	105 (34)
BDE-209	105 (1)	100 (5)	109 (7)

Tableau 1 Rendement calculé par comparaison avec la valeur de référence en % (CV entre parenthèse en %)

3.5 BILAN SUR LA PROCEDURE ANALYTIQUE TESTEE POUR L'ANALYSE DES PBDE DANS LES SEDIMENTS

Pour la majorité des BDE, l'extraction par vortex produit des résultats comparables à l'extraction par PFE ou par ultrasons. Cette approche suivie d'une purification par dispersion de la matrice sur phase solide est une technique rapide et peu consommatrice de solvant (~10 mL par échantillon). Elle requiert de plus, très peu d'instrumentation (instrument à vortex et centrifugeuse) dont les coûts sont assez modestes comparés à une technique comme la PFE, ce qui en fait également une technique très abordable.

Des travaux doivent encore être menés pour évaluer la robustesse de la méthode, notamment en essayant cette procédure sur une palette de sédiments avec différentes caractéristiques (COT, contamination en soufre ou autres composés bromés). Il semble important de souligner que la DSPE n'a pas pour but de réaliser une purification exhaustive, mais de supprimer suffisamment de composés co-extraits pour permettre la séparation et la détection des PBDE.

A ce titre, l'impact des composés interférents non supprimés sur le GC-MS doit encore être étudié pour déterminer si la purification par DSPE est suffisante ou non en l'état actuel du protocole.

L'utilisation de cette technique couplée à des instruments de type GC/MS/MS en mode impact électronique permettrait l'utilisation d'étalon interne marqué isotopiquement pour chaque BDE (dilution isotopique). Ainsi, la méthode gagnerait en robustesse et fiabilité comme constaté pour le BDE 209 lors de cette étude.

4. EVALUATION DE LA METHODE QUECHERS POUR L'ANALYSE DE PESTICIDES DANS LES SEDIMENTS

4.1 CONTEXTE

Sont présentés ici les résultats obtenus lors de l'application du protocole « QuEChERS » à l'analyse de certains pesticides dans les sédiments par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse en tandem.

L'étude a consisté dans un premier temps, à tester et optimiser sur différents sédiments, un protocole inspiré de la norme NF EN 15662 [2] et de différents travaux trouvés dans la littérature [7-8], afin de déterminer son efficacité.

Dans un second temps, une évaluation des performances du protocole optimisé a été réalisée à plusieurs niveaux de concentration sur un sédiment sélectionné.

Les pesticides évalués sont ceux définis par la DCE [9], auxquels s'ajoutent la chlordécone qui présente un intérêt environnemental important et le dichlorvos, la terbutryne et la cybutryne qui font partie des substances considérées pour la révision de la DCE [14].

Le tableau ci-dessous répertorie les composés visés par l'étude.

Composé	CAS #	Masse Molaire	Formule Brute
Alachlor	15972-60-8	269.77	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂
Atrazine	1912-24-9	215.68	C ₈ H ₁₄ ClN ₅
Chlorfenvinphos	470-90-6	359.57	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P
p,p'-DDT	50-29-3	354.49	(C ₁₀ H ₇ Cl) ₂
Endosulfan α	959-98-8	406.93	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
Endosulfan β	33213-65-9	406.93	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
Simazine	122-34-9	201.66	C ₇ H ₁₂ ClN ₅
Trifuraline	1582-09-8	335.28	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄
Chlorpyrifos-Ethyl	2921-88-2	350.59	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
Aldrine	309-00-2	364.91	C ₁₂ H ₈ Cl ₆
Endrine	72-20-8	380.91	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
Dieldrine	60-57-1	380.91	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
Isodrine	465-73-6	364.91	C ₁₂ H ₈ Cl ₆
Chlordécone	143-50-0	390.64	C ₁₀ Cl ₁₀ O
Dichlorvos	62-73-7	220.98	C ₄ H ₇ Cl ₂ O ₄ P
Terbutryne	886-50-0	241.36	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S
Irgarol (Cybutryne)	28159-98-0	253.37	C ₁₁ H ₁₉ N ₅ S

Tableau 2 Liste des pesticides considérés pour l'étude

4.2 CONDITIONS ANALYTIQUES

Les analyses ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse en tandem.

Des isotopes marqués au deutérium ou au carbone 13 ont été utilisés comme étalons internes pour la quantification.

Les détails des conditions analytiques (conditions chromatographiques et spectrométriques, listes des étalons internes utilisés) sont décrits en annexe 3.

4.3 PROTOCOLE D'EXTRACTION QUECHERS

Le protocole utilisé dans cette étude est directement inspiré dans la norme NF EN 15662 [2] et modifié pour être appliqué aux sédiments.

Le schéma de la figure 7 présente la succession des étapes mises en œuvre dans ce protocole.

Il consiste à extraire 1 g de sédiment préalablement lyophilisé et homogénéisé par 10 mL d'acétonitrile par agitation 10 min de type vortex.

Après centrifugation, le surnageant de l'extrait organique (6,5 mL) est transférée dans un tube de 15 mL contenant 1,2 g de sulfate de magnésium, 400 mg d'adsorbant à amines primaires et secondaires (PSA) et 400 mg de gel de silice octadecylsilane modifié (C₁₈) fournis par RESTEK® (ref RESPREP Q351). La purification est réalisée par agitation vortex du tube pendant 2 min.

A l'issue de ce protocole, une aliquote de l'extrait purifié est transférée dans un tube vide. Son volume est réduit par évaporation sous jet d'azote jusqu'à 1 mL. 1 µL de l'extrait est injecté dans le système d'analyse.

Afin de pouvoir quantifier, une gamme d'étalonnage, dont le domaine s'étend de 1 à 1000 ng/mL pour chacun des pesticides, est préparée dans l'acétonitrile.

Les étalons internes sont ajoutés à une concentration de 100 ng/mL. Pour chaque pesticide, un isotope marqué au deutérium ou au carbone 13 est utilisé comme étalon interne, à l'exception de l'isodrin pour lequel l'adrine C₁₃ est utilisé. Pour la dieldrine et l'endrine, l'aldrine C₁₃ a été initialement sélectionné comme étalon interne puis finalement remplacé par l'alpha-endosulfan-d₄ (voir discussion dans les paragraphes suivants).

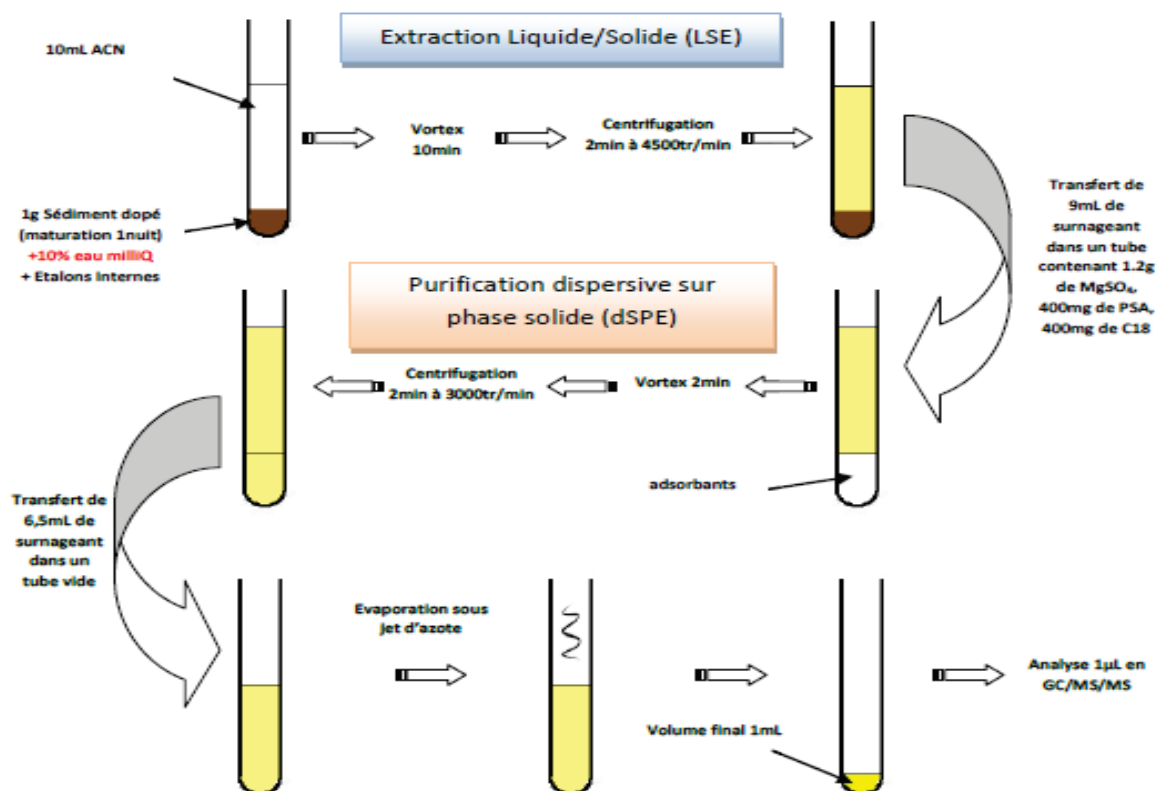


Figure 7 : Protocole QuEChERS (en rouge, le paramètre rajouté pour utilisation sur sédiment « mouillé »)

4.4 ÉTUDE DES PERFORMANCES DE LA METHODE QUECHERS POUR L'ANALYSE DES PESTICIDES DANS LES SEDIMENTS

- Test de l'absence de perte des analytes par adsorption sur la phase solide utilisée pour la purification

Avant de commencer les études sur l'extraction, l'absence de perte des analytes par adsorption sur la phase solide utilisée pour la purification doit être vérifiée. Ainsi, une solution dans l'acétonitrile dopée avec 100 ng de chacun des pesticides et des étalons marqués a été préparée.

Cette solution a ensuite été soumise au processus de purification décrit en figure 7. La chlordécone et son isotope marqué n'ont pas été récupérés. Ces composés ne sont plus retrouvés également avec l'injection de la gamme d'étalonnage. Il semblerait que ces composés soient fixés par les adsorbants lors de la purification, retenus par les différentes parties du matériel chromatographique (injecteur, colonne) ou une combinaison des 2 phénomènes.

Tous les autres composés ont été retrouvés avec des rendements compris entre 99 % (dichlorvos) et 131% (chlorfenvinphos) (CV compris entre 3 et 16%) ce qui indique que la purification ne piège pas les autres composés ciblés (annexe 4).

- Etude sur sédiment sec

Le protocole défini a été appliqué à 3 sédiments différents dopés à 100 ng/g en pesticides et à 1 matériau de référence certifié (CRM) (voir annexe 5 pour la préparation des échantillons et la description des sédiments utilisés).

- Sédiments dopés

Le tableau 3 indique le taux de récupération des étalons internes pour les 3 sédiments dopés. Il a été calculé comme la comparaison de la surface moyenne (triplicat) des pics chromatographiques de l'étalon interne dans les sédiments dopés avec la moyenne des surfaces obtenues pour ce même analyte dans la solution de dopage (en annexe 6 et 7 sont illustrés des exemples de chromatogrammes de solutions étalons et de sédiments dopés).

	Récupération moyenne en % (n=3)		
	SEDIMENT 1	SEDIMENT 2	SEDIMENT 3
DICHLORVOS-D ₆	75 (13)	76 (4)	88 (7)
TRIFLURALINE-D ₁₄	78 (3)	79 (3)	95 (3)
SIMAZINE-D ₁₀	90 (2)	87 (2)	93 (3)
ATRAZINE-D ₅	91 (3)	90 (4)	94 (3)
ALACHLOR-D ₁₃	89 (2)	89 (3)	88 (5)
TERBUTRYNE-D ₅	83 (3)	81 (2)	103 (4)
CHLORPYRIFOS-D ₁₀	87 (2)	85 (2)	101 (7)
ALDRINE- ¹³ C ₁₂	74 (2)	71 (2)	64 (3)
CHLORFENVINPHOS-D ₁₀	88 (5)	90 (4)	130 (8)
CYBUTRYNE-D ₉	90 (5)	87 (2)	103 (3)
alpha-ENDOSULFAN-D ₄	93 (2)	89 (1)	91 (2)
beta-ENDOSULFAN-D ₄	95 (1)	93 (1)	99 (2)
CHLORDECONE- ¹³ C ₁₂	0	0	0
4,4'-DDT-D ₈	113 (5)	116 (5)	181 (6)

Tableau 3 Récupération moyenne des étalons internes des pesticides étudiés (n=3) dans les sédiments sec dopés à 100 ng/g (entre parenthèses les coefficients de variation (CV)) (les analytes sont classés par ordre de temps de rétention)

A l'exception de la chlordécone-¹³C₁₂, les étalons internes sont retrouvés avec des rendements satisfaisants compris entre 71 et 130% (le rendement pour le 4,4'-DDT-D₈ avec le sédiment 3 est considéré comme aberrant).

Pour les composés cibles (tableau 4), la récupération moyenne a été calculée en comparant la concentration mesurée par étalonnage interne (le ratio analytes/étalons internes) dans les sédiments avec celle de la solution de dopage (valeur moyenne sur les 3 réplicas pour chaque sédiment).

	Récupération moyenne en % (n=3)		
	SEDIMENT 1	SEDIMENT 2	SEDIMENT 3
DICHLORVOS	9 (1)	8 (1)	31 (1)
TRIFLURALINE	71 (3)	74 (4)	101 (3)
SIMAZINE	89 (2)	92 (2)	98 (2)
ATRAZINE	90 (5)	90 (5)	98 (1)
ALACHLOR	79 (3)	81 (3)	92 (2)
TERBUTRYN	79 (3)	81 (3)	82 (5)
CHLORPYRIFOS	79 (3)	82 (3)	94 (2)
ALDRINE	60 (1)	65 (5)	95 (1)
CHLORFENVINPHOS	89 (3)	92 (5)	97 (3)
CYBUTRYNE	84 (2)	89 (3)	96 (2)
ISODRINE	77 (2)	82 (6)	78 (7)
alpha-ENDOSULFAN	70 (1)	74 (2)	89 (3)
DIELDRINE	87 (3)	93 (3)	134 (1)
ENDRINE	101 (1)	106 (5)	184 (11)
beta-ENDOSULFAN	82 (4)	88 (4)	99 (4)
CHLORDECONE	0	0	0
4,4'-DDT	83 (1)	88 (3)	98 (2)

Tableau 4 Récupération moyenne des pesticides (n=3) dans les sédiments secs dopés à 100 ng/g (entre parenthèses les CV)

Des blancs des différents sédiments ont été effectués mais des valeurs inférieures à la LQ ont été déterminées dans tous les cas.

Le rendement du dichlorvos est relativement faible (9 à 30 %) alors que le dichlorvos-d₆ est récupéré à environ 80 %. Par le taux de récupération de l'étalon interne, cela indique que la méthode d'extraction a bien extrait les composés présents. Néanmoins, à cause sa volatilité, il se peut que le dichlorvos se soit évaporé après dopage des sédiments pendant la phase de maturation de 24H.

Les autres composés d'intérêt sont récupérés entre 70 % et 110 % à l'exception de l'aldrine pour lequel le rendement est de 60-65 % dans les sédiments 1 et 2. Il est correctement retrouvé dans le sédiment 3 (à 95 %).

Pour ce même sédiment 3, les rendements de la dieldrine et l'endrine sont élevés (134 et 184% respectivement). Ces pesticides ne sont pas corrigés par leur propre isotope marqué comme étalon interne. L'aldrine-¹³C₁₂ qui leur sert d'étalon interne n'est récupéré qu'à 65 % et ne se comporte pas forcément de la même manière bien qu'étant de la même famille de composé. Ces 2 composés possèdent un groupe moléculaire supplémentaire. Ainsi, ce groupement entraîne une configuration stérique différente de celle de l'aldrine qui pourrait expliquer les différences d'interactions avec le sédiment et de recouvrement entre ces composés. Ainsi, un autre étalon interne peut être pris pour ces composés (cette hypothèse est testée dans les paragraphes suivants).

On peut aussi noter que le rendement du 4,4'-DDT-d₈ est élevé tout comme celui de son homologue non marqué (> 120 %), ce qui conduit à un rendement corrigé par étalonnage interne proche de 100%. Un phénomène d'amplification de signal lié à la matrice pourrait expliquer l'intensification de la réponse pour ces composés.

- Matériaux de référence certifiés (CRM)

Un CRM (CRM804-050 lot DG804) contenant 6 pesticides sur les 17 recherchés a été analysés selon le protocole étudié. Les résultats sont présentés figure 8 et tableau 5.

Avec les sédiments secs dopés, la dieldrine et l'endrine avaient été corrigés seulement avec l'étalon interne aldrine-¹³C₁₂. Un autre étalon interne, l'alpha-endosulfan-d₄, a été également considéré ici. En effet, ce composé présente un temps de rétention chromatographique plus proche de celui de la dieldrine et de l'endrine et possède également de grandes similarités structurelles.

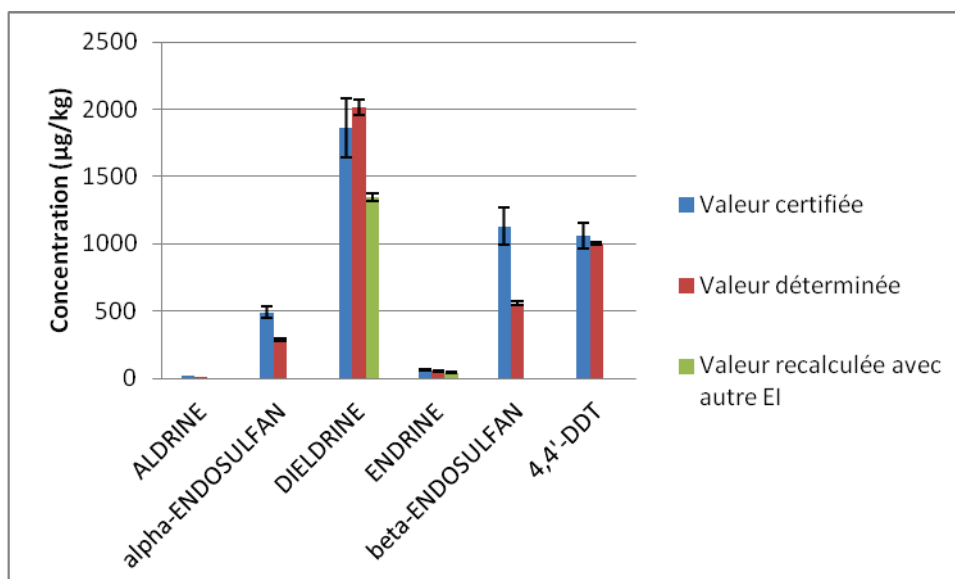


Figure 8 Essais sur matériau certifié (CRM804-050) sec. En vert, les valeurs pour la dieldrine et l'endrine calculées en utilisant l'alpha-endosulfan-d₄ comme étalon interne (EI).

	Valeur certifiée µg/kg	Rendement(%)	Rendement recalculée avec autre EI (%)
ALDRINE	18 (3,01)	52 (3)	
alpha-ENDOSULFAN	491 (44,6)	59 (3)	
DIELDRINE	1860 (222)	108 (3)	67 (2)
ENDRINE	62,2 (2,91)	90 (8)	73 (7)
beta-ENDOSULFAN	1130 (138)	49 (3)	
4,4'-DDT	1060 (93,1)	94 (1)	

Tableau 5 Rendement (en%) calculés en comparaison avec la valeur de certification du matériau certifié (CRM804-050) sec (entre parenthèse, les incertitudes calculées en % avec n=3). Dans la dernière colonne, les valeurs pour la dieldrine et l'endrine calculées en utilisant l'alpha-endosulfan-d₄ comme étalon interne (EI).

Pour certains pesticides (aldrine, endosulfan) des rendements avoisinant les 50 % sont constatés. La dieldrine et l'endrine, l'écart entre valeur certifiée et valeur déterminée n'est pas statistiquement différent par la correction effectuée avec l'aldrine-¹³C₁₂ comme EI.

En utilisant l'alpha-endosulfan-d₄ comme étalon interne, on constate que les concentrations mesurées de dieldrine et endrine chutent d'environ 30 % par rapport à celles mesurées avec l'aldrine-¹³C₁₂ comme EI. Cela montre l'importance du choix de l'étalon interne de par son influence sur le résultat final.

Etude sur sédiment « mouillé »

Plusieurs publications [7-8] ainsi que la Norme NF EN 15662 [2] mentionnent que la présence d'eau (10 à 20 %) peut favoriser l'extraction des pesticides hydrophiles présents dans des matrices solides.

Ainsi 100 µL d'eau ultrapure sont ajoutés à 1 g de sédiment sec puis homogénéisé pendant 2 h sous agitation avant extraction.

- Performance du protocole sur sédiments humides dopés

Les performances de la méthode ont été évaluées en réalisant des essais répétés 10 fois sur des dopages à 4 concentrations différentes sur le sédiment 3 :

- à la LQ présumée (LQ1), de 1 à 2,5 ng/g en fonction des pesticides,
- à la LQ rehaussée (LQ2), de 10 à 25 ng/g,
- à 20 % de la gamme d'étalonnage, de 100 à 250 ng/g,
- à 80 % de la gamme d'étalonnage, de 400 à 1000 ng/g.

L'expérience LQ2 rehaussée a été effectuée chronologiquement après les autres expériences.

Le tableau 6 indique le taux de récupération des étalons internes. Il a été calculé comme la comparaison de la surface moyenne (triplicat) des pics chromatographiques de l'étalon interne dans les sédiments dopés avec la moyenne des surfaces obtenues pour ce même analyte dans la solution de dopage (en annexe 6 et 7 sont illustrés des exemples de chromatogrammes de solutions étalons et de sédiments dopés).

	Expérience LQ 1 Pré-supposée	Expérience LQ 2 réhaussée	Expérience 20 % gamme	Expérience 80 % gamme
DICHLORVOS-D ₆	62 (42)	71 (19)	93 (16)	71 (21)
TRIFLURALINE-D ₁₄	84 (9)	90 (7)	95 (7)	77 (11)
SIMAZINE-D ₁₀	90 (8)	80 (7)	95 (7)	77 (4)
ATRAZINE-D ₅	83 (5)	79 (8)	88 (8)	76 (3)
ALACHLOR-D ₁₃	102 (9)	77 (8)	106 (9)	77 (8)
TERBUTRYN-D ₅	101 (7)	78 (9)	107 (8)	76 (3)
CHLORPYRIFOS-D ₁₀	92 (6)	81 (9)	97 (8)	83 (2)
ALDRIN- ¹³ C ₁₂	32 (12)	12 (5)	17 (6)	12 (8)
CHLORFENVINPHOS-D ₁₀	126 (11)	98 (14)	117 (11)	81 (18)
CYBUTRYN-D ₉	98 (7)	79 (10)	102 (8)	76 (8)
alpha-ENDOSULFAN-D ₄	78 (4)	67 (7)	81 (7)	71 (6)
beta-ENDOSULFAN-D ₄	95 (5)	74 (10)	95 (7)	79 (11)
CHLORDECONE- ¹³ C ₁₂	/	/	/	/
4,4'-DDT-D ₈	139 (12)	159 (34)	120 (9)	194 (32)

Tableau 6 Récupération moyenne des étalons internes des pesticides étudiés (n=3) dans les sédiments humides dopés à 100 ng/g (entre parenthèses les coefficients de variation (CV))

A l'exception de la chlordécone qui n'est pas récupérée et du 4,4'-DDT-D₈ qui est surdosé et de l'aldrine qui est récupéré en de faibles proportions (entre 12 et 32%), des récupérations comprises entre 62 et 126% sont obtenus pour tous les étalons internes.

Pour les composés cibles (tableau 7), la récupération moyenne a été calculée en comparant la concentration mesurée par étalonnage interne (le ratio analytes/étalons internes) dans les sédiments humides avec celle de la solution de dopage (valeur moyenne sur les 3 réplicas pour chaque sédiment).

		LQ 1 Pré-supposée	LQ 2 réhaussée	20 % gamme	80 % gamme
	Concentrations testées par composé (ng/g)	1 à 2.5 ng/g	10 à 25 ng/g	100 à 250 ng/g	400 à 1000 ng/g
DICHLORVOS	1, 10, 100, 400	121 (141)	31 (3)	36 (4)	49 (22)
TRIFLURALINE	1, 10, 100, 400	91 (47)	87 (5)	102 (9)	94 (7)
SIMAZINE	1, 10, 100, 400	150 (79)	105 (9)	99 (8)	93 (4)
ATRAZINE	1, 10, 100, 400	211 (39)	109 (9)	105 (12)	98 (5)
ALACHLOR	1, 10, 100, 400	165 (46)	114 (13)	102 (9)	94 (4)
TERBUTRYNE	1, 10, 100, 400	277 (129)	105 (10)	86 (7)	83 (5)
CHLORPYRIFOS	1, 10, 100, 400	131 (30)	94 (8)	96 (8)	88 (5)
ALDRINE	2, 20, 200, 800	121 (N/A)	0	99 (9)	84 (14)
CHLORFENVINPHOS	1, 10, 100, 400	91 (80)	97 (10)	93 (6)	81 (27)
CYBUTRYNE	1, 10, 100, 400	156 (40)	100 (12)	96 (9)	96 (3)
ISODRINE	2, 20, 200, 800	66 (25)	0	4 (2)	5 (4)
alpha-ENDOSULFAN	2,5, 25, 250, 1000	123 (39)	99 (12)	89 (8)	84 (4)
DIELDRINE	2,5, 25, 250, 1000	127 (22)	85 (10)	79 (7)	81 (6)
ENDRINE	2,5, 25, 250, 1000	351 (250)	114 (18)	107 (5)	102 (8)
beta-ENDOSULFAN	2,5, 25, 250, 1000	107 (26)	98 (13)	96 (8)	87 (3)
CHLORDECONE	1, 10, 100, 400	/	/	/	/
4,4'-DDT	1, 10, 100, 400	238 (61)	101 (12)	100 (8)	93 (5)

Tableau 7 Moyenne des taux de récupération des composés cibles (en %) et coefficient de variation (entre parenthèse en %) (n=10)

La LQ présumée de 1 à 2,5 ng/g apparaît comme étant trop basse pour la plupart des étalons non marqués. Les rendements des pesticides cibles sont mauvais avec une très grande dispersion. Seul des résultats acceptables ont été déterminés pour l'endosulfan, la trifluraline et le dieldrine. Ces LQ étaient atteignables en solvant mais des effets de matrices, constatés même avec un détecteur aussi spécifique que la GC/MS/MS, empêche d'atteindre ces niveaux pour la majorité des composés testés.

Pour la LQ présumée de 1 à 2,5 ng/g, on constate dans le même temps que les 14 étalons internes ont des rendements (entre 62 et 126 %) et une répétabilité (entre 2 et 42%) satisfaisants à l'exception de l'aldrine-¹³C₁₂ (R : 32 %). Ceci indique que l'extraction s'est bien déroulée. Pour le dichlorvos-d₆ (R : 62% avec 42% de coefficient de variation), un problème d'extraction est à envisager.

A 20 % et 80 % de la gamme, les rendements sont corrects, la plupart compris entre 80 et 110 %, et répétables (CV < 15 %). Cependant, des problèmes sont constatés pour 3 composés. Le dichlorvos n'est retrouvé qu'à 30-40 % ce qui confirme les résultats des premiers essais (sédiments dopés secs, tableau 3), alors que son isotope marqué est récupéré entre 71 et 93% avec une dispersion plus importante que les autres étalons internes (CV = 20 %) montrant une efficacité moindre sur ce composé.

Le rendement de l'isodrine est < 5% alors qu'il était > 80 % dans les premiers essais (sédiments dopés secs, tableau 3).

De même, le rendement de l'aldrine-¹³C₁₂ n'est que de 15 % environ contre 70 % lors des essais sur sédiment secs (tableau 2). Ceci serait dû un encrassement au niveau du système analytique (liner et/ou volume d'ion de la source du MS) auquel ces composés seraient sensibles. Malgré ce faible niveau de récupération, les résultats sur l'aldrine sont corrects (R > 80 %) et répétables (9 à 14 %) à 20 et 80 % de la gamme. La sensibilité instrumentale sur cet appareil est élevée à ce niveau de concentration pour cette substance ce qui permet d'obtenir des rendements corrects malgré le faible taux de recouvrement. Ceci montre l'importance d'avoir un isotope marqué comme étalon interne pour compenser la perte de sensibilité au niveau de la quantification.

Un essai complémentaire à une valeur de LQ réhaussée (10 à 25 ng/g selon les composés) a été effectué. La LQ réhaussée est donc acceptable pour tous les composés à l'exception du dichlorvos avec un rendement de 30 %, et de l'isodrine et l'aldrine avec un rendement de 0%. Contrairement aux données à 20 et 80% de la gamme, l'aldrine n'est plus détectée ici, (trop faible niveau de concentration et encrassement du système analytique).

Matériaux de référence certifiés (CRM) (CRM804-050)

Des essais sur le CRM804-050 ont été effectués avec ajout d'eau milliQ à 10 % (100µl sur 1g) et 20% (200µl sur 1g). Les analyses sont effectuées en triplicat pour chaque teneur d'eau ajoutée.

Lors de ces essais, l'alpha-endosulfan-d₄ a été choisi comme étalons internes en remplacement de l'aldrine-¹³C₁₂ pour le calcul de l'endrine et la dieldrine.

Les résultats sont présentés dans le tableau 8 et figure 9.

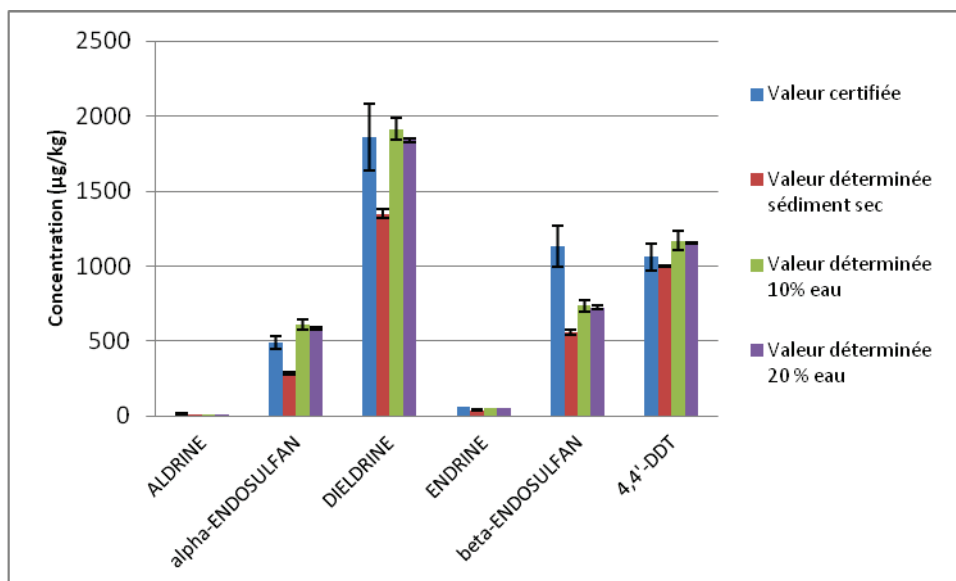


Figure 9 Effet de l'adjonction d'eau (10% et 20%) au sédiment avant extraction sur le CRM804-050

	Valeur certifiée µg/kg	Rendement sédiment sec %	Rendement 10% eau %	Rendement 20 % eau %
ALDRINE	18 (3,01)	52 (3)	59 (9)	62 (10)
alpha-ENDOSULFAN	491 (44,6)	59 (3)	124 (5)	119 (2)
DIELDRINE	1860 (222)	67 (2)	103 (4)	99 (1)
ENDRINE	62,2 (2,91)	73 (7)	86 (1)	86 (1)
beta-ENDOSULFAN	1130 (138)	49 (3)	65 (5)	64 (2)
4,4'-DDT	1060 (93,1)	94 (1)	110 (5)	109 (1)

Tableau 8 Rendements (en%) de l'effet de l'adjonction d'eau calculés en comparaison avec la valeur de certification du matériau certifié (CRM804-050) (entre parenthèse, les incertitudes calculées en % avec n=3).

L'ajout d'eau avant extraction augmente sensiblement l'efficacité de la méthode par comparaison avec des sédiments secs avec des valeurs de rendements plus élevés (80-120 %) pour tous les pesticides mesurés (tableau 8). Cependant, pour certains pesticides, comme l'aldrine et le bêta-endosulfan, ces rendements sont toujours <80%, i.e. de l'ordre de 60 %. Aucune différence significative n'est constatée entre les résultats obtenus avec un ajout de 10% d'eau et ceux avec 20% d'eau.

4.5 BILAN SUR L'ANALYSE DES PESTICIDES DANS LES SEDIMENTS PAR QUECHERS

La méthodologie QuEChERS semble être applicable à l'analyse des pesticides dans les sédiments. Des ajouts de 10% d'eau doivent être effectués afin d'obtenir un meilleur recouvrement pour l'ensemble des composés étudiés. Dans ces conditions, des rendements supérieurs à 80 % et des CV inférieurs à 10 % ont été obtenus avec la plupart des analytes étudiés avec des sédiments dopés.

Pour l'analyse du CRM804-050, des rendements de l'ordre de 60% ont été obtenus pour l'aldrine et le beta-endosulfan alors que les autres composés présentent des rendements entre 86 et 124% avec des CV inférieurs à 10% dans tous les cas. Des problèmes ont cependant été constatés pour certains composés comme l'aldrine ou la chlordécone. Des optimisations supplémentaires sur ces composés pourraient être menées notamment vis-à-vis de l'étape de purification.

Un phénomène d'encrassement du système analytique a été mis en évidence. L'injection répétée d'extrait de sédiments provoque la perte de signal de certains pesticides. Un axe de progrès serait de modifier l'étape DSPE du protocole en changeant la nature des phases solides utilisées, pour accroître l'efficacité de la purification. Ceci aurait comme conséquence une robustesse plus importante de la méthode et un gain en sensibilité.

5. CONCLUSION

La méthodologie QuEChERS, appliquée à l'analyse des pesticides et des PBDE dans les sédiments, apparaît comme une bonne alternative aux méthodes utilisées habituellement dans les laboratoires.

Cette méthode d'extraction manuelle permet un gain de temps, tout en étant simple à mettre en œuvre. De plus, les performances du protocole décrit dans ce rapport sont en adéquation avec les méthodes existantes telle que la PFE. Les rendements sont corrects et la dispersion peu importante.

Certains problèmes ont cependant été constatés comme l'encrassement du système analytique (bien qu'il ne soit pas spécifique au Quechers et intervient avec toutes les techniques d'extraction) ou la perte de certains composés. Ainsi, des méthodes de purification plus poussées pourraient être mises en œuvre afin de retarder cet encrassement. L'ajout de sel ou de tampon pourrait favoriser l'extraction de composés faiblement récupérés.

En perspective, l'application de cette technique pourrait être évaluée sur d'autres familles de substances (HAP, pharmaceutiques, nonylphénols, ...) ou avec une méthode multirésidus. Elle pourrait également être appliquée à toutes les matrices solides comme les biotes ou les boues.

6. REFERENCES

- [1] Anastassiades, M; Lehotay, S.J.; Stajnbaher, D., Schenck, F.J., Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce, *JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL* (2003) 86, 412-431.
- [2] Norme NF EN 15662, Aliments d'origine végétale - Méthode polyvalente de détermination des résidus des pesticides par CG-SM et SL/SM/SM avec extraction/partition avec de l'acétonitrile et nettoyage par SPE dispersés - Méthode QuEChERS, 2009.
- [3] Padilla-Sanchez, J.A., Plaza-Bolanos, P., Romero-Gonzalez, R., Garrido-Frenich, A., Martinez Vidal, J.L., Application of a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe-based method for the simultaneous extraction of chlorophenols, alkylphenols, nitrophenols and cresols in agricultural soils, analyzed by using gas chromatography-triple quadrupole-mass spectrometry/mass spectrometry; *JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A* (2010) 1217, 36, 5724-5731.
- [4] Asensio-Ramos, M; Hernandez-[Borges, J; Ravelo-Perez, LM, M. A. Rodríguez-Delgado M.A., Evaluation of a modified QuEChERS method for the extraction of pesticides from agricultural, ornamental and forestal soils, *ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY* (2010) 396, 2307-2319.
- [5] Pinto, CG; Laespada, MEF; Martin, SH, Ferreira, A.M.C.; Pavon, J.L.P.; Cordero, B.M., Simplified QuEChERS approach for the extraction of chlorinated compounds from soil samples *TALANTA* (2010) 81, 385-391.
- [6] Brondi S.H.G., de Macedo A.N., Vicente G.H.L., Nogueira A.R.A., Evaluation of the QuEChERS method and gas chromatography-mass spectrometry for the analysis pesticide residues in water and sediment, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* (2011), 86, 18-22.
- [7] Yang X.-B., Ying G.-G., Kookana, R.S., Rapid multiresidue determination for currently used pesticides in agricultural drainage and soils using gas chromatography-mass spectrometer, *Journal of Environmental and Health* (2010) 45, 152-161.
- [8] 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.
- [9] United States Environmental Protection Agency. Brominated Diphenyl Ethers in Water, Soil, Sediment and Tissue by HRGC/HRMS, Washington, 2007. Method EPA 1614.
- [10] NF EN ISO 22032 - Qualité de l'eau – Dosage d'une sélection d'éthers diphenyliques polybromés dans des sédiments et des d'épuration – Méthode par extraction et chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse.2009.
- [11] Laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques (AQUAREF). Fiche méthode MA5-MA6 : Famille de PBDE : méthode d'analyse dans les boues et sédiment. (2009) disponible en ligne : http://www.aquaref.fr/system/files/Fiche+MA5_6_-PBDE-S%C3%A9diments-boue_0.pdf
- [12] Fontana A. R., Lana N. B., Matinez L. D., Altamirano J. C. Ultrasound-assisted leaching-dispersive solid-phase extraction followed by liquid-liquid microextraction for the determination of polybrominated diphenyl ethers in sediment samples by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* (2010), 82, 359-366.
- [13] Van Leeuwen S. P. J., Van Cleuvenbergen R., Abalos M., Pasini A. L., Eriksson U., Cleemann M., Hajslova J., De Boer J. New certified and candidate reference materials for the analysis of PCBs, PCDD/Fs, OCPs and BFR in the environment and food. *Trend. Anal. Chem.* (2006), 25, 397-409.
- [14] Proposition de révision de l'annexe X de la DCE et de la D 2008/105/CE, Commission européenne, Bruxelles, Janvier 2012

7. LISTE DES ANNEXES

Repère	Désignation	Nombre de pages
Annexe 1	Conditions expérimentales utilisées pour l'analyse des PBDE dans les sédiments	5
Annexe 2	Chromatogramme type de l'analyse des PBDE	2
Annexe 3	Conditions expérimentales utilisées pour l'analyse des pesticides dans les sédiments	5
Annexe 4	Test de l'inertie des adsorbants en solvant dopé	2
Annexe 5	Préparation des échantillons pour analyse sur sédiments	2
Annexe 6	Chromatogramme d'un étalon de pesticides à 100 ng/mL dans l'acétonitrile par GC/MS/MS	2
Annexe 7	Chromatogramme d'un extrait de sédiment à 10 ng/g dans l'acétonitrile par GC/MS/MS	2

ANNEXE 1

Conditions expérimentales utilisées pour l'analyse des PBDE
dans les sédiments

Réactifs et standards :

Les solvants n-hexane, cyclohexane, acétone et isooctane ont été obtenus chez Merck (qualité Suprasolv). Le dichlorométhane provient de chez Prolabo (qualité Pestinorm). Le nitrate d'argent de pureté 99,9999% a été acheté chez Sigma Aldrich. L'acide sulfurique à 95% et l'hydroxyde de sodium ont été obtenu chez Prolabo (qualité Normapur et technique respectivement). La silice et l'alumine activée basique (pH 8,5 – 10,5) proviennent de chez Merck (taille 0.063 à 0.200 mm). La Celite 545 a été achetée chez Fluka.

Le dopage du sédiment a été réalisé avec la solution standard de PBDE EO-5278 obtenue chez Cambridge Isotope Laboratories (contenant les BDE-28, 47, 99, 100, 153 et 154 à 1 µg/mL et le BDE-209 à 10 µg/mL dans le nonane).

Les BDE-77, 139, 140, 181 et le ¹³C-BDE-209 proviennent également de chez Cambridge Isotope Laboratories (respectivement les solutions standards BDE-77-CS, BDE-139-CS, BDE-140-CS, BDE-181-CS et EO-5003 à 50 µg/mL dans le nonane).

Les BDE-77, 140, 181 et le ¹³C-BDE-209 ont été utilisés en tant qu'étalons internes (le BDE-77 sert d'étalon interne pour les BDE-28, 47, 99 et 100 ; le BDE 140 est utilisé pour les BDE-153 et 154 ; le BDE-181 pour le BDE-183 ; et le BDE-209 est corrigé par un étalon marqué le ¹³C-BDE-209), une solution incluant ces 4 congénères a été préparée dans l'acétone avec les concentrations suivantes : BDE-77, 140, 181 à 1 µg/mL et ¹³C-BDE-209 à 5 µg/mL.

Le BDE-139 a servi d'étalon d'injection, une solution a été préparée à 1 µg/mL dans l'isooctane.

Echantillons :

Les analyses menées au cours de cette étude ont été réalisées sur un sédiment de rivière prélevé en 2005 dans le canal Nimy-Blaton en Belgique (pas d'informations disponibles sur les conditions d'échantillonnage). Le stock de sédiment dont dispose l'INERIS se présente sous la forme de petits blocs (environ 3x3x2 cm) issus du séchage du sédiment en plaque d'environ 2 cm d'épaisseur. Les cailloux et graviers présents dans le sédiment brut ont été éliminés puis le sédiment a été broyé à l'aide d'un broyeur planétaire Pulverisette 6 (Fritsch) équipé d'un bol en oxyde de zirconium de 250 mL contenant 6 billes du même matériau de 30 mm de diamètre. Le sédiment a ensuite été tamisé sur un tamis acier de maillage 200 µm puis la fraction inférieure à 200 µm stockée dans des flacons en verre jusqu'à analyse. Sa teneur en carbone organique total (COT) a été mesurée à l'aide d'un analyseur TOC-VCSH (Shimadzu) couplé à un module SSM-5000A pour l'analyse des solides. Une valeur de 10,90% a été déterminée par analyse de 5 réplicats (carbone total : 14,07±0,85% et carbone inorganique : 3,17%). Des analyses antérieures ont également fournis une concentration de 22,32 mg/kg (matière sèche MS) en HAP et de 0,150 mg/kg MS en PCB, les hydrocarbures (C10 à C40) ont été déterminés à 4110 mg/kg MS.

Des prises d'essai de 1 g ont été utilisées pour toutes les expériences. Chaque échantillon a été dopé par ajout de 50 µL d'une solution en solvant dans l'isooctane avant extraction à 10 ng/g MS en BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, et 183, et à 100 ng/g en BDE-209. Les étalons internes (BDE-77, 140, 181 à 10 ng/g et le ¹³C-BDE-209 à 50 ng/g) ont également été ajoutés à l'échantillon au moment du dopage. Ensuite, le sédiment était soigneusement homogénéisé par agitation et laissé à maturer durant une nuit complète avant extraction.

Des blancs de ce sédiments ont été effectués ce qui a permis de déterminer des valeurs inférieures à la LQ pour tous les BDE sauf pour le BDE 209 (197 ± 11 avec n=2). Cette valeur a été retranchée pour le calcul des rendements.

Le sédiment de référence BROC-02 [14] obtenu auprès de l'IMARES a également été analysé pour vérifier les méthodes développées. Il s'agit d'un sédiment de rivière ayant subi une étude de faisabilité pour la production de matériau de référence certifié.

Les concentrations annoncées en PBDE sont présentées dans le tableau ci dessous :

Congénère	BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	BDE-209
Concentrations (ng/g MS)	0.63 ±0.13	10.14 ±1.38	14.20 ±1.40	3.04 ±0.29	1.93 ±0.16	1.71 ±0.16	0.45 ±0.14	1164 ±120

Concentrations en PBDE dans le sédiment de référence BROC-02

L'analyse du COT a donné une valeur de 1,73% (carbone total : 3,10±0,29% et carbone inorganique : 1,37%).

Par ailleurs, tous les échantillons, tous les extraits et toutes les solutions diluées sont préparées dans des flacons en verre ambré afin de préserver leur contenu d'une exposition aux UV. Ils sont stockés au réfrigérateur (+4°C) lorsqu'ils ne sont pas utilisés.

Extraction par PFE :

Les extractions par PFE ont été réalisées sur un système ASE 200 (Dionex) couplé à un contrôleur de solvant. L'échantillon est mélangé à une masse environ égale de Celite avant son introduction dans la cellule. La cellule est ensuite complétée avec du sable de Fontainebleau et un filtre en cellulose est placé à chaque extrémité. L'extraction est réalisée à 100 bar et 90°C à l'aide d'un mélange dichlorométhane/n-hexane (50:50 v/v). Cette méthode est celle de la norme ISO 22032 [10].

Paramètres	Conditions analytiques
Cellule	11 mL
Solvant	DCM/n-hexane (1:1, v/v)
Pression	100 bar
Température	90°C
Temps de préchauffage	0
Extraction statique	5 min
Volume de rinçage	60%
Temps de purge (N2)	60 sec
Nombre de cycles	2
Prise d'essai	1 g

Conditions d'extraction détaillées par ASE 200

Les extractions par ultrasons ont été réalisées à l'aide d'un bain à ultrasons FB15055 (Fisher Scientific) de puissance 550 W et de fréquence 37 kHz. Les extractions ont été opérées dans des tubes à essai en verre borosilicaté de 100 mm x 16 mm d.i. fermés à l'aide d'un bouchon en liège recouvert de téflon et rendus hermétique à l'aide de parafilm.

Les homogénéisations 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 adsorbants utilisés pour la DSPE ont les origines suivantes : l'octadécyl (Si-C18) provient de cartouches SPE 7020-07 de chez Bakerbond qui ont été ouvertes pour récupérer la phase, de la même façon le Florisil® provient de cartouches SPE 24031 de chez Resprep, et l'alumine basique et la silice sont les mêmes que celles utilisées pour réaliser les colonnes.

Analyses par GC-MS :

Echantillons :

Tous les extraits purifiés sont ramenés à 1 mL dans l'isooctane par évaporation sous azote (un changement de solvant est réalisé si nécessaire).

Séparation chromatographique :

La séparation des PBDE dans les extraits purifiés a été réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse 6890N (Agilent) équipé d'un injecteur PTV (Gerstel) fonctionnant en mode solvant vent (Vinj= 3 µL à l'aide d'une seringue de 10 µL de chez SGE Analytical Science) 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 (phase polysiloxane 5% diphenyl et 95% diméthyl désactivée). De l'hélium de pureté 99,9999 % a été utilisé en tant que gaz vecteur à un débit de 1,3 mL/min.

Afin de corriger la variabilité de l'injecteur PTV, un étalon d'injection (BDE139) a été ajouté à 10 ng/mL dans chaque extrait final (après purification).

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

Programmation de température du four

temps	Température	Débit de gaz
0 à 0,4 min.	60°C	100 mL/min Fuite ouverte
0,4 à 4 min.	12 °C/sec jusqu'à 340 °C	1,3 mL/min
À partir de 4 min.	340°C	150 mL/min Fuite ouverte

Programmation de température du PTV

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, le courant d'ionisation est fixé à 35 μ A et l'énergie des électrons à 128 eV. La source est maintenue à une température de 226 °C et le quadropôle 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 13C-BDE-209 respectivement suivis avec les ions de m/z 487 et 495.

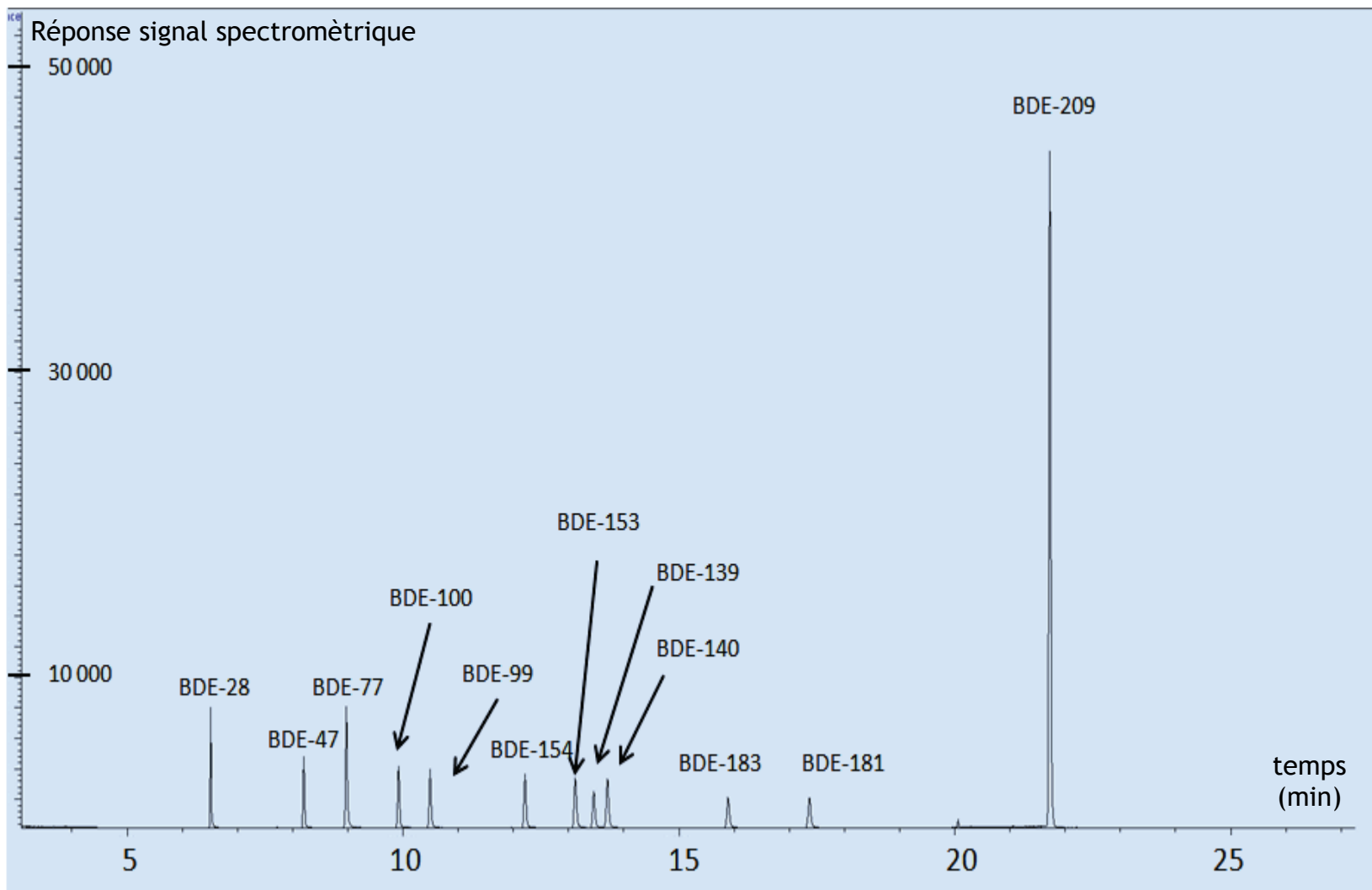
La quantification des PBDE a été réalisée par étalonnage interne.

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-181	79	81; 564
BDE-183	79	81; 564
BDE-209	487	485
13C-BDE-209	495	489

Détails des masses détectées pour le mode Selected Ion Monitoring

ANNEXE 2

Chromatogramme type de l'analyse des PBDE (10 ng/mL par BDE, 100 ng/mL pour le BDE209 dans l'isooctane),



ANNEXE 3

Conditions expérimentales utilisées pour l'analyse des
pesticides dans les sédiments

Composé	CAS #	Masse Molaire	Formule Brute
Alachlor-d ₁₃	1015856-63-9	282.85	C ₁₄ H ₇ D ₁₃ CINO ₂
Atrazine-d ₅	163165-75-1	220.71	C ₈ H ₉ D ₅ CIN ₅
Chlorfenvinphos-d ₁₀	-	369.63	C ₁₂ D ₁₀ H ₄ Cl ₃ O ₄ P
p,p'-DDT-d ₈	93952-18-2	362.54	(ClC ₆ D ₄) ₂ CHCCl ₃
Endosulfan α-d ₄	203645-57-2	410.95	C ₉ D ₄ H ₂ Cl ₆ O ₃ S
Endosulfan β-d ₄	203716-99-8	410.95	C ₉ D ₄ H ₂ Cl ₆ O ₃ S
Simazine-d ₁₀	220621-39-6	211.72	C ₇ H ₂ D ₁₀ CIN ₅
Trifuraline-d ₁₄	347841-79-6	348.38	C ₁₃ D ₁₄ H ₂ F ₃ N ₃ O ₄
Chlorpyrifos-Ethyl d ₁₀	285138-81-0	360.65	C ₉ HD ₁₀ Cl ₃ NO ₃ PS
Aldrin ¹³ C ₁₂	-	-	¹³ C ₁₂ H ₈ Cl ₆
Chlordecone ¹³ C ₁₀	-	-	¹³ C ₁₀ Cl ₁₀ O
Dichlorvos D ₆	203645-53-8	227.01	C ₄ D ₆ HCl ₂ O ₄ P
Terbutryn-d ₅	1219804-47-3	246.38	C ₁₀ D ₅ H ₁₄ N ₅ S
Irgarol-d ₉	1189926-01-9	262.42	C ₁₁ D ₉ H ₁₀ N ₅ S

Liste des pesticides marqués au deutérium ou au carbone 13 utilisés comme étalon interne

Matériel utilisé :

Le matériel retenu pour l'analyse de ces pesticides est un ensemble VARIAN constitué :

- d'un chromatographe en phase gazeuse de type GC450,
- d'un spectromètre de masse triple quadrupolaire de type MS320,
- d'un passeur d'échantillon de type CombiPal,
- d'un injecteur PTV de type 1079 équipé d'un insert en verre avec fritté,
- d'une colonne capillaire permettant la séparation des composés de type Rxi-5SilMS (Restek®) aux dimensions suivantes : Longueur = 60m ; diamètre interne = 0,25mm ; épaisseur de film = 0,25µm.

Paramètres chromatographiques :

Injection d'1µL de solution dans les conditions suivantes.

Paramètres PTV 1079 : mode « Splitless » sur un insert en verre avec fritté

Température	250 °C pendant 5min Rampe à 200 °C/min jusqu'à 340 °C pdt 10min
ratio de fuite	30 :1
Temps Splitless	1 min
Gaz vecteur	Hélium
Débit	1,2mL/min

Paramètres GC : temps total 20,53 min

Température (°C)	Rampe (°C/min)	Palier (min)
40		1
200	30	5
280	25	3
300	10	1

Paramètres ligne de transfert : Température = 320 °C

Paramètres de spectrométrie de masse :

L'acquisition du signal se fait en mode MS/MS. C'est-à-dire que pour chaque pesticide, deux ions parents sont isolés sur le 1^{er} quadropôle (Q1). Ils entrent en contact dans la cellule de collision (Q2) avec des atomes d'Argon avec une certaine énergie et se fragmentent. Les fragments respectifs les plus intenses (ion fils) de chaque ion parent sont isolés dans le 3^{ème} quadropôle (Q3). On détermine ainsi pour une pression d'argon donnée, des transitions ions parents-ions fils associées à une énergie de collision.

Paramètres MS :

Source température	250°C
Type ionisation	Impact électronique
Type acquisition	MS/MS
Mode du détecteur	EDR
Délai Solvant	7,5min
Courant d'émission	50µA
Energie Electron	70eV

Le tableau ci-dessous regroupe les transitions et les énergies de collision associées pour les différents composés, à une pression d'argon dans la cellule de collision Q2 égale à $P_{Ar} = 2,4\text{mTorr}$.

Segment d'acquisition	Composé	Tr (min)	Type de transition (*)	Q1 Ion Parent (m/z)	>	Q3 Ion fils (m/z)	Energie Collision (V)
7.5min	Dichlorvos-d6	8.405	Q	115	>	83	10
	Dichlorvos	8.428	Q	109	>	79	10
11min			q	185	>	93	12.5
	Trifuraline-d14	12.37	Q	315	>	267	7.5
	Trifuraline	12.467	Q	306	>	264	7.5
13min			q	264	>	206	7.5
	Simazine-d10	13.411	Q	211	>	179	7.5
	Simazine	13.501	Q	201	>	173	7.5
			q	173	>	138	7.5
	Atrazine-d5	13.523	Q	205	>	105	12.5
	Atrazine	13.569	Q	200	>	122	10
14.5min			q	173	>	138	7.5
	Alachlor-d13	14.911	Q	200	>	172	10
	Alachlor	15.002	Q	188	>	160	10
15.15min			q	160	>	130	25
	Terbutryn-d5	15.308	Q	190	>	175	7.5
	Terbutryn	15.34	Q	185	>	170	10
15.45min			q	241	>	185	7.5
	Chlorpyrifos-Ethyl-d10	15.595	Q	324	>	260	12.5
	Chlorpyrifos-Ethyl	15.66	Q	314	>	258	12.5
15.8min			q	199	>	171	15
	Aldrin ¹³ C ₁₂	15.953	Q	270	>	200	30
	Aldrin	15.977	Q	263	>	193	30
16.15min			q	293	>	186	32.5
	Chlorfenvinphos-d10	16.311	Q	333	>	269	12.5
	Chlorfenvinphos	16.372	Q	323	>	267	12.5
			q	267	>	159	15
	Irgarol-d9 (Cybutryn-d9)	16.405	Q	183	>	110	12.5
	Irgarol (Cybutryn)	16.465	Q	182	>	109	12.5
			q	253	>	182	15
	Isodrin	16.507	Q	193	>	123	27.5
17min			q	195	>	159	20
	Endosulfan α-d4	17.303	Q	164	>	129	15
	Endosulfan α	17.341	Q	195	>	159	10
17.6min			q	159	>	123	15
	Dieldrin	17.86	Q	277	>	241	10
18.1min			q	263	>	193	30
	Endrin	18.3	Q	263	>	193	30
18.37min			q	281	>	245	10

Segment	Composé	Tr (min)	Type de transition (*)	Q1 Ion Parent (m/z)	>	Q3 Ion fils (m/z)	Energie Collision (V)
	Endosulfan β -d4	18.433	Q	164	>	129	15
	Endosulfan β	18.473	Q	195	>	160	7.5
18.79min			q	159	>	123	15
	Chlordecone $^{13}\text{C}_{10}$	19.053	Q	277	>	242	12.5
	Chlordecone	19.056	Q	272	>	237	12.5
			q	274	>	239	12.5
	p,p'-DDT-d8	19.078	Q	243	>	173	20
	p,p'-DDT	19.134	Q	235	>	165	20
			q	165	>	164	22.5

ANNEXE 4

Etude de la perte des pesticides par adsorption sur les phases adsorbantes (C₁₈ et PSA) utilisées pour la purification

	Moyenne Rendements Purification n=3	Ecart type (%)
DICHLORVOS-D6	99%	7%
DICHLORVOS	97%	7%
TRIFLURALINE-D14	105%	3%
TRIFLURALINE	110%	4%
SIMAZINE-D10	112%	10%
SIMAZINE	119%	7%
ATRAZINE-D5	111%	8%
ATRAZINE	115%	6%
ALACHLOR-D13	111%	8%
ALACHLOR	118%	4%
TERBUTRYN-D5	109%	8%
TERBUTRYN	109%	6%
CHLORPYRIFOS-D10	111%	5%
CHLORPYRIFOS	117%	5%
ALDRIN-13C12	96%	4%
ALDRIN	100%	5%
CHLORFENVINPHOS-D10	126%	13%
CHLORFENVINPHOS	131%	16%
CYBUTRYN-D9	106%	7%
CYBUTRYN	112%	9%
ISODRIN	110%	5%
alpha-ENDOSULFAN-D4	110%	9%
alpha-ENDOSULFAN	112%	7%
DIELDRIN	117%	4%
ENDRIN	125%	9%
beta-ENDOSULFAN-D4	116%	10%
beta-ENDOSULFAN	120%	8%
CHLORDECONE-13C12	1%	2%
CHLORDECONE	1%	1%
4,4'-DDT-D8	121%	13%
4,4'-DDT	126%	12%

ANNEXE 5

Protocole de préparation des sédiments pour l'analyse des
pesticides

Origine des sédiments

2 des sédiments enrichis sont des échantillons de rivière reçus au laboratoire dans le cadre de l'étude prospective (sédiment 1 (Ru d'Aitone à Evisa en Corse du sud) (COT <0.4%) et 2 (Luech à Genolhac en Lozère (COT 1.4%)). Le dernier sédiment provient de la rivière Nimy-Blatton (Belgique) (COT 10.9%) (Sédiment 3).

Préparation avant extraction

Ces 3 sédiments ont été lyophilisés puis broyés au broyeur planétaire à billes et tamisés à 200 µm.

Protocole de dopage

L'enrichissement a consisté en un dopage par 20 µL d'une solution contenant les pesticides ciblés à 5 µg/mL dans l'acétone. Pour favoriser l'imprégnation et l'homogénéisation des pesticides dans le sédiment, une maturation d'une nuit est réalisée sous agitation.

Contrôles qualité

Pour chaque sédiment enrichi, un blanc de matrice non-dopée et 3 dopages sont réalisés sur 1 g de prise d'essai.

Matériau de référence

Le matériau certifié utilisé est le CRM804-050 lot DG804 fournis par RTC.

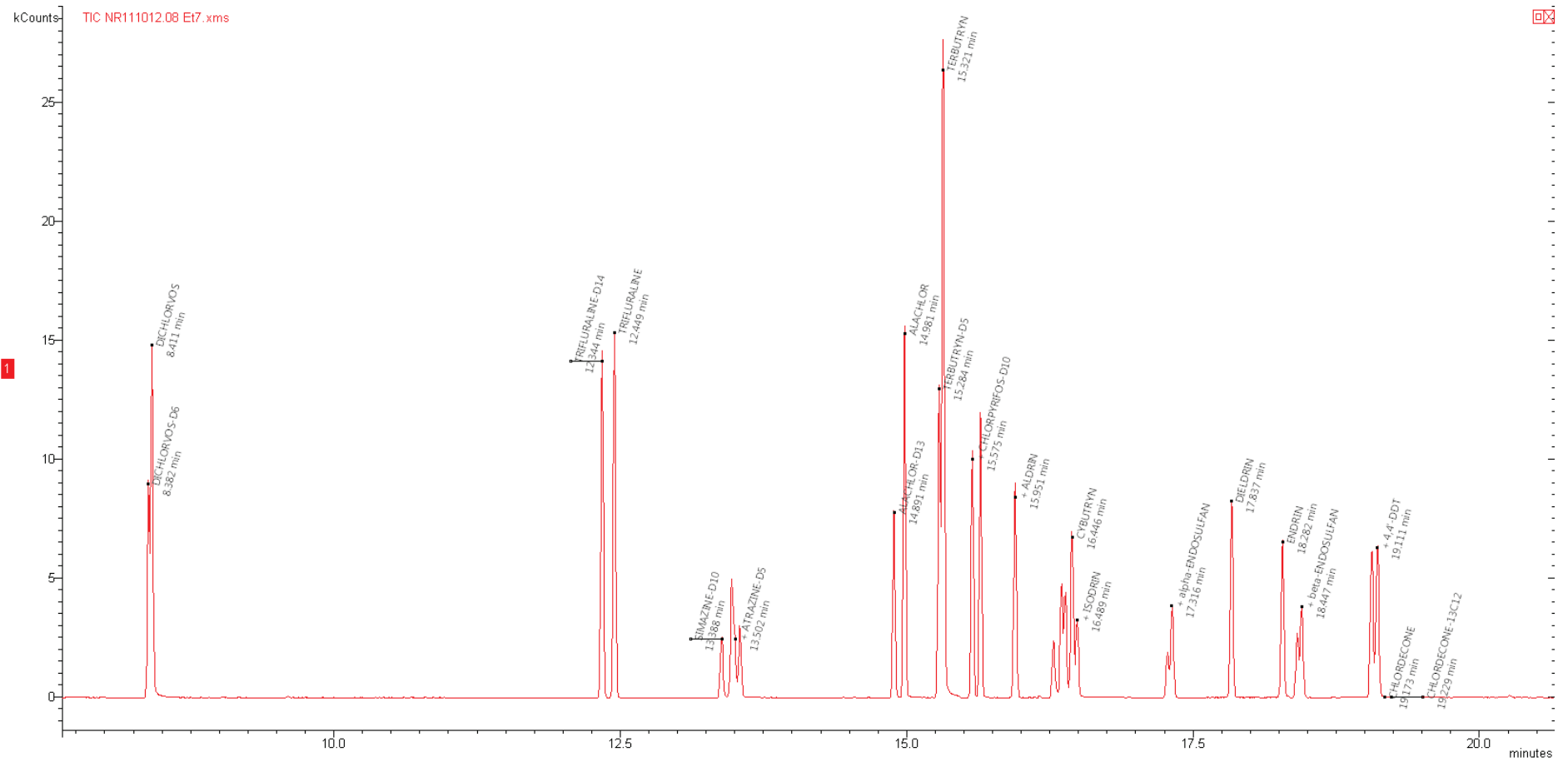
Le CRM est analysé également en triplicat.

Protocole d'analyse

Le protocole LSE+dSPE est appliqué après ajout des étalons internes à 100 ng/g (20 µL d'une solution à 5 µg/mL).

ANNEXE 6

Chromatogramme d'un étalon de pesticides à 100 ng/mL
dans l'acétonitrile obtenu par GC/MS/MS



ANNEXE 7

Chromatogramme d'un extrait de sédiment à 10 ng/g dans
l'acétonitrile obtenu par GC/MS/MS

