

Evaluation de l'extraction sur barreau absorbant (SBSE) pour la mesure de pesticides à des niveaux traces dans les eaux brutes en vue de la surveillance des milieux aquatiques

Amélioration des opérations d'analyses physico- chimiques

**Claire Clisson, François Lestremau
Février 2017**

**Programme scientifique et technique
Année 2016**

Rapport final

Avec le soutien de

Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2015 dans le cadre du partenariat ONEMA - AQUAREF 2016, au titre de l'action D- Amélioration des opérations d'analyses physico-chimiques.

Les auteurs :

Claire Clisson
INERIS

François Lestremau
INERIS
francois.lestremau@ineris.fr

Vérification du document :

Christelle Margoum
IRSTEA
Christelle.margoum@irstea.fr

Laurence Amalric
BRGM
laurence.amalric@brgm.fr

Les correspondants

Onema : Pierre-François Staub

Etablissement :

Référence du document : C. CLISSON, F. LESTREMAU - Evaluation de l'extraction sur barreau absorbant (SBSE) pour la mesure de pesticides à des niveaux traces dans les eaux brutes en vue de la surveillance des milieux aquatiques - Rapport AQUAREF 2016 - 58 p

Droits d'usage :	<i>Accès public</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	7
2. INTRODUCTION.....	8
3. COMPOSES ETUDIES	9
4. MATERIEL UTILISE ET CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES	10
4.1 Chromatographe en phase gazeuse - spectromètre de masse en tandem : GC-MS-MS	10
4.2 Matériel pour la filtration	11
4.3 Matériel pour l'extraction par SBSE.....	11
5. PRINCIPE ET THEORIE DE LA SBSE	12
6. DEVELOPPEMENT ANALYTIQUE	14
6.1 Optimisation des paramètres du TDU	14
6.2 Optimisation des paramètres d'extraction par SBSE.....	18
6.3 Volume d'échantillonnage et cinétique d'extraction	19
6.4 Effet mémoire	20
7. PARTIE 1 : PERFORMANCES DE LA METHODE SUR LA FRACTION DISSOUTE.....	22
7.1 Droites d'étalonnage.....	22
7.2 Répétabilité et Justesse	23
8. PARTIE 2 : PERFORMANCES DE LA METHODE EN PRESENCE DE MATIERES EN SUSPENSIONS.....	25
8.1 Contexte et partie théorique	25
8.2 Partie expérimentale.....	27
9. CONCLUSION	32
10. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	33
11. LISTE DES ANNEXES	34

RESUME

L'arrêté « surveillance » du 07/08/2015 a étendu la surveillance à de nombreux polluants émergents à des niveaux de traces. Ces polluants sont désignés sous le nom de substances pertinentes. Pour certaines de ces substances classées en liste B, un délai supplémentaire a été accordé jusqu'à 2019, car les limites de quantification ont été jugées difficiles à atteindre sans développements spécifiques.

Dans ce cadre, la méthode de pré-concentration d'échantillon par SBSE couplée à une analyse par GC/MS/MS a été évaluée afin de pouvoir répondre à ces exigences. Le malathion et le prochloraze, qui font partie des substances pertinentes et dont les limites de quantification sont respectivement exigées à 5 et 1 ng/L ont été étudiés, ainsi que 4 autres pesticides d'intérêt.

Des optimisations ont d'abord été mises en œuvre sur les conditions d'analyse du système de thermodésorption du GC/MS/MS. Ensuite, les cinétiques d'absorption ont été établies ce qui a permis de déterminer le temps d'équilibre pour chaque composé. Au final, un temps d'équilibre de 18 h, avec un volume d'échantillon de 100 mL, permet d'atteindre les meilleures performances.

Les tests dans différentes matrices d'eau de source ou de rivière filtrées ont démontré que des limites de quantification inférieures au ng/L pouvaient être atteintes dans tous les cas avec des performances de répétabilité et de justesse acceptables.

La SBSE est, *a priori*, seulement compatible avec l'analyse de la fraction dissoute d'un polluant dans les eaux. Or, l'arrêté « surveillance » prescrit un dosage sur les eaux brutes (sans séparation ni décantation des matières en suspension). Ainsi, la deuxième partie de l'étude a consisté à évaluer la compatibilité d'une analyse par SBSE pour la mesure de ces composés dans l'eau brute.

Ces essais ont été effectués en utilisant pour chaque composé suivi un étalon interne isotopique spécifique. Ainsi, cet étalon interne pouvait, en théorie, refléter le comportement du composé parent et notamment sa partition entre les différentes phases lors de l'échantillonnage.

Des tests ont été effectués avec une eau de rivière chargée avec différents niveaux de matières en suspension (jusqu'à 150 mg/L) et à différents niveaux de concentration. Ces résultats ont indiqué que dans les conditions du test, des performances correctes ont été obtenues pour tous les composés testés en termes de répétabilité et de justesse, à l'exception des niveaux à ~ 1 ng/L pour le malathion et le prochloraze.

MOTS CLES (THEMATIQUE ET GEOGRAPHIQUE) :

PESTICIDES, SBSE, GC/MS/MS, EAU FILTREE, EAU BRUTE, METHYL-PARATHION, ETHYL-PARATHION, FENITROTHION, FENTHION, PROCHLORAZE

PRÉAMBULE

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

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

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

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

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

	Rédaction	Vérification	Approbation
NOM	F. Lestremau	O. Aguerre-Chariol	M. Durif
Qualité	Unité « Innovation pour la mesure » Direction des Risques Chroniques	Responsable de l'Unité « Innovation pour la mesure » Direction des Risques Chroniques	Responsable du Pôle « Caractérisation de l'Environnement » Direction des Risques Chroniques
Visa			

1. GLOSSAIRE

CV	Coefficient de variation
DCE	Directive Cadre Eau
EI	Etalon interne
FENI	Fénitrothion
FENT	Fenthion
GC	Chromatographie en phase gazeuse
LQ	Limite de quantification
MALA	Malathion
MES	Matières en suspension
MRM	Multiple Reaction Monitoring
MS	Spectrométrie de masse
PARA	Ethyl-parathion
PARA Me	Méthyl-parathion
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PNEC	Predicted non effect concentration
PROC	Prochloraze
PTV	Programmed temperature vaporization
SBSE	Stir Bar Sorptive Extraction
SIM	Single Ion Monitoring
TDU	Thermo-désorbeur

2. INTRODUCTION

Afin d'améliorer les connaissances sur la présence des polluants émergents dans les milieux aquatiques, une étude exploratoire a été mise en œuvre en 2012 sous l'égide de l'ONEMA. Les composés majoritairement retrouvés dans les eaux lors de cette étude ont été intégrés dans un arrêté national publié en Août 2015 [1], qui vise la surveillance régulière des substances sélectionnées. Les substances ont été classées dans 2 catégories, la liste A pour laquelle les limites de quantification (LQ) semblent immédiatement accessibles par les laboratoires de routine, et la liste B où les laboratoires ont jusqu'à 2019 pour développer des méthodes compatibles avec les seuils exigés. Cette liste comprend ainsi des composés avec des limites de quantification extrêmement basses, de l'ordre du ng/L, correspondant à des seuils écotoxicologiques de PNEC (Predicted Non Effect Concentration).

De cette liste et dans ce cas, il peut être notamment ressorti le malathion (5 ng/L) et le prochloraze (1 ng/L). Une étude a été menée à l'INERIS afin de développer une méthode analytique capable de doser ces 2 pesticides, ainsi que 4 autres pesticides d'intérêt à des niveaux traces. Afin d'atteindre les limites de quantification très basses requises, une méthode à base de SBSE (Stir Bar Sorptive Extraction) avait été utilisée pendant l'étude exploratoire par le LPTC de l'Université de Bordeaux pour le dosage de certains pesticides dont le malathion dans de l'eau filtrée.

Cette technique de pré-concentration d'échantillon a été réutilisée dans la présente étude et ses performances évaluées. La méthode a été modifiée afin de pouvoir effectuer une analyse simultanée du malathion et du prochloraze. Ce document présente d'abord les optimisations effectuées dans ce cadre et les performances atteintes sur de l'eau filtrée.

La SBSE est, *a priori*, seulement compatible avec l'analyse de la fraction dissoute d'un polluant dans les eaux. Or, l'arrêté « surveillance » prescrit un dosage sur les eaux brutes (sans séparation ni décantation des matières en suspension). Ainsi, une deuxième partie de l'étude a consisté à évaluer la compatibilité d'une analyse par SBSE pour la mesure de ces composés dans l'eau brute.

3. COMPOSES ETUDIES

Les composés étudiés sont répertoriés dans le Tableau 1.

Aux 2 composés cités dans l'arrêté surveillance (le malathion et le prochloraze), d'autres pesticides qui faisaient partie de la campagne exploratoire ont été ajoutés afin d'élargir la gamme de propriétés physico-chimiques des substances étudiées. L'ométhoate, qui était initialement visé dans cette étude n'a pas été inclus, car les résultats préliminaires ont montré qu'il était trop polaire pour être analysé par SBSE/GC/MS/MS. Les formules développées des composés étudiés figurent dans l'Annexe 1.

Tableau 1 : Liste des composés étudiés.

Nom	Acronyme	N° CAS	Code sandre	Formule Brute	Masse molaire (g/mol)	Temp. d'ébullition (°C) ¹	Log K _{ow} ¹
Malathion	MALA	121-75-5	1210	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	330	351	2,3
Methyl-parathion	PARA Me	298-00-0	1233	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS	263	348	2,8
Fénitrothion	FENI	122-14-5	1187	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS	277	360	3,3
Ethyl-parathion	PARA	56-38-2	1232	C ₁₀ H ₁₄ NO ₅ PS	291	372	3,8
Fenthion	FENT	55-38-9	1190	C ₁₀ H ₁₅ O ₃ PS ₂	278	349	4,1
Prochloraze	PROC	67747-09-5	1253	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂	377	460	4,7

¹ Les log k_{ow} et les températures d'ébullition proviennent du logiciel EPI suite (en considérant de préférence les données expérimentales dont les données sont fournies sur le site de Chempider (<http://www.chemspider.com/>))

Pour chaque pesticide testé, un homologue deutéré spécifique à chaque molécule étudiée a été utilisé comme étalon interne (voir Tableau 2 pour la liste détaillée des molécules utilisées).

4. MATERIEL UTILISE ET CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES

4.1 CHROMATOGRAPHE EN PHASE GAZEUSE - SPECTROMETRE DE MASSE EN TANDEM : GC-MS-MS

L'analyse des composés a été effectuée avec un chromatographe en phase gazeuse du type Varian 450-GC couplé avec un spectromètre de masse Varian 320-MS triple quadripôle (Figure 1).



Figure 1 : TDU-GC-MS-MS Varian

La partie GC est équipée d'un injecteur PTV (Programmed Temperature Vaporization) de type 1079. Lors des essais avec la technique SBSE, le GC a été équipé d'un thermo-désorbeur (TDU) de la marque Gerstel. Dans ce mode, l'injecteur PTV est réglé à froid pour piéger les analytes désorbés de la SBSE dans le TDU puis un flash thermique est appliqué pour le transfert vers la colonne. Un passeur d'échantillon de type CombiPal® est employé. La colonne utilisée est une Rxi-XLb (Restek®) de dimension : longueur 60 m, diamètre interne 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 μm .

La méthode chromatographique a été optimisée à partir d'une méthode multi-résidus qui s'appliquait à toutes sortes de composés notamment des pesticides [2].

Les paramètres de détection spectrométriques sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 2 : Temps de rétention et transitions spectrométriques des composés cibles et des étalons internes

Acronyme	Temps de rétention (min)	Transitions de quantification			Energie de collision (V)	Transitions de qualification			Energie de collision (V)
		Ion parent		Ion fils		Ion parent		Ion fils	
FENI	18,07	277	>	109	18	277	>	260	10
FENI d6	17,97	283	>	266	10				
FENT	18,61	278	>	109	20	278	>	169	20
FENT d6	18,51	284	>	115	20				
MALA	17,86	173	>	99	15	158	>	125	12
MALA d10	17,70	183	>	100	17				
PARA	18,98	291	>	109	17	109	>	81	14
PARA d10	18,81	301	>	115	16				
PARA Me	17,31	263	>	109	17	263	>	127	15
PARA Me d6	17,21	269	>	115	15				
PROC	28,38	180	>	138	15	308	>	70	19
PROC d7	28,32	187	>	139	15				

Les autres paramètres chromatographiques et spectrométriques sont présentés en Annexe 2.

4.2 MATERIEL POUR LA FILTRATION

Lors des extractions par SBSE sur la phase dissoute, les eaux ont d'abord été filtrées afin d'éliminer les matières en suspension (MES). La filtration a été effectuée sous pression d'azote avec des filtres GF/F Whatman de porosité équivalente à 0,7 µm.

4.3 MATERIEL POUR L'EXTRACTION PAR SBSE

Les barreaux de SBSE ont été achetés auprès de la société Gerstel®. Ils mesurent 2 cm de longueur avec une épaisseur de 0,5 mm de PDMS soit un volume de phase de 47 µL. Les flacons utilisés lors de l'échantillonnage ont été préalablement calcinés à 450°C. De l'aluminium calciné a été inséré entre le bouchon et le flacon afin d'éviter toute contamination par le bouchon.

Avant utilisation, les barreaux SBSE ont été préalablement conditionnés à 300°C sous atmosphère inerte pendant 3 heures.

Les extractions ont été effectuées dans une enceinte thermostatée à 30°C de façon à maintenir le facteur température constant pour toutes les analyses.

5. PRINCIPE ET THEORIE DE LA SBSE

▪ Principe

L'extraction sur phase solide avec un barreau d'agitation SBSE repose sur la partition des analytes entre la matrice de l'échantillon et une phase stationnaire absorbante recouvrant un barreau aimanté. La phase stationnaire utilisée dans le cadre de ce projet est le polydiméthylsiloxane (PDMS), qui est un polymère apolaire. Les composés vont venir s'absorber dans le PDMS en fonction de leurs polarités. L'agitation du barreau aimanté favorise le transfert de masse et ainsi l'extraction des composés d'intérêt.

▪ Théorie

La technique SBSE repose sur un équilibre entre les analytes présents dans la matrice liquide et dans le PDMS. Ainsi un coefficient de partition K est déterminé afin de représenter cet équilibre. Celui-ci est proportionnel au coefficient de partage octanol-eau ($\log K_{ow}$). Le PDMS étant apolaire, les molécules lipophiles s'absorbent préférentiellement. Ces coefficients K (ou K_{ow}) dépendent également de la température. L'équation permettant de déterminer K est présentée ci-dessous : [3,4]

$$K \approx K_{o/w} = \frac{C_{PDMS}}{C_{aq}} = \left(\frac{m_{PDMS}}{m_{aq}} \right) \left(\frac{V_{aq}}{V_{PDMS}} \right) = \beta \left(\frac{m_{PDMS}}{m_{aq}} \right) \quad \text{Équation 1}$$

où C_{PDMS} et C_{aq} sont les concentrations de l'analyte respectivement dans le PDMS et dans l'eau. m_{PDMS} est la masse d'analyte absorbée dans le PDMS et m_{aq} est la masse d'analyte dans l'eau. V_{PDMS} et V_{aq} sont les volumes des phases PDMS et aqueuses. β représente le rapport entre ces volumes.

La technique de SBSE est basée sur un équilibre, par conséquent il dépend du temps d'extraction. La concentration de l'analyte en fonction du temps est représentée dans la Figure 2. L'équation décrivant cet équilibre est la suivante : [5, 6]

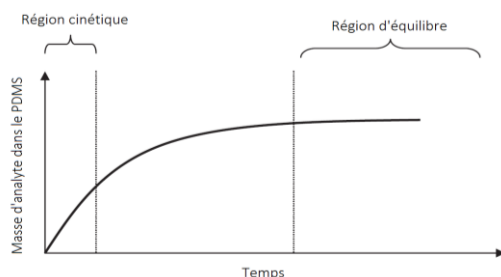


Figure 2 : Evolution de la masse d'analyte dans le PDMS en fonction du temps

$$C_{PDMS}(t) = C_{aq,t=0} \times \frac{k_1}{k_2} \times (1 - e^{-k_2 t})$$

Equation 2

où C_{PDMS} est la concentration de l'analyte dans le PDMS, $C_{aq,t=0}$ représente la concentration initiale de l'analyte dans la phase aqueuse. k_1 et k_2 sont les constantes d'absorption et d'élimination. t est le temps d'extraction.

Dans la région d'équilibre, la concentration de l'analyte dans l'absorbant est la plus importante ce qui favorise l'obtention de meilleures limites de quantification et une robustesse plus importante de la méthode.

Pour résumer, le taux de récupération SBSE dépend de plusieurs paramètres tel que le coefficient de partage octanol/eau de l'analyte, la température, le rapport β entre les volumes de PDMS et de phase aqueuse ainsi que le temps d'extraction.

De plus, le taux de récupération est influencé par des paramètres secondaires tels que la vitesse d'agitation (avant d'atteindre l'équilibre) et l'ajout d'agents modifiants. Par exemple, l'ajout de méthanol augmente la solubilité des composés apolaires dans l'échantillon d'eau. Néanmoins l'absorption des composés plus polaires sur le barreau sera diminuée. Un compromis doit être établi afin d'extraire au mieux les composés d'intérêt [6,7].

▪ **Avantages et inconvénients**

La SBSE est une technique de pré-concentration d'échantillon. Elle permet donc d'abaisser les limites de détection/quantification. Cette technique nécessite un plus petit volume d'échantillon que les techniques d'extraction traditionnelles. Elle est facile d'utilisation et demande peu de manipulations opératoires. De surcroît, un barreau de SBSE est réutilisable entre 10 et 50 fois [5, 7].

Malgré ces avantages, la SBSE requiert un équipement spécifique de thermo-désorption pour bénéficier pleinement du gain de sensibilité. En outre le PDMS possède une capacité d'absorption importante, ce qui peut entraîner pour le barreau un effet mémoire difficile à éliminer [7].

6. DEVELOPPEMENT ANALYTIQUE

6.1 OPTIMISATION DES PARAMETRES DU TDU

L'analyse des barreaux de SBSE se fait par thermo-désorption. Celle-ci est conditionnée par plusieurs paramètres tels que le temps et la température de désorption, la température de cryo-focalisation et le débit de balayage lors de la désorption. De plus, le choix du liner est important. Ces différents paramètres ont été étudiés afin d'obtenir une sensibilité optimale lors de l'injection. Des optimisations à base de plan d'expérience peuvent être préférentiellement mises en œuvre pour l'optimisation de paramètres d'analyse pour la SBSE [8]. Dans ces travaux, une approche par paramètre a été utilisée car il n'était pas prévu initialement d'optimiser tous ces paramètres mais au vu des résultats obtenus, il est apparu important de considérer d'autres facteurs. Sachant que certains facteurs avaient déjà été testés, il n'était plus pertinent de repartir sur un plan d'expérience.

Lors de l'optimisation, hormis celui étudié, tous les paramètres ont été fixés : temps de désorption de 10 min - température de désorption de 280°C - température de cryo-focalisation de 20°C et débit de balayage du barreau à 75 mL/min. Ces paramètres correspondaient à ceux d'une méthode développée précédemment au laboratoire en interne pour l'analyse de certains composés dont des pesticides.

Tous ces essais ont été effectués avec des barreaux qui ont été exposés préalablement à une concentration de 100 ng/L en pesticides dans 15 mL d'eau d'Evian® pendant 2 heures à 550 tr/min et 30°C.

6.1.1 LE TEMPS DE DESORPTION

Les temps de désorption étudiés étaient de 4, 6, 8 et 10 min. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 3 avec en ordonnée la surface du pic exprimée en pourcentage de l'aire maximale obtenue.

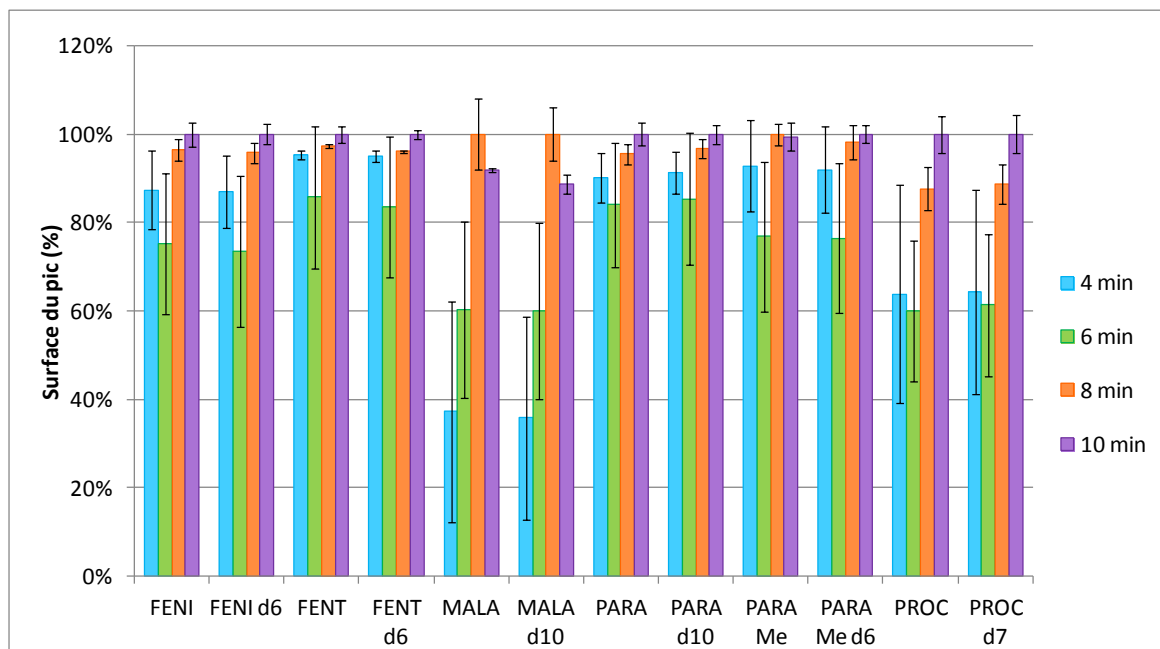


Figure 3 : Impact du temps de désorption sur le recouvrement relatif des composés étudiés lors de l'analyse par SBSE (n=3)

Pour l'ensemble des composés hormis le prochloraze, la désorption semble optimale pour 8 minutes. De manière générale, moins un composé est volatil et plus son temps de désorption est long. Ce phénomène est principalement marqué pour le prochloraze. Celui-ci a une température d'ébullition de 484°C contre 350°C en moyenne pour les autres composés donc son temps de désorption est de 10 minutes minimum. Le gain de sensibilité entre 8 et 10 minutes est de 10 % pour le prochloraze. Ainsi, par compromis entre tous les résultats observés, une durée de désorption de 8 minutes est retenue. A noter le comportement identique des composés marqués par rapport à leur homologue natif (et comme également constaté pour les expériences suivantes).

6.1.2 LA TEMPERATURE DE CRYO-FOCALISATION DU PTV

Quatre températures de cryo-focalisation du PTV ont été comparées : 10, 20, 30 et 40°C. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 4 avec en ordonnée la surface du pic exprimée en pourcentage de l'aire maximale obtenue.

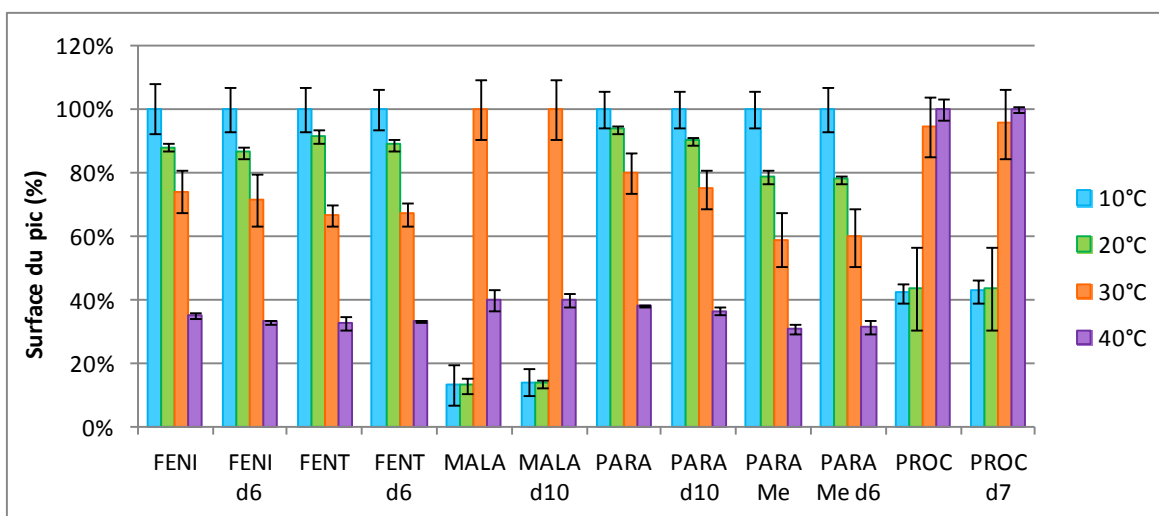


Figure 4 : Impact de la température de cryo-focalisation sur le recouvrement des composés étudiés lors de l'analyse par SBSE(n=3)

Pour le fénitrothion, le fenthion, le parathion et la méthyl-parathion ainsi que leurs homologues marqués, la température de cryo-focalisation optimale est de 10°C. Pour le malathion et le prochloraze, elle est respectivement de 30 et 40°C. Ces deux composés présentent une sensibilité spectrométrique la moins importante de tous les composés testés, donc le choix de leur température de cryo-focalisation prédomine sur les autres. Cependant, une température trop élevée ne permet pas de retenir les composés les plus volatils. Par conséquent, une température de cryo-focalisation de 25°C est retenue.

6.1.3 LA TEMPERATURE DE DESORPTION

Les deux températures de désorption étudiées sont 280 et 300 °C (correspondant à la gamme de températures généralement utilisées pour la désorption de ces composés [8]). Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 5 avec en ordonnée la surface du pic exprimée en pourcentage de l'aire maximale obtenue.

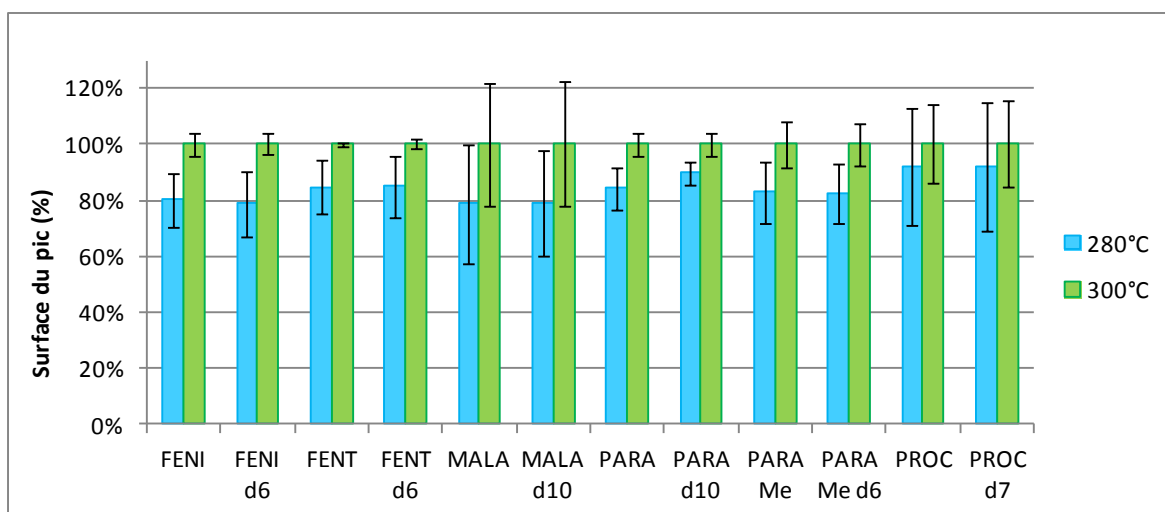


Figure 5 : Impact de la température de désorption sur le recouvrement des composés étudiés lors de l'analyse par SBSE (n=3)

Pour l'ensemble des composés, une température de 300°C permet d'obtenir une meilleure réponse. Donc cette température est retenue pour la méthode finale.

6.1.4 LE DEBIT DE GAZ DE BALAYAGE DU SYSTEME DE THERMODESORPTION

Trois flux de gaz de balayage du barreau SBSE ont été étudiés : 50, 75 et 100 mL/min. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 6 avec en ordonnée la surface du pic exprimée en pourcentage de l'aire maximale obtenue.

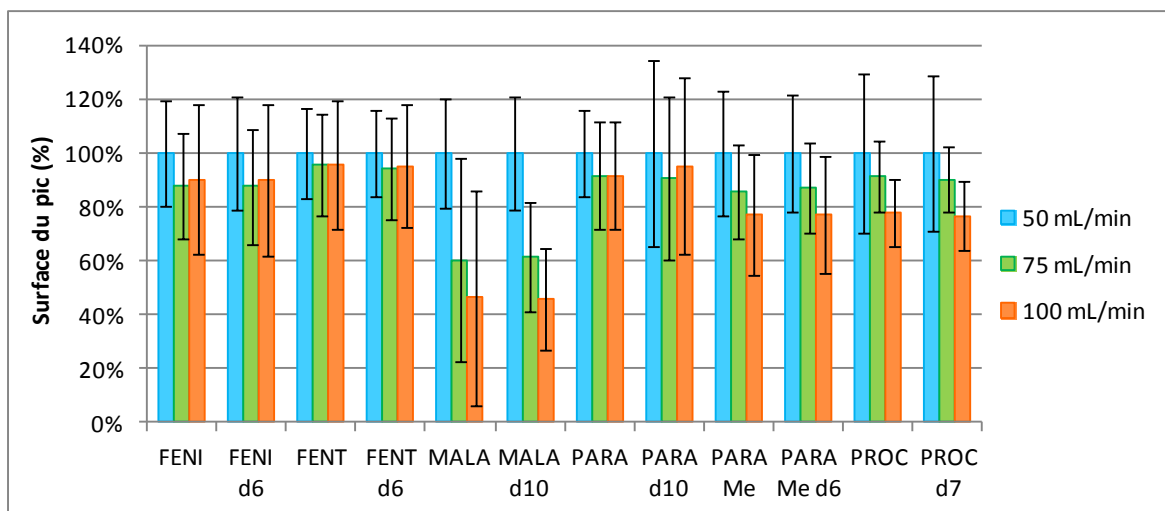


Figure 6 : Impact du débit d'hélium sur le recouvrement des composés étudiés lors de l'analyse par SBSE (n=3)

Pour l'ensemble des composés, un débit de 50 mL/min permet l'obtention de la meilleure performance. Un débit trop élevé empêche les composés d'être piégés dans le PTV.

6.1.5 CHOIX DU LINER

Le liner est un tube en verre qui, dans ce cadre, permet de transférer les analytes du thermodésorbeur vers la colonne chromatographique. Celui-ci peut être un simple tube en verre ou être rempli de laine de verre par exemple qui permettra de fixer les analytes. Dans cette étude, un liner avec un étranglement, un liner avec de la laine de quartz et un liner avec plusieurs chicane ont été étudiés. Ils sont schématisés dans la Figure 7.

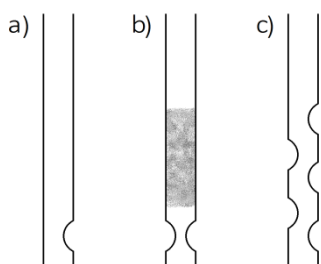


Figure 7 : Schéma (a) d'un liner avec étranglement, (b) avec de la laine de quartz et (c) avec plusieurs chicanes

Le liner avec étranglement permet de réduire le phénomène de flash-back (retour des composés vers l'injecteur). Celui-ci est simple et adapté à beaucoup de composés. Le liner rempli de laine de quartz permet d'obtenir des résultats plus reproductibles. De plus, les analytes sont piégés dans la laine de quartz avant l'injection. Cela permet de les concentrer en tête de colonne ce qui peut induire une augmentation de la sensibilité. Cependant la laine de quartz peut devenir active et interagir avec les analytes. Le liner possédant plusieurs chicanes a une surface de contact plus grande avec les composés. Il permet de mieux les retenir en comparaison au liner avec étranglement. Il est adapté pour les composés avec un point d'ébullition élevé [9,10].

Les résultats obtenus avec ces trois liners sont présentés dans la Figure 8 avec en ordonnée le pourcentage de l'aire maximale et l'écart type avec n=3.

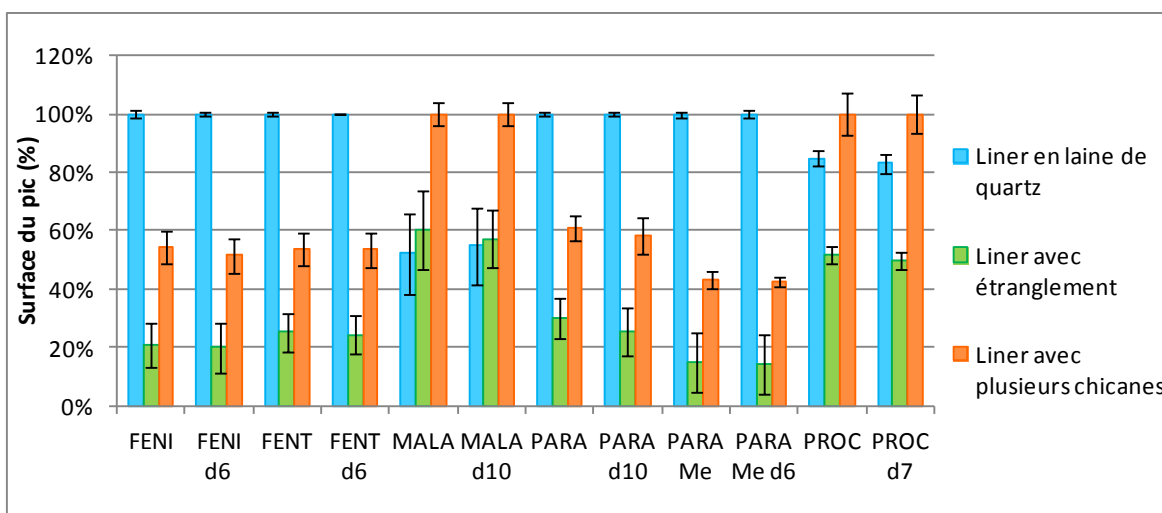


Figure 8 : Influence du liner sur le recouvrement des composés étudiés lors de l'analyse par SBSE (n=3)

Pour l'ensemble des composés hormis le malathion et le prochloraze, le liner avec la laine de quartz permet d'obtenir une meilleure sensibilité avec une bonne répétabilité. Pour ces deux exceptions, le liner avec plusieurs chicanes est le plus efficace. En effet, ce liner est adapté pour les composés lourds avec un point d'ébullition élevé, tandis que le liner avec de la laine de quartz est plutôt adapté pour les composés volatils. Pour la suite des expériences et afin d'obtenir un bon compromis entre toutes les substances de cette étude, un liner avec de la laine de quartz a été utilisé.

6.1.6 METHODE D'INJECTION FINALE

Après optimisation des paramètres d'injection, les paramètres testés qui permettent d'obtenir les meilleurs résultats sont : un temps de désorption du barreau SBSE de 8 min, les températures de cryo-focalisation et de désorption respectivement fixées à 25 °C et à 300°C, le débit de gaz de balayage à 50 mL/min et un liner avec de la laine de quartz.

6.2 OPTIMISATION DES PARAMETRES D'EXTRACTION PAR SBSE

6.2.1 AJOUT D'AGENTS MODIFIANTS

6.2.1.1 Impact du méthanol

L'ajout de méthanol permet d'augmenter la solubilité des composés apolaires dans la phase aqueuse (éviter la perte par adsorption sur les parois par exemple) et ainsi d'accroître leurs absorptions par le barreau de SBSE. Cependant, les interactions eau/analytes/PDMS des composés polaires sont modifiées [11, 12]. Par conséquent, plusieurs concentrations de méthanol ont été évaluées afin d'étudier l'impact de celui-ci sur l'extraction des composés.

Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure 9 avec en ordonnée le pourcentage de l'aire avec comme référence les essais avec 0 % en méthanol.

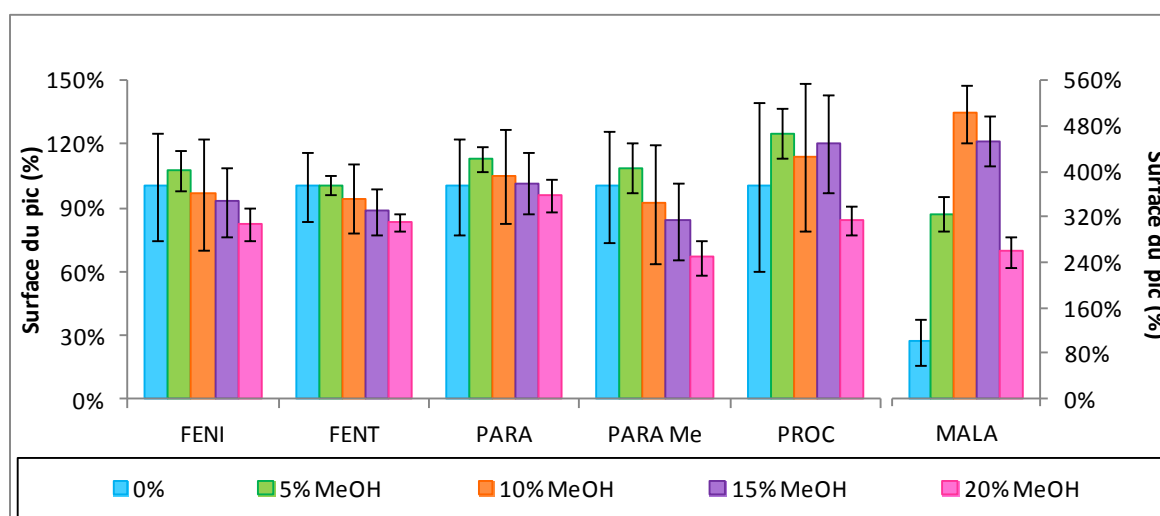


Figure 9 : Influence du méthanol sur l'extraction des composés étudiés lors de l'analyse par SBSE(n=3) (l'échelle de gauche s'applique à tous les composés sauf le malathion qui est relié à l'échelle de droite)

Entre 10 et 15 % de volume de méthanol, aucune différence notable n'est observée pour l'extraction. Mais à partir de 20 %, le méthanol diminue l'extraction des composés. De manière générale, plus la concentration en méthanol augmente et plus l'extraction des pesticides est défavorisée. Les composés étudiés sont plutôt semi-polaires ($2 < \log K_{ow} < 5$), or le méthanol favorise l'extraction des composés apolaires au détriment des composés polaires. Cependant, l'ajout d'un pourcentage modéré de méthanol (entre 5 et 15 %) permet une meilleure extraction pour le malathion. Globalement, une solution à 5 % de méthanol permet une meilleure extraction des composés.

6.2.1.2 Impact du chlorure de sodium

L'ajout de sel permet un meilleur transfert des molécules polaires vers le PDMS en abaissant leur solubilité dans l'eau. En contrepartie, les composés apolaires s'absorbent plus difficilement dans le barreau de SBSE [11, 12]. Afin d'étudier ce phénomène, quatre concentrations en chlorure de sodium sont utilisées : 5, 10, 15 et 20 % vol/vol.

Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure 10 avec en ordonnée le pourcentage de l'aire avec comme référence le 0 % en chlorure de sodium.

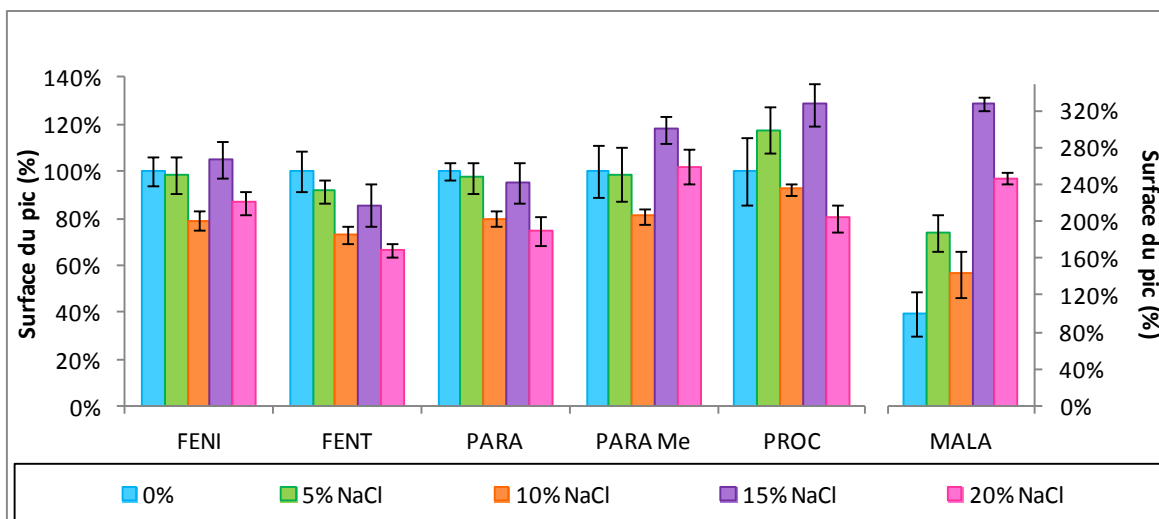


Figure 10 : Influence du chlorure de sodium sur l'extraction des composés étudiés lors de l'analyse par SBSE(n=3) (échelle de gauche pour FENI, FENT, PARA, PARA Me et PROC, échelle de droite pour MALA)

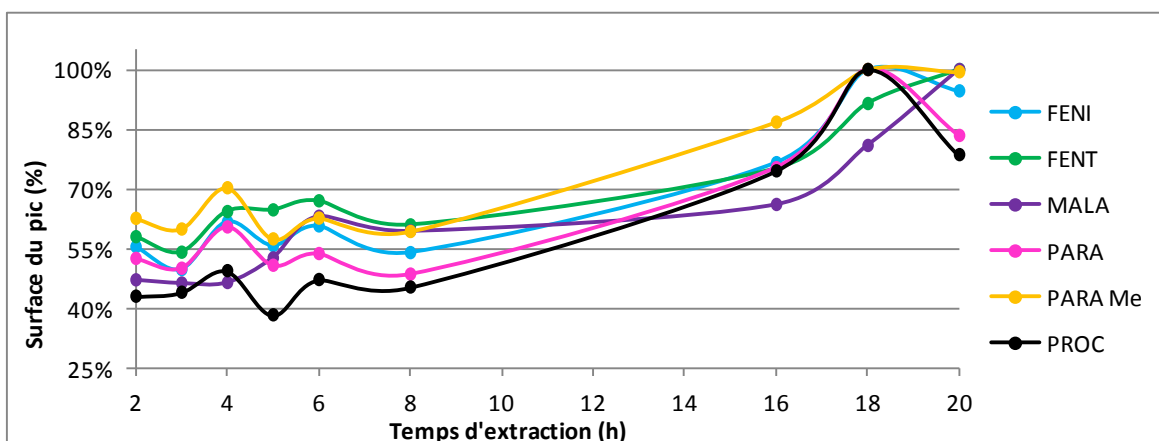
L'ajout de 5 % ou plus de sel influence peu l'extraction hormis pour le malathion. L'ajout de 15 % de sel a un effet positif pour le malathion, le prochloraze et le méthyl-parathion. Pour le fénitrothion, le fenthion et l'éthyl-parathion, l'effet est nul. Par conséquent, l'utilisation d'une solution à 15 % de chlorure de sodium paraît plus appropriée.

6.2.1.3 Bilan

En comparant l'utilisation d'une solution à 5 % de méthanol et celle à 15 % de chlorure de sodium, les essais avec le sel fournissent de meilleurs résultats. Les deux approches étant antagonistes, par conséquent, pour la suite des manipulations, les composés ont été extraits dans une solution à 15 % de chlorure de sodium.

6.3 VOLUME D'ÉCHANTILLONNAGE ET CINÉTIQUE D'EXTRACTION

Après avoir déterminé l'agent modifiant utilisé, le volume d'échantillonnage a été évalué. Pour étudier si ce paramètre a une influence sur la cinétique d'extraction (ou d'absorption), deux volumes de 50 et 100 mL ont été testés avec des temps d'extraction allant de 2h à 20h. Les courbes de cinétiques obtenues sont présentées dans la Figure 11.



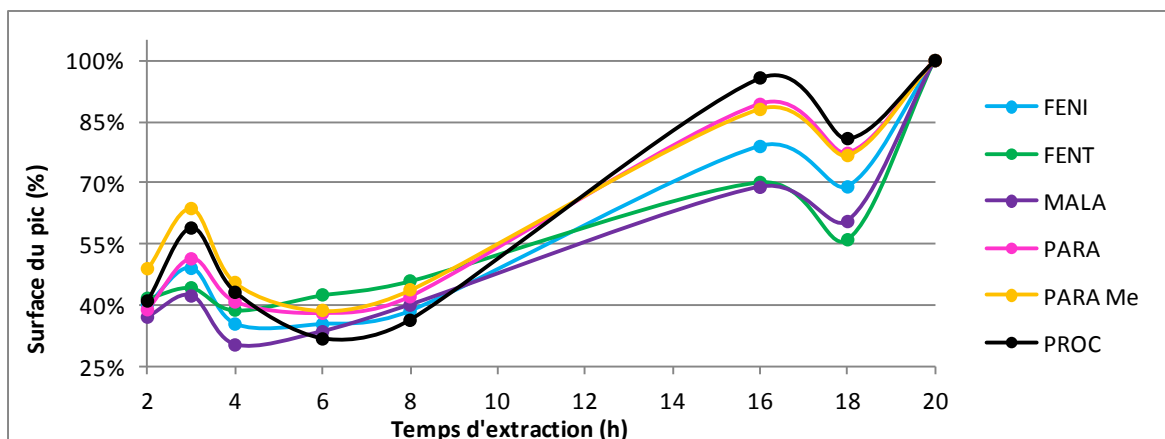


Figure 11 : Cinétique d'absorption des composés étudiés (volume échantillonnage : 50 (en haut) et 100 mL (en bas))

Pour les deux volumes, le temps d'extraction a relativement peu d'influence sur l'absorption des composés entre 2 h et 8 h. Pour un volume d'échantillonnage de 50 mL, la cinétique est rapide entre 8 h et 18 h, l'aire est multipliée par deux pendant ce laps de temps. Ensuite l'équilibre est atteint à partir de 18h. Pour un volume de 100 mL, entre 8h et 16h, l'aire augmente d'un facteur deux en moyenne pour ensuite se stabiliser.

Un temps d'extraction de 18h est sélectionné pour les 2 volumes d'échantillonnage.

6.4 EFFET MEMOIRE

Après la désorption thermique du barreau de SBSE, certains composés peuvent ne pas se désorber entièrement suite à une concentration trop importante ou à une affinité élevée avec le PDMS. Ces composés restent fixés sur le barreau et sont désorbés ainsi au fur et à mesure des analyses suivantes. Il s'agit de l'effet mémoire.

Pour étudier ce phénomène, le barreau de SBSE a été plongé dans une solution concentrée (valeurs hautes de la gamme d'étalonnage de 45 à 350 ng/L selon les composés) puis désorbé thermiquement. Après la fin de la première analyse par GC-MS-MS, il a subi ensuite une deuxième analyse qui permet de vérifier si des composés sont restés piégés dans le PDMS. Ce phénomène a été étudié pour les six composés et leurs homologues deutérés et testé sur trois matrices (eau d'Evian®, eau de rivière (Oise), eau de source (Neuville en Hez)). Il en ressort que seul le prochloraze engendre un effet mémoire. L'effet mémoire est probablement lié aux propriétés physico-chimiques des substances étudiées, le prochloraze étant celui qui présente la masse moléculaire et le log K_{ow} les plus élevés de cette étude.

Ces résultats sont présentés (Figure 12) graphiquement avec en ordonnée l'aire obtenue lors de la première désorption (première analyse) en fonction de l'aire obtenue lors de la deuxième désorption ((deuxième analyse) (effet mémoire)) pour le prochloraze.

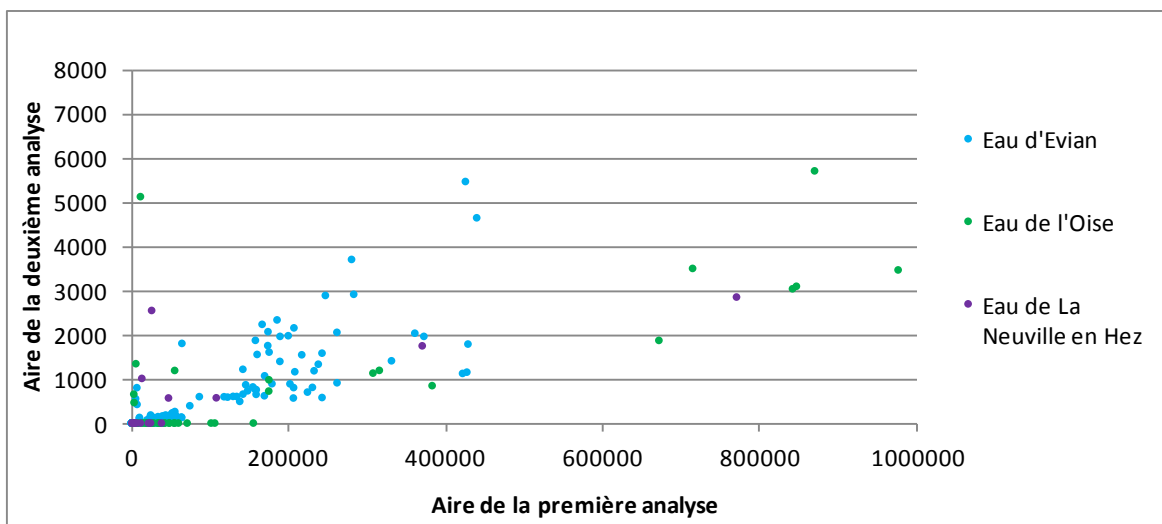


Figure 12 : Effet mémoire du prochloraze

Quelle que soit la matrice, plus l'aire initiale du prochloraze (ou la concentration) est élevée et plus l'effet mémoire est important. L'effet mémoire avec ce composé reste cependant relativement faible (0,5 % maximum en aire de la première analyse), deux analyses successives permettant de « nettoyer » les barreaux. Ainsi, par mesure de prévention, les barreaux sont systématiquement reconditionnés avec les mêmes conditions d'injection, après leur utilisation.

7. PARTIE 1 : PERFORMANCES DE LA METHODE SUR LA FRACTION DISSOUTE

7.1 DROITES D'ETALONNAGE

Dans un premier temps, les droites d'étalonnage ont été effectuées par extraction de barreau SBSE dans de l'eau d'Evian®, pour les deux volumes d'échantillonnages (50 et 100 mL). Ensuite, des tests ont été réalisés sur des matrices plus complexes (sur 100 mL), de l'eau de rivière filtrée et de l'eau de source filtrée afin de déterminer d'éventuels effets de matrice. La durée d'extraction est fixée à 18h, à 30°C avec une vitesse d'agitation de 550 rpm. Une limite de quantification a été déterminée pour chaque composé dans les différentes conditions de volume.

7.1.1 DROITES D'ETALONNAGE ET LIMITES DE QUANTIFICATION DANS DE L'EAU D'EVIAN®

Les droites d'étalonnage effectuées dans de l'eau d'Evian®, pour des concentrations entre 0,02 et 350 ng/L selon les composés, ont été déterminées avec un $r^2 > 0,99$ pour tous les composés et volumes testés. Les résultats obtenus pour les droites d'étalonnage sont détaillés en Annexe 3.

Les limites de quantification ont été estimées pour les deux volumes d'échantillon testés sur la base d'un rapport signal/bruit > 10 . Elles correspondent au premier point de la droite d'étalonnage. Le Tableau 3 reprend ces limites de quantification.

Tableau 3 : Limites de quantification estimées dans de l'eau d'Evian®

Composé Volume d'échantillonnage	FENI		FENT		MALA	
	50 mL	100 mL	50 mL	100 mL	50 mL	100 mL
LQ (ng/L)	0,06	0,03	0,05	0,02	1,40	0,70
Composé Volume d'échantillonnage	PARA		PARA Me		PROC	
	50 mL	100 mL	50 mL	100 mL	50 mL	100 mL
LQ (ng/L)	0,10	0,05	0,08	0,04	0,05	0,03

La sensibilité est améliorée d'un facteur 2 avec un volume de 100 mL d'eau d'Evian® par rapport à un volume de 50 mL.

Pour les deux volumes, les limites de quantification sont de l'ordre du dixième voire du centième de ng/L pour les composés et sont donc compatibles par rapport aux objectifs fixés (malathion (5 ng/L) et prochloraze (1 ng/L)).

Pour la suite des manipulations, un volume de 100 mL est retenu afin d'obtenir la meilleure sensibilité.

7.1.2 DROITES D'ETALONNAGE ET LIMITES DE QUANTIFICATION DANS DES MATRICES COMPLEXES

Des droites d'étalonnage ont été effectuées dans de l'eau de source de La Neuville en Hez et dans de l'eau de la rivière Oise. Ce sont des matrices considérées comme plus complexes comparées à l'eau d'Evian®.

Des blancs ont été effectués afin de pouvoir déterminer la présence des polluants étudiés dans ces eaux. Les résultats ont montré que l'eau de l'Oise contenait du prochloraze mais à une concentration inférieure à la limite de quantification ($< 0,03$ ng/L).

Comme pour l'eau d'Evian®, les droites d'étalonnage effectuées ont été déterminées dans la grande majorité des cas avec un $r^2 > 0,99$ pour tous les composés et volumes testés.

Les paramètres des droites d'étalonnage de ces deux eaux figurent dans l'Annexe 3. Les limites de quantification estimées (par signal/bruit > 10) sont présentées dans le Tableau 4. Elles correspondent au premier point des droites d'étalonnage.

Tableau 4 : Limites de quantification estimées pour les trois matrices étudiées

Composé		FENI	FENT	MALA	PARA	PARAM e	PROC
LQ (ng/L)	Eau d'Evian®	0,03	0,02	0,7	0,05	0,04	0,03
	Eau de La Neuville en Hez	0,03	0,02	0,7	0,05	0,04	0,03
	Eau de l'Oise	0,03	0,05	0,7	0,05	0,08	0,03

Pour le fénitrothion, le malathion, l'éthyl-parathion et le prochloraze, la matrice ne modifie pas la limite de quantification estimée par rapport à l'eau d'Evian®. Pour le fenthion et méthyl-parathion, celle-ci est supérieure dans l'eau de l'Oise. Dans cette matrice, un composé à l'état de traces possède un temps de rétention proche du fenthion. Cela explique l'augmentation légère de la limite de quantification. Pour le méthyl-parathion, le bruit de fond augmente dans l'eau de l'Oise, et par conséquent la limite de quantification avec cette matrice.

7.2 REPETABILITE ET JUSTESSE

La répétabilité a été étudiée dans de l'eau d'Evian® et dans de l'eau de l'Oise préalablement filtrée. Les essais ont été effectués en triplicat pour la répétabilité et sur deux jours différents pour la fidélité intermédiaire. De plus, trois concentrations – une faible teneur qui correspond à environ 8 fois la LQ estimée, une teneur moyenne et une teneur forte qui correspondent au milieu et à la partie haute de la gamme d'étalonnage (les concentrations exactes sont présentées dans le Tableau 5) - ont été étudiées afin de vérifier l'influence de ce facteur sur la répétabilité.

La justesse a été déterminée pour de l'eau de l'Oise par rapport aux étalonnages en eau d'Evian® et est calculée pour une moyenne de 6 réplicats à chaque niveau de concentration.

Tous ces résultats ont été calculés en prenant en compte la correction par les étalons internes (étalonnage interne).

Le Tableau 5 indique la justesse ainsi que les coefficients de variation (CV) obtenus sur les triplicats pour les expériences effectuées.

Tableau 5 : Répétabilité (n=3) et fidélité intermédiaire (n=6) dans de l'eau d'Evian® et de l'eau de l'Oise et justesse pour de l'eau de l'Oise

		Eau d'Evian®			Eau de l'Oise			
		Répétabilité		Fidélité intermédiaire	Répétabilité		Fidélité intermédiaire	Justesse
		J1	J2		J1	J2		
FENI	0,20 ng/L	34%	27%	33%	5%	11%	8%	115 %
	10 ng/L	2%	1%	1%	1%	3%	10%	93 %
	50 ng/L	9%	9%	8%	4%	4%	6%	114 %
FENT	0,18 ng/L	7%	9%	9%	7%	28%	18%	129 %
	9 ng/L	2%	3%	5%	2%	0%	3%	88 %
	45 ng/L	7%	7%	7%	4%	1%	6%	112 %
MALA	1,40 ng/L	9%	18%	14%	10%	14%	15%	132 %
	70 ng/L	2%	10%	7%	1%	3%	9%	98 %
	350 ng/L	9%	3%	13%	3%	2%	8%	114 %
PARA	0,40 ng/L	4%	10%	7%	6%	27%	20%	104 %
	20 ng/L	2%	2%	4%	1%	3%	11%	93 %
	100 ng/L	13%	14%	14%	17%	5%	21%	110 %
PARAME	0,30 ng/L	3%	12%	14%	4%	13%	10%	114 %
	15 ng/L	2%	2%	10%	0%	2%	6%	87 %
	75 ng/L	9%	1%	7%	5%	8%	9%	110 %
PROC	1,00 ng/L	5%	10%	7%	3%	6%	13%	151 %
	50 ng/L	1%	1%	4%	1%	1%	15%	68 %
	250 ng/L	8%	6%	9%	6%	2%	12%	117 %

* Les coefficients de variation de répétabilité ont été calculés en divisant les écarts types calculés sur 3 valeurs par la moyenne de ces 3 valeurs. Les coefficients de variation de fidélité intermédiaire ont été calculés en divisant les écarts types calculés sur les 6 valeurs par la moyenne des 6 valeurs.

La matrice semble ne pas avoir un impact sur la répétabilité car des valeurs comparables sont retrouvées entre l'eau d'Evian® et l'eau de l'Oise.à l'exception du fénitothrion à la concentration la plus basse.

Les CV de répétabilité varient entre 0 % et 34 %. En règle générale, les CV de fidélité intermédiaire sont assez proche de ceux de la répétabilité. Les résultats sont relativement répétables dans un triplicat avec un CV plus élevé pour les faibles teneurs.

L'utilisation d'étalons internes est indispensable car les CV de répétabilité sont beaucoup plus élevés lorsque seules les aires sont comparées, ce qui est également constaté en fidélité intermédiaire (Annexe 4). Ainsi, des CV de répétabilité de 62 % sont observés pour le malathion (sans correction des étalons interne).

Ces fluctuations peuvent être attribuées essentiellement à un encrassement progressif du volume d'ion (dans la source du spectromètre de masse).

Concernant la justesse, des écarts relativement importants sont constatés aux niveaux les plus bas pour le prochloraze et à un degré moindre pour le malathion et le fenthion. Les résultats obtenus pour des niveaux supérieurs sont globalement relativement corrects.

Globalement, les résultats obtenus sur de l'eau naturelle filtrée montrent qu'une caractérisation NF T90-210 devrait pouvoir être atteinte sur la majorité des composés aux LQ estimées à part pour le prochloraze pour lequel la justesse n'est obtenue que pour des niveaux plus élevés.

8. PARTIE 2 : PERFORMANCES DE LA METHODE EN PRESENCE DE MATIERES EN SUSPENSION

8.1 CONTEXTE ET PARTIE THEORIQUE

Dans l'arrêté « surveillance », il est spécifié que les analyses doivent être effectuées sur de l'eau brute. La SBSE n'est pas une technique, *a priori*, compatible avec la mesure dans l'eau brute car le barreau SBSE n'a pas accès à la fraction fixée sur les MES.

Dans ce cas d'étude, plusieurs facteurs apparaissent cependant favorables à une mise en œuvre de ce type d'extraction avec de l'eau brute :

- Les composés visés sont tous semi-polaires ($\log K_{ow} < 5$) ce qui implique au minimum une partition significative entre la fraction dissoute et particulaire ;
- La possibilité d'utiliser un étalon interne isotopique par composé ce qui peut permettre de prendre en compte cette partition ;
- Le temps d'équilibre/d'extraction établi selon les cinétiques à 18H qui pourrait permettre un temps suffisant pour déplacer l'équilibre des composés visés et des étalons internes entre les 3 phases.

Par conséquent et en considérant ces 3 facteurs, des essais seront réalisés sur de l'eau de l'Oise avec une concentration en MES donnée, pour vérifier si la SBSE est compatible avec une mesure dans l'eau brute.

Equilibre et mesure des analytes en présence de SBSE et de MES

Lors de l'analyse par SBSE, des équilibres entre les différentes phases interviennent. Ils sont représentés dans la Figure 13 :

- Dans une eau sans MES (ou filtrée), un équilibre s'établit entre la proportion de l'analyte dans la phase de PDMS et la phase aqueuse. Cet équilibre est régi par le coefficient de partition K (cf section 5).
- Dans une eau brute (en présence de MES), les composés vont se partager entre les MES, la phase aqueuse et le PDMS, constituant un équilibre triphasique. Cet équilibre dépend de la nature des MES, de leur concentration et de leurs compositions. Il est caractérisé par le coefficient de partition K_p . Ainsi la cinétique d'absorption des composés dans le PDMS dépend des deux coefficients de partition K et K_p .

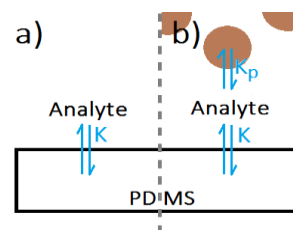


Figure 13 : Schéma représentant les équilibres en SBSE a) dans une eau filtrée ; b) en présence de matières en suspension

L'utilisation d'un étalon interne isotopique par composé permet de s'affranchir, en théorie, du coefficient de partition K_p car à l'équilibre, il devrait être le même pour l'analyte et son homologue deutéré. Par conséquent, le ratio des aires d'un composé et de son étalon interne devrait être identique dans une eau brute et dans une eau filtrée pour une concentration donnée. Ainsi, la valeur mesurée via la SBSE devrait être similaire dans les 2 cas.

Ci-dessous est présenté un exemple pour illustrer ces considérations :

a) Eau sans MES.

Prenons le cas d'un composé présent à 10 ng/L dans un échantillon d'eau (avec 100 mL d'échantillon). Pour cet exemple, le coefficient de partition est considéré de 1 entre la phase aqueuse et le PDMS pour ce composé (présence identique en quantité dans le barreau de SBSE (PDMS) et dans l'échantillon aqueux à l'équilibre). Un ajout d'étalon interne a été effectué pour obtenir une concentration égale à 10 ng/L dans l'échantillon (1 ng ajouté).

Une courbe d'étalonnage a également été effectuée précédemment par SBSE dans une eau simple (sans MES) pour déterminer la correspondance entre le composé et l'étalon interne (un ratio de 1 correspond logiquement à 10 ng/L de composé).

Dans l'échantillon, on retrouve 1 ng de composé ($100 \text{ mL} \times 10 \text{ ng/L}$) qui va se répartir à 0,5 ng dans l'eau et 0,5 ng dans le PDMS à l'équilibre (selon un coefficient de partition de 1 comme postulé). L'étalon interne va également se répartir selon cet équilibre donc 0,5 ng dans l'eau et 0,5 ng dans le SBSE. Donc le ratio dans le SBSE est de 1 entre le composé visé et son étalon interne.

Si aucun biais n'intervient, la courbe d'étalonnage va ainsi permettre de mesurer une valeur de 10 ng/L du composé.

b) Eau avec MES.

L'exemple ci-dessus est repris avec une phase MES supplémentaire.

Ainsi, un composé est également présent à 10 ng/L dans un échantillon d'eau (avec 100 mL d'échantillon). Le coefficient de partition est également considéré de 1 entre la phase aqueuse et le PDMS.

Le coefficient de partition dans ce cas est imaginé à 2 entre la fraction dissoute et particulaire. Ainsi pour 1 ng de composé présent dans un milieu fraction dissoute/particulaire, la répartition s'établit respectivement à 0,66/0,33 ng.

En introduisant la phase PDMS, un nouvel équilibre triphasique va s'établir pour arriver à 0,4 ng sur le PDMS, 0,4 ng en fraction dissoute et 0,2 ng sur les MES (avec un ratio 1/1 (k) entre PDMS et fraction dissoute et 2/1 (k_p) entre fraction dissoute/particulaire).

A l'équilibre, les étalons internes isotopiques devraient subir la même partition (0,4 ng PDMS, 0,4 ng fraction dissoute, 0,2 ng fraction particulaire)

Le ratio dans le SBSE entre l'analyte et étalon interne est ainsi de 1 (0,4 ng / 0,4 ng).

En utilisant la même courbe d'étalonnage que précédemment, on obtient ainsi une concentration mesurée dans l'eau brute à 10 ng/L.

En théorie, sans biais ou interférences prononcées, en reprenant les valeurs générées, un étalonnage externe (sans prendre en compte les étalons internes) pourrait permettre de mesurer la quantité de composé présente dans la fraction dissoute uniquement (4 ng/l).

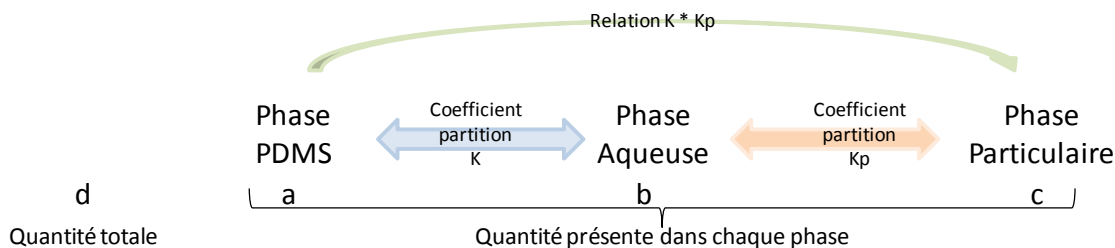


Figure 14 : Relation entre les différentes phases à l'équilibre

En effet, en prenant l'exemple de la figure 14, l'utilisation des étalons internes devrait permettre de remonter à la quantité totale présente dans l'échantillon (d). k le coefficient de partition entre le PDMS et la phase aqueuse peut être assimilé en approximation à $\log K_{ow}$. Par étalonnage externe, la quantité extraite sur le barreau PDMS peut être également déterminée soit a. Connaissant a et k, b peut ainsi être estimé (selon $k=a/b$). Suivant ce raisonnement, c peut être ensuite calculé via $c=d-a-b$.

8.2 PARTIE EXPERIMENTALE

8.2.1 SOLUTION DE MES UTILISEES

Des échantillons à base d'eau de l'Oise avec des concentrations connues en MES allant de 30 à 150 mg/L ont été utilisés. Le processus de préparation de ces échantillons est présenté en détail en Annexe 5.

8.2.2 ETUDE DE LA CINETIQUE D'EXTRACTION

Comme il a été abordé précédemment, les MES peuvent avoir une influence sur la cinétique d'extraction. Par conséquent, une eau contenant 60 mg/L de MES et une eau filtrée ont été dopées (avec temps de maturation d'une nuit) puis analysées avec différents temps de contact avec la SBSE.

Les blancs effectués sur ces solutions ont démontré que les composés suivis ne présentaient pas de concentrations supérieures à leurs LQ respectives.

La Figure 15 représente la courbe de la cinétique d'extraction du fénitrothion dans de l'eau de l'Oise filtrée et à 60 mg/L de MES.

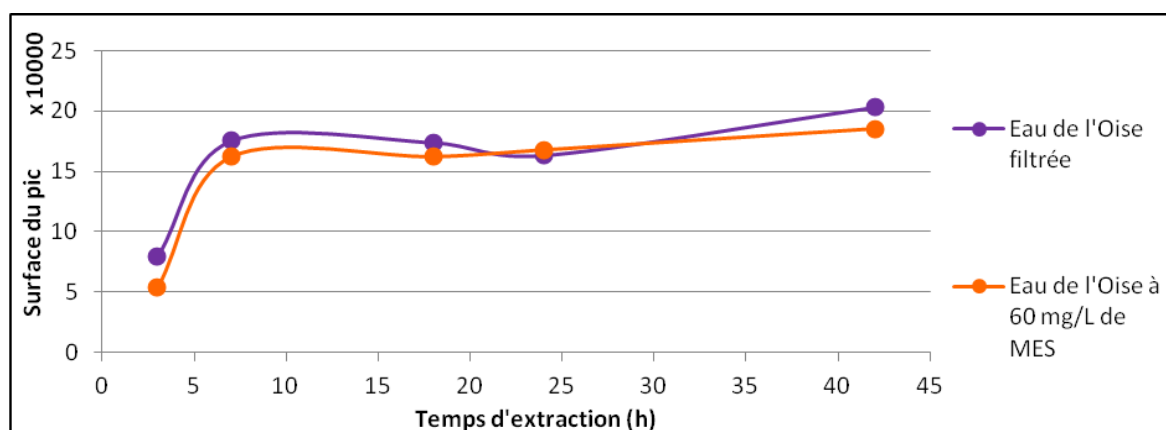


Figure 15 : Courbes de cinétique du fénitrothion dans de l'eau de l'Oise filtrée et de l'eau de l'Oise à 60 mg/l de MES

Les cinétiques obtenues avec de l'eau filtrée et de l'eau chargée en MES sont comparables (Annexe 6). Ainsi, il peut être considéré qu'il n'y a pas d'influence des MES dans ces conditions expérimentales.

A l'exception du prochloraze pour lequel un temps d'équilibre s'établit à partir de 20H, les courbes de cinétiques des autres composés présentent un profil similaire à celle du fénitrothion. Par conséquent et pour s'assurer de se situer à l'équilibre pour l'ensemble des composés, pour l'ensemble des manipulations avec des MES, le temps d'extraction a été fixé à 24H.

8.2.3 INFLUENCE DES MES SUR LA CONCENTRATION MESUREE

Les essais ont été effectués en présence d'étalons internes ajoutés avant l'extraction. Pour étudier la répétabilité, des triplicats ont été réalisés. Pour la fidélité intermédiaire, les essais ont été mis en œuvre sur deux jours différents. Des concentrations identiques à celles utilisées pour les expériences avec de l'eau de l'Oise filtrée (concentrations basse, moyenne et haut de gamme) ont été utilisées (Tableau 6). Le Tableau 6 compare les résultats obtenus pour les matrices avec et sans MES dans les différents cas de répétabilité et de concentration.

Tableau 6 : Répétabilité et fidélité intermédiaire dans l'eau de l'Oise filtrée et dans l'eau de l'Oise à 60 mg/L de MES

		Eau de l'Oise filtrée			Eau de l'Oise à 60 mg/L de MES		
		Répétabilité		Fidélité intermédiaire	Répétabilité		Fidélité intermédiaire
		J1	J2		J1	J2	
FENI	0,20 ng/L	5%	11%	8%	4%	10%	9%
	10 ng/L	1%	3%	10%	6%	4%	6%
	50 ng/L	4%	4%	6%	6%	6%	7%
FENT	0,18 ng/L	7%	28%	18%	3%	9%	13%
	9 ng/L	2%	1%	3%	9%	5%	8%
	45 ng/L	4%	1%	6%	5%	6%	6%
MALA	1,40 ng/L	10%	14%	15%	9%	17%	14%
	70 ng/L	1%	3%	9%	8%	5%	7%
	350 ng/L	3%	2%	8%	4%	7%	11%
PARA	0,40 ng/L	6%	27%	20%	5%	8%	9%
	20 ng/L	1%	3%	11%	8%	6%	6%
	100 ng/L	17%	5%	21%	5%	6%	11%
PARAME	0,30 ng/L	4%	13%	10%	3%	10%	12%
	15 ng/L	0%	2%	6%	9%	5%	11%
	75 ng/L	5%	8%	9%	5%	7%	6%
PROC	1,00 ng/L	3%	6%	13%	6%	8%	6%
	50 ng/L	1%	1%	15%	9%	6%	11%
	250 ng/L	6%	2%	12%	4%	5%	6%

La présence de MES ne semble pas impacter la répétabilité de la méthode. Comme lors de l'étude de la répétabilité dans l'eau d'Evian® et dans l'eau de rivière de l'Oise, les écarts-types de fidélité intermédiaire sont comparables à ceux obtenus pour la répétabilité. De plus faibles écarts types sont obtenus avec l'utilisation d'étalons internes par rapport aux mêmes données traitées sans correction des étalons internes (Annexe 4).

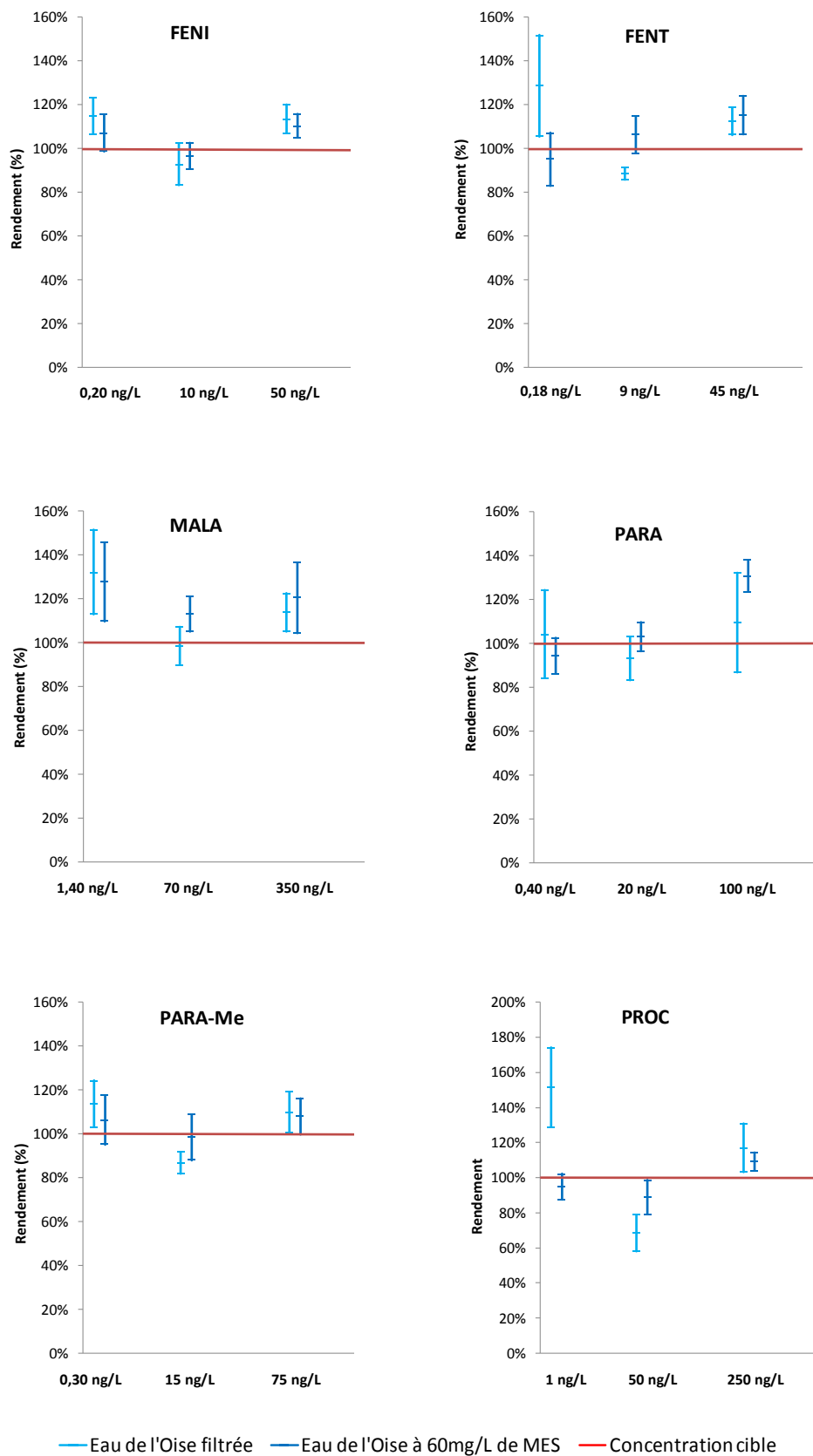


Figure 16 : Rendement et écarts types (n=6) pour des analyses dans de l'eau de l'Oise filtrée et de l'eau de l'Oise à 60 mg/l de MES à différentes concentrations en analyte

Les écarts à la valeur cible pour ces 2 matrices (Figure 16) sont généralement comparables particulièrement pour le fénitrothion, le malathion et le parathion-méthyl. De façon générale, de meilleurs résultats ont été obtenus en présence de MES qu'avec de l'eau de l'Oise filtrée. Ainsi, si des résultats corrects ont été obtenus pour le fénitrothion, le fenthion, les parathion éthyle et méthyle, des écarts de justesse sont observés pour le malathion et prochloraze pour la concentration la plus basse testée.

8.2.4 IMPACT DE LA CONCENTRATION EN MES

5 échantillons avec des concentrations en MES variables (0, 10, 30, 60 et 150 mg/L) ont été étudiées au point de milieu de gamme de concentration des composés suivis afin de vérifier l'impact de la teneur en MES sur les résultats. Les analyses ont été effectuées en triplicat sur deux jours différents.

Les concentrations ont été calculées à partir des droites d'étalonnages effectuées en étalonnage interne avec de l'eau de l'Oise filtrée. Les résultats correspondant à l'écart par rapport à la concentration cible et les écarts types associés sont présentés dans la Figure 17.

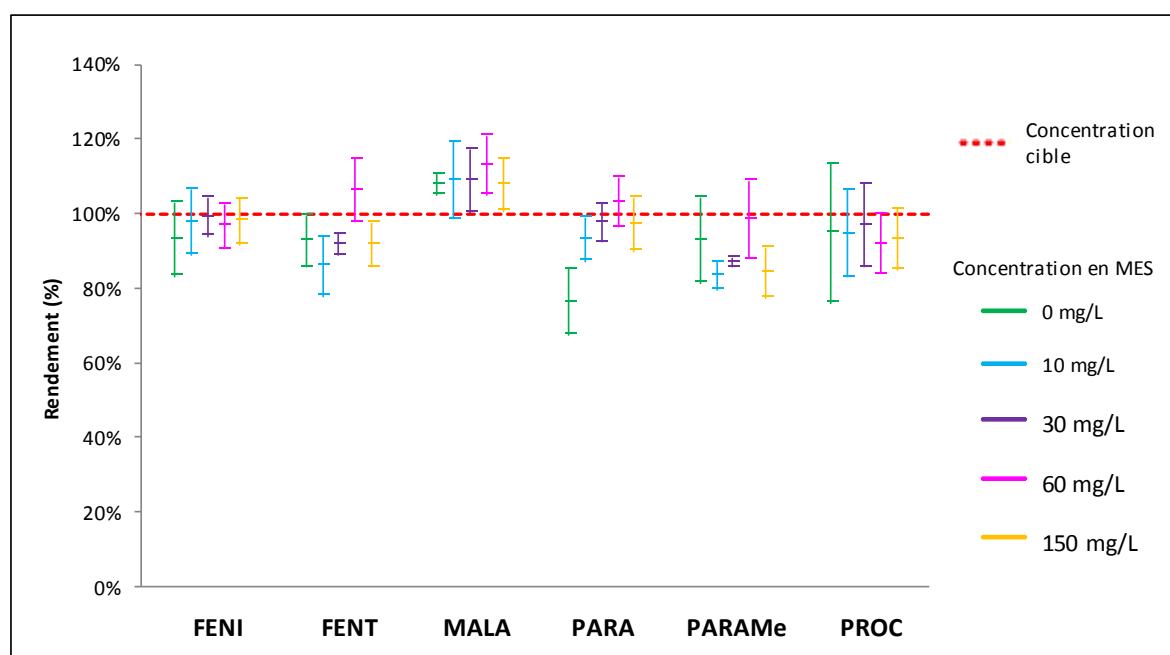


Figure 17 : Influence de la concentration des MES sur le calcul de la concentration avec écarts types (n=6)

Pour la quasi-totalité des composés et des essais, les résultats obtenus sont compris entre $\pm 20\%$ de part et d'autre de la cible. Dans les conditions testées, l'augmentation du taux de MES ne semble ainsi pas entraîner un impact sur l'atteinte de la valeur cible ainsi que sur les écarts types. De plus, la présence de MES n'introduit pas de variation plus importante sur le triplicat avec des écarts types de même grandeur avec ou sans MES.

8.2.5 EVALUATION DE L'INFLUENCE DES MES SUR LA PRESENCE DES COMPOSES DANS LA PHASE DISSOUE (AVEC EXTRACTION SBSE)

Les données en termes d'aires obtenues (non corrigé de l'étalon interne) ont été traitées afin de pouvoir essayer d'estimer l'influence relative du taux de MES sur la proportion de composés présents dans la phase dissoute (en présence de SBSE mais sachant que le barreau est de volume fixe) (Figure 18) (ce facteur correspond au b de la figure 14.).

Dans les cas du prochloraze, du malathion et du parathion éthyle, la variabilité des écarts types est trop importante pour pouvoir statuer. Pour la parathion éthyle, des résultats trop variables en termes de justesse ne permettent également pas d'obtenir des conclusions pertinentes.

Pour le fenthion et le fénitrothion, l'augmentation du taux de MES ne semble pas entraîner des différences sur l'aire obtenue et par extrapolation sur la partition des composés dans les différentes fractions.

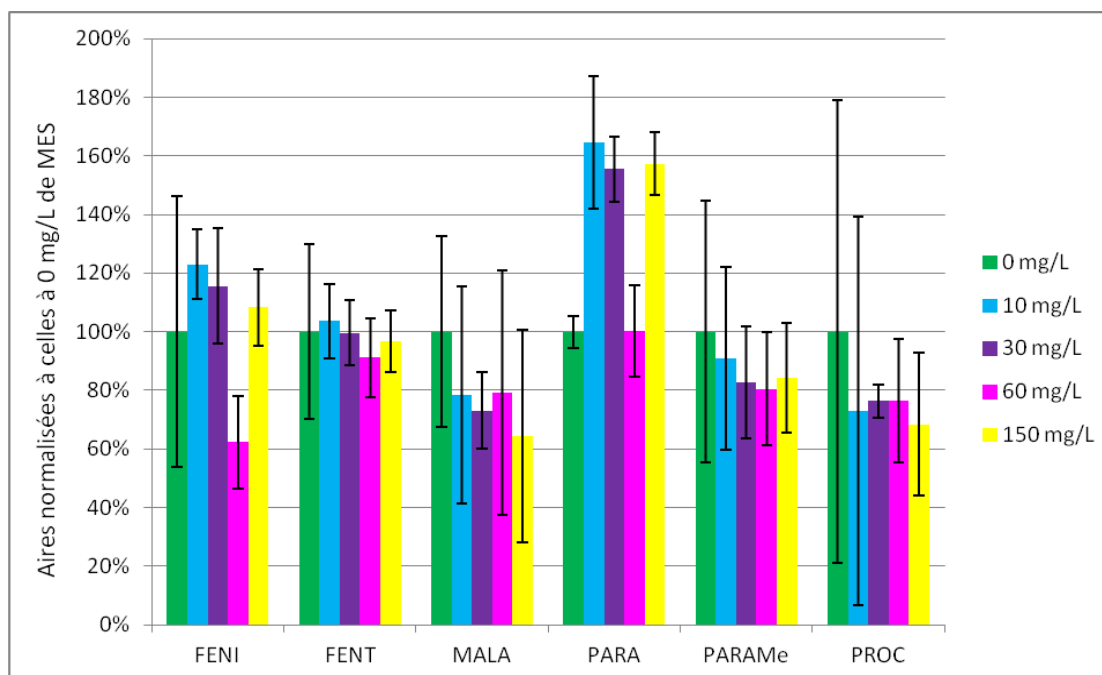


Figure 18 : Comparaison des aires normalisées par rapport aux résultats obtenus avec 0 mg/L de MES pour les expériences d'impact des MES (avec écarts types (n=6))

Globalement, les résultats obtenus montrent que la variabilité importante observée lors de l'exploitation de ces données empêche d'obtenir des tendances fiables.

9. CONCLUSION

L'arrêté « surveillance », entré en vigueur en Août 2015, a étendu la surveillance à de nombreux polluants émergents à des niveaux de traces. Pour certaines de ces substances, un délai supplémentaire a été accordé, jusqu'à 2019, car les limites de quantification ont été jugées difficiles à atteindre sans développements spécifiques.

Dans ce cadre, la méthode de pré-concentration d'échantillon par SBSE couplée à une analyse par GC/MS/MS a été évaluée afin de pouvoir répondre à ces exigences. Le malathion et le prochloraze, dont les limites de quantification sont respectivement exigées à 5 et 1 ng/L ont été étudiés ainsi que 4 autres pesticides d'intérêt.

Des optimisations ont d'abord été mises en œuvre sur les conditions d'analyse du système de thermodésorption du GC/MS/MS. Ensuite, les cinétiques ont été déterminées, ce qui a permis d'évaluer le temps d'équilibre pour chaque composé. Au final, un temps d'équilibre de 18 H avec un volume d'échantillonnage de 100 mL permettait d'atteindre les meilleures performances.

Les tests dans différentes matrices d'eau de source ou de rivière filtrées ont démontré que des concentrations inférieures au ng/L semblaient pouvoir être atteintes dans tous les cas avec des performances de répétabilité ou de fidélité intermédiaires correctes.

La SBSE est, *a priori*, seulement compatible avec l'analyse de la fraction dissoute d'un polluant dans les eaux. Or, l'arrêté « surveillance » prescrit un dosage sur les eaux brutes (sans séparation ni décantation des matières en suspensions). Ainsi, la deuxième partie de l'étude a consisté à évaluer la compatibilité d'une analyse par SBSE pour la mesure de ces composés dans l'eau brute.

Ces essais ont été effectués en utilisant pour chaque composé suivi un étalon interne isotopique spécifique afin que celui-ci puisse refléter le comportement du composé parent et notamment sa partition entre les différentes phases lors de l'échantillonnage. Les variations importantes des aires brutes obtenues lors ces expériences en présence de MES, notamment dans le cas du parathion, ont montré que leur utilisation était indispensable.

Avec 24H d'extraction, des tests ont été effectués avec une eau de rivière chargée avec différents niveaux de matières en suspension (jusqu'à 150 mg/L) et à différents niveaux de concentration. Ces résultats ont indiqué que dans les conditions du test, des performances correctes ont été obtenues pour tous les composés testés en termes de répétabilité et de justesse, à l'exception des niveaux bas pour le malathion et le prochloraze qui présentaient des niveaux de justesse trop élevés.

10. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

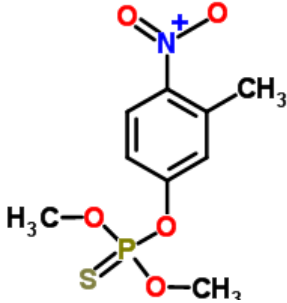
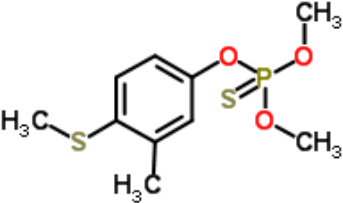
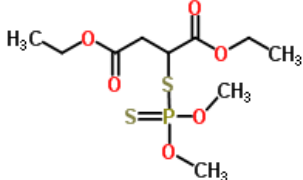
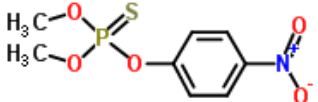
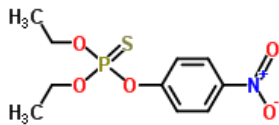
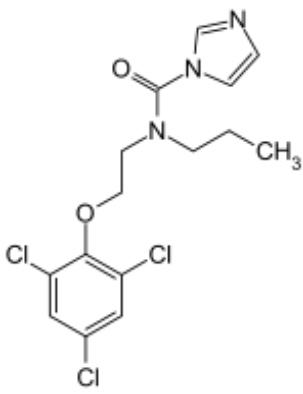
- [1] Arrêté du 7 août 2015 modifiant l'arrêté du 25 janvier 2010 établissant le programme de surveillance de l'état des eaux en application de l'article R. 212-22 du code de l'environnement
- [2] N. Riem, J. Beaumont, F. Lestremau, Evaluation de la méthodologie QuEChERS pour des analyses multirésidus, INERIS – AQUAREF, 2014.
- [3] E. Baltussen, P. Sandra, F. David and C.A. Cramers, *Journal of Microcolumn Separation*, 11 (1999) 737.
- [4] L. B. Abdulra'uf, G. H. Tan, Review of SBSE Technique for the analysis of Pesticide Residues in Fruits and Vegetables, *Chromatographia*, 77, 2014, 15.
- [5] F. Lestremau, C. Chatellier, Analyse des polybromodiphenylethers (PBDE) dans les eaux de surface brutes par extraction par barreau aimanté absorbant (SBSE), INERIS - AQUAREF, 2013.
- [6] S. Seethapathy, T. Gorecki, Applications of polydimethylsiloxane in analytical chemistry: A review, *Analytica Chimica Acta*, 750, 2012, 48.
- [7] A. Togola, Etude bibliographique : potentialités et limites de la technique SBSE pour l'analyse de substances organiques dans les eaux, BRGM - AQUAREF, 2013
- [8] A. Prieto, O. Zuloaga, A. Usobiaga, N. Etxebarria, L.A. Fernández, Use of experimental design in the optimization of stir bar sorptive extraction followed by thermal desorption for the determination of brominated flame retardants in water samples, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390 (2) (2008) 739
- [9] Phenomenex, «Astuce technique,» [En ligne]. Available: <http://www.phenomenex.com/Info/Page/gclinersfr>. [Accès le 03 06 2015].
- [10] Gerstel, «Thermal Desorption Unit TDU,» [En ligne]. Available: <http://www.gerstel.com/pdf/s00135-702-02-Supplies-TDU-en.pdf>. [Accès le 03 06 2015].
- [11] A. Prieto, O. Basauri, A. Usobiaga, L. Fernandez, N. Etxebarria, O. Zuloaga, Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel applications, limitations and potential solutions, *Journal of Chromatography A*, 1217, 2010, 2642.
- [12] F. Camino-Sanchez, A. Zafra-Gomez, S. Cantarero-Malagon, J. Vilchez, Validation of a method for the analysis of 77 priority persistent organic pollutants in river water by stir bar sorptive extraction in compliance with the European Water Framework Directive, *Talanta*, 89, 2002, 322.

11. LISTE DES ANNEXES

Repère	Désignation
Annexe 1	Formules développées des composés étudiés
Annexe 2	Conditions expérimentales chromatographiques et spectrométriques
Annexe 3	Droites d'étalonnage par SBSE/GC/MS/MS
Annexe 4	Répétabilité intra et inter jour sans correction des étalons internes
Annexe 5	Préparation des solutions de MES
Annexe 6	Courbes de cinétique des composés étudiés dans des eaux chargées à 60 mg/L en MES

ANNEXE 1

Formules développées des composés étudiés

Fenitrothion 	Fenthion 	Malathion 
Parathion méthyl 	Parathion éthyl 	Prochloraze 

ANNEXE 2

Conditions expérimentales chromatographiques et spectrométriques

Le gaz vecteur est de l'hélium avec un débit de 1,2mL/min. Pour la spectrométrie de masse, les températures de la ligne de transfert et de la source d'ionisation sont respectivement de 320°C et 250°C.

Programmation de l'injecteur PTV

Temps (min)	Température	Mode
Initial	250°C (en injection liquide) 25°C (en SBSE)	Mode splitless
À t=1	+ 12°C/s jusqu'à 340°C 340°C pendant 10 minutes	Mode split : ratio 1:30 (injection liquide) Mode split : ratio 1:100 (en SBSE)

Programmation du four GC

Température (°C)	Rampe (°C/min)	Durée (min)
150	-	-
260	5	-
320	20	5

Programmation du thermo-désorbeur

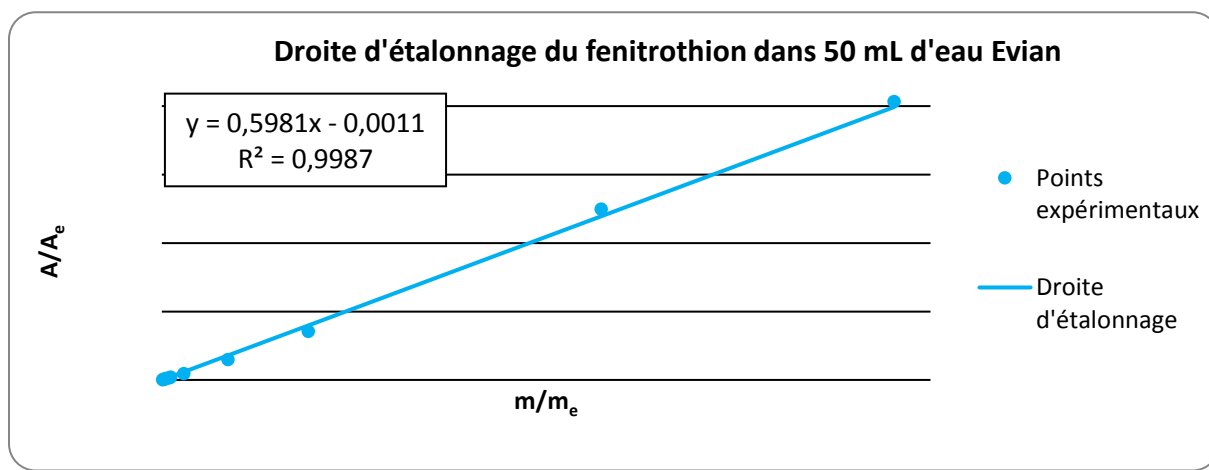
Température (°C)	Rampe (°C/min)
30	-
360	60

La désorption est en mode splitless. La ligne de transfert entre le thermo-désorbeur et l'injecteur est à 300°C. Le débit de gaz vecteur dans le thermo-désorbeur est de 50 mL/min.

ANNEXE 3

Droites d'étalonnage par SBSE/GC/MS/MS

Exemple de droite d'étalonnage :



Avec $\frac{A}{A_e} = \frac{\text{surface du pic du composé}}{\text{surface du pic de l'étalon interne}}$ et $\frac{m}{m_e} = \frac{\text{masse de composés}}{\text{masse de l'étalon interne}}$

Paramètres des droites :

Les paramètres des droites ont été calculés pour une régression linéaire d'ordre 1 pondérée en $1/x$. Les équations des droites d'étalonnage sont du type : $\frac{A}{A_e} = a \cdot \frac{m}{m_e} + b$

Paramètres dans de l'eau d'Evian®:

	50 mL			100 mL		
	a	b	R ²	a	b	R ²
Fénitrothion	0,5981	-0,0011	0,9987	0,5730	-0,0007	0,9989
Fenthion	0,6194	-0,0018	0,9980	0,5994	-0,0012	0,9959
Malathion	0,0684	-0,0001	0,9987	0,0670	0,0000	0,9993
Ethyl-parathion	0,4522	-0,0013	0,9961	0,4286	-0,0005	0,9991
Méthyl-parathion	0,5089	-0,0027	0,9991	0,5023	-0,0020	0,9994
Prochloraze	0,8765	0,0053	0,9966	0,8065	0,0247	0,9962

Paramètres dans de l'eau de l'Oise (100 mL):

	a	b	R ²
Fénitrothion	0,5650	-0,0007	0,9981
Fenthion	0,5704	-0,0020	0,9981
Malathion	0,0674	-0,0001	0,9985
Ethyl-parathion	0,4072	-0,0018	0,9965
Méthyl-parathion	0,4313	-0,0025	0,9970
Prochloraze	0,7803	0,0031	0,9948

Paramètres dans de l'eau de source (100 mL):

	a	b	R²
Fénitrothion	0,5015	-0,0011	0,9977
Fenthion	0,5175	0,0039	0,9969
Malathion	0,0591	-0,0006	0,9986
Ethyl-parathion	0,3127	-0,0115	0,9612
Méthyl-parathion	0,4276	-0,0149	0,9964
Prochloraze	0,7841	0,0104	0,9970

ANNEXE 4

Répétabilité et fidélité intermédiaire sans correction
des étalons internes

		Eau d'Evian®			Eau de l'Oise			Eau de l'Oise avec MES		
		Répétabilité		Fidélité intermédiaire	Répétabilité		Fidélité intermédiaire	Répétabilité		Fidélité intermédiaire
		J1	J2		J1	J2		J1	J2	
FENI	0,20 ng/L	47%	27%	34%	9%	26%	41%	8%	13%	13%
	10 ng/L	7%	28%	29%	5%	6%	27%	20%	8%	8%
	50 ng/L	24%	19%	26%	24%	15%	37%	3%	5%	5%
FENT	0,18 ng/L	6%	7%	12%	8%	35%	25%	4%	7%	7%
	9 ng/L	5%	11%	10%	4%	9%	9%	13%	5%	5%
	45 ng/L	13%	8%	20%	20%	12%	15%	5%	3%	3%
MALA	1,40 ng/L	62%	41%	49%	20%	26%	24%	20%	29%	29%
	70 ng/L	15%	54%	56%	5%	17%	48%	19%	16%	16%
	350 ng/L	53%	36%	40%	29%	10%	20%	2%	16%	16%
PARA	0,40 ng/L	18%	11%	14%	23%	37%	35%	7%	12%	12%
	20 ng/L	9%	27%	33%	4%	8%	8%	14%	5%	5%
	100 ng/L	14%	23%	19%	43%	9%	27%	5%	3%	3%
PARAMe	0,30 ng/L	27%	29%	25%	12%	22%	27%	14%	22%	22%
	15 ng/L	2%	35%	41%	7%	8%	7%	24%	11%	11%
	75 ng/L	28%	52%	39%	24%	19%	35%	6%	6%	6%
PROC	1,00 ng/L	17%	26%	22%	11%	22%	28%	15%	22%	22%
	50 ng/L	6%	26%	17%	4%	6%	5%	19%	14%	14%
	250 ng/L	17%	10%	13%	25%	17%	28%	3%	1%	1%

Répétabilité et fidélité intermédiaire dans de l'eau d'Evian®, de l'eau de l'Oise filtrée et de l'eau de l'Oise avec 60 mg/L de MES sans correction des étalons internes

ANNEXE 5

Préparation des solutions de MES

Méthodologie de préparation des solutions de MES

La concentration en MES de l'eau de l'Oise utilisée dans cette étude a été déterminée à 10 mg/L. Le niveau de COT mesuré dans les MES utilisées s'établissait à 2,6%.

Les expériences précédentes effectuées aux laboratoires avaient démontré que le fait d'utiliser des MES qui avaient été séchées ne permettait pas de reconstituer une matrice représentative d'eau naturelle. En effet, les MES séchées avaient tendance à s'agréger même après leur remise en solution. Ainsi, le séchage pouvait potentiellement altérer la nature physique des MES. Pour pouvoir préparer des solutions maîtrisées en concentration de MES, il avait donc été préféré de constituer à partir d'une eau naturelle une eau très concentrée en MES.

L'eau de l'Oise à 10 mg/L a ainsi été filtrée afin d'obtenir une solution concentrée à 9 g/L.

La Figure 19 schématise les étapes pour préparer la solution mère concentrée à 9 g/L en MES ainsi et que la solution fille à 60 mg/L en MES.

Les autres solutions avec des concentrations en MES allant jusqu'à 150 mg/L ont été préparées sur ce même principe à partir de la solution mère à 9 g/L.

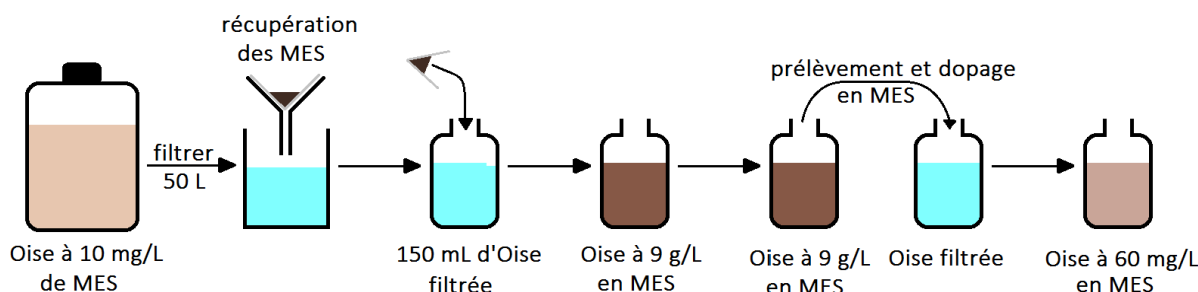
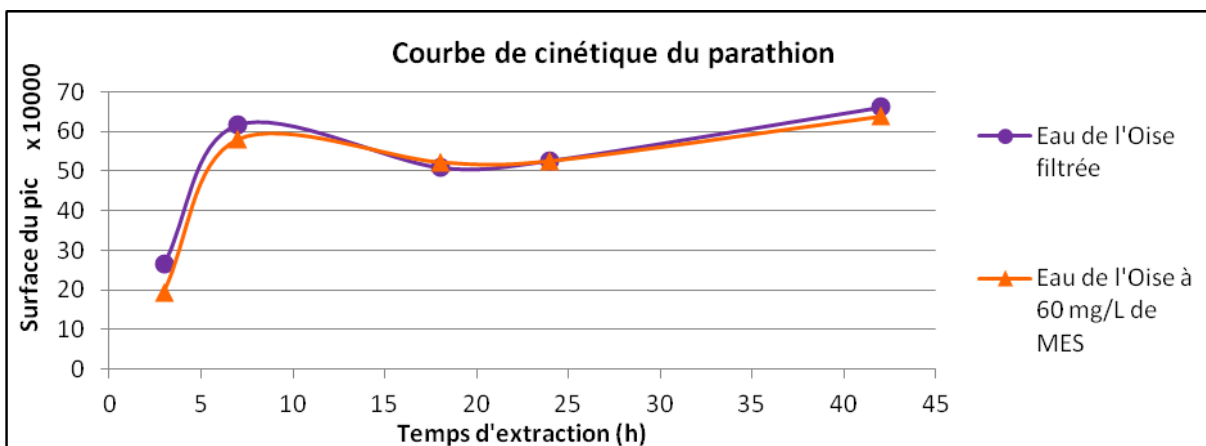
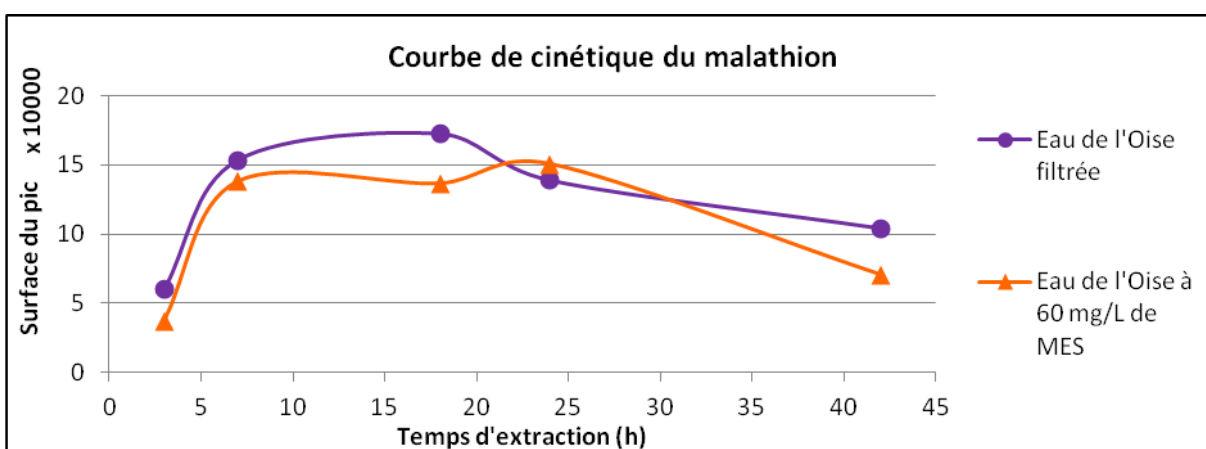
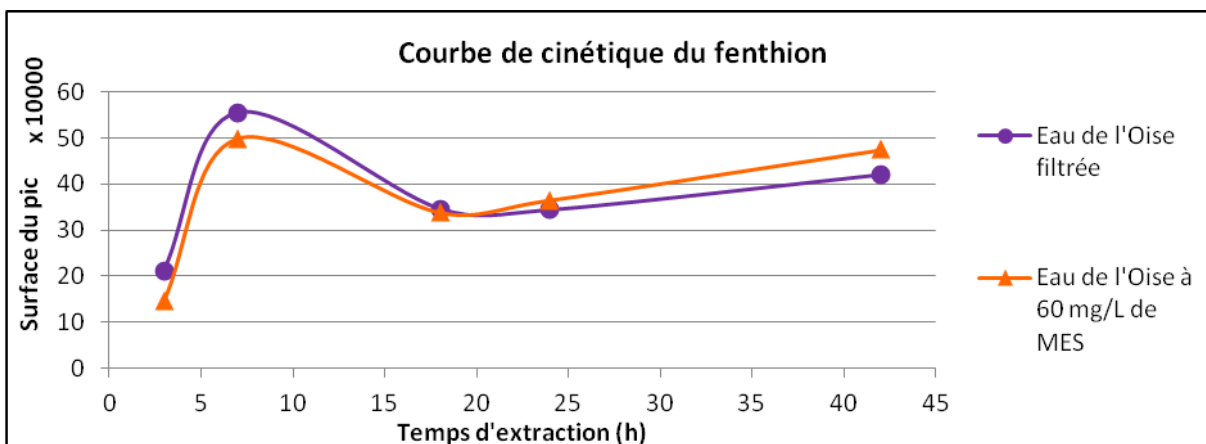
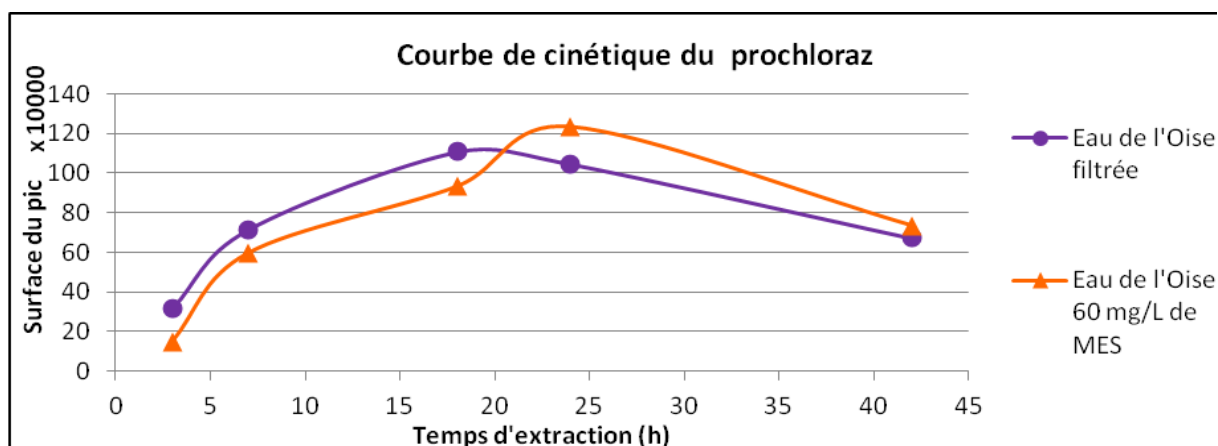
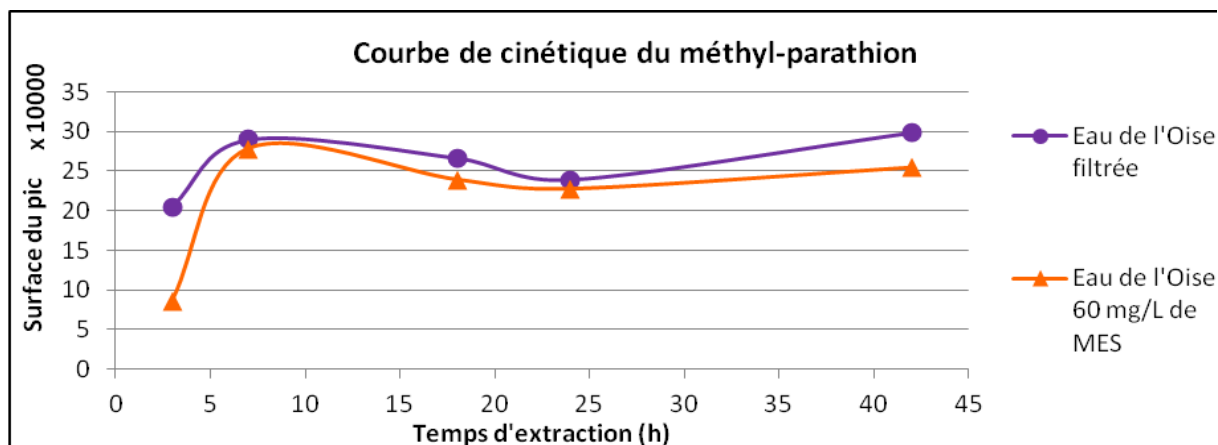


Figure 19 : Schéma du protocole de préparation d'une solution en MES

ANNEXE 6

Courbes de cinétique des composés étudiés dans des
eaux chargées à 60 mg/L en MES





Les étalons internes ont des courbes similaires à leur homologue.