

Evaluation de la méthodologie QuEChERS pour des analyses multirésidus

Thème D : Amélioration des opérations d'analyses physico-chimiques

**Nicolas RIEM, Jérôme BEAUMONT,
Francois LESTREMAU**
Décembre 2014

Programme scientifique et technique
Année 2014

Rapport final

Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2014 dans le cadre du partenariat ONEMA - AQUAREF 2014, au titre de l'action D- Amélioration des opérations d'analyses physico-chimiques.

Auteur (s) : Nicolas RIEM, Jérôme BEAUMONT et François LESTREMAU

Nicolas RIEM
INERIS

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

François LESTREMAU
INERIS
Email : francois.lestremau@ineris.fr

Vérification du document :

Eva Lionard, Cécile Miège - IRSTEA
eva.lionard@irstea.fr
cecile.miege@irstea.fr

Anne Togola - BRGM
a.togola@brgm.fr

Les correspondants

Onema : Pierre-François Staub

Référence du document : N. RIEM, J. BEAUMONT, F. LESTREMAU - Evaluation de la méthodologie QuEChERS pour des analyses multirésidus - Rapport AQUAREF 2014 - 77p

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	9
2. INTRODUCTION.....	11
3. OPTIMISATION ET ÉVALUATION DE LA MÉTHODE QUECHERS POUR L'ANALYSE MULTIRÉSIDUS DES HAP, PCB, PBDE, PESTICIDES ET PHTALATES DANS LES SÉDIMENTS – COMPARAISON AVEC LA METHODE PLE	13
3.1. Choix des molécules	13
3.2. Conditions analytiques	14
3.3. Optimisation de la procédure d'extraction par quechers	14
<i>Etude de la purification avec extraction par solvant pressurise.....</i>	<i>20</i>
<i>Etude de la purification après l'extraction par différents types de QuEChERS .</i>	<i>24</i>
4. CONCLUSION	35
5. REFERENCES.....	37
6. LISTE DES ANNEXES	39

Liste des annexes :

- Annexe 1 : Structure et origine des cinq familles étudiées
- Annexe 2 : Conditions expérimentales : préparation et analyse des échantillons
- Annexe 3 : Chromatogramme type de l'analyse multirésidus (100 ng mL⁻¹ par composé, 200 ng mL⁻¹ pour certains PCB et 50 ng mL⁻¹ pour les étalons internes)
- Annexe 4 : Recouvrement des étalons internes pour les essais extractions par QuEChERS
- Annexe 5 : Recouvrement des étalons internes pour les essais purification par PLE
- Annexe 6 : Recouvrement des étalons internes pour les essais purification par QuEChERS
- Annexe 7 : Recouvrement des étalons internes pour les essais avec CRM

EVALUATION DE LA MÉTHODOLOGIE QUECHERS POUR DES ANALYSES MULTIRÉSIDUS

NICOLAS RIEM, JEROME BEAUMONT ET FRANÇOIS LESTREMAU

RESUME

La préparation d'échantillons pour l'analyse des micropolluants dans les sédiments requiert des méthodes d'extraction complexes pour lesquelles il est souvent nécessaire de recourir à plusieurs étapes de préparation contraignantes à mettre en œuvre. Les méthodes d'extraction au Soxhlet et par solvant pressurisé sont largement utilisées pour leur efficacité à extraire les composés de la matrice, mais elles impliquent également l'extraction de nombreux interférents potentiels. Ces méthodes, qui nécessitent un équipement spécifique, sont donc généralement accompagnées d'une ou plusieurs étapes de purification longue à mettre en œuvre.

La méthode QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) est une méthode alternative plus douce que les extractions/purifications classiques et qui entraîne une mise en œuvre moins contraignante, ainsi que l'utilisation de solvant en plus faible quantité. Cette technique de préparation a été adaptée et évaluée pour l'analyse multirésidus des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polybromodiphényléthers (PBDE), polychlorobiphényles (PCB), pesticides et phtalates dans les sédiments par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC/MS/MS).

La méthode a été développée selon trois axes. En premier lieu, une optimisation de l'étape d'extraction a été réalisée par l'essai de différents solvants ou mélanges de solvants. Le deuxième axe consistait en l'optimisation de l'étape de purification. Différents adsorbants ont été testés en mode extraction sur phase solide directe ou dispersée. Enfin, le dernier axe a porté sur l'évaluation des méthodes optimisées précédemment sur des matériaux de référence certifiés (MRC).

Il ressort de cette étude que les meilleurs résultats ont été obtenus par une extraction à l'acétonitrile suivie d'une purification par de l'alumine basique sur phase dispersée. Les résultats sur MRC indiquent que dans ces conditions, cette technique pourrait être employée en tant que méthode semi quantitative voire quantitative avec un nombre d'étalons internes adéquat.

Mots clés :

QuEChERS, sédiment, HAP, PBDE, PCB, pesticide, phtalate, GC/MS/MS, analyse

EVALUATION OF QUECHERS APPROACH FOR MULTIRESIDUE ANALYSIS

NICOLAS RIEM, JEROME BEAUMONT AND FRANÇOIS LESTREMAU

ABSTRACT

The sample preparation for micropollutants analysis in sediments requires complex extraction methods for which it is necessary to perform many experimental steps. Soxhlet and pressurized liquid extractions are widely used for their efficiency to extract the target compounds, but that implies interfering analytes are also co-extracted massively. These methods thus necessitate extensive purification steps.

The QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) method is a softer alternative which both simplifies the analytical process and reduces the use of solvent. This technique has been adapted and evaluated for the multiresidue analysis of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH), polybromodiphenylethers (PBDE), polychlorobiphenyls (PCB), pesticides and phthalates by gas chromatography tandem mass spectrometry.

The method has been developed following three steps. At first, the optimization of the extraction step which has been performed by the test of various solvents or mix of solvents. The second part was dedicated to the optimization of the purification step by testing different adsorbants in SPE or dSPE mode. Finally, the method obtained from the two previous steps was evaluated on certified reference material (CRM).

The method resulting from this study provided the best results with an acetonitrile extraction followed by a basic alumina purification on dispersive phase. The recoveries observed for the CRM analysis imply that the method could be used as a semi quantitative or quantitative method with a relevant number of internal standards.

Key words :

QuEChERS, sediment, PAH, PBDE, PCB, pesticide, phthalate, GC/MS/MS, analysis

PRÉAMBULE

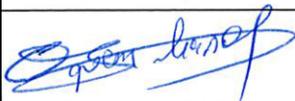
Le présent rapport a été établi sur la base des informations fournies à l'INERIS, des données (scientifiques ou techniques) disponibles et objectives et de la réglementation en vigueur.

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	Francois Lestremau	O. Aguerre-Chariol	N. Alsac
Qualité	Ingénieur « 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

Composés

ACE	Acénaphène
ALA	Alachlore
alpha-END	α -endosulfan
ALD	Aldrine
ATR	Atrazine
CHLORP	Chlorpyrifos-éthyl
D[a,h]A	Dibenzo[a,h]anthracène
DICHLOR	Dichlorvos
DBP	Di-n-butylphtalate
DDcP	Di-n-décylphtalate
DEHP	Di-2-(éthylhexyl)phtalate
DMP	Diméthylphtalate
DPP	Di-n-propylphtalate
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
NAPTH	Naphtalène
PCB	Polychlorobiphényles
PHE	Phénanthrène
PBDE	Polybromodiphényléthers
PYR	Pyrène
TERB	Terbutryne

Matériels analytiques, autres

Acet	Acétone
ACN	Acétonitrile
AcOEt	Acétate d'éthyle
ASE	Extraction accélérée par solvant
C₁₈	Octadécyl
COT	Carbone organique total
CRM	Matériau de référence certifié (referenced certified material)
CV	Coefficient de variation
CyC₆	Cyclohexane
DCM	Dichlorométhane
dSPE	Extraction sur phase solide dispersée (dispersive solid phase extraction)
EI	Etalon interne
GC/MS/MS	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (gas chromatography-tandem mass spectrometry)
Log K_{ow}	Coefficient octanol/eau
MgSO₄	Sulfate de magnésium
Na₂SO₄	Sulfate de sodium
NaOAc	Acétate de sodium
nC₆	n-hexane
PLE	Extraction par solvant pressurisé (pressurized liquid extraction)
POPs	Polluants organiques persistants
PSA	Amines primaires et secondaires (primary and secondary amines)
QuEChERS	Quick, easy, cheap, rugged and safe
SPE	Extraction sur phase solide (solid phase extraction)

2. INTRODUCTION

La méthode Quick, Easy, Cheap, Rugged and Safe (QuEChERS) a été développée en 2003 par Anastassiades *et al.* [1] pour l'analyse des pesticides dans les fruits et légumes. L'objectif du développement d'une telle méthode était d'obtenir un protocole de préparation d'échantillons qui aurait les avantages suivants : peu coûteux, rapide et facile à mettre en œuvre, robuste tout en restant fiable.

Basée sur ces travaux, une norme européenne, NF EN 15662 [2], parue en janvier 2009 et validée pour le secteur de l'alimentation, est dédiée au QuEChERS et en définit le protocole analytique appliqué aux végétaux. Elle fait apparaître trois grandes étapes :

- Une extraction solide/liquide : utilisation d'acétonitrile (ACN) avec une agitation manuelle durant 1 minute.
- Un ajout de tampons et de sels peut être effectué pour favoriser la séparation des phases et le transfert des pesticides vers la phase organique.
- Une purification sur phase solide dispersée. Dans le cas des pesticides dans les végétaux, elle est composée d'un mélange de plusieurs phases : support silice greffée d'octadécyl (C₁₈) et d'un mélange d'amines primaires et secondaires (PSA).

La préparation d'échantillons de sédiment pour l'analyse des micropolluants ou polluants organiques persistants (POPs) requiert des méthodes d'extraction complexes nécessitant plusieurs étapes. L'extraction d'une part, doit permettre la récupération des composés. La purification, d'autre part, permet l'élimination d'un maximum de composés ayant été extraits durant la première étape et qui sont susceptibles d'interférer avec les analytes recherchés.

Les extractions par solvant pressurisé (ou pressurized liquid extraction : PLE) ou par soxhlet sont les techniques les plus répandues pour une extraction efficace des POPs dans les matrices solides [3-9], avec une croissance de l'utilisation de la méthode PLE permettant d'obtenir d'aussi bons rendements qu'avec une méthode soxhlet, tout en réduisant le temps de préparation ainsi que la quantité de solvant utilisé.

Cependant, cette technique requiert des conditions de hautes pressions (entre 50 et 150 bar) et température (généralement supérieure à 100°C) qui en font ainsi un moyen d'extraction peu voire non sélectif. De cette façon, une grande partie (voire la totalité) des interférents présents dans la matrice vont être extraits en même temps que les molécules d'intérêt. C'est pourquoi une telle technique d'extraction nécessite de mettre en œuvre une purification élaborée, généralement par extraction sur phase solide (ou solid phase extraction : SPE) de l'échantillon afin d'en retirer toutes les substances potentiellement interférentes.

Le matériel utilisé pour la réalisation de cette purification ainsi que les consommables associés sont également coûteux, ce qui peut limiter son utilisation comme technique de référence dans les laboratoires de routine.

La méthode QuEChERS répond *a priori* aux critères de fiabilité face aux méthodes conventionnelles (soxhlet, PLE), mais présente l'avantage supplémentaire de ne nécessiter que quelques étapes simples de préparation, permettant d'obtenir des résultats similaires avec ceux d'une extraction conventionnelle mais en beaucoup moins de temps.

De plus, cette méthode nécessite l'utilisation de matériel moins coûteux (appareil à vortex + centrifugeuse) comparée à l'instrumentation PLE, mais également l'utilisation de consommables moins coûteux et une utilisation de solvant réduite. L'extraction à l'acétonitrile effectuée dans des conditions de température et de pression ambiantes en fait une méthode dite « douce » simplifiant *a priori* l'analyse chromatographique car elle permet de ne pas extraire trop de composés interférents. De fait, la purification des impuretés peut être réalisée par l'utilisation d'un adsorbant sur une phase solide dispersée directement dans le solvant d'extraction (dSPE).

Des méthodes à base de QuEChERS ont été développées dans d'autres matrices environnementales [10, 11] notamment les sédiments [10, 12] pour l'analyse des pesticides. L'applicabilité à d'autres familles de POPs dans différentes matrices environnementales [13-17] peut être observée dans la littérature. De plus, ce type de méthode est également appliqué pour des méthodes multirésidus dans le cadre d'analyse de végétaux ou de poissons [15, 17-20].

Dans le cadre d'une adaptation de la méthode QuEChERS [2] à une matrice autre que des végétaux, et avec une large gamme de composés, la possibilité d'utiliser d'autres solvants, tant qu'ils sont adaptés à l'extraction des composés étudiés peut être considérée. De plus, afin de réaliser des séries d'échantillons, un appareil à vortex peut être employé.

Les sels permettent un relargage de la phase aqueuse si l'échantillon contient une grande quantité d'eau. Dans le cas de sédiments séchés, l'eau peut être délibérément ajoutée à l'échantillon avant extraction au solvant, étant donné que cela produit un impact positif sur le transfert des composés de la matrice vers la phase organique (une étude précédente réalisée sur les pesticides dans les sédiments a montré que l'ajout d'eau permettait l'augmentation de la taille des pores du sédiment, et donc une accessibilité du solvant accrue pour améliorer l'extraction des composés ciblés [21]).

Le but de cette étude est d'adapter et vérifier l'applicabilité d'une méthode de type QuEChERS à la préparation pour l'analyse multirésidus de certains hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polychlorobiphényles (PCB), polybromodiphényléthers (PBDE), pesticides et phtalates dans les sédiments par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

Dans le cadre d'une méthode multirésidus, différents solvants d'extraction ont été évalués puis plusieurs phases de purification ont été étudiées. Enfin, la méthode a été testée sur des matériaux de référence.

3. OPTIMISATION ET ÉVALUATION DE LA MÉTHODE QUECHERS POUR L'ANALYSE MULTIRÉSIDUS DES HAP, PCB, PBDE, PESTICIDES ET PHTALATES DANS LES SÉDIMENTS – COMPARAISON AVEC LA METHODE PLE

3.1. CHOIX DES MOLECULES

Les cinq familles de composés considérées sont couramment retrouvées dans les milieux aquatiques avec notamment certaines substances de ces familles incluses dans la directive cadre eau. Le coefficient de partage octanol/eau (Log K_{ow}) est un bon indicateur du caractère lipophile d'une substance. La plupart des composés étudiés présentent des coefficients octanol-eau supérieurs à 3 (HAP > 3, PBDE > 6, 6 < PCB < 8, 2 < phtalates < 8). Ces caractéristiques physico-chimiques en font des composés ayant une tendance à s'accumuler dans les parties hydrophobes des milieux aquatiques dont les sédiments.

Cinq familles de substances ont été étudiées. Pour chaque famille, des substances modèles ont été sélectionnés (tableau 1).

Tableau 1 : Substances sélectionnées pour cette étude

Familles	Substances	Abréviation	Code Sandre
HAP	naphtalène	NAPHT	1517
	acénaphène	ACE	1453
	phénanthrène	PHE	1524
	pyrène	PYR	1537
	dibenzo[a,h]anthracène	D[ah]A	1621
Pesticides	dichlorvos	DICHLOR	1170
	atrazine	ATR	1107
	alachlore	ALA	1101
	terbutryne	TERB	1269
	aldrine	ALD	1103
	Chlorpyrifos-éthyl	CHLORP	1083
	α -endosulfan	Alpha-END	1178
	4-4'-DDT	/	1148
PBDE	BDE 28	/	2920
	BDE 47	/	2919
	BDE 99	/	2916
	BDE 154	/	2911
PCB	PCB 8	/	/
	PCB 28	/	1239
	PCB 52	/	1241
	PCB 101	/	1242
	PCB 153	/	1245
	PCB 189	/	5437
	PCB 194	/	1625
	PCB 206	/	/
Phtalates	diméthylphtalate	DMP	1489
	di-n-propylphtalate	DPP	2541
	di-n-butylphtalate	DBP	1462
	di-2-(éthylhexyl)phtalate	DEHP	6616
	di-n-décylphtalate	DDcP	/

Ces substances modèles ont été choisies de façon à couvrir une gamme de propriétés physico-chimiques large pour chaque famille considérée (poids moléculaires, nombre de cycles pour les HAP, nombre d'atomes de chlore notamment,...).

La structure des composés étudiés ainsi que certaines informations concernant leur provenance sont décrites en Annexe 1.

3.2. CONDITIONS ANALYTIQUES

Toutes les conditions expérimentales (réactifs et étalons, échantillons utilisés, conditions analytiques, procédure de dopage des échantillons) sont décrites en Annexe 2. Un exemple de chromatogramme type en solvant est également présenté en Annexe 3.

Pour toutes les analyses, un seul étalon interne a été choisi par famille analytique. L'étalon interne a été généralement sélectionné de façon à pouvoir établir un compromis entre les différentes propriétés des composés d'une même famille. Le choix d'un seul étalon interne (EI) par famille visait également à pouvoir déterminer l'applicabilité de la technique avec un nombre volontairement limité d'EI en relation avec la notion de Cheap (bon marché) du QuEChERS.

Les étalons internes utilisés étaient :

- HAP : phénanthrène-d₁₀ (PHE-d₁₀)
- Pesticides: terbutryne-d₅ (TERB-d₅)
- PBDE : BDE 99-¹³C₁₂
- PCB : PCB 52-¹³C₁₂
- Phtalates : di(2-éthylhexyl)phtalate-3,4,5,6-d₄ (DEHP- d₄)

Afin de pouvoir générer un point de comparaison, des expériences ont également été effectuées avec la technique d'extraction par fluide pressurisé (PLE). Cette technique est généralement employée pour l'extraction des sédiments. Dans ce cadre, un appareil d'extraction accélérée par solvant (ASE) a été spécifiquement utilisé.

3.3. OPTIMISATION DE LA PROCEDURE D'EXTRACTION PAR QUECHERS

La stratégie analytique initiale utilisée pour l'extraction des cinq familles de composés est basée sur les travaux AQUAREF dans ce domaine [21, 22, 23] ainsi que sur les travaux d'Anastassiades *et al.* [1].

Les divers travaux AQUAREF [21, 22, 23], ainsi qu'une pré-étude réalisée au sein de l'INERIS pour les HAP ont permis de développer un protocole d'extraction par QuEChERS à tester pour une analyse multirésidus, cf. Figure 1.

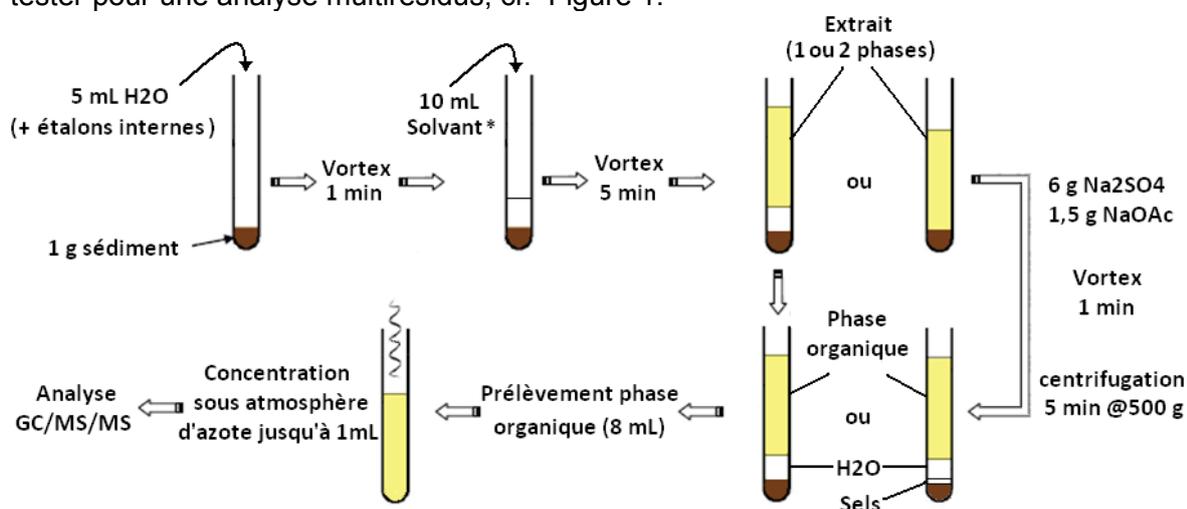
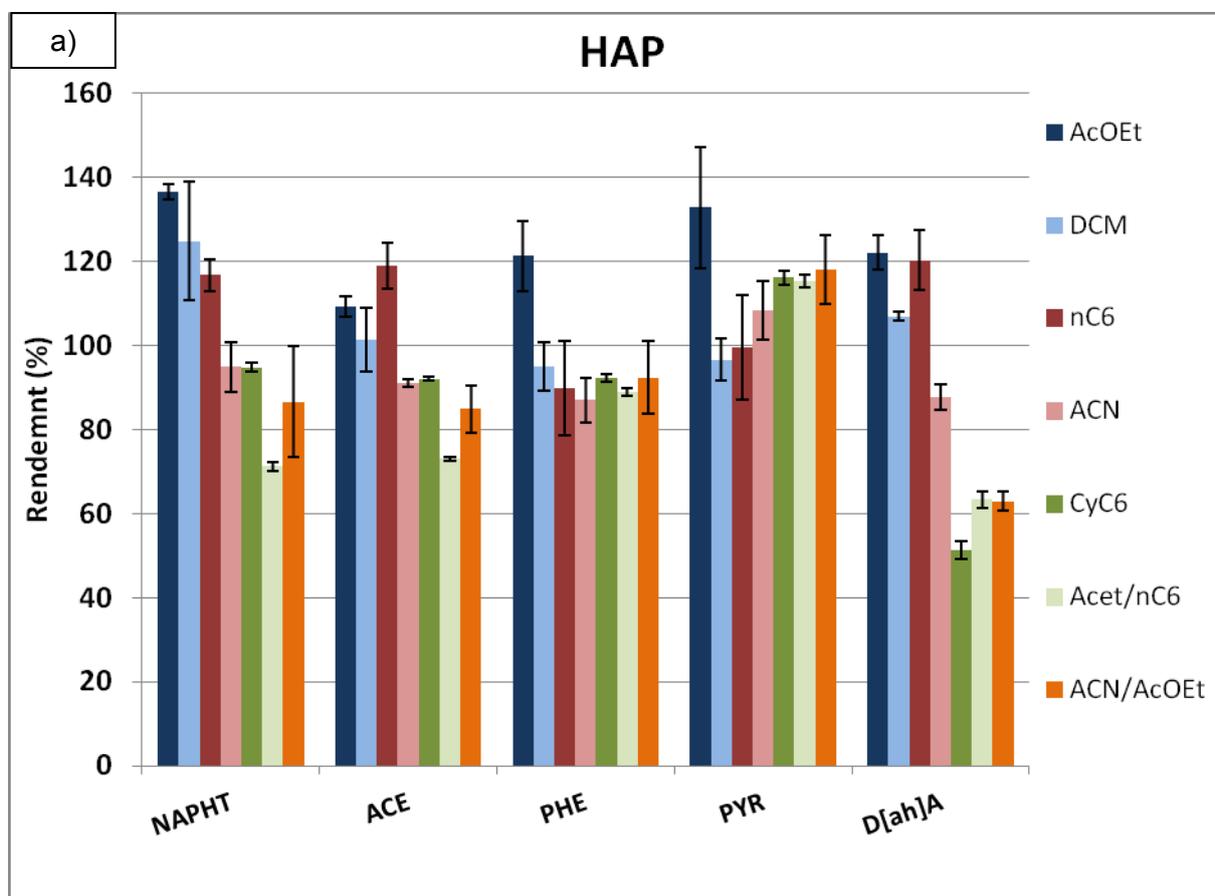


Figure 1. Description schématique de la procédure de préparation d'échantillons de sédiments par la méthode QuEChERS. Solvant* désigne les différents solvants d'extraction testés.

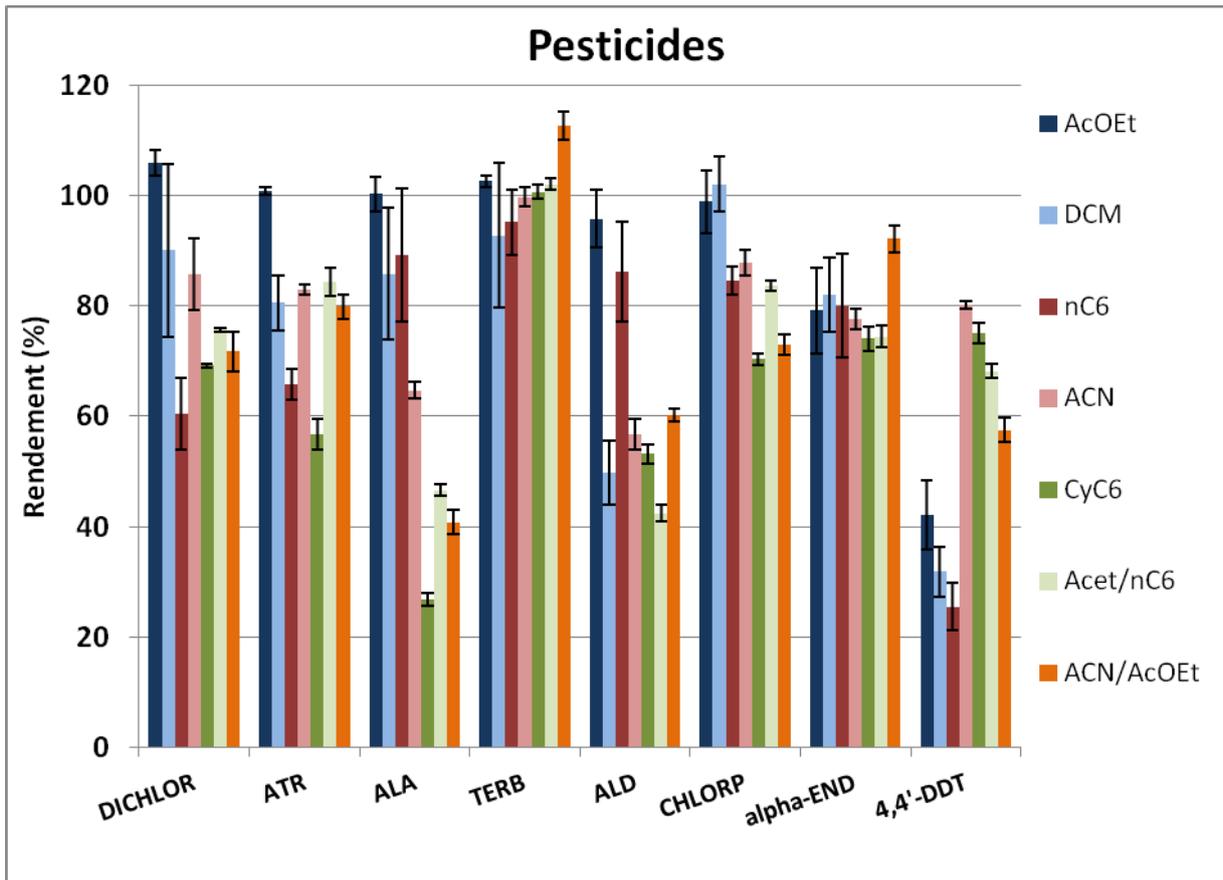
Différents solvants et mélanges de solvants ont été testés afin de déterminer le meilleur compromis pour les cinq familles de composés étudiées. Il a été choisi d'évaluer l'acétonitrile (ACN) car c'est le solvant d'extraction pour l'analyse des pesticides dans les fruits et légumes par QuEChERS [2]. D'autres solvants, ou mélanges de solvants, utilisés pour l'analyse individuelle des familles dans de nombreuses applications environnementales ont également été testés : acétone/hexane (Acet/nC₆) (1/1 (v/v)), l'acétate d'éthyle (AcOEt), le dichlorométhane (DCM), l'hexane (nC₆), un mélange AcOEt/ACN (1/1 (v/v)) et le cyclohexane (CyC₆).

Tous les solvants sauf l'ACN ne sont pas miscibles à l'eau, ce qui permet d'obtenir une phase liquide hétérogène après l'ajout du solvant et l'étape d'agitation au vortex. Pour l'extraction à l'ACN en revanche, celui-ci étant miscible à l'eau, une étape supplémentaire est nécessaire. Elle consiste en l'ajout dans le flacon d'extraction d'un mélange de sels contenant de l'acétate de sodium (NaOAc) permettant de saturer la phase aqueuse et donc d'obtenir une séparation avec la phase organique. Du sulfate de sodium (Na₂SO₄) est également ajouté pour permettre de sécher la phase organique.

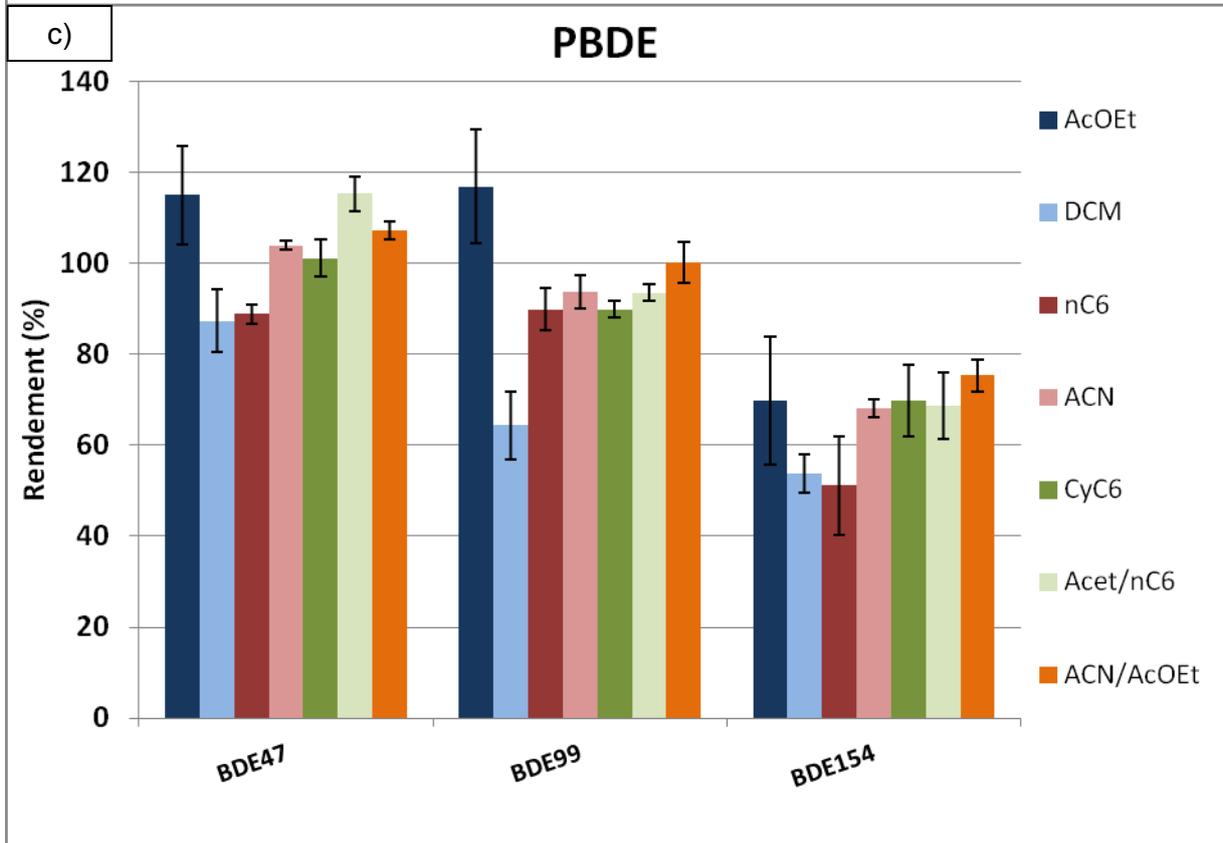
Les rendements obtenus sont présentés en Figure 2 ci-dessous :



b)



c)



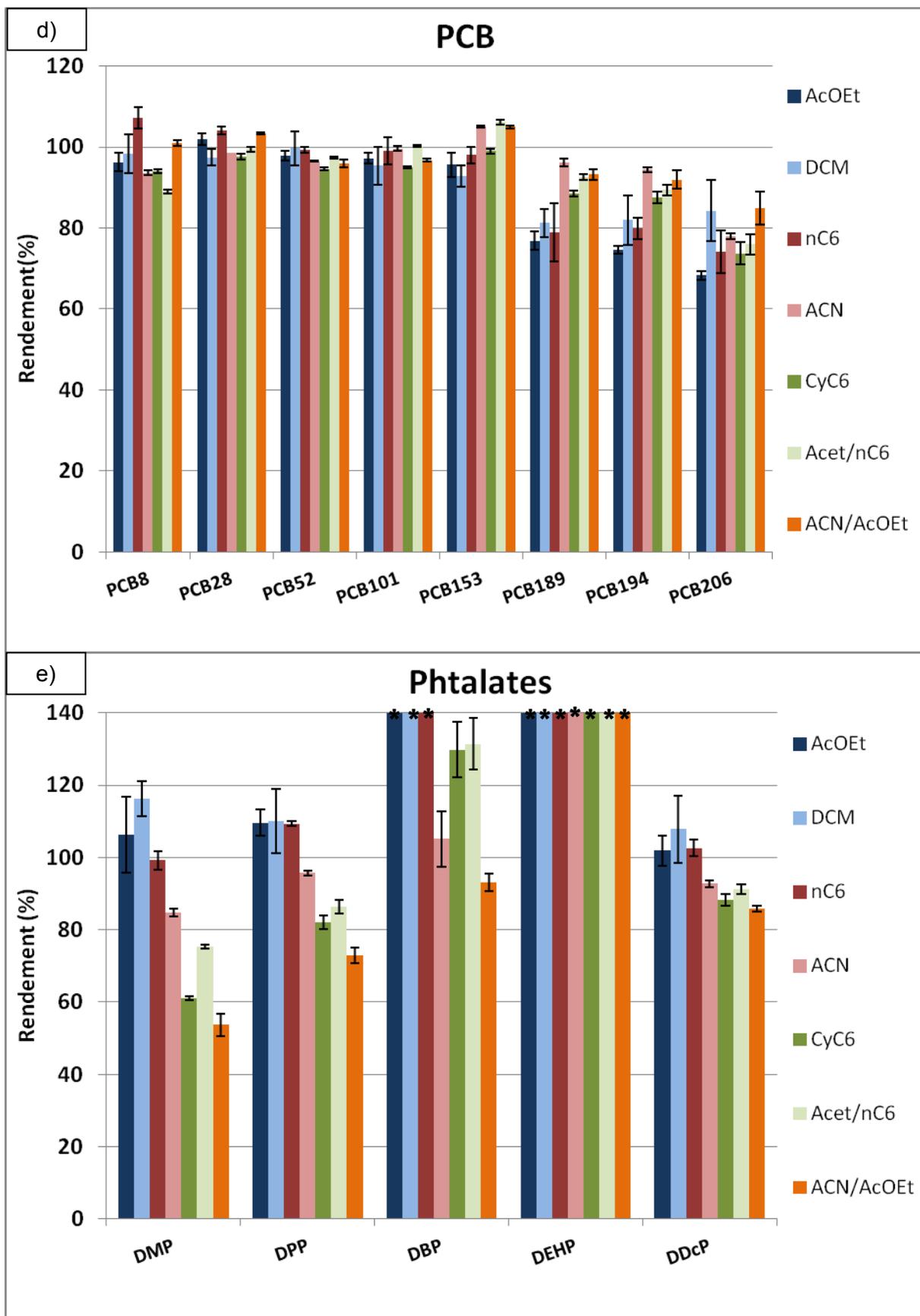


Figure 2. Rendements (n= 3) d'extraction obtenus sur sédiment dopé par extraction solide-liquide (méthode d'approche QuEChERS) par différents solvants, sans purification (a) HAP, b) pesticides, c)PBDE, d) PCB, e) phtalates)(* : rendement > 140%).

La qualité de l'extraction est fonction du solvant ou mélange de solvants utilisé dans la procédure. Ceci est dû à l'intensité des interactions solvant-composés entrant en compétition avec les interactions composés-matrice. En effet, dans le cas des sédiments, la liaison des composés avec la matrice peut être forte et varier selon le taux de carbone organique total (COT) du sédiment. Si ce taux est élevé, étant donné que les composés étudiés contiennent beaucoup de d'atomes de carbone, cette liaison devrait être forte. En conséquence, le solvant utilisé devra posséder une forte affinité avec les composés apolaires à extraire.

Le choix du solvant est ainsi un facteur plus important avec l'extraction par cette technique « douce » que pour une méthode par PLE où les extractions sont favorisées par l'utilisation de haute pression et température (ce qui permet d'améliorer la solubilité et les interactions des composés avec le solvant).

Pour les taux de recouvrement des étalons internes choisis (fournis en annexe 4), à l'exception des recouvrements obtenus avec l'acétate d'éthyle situé entre 75 et 85%, il est globalement situé entre 80 et 123% pour tous les solvants testés.

Les CV pour l'acétate d'éthyle sont également plus élevés avec des valeurs autour de 15% alors que l'extraction avec les autres solvants présentent des CV globalement inférieurs à 10%.

D'après la figure 2 où les résultats corrigés par les étalons internes sont exposés, Pour les solvants les plus polaires de cette sélection (AcOEt et DCM), les résultats sont satisfaisants mais présentent généralement de grands coefficients de variation (CV) excepté pour les pesticides. Ceci est expliqué par le fait que les pesticides sont les composés présentant le plus de différences physico-chimique entre eux, notamment de polarité parmi la sélection de cinq familles de composés. Ainsi, l'influence des différences d'interactions avec les solvants testés combinées avec les différences obtenus par rapport à la correction via un étalon interne unique conduisent à des variations plus importantes en terme de rendements et/ou de CV.

Les solvants non polaires (nC_6 et CyC_6) et l'ACN donnent globalement de bons résultats. Cependant, de faibles rendements sont observés pour le D[a,h]A (CyC_6), le dichlorvos et l'atrazine (nC_6 et CyC_6), l'alachlor et l'aldrine (ACN et nC_6), le chlorpyrifos-éthyl (CyC_6) et le 4,4'-DDT (nC_6 et CyC_6). Comme la méthode a pour but de permettre une extraction multirésidus, il est difficile d'obtenir des résultats satisfaisants pour chacun des composés étudiés, surtout lorsque les familles présentent de telles différences de propriétés physico-chimiques. De plus, la correction par étalons internes n'inclut qu'un isotope marqué par famille concernée, ce qui implique des variations dans la robustesse de la correction. Globalement, plus le composé est lourd par rapport à son étalon interne (par exemple le PCB206 corrigé par le PCB52- $^{13}C_{12}$), plus le rendement obtenu après correction est faible. Cependant, l'ACN assure de bons résultats avec une dispersion faible (faible CV).

Comme les solvants AcOEt et ACN ont permis d'obtenir de bons résultats, il a été décidé d'explorer la possibilité d'utiliser ces deux solvants afin de combiner leurs performances. Les résultats obtenus lors de cet essai n'ont pas été concluants, les rendements obtenus étant inférieurs à ceux obtenus pour l'ACN ou l'AcOEt utilisés indépendamment.

Les extractions de sédiments sont couramment effectuées avec une technique d'extraction par fluide pressurisé (PLE). Des travaux [24] ont montrés que le mélange acétone/hexane ($Acet/nC_6$) 1/1 était adapté à une analyse multirésidus. Ces conditions (extraction PLE avec $Acet/nC_6$) seront considérées par la suite comme méthode de référence (la méthode par PLE sans purification a été testée mais les extraits obtenus étaient trop chargés ne permettant pas d'obtenir des résultats exploitables. Une étape de purification est indispensable avec ce type d'extraction).

Ce mélange de solvants (Acet/nC₆) a ainsi également été testé avec une méthode d'extraction par QuEChERS. Combinant un solvant apolaire avec un solvant légèrement polaire, les résultats observés sont satisfaisants et similaires à ceux obtenus par l'ACN. Cependant, l'utilisation de l'acétone comme solvant extractant pourrait augmenter l'extraction de composés matriciels, ce qui pourrait accroître l'encrassement du système chromatographique et les interférences spectrométriques (par l'extraction de plus de composés présents dans la matrice, notamment des composés polaires non extraits lorsque le solvant utilisé est uniquement apolaire).

En conclusion, dans l'ensemble, les meilleurs résultats observés pour cette partie de l'optimisation ont été ceux par extraction à l'acétonitrile. Cependant, de manière à fournir une comparaison directe avec une méthode par PLE (voir section suivante 3.3.1), la prochaine étape de l'optimisation de la méthode a été évaluée avec l'utilisation des deux solvants (ACN et Acet/nC₆) afin de pouvoir comparer l'impact de la purification suite à ces 2 modes d'extraction.

3.3.1 ETAPE DE PURIFICATION

CHOIX DES ADSORBANTS

Les documents de référence [22, 23, 25] pour ce type de matrice, notamment pour certains des composés des cinq familles ici étudiées, précisent une étape de purification complexe avec trois couches distinctes dans une colonne en verre (silice activée, silice activée acide et silice activée basique). Ce processus de purification est long à mettre en œuvre mais nécessaire pour une purification poussée après une extraction forte par PLE.

Ces purifications peuvent être simplifiées grâce à la SPE (solid phase extraction). En effet, à l'inverse de la préparation de colonnes en verre dans lesquelles différents adsorbants sont introduits, les cartouches SPE sont achetées déjà préparées et remplies d'adsorbant, et elles ont généralement un volume faible (de 3 à 6 mL). La quantité de solvant nécessaire à leur élution est donc également réduite face aux purifications sur colonne de verre (~100 mL). La méthode QuEChERS [1, 2] quant à elle utilise un système encore plus rapide de mise en œuvre : la dSPE (dispersive solid phase extraction), qui est similaire à la SPE sauf que l'adsorbant n'est pas utilisé dans une cartouche à travers laquelle le solvant passe. Dans ce cas, l'extrait est placé dans le flacon contenant l'adsorbant dispersé et une simple agitation permet de favoriser le contact entre l'adsorbant et les composés indésirables. Le surnageant ainsi purifié peut ensuite être prélevé pour analyse.

L'objectif étant de mettre au point une méthode rapide de mise en œuvre tout en restant efficace, le mode de purification dSPE a été évalué. Afin de pouvoir comparer l'efficacité de la purification, le mode «classique » par SPE a également été utilisé.

Trois adsorbants (C_{18} , alumine basique (ALB) et kit QuEChERS (C_{18} + PSA (Primary and Secondary Amines) + $MgSO_4$)) ont été sélectionnés pour leur diversité de propriétés physico-chimiques et/ou parce que ce sont des matériaux généralement utilisés pour la purification des extraits de sédiments. Il a ainsi été décidé d'utiliser l'alumine basique (ALB) activée, qui est également une méthode de purification possible selon la norme NF EN ISO 22032 consacrée aux PBDE [25]. Le C_{18} est couramment utilisé en tant que matériel de purification pour les sédiments. Enfin, le kit de purification QuEChERS [8] utilisé pour la purification des échantillons de fruits et légumes a également été testé mais uniquement en mode dSPE. Commercialement, les kits QuEChers sont disponibles avec de nombreuses compositions en nature et en quantité d'adsorbant. Pour cette étude, il est composé de 1,2 g de sulfate de magnésium ($MgSO_4$), 400 mg de C_{18} et 400 mg de PSA et sera référé comme « kit QuEChERS » dans la suite de ce document. Le PSA est composé d'amines primaires et secondaires. Pour les matrices alimentaires, il est utilisé pour retenir les sucres et les acides gras. Pour cette application, il peut contribuer à retenir les composés avec des groupements acides et ceux très polaires présents dans les sédiments.

Pour la purification par dSPE, le protocole suivant a été utilisé (figure 3) :

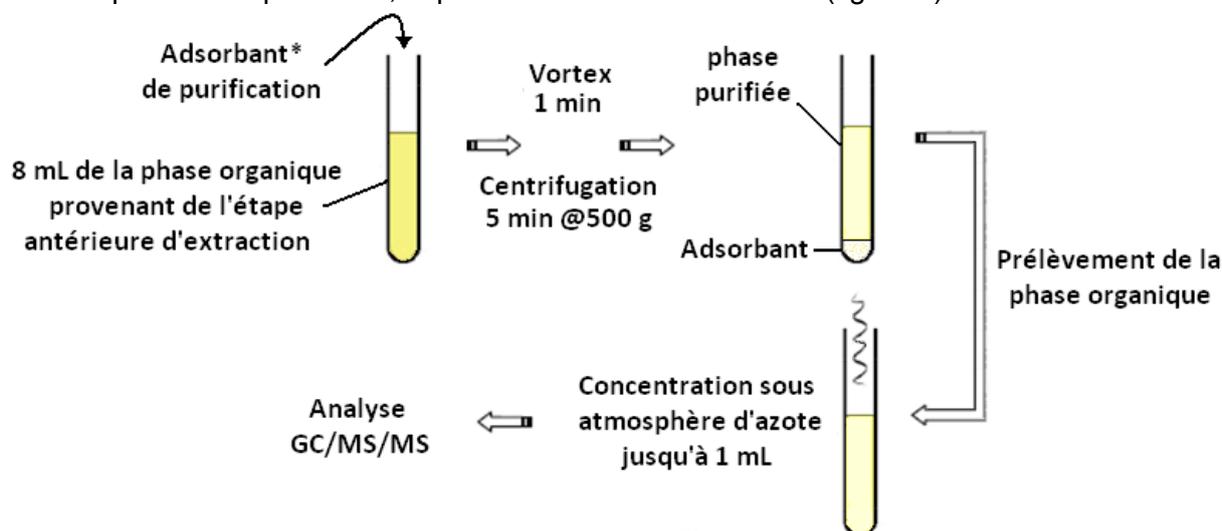
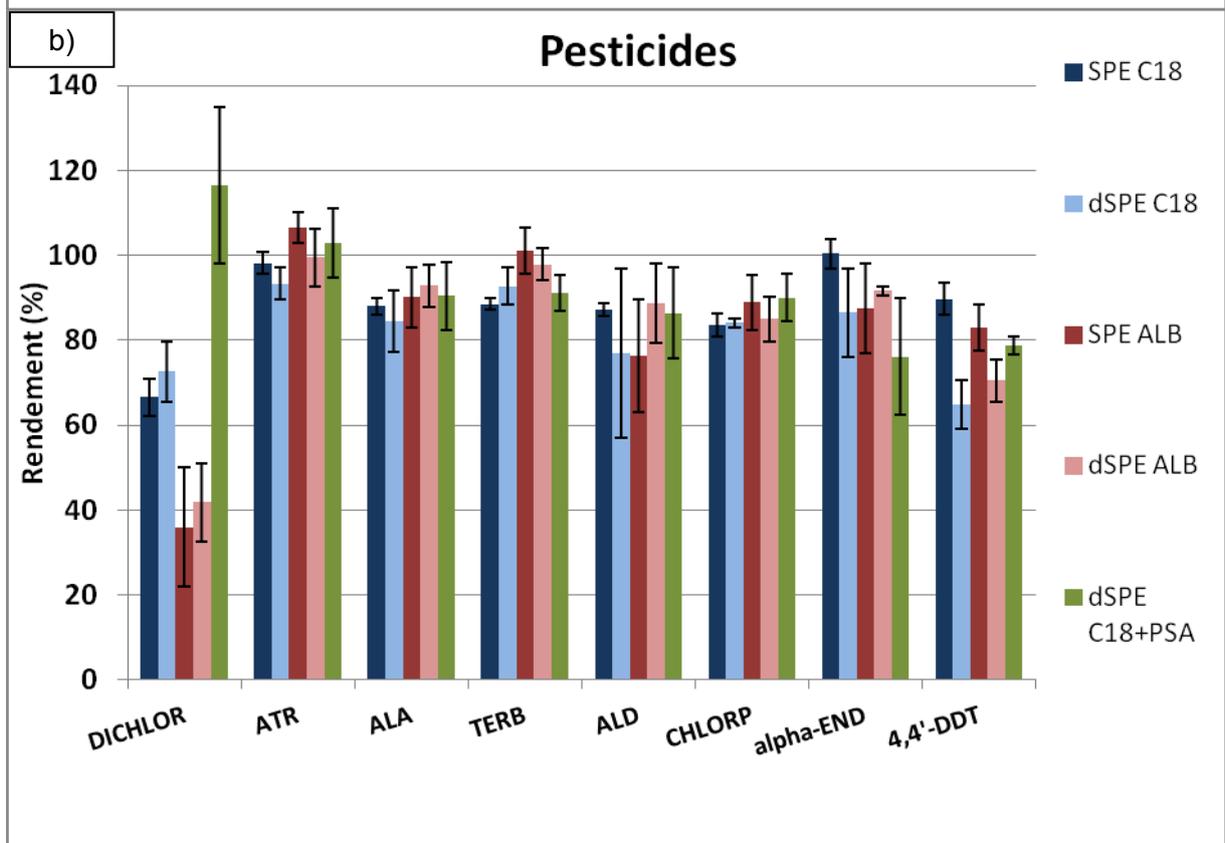
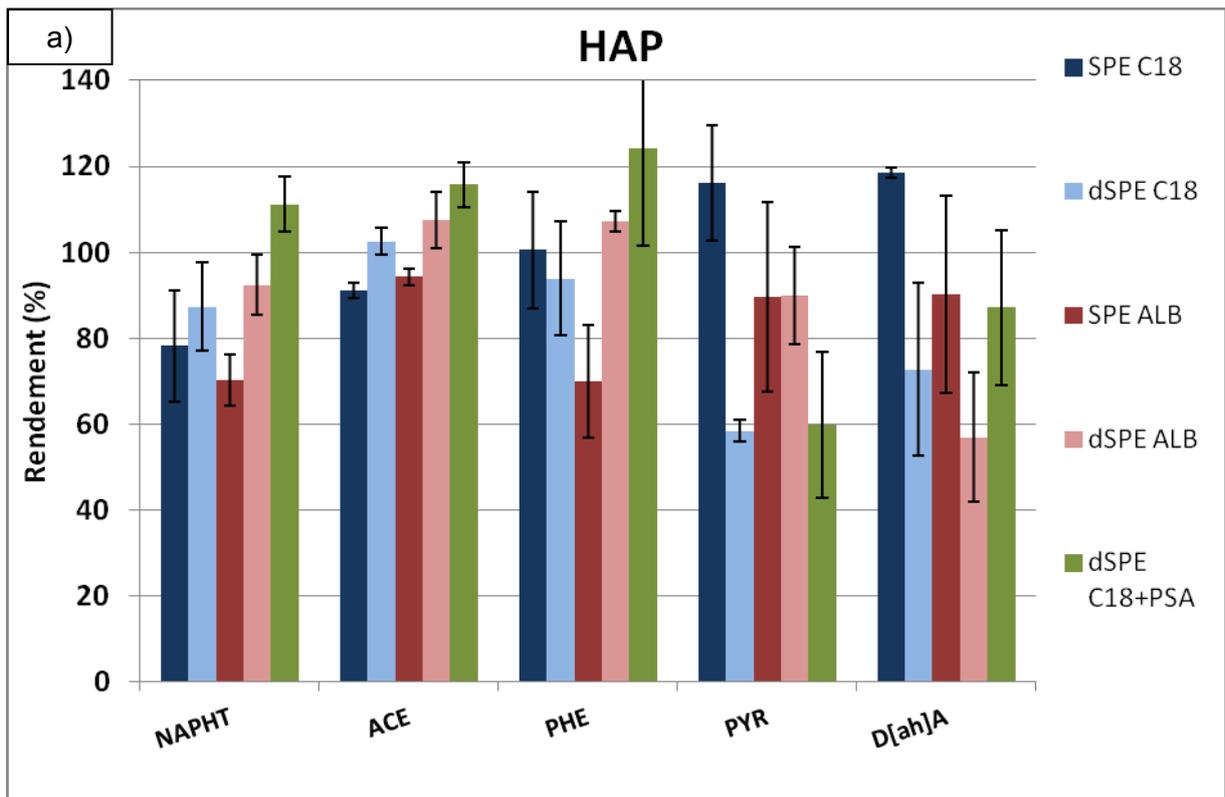


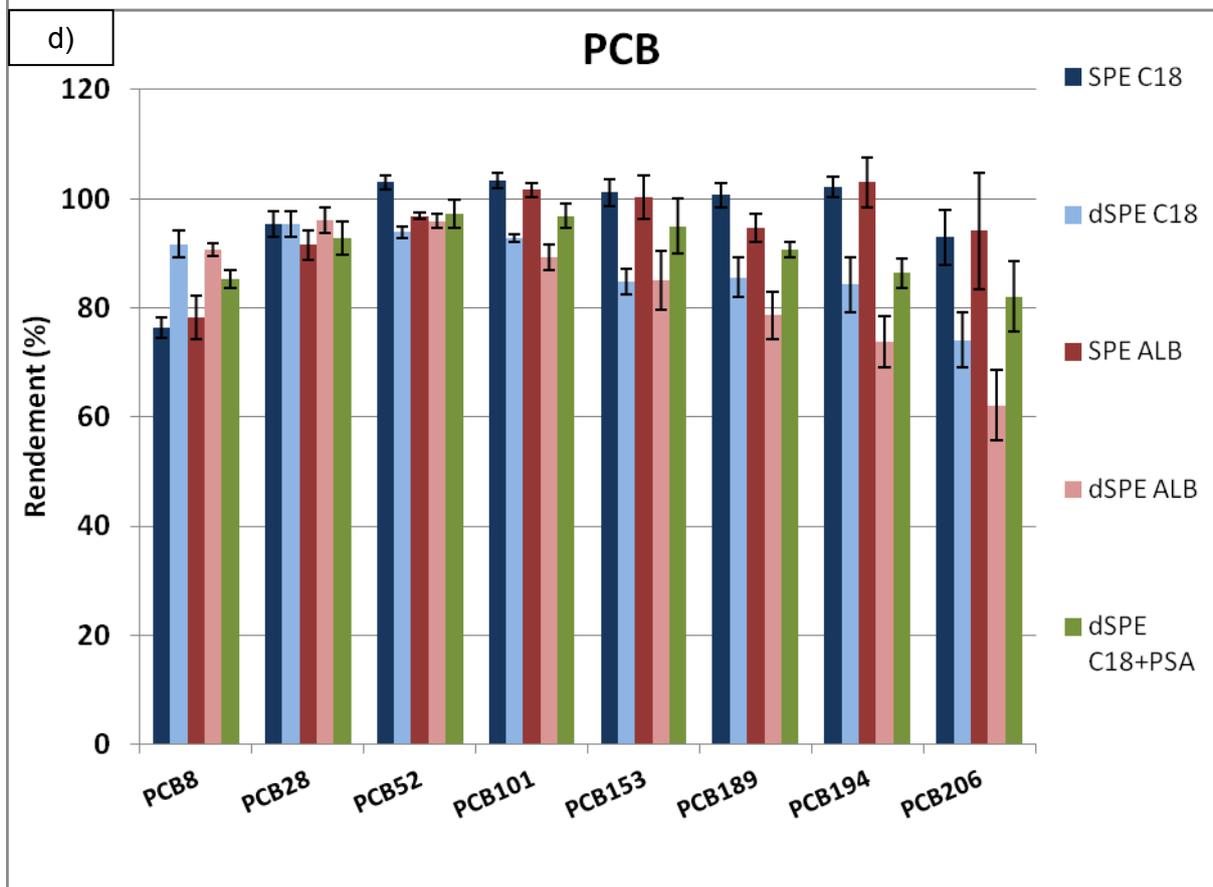
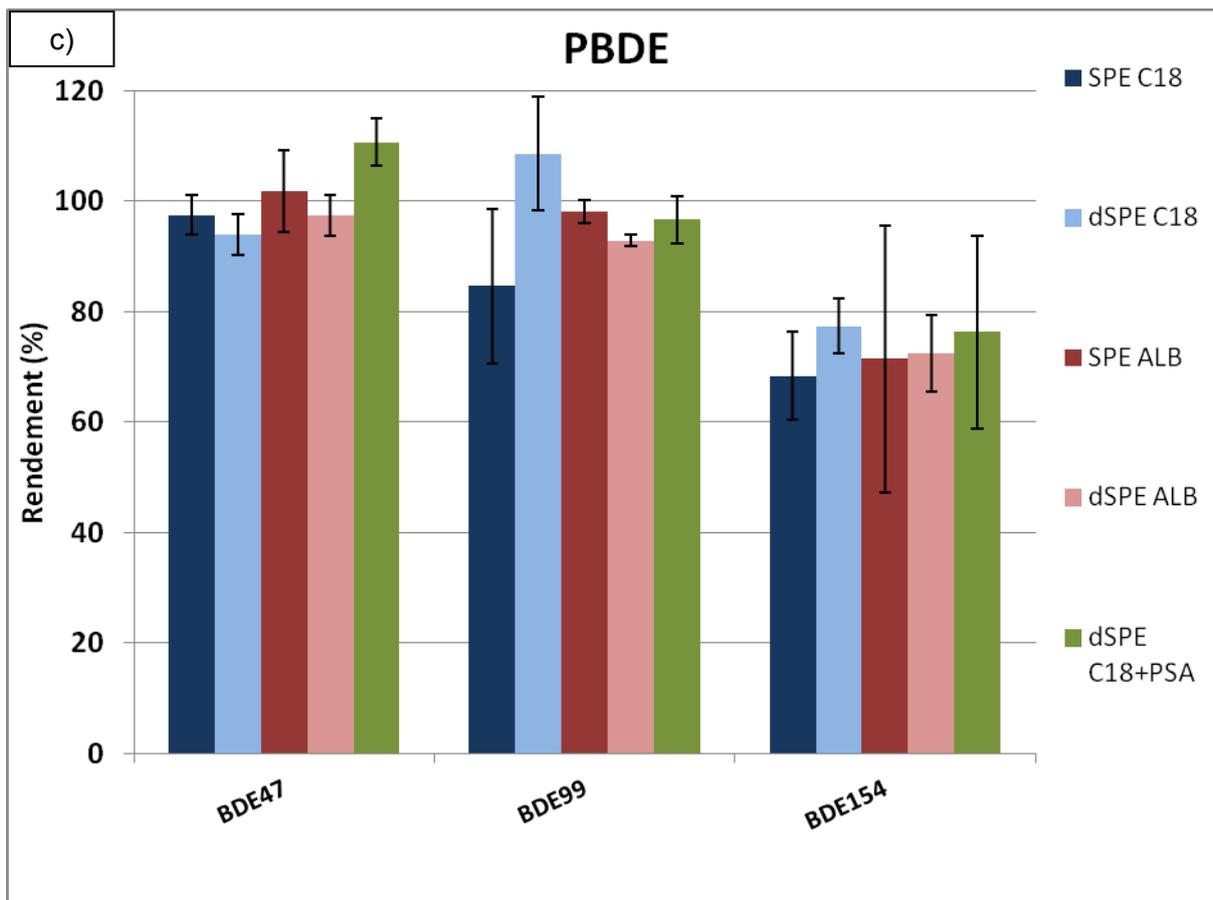
Figure 3. Protocole de purification par dSPE (adsorbant* = alumine basique, C_{18} ou kit QuEChERS)

ETUDE DE LA PURIFICATION AVEC EXTRACTION PAR SOLVANT PRESSURISÉ

Afin de pouvoir constituer un point de comparaison par rapport à une méthode interne de référence, des analyses sur du sédiment dopé ont été réalisées par PLE (voir conditions expérimentales Annexe 2). L'extraction a été effectuée avec un mélange hexane/acétone (1/1 v/v) d'après les conclusions de [24]. En effet, ce mélange permet de prendre en compte la diversité des substances étudiées avec des molécules apolaires (PBDE, PCB) et semi-polaires (certains pesticides ou phtalates). L'association d'un solvant relativement polaire (acétone) et apolaire (hexane) permet ainsi de couvrir cette diversité. Les extractions ont ensuite été suivies d'une purification. Les trois adsorbants ont été testés en mode SPE et/ou dSPE. En effet, l'extraction par PLE est très complète. Ainsi, le mode SPE permet d'obtenir plus de maîtrise sur le traitement des extraits (volume de passage, renouvellement de solvant,...). La dSPE apporte une purification plus rapide et simple à mettre en œuvre mais elle est moins complète et potentiellement insuffisante pour ce type d'extrait.

Les résultats obtenus sont exposés dans la Figure 4 ci-dessous :





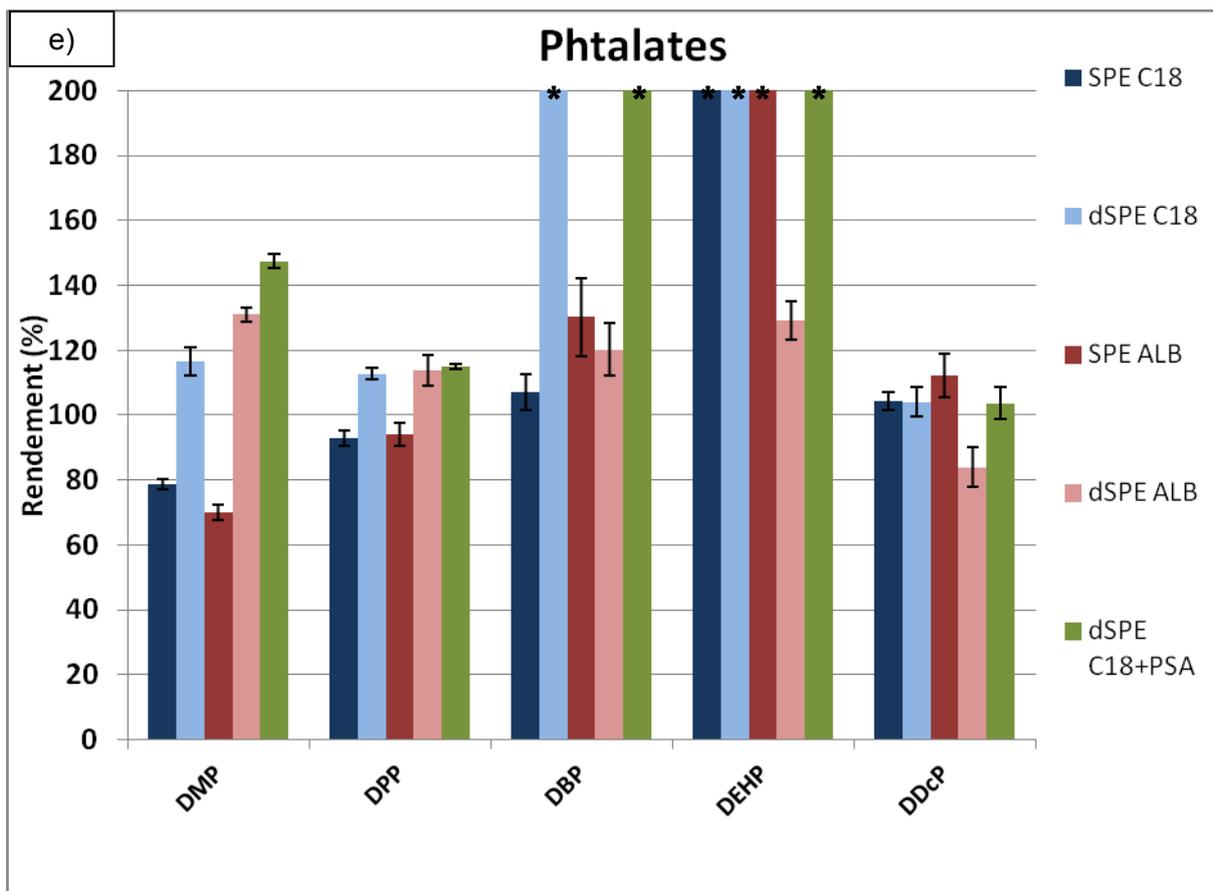


Figure 4. Rendements ($n=3$) d'extraction obtenus sur sédiment dopé par extraction par solvant pressurisé (PLE), suivi d'une purification sur divers adsorbants en mode SPE ou dSPE (a) HAP, b) pesticides, c) PBDE, d) PCB, e) phtalates)(* : rendement > 200%).

Les recouvrements des étalons internes sont exposés en Annexe 5. Pour 4 des 5 étalons internes, le phénanthrène- d_{10} , le PCB 152- $^{13}C_{12}$, la terbutryne- d_5 et le DEHP- d_4 , des recouvrements autour de 100% sont observés pour toutes les conditions testées sans différences significatives. Pour le BDE99- $^{13}C_{12}$, des recouvrements plus faibles (autour de 60%) sont obtenus pour toutes les conditions évaluées.

Les taux de recouvrement des EI montrent, à l'exception des PBDE, que la méthode PLE est bel et bien efficace pour l'extraction des composés cibles. LES PBDE sont des composés très apolaires. Ainsi, le mélange utilisé n'est probablement plus assez apolaires pour permettre une extraction optimale de ces substances.

Avec la correction des EI, tous les rendements sont proches de 100%, malgré quelques pertes constatées selon l'adsorbant de purification utilisé. C'est notamment le cas du dichlorvos avec une purification à l'alumine basique (SPE et dSPE). Ce composé a un Log K_{ow} de 1,16, ce qui signifie qu'il est semi-polaire et est donc susceptible d'être partiellement retenu par l'adsorbant polaire qu'est l'alumine basique (ALB).

Des différences peuvent être observées selon le type de phase d'adsorbant utilisé (SPE ou dSPE) avec par exemple le pyrène et le dibenzo[a,h]anthracène. En effet, bien que le C_{18} soit employé dans les 2 cas, pour la SPE, il peut être nettoyé avant d'y faire passer l'extrait. Cependant, pour le C_{18} dSPE, il n'y a pas de nettoyage de la phase avant d'introduire l'extrait dans le flacon. De plus, les composés faiblement adsorbés ne pourront pas être récupérés avec cette technique. De ce fait, les rendements pour le pyrène et de dibenzo(a,h)anthracène sont différents selon qu'ils sont purifiés par C_{18} SPE ou dSPE.

Globalement, à l'exception de certains phtalates, les rendements sont satisfaisants pour chacune des purifications testées. Des variations autour de 100% sont observées, elles sont le résultat de la correction par l'utilisation des étalons internes (EI) qui peut varier selon les composés. En effet, étant donné les différences physico-chimiques qui peuvent exister entre les composés d'une même famille, le comportement de l'EI ne sera donc pas complètement représentatif de chaque composé parent qu'il corrige.

Une pollution en phtalates est également observée. Le DBP ainsi que le DEHP ont des rendements supérieurs à 500%. Ce type de contamination est couramment observé dans les laboratoires. Les phtalates sont omniprésents dans les laboratoires (généralement utilisés pour la formulation de matériaux plastiques) et l'unique moyen d'empêcher une pollution est de travailler en salle blanche avec du matériel calciné. La verrerie utilisée a été calcinée avant utilisation pour retirer tous les composés organiques pouvant polluer les échantillons, mais faute de disponibilité, aucune salle spécifique n'a pu être utilisée. De plus, le système PLE pourrait contribuer à être également une source de contamination. Pour les trois autres composés de cette famille (DMP, DPP et DDcP), les rendements sont voisins de 100%.

En conclusion, les meilleurs résultats sont observés par purification sur alumine basique. Logiquement, l'adsorbant C₁₈ peut retenir partiellement les composés apolaires et donc les substances cibles de cette étude, même lorsque le solvant utilisé est apolaire. Dans ce cas, le mélange de solvant Acétone/n-hexane (Acet/nC₆) a suffisamment d'affinité avec les composés pour éviter les pertes lors de la purification par un adsorbant apolaire. L'ALB et le kit QuEChERS (C₁₈+PSA) permettent d'obtenir de bons rendements, bien que le kit QuEChERS contienne partiellement du C₁₈.

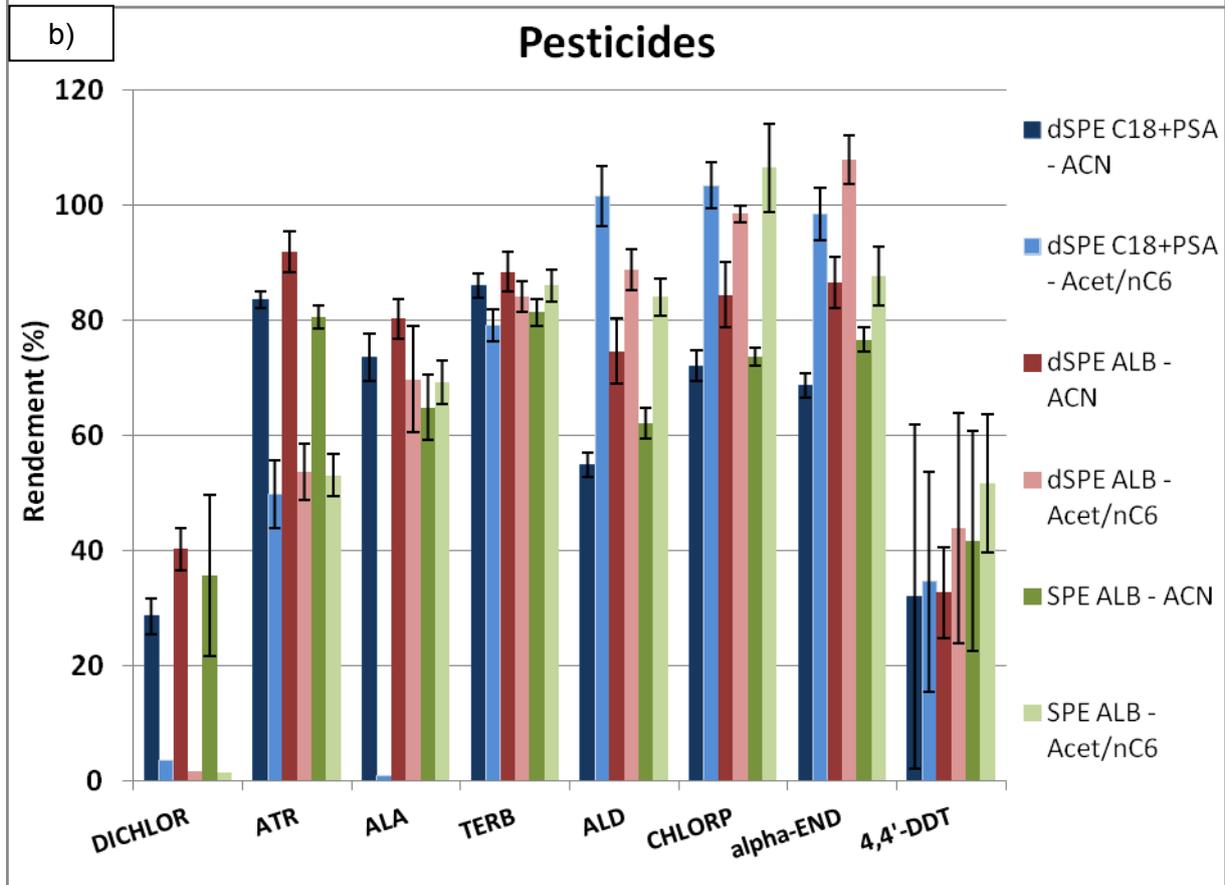
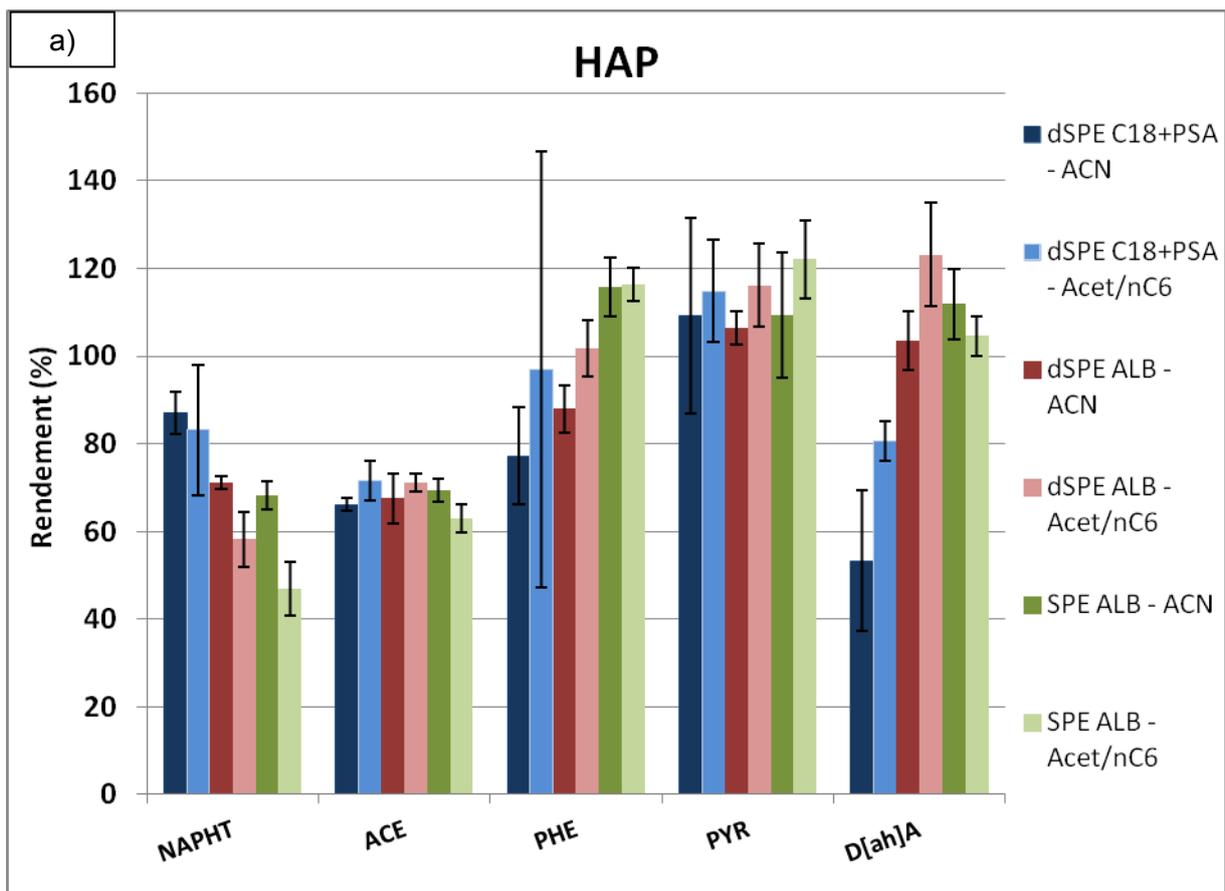
ETUDE DE LA PURIFICATION APRES L'EXTRACTION PAR DIFFERENTS TYPES DE QUECHERS

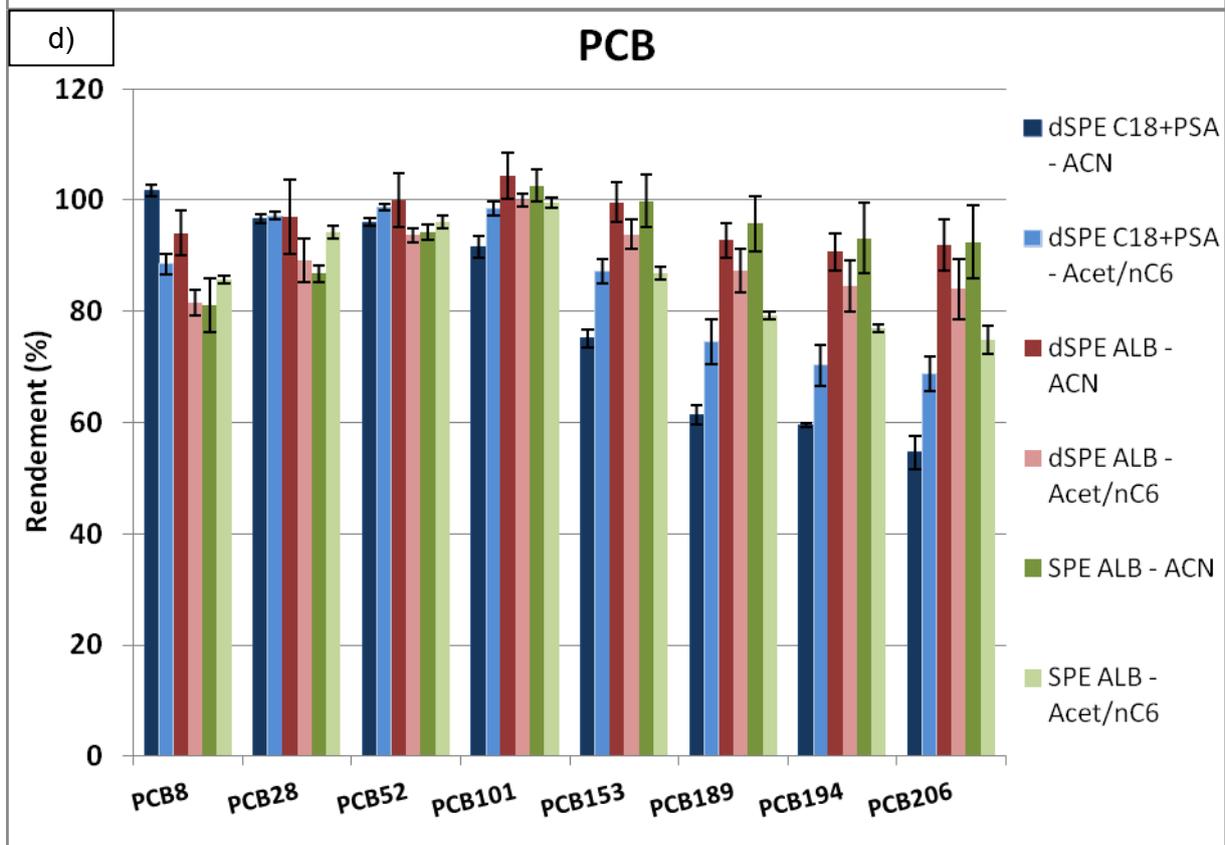
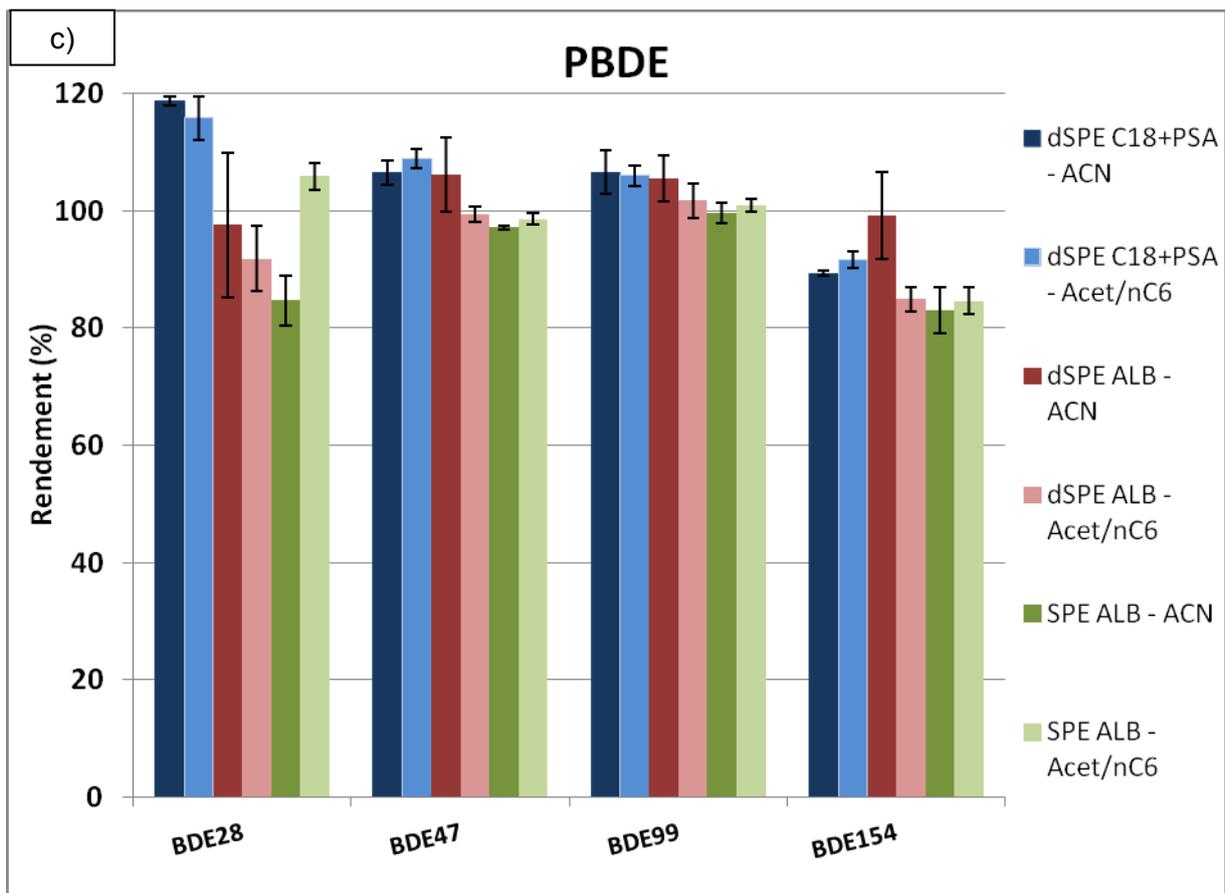
Ces essais ont été réalisés avec le solvant sélectionné durant l'étape d'optimisation de l'extraction, ACN et le mélange Acet/nC₆ 1/1 (v/v) pour obtenir un point de comparaison avec les expériences effectuées par PLE. Ainsi, les protocoles incluant l'extraction avec ces solvants suivis de purification par :

- Extraction dispersive avec kit QuEChERS (C18 + PSA +MgSO₄)
- Extraction dispersive avec de l'alumine basique
- Extraction sur phase solide avec de l'alumine basique

ont été testés et comparés.

Les rendements obtenus à l'issue de ces expériences sont détaillés en Figure 5 ci-dessous :





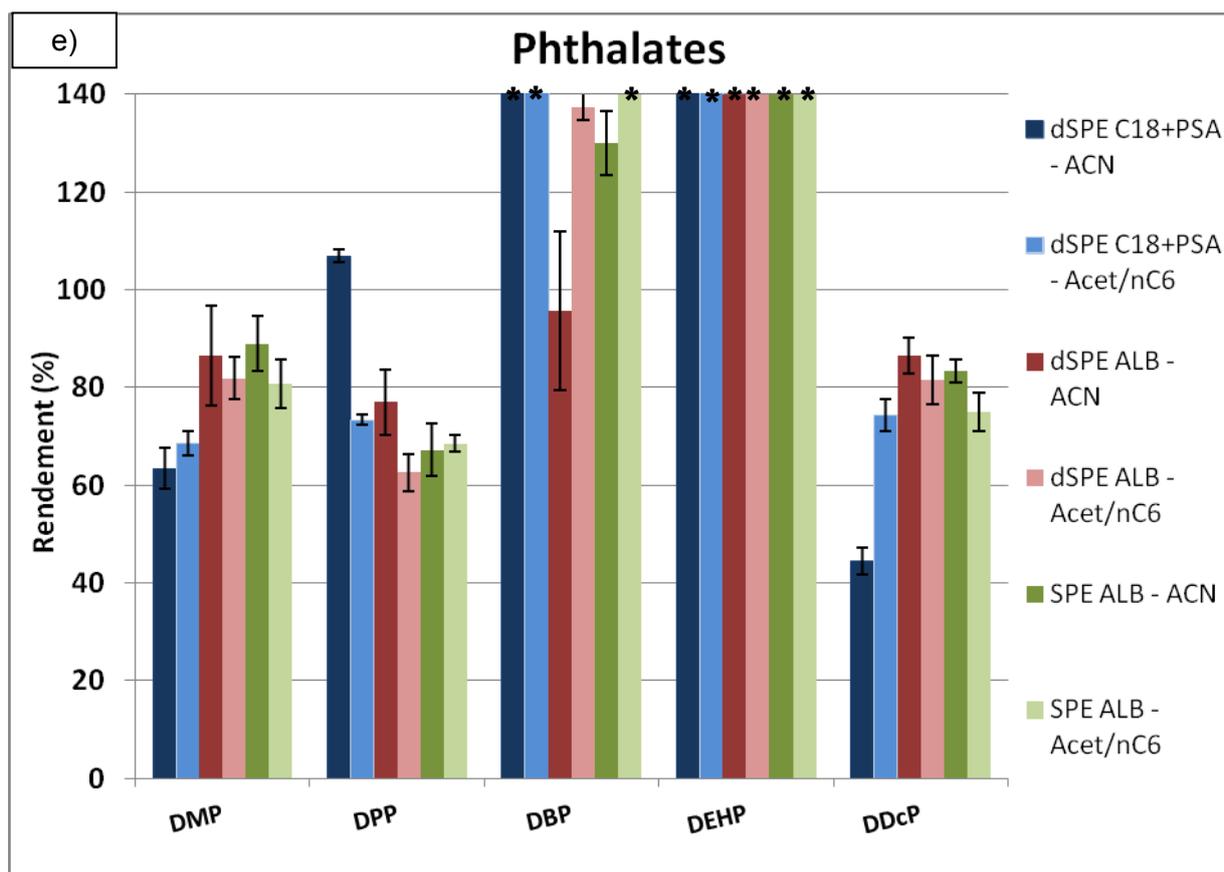


Figure 5. Rendements ($n=3$) d'extraction obtenus sur sédiment dopé par extraction solide-liquide (méthode d'approche QuEChERS) par l'ACN ou l'Acet/nC₆ 1/1 (v/v), suivi de différentes purifications (a) HAP, b) pesticides, c) PBDE, d) PCB, e) phtalates)(* : rendement > 140%).

Les recouvrements des étalons internes sont détaillés en Annexe 6. Des résultats semblables à ceux obtenus pour l'extraction/purification par PLE sont observés. Pour le phénanthrène-d₁₀, le PCB 152-¹³C₁₂, la terbutryne-d₅ et le DEHP-d₄, des recouvrements autour de 100% sont constatés pour toutes les conditions testées sans différences significatives. Pour le BDE99-¹³C₁₂, une variation plus grande des résultats est obtenue avec des recouvrements allant de 66 à 105%.

Les résultats observés pour la purification par le kit QuEChERS dans l'ACN sont inférieurs à ceux obtenus avec l'Acet/nC₆. Cela confirme la difficulté de pouvoir analyser simultanément des composés avec des propriétés physico-chimiques variées et ainsi la nécessité de choisir avec précaution la combinaison solvant d'extraction/phase d'adsorption qui correspond le mieux à l'objectif souhaité. Dans ce cas, bien que le kit de purification QuEChERS contienne une partie d'adsorbant non polaire (C₁₈), le fait que le solvant contienne du n-hexane semble permettre d'éviter la perte des composés d'intérêt lors de la purification. Cela implique donc qu'il est probable qu'avec ce solvant, l'adsorbant ne soit pas assez efficace pour retenir les composés, donc également des potentiels interférents. De plus, un mélange de solvant polaire/apolaire est susceptible d'extraire plus de composés polaires en plus des composés apolaires. Cela augmente les risques d'interférences spectrométriques et peut produire une accélération de l'encrassement du système analytique.

Avec les phases ALB (SPE et dSPE), globalement, de meilleurs résultats ont été observés lorsque le solvant d'extraction utilisé est l'ACN. En effet, l'adsorbant polaire qu'est l'ALB retient les impuretés polaires tandis que les composés apolaires restent dans la phase organique. Entre la SPE et la dSPE, les rendements extraction+purification sont en moyenne semblables, mais techniquement, la SPE comporte plus d'inconvénients que la procédure dSPE. Les cartouches SPE doivent être conditionnées avant passage de l'extrait puis du solvant (non utilisé/contaminé) doit encore être ajouté après passage de l'extrait pour récupérer les éventuels composés d'intérêts faiblement retenus sur la phase. Au contraire, la dSPE consiste simplement en l'ajout de la phase dispersée dans l'extrait, à son agitation au vortex puis à une centrifugation et au prélèvement du surnageant pour analyse (ou concentration préalable avant analyse). Une perte en volume d'extrait est inévitable puisque le volume introduit ne peut pas être à 100% récupéré, mais les EI permettent de compenser ces pertes dues au protocole de préparation. Afin de pouvoir quantifier par QuEChERS, l'utilisation d'EI est donc indispensable.

EVALUATION DE L'EFFET DE LA PURIFICATION SUR LES EFFETS MATRICIELS

Les résultats observés indiquent qu'il n'y a pratiquement aucune perte liée à la purification. Cependant, la question qui pouvait être posée était de savoir si la purification avait un impact et si de potentiels interférents étaient réellement extraits de l'échantillon avant l'analyse. Afin de vérifier cela, il était nécessaire d'analyser des échantillons et d'observer les spectres de tous les composés organiques qui passaient dans le système chromatographique.

Lors de la quantification des composés, le spectromètre de masse est réglé de façon à sélectionner des ions spécifiques correspondant aux analytes à doser. Afin d'obtenir une vue générale de tous les composés extraits de la matrice, l'analyseur a été réglé en mode fullscan, ce qui implique que le triple quadropôle ne filtre pas les ions arrivant au détecteur pour pouvoir détecter une large gamme de masses (de 50 à 1000 u.m.a.).

De cette façon, plusieurs expériences ont été réalisées. Les analyses fullscan du solvant, de la matrice dopée sans purification, la matrice dopée mais purifiée avec le kit QuEChERS (C₁₈+PSA) ainsi que l'ALB SPE et dSPE ont été effectuées. Les chromatogrammes ont également été comparés aux extractions par PLE (ASE). Des exemples sont présentés en Figure 6 et Figure 7 ci-dessous :

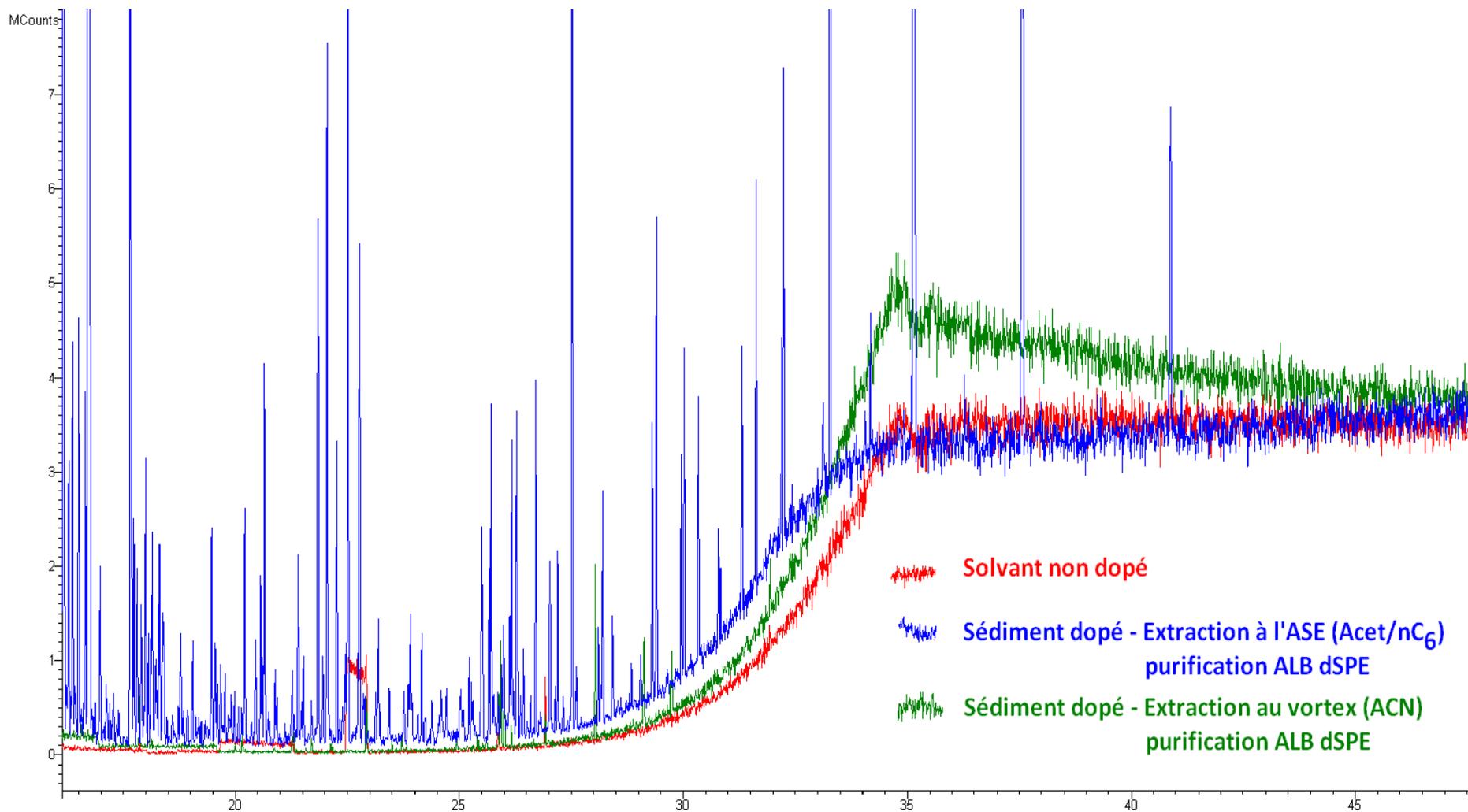


Figure 6. Chromatogrammes superposés en fullscan d'un même échantillon de sédiment dopé extraits à l'ASE ou selon la méthode d'approche QuEChERS, purifiés à l'alumine basique dispersée.

Le chromatogramme rouge représente le bruit de fond observé quand du solvant est injecté dans le GC/MS/MS. Il est donc utilisé comme référence. L'augmentation du signal observée à partir de 30 minutes est due au bleeding de la colonne à cause de la rampe de température qui est appliquée.

La Fig.6 démontre qu'une quantité supérieure de composés non ciblés passent dans le système lors d'une extraction forte à l'ASE par rapport à l'extraction douce à l'ACN, même si ces deux échantillons avaient été purifiés par de l'ALB dispersée. Le signal pour l'ASE est largement supérieur comparé à l'extraction douce dès le début de la détection spectrométrique jusqu'à 35 minutes. Cela prouve que l'extraction PLE (à l'ASE) est bien plus puissante qu'une extraction douce car elle extrait ainsi beaucoup plus de composés matriciels. Les signaux sont proches du signal de référence (du solvant) à la fin de l'analyse, ce qui démontre qu'il n'y a probablement plus de composés matriciels dans le système (du moins parmi ceux qui peuvent être élués). Cependant, tous les composés qui avaient été extraits (et détectés durant l'analyse) peuvent interférer avec les analytes et également accélérer l'encrassement du système chromatographique.

La Figure 7 ci-dessous représente la comparaison entre les différentes phases de purification (kit QuEChERS (C₁₈+PSA), dSPE ALB et SPE ALB) testées lors de l'extraction par vortex à l'ACN.

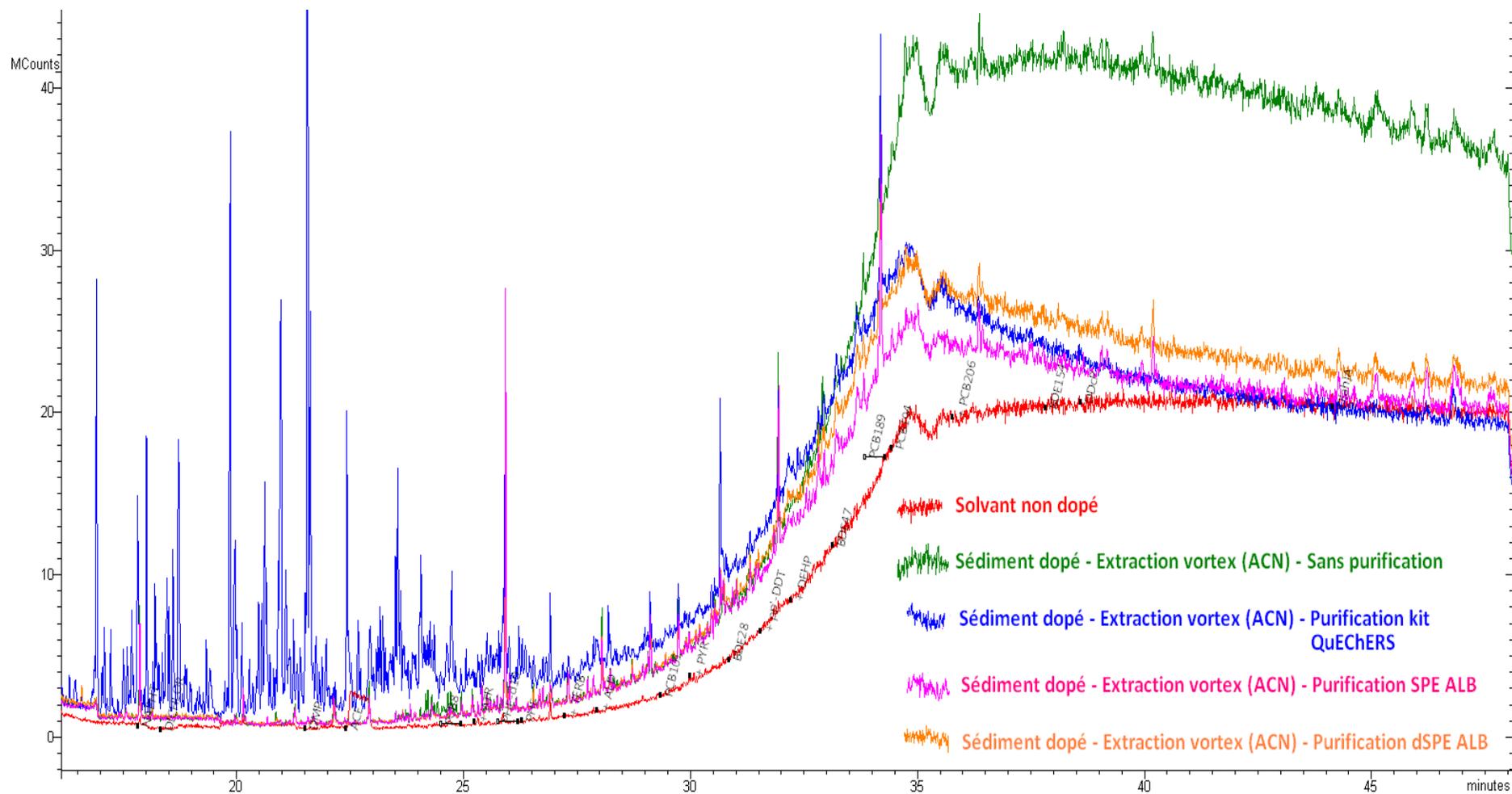


Figure 7. Chromatogrammes superposés en fullscan d'échantillons de sédiment dopé extraits selon la méthode d'approche QuEChERS, non purifié ou purifié avec différents adsorbants par SPE et/ou dSPE.

Le chromatogramme vert correspond à la matrice dopée mais non purifiée. Au début de la détection spectrométrique, la ligne de base est proche de celle du solvant seul, ce qui indique que peu de composés matriciels passent dans le système chromatographique, mais après 30 minutes, le signal augmente fortement. Ainsi, beaucoup plus de composés matriciels sont injectés dans le système que lorsqu'il y a une purification. De plus, à la fin de l'analyse, le signal n'a pas rejoint la valeur de référence du solvant seul. Cela indique que le système est pollué par des composés qui ne sortent pas de la colonne après 48 minutes et une rampe de température atteignant 320°C. Ces composés vont rester dans le système et provoquer des interférences ou une saturation de la colonne lors d'analyses ultérieures. Même avec une méthode d'extraction douce, il semble indispensable de procéder à une purification.

Le chromatogramme bleu correspond au kit de purification QuEChERS pour lequel le signal en fin d'analyse est aussi bas que celui du solvant seul, mais durant l'analyse, à la manière des extractions à l'ASE, le signal est important, ce qui encrasse l'appareil inutilement. Cela démontre dans ce cas également que la combinaison de C₁₈+PSA dispersés ne semble pas une solution de purification adaptée pour cette application.

Les chromatogrammes violet et orange sont semblables et démontrent que la purification ALB est efficace dans ce solvant. En effet, durant l'analyse, leurs signaux augmentent au dessus de celui du solvant seul, mais de manière relativement faible. La purification SPE semble meilleure que la dSPE, ce qui est logique puisque la cartouche SPE peut être nettoyée avant passage de l'extrait tandis que l'ALB dSPE ne le peut pas ou difficilement ou devrait être filtré afin d'en chasser le solvant (ce qui rajouterait une étape supplémentaire). Avec une si faible différence de résultats entre la dSPE et la SPE face au gain de temps et de mise en œuvre, la dSPE semble être le meilleur compromis facilité d'utilisation/qualité de la purification.

En conclusion, la nécessité ainsi que l'efficacité de la purification par dSPE a été démontrée et est en phase avec les objectifs fixés, à savoir une méthode rapide, simple, peu coûteuse, efficace, robuste et sûre.

L'étape de vérification a ainsi été réalisée sur des matériaux de référence certifiés (MRC) avec une extraction à l'ACN (au vortex) suivi d'une purification dSPE ALB.

3.3.2 VERIFICATION DE LA METHODE QUECHERS PAR ANALYSE DE MATERIAUX DE REFERENCE CERTIFIES

La vérification de la méthode précédemment optimisée a été réalisée sur 3 matériaux de références différents (les matériaux testés et les concentrations par composés sont présentés en Annexe 2). Les phtalates n'ont pas été inclus en raison du manque de sédiment de référence pour ces composés et des contaminations observées lors du développement.

Les expériences ont été réalisées en triplicat. Les rendements observés sont présentés dans la Figure 8 ci-dessous :

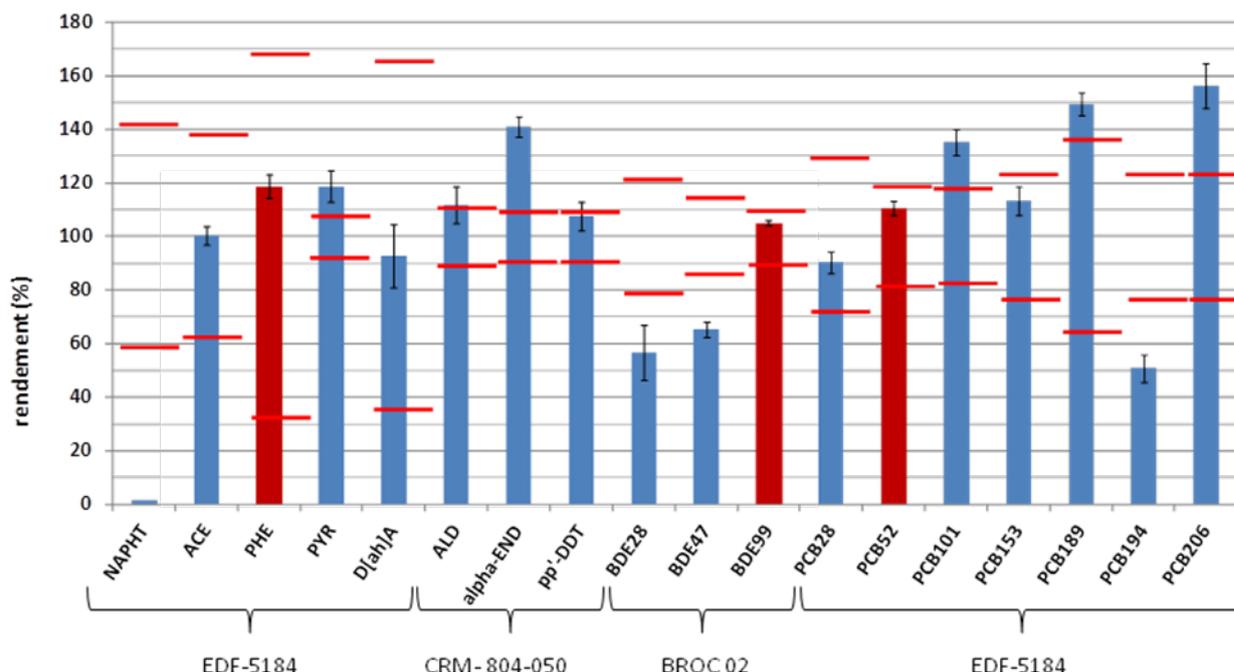


Figure 8. Rendements moyens ($n = 3$) obtenus pour la méthode QuEChERS pour l'analyse de MRC avec — (indications de l'intervalle de confiance des teneurs certifiées des MRC). Les colonnes en rouges représentent les composés pour lesquels un étalon interne spécifique a été utilisé. Les CRM utilisés pour chaque composé sont indiqués au bas de la figure.

Le taux de recouvrement des étalons internes s'établit autour de 100% pour les 4 substances utilisées (Annexe 7).

Pour cette expérience, pour trois des cinq HAP, le rendement se situe dans la fenêtre du certificat (en comptant valeur moyenne et incertitude). Le naphthalène pour lequel le rendement observé était proche de 70% dans l'expérience précédente n'est maintenant plus mesuré. Cette différence pourrait être expliquée par la grande volatilité de ce composé. Etant donné que ces échantillons MRC ont suivi le même protocole de préparation que les sédiments dopés, la perte du naphthalène ne peut pas provenir de sa volatilité durant la procédure de préparation. Ce composé a peut-être été perdu durant le temps de stockage du MRC. Globalement, la méthode est efficace pour l'extraction des HAP dans les sédiments. Les rendements supérieurs à 100% sont également expliqués par le biais induit par l'utilisation d'un seul étalon interne pour la correction du rendement.

Dans le cas des trois pesticides testés, les rendements obtenus sont satisfaisants, à l'exception de l' α -endosulfan dont la correction par la terbutryne- d_5 induit un surdosage. En effet, les pesticides ont des structures différentes ce qui implique que l'étalon interne pourra posséder un comportement très différent de certains composés dont il fait la correction lors de l'analyse, ce qui peut entraîner des cas de surdosage (comme l' α -endosulfan) ou de sous dosage.

Dans le cas des PBDE, cette hypothèse est confirmée. Un rendement satisfaisant est obtenu pour le seul BDE99 car il a été corrigé par son propre isotope marqué BDE99- $^{13}C_{12}$. Dans le cas du BDE28, sa concentration est très proche de la limite de quantification estimée (0,5 ng/g) donc le coefficient de variation obtenu est assez élevé.

Le même effet est observé pour les PCB. Certains d'entre eux sont bien corrigés (PCB28, PCB52 et PCB153 sont dans la fenêtre de rendement certifiée) mais le reste des sept PCB testés ici ont des rendements qui ne se situent pas dans l'intervalle de confiance. Pour certains, un surdosage est observé (PCB101, PCB189 et PCB206) alors que pour le PCB194, c'est un sous dosage qui est constaté. Les PCB dosés ici contiennent de 3 à 9 atomes de chlores, ce qui implique des effets diverses quant au comportement lors de la préparation d'échantillon. Le PCB52-¹³C₁₂ possède 4 atomes de chlore, ce qui rend difficile une correction satisfaisante pour un composé tel que le PCB206 contenant 9 atomes de chlore par exemple.

4. CONCLUSION

Pour l'extraction par QuEChERS, sept solvants ou mélange de solvants ont été testés. Les étapes de purification ont également été étudiées avec la comparaison de 5 purifications par extraction sur phase solide en mode direct (SPE) et dispersé (dSPE). Au final, selon les objectifs de l'étude (obtenir un bon compromis pour avoir des rendements d'extraction satisfaisants avec une méthode rapide à mettre en œuvre et économique tout en limitant les interférences matricielles), l'extraction à l'ACN suivie d'une purification par ALB en dSPE a permis d'obtenir les meilleures performances dans cette étude.

Des tests de comparaison avec la PLE ont montré la différence significative en termes d'extraction de composés matriciels et l'effet des purifications par extraction sur phase solide dispersive.

Globalement, la méthode par QuEChERS est efficace pour l'extraction de ces quatre familles de composés, soit : HAP, pesticides, PBDE et les PCB. Les étapes d'optimisation ont prouvé que les phtalates peuvent être également récupérés. Cependant, même si la méthodologie QuEChERS permet de simplifier la préparation d'échantillon, des problèmes de contamination pour les phtalates sont encore présents ce qui limite leur inclusion dans des méthodes multirésidus.

Les étalons internes ont une importance capitale sur les résultats obtenus. Dans ces conditions de travail (1 EI par famille de composés), il est recommandé de voir cette procédure en tant que méthode de screening (analyse semi-quantitative). Ainsi, un nombre suffisamment représentatif d'étalons internes reflétant la diversité des molécules visées doit être utilisé afin de pouvoir garantir un résultat fiable lors de la quantification, comme cela avait été démontré lors d'une étude précédente [21]. Cette remarque s'applique cependant d'un point de vue général pour toutes les méthodes d'extraction, PLE compris. Ainsi, la méthode QuEChERS peut être considérée en termes de performances comme équivalente aux méthodes d'extraction actuellement utilisées.

En conclusion, la méthode de traitement par QuEChERS peut être utilisée, sous certaines conditions pour la quantification des contaminants. Cette méthode de préparation de type QuEChERS pourrait également être facilement utilisée dans le cadre de l'analyse préliminaire d'échantillons de sédiment, dans le but de connaître globalement le niveau de pollution pour chaque famille de composés.

5. REFERENCES

- [1] **M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, F. J. Schenck**, *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] **AFNOR**, *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] **P. A. Fair, J. Adams, G. Mitchum, T. C. Hulsey, J. S. Reif, M. Houde, D. Muir, E. Wirth, D. Wetzel, E. Zolman, W. McFee, G. D. Bossart**, *Contaminant blubber burdens in Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from two southeastern US estuarine areas: Concentrations and patterns of PCBs, pesticides, PBDEs, PFCs, and PAHs*, Science of the Total Environment 408 (2010) 1577–1597
- [4] **M. Pena-Abaurrea, J.J. Ramos, M.J. Gonzalez, L. Ramos**, *Miniaturized selective pressurized liquid extraction of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers from feedstuffs*, Journal of Chromatography A, 1273 (2013) 18– 25
- [5] **M. Sprovieri, M. L. Feo, L. Prevedello, D. Salvagio Manta, S. Sammartino, S. Tamburrino, E. Marsella**, *Heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in surface sediments of the Naples harbour (southern Italy)*, Chemosphere 67 (2007) 998–1009
- [6] **C. Erger, P. Balsaa, F. Werres, T. C. Schmidt**, *Multi-component trace analysis of organic xenobiotics in surface water containing suspended particular matter by solid phase extraction/gas chromatography–mass spectrometry*, Journal of Chromatography A, 1249 (2012) 181– 189
- [7] **P. J. Sather, M. G. Ikonou, K. Haya**, *Occurrence of persistent organic pollutants in sediments collected near fish farm sites*, Aquaculture 254 (2006) 234–247
- [8] **S. Frenna, A. Mazzola, S. Orecchio, N. Tuzzolino**, *Comparison of different methods for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from Sicilian (Italy) coastal area sediments*, Environ Monit Assess (2013) 185:5551–5562
- [9] **T. D. Bucheli, F. Blum, A. Desauls, Ö. Gustafsson**, *Polycyclic aromatic hydrocarbons, black carbon, and molecular markers in soils of Switzerland*, Chemosphere 56 (2004) 1061–1076
- [10] **A. Lazartigues, C. Fratta, R. Baudot, L. Wiest, C. Feidt, M. Thomas, C. Cren-Olivé**, *Multiresidue method for the determination of 13 pesticides in three environmental matrices: water, sediments and fish muscle*, Talanta 85 (2011) 1500–1507
- [11] **M. Asensio-Ramos, J. Hernández-Borges, L. M. Ravelo-Pérez, M. A. Rodríguez-Delgado**, *Evaluation of a modified QuEChERS method for the extraction of pesticides from agricultural, ornamental and forestal soils*, Anal Bioanal Chem (2010) 396:2307–2319
- [12] **S. H. G. Brondi, A. N. de Macedo, G. H. L. Vicente, A. R. A. Nogueira**, *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
- [13] **S.-S. Cai, J. Stevens, J. A. Syage**, *Ultra high performance liquid chromatography–atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry for high-sensitivity analysis of US Environmental Protection Agency sixteen priority pollutant polynuclear aromatic hydrocarbons in oysters*, Journal of Chromatography A, 1227 (2012) 138– 144.
- [14] **M. J. Ramalhosa, P. Paíga, S. Morais, C. Delerue-Matos, M. B. Prior Pinto**, *Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish: evaluation of a quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction method*, J. Sep. Sci. 2009, 32, 3529 – 3538.

- [15] **A. Sadowska-Rociek, M. Surma, E. Cieřlik**, *Application of QuEChERS Method for Simultaneous Determination of Pesticide Residues and PAHs in Fresh Herbs*, Bull Environ Contam Toxicol (2013) 90:508–513.
- [16] **A. Albinet, S. Tomaz, F. Lestremau**, *A really quick easy cheap effective rugged and safe (QuEChERS) extraction procedure for the analysis of particle-bound PAHs in ambient air and emission samples*, Science of the Total Environment 450–451 (2013) 31–38.
- [17] **X. Liu, A. Zhao, A. Zhang, H. Liu, W. Xiao, C. Wang, X. Wang**, *Dispersive liquid–liquid microextraction and gas chromatography–mass spectrometry determination of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in milk*, J. Sep. Sci. 2011, 34, 1084–1090.
- [18] **M. Roszko, A. Szterk, K. Szymczyk, B. Waszkiewicz-Robak**, *PAHs, PCBs, PBDEs and Pesticides in Cold-Pressed Vegetable Oils*, J Am Oil Chem Soc (2012) 89:389–400.
- [19] **Y. Sapozhnikova, S. J. Lehotay**, *Multiclass, Multiresidue analysis of pesticides, polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons, polybrominated diphenyl ethers and novel flame retardants in fish using fast, lowpressure gas chromatography–tandem mass spectrometry*, Analytica Chimica Acta 758 (2013) 80– 92.
- [20] **K. Kalachova, J. Pulkrabova, L. Drabova, T. Cajka, V. Kocourek, J. Hajslova**, *Simplified and rapid determination of polychlorinated biphenyls, polybrominated diphenyl ethers, and polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and shrimps integrated into a single method*, Analytica Chimica Acta 707 (2011) 84– 91.
- [21] **AQUAREF**, *Evaluation préliminaire II-B action 9, Application de la méthodologie QuEChERS sur l'extraction des pesticides et des polybromodiphényléthers (PBDE) dans les sédiments*, 2013. Disponible sur :
http://www.aquaref.fr/system/files/2012_IIB%289%29_Quechers_V3_0.pdf
- [22] **AQUAREF**, *Fiche MA5-MA6, Famille de PBDE – Méthode d'analyse dans les boues et sédiments*, 2009. Disponible sur :
http://www.aquaref.fr/system/files/Fiche%20MA5_6_-PBDE-S%C3%A9diments-boue_0.pdf
- [23] **AQUAREF**, *Fiche MA19, Analyse de pesticides dans les sédiments par chromatographie gazeuse et liquide couplées à la spectrométrie de masse en tandem*, 2012. Disponible sur :
http://www.aquaref.fr/system/files/MA%2019_pesticides_sediment_LC_GC_MS_2011.pdf
- [24] **N. Creusot**, manuscrit de thèse, *Contribution de l'approche effect directed analysis à l'identification de perturbateurs endocriniens dans les milieux aquatiques*, Université de Bordeaux I, 2011
- [25] **AFNOR**, *Norme NF EN ISO 22032, Qualité de l'eau - Dosage d'une sélection d'éthers diphényliques polybromés dans des sédiments et des boues d'épuration – Méthode par extraction et chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse*, 2009.

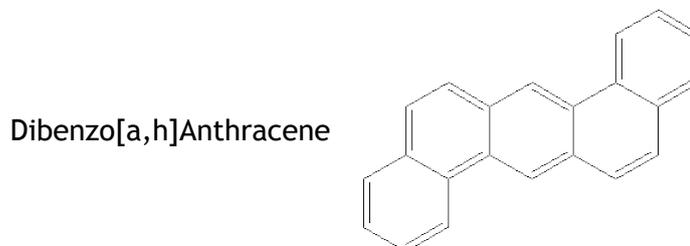
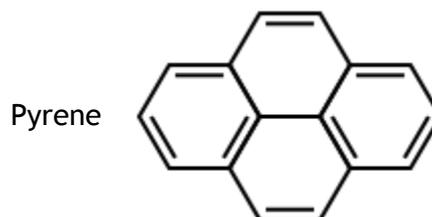
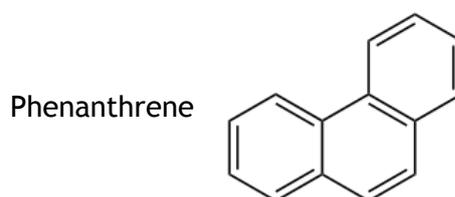
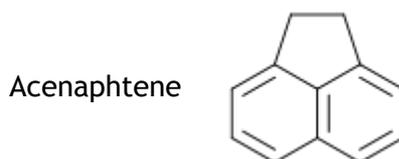
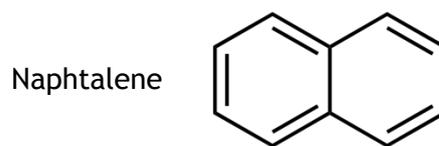
6. LISTE DES ANNEXES

Repère	Désignation	Nombre de pages
Annexe 1	Structure et origine des cinq familles étudiées	7
Annexe 2	Conditions expérimentales : préparation et analyse des échantillons	5
Annexe 3	Chromatogramme type de l'analyse multirésidus (100 ng mL ⁻¹ par composé, 200 ng mL ⁻¹ pour certains PCB et 50 ng mL ⁻¹ pour les étalons internes)	1
Annexe 4	Recouvrement des étalons internes pour les essais extractions par QuEChERS	1
Annexe 5	Recouvrement des étalons internes pour les essais purification par PLE	1
Annexe 6	Recouvrement des étalons internes pour les essais purification par QuEChERS	1
Annexe 7	Recouvrement des étalons internes pour les essais avec CRM	1

ANNEXE 1

Structure et origine des cinq familles étudiées

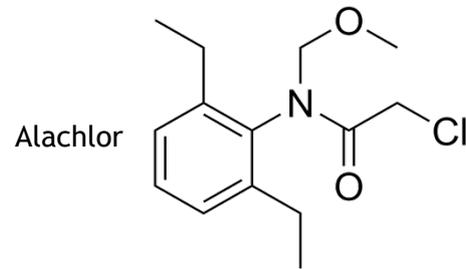
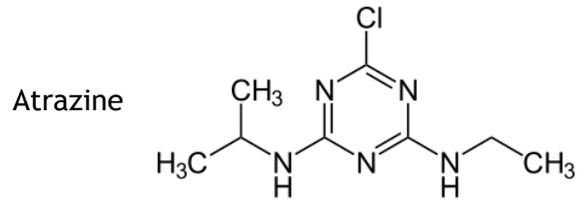
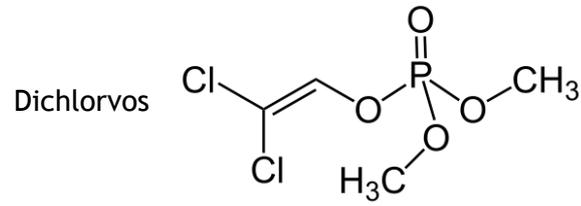
Structure des HAP



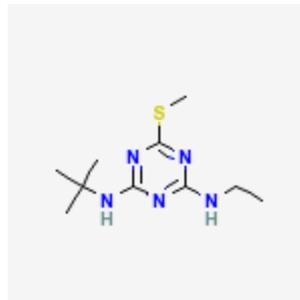
Les HAP peuvent être naturellement produits dans l'environnement dans les feux de forêt notamment. Cependant, dans un monde industrialisé, ils sont omniprésents dans l'environnement car ils sont les produits de la combustion du pétrole, du charbon et du gaz naturel. Cette importante activité industrielle rend la "source naturelle" de HAP dans l'environnement insignifiante.

Ils sont largement retrouvés dans l'air et les milieux hydrophobes, comme par exemple les sédiments.

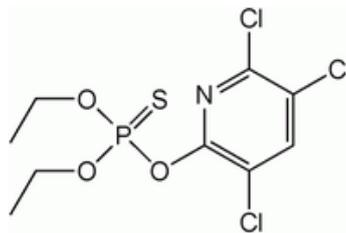
Structure des pesticides



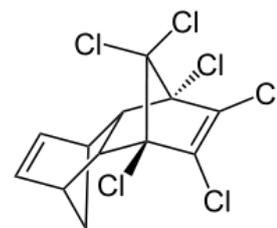
Terbutryne

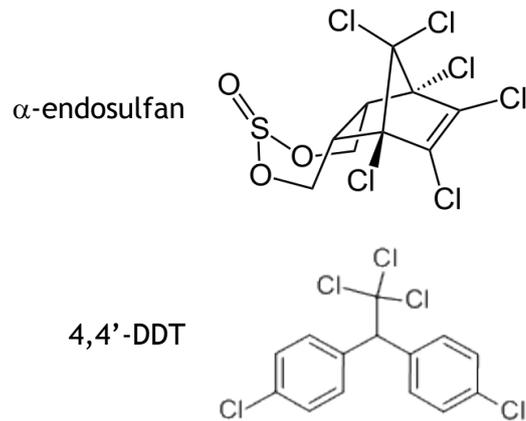


Chlorpyrifos-ethyl



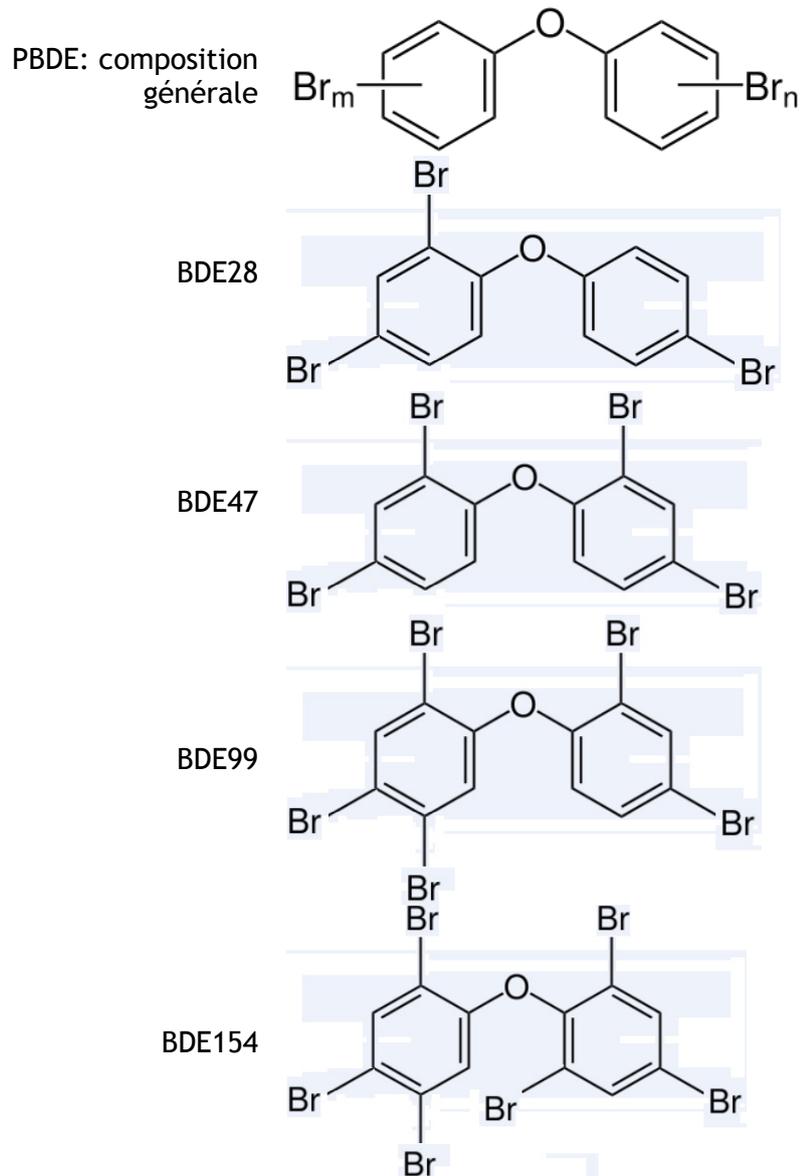
Aldrine





Les pesticides sont présents dans les milieux aquatiques étant donné l'importance de leur utilisation pour l'agriculture intensive (96% utilisés à ce but puis 2% pour les services publics et 2% pour les applications domestiques). Comme l'agriculture est grande consommatrice d'eau, l'irrigation des champs envoie les pesticides dans les sols, les nappes phréatiques ou les rivières à proximité. Conséquence de leurs caractéristiques physico-chimiques, ils vont être transférés dans d'autres matrices. Dans le cas des pesticides étudiés ici, leur propriété hydrophobe en fait des composés facilement transférés dans les sédiments.

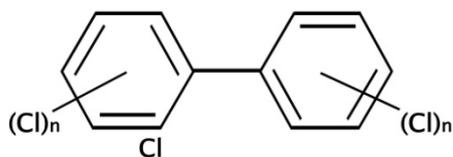
Structure des PBDE



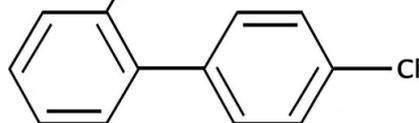
Les PBDE sont généralement utilisés en tant qu'ignifugeant dans les textiles et l'industrie du plastique. Cela signifie que de grandes quantités de ces composés ont été utilisées depuis le début de l'industrie de masse. Leur présence est importante dans l'air mais leur propriété lipophile permet également un transfert dans les matrices sédiment.

Structure des PCB

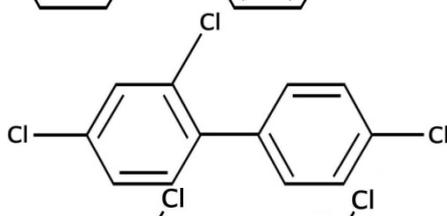
PCB: composition générale



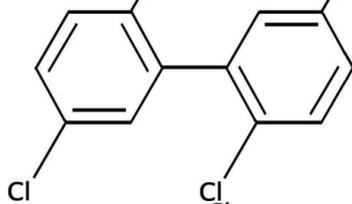
PCB8



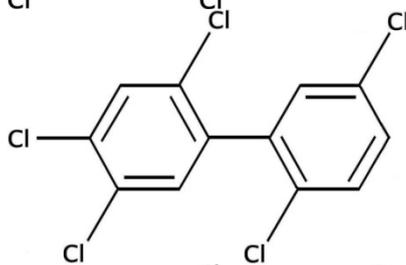
PCB28



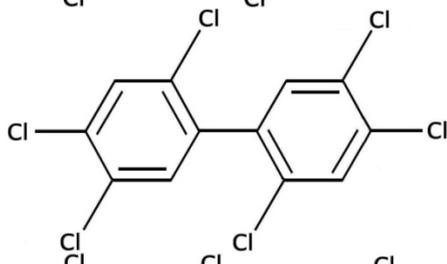
PCB52



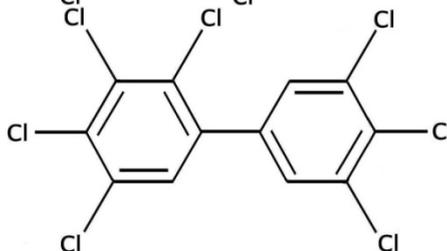
PCB101

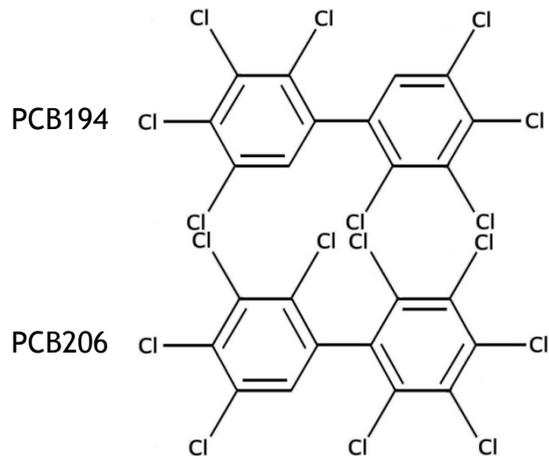


PCB153



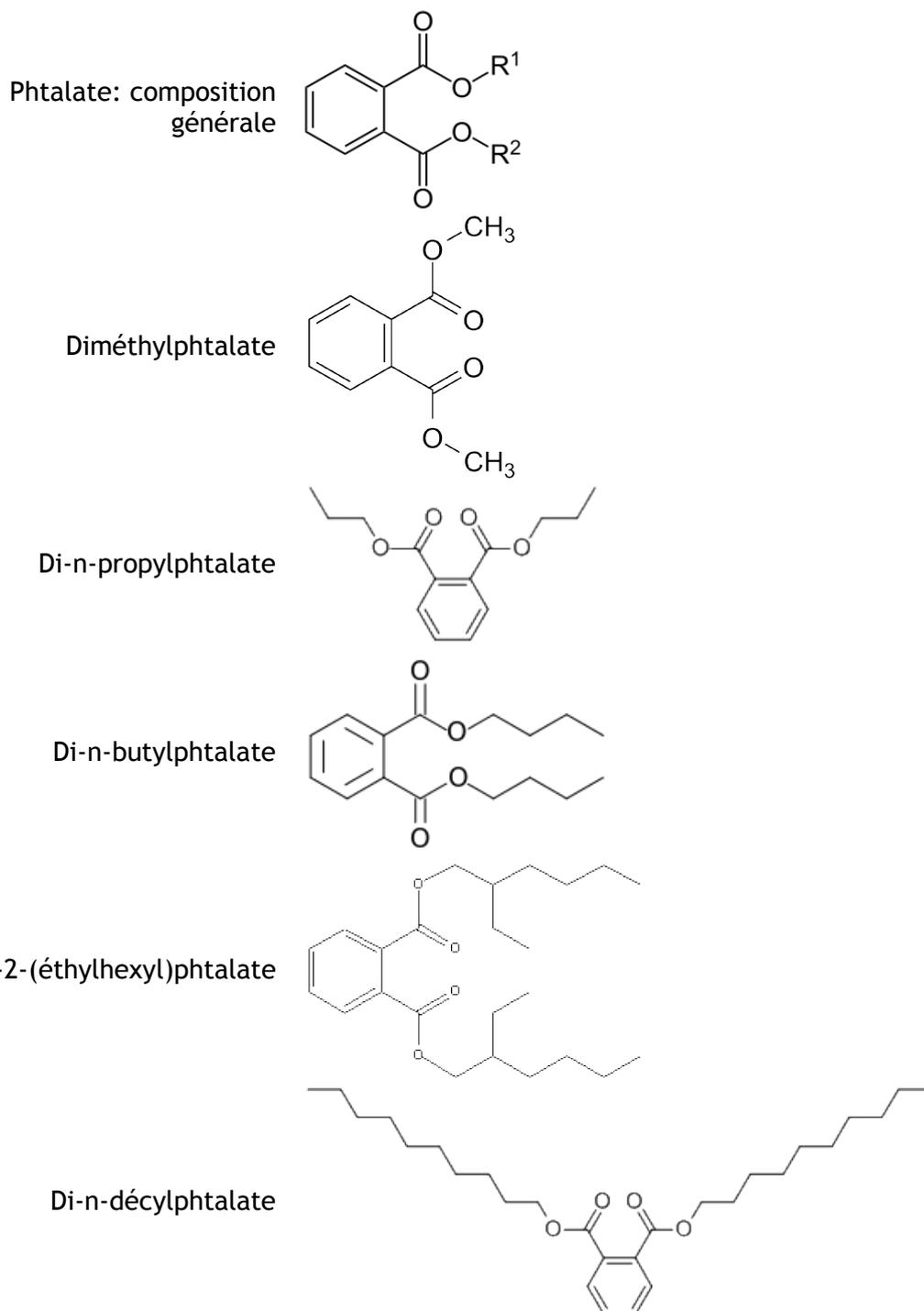
PCB189





Les PCB ont été introduits par l'Homme dans divers domaines pour leurs propriétés thermique et de conduction électrique. En effet, ils ont été utilisés comme fluides caloporteurs ou comme isolant électrique dans les matériaux, le plastique, l'asphalte, les encres et les peintures. Ils transfèrent facilement dans les milieux hydrophobes.

Structure des phtalates



Les phtalates sont largement utilisés dans la formulation des plastiques. Ils leur confèrent une plus grande flexibilité, une plus grande résistance à la température et aux impacts. Leur utilisation est à 90% réservée pour les polychlorures de vinyle (PVC) et les 10% restant sont utilisés pour les propriétés assouplissantes d'autres matériaux comme les vernis et en cosmétique.

ANNEXE 2

Conditions expérimentales : préparation et analyse des échantillons

Réactifs et standards

L'acétonitrile Hipersolv (>99.9%) et le dichloromethane (DCM) Pestinorm (>99.9%) ont été obtenus chez VWR (Leuven, BELGIQUE), le n-hexane (nC₆) Suprasolv (>99.9%) et l'acétone (Acet) (>99.9%) ont été achetés chez Merck (Darmstadt, ALLEMAGNE), l'éthyl acétate (AcOEt) Pestanal (>99.9%) chez Liedel de haën (Seelze, ALLEMAGNE) et le cyclohexane (CyC₆) Pestanal (>99.9%) a été obtenu chez Fluka (Steinham, ALLEMAGNE). L'eau ultrapure a été obtenue par un système ELIX 5 de chez Millipore (Molsheim, FRANCE).

Les solutions standards de phénanthrène-d10 à 200 ng μL^{-1} et de DeHP-d4 à 100 ng μL^{-1} ont été achetées chez Accustandard (New haven, CT, Etats-Unis), celle de BDE99-¹³C₁₂ à 50 ng μL^{-1} et de PCB52-¹³C₁₂ à 50 ng μL^{-1} chez BCP instruments (Irigny, FRANCE) et la terbutryne-d5 à 100 g μL^{-1} a été achetée chez Dr Erhenstorfer GmbH (Ausburg, ALLEMAGNE).

La solution standard contenant tous les HAP à 2000 ng μL^{-1} a été obtenue chez Supelco (Bellefonte, PA, Etats-Unis), les PBDE à 2,5 ng μL^{-1} ainsi que les PCB (deux solutions différentes ont été requises afin d'obtenir tous les PCB de l'étude) à chacune 10 ng μL^{-1} ont été achetées chez Accustandard (New haven, CT, Etats-Unis). La solution contenant les phtalates à 1000 ng μL^{-1} a été obtenue chez Restek (Lisses, FRANCE) et chacun des pesticides ont été achetés en phase solide chez Fluka (Steinham, ALLEMAGNE) et une solution à environ 5 ng μL^{-1} a été préparée dans l'acétone.

L'alumine basique (ALB) en phase dispersée a été achetée chez Merck (Darmstadt, ALLEMAGNE), le C₁₈ en phase dispersé chez S.T.Baker B.V (Deventer, PAYS-BAS), les cartouches SPE contenant de l'ALB chez Interchim (Montluçon, FRANCE) et celles contenant du C₁₈ chez Macheray-nagel (Düren, ALLEMAGNE) et enfin, les cartouches QuEChERS contenant du sulfate de magnésium (MgSO₄) + PSA + C₁₈ ont été obtenues chez Restek (Lisses, FRANCE). L'acétate d'éthyle (AcOEt) a été achetée chez Sigma-Aldrich (Steinham, ALLEMAGNE) et l'acétate de sodium (Na₂SO₄) chez VWR (Leuven, BELGIQUE).

Echantillons

L'étape d'optimisation de la méthode a été réalisée avec un échantillon moyen représenté par la combinaison de douze sédiments types issus de l'étude prospective ONEMA 2012. Pour chaque sédiment, les cailloux et graviers présents 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 chacune. 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.

La teneur en carbone organique total (COT) du mélange 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 1,85 % a été déterminée par analyse de 10 répliqués (carbone total : $3,37 \pm 0,03$ % et carbone inorganique : $1,52 \pm 0,01$ %).

La vérification de la méthode développée a été réalisée par l'analyse de trois matériaux de référence certifiés (MRC). Le sédiment EDF-5184 contient 5 HAP et 7 PCB. Le sédiment BROC.02 contient 3 PBDE et le sédiment CRM 804-050 contient 3 pesticides. Il n'existe pas de sédiment contenant des phtalates avec une valeur de concentration certifiée. Les valeurs des matériaux utilisés sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Concentration \pm incertitude (ng g⁻¹) en analytes dans trois sédiments de référence certifiés

	Concentration \pm incertitude (ng g ⁻¹)		
	EDF-5184 Heavily contaminated sediment	BROC.02 sédiment de rivière	CRM 804-050 Sandy loam
NAPTH	82,9 \pm 33,8		
ACE	39,3 \pm 14,8		
PHE	622 \pm 424		
PYR	5710 \pm 445		
D[ah]A	243 \pm 159		
ALD			18 \pm 1,86
α -END			491 \pm 44,6
4,4'-DDT			1060 \pm 93
BDE28		0,63 \pm 0,13	
BDE47		10 \pm 1,4	
BDE99		14 \pm 1,4	
PCB28	54,2 \pm 15,5		
PCB52	1340 \pm 260		
PCB101	3140 \pm 552		
PCB153	3880 \pm 902		
PCB189	50,2 \pm 18,2		
PCB194	622 \pm 146		
PCB206	152 \pm 35,4		

Extraction

Méthode interne de référence par PLE :

Cette méthode est réalisée par un ASE-200 (Dionex) couplé à un contrôleur de solvant. Des prises d'essai de 1 gramme ont été réalisées pour toutes les expériences. Avant extraction, chaque échantillon a été dopé à une valeur de 50 ng pour chaque composé. La solution contenant les étalons internes (composés deutérés ²D et au carbone ¹³C) est également ajoutée avant de procéder à la phase d'extraction. Les cellules d'extraction utilisées ont un volume de 11 mL et le volume mort restant après ajout des échantillons est complété par du sable de fontainebleau (préalablement conditionné dans le même solvant d'extraction et dans les mêmes conditions opératoires). Le protocole d'extraction réalisé par l'appareil est le suivant :

Conditions opératoires d'extraction à l'ASE-200

Paramètre	Condition
Solvant	n-hexane/acétone 1 :1 (v :v)
Pression	103,4 bar
Température	150° C
Extraction statique	7 min
Volume de rinçage	60 %
Nombre de cycles	3

Analyse par GC/MS/MS

Les échantillons préalablement préparés et purifiés sont évaporés à la dernière goutte et repris à 1 mL dans un mélange Acétonitrile/Acétone 1/1 (v/v). La gamme d'étalonnage est réalisée dans le même mélange de solvants.

Séparation chromatographique

La séparation des cinq familles de composés a été réalisée par un chromatographe en phase gazeuse 450-GC (Varian) équipé d'un injecteur split/splitless avec insert désactivé sky (Restek) et d'un passeur d'échantillon combipal (Agilent). La colonne utilisée permettant la séparation des composés est une Rxi-XLB (longueur : 60 m, diamètre interne : 0,25 mm, épaisseur de phase : 0,25 µm) (Restek) de phase stationnaire apolaire. Tous les paramètres sont repris dans les tableaux suivant :

Conditions opératoires de l'injecteur split/splitless

Température (°C)	Rampe (°C/min)	Palier (min)
50	-	5
320	10	16

Conditions opératoires du four Varian 450-GC

Mode d'injection	Température (°C)	Ratio de fuite
Splitless	250	1:30
Gaz vecteur	Débit (mL/min)	
Hélium	1,2	

Détection

La détection multirésidus a été opérée par un spectromètre de masse 320-MS (Agilent) en mode de ionisation positif par impact électronique (IE). Le courant d'ionisation est fixé à 50 µA et l'énergie des électrons à 70 eV. La source est maintenue à une température de 250 °C, la ligne de transfert à 320 °C et les quadrapôles à 40 °C.

L'acquisition a été réalisée en mode multirésidus monitoring (MRM) avec les paramètres suivants :

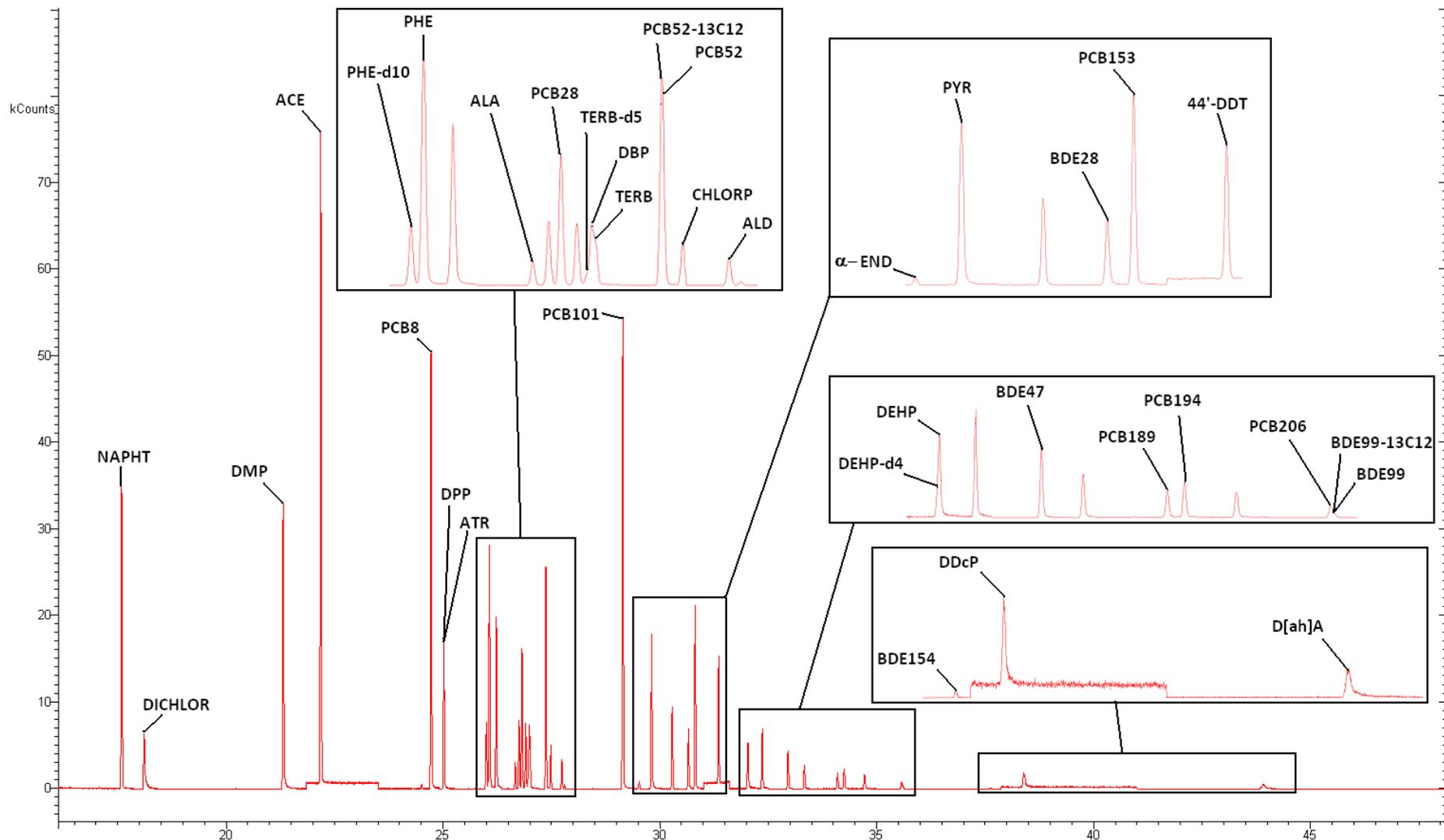
ACRONYME	NOM	Tr	Ion de quantification				ion de qualification			
			Q1 Ion Parent (m/z)	>	Q3 Ion fils (m/z)	Energie Collision (V)	Q1 Ion Parent (m/z)	>	Q3 Ion fils (m/z)	Energie Collision (V)
NAPHT	Naphtalène	17,87	128	>	102	20	128	>	127	16
DICHLOR	Dichlorvos	18,37	109	>	79	10	185	>	93	12,5
DMP	Diméthyl phtalate	21,57	163	>	77	22	163	>	133	12
ACE	Acenaphtène	22,47	153	>	152	20	154	>	153	18
PCB 8	2,4-dichlorobiphényle	25,02	222	>	152	22	152	>	126	26
ATR	Atrazine	25,29	200	>	122	10	173	>	138	7,5
DPP	Di-n-propyl phtalate	25,31	149	>	65	24	149	>	121	16
PHE-d10	Phénanthrène d10	26,29	188	>	160	24				
PHE	Phénanthrène	26,36	178	>	152	22	178	>	176	28
ALA	Alachlore	26,97	185	>	170	10	241	>	185	7,5
PCB28	2,4,4'-trichlorobiphényle	27,12	256	>	186	24	186	>	151	20
TERB-d5	Terbutryne-d5	27,26	190	>	175	7,5				
DBP	Di-n-butyl phtalate	27,29	149	>	65	24	149	>	121	16
TERB	Terbutryne	27,31	185	>	170	10	241	>	185	7,5
PCB52-13C12	2,2',5,5'-tetrachlorobiphényle 13C12	27,67	302	>	232	26				
PCB52	2,2',5,5'-tetrachlorobiphényle	27,68	290	>	220	26	292	>	222	24
CHLORP	Chlorpyrifos-Ethyl	27,79	314	>	258	12,5	199	>	171	15
ALD	Aldrine	28,05	263	>	193	30	293	>	186	32,5
PCB101	2,2',4,5,5'-pentachlorobiphényle	29,46	324	>	254	24	326	>	256	24
ENDα	Endosulfan α	29,66	195	>	159	10	159	>	123	15

PYR	Pyrène	29,83	202	>	200	36	202	>	201	24
BDE28	2,4,4'-Tribromodiphényl éther	30,96	406	>	246	16	246	>	139	26
PCB153	2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphényl	31,13	360	>	290	24	358	>	288	24
ppDDT	p,p'-DDT	31,67	235	>	165	20	165	>	164	22,5
DEHP-d4	Di(2-éthylhexyl) phtalate-3,4,5,6-d4	32,35	153	>	69	26				
DEHP	Di(2-éthylhexyl) phtalate	32,38	149	>	65	26	149	>	121	18
BDE47	2,2',4,4'-Tétrabromodiphényl éther	33,3	486	>	326	16	326	>	138	42
PCB189	2,3,3',4,4',5,5'-heptachlorobiphényl	34,49	394	>	324	24	324	>	254	30
PCB194	2,2',3,3',4,4',5,5'-octachlorobiphényl	35,15	428	>	358	26	430	>	360	28
BDE99-13C12	2,2',4,4',5-Pentabromodiphényl éther 13C12	36,03	578	>	418	16				
BDE99	2,2',4,4',5-Pentabromodiphényl ether	36,05	564	>	404	18	404	>	137	50
PCB206	2,2',3,3',4,4',5,5',6-nonachlorobiphényl	36,05	462	>	392	26	464	>	394	26
BDE154	2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphényl éther	38,18	644	>	484	16	484	>	377	32
DDcP	Di-n-décyl phtalate	39,09	149	>	65	24	149	>	121	16
D[ah]A	dibenzo[a,h]anthracène	44,77	278	>	276	32	278	>	250	48

Paramètres de détection des composés : temps de rétention et fragments utilisés pour la quantification et la qualification des composés

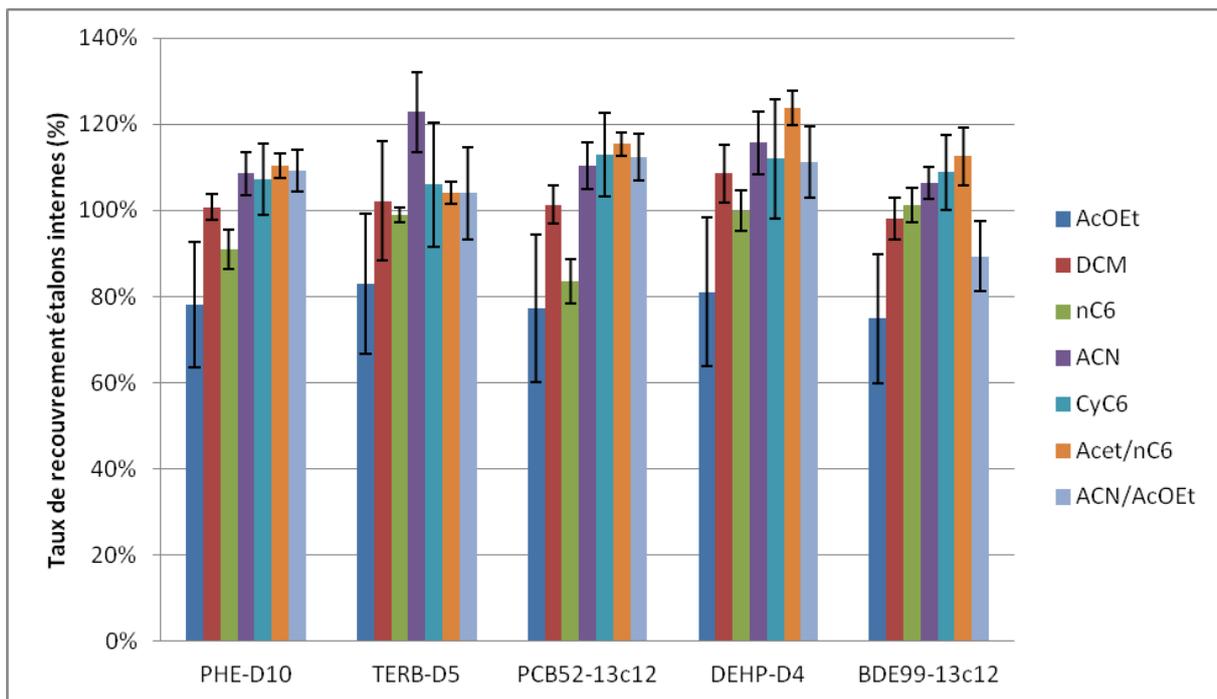
ANNEXE 3

Chromatogramme type de l'analyse multirésidus (100 ng mL⁻¹ par composé sauf 200 ng mL⁻¹ pour certains PCB et 50 ng mL⁻¹ pour les étalons internes)



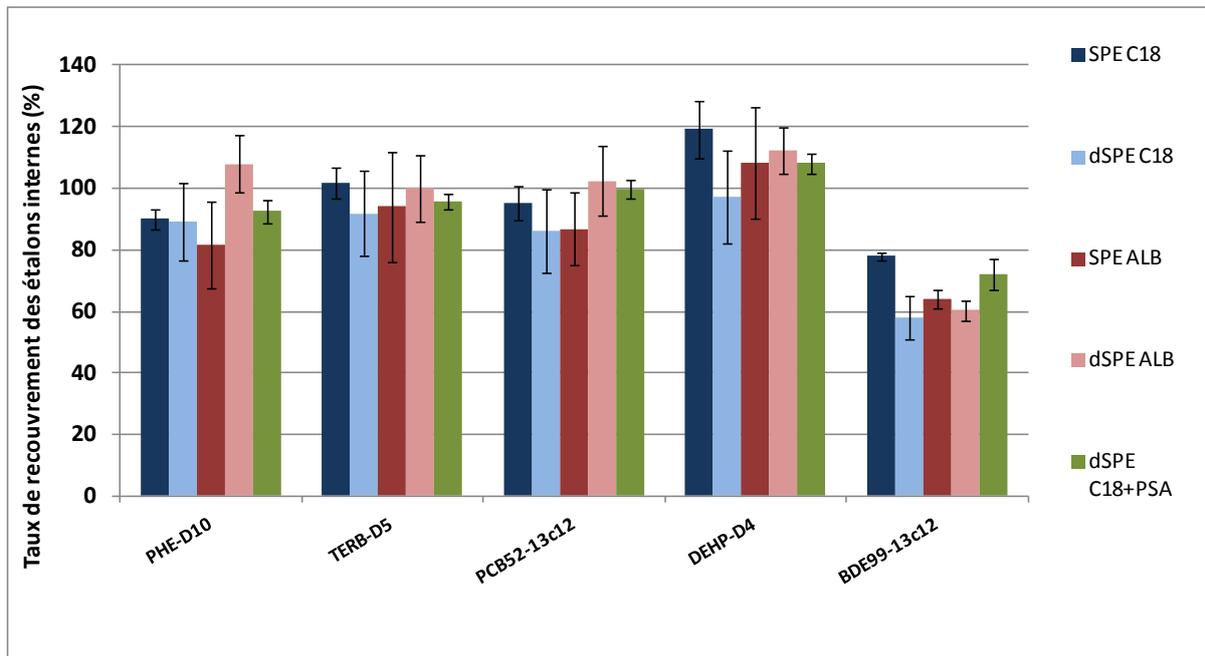
ANNEXE 4

Recouvrement des étalons internes pour les essais extractions
par QuEChERS



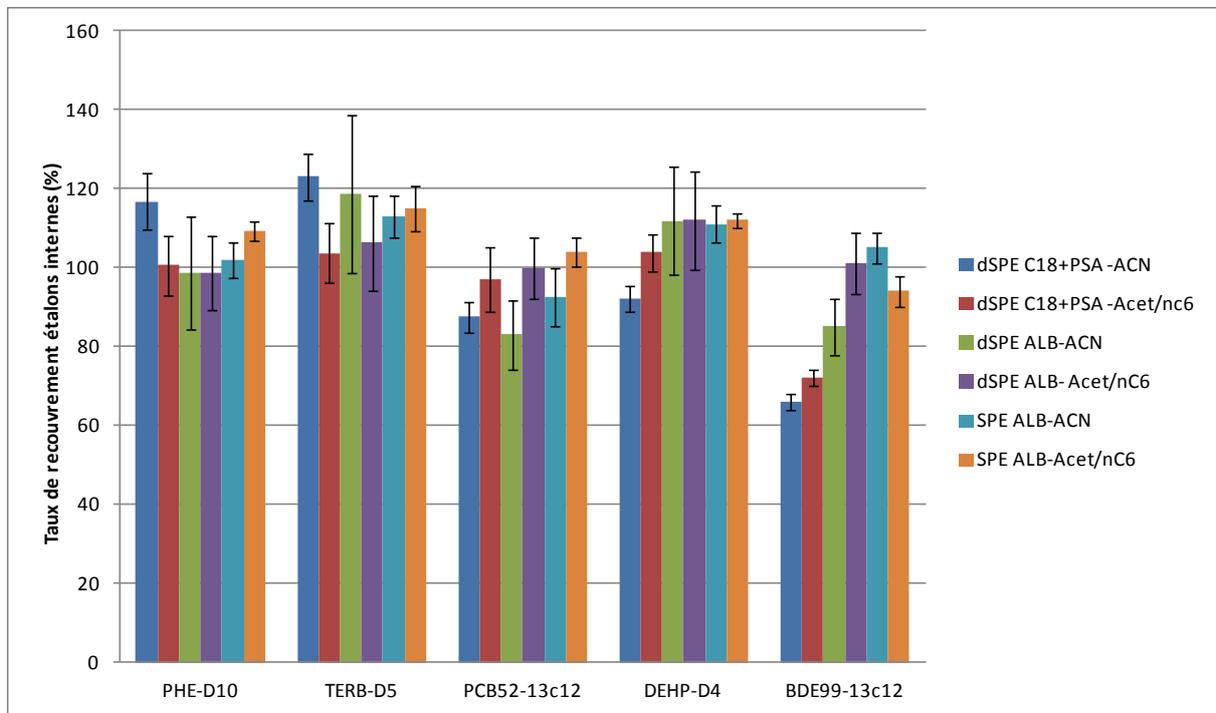
ANNEXE 5

Recouvrement des étalons internes pour les essais purification
par PLE



ANNEXE 6

Recouvrement des étalons internes pour les essais purification
par QuEChERS



ANNEXE 7

Recouvrement des étalons internes pour les essais
avec CRM

