

# **RAPPORT D'ETAPE SUR L'ETUDE DE FAISABILITE DE L'EXTRACTION ET/OU DE LA PURIFICATION PAR « QUECHERS » POUR L'ANALYSE DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES » (HAP) SUR SEDIMENTS**

**Action D : Amélioration des opérations d'analyses  
physico-chimiques**

**J .Cabillic, C. Fallot**  
Janvier 2015

Programme scientifique et technique  
Année 2014

Rapport d'étape



Avec le soutien de



et de



## Contexte de programmation et de réalisation

---

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2014.

Auteur (s) :

*Julie Cabillic*  
LNE  
[julie.cabillic@lne.fr](mailto:julie.cabillic@lne.fr)

*Carine Fallot*  
LNE  
[carine.fallot@lne.fr](mailto:carine.fallot@lne.fr)

Approbateur :  
*Sophie Vaslin-Reimann*  
LNE  
[sophie.vaslin-reimann@lne.fr](mailto:sophie.vaslin-reimann@lne.fr)

---

Vérification du document :

*Hugues Biaudet*  
INERIS  
[Hugues.biaudet@ineris.fr](mailto:Hugues.biaudet@ineris.fr)

*François Lestremau*  
INERIS  
[Francois.lestremau@ineris.fr](mailto:Francois.lestremau@ineris.fr)

*Cécile Miège, Eva Lionard*  
IRSTEA  
[Cecile.miege@irstea.fr](mailto:Cecile.miege@irstea.fr)

## Les correspondants

---

Onema : Pierre-François Staub, [Pierre.francois.staub@onema.fr](mailto:Pierre.francois.staub@onema.fr)

Etablissement : Sophie Vaslin-Reimann, [sophie.vaslin-reimann@lne.fr](mailto:sophie.vaslin-reimann@lne.fr)

Référence du document : J. Cabillic et C. Fallot- rapport d'étape sur l'Etude de faisabilité de l'extraction et/ou de la purification par QuEChERS pour l'analyse des HAP sur sédiments - Rapport AQUAREF 2015 - 20 p.

|                           |                                |
|---------------------------|--------------------------------|
| <b>Droits d'usage :</b>   | <i>Accès Restreint</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>                |

SOMMAIRE

---

|                                                                                                                                               |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUCTION.....</b>                                                                                                                   | <b>5</b>  |
| <b>2. EVALUATION DE LA METHODE QUECHERS POUR L'ANALYSE DES<br/>HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP) DANS LES SEDIMENTS<br/>.....</b> | <b>6</b>  |
| 2.1 CONTEXTE .....                                                                                                                            | 6         |
| 2.2 CONDITIONS ANALYTIQUES ET MATERIELS UTILISES .....                                                                                        | 7         |
| 2.3 PROTOCOLE D'EXTRACTION QUECHERS .....                                                                                                     | 7         |
| 2.4 OPTIMISATION DE L'EXTRACTION PAR LA METHODE QuEChERS SUR UN<br>SEDIMENT .....                                                             | 9         |
| 2.5 CONCLUSION ET PERSPECTIVES SUR LA METHODE QuEChERS TESTEE POUR<br>L'ANALYSE DES HAP DANS LES SEDIMENTS .....                              | 17        |
| <b>3. BIBLIOGRAPHIE.....</b>                                                                                                                  | <b>17</b> |

Liste des annexes :

---

|                 |    |
|-----------------|----|
| ANNEXE I .....  | 19 |
| ANNEXE II ..... | 21 |

## **1. INTRODUCTION**

Présents dans tous les compartiments de l'environnement, les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) ont trois origines principales : pyrolytique (combustion de matériel organique par les industries, transports, incinérateurs, incendies), pétrogénique (produits pétroliers et dérivés) et diagénétique (formation naturelle du pétrole). Ces molécules sont peu solubles, hydrophobes et se dégradent très lentement, ces caractéristiques étant d'autant plus vraies que le composé présente un nombre de cycle élevé. Ainsi, les HAP auront tendance à s'adsorber sur les matières en suspension et à s'accumuler aussi bien dans les sédiments (plus spécifiquement sur les particules fines) que dans les organismes vivants. C'est pourquoi ces composés doivent être quantifiés régulièrement dans les sédiments et le biote (ou organisme biologique), afin d'obtenir une image réelle de l'état des masses d'eau et de suivre sur le long terme les concentrations de ces substances prioritaires.

Traditionnellement, l'extraction de matrices solides est réalisée par solvant pressurisé (PLE), ultrasons, extraction assistée par micro-ondes ou Soxhlet. Bien que ces méthodes soient actuellement les plus efficaces pour l'extraction des HAP dans les sédiments, elles présentent quelques inconvénients et en particulier un temps de mise en œuvre long et l'utilisation de plusieurs dizaines voire centaines de millilitres de solvant organique. Par ailleurs, ces méthodes, ayant un fort pouvoir d'extraction, permettent aussi bien d'extraire les composés d'intérêts que des interférents de la matrice. De plus, certaines méthodes comme la PLE et l'extraction micro-ondes nécessitent un coût élevé d'investissement et d'entretien.

Aussi, Anastassiades et al. en 2003 [1] ont développé la méthode QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) afin de disposer d'une méthode d'extraction qui soit simple, rapide et peu coûteuse pour l'analyse des pesticides dans les fruits et les légumes. Cette technique a par la suite été appliquée avec succès sur d'autres types de matrices (poissons, sols et sédiments) et pour d'autres types de composés (PBDE, COV, PCB, pharmaceutiques, HAP) [3-11]. Des travaux ont d'ailleurs été réalisés dans le cadre d'AQUAREF pour l'extraction des pesticides et des polybromodiphényléthers (PBDEs) des sédiments [2]. A ce jour, aucun travail n'a été publié pour l'extraction des HAP dans les sédiments.

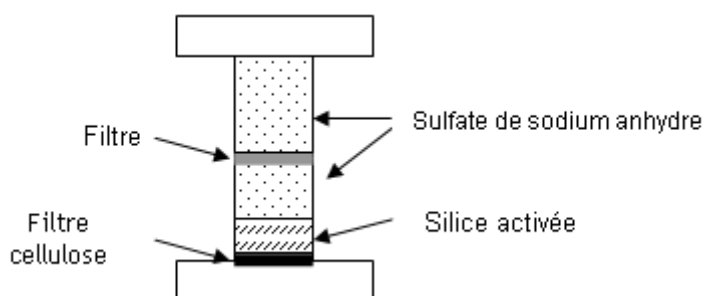
Aussi, cette étude vise à étudier l'applicabilité de cette technique sur l'analyse des HAP dans les sédiments.

## 2. EVALUATION DE LA METHODE QUECHERS POUR L'ANALYSE DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP) DANS LES SEDIMENTS

### 2.1 CONTEXTE

Les HAP font partie des molécules identifiées dans l'annexe I, partie A de la directive 2013/39/UE [12] pour lesquelles une analyse de l'évolution à long terme des concentrations est demandée dans les matrices sédiments et biote. En effet, ces composés ont tendance à s'accumuler dans les matrices solides et il est demandé aux Etats Membres de s'assurer que les concentrations n'augmentent pas de manière significative dans les matrices considérées.

A ce jour, il n'existe pas de norme pour l'analyse des HAP dans les sédiments. Les méthodes d'extraction les plus couramment utilisées sont la PLE, le Soxhlet ou les ultrasons. Le LNE a développé et validé une méthode d'extraction PLE avec purification en une étape dans la cellule d'extraction avec de la silice activée (figures 1 et 2). Cette méthode ayant un pouvoir d'extraction très fort (haute température sous pression), pour des matrices très chargées en matières organiques, il est parfois nécessaire d'ajouter une étape supplémentaire de purification ce qui augmente le risque de perte et/ou pollution de l'échantillon.



**Figure 1** : préparation de la cellule de 11mL pour extraction PLE

|                           |                 |
|---------------------------|-----------------|
| <b>Solvant</b>            | Dichlorométhane |
| <b>Température</b>        | 100°C           |
| <b>Pression</b>           | 140 bar         |
| <b>Temps static</b>       | 10 minutes      |
| <b>Temps de chauffage</b> | 5 minutes       |
| <b>Flush</b>              | 70%             |
| <b>Temps de purge</b>     | 100 secondes    |
| <b>Nombre de cycle</b>    | 2               |

**Figure 2** : protocole d'extraction PLE

Aussi, afin de simplifier le protocole de préparation de l'échantillon (extraction et purification), le but de cette présente étude a été de déterminer si la technique QuEChERS était adaptée à l'extraction des HAP dans les sédiments. Un

échantillon de sédiment sera extrait en parallèle par la méthode QuEChERS et la méthode plus traditionnelle PLE afin de comparer les résultats obtenus.

Pour cette étude, les huit HAP de la liste des polluants prioritaires de la directive cadre eau [12] ont été étudiés :

|                      |         | SANDRE | CAS      | Nombre de cycle | Masse moléculaire g.mol <sup>-1</sup> | Solubilité dans l'eau à 25°C (mg/L) | Log Kow |
|----------------------|---------|--------|----------|-----------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------|
| Naphtalène           | Naph    | 1517   | 91-20-3  | 2               | 128,16                                | 32                                  | 3,3     |
| Anthracène           | Anth    | 1458   | 120-12-7 | 3               | 178,23                                | 0,07                                | 4,45    |
| Fluoranthène         | Fluo    | 1191   | 206-44-0 | 4               | 202,26                                | 0,27                                | 4,9     |
| Benzo(b)fluoranthène | BbF     | 1116   | 205-99-2 | 5               | 252,31                                | 0,001                               | 6,57    |
| Benzo(k)fluoranthène | BkF     | 1117   | 207-08-9 | 5               | 252,31                                | 0,0008                              | 6,8     |
| Benzo(a)pyrène       | BaP     | 1115   | 50-32-8  | 5               | 252,31                                | 0,0038                              | 6,06    |
| Benzo(ghi)pérylène   | BghiP   | 1118   | 191-24-2 | 6               | 276,33                                | 0,002                               | 6,5     |
| Indéno(123-cd)pyrène | IndenoP | 1204   | 193-39-5 | 6               | 276,33                                | 0,0008                              | 6,58    |

**Tableau 1** : liste des HAP étudiés

## 2.2 CONDITIONS ANALYTIQUES ET MATERIELS UTILISES

Toutes les conditions expérimentales (réactifs et étalons, échantillons utilisés, conditions analytiques) sont décrites en annexe I. Le matériau utilisé pour l'ensemble des expériences est le sédiment de référence du NIST, le SRM 1944 (New York/New Jersey Waterway Sediment, annexe II) avec une prise d'essai de 500mg. Les essais ont tous été réalisés en replicat (n=2).

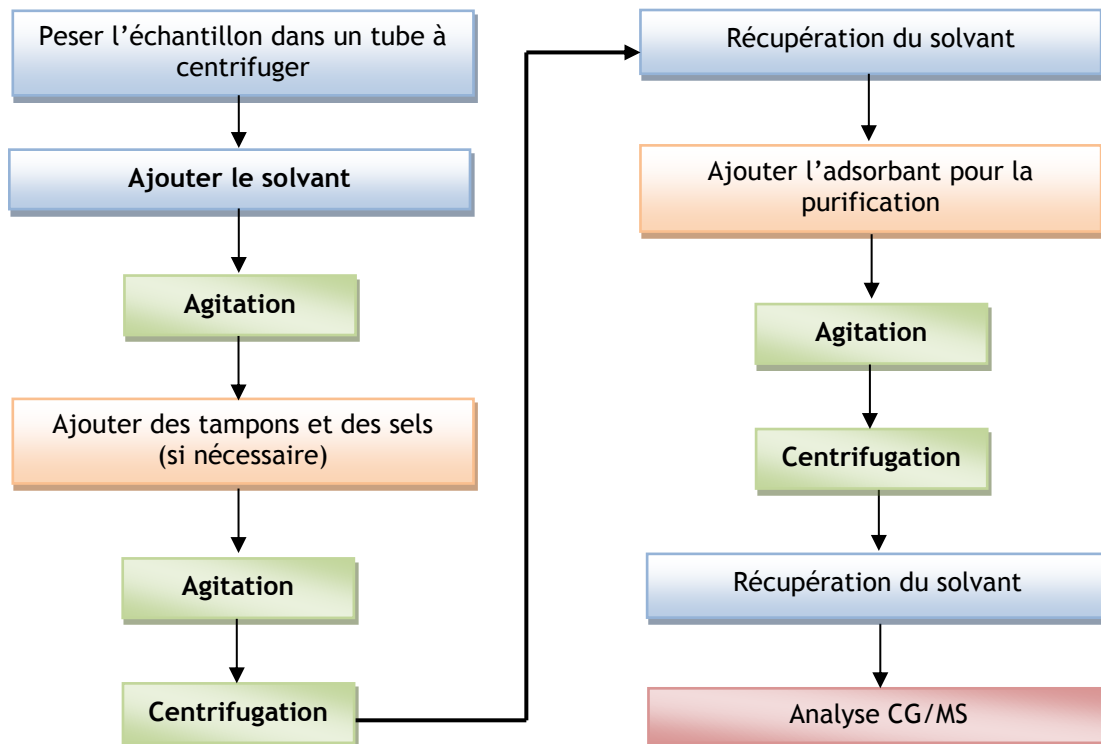
## 2.3 PROTOCOLE D'EXTRACTION QUECHERS

La technique QuEChERS présente de nombreux avantages :

- un processus de préparation de l'échantillon court avec peu d'étapes, ce qui est un des points forts de la technique puisque chaque étape supplémentaire entraîne de potentielles sources d'erreur et/ou de contaminations,
- une facilité d'exécution qui engendre un gain de temps conséquent,
- une mise en œuvre de faibles volumes de solvant (quelques millilitres),
- un faible coût de mise en œuvre car ne nécessite pas de coûts d'entretien ou de maintenance liés à un appareil.

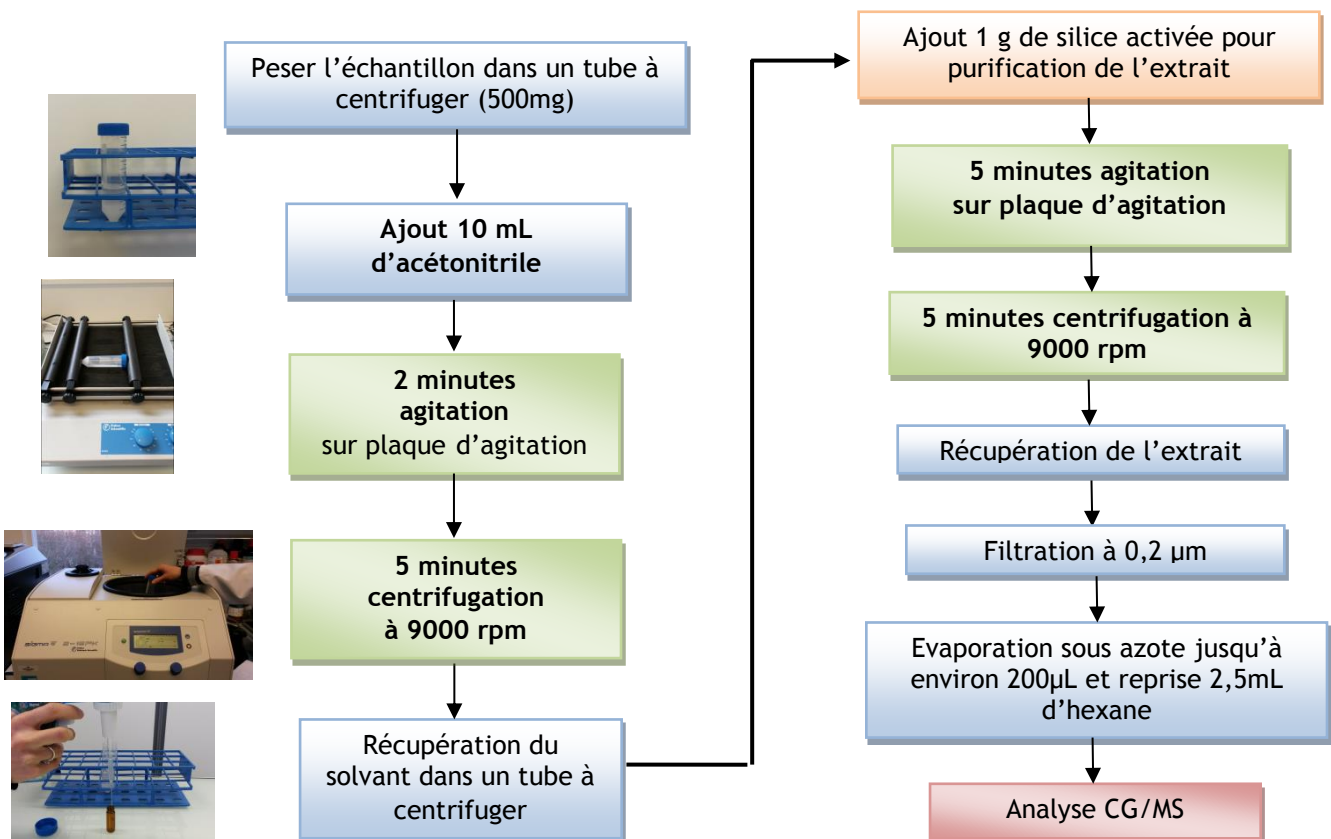
### Description du protocole d'extraction

Le schéma ci-dessous résume les différentes étapes de l'extraction par la méthode QuEChERS :



**Figure 3** : protocole général d'extraction QuEChERS

La stratégie analytique initiale utilisée s'est basée sur le protocole d'Albinet *et al.* [3] c'est-à-dire sans utilisation de tampons et de sels :



**Figure 4** : protocole initial d'extraction QuEChERS



### **Choix des étalons internes**

Lors de l'étude, des étalons internes marqués au carbone 13 ont été utilisés pour chaque HAP. En effet, la similitude entre la molécule à doser et son homologue marqué suppose le même comportement au cours du processus global d'analyse de ces deux molécules.

Cependant, des limites à cette méthode sont observables lorsqu'il s'agit de matrice solide. En effet, le composé marqué synthétique est ajouté avant extraction à la matrice naturelle sur laquelle les composés à analyser sont adsorbés. Il est, dans ce cas, difficile de garantir que les interactions entre la matrice et les composés à analyser seront les mêmes que les interactions entre la matrice et les composés marqués. Dans la bibliographie, les essais sont très souvent réalisés sur des matrices synthétiques auxquelles les composés marqués et non marqués ont été ajoutés en même temps avant extraction. Les interactions sont alors très semblables et le comportement lors du processus global d'analyse est similaire entre les molécules [4-10].

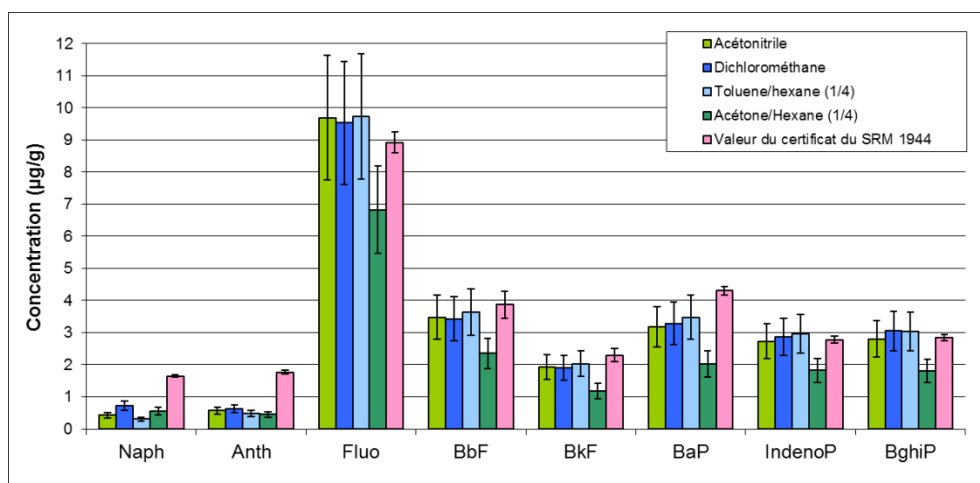
Une des difficultés de cette étude est que les essais ont été réalisés sur une matrice naturelle (matériau de référence du NIST, SRM 1944, New York/New Jersey Waterway Sediment). Le protocole de dopage et notamment le temps de contact des composés marqués utilisés dans la mise en œuvre de la dilution isotopique associée à la CG/SM avec le sédiment à extraire est un paramètre important puisqu'il conditionne le comportement équivalent ou non entre le composé marqué et non marqué. Aussi les composés marqués ont été ajoutés 24 heures avant l'extraction. Le sédiment a été homogénéisé et conservé à température ambiante à l'abri de la lumière (sous du papier d'aluminium) avant extraction.

## **2.4 OPTIMISATION DE L'EXTRACTION PAR LA METHODE QuEChERS SUR UN SEDIMENT**

Le développement de la méthode QuEChERS requiert une étude de l'influence des différents paramètres sur l'efficacité de l'extraction des HAP tels que la nature du solvant d'extraction, le temps d'agitation, la purification ...

### **- Choix du solvant d'extraction**

La première étape de l'optimisation de l'extraction QuEChERS a consisté au choix du solvant le plus adapté. C'est pourquoi plusieurs types de solvants ou de mélange de solvants, utilisés le plus couramment dans la bibliographie, ont été testés : l'acétonitrile, le dichlorométhane, solvant apolaire, très souvent utilisé pour l'extraction des HAP dans des matrices solides, ainsi que des mélanges de solvant de polarités différentes (toluène/hexane (1/4) (v/v), acétone/hexane (1/4) (v/v)).



**Figure 5 :** étude de l'influence du choix du solvant ou mélange de solvant sur l'extraction des HAP dans un sédiment de référence (NIST SRM1944)

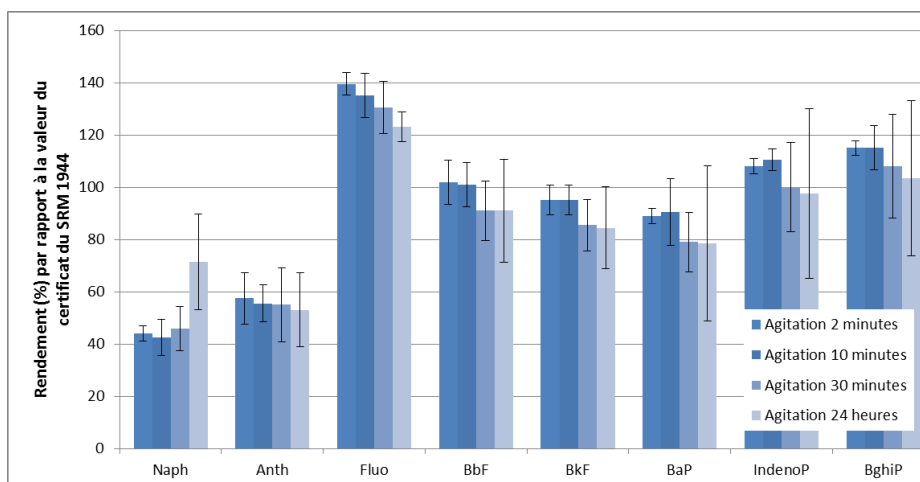
Le mélange acétone/hexane (1:4, v:v) a une efficacité inférieure à celle de l'acétonitrile pour l'extraction des HAP dans les sédiments par la méthode QuEChERS, et plus particulièrement pour les composés les plus lourds (nombre de cycle supérieur ou égal à 3) car il ne permet pas d'extraire entièrement les composés du sédiment. Le mélange toluène/hexane (1:4, v:v) et le dichlorométhane donnent des résultats équivalents à ceux de l'acétonitrile pour l'ensemble des HAP dont le nombre de cycle est supérieur ou égal à 3.

La différence d'efficacité est observée pour les HAP les plus légers, le naphthalène et l'anthracène, pour lesquels les meilleurs résultats sont obtenus avec le dichlorométhane. Le dichlorométhane a donc été choisi comme solvant d'extraction pour la suite des essais avec la méthode QuEChERS.

Cependant ces résultats restent significativement différents de la valeur du certificat du SRM 1944 et l'étape d'extraction doit encore être optimisée.

#### - Optimisation de l'étape d'extraction des composés

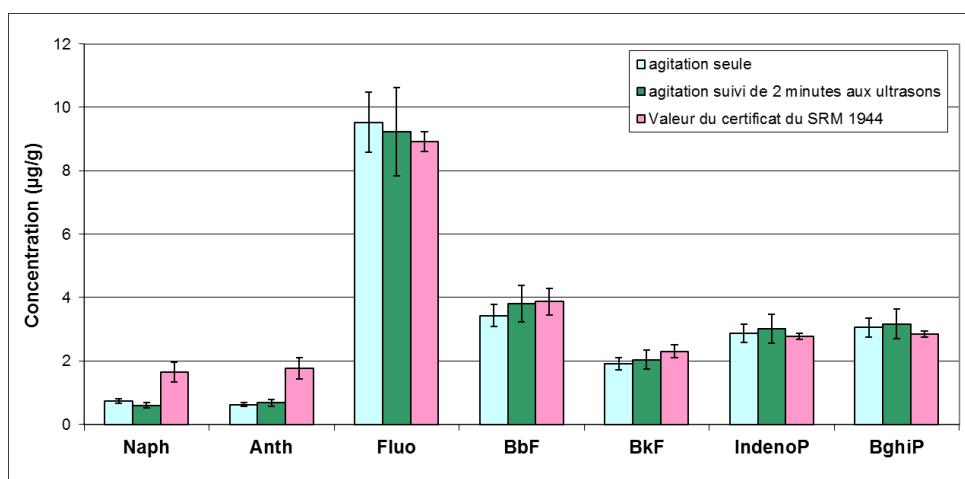
Les temps d'agitation de la méthode QuEChERS sont très courts, de l'ordre de quelques minutes (cette étape est réalisée sur une plaque d'agitation). Lors des tests préliminaires, des variations du temps d'agitation (30 secondes à 2 minutes) n'avaient pas permis de mettre en évidence un effet sur le rendement d'extraction. Cependant, l'extraction ne permettant pas d'obtenir des valeurs optimales pour l'ensemble des composés, des tests ont été réalisés avec des temps d'agitation plus long que ceux observés traditionnellement dans la bibliographie [1-10] : de 2 minutes à 24 heures (figure 6).



**Figure 6 :** étude de l'influence du temps d'agitation sur l'extraction des HAP dans un sédiment de référence (NIST SRM1944)

L'augmentation du temps d'agitation n'apporte pas d'améliorations des rendements d'extraction des HAP dans les sédiments.

L'efficacité de l'extraction n'étant pas optimum pour le naphtalène et l'anthracène, l'ajout d'une étape de sonification a été testé. Cette étape pourrait faciliter la désorption des composés du sédiment par les ultrasons. Les résultats obtenus ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative avec une extraction par agitation classique et que l'étape de sonification n'apportait pas d'amélioration des rendements (figure 7).



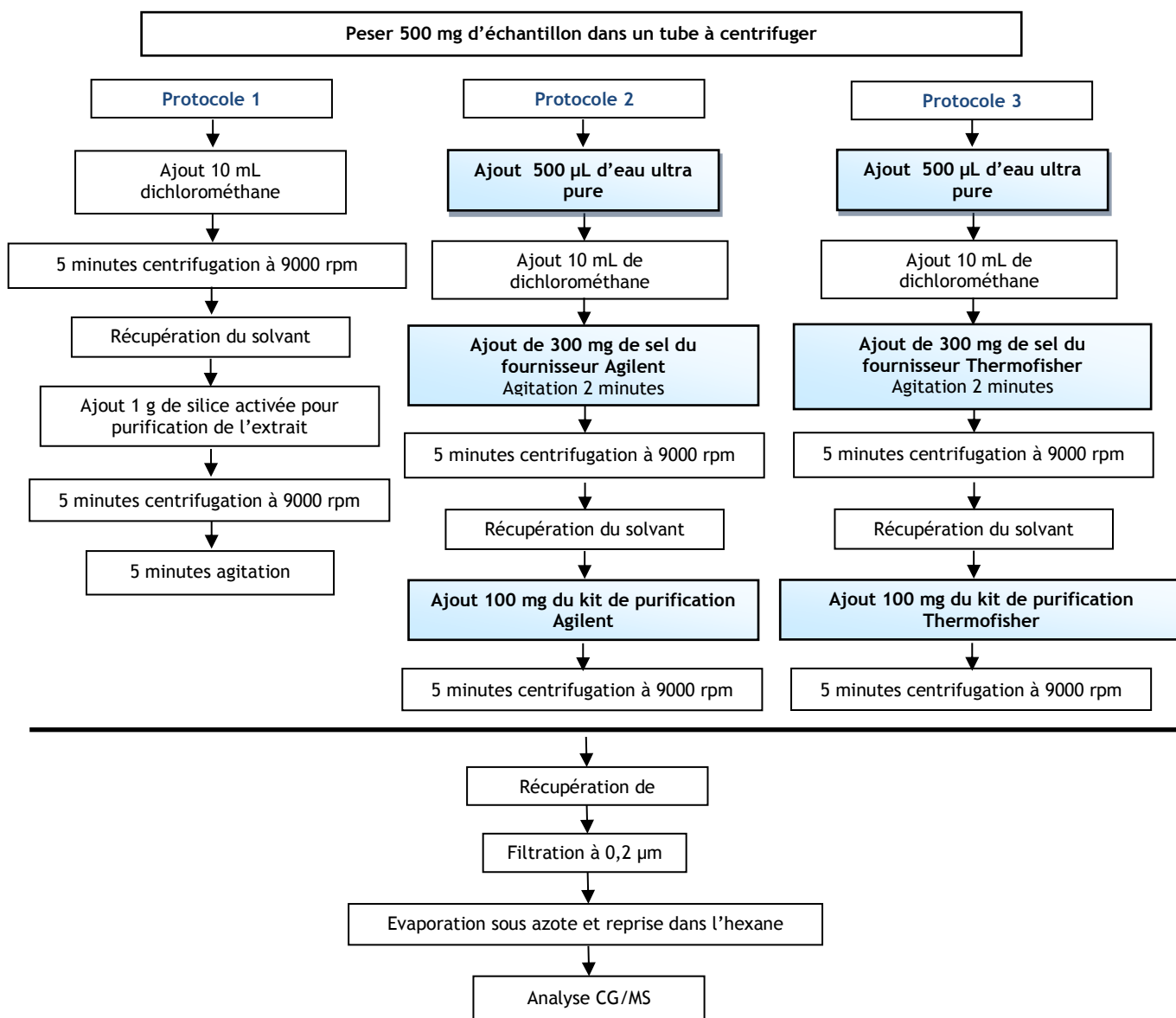
**Figure 7 :** étude de l'influence d'une étape de sonification sur l'extraction des HAP dans un sédiment de référence (NIST SRM1944)

#### - Comparaison de plusieurs protocoles d'extraction QuEChERS

Afin d'améliorer le processus d'extraction QuEChERS, trois protocoles d'extraction QuEChERS ont été mis en œuvre au regard de la bibliographie (figure 8):

- Protocole 1 : le protocole initial est décrit sur la figure 4
- Protocole 2 et 3 :

- une étape d'introduction d'eau et de sels à l'échantillon (figure 8) a été ajoutée au protocole 1. Plusieurs articles [1,3-5,10] ainsi que la norme NF EN 15662 [13] font référence à l'ajout d'eau (10 à 20%) dans l'échantillon sec. En effet, cela pourrait favoriser la partition des composés polaires entre la phase organique et la phase aqueuse. L'ajout simultané d'agent déshydratant ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ou  $\text{MgSO}_4$ ) pourrait améliorer l'extraction des HAP (l'hydratation de l'agent déshydratant est une réaction exothermique qui pourrait augmenter l'efficacité de l'extraction).
- Le type d'adsorbant utilisé lors de l'étape de purification est différent. Deux types de kit commerciaux ont été testés (figure 9).

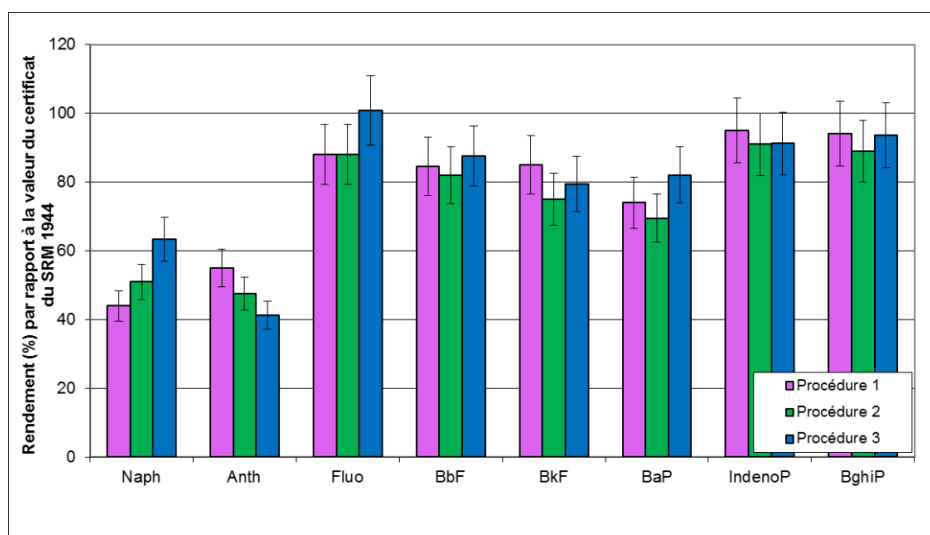


**Figure 8** : comparaison de différents protocoles pour l'extraction des HAP dans un sédiment de référence (NIST SRM1944)

|             | Fournisseur  | Sels d'extraction                                                                                                                      | Sels de purification                                                    |
|-------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Protocole 2 | Agilent      | 1g de citrate de sodium<br>0,5g d'hydrogencitrate<br>sesquihydrate de sodium<br>4g de sulfate de magnésium<br>1g de chlorure de sodium | sulfate de magnésium<br>PSA (amines primaires et<br>secondaires)<br>C18 |
| Protocole 3 | Thermofisher | 4g de sulfate de magnésium<br>1g de sulfate de sodium                                                                                  | sulfate de magnésium<br>PSA (amines primaires et<br>secondaires)<br>C18 |

**Figure 9** : composition des kits commerciaux utilisés pour les extractions du sédiment de référence (NIST SRM1944)

Les trois protocoles d'extractions et purification QuEChERS ont été appliquées au sédiment de référence contenant des HAP (NIST SRM 1944) (figure 10).



**Figure 10** : comparaison des performances des trois protocoles pour l'extraction du sédiment de référence (NIST SRM 1944)

La figure 10 montre qu'il n'y a pas de différence de rendements entre les trois protocoles utilisés pour la majorité des composés. Pour le naphtalène, il y a une amélioration des rendements avec le protocole 3 (kit QuEChERS ThermoFisher) comparé aux deux autres protocoles. Cependant, les résultats obtenus pour le naphtalène et l'anthracène sont toujours aussi faibles (de l'ordre de 40 à 60%) pour les trois protocoles. Pour ces essais, les blancs n'ont pas été retranchés. Une étude a donc été réalisée pour vérifier que les rendements obtenus n'étaient pas liés à des valeurs élevées de blancs.

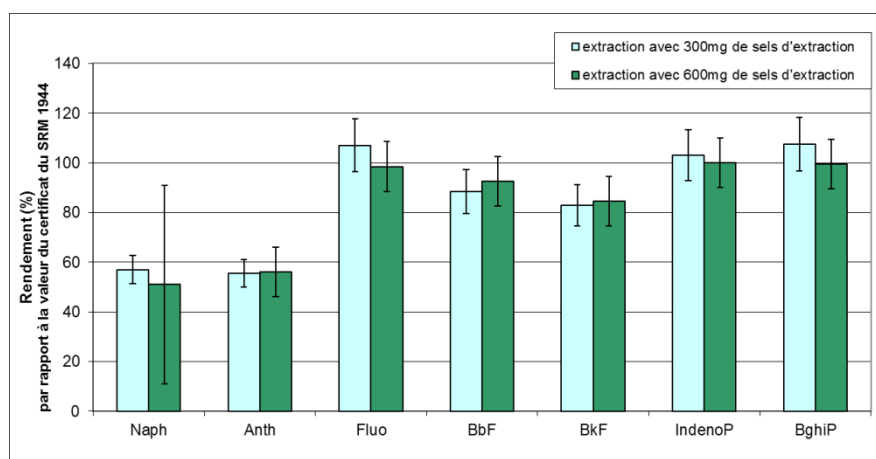
Pour la suite de nos essais, les protocoles 1 et 3 ont été conservés afin de continuer la comparaison entre l'extraction QuEChERS avec et sans kit.

Pour les essais réalisés avec le protocole 3, des tests supplémentaires ont été effectués afin d'optimiser les quantités de sels utilisés. Les deux paramètres sur lesquelles il était possible d'agir étaient :

- la quantité de sels d'extraction,
- la quantité de sels de purification.

- Influence de la quantité de sels d'extraction et de purification

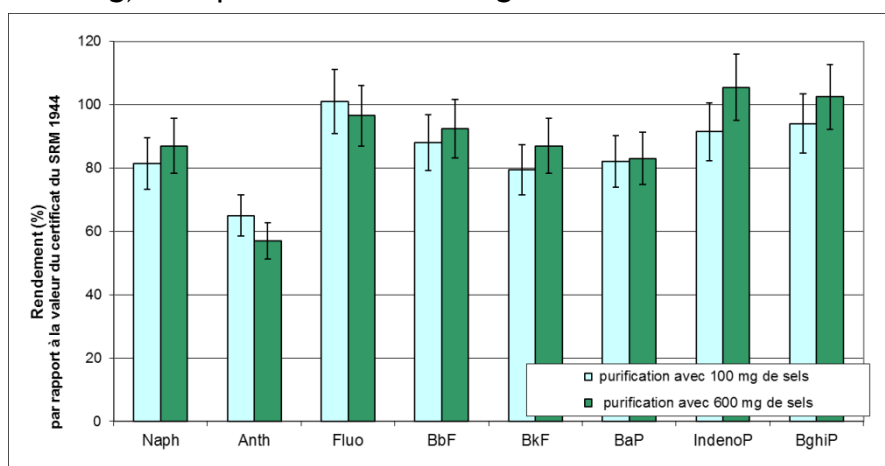
L'influence de l'augmentation de sels d'extraction a été évaluée afin de vérifier si elle avait un impact sur l'efficacité de l'extraction du sédiment. Les rendements obtenus par rapport à la valeur du certificat du SRM 1944 pour deux quantités de sels (300mg et 600mg) sont présentés dans la figure 11.



**Figure 11** : effet de la quantité de sels d'extraction sur l'extraction des HAP du sédiment de référence (NIST SRM 1944)

Comme le montre la figure 11, l'augmentation de la quantité sels d'extraction n'a eu aucun effet sur l'extraction des composés. Nous garderons donc 300 mg de sels d'extraction pour une prise d'essai de 500 mg de sédiment.

Dans un deuxième temps, l'influence de la quantité des sels de purification sur l'efficacité de l'extraction a été évaluée. Les rendements obtenus par rapport à la valeur du certificat du SRM 1944 pour deux quantités de sels de purification (300mg et 600mg) sont présentés dans la figure 12.

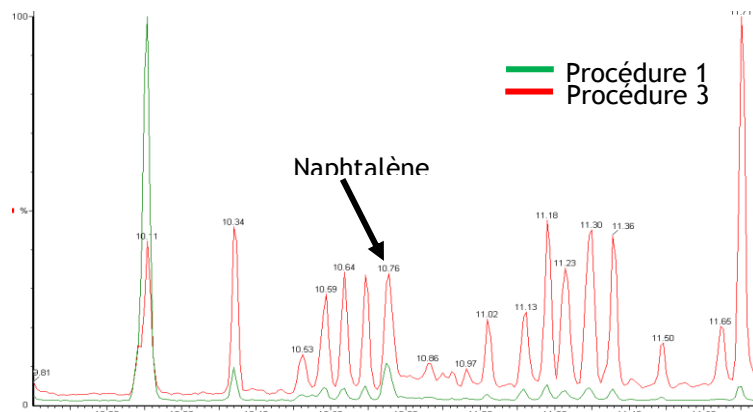


**Figure 12** : effet de la quantité de sels de purification sur l'extraction du sédiment de référence (NIST SRM1944)

Comme le montre la figure 12, il n'y a pas d'influence significative en augmentant la quantité de sels de purification.

- Problèmes liés à l'utilisation des kits commerciaux QuEChERS

Les contrôles qualité « blancs » mis en œuvre pour l'ensemble des protocoles mis en œuvre (1 et 3) ont permis de mettre en évidence un problème de pollution, principalement en naphthalène, lors de l'utilisation des kits commerciaux. En effet, les blancs obtenus avec la procédure 3 (utilisation de kit commercial) sont cinq fois plus élevés que ceux obtenus avec la procédure 1 (figure 13).



**Figure 13** : chromatogrammes des blancs des protocoles 1 et 3

Les résultats obtenus pour l'étude des blancs expliquent les meilleurs résultats obtenus figure 10 pour la procédure 3.

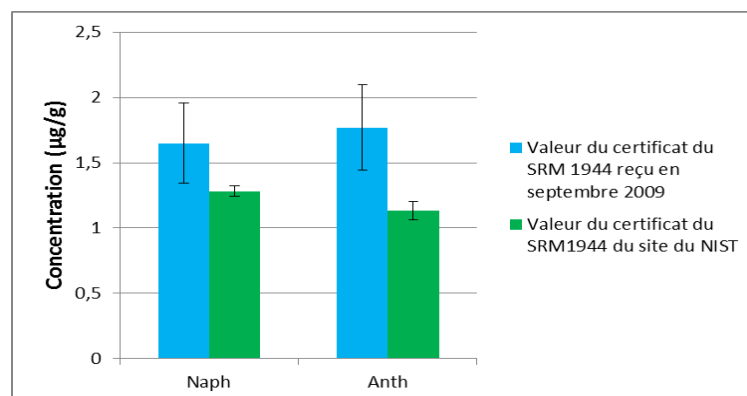
- Problèmes liés au certificat du matériau de référence SRM 1944

Malgré les différents essais réalisés pour améliorer les rendements d'extraction de l'anthracène, aucune amélioration n'a été constatée. La valeur du certificat a donc été analysée. Le SRM 1944 qui est utilisé pour nos essais a été acquis en septembre 2009 pour une durée de validité de 10 ans. Le certificat de ce matériau a été comparé à celui disponible sur le site du NIST (<http://www.nist.gov/srm/>) (figure 14).

| Certificat du SRM 1944 acquis en septembre 2009                 |                                                         |        | Certificat du SRM 1944 disponible sur le site du NIST                 |                                       |                       |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|--------|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|
| Table 1. Certified Concentrations for Selected PAHs in SRM 1944 |                                                         |        | Table 5. Reference Mass Fraction Values for Selected PAHs in SRM 1944 |                                       |                       |
| PAHs                                                            | Mass Fractions in mg/kg (dry-mass basis) <sup>(a)</sup> |        |                                                                       | Mass Fractions <sup>(a)</sup> (mg/kg) |                       |
| Naphthalene <sup>(c,d,e,f,g)</sup>                              | 1.65                                                    | ± 0.31 | Naphthalene <sup>(b)</sup>                                            | 1.28                                  | ± 0.04 <sup>(c)</sup> |
| Phenanthrene <sup>(c,d,e,f,g)</sup>                             | 5.27                                                    | ± 0.22 | 1-Methylnaphthalene <sup>(b)</sup>                                    | 0.47                                  | ± 0.02 <sup>(c)</sup> |
| Anthracene <sup>(c,d,e,f,g)</sup>                               | 1.77                                                    | ± 0.33 | 2-Methylnaphthalene <sup>(b)</sup>                                    | 0.74                                  | ± 0.06 <sup>(c)</sup> |
| Fluoranthene <sup>(c,d,e,f,g)</sup>                             | 8.92                                                    | ± 0.32 | Biphenyl <sup>(b)</sup>                                               | 0.25                                  | ± 0.02 <sup>(c)</sup> |
| Pyrene <sup>(c,d,e,f,g)</sup>                                   | 9.70                                                    | ± 0.42 | Acenaphthene <sup>(b)</sup>                                           | 0.39                                  | ± 0.03 <sup>(c)</sup> |
|                                                                 |                                                         |        | Fluorene <sup>(b)</sup>                                               | 0.48                                  | ± 0.04 <sup>(c)</sup> |
|                                                                 |                                                         |        | Dibenzothiophene <sup>(b)</sup>                                       | 0.50                                  | ± 0.03 <sup>(c)</sup> |
|                                                                 |                                                         |        | Anthracene <sup>(b)</sup>                                             | 1.13                                  | ± 0.07 <sup>(c)</sup> |
|                                                                 |                                                         |        | 1-Methylphenanthrene <sup>(b,c,f,g)</sup>                             | 1.7                                   | ± 0.1 <sup>(b)</sup>  |

**Figure 14** : certificats du SRM 1944

Les valeurs qui ont été prises par la suite sont les valeurs les plus récentes, à savoir celles disponibles sur le site du NIST.

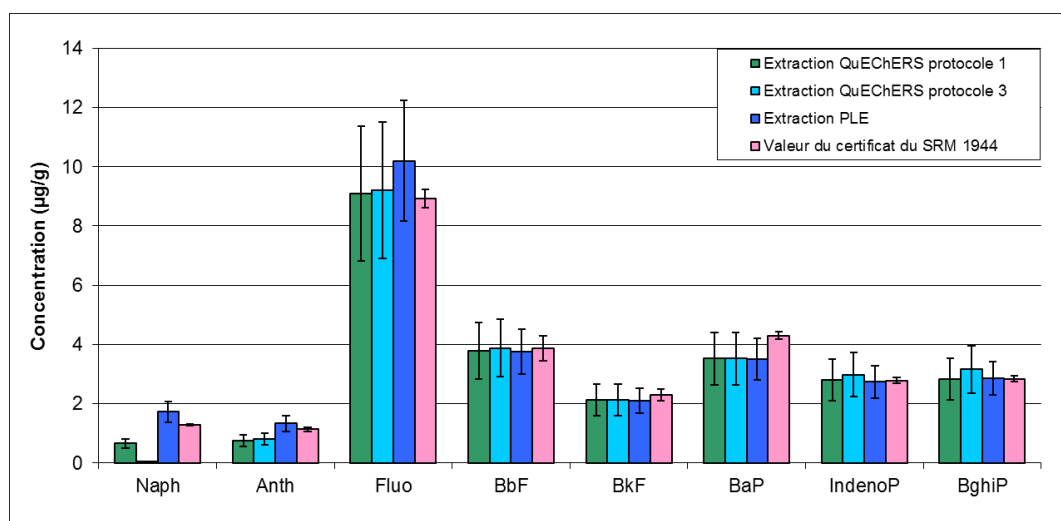


**Figure 15** : comparaison des valeurs du SRM 1944

La différence de valeurs obtenue sur les deux certificats disponibles pour le SRM 1944 (figure 15) montre qu'il est toujours important d'être vigilant sur les valeurs des certificats d'un matériau de référence même s'il est certifié.

- Comparaison de l'extraction QuEChERS à l'extraction PLE

Les deux approches de la méthode QuEChERS (avec et sans kit commercial) ont été comparées à la traditionnelle méthode d'extraction par solvant pressurisé (PLE) (décrite en Annexe I).



**Figure 16** : comparaison des méthodes QuEChERS et PLE pour l'extraction du sédiment de référence (NIST SRM1944) (comparaison aux valeurs issues du certificat disponible sur le site web du NIST)

La figure 16 présente les résultats obtenus en fonction des modes d'extraction utilisés et la valeur du certificat du SRM 1944 (les blancs ont été soustraits). Pour le composé le plus volatil, le naphthalène, les résultats obtenus ne sont pas en accord avec les résultats obtenus avec la méthode PLE et également avec les valeurs du certificat du matériau de référence.



Les rendements obtenus pour les trois méthodes ne sont pas significativement différents pour les HAP dont le nombre de cycle est supérieur à 3. Les résultats obtenus montrent la validité de l'extraction QuEChERS pour les HAP les plus lourds de la liste des composés prioritaires de la DCE : fluoranthène, benzi(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, indeno(1,2,3-cd)pyrène et benzo(ghi)pérylène.

## **2.5 CONCLUSION ET PERSPECTIVES SUR LA METHODE QuEChERS TESTEE POUR L'ANALYSE DES HAP DANS LES SEDIMENTS**

La méthodologie QuEChERS, appliquée à l'analyse des HAP dont le nombre de cycle est supérieur à 3 dans les sédiments, apparaît comme une bonne alternative aux méthodes utilisées habituellement dans les laboratoires. Cette méthode d'extraction manuelle permet un gain de temps, tout en étant simple à mettre en œuvre. De plus, les performances du protocole décrit dans ce rapport sont en adéquation avec la méthode habituellement utilisée (PLE). Les rendements obtenus sont corrects (au-delà de 80 %).

Certains problèmes subsistent pour les HAP les plus légers, notamment pour l'analyse du naphthalène. Ce composé est le plus volatil des HAP et présente des difficultés analytiques liées à l'étape d'évaporation. Des tests supplémentaires pourront être investigués afin d'améliorer les rendements. Et plus particulièrement, des investigations seront engagées pour améliorer l'étape de volatilisation (ajout d'un solvant lourd au moment de l'étape de l'évaporation pour éviter la perte des composés volatils...).

L'application de cette technique sera évaluée pour la matrice biote. En effet, cette matrice représente, comme les sédiments, un enjeu important dans la qualité de la surveillance des masses d'eau. La pertinence de cette matrice est d'autant plus importante que des normes de qualité environnementales pour les HAP dans le biote ont été définies dans la nouvelle directive cadre sur l'eau (Directive 2013/39/UE) [12].

## **3. BIBLIOGRAPHIE**

[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 86 (2003) 412-431.

[2] François LESTREMAU - Application de la méthodologie Quechers sur l'extraction des pesticides et des polybromodiphényléthers (PBDE) dans les sédiments - Evaluation préliminaire - Rapport AQUAREF 2012 - 69 p.

[3] A. Albinet, S. Thomas, 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 env., 450-451 (2013) 31-38.

- [4] 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.* 86 (2011) 18-22.
- [5] L. Drabova, J. Pulkrabova, K. Kalachova, M. Tomaniova, V. Kocourek, J. Hajslova, Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tea using two-dimensional gas chromatography coupled with time of flight mass spectrometry, *Talanta*, 100 (2012) 2017-216.
- [6] 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 chim. Acta*, 707 (2011) 84-91.
- [7] M. J. Ramalhosa, P. Paiga, S. Morais, C. Delerue-Matos, M. B. Prior Pinto Oliveira, Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish: evaluation of a quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction method, *J. Sep. Sci.* 32 (2009) 3529-3538.
- [8] A. Rashid, S. Nawaz, H. Barker, I. Ahmad, M. Ashraf, Development of a simple extraction and clean up procedure for the determination of organochloride pesticides in soil using gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chrom. A*, 1217 (2010) 2933-2939.
- [9] F. Rouvière, A. Buleté, C. Cren-Olivé, C. Arnaudguilhem, Multiresidue analysis of aromatic organochlorines in soil by gas chromatography-mass spectrometry and QuEChERS extraction based on water/dichloromethane partitioning. Comparison with accelerated solvent extraction, *Talanta* 93 (2012) 336-344.
- [10] A. Sadowska-Rociek, M. Surma, E. Cieslik, Comparison of different modifications on QuEChERS sample preparation method for PAHs determination in black, green, red and white tea, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21 (2014) 1326-1338.
- [11] 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 pollutants polynuclear aromatic hydrocarbons in oysters, *Journal of Chrom. A* 1227 (2012) 138-144.
- [12] Directive 2013/39/UE du Parlement européen et du Conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau.
- [13] 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.

## ANNEXE I

### Réactifs et standards:

Les solvants utilisés : dichlorométhane, acétone et hexane de qualité HPLC de chez Sigma-Aldrich, acétonitrile de qualité HPLC de chez Merck et toluène de qualité HPLC de chez Baker, et, sont de qualité HPLC.

La silice activée 3 heures à 450°C provient de chez Merck.

Les HAP (naphtalène, anthracène, fluoranthène, benzi(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, indeno(1,2,3-cd)pyrène et benzo(ghi)pérylène) sont des composés purs en poudre de chez Cluzeau Info Labo de pureté >99%.

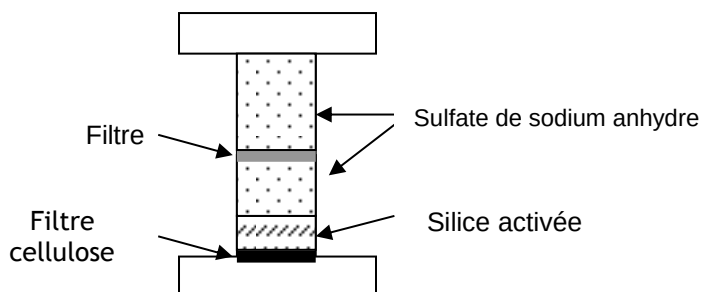
Les HAP marqués (naphtalène  $^{13}\text{C}_6$ , anthracène  $^{13}\text{C}_6$ , fluoranthène  $^{13}\text{C}_6$ , benzo(b)fluoranthène  $^{13}\text{C}_6$ , benzo(k)fluoranthène  $^{13}\text{C}_6$ , benzo(a)pyrène  $^{13}\text{C}_4$ , indeno(1,2,3-cd)pyrène  $^{13}\text{C}_6$  et benzo(ghi)pérylène  $^{13}\text{C}_{12}$ ) sont des solutions indépendantes à 100µg/mL dans le nonane obtenue chez LGC standard.

### Kits commerciaux QuEChERS

- kit fourni par Agilent :
  - sels d'extraction réf 5982-5650
  - sels de purification (pas d'indication sur la référence)
- kit fourni par Thermofisher :
  - sels d'extraction réf 60105-211
  - sels de purification réf 60105-206

### Extraction par PLE :

Les extractions ont été réalisées sur un système ASE 200 (Dionex) couplé à un contrôleur de solvant. La cellule est remplie comme indiquée sur le schéma ci-dessous :



L'extraction est réalisée en suivant le programme suivant :

|                           |                 |
|---------------------------|-----------------|
| <b>Solvant</b>            | Dichlorométhane |
| <b>Température</b>        | 100°C           |
| <b>Pression</b>           | 140 bar         |
| <b>Temps static</b>       | 10 minutes      |
| <b>Temps de chauffage</b> | 5 minutes       |
| <b>Flush</b>              | 70%             |
| <b>Temps de purge</b>     | 100 secondes    |
| <b>Nombre de cycle</b>    | 2               |

La purification est réalisée directement dans la cellule avec la silice activée. L'extrait est recueilli et évaporé jusqu'à environ 200µL puis repris dans 2.5mL d'hexane.

#### **Analyse par CG/SM :**

Les extraits ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse (Agilent 7890B) couplée à la spectrométrie de masse (Agilent 5977A). La colonne utilisée est une colonne DB-EUPAH de chez Agilent, 60m x 0,25 mm ID x 0,25 µm film.

#### ***Conditions CG :***

- *Gas* : Helium
- *Injection*: 5µL en mode split, à 280°C
- *Débit gaz vecteur*: 1,2 mL/min d'hélium
- *Température du four* : 50°C, 45°C/min jusqu'à 200°C, 10°C/min jusqu'à 250°C et 30°C/min jusqu'à 320°C (pendant 26 min).

#### ***Conditions MS :***

- Température de la ligne de transfert: 300°C
- Température de la source: 230°C
- Température du quadripôle : 150°C
- Mode EI (70eV).

## ANNEXE II

### Composition du SRM 1944

### New York/New Jersey Waterway Sediment

|                      |         | Certificat associé au SRM 1944 acquis en 2009<br>(Validité du certificat = 10ans) |                           | Certificat internet SRM 1944<br>(site officiel du NIST) |                           |
|----------------------|---------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------|
|                      |         | Fraction massique (mg/kg)                                                         | Incertitude élargie (k=2) | Fraction massique (mg/kg)                               | Incertitude élargie (k=2) |
| Naphtalène           | Naph    | 1,65                                                                              | 0,31                      | 1,28                                                    | 0,04                      |
| Anthracène           | Anth    | 1,77                                                                              | 0,33                      | 1,13                                                    | 0,07                      |
| Fluoranthène         | Fluo    | 8,92                                                                              | 0,32                      | 8,92                                                    | 0,32                      |
| Benzo(b)fluoranthène | BbF     | 3,87                                                                              | 0,42                      | 3,87                                                    | 0,42                      |
| Benzo(k)fluoranthène | BkF     | 2,3                                                                               | 0,2                       | 2,3                                                     | 0,2                       |
| Benzo(a)pyrène       | BaP     | 4,3                                                                               | 0,13                      | 4,3                                                     | 0,13                      |
| Benzo(ghi)pérylène   | BghiP   | 2,84                                                                              | 0,1                       | 2,84                                                    | 0,1                       |
| Indéno(123-cd)pyrène | IndenoP | 2,78                                                                              | 0,1                       | 2,78                                                    | 0,1                       |