

INSTRUCTIONS

Analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sols par GC/MS

Méthode recommandée

Décembre 2001



Office fédéral de l'environnement,
des forêts et du paysage OFEFP

INSTRUCTIONS

Analyse des hydro- carbures aromatiques polycycliques dans les sols par GC/MS

Méthode recommandée

Décembre 2001

**Publié par l'Office fédéral
de l'environnement, des forêts
et du paysage OFEFP**

Valeur juridique de cette publication

La présente publication est une aide à l'exécution élaborée par l'OFEFP en tant qu'autorité de surveillance, et qui s'adresse en premier lieu aux autorités d'exécution. Elle concrétise des notions juridiques indéterminées de lois et d'ordonnances et doit permettre ainsi une pratique d'exécution uniforme. L'OFEFP publie de telles aides à l'exécution (souvent appelées aussi directives, instructions, recommandations, manuels, aides pratiques, etc.) dans sa collection « L'environnement pratique ».

Les aides à l'exécution garantissent dans une grande mesure l'égalité devant la loi et la sécurité du droit tout en permettant de trouver des solutions flexibles et adaptées aux cas particuliers. Si les autorités d'exécution les prennent en considération, elles peuvent partir du principe qu'elles exécutent conformément le droit fédéral. D'autres solutions ne sont pas exclues; selon la jurisprudence, il faut cependant prouver qu'elles sont conformes au droit.

| | |
|---------------------------------|---|
| Rapport | Etabli par l'Institut de chimie organique analytique de l'Université de Bâle, Neuhausstr. 31, CH-4057 Bâle |
| Auteur | Michael Oehme, Université de Bâle |
| Groupe d'experts associé | Johannes Dettwiler, OFEFP Satish Gupta, IUL Georg Karlaganis, OFEFP Peter Schmid, EMPA Jürg Zihler, OFEFP |
| Traduction | Michel Giannoni, Thônex |
| Page de couverture | Wolfgang Kunz/Bilderberg |

Commande Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage
Documentation
3003 Berne
Fax + 41 (0)31 324 02 16
E-mail: docu@buwal.admin.ch
Internet: www.buwalshop.ch

Numéro de commande VU-4811-F
© OFEFP 2001

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|-----------|
| ABSTRACTS | 5 |
| PREFACE | 7 |
| 1 Principe de mesure | 9 |
| 11 Remarques préliminaires | 9 |
| 12 Indications de sécurité | 9 |
| 2 Appareillage, produits chimiques et instruments | 9 |
| 21 Verrerie et instruments | 9 |
| 211 Verrerie | 9 |
| 212 Appareils pour l'extraction Soxhlet | 10 |
| 213 Tubes à essais | 10 |
| 214 Appareils divers pour la préparation de l'extrait | 10 |
| 215 Seringues de dosage | 11 |
| 216 Autres équipements | 11 |
| 217 Nettoyage de la verrerie | 11 |
| 218 Nettoyage des cartouches Soxhlet | 11 |
| 22 Produits chimiques, adsorbants et gaz | 11 |
| 221 Solvants | 11 |
| 222 Produits chimiques divers, adjuvants et préparations spécifiques | 12 |
| 222.1 <i>Matières premières</i> | 12 |
| 222.2 <i>Nettoyage du coton</i> | 12 |
| 222.3 <i>Prétraitement du gel de silice</i> | 12 |
| 222.4 <i>Prétraitement du sulfate de sodium</i> | 12 |
| 223 Gaz et épuration des gaz | 12 |
| 223.1 <i>Matières premières</i> | 12 |
| 223.2 <i>Purification de l'hélium</i> | 12 |
| 223.3 <i>Purification de l'azote</i> | 13 |
| 223.4 <i>Régénération du tamis moléculaire</i> | 13 |
| 3 Solutions étalons pour la quantification | 13 |
| 31 Etalons de référence | 13 |
| 32 Préparation de l'étalon de base | 14 |
| 33 Préparation des étalons de quantification | 15 |
| 34 Préparation des étalons internes | 15 |
| 35 Préparation de l'étalon de récupération | 16 |
| 36 Préparation de l'étalon de contrôle | 16 |
| 37 Assurance de la qualité | 17 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4 | Préparation des échantillons | 17 |
| 41 | Remarques préliminaires | 17 |
| 42 | Séchage et fractionnement des échantillons par tamisage | 17 |
| 43 | Extraction des échantillons | 17 |
| 44 | Élimination du soufre élémentaire et des composés soufrés | 17 |
| 45 | Quantité d'étalon interne ajoutée aux échantillons | 18 |
| | | |
| 5 | Préparation de l'extrait | 18 |
| 51 | Remarques préliminaires | 18 |
| 52 | Extraction liquide/liquide | 19 |
| 53 | Lavage au gel de silice | 19 |
| 531 | Remplissage de la colonne | 19 |
| 532 | Fractionnement des extraits d'échantillons | 19 |
| | | |
| 6 | Analyse quantitative | 20 |
| 61 | Remarques préliminaires | 20 |
| 62 | Séparation par chromatographie en phase gazeuse | 20 |
| 621 | Appareillage | 20 |
| 622 | Seringues d'injection | 21 |
| 623 | Capillaires de séparation | 21 |
| 624 | Conditions d'injection et de séparation | 21 |
| 63 | Quantification par spectrométrie de masse | 22 |
| 631 | Appareillage | 22 |
| 632 | Conditions d'optimisation et de détection | 22 |
| 64 | Exécution de la quantification | 22 |
| | | |
| 7 | Assurance de la qualité | 24 |
| 71 | Contrôle des solutions étalons pour la quantification | 24 |
| 72 | Fréquence d'injection de l'étalon de quantification | 24 |
| 73 | Valeurs à blanc lors de l'extraction et de la préparation de l'extrait | 25 |
| 74 | Analyse des échantillons témoins | 25 |
| 75 | Archivage des informations d'assurance de la qualité | 26 |
| 76 | Homologation des résultats | 26 |
| | | |
| 8 | Précision et reproductibilité de la méthode | 26 |
| | | |
| 9 | Bibliographie | 27 |

ABSTRACTS

A method is described for the determination of *polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)* in soil, which fulfils the criteria of the *quality assurance concept* for the analysis of organic pollutants in soil published by Swiss Agency for the Environment, Forests and Landscape. The presented method has proven its comparability with other methods at intercomparisons and also fulfils the requirements of the quality assurance norm *EN 45'000*. It is based on soxhlet extraction of the dried soil samples followed by sample clean-up using liquid/liquid extraction and column chromatography. The addition of internal standards prior to extraction (so-called extraction standards) allows the automatic correction of compound losses which are calculated for each sample by addition of a recovery standard to the sample extract before quantification. The separation of PAH is carried out by high resolution gas chromatography. Quantification is based on the internal standard method and low resolution mass spectrometry. Detailed working procedures are given as well as information about quality control measures.

Cette publication décrit une méthode de détection des *hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)* dans le sol. La méthode remplit les conditions posées par le *système d'assurance de la qualité* élaboré par l'OFEFP pour l'analyse des polluants organiques du sol. Il a été démontré lors de divers tests interlaboratoires qu'elle était comparable à d'autres techniques; en outre, elle remplit les exigences de la norme d'assurance de la qualité *EN 45'000*. Elle se base sur une extraction Soxhlet des échantillons de sol séchés, suivie d'une préparation des échantillons réalisée au moyen d'une extraction de la phase liquide/liquide et d'une chromatographie sur colonne. L'addition d'étalons internes (appelés étalons d'extraction) avant l'extraction de l'échantillon permet de corriger automatiquement les éventuelles pertes, qui peuvent être calculées pour chaque échantillon grâce à l'adjonction d'étalons de récupération avant la quantification. La séparation des HAP est effectuée à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse à haute résolution. La quantification se fait par spectrométrie de masse à basse résolution, en se référant aux étalons internes. La publication présente des méthodes de travail détaillées ainsi que des informations sur les mesures de contrôle de la qualité.

Es wird eine Methode zur Bestimmung von *polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK)* in Böden beschrieben, welche das vom BUWAL veröffentlichte *Qualitätssicherungskonzept für die Analytik organischer Schadstoffe im Boden* erfüllt. Diese Methode hat in Ringversuchen die Vergleichbarkeit mit anderen Techniken bewiesen und erfüllt die Anforderungen der Qualitätssicherungsnorm *EN 45'000*. Sie beruht auf Soxhletextraktion der getrockneten Bodenproben - gefolgt von einer Probenaufarbeitung mittels Flüssig-/Flüssigextraktion und Säulenchromatographie. Der Zusatz von internen Standards vor der Probenextraktion (sogenannte Extraktionsstandards) erlaubt die automatische Korrektur von allfälligen Verlusten, die mit Hilfe der Zugabe von Wiederfindungsstandards zum Probenextrakt vor der Quantifizierung für jede einzelne Probe berechnet werden können. Die Trennung der PAK wird mit hochauflösender Gaschromatographie durchgeführt. Die Quantifizierung wird mit niedrigauflösender Massenspektrometrie in Bezug auf die internen Standards durchgeführt. Es werden sowohl detaillierte Arbeitsvorschriften als auch Informationen über Massnahmen der Qualitätskontrolle vermittelt.

Viene descritto un metodo per la determinazione degli *Idrocarburi policiclici aromatici (PAH)* nel suolo, che rispetta il Concetto di *Quality Assurance* per l'analisi di sostanze organiche presenti nel suolo, pubblicato dall'UFAFP. Il metodo ha rivelato la comparabilità con altre tecniche nelle intercalibrazioni e soddisfa le esigenze della norma di *Quality Assurance EN 45'000*. Esso è basato sull'estrazione mediante Soxhlet dei campioni di suolo essiccati - cui fa seguito una purificazione del campione mediante estrazione in controcorrente e cromatografia su colonna. L'aggiunta di standard interni prima dell'estrazione del campione (i cosiddetti standard di estrazione) consente la correzione automatica di eventuali perdite che possono essere calcolate per ogni singolo campione mediante l'aggiunta di tassi di recupero al campione estratto prima della quantificazione. La separazione dei PAH viene eseguita mediante cromatografia in fase gassosa ad alta risoluzione. La quantificazione viene effettuata mediante spettrometria di massa a bassa risoluzione in relazione agli standard interni. Vengono fornite sia prescrizioni dettagliate relative al lavoro che informazioni sulle misure inerenti alla *Quality Assurance*.

PREFACE

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des substances dangereuses pouvant polluer les sols. L'*ordonnance du 1^{er} juillet 1998 sur les atteintes portées aux sols (OSol)* fixe des valeurs indicatives, des valeurs d'investigation et des valeurs d'assainissement pour ces substances dangereuses.

L'analyse de ces polluants est particulièrement ardue. C'est pourquoi, dans la pratique, on n'effectue en général des analyses de HAP que lorsqu'il existe des indications concrètes de pollutions problématiques – le long des voies de communication par exemple. Comme pour d'autres groupes de polluants organiques, il est important de disposer d'une méthode qui donne des valeurs reproductibles et comparables.

Après des instructions pratiques pour un système d'assurance de la qualité et pour l'analyse des dioxines et furanes, le professeur M. Oehme de l'Institut de chimie organique analytique de l'Université de Bâle propose une méthode de référence pour les HAP, qui correspond à l'état actuel des connaissances scientifiques.

Nous mettons cette méthode à la disposition des intéressés et espérons apporter ainsi une nouvelle contribution à la fiabilité des données, ainsi qu'à leur reproductibilité. Nous remplissons ainsi une des tâches qui nous est attribuée par l'OSol.

Je remercie toutes les personnes qui ont contribué à cette publication.

Georg Karlaganis

Chef de la division Substances, sol,
biotechnologie

ABREVIATIONS ET DEFINITIONS

| | |
|--------------------------------------|--|
| CEN | Comité Européen de Normalisation (à Bruxelles). |
| DIN | Comité allemand de normalisation (Deutsches Institut für Normung). |
| EN | Norme européenne. |
| <i>Etalon de récupération</i> | Composé ajouté à l'extrait de sol avant la quantification et permettant de calculer les pertes des étalons d'extraction et de préparation. |
| <i>Etalon d'extraction</i> | Composé ajouté au sol avant l'extraction de l'échantillon et qui permet de corriger les pertes résultant de l'extraction et de la préparation. |
| HAP | Hydrocarbures aromatiques polycycliques. |
| HRGC | Chromatographie en phase gazeuse à haute définition. |
| IE | Ionisation électronique. |
| ISO | Organisation internationale de normalisation. |
| <i>Isomères</i> | Composés formés d'une structure de carbones identique et du même nombre de substituants identiques, mais disposés de manière différente. |
| ISTD | Etalon interne. |
| MS | Spectrométrie de masse. |
| OSol | Ordonnance du 1 ^{er} juillet 1998 sur les atteintes portées aux sols. |
| <i>Ppb</i> | « <i>Parts-per-billion</i> »: indication de quantité en ng/g ou µg/kg. |
| <i>SIM</i> | « <i>Selected ion monitoring</i> » (détection ionique sélective). |
| <i>u</i> | Abréviation de « <i>unité de poids atomique</i> » basé sur l'atome de carbone ; ¹² C = 12.00000 u. |

1 Principe de mesure

11 Remarques préliminaires

On extrait les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) à partir de l'échantillon de sol séché, au moyen d'un extracteur Soxhlet. On ajoute des composés comme étalon interne avant l'extraction de l'échantillon. On élimine les constituants perturbateurs de la matrice d'échantillonnage par extraction liquide/liquide combinée avec la chromatographie liquide. Après concentration à un volume de 200 à 300 µL et addition d'un étalon de récupération, on sépare tous les composés HAP importants par chromatographie en phase gazeuse à haute définition, puis on les analyse quantitativement par spectrométrie de masse à basse définition à ionisation électronique.

Cette méthode de mesure est valable pour tous les types de sols – quelle que soit l'importance de la contamination. D'après l'OSol¹, des valeurs indicatives de 1 mg/kg et de 0.2 mg/kg de matière sèche sont valables respectivement pour la somme de 16 HAP (cf. *tableau 1*) et pour le benzo(a)pyrène. On doit pouvoir encore les saisir, de manière sûre, avec une limite de détection suffisante. Selon la quantité de sol utilisée, la limite de détection est de l'ordre de 0.3 à 3 µg/kg (0.3 à 3 ppb) pour des composés individuels, c'est-à-dire deux à trois ordres de grandeur environ au-dessous de ces exigences.

On ne donne le nom d'un fabricant que lorsque son produit, compte tenu de ses propriétés, est le seul disponible selon l'état actuel de la technique.

12 Indications de sécurité

Les HAP sont des composés très toxiques et carcinogènes. Tous les travaux effectués avec ces substances exigent donc le plus grand soin. Lors de l'application de cette méthode, il est impératif de respecter strictement toutes les prescriptions de sécurité valables actuellement en Suisse pour les produits toxiques.

2 Appareillage, produits chimiques et instruments

21 Verrerie et instruments

211 Verrerie

On utilise les appareils suivants, en verre au borosilicate de haute qualité:

- *Ballons ronds*: volumes 100 et 500 mL, rodage 24/29.
- *Ballons ronds*: volume 100 mL avec tubes à centrifuger de 5 mL, rodage 24/29.
- *Pipettes Pasteur*: longueurs 150 et 250 mm.
- *Bouteilles en verre à large col*: de différents volumes, p. ex. 0.5-1 L (couvercle en polypropylène GL 45) pour la conservation des échantillons.
- *Tubes à centrifuger*: coniques, volumes 15 à 20 mL, gradués, avec bouchon en verre.

¹ Ordonnance du 1^{er} juillet 1968 sur les atteintes portées aux sols (OSol, SR 814.12).

- *Bechers*: 50 mL.
- *Ballons jaugés avec bouchon en verre*: 10 et 25 mL (verre brun), qualité A, précision respectivement de ± 0.025 mL et ± 0.04 mL à 20 °C.
- *Erlenmeyers*: 250 mL avec bouchon en verre.
- *Dessiccateur*: diamètre 300 mm, avec couvercle rodé (sans graisse!) – sans agent déshydratant.
- *Entonnoir en verre*: diamètre 100 mm.
- *Colonne de chromatographie*: longueur 250 mm, diamètre 12.5 mm.
- *Nacelle à pesée*.
- *Verres de montre*: diamètre 60 mm.

212 Appareils pour l'extraction Soxhlet

- *Extracteur Soxhlet*: volume 200 mL, longueur 250 mm, rodage 34/35, rodage des raccords 24/29.
- *Extracteur Soxhlet*: 2'000 mL avec plaque rodée et rodage des raccords 34/35.
- *Réfrigérant à boules*: longueur 330 mm, rodage 24/29.
- *Réduction rodée*: 24/29 à 34/35.
- *Cartouches à extraction Soxhlet*: en cellulose, diamètre 28 mm, longueur 80 mm (pour le prétraitement, cf. paragr. 218).
- *Mousse de polyuréthane*: épaisseur 35 mm, 210x210 mm – pour l'isolation des extracteurs Soxhlet.

213 Tubes à essais

- *Petites bouteilles pour échantillons*: 1.5 mL avec insert de 100 μ L et capuchon septum. Petites bouteilles pour échantillons, 1.5 mL avec fermeture à vis (joint en Téflon).
- *Tubes à essais Certan[®]*: Promochem GmbH, 1.5 mL, avec ouverture capillaire et fermeture à vis avec joint en Téflon.

214 Appareils divers pour la préparation de l'extrait

- *Capsules en porcelaine*: diamètres 180 et 250 mm.
- *Réducteur de pression*: anneau métallique d'étanchéité, réglage fixe sur 3-5 bar.
- *Évaporateur rotatif*: avec régulation automatique de la pression.
- *Turbovap 500*: appareil de concentration avec récipient de concentration correspondant (Zymark).
- *Étuve*: plage de températures 50-300 °C, précision ± 3 °C.
- *Four tubulaire*: plage de températures 50-1'100 °C, précision ± 5 °C.
- *Balance analytique*: plage de pesée 0-160 g, précision ± 0.001 g.
- *Balance à plateau*: 0-1'200 g, précision ± 0.1 g.
- *Microbalance*: plage de pesée 0-3'000 mg, précision ± 1 μ g.
- *Millipore MilliQ*: installation d'épuration de l'eau.
- *Four en céramique*: 200-1'030 °C, précision ± 10 °C.
- *Bain à ultrasons*: puissance 100 W.
- *Centrifugeuse*: pour tubes de 8x10 mL, minimum 6'000 t/min.

- *Pompes à vide à membrane*: résistantes aux solvants, avec membranes en Téflon, 4 ou 8 m³/h, vide final 8 kPa (80 mbar) pour 8 m³/h, 1.5 kPa (15 mbar) pour 4 m³/h.
- *Calottes chauffantes*: pour ballons ronds de 500 mL.
- *Mortier en porcelaine*: diamètre 130 mm, pistil 145x38 mm.
- *Capsules en porcelaine*: diamètre 180 mm.
- *Tamis*: en acier inoxydable, largeur de mailles 2 mm (selon DIN 4188).

215 Seringues de dosage

- *Avec aiguilles moulées et ballons en acier rodé*: 10, 25, et 1'000 µL.
- *Pipette volumétrique*: 1 mL, précision ±0.01 mL.
- *Pipettes à baguette*: 5 et 10 mL, graduées, précision ±0.03 mL.
- *Micropipettes étalonnées*: 10, 20, 50 et 100 µL, précision ±0.25-1 %.

216 Autres équipements

- *Gants résistants aux solvants*.
- *Gants en polyéthylène à usage unique*.
- *Anneaux en liège*.
- *Pierres à distiller*: prélavées.
- *Brides de rodages*: pour rodages 14 et 29.

217 Nettoyage de la verrerie

Après chaque préparation d'extrait, plonger tous les ballons ronds, bechers, tubes à centrifuger et colonnes de chromatographie pendant 24 h dans une solution à 2.5 % (v/v) de RBS 25 (cf. *paragr.* 222), puis les rincer deux fois à l'eau chaude et deux fois à l'eau désionisée provenant d'une installation Millipore MilliQ. Après séchage à l'air, chauffer la verrerie pendant 6 h dans un four à céramique à 350-450 °C. Les résidus organiques éventuels seront ainsi éliminés. Avant l'emploi, rincer les pipettes Pasteur avec le solvant que l'on utilisera ensuite.

218 Nettoyage des cartouches Soxhlet

On extrait jusqu'à huit cartouches Soxhlet pendant 8 h dans un extracteur Soxhlet de 2'000 mL, avec du toluène. Après séchage sous vide dans un dessiccateur (80 kPa, soit un vide de 0.8 bar à 100 °C), on les emballe dans une feuille d'aluminium.

22 Produits chimiques, adsorbants et gaz

221 Solvants

Tous les solvants sont de qualité « pour analyse des résidus » et sont utilisés sans lavage préalable:

- cyclohexane;
- n-hexane;
- méthanol;
- toluène;
- diméthylformamide (*exception*: pour analyse);
- eau, d'abord distillée dans le verre et lavée avec l'installation Millipore MilliQ.

222 Produits chimiques divers, adjuvants et préparations spécifiques

222.1 Matières premières

- *Coton*: chimiquement pur (nettoyage; cf. *paragr.* 222.2).
- *Feuille d'aluminium*: épaisseur 0.018 mm, largeur 450 mm.
- *Gel de silice*: 0.063-0.20 mm (prétraitement; cf. *paragr.* 222.3).
- *Mercure*: pureté 99.99 %.
- *Laine de verre à base de silane*: diméthylchlorosilane prétraité.
- *Sulfate de sodium*: pour analyse (prétraitement; cf. *paragr.* 222.4).
- *Produit de rinçage de laboratoire RBS 25*: Chemical products, Bruxelles, Belgique

222.2 Nettoyage du coton

On extrait d'abord au Soxhlet 50 g de coton pendant 8 h avec 600 mL de chlorure de méthylène, puis on le sèche sous vide dans un dessiccateur, à température ambiante. On répète cette procédure avec 600 mL de n-hexane.

222.3 Prétraitement du gel de silice

On verse environ 100 g de gel de silice dans une capsule en porcelaine de 180 mm de diamètre et on le sèche à l'étuve pendant 8 h à 130 °C. On conserve ensuite ce matériau dans une bouteille en verre avec un couvercle vissé pourvu d'un joint en Téflon. La durée de conservation est de quatre semaines.

222.4 Prétraitement du sulfate de sodium

On déshydratise deux pesées de 1'000 g environ, chacune d'entre elles dans une capsule en porcelaine de 180 mm de diamètre, pendant 8 h à 600 °C, puis on les conserve dans le flacon d'origine. La durée de conservation est de trois mois.

223 Gaz et épuration des gaz

223.1 Matières premières

| | |
|--|---|
| Hélium, 99.995 % (purification, cf. <i>paragr.</i> 223.2) | Azote, 99.99 % (purification, cf. <i>paragr.</i> 223.3) |
| Filtre O ₂ /charbon actif | Tamis moléculaire |
| Éventuellement tamis moléculaire, 0.5-2.0 mm (prétraitement; cf. <i>paragr.</i> 223.4) | Charbon actif, taille des particules 1.5 mm |
| Cartouches métalliques vides, Whitey 304L-HDF4-50, 340L-HDF4-75 ou équivalentes en acier inoxydable. | |

223.2 Purification de l'hélium

L'hélium, qui sert de gaz porteur dans les chromatographes en phase gazeuse, est purifié de la manière suivante:

- On installe en série un filtre rempli de tamis moléculaire et un filtre O₂/charbon actif, directement après le robinet de la bouteille sous pression. On remplace ces deux unités après l'utilisation des deux bouteilles sous pression de 50 L, ou une fois par an.
- On monte en série deux cartouches métalliques, directement avant l'entrée du gaz porteur de chaque chromatographe en phase gazeuse. On remplit le premier avec le tamis

moléculaire (cf. *paragr. 223.4*) et le second avec du charbon actif. On ne remplace ces deux cartouches qu'en cas de dérèglement ou de panne (vidange complète d'une bouteille sous pression, par exemple), ou au plus tard après trois ans. Il ne faut jamais vider les bouteilles sous pression à moins de 1'500 kPa (15 bar). On jette les filtres O₂/charbon actif. On remplace le contenu du filtre à tamis moléculaire par du tamis moléculaire régénéré (cf. *paragr. 223.4*) et le charbon actif des cartouches métalliques par du neuf.

223.3 Purification de l'azote

On utilise l'azote pour concentrer ou comme source de pression. On le purifie dans une cartouche métallique remplie d'abord à moitié avec un tamis moléculaire, puis avec du charbon actif (direction du flux). On remplace le contenu des cartouches après chaque bouteille sous pression de 50 L; il ne faut pas les vider à moins de 1'500 kPa (15 bar).

223.4 Régénération du tamis moléculaire

On remplit une cartouche métallique vide avec le tamis moléculaire à régénérer et on la chauffe pendant 3 h à 300 °C dans le four tubulaire (cf. *paragr. 214*); on rince ensuite la cartouche avec de l'azote purifié à un débit de 20 mL/min. Après refroidissement (sous courant d'azote), on peut réutiliser directement la cartouche ou transférer son contenu dans une autre cartouche (contrôle d'étanchéité!).

3 Solutions étalons pour la quantification

31 Etalons de référence

Dans la mesure du possible, il faut acheter les composés d'étalonnage et de référence sous forme de solides cristallins de qualité certifiée. Leur pureté doit être de 99 % au minimum. On a besoin des composés figurant dans le *tableau 1*.

Tableau 1: Liste des HAP et des étalons internes utilisés.

| Composés | |
|--|--|
| Naphthaline | Benzo(a)anthracène |
| Acénaphthylène | Chrysène |
| Acénaphthène | Benzo(b)fluoranthène |
| Fluorène | Benzo(k)fluoranthène |
| Phénanthrène | Benzo(a)pyrène |
| Anthracène | Indéno(1,2,3-cd)pyrène |
| Fluoranthène | Dibenzo(a,h)anthracène |
| Pyrène | Benzo(ghi)perylène |
| 3,6-diméthylphénanthrène (étalon interne I) | 2,2'-binaphthyle (étalon interne II) |
| | Indéno(1,2,3-cd)fluoranthène (étalon de récupération) |

Remarque: on peut acheter les composés de référence certifiés à l'*Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, Belgique, IRMM* (précédemment *Bureau of Reference, BCR*), ou auprès du *Dr Ehrenstorfer* (Augsburg, Allemagne) ou de *Promochem* (Wesel, Allemagne), par exemple. Le 3,6-diméthylphénanthrène est disponible auprès de *Tokyo Kasei Kogyo Ltd.* (Japon).

On conserve les étalons de référence à 4-6 °C à l'obscurité. Compte tenu de leur stabilité chimique, les HAP stockés à l'obscurité sous forme solide ont une durée de conservation illimitée. Avant la pesée, il faut conserver tous les étalons de référence dont on a besoin, pendant au moins quatre heures à température ambiante.

32 Préparation de l'étalon de base

L'étalon de base contient les composés répertoriés dans le *tableau 2*, selon leur ordre d'élu-tion sur la colonne de séparation utilisée en chromatographie en phase gazeuse (cf. *paragr. 623*).

Tableau 2: Composés HAP dans l'étalon de base.

| N° | Composé | Remarques |
|----|------------------------------|--|
| 1 | Naphthaline | |
| 2 | Acénaphthylène | |
| 3 | Acénaphthène | |
| 4 | Fluorène | |
| 5 | Phénanthrène | |
| 6 | Anthracène | <i>Etalon interne I</i> |
| 7 | 3,6-diméthylphénanthrène | |
| 8 | Fluoranthène | |
| 9 | Pyrène | |
| 10 | Benzo(a)anthracène | |
| 11 | Chrysène | <i>Co-élution avec du triphénylène</i> <i>Etalon interne II</i> <i>Co-élution avec du benzo(j)fluoranthène</i> |
| 12 | 2,2'-binaphthyle | |
| 13 | Benzo(b)fluoranthène | |
| 14 | Benzo(k)fluoranthène | |
| 15 | Benzo(a)pyrène | |
| 16 | Indéno(1,2,3-cd)fluoranthène | <i>Etalon de récupération</i> |
| 17 | Indéno(1,2,3-cd)pyrène | |
| 18 | Dibenzo(a,h)anthracène | <i>Co-élution avec du</i> <i>dibenzo(a,c)anthracène</i> |
| 19 | Benzo(ghi)perylène | |

Certains des composés étalons étant cancérogènes, il faut être extrêmement prudent lors de la pesée, en respectant notamment les prescriptions d'utilisation de la balance analytique. Il faut également porter des gants à usage unique et recouvrir de papier ou d'une feuille d'aluminium la zone entourant la balance.

Avant l'emploi, il faut nettoyer soigneusement la nacelle à pesée et la spatule avec du cyclohexane, dans le bain à ultrasons. On prépare l'étalon de base y inclus l'étalon interne, dans un ballon jaugé de 10 mL (verre brun ou protégé de la lumière). La concentration de chaque composé figurant dans le *tableau 2* doit être de l'ordre de 50±20 ng/µL, ce qui correspond à une pesée de 500±200 µg par composé. Après la pesée de chaque substance, on rince la spatule avec du cyclohexane prélevé avec une pipette Pasteur et on la sèche avec du papier ménage.

On rince le contenu de la nacelle à pesée avec du cyclohexane dans le ballon jaugé de 10 mL et on le remplit presque jusqu'au trait de jauge. On place ensuite le ballon jaugé dans un bain à ultrasons, jusqu'à dissolution complète. Après refroidissement, on rajoute le solvant encore manquant, puis on marque le ballon jaugé, on le pèse et on le conserve au congélateur à -20 °C. La durée de conservation est de 24 mois. On reporte toutes ces données dans le répertoire des étalons.

33 Préparation des étalons de quantification

On sort du congélateur le ballon jaugé avec la solution de base et on décongèle le cyclohexane. On le place ensuite pendant 5 min dans le bain à ultrasons et on vérifie que tout est dissous. Si ce n'est pas le cas, il faut répéter le traitement aux ultrasons. On porte ensuite le ballon à température ambiante et on contrôle son poids. On compense les pertes de solvant jusqu'à la dernière pesée de contrôle.

On transfère des volumes variables de l'étalon de base dans un ballon jaugé de 10 mL et on le remplit avec du cyclohexane jusqu'au trait de jauge. Cinq solutions titrées doivent couvrir une plage de concentrations de chaque composé de 0.1 à 20 ng/μL environ. Le cas échéant, on dilue à nouveau. On marque les ballons jaugés, on les pèse et on les conserve au congélateur à -20 °C. La durée de conservation est de 12 mois. On reporte toutes les données ainsi que les pertes de poids survenues lors du prélèvement, dans le répertoire des étalons.

On porte les ballons jaugés à température ambiante et on contrôle leur poids. On compense les pertes de solvant jusqu'à la dernière pesée de contrôle. On transfère chaque fois 1 mL, comme étalon de travail, dans un tube à essais de 1.5 mL avec une ouverture capillaire (CERTAN®), que l'on conserve au réfrigérateur à 4-6 °C. On remplace ces solutions de travail tous les six mois.

On ne peut effectuer une quantification au moyen d'un étalonnage à un point que lorsque la linéarité du spectromètre de masse satisfait les conditions posées au *paragraphe 4* des instructions pratiques « *Système d'assurance de la qualité – analyse des HAP, des PCB et des dioxines dans les sols* »².

34 Préparation des étalons internes

Avant l'emploi, il faut nettoyer soigneusement la nacelle à pesée et la spatule avec du cyclohexane, dans le bain à ultrasons. On place l'étalon interne dans un ballon jaugé de 25 mL. La concentration des deux composés utilisés comme étalon interne, le 3,6-diméthylphénanthrène et le 2,2'-binaphthyle, doit être de 320±30 ng/μL, ce qui correspond à une pesée de 8±0.8 mg pour chaque composé, en utilisant un ballon jaugé de 25 mL. Après avoir pesé chaque substance, on rince la spatule avec du cyclohexane prélevé avec une pipette Pasteur et on la sèche avec du papier ménage.

On rince le contenu de la nacelle à pesée avec du cyclohexane dans le ballon jaugé de 25 mL et on le remplit presque jusqu'au trait de jauge. On place ensuite le ballon jaugé dans un bain à ultrasons, jusqu'à dissolution complète. Après refroidissement, on rajoute le solvant encore manquant. On marque le ballon jaugé, on le pèse et on le conserve au congélateur à -20 °C.

² cf. OFEFP, L'environnement pratique, 27 p., (janvier 2000) - en allemand, français, italien et anglais.

La durée de conservation est de 24 mois. On reporte toutes ces données, ainsi que les pertes de poids intervenues lors du prélèvement, dans le répertoire des étalons.

On porte le ballon jaugé à température ambiante et on contrôle son poids. On compense les pertes de solvant jusqu'à la dernière pesée de contrôle. On transfère chaque fois 1 mL comme étalon de travail, dans un tube à essais de 1.5 mL avec une ouverture capillaire (CERTAN[®]), que l'on conserve au réfrigérateur à 4-6 °C. On remplace cette solution de travail tous les six mois.

35 Préparation de l'étalon de récupération

Avant l'emploi, il faut nettoyer soigneusement la nacelle à pesée et la spatule avec du cyclohexane dans le bain à ultrasons. On place l'étalon de récupération dans un ballon jaugé de 25 mL. La concentration de l'étalon de récupération, l'indéno(1,2,3-cd)fluoranthène, doit être de 320 ± 30 ng/ μ L, ce qui correspond à une pesée de 8 ± 0.8 mg pour chaque composé, en utilisant un ballon jaugé de 25 mL. Après avoir pesé chaque substance, on rince la spatule avec du cyclohexane prélevé avec une pipette Pasteur et on la sèche avec du papier ménage.

On rince le contenu de la nacelle à pesée avec du cyclohexane dans le ballon jaugé de 25 mL et on le remplit presque jusqu'au trait de jauge. On place ensuite le ballon jaugé dans un bain à ultrasons, jusqu'à dissolution complète. Après refroidissement, on rajoute le solvant encore manquant. On marque le ballon jaugé, on le pèse et on le conserve au congélateur à -20 °C. La durée de conservation est de 24 mois. On reporte toutes ces données, ainsi que les pertes de poids lors du prélèvement, dans le répertoire des étalons.

On porte le ballon jaugé à température ambiante et on contrôle son poids. On compense les pertes de solvant jusqu'à la dernière pesée de contrôle. On transfère chaque fois 1 mL comme étalon de travail, dans un tube à essais de 1.5 mL avec une ouverture capillaire (CERTAN[®]), que l'on conserve au réfrigérateur à 4-6 °C. On remplace ces solutions de travail tous les six mois.

36 Préparation de l'étalon de contrôle

On utilise cet étalon pour contrôler la sécurité de mesure et la reproductibilité de la quantification (cf. *paragr. 74*). On le quantifie régulièrement par rapport à l'étalon de quantification, comme une solution inconnue; il contient les composés suivants:

| | |
|---------------------------|------------------------------------|
| 2,2'-binaphthyle (ISTD I) | 3,6-diméthylphénanthrène (ISTD II) |
| Benzo(a)anthracène | Benzo(a)pyrène |
| Phénanthrène | Fluoranthène |

On prépare et on conserve une solution d'étalon de contrôle avec une concentration de 5 ± 2 ng/ μ L, comme décrit au *paragraphe 33*.

37 Assurance de la qualité

On conserve tous les étalons de base, interne et de récupération à 4-6 °C. Leur durée de conservation est de 24 mois. Il ne faut pas faire de pesée de contrôle (pertes par évaporation <1 mg pendant six mois) des étalons de travail conservés dans des tubes à essais avec une ouverture capillaire (CERTAN[®]). On ne peut les utiliser que pendant six mois au maximum.

Avant de pouvoir les utiliser, il faut comparer avec les étalons utilisés précédemment tous les étalons de référence et de travail nouvellement préparés. Les écarts situés à l'intérieur de la plage de reproductibilité de la méthode de quantification ($\pm 10\%$) sont acceptables. Il faut contrôler au moins une fois par an les étalons de base par rapport à un étalon de référence certifié ou par rapport à l'étalon de référence d'un essai interlaboratoires reconnu. Comme les étalons de référence, on les traite et on les conserve à -20 °C.

4 Préparation des échantillons

41 Remarques préliminaires

Les échantillons de sols ne doivent contenir aucun matériau biologique (racines, résidus d'herbe). On conserve les échantillons dans des bouteilles à col large d'un volume de 0.5-1 L (cf. *paragr. 211*). Il faut laver les bouteilles déjà utilisées, comme indiqué au *paragraphe 217*. Par contre, il n'est pas nécessaire de chauffer les bouteilles neuves à plus de 350 à 450 °C.

42 Séchage et fractionnement des échantillons par tamisage

On place tous les échantillons sur une capsule de Petri et on les sèche à l'étuve à 40 °C, jusqu'à poids constant (24 à 72 h). On calcule leur teneur en eau. On broie les échantillons grumeleux dans un mortier en porcelaine avec un pistil. On tamise ensuite tous les échantillons à travers une maille de 2 mm.

43 Extraction des échantillons

On pèse 10 à 25 g de la fraction ≤ 2 mm dans une cartouche Soxhlet (28x80 mm; cf. *paragr. 211*) et on ajoute 10 à 50 μL de la solution d'étalon interne au milieu de l'échantillon (cf. *paragr. 34 et 45*). On place une petite quantité de coton nettoyé tout en haut de la cartouche et on extrait ensuite l'échantillon dans un extracteur Soxhlet de 200 mL, avec 300 mL de cyclohexane, pendant 24 h (≥ 6 cycles par heure). On isole thermiquement l'extracteur (en l'emballant dans une natte en mousse de polyuréthane).

44 Elimination du soufre élémentaire et des composés soufrés

Les sols ne contiennent souvent que peu de soufre, ce qui ne perturbe pas la détection par spectrométrie de masse. La phase suivante n'est nécessaire qu'en cas de perturbation de la détection GC. La méthode proposée est très efficace.

Dans la mesure du possible, on ne doit plus utiliser de mercure au laboratoire. Il faut donc lui préférer les techniques alternatives mentionnées au *paragraphe 73* des instructions pratiques « *Système d'assurance de la qualité - Analyse des HAP, des PCB et des dioxines dans les sols* ». Comme la méthode décrite ici a été validée avec le mercure, il faut à la rigueur également valider cette phase de la méthode.

On évapore l'extrait d'échantillon avec un évaporateur rotatif, dans un ballon de 15 mL environ (température du bain-marie: 37 °C, pression: 10 kPa, c'est-à-dire 100 mbar), puis on le transfère dans un becher de 50 mL. On ajoute suffisamment de mercure métallique pour recouvrir 10 % du fond environ. On pose un verre de montre sur le becher et on le traite pendant 20 min dans le bain à ultrasons. Si l'on ne voit plus la surface du mercure métallique pendant le mouvement de l'échantillon, il faut répéter le procédé avec du mercure supplémentaire.

On transfère l'extrait complètement traité ainsi que la solution de rinçage (3x3 mL de cyclohexane) dans des tubes à centrifuger et on les centrifuge pendant 15 min à 2'000 t/min. On transfère la phase cyclohexane, au moyen d'une pipette Pasteur, dans un récipient Turbovap et on le réduit à 1 mL environ dans une installation Turbovap 500. L'échantillon est maintenant prêt pour la préparation de l'extrait.

45 Quantité d'étalon interne ajoutée aux échantillons

La quantité d'étalon interne qu'il faut ajouter aux échantillons dépend aussi bien de la quantité d'échantillons à préparer que de la concentration prévue. Les quantités données ci-après correspondent à une valeur indicative, qu'il faut adapter, le cas échéant, aux besoins de l'échantillon. En principe, la règle est que la quantité d'étalon interne ajoutée doit correspondre à peu près à la moyenne des quantités de HAP prévues.

Valeurs indicatives

- **Matériaux non contaminés:** quantité d'échantillon: 40-50 g (éventuellement deux extractions Soxhlet), quantité d'étalon interne ajoutée: 30 µL (env. 10'000 ng par HAP), quantité d'étalon de récupération ajoutée: 20 µL (env. 6'400 ng).
- **Matériaux contaminés:** quantité d'échantillon: 5-10 g (éventuellement plus grande quantité, mais préparer seulement une partie aliquote de l'extrait), quantité d'étalon interne ajoutée: 30 µL (env. 10'000 ng par HAP), quantité d'étalon de récupération ajoutée: 20 µL (env. 6'400 ng).

5 Préparation de l'extrait

51 Remarques préliminaires

Suivant la charge de l'échantillon, il ne faut exécuter que partiellement, avec des restes de matrice, les phases de préparation de l'extrait décrites ci-après. Toutefois, il faut toujours appliquer la phase d'extraction liquide/liquide.

52 Extraction liquide/liquide

La première phase de préparation de l'extrait s'effectue par une extraction liquide/liquide, afin de séparer les hydrocarbures des autres composés polaires. Ceux-ci ne peuvent conduire à aucun complexe de transport de charges faible avec la diméthylformamide, comme cela est possible avec les HAP, suite à la présence d'électrons π .

On prépare un mélange diméthylformamide (DMF)/eau 9+1 (180 mL de DMF et 20 mL d'eau MilliQ, par ex.), puis on procède comme suit:

- On transfère l'extrait d'échantillon de 4 mL environ dans un tube à centrifuger de 15 mL. On ajoute 3.2 ± 0.1 mL de mélange DMF/H₂O 9+1 avec une pipette de 5 mL. On met le bouchon en verre et on agite vigoureusement pendant 30 secondes.
- On place les tubes à centrifuger dans la centrifugeuse et on les centrifuge pendant 5 min à 2'500 t/min. On aspire la phase cyclohexane avec une pipette et on la transfère dans un nouveau tube à centrifuger. On ajoute 1.2 ± 0.1 mL de mélange DMF/H₂O 9+1 avec la pipette, puis on agite et on centrifuge à nouveau. On transfère ensuite la phase DMF/H₂O dans le premier tube à centrifuger.
- On ajoute 5.2 ± 0.2 mL d'eau (pipette de 10 mL) et 3.2 ± 0.1 mL de cyclohexane (volume total environ 13 mL) dans le tube à centrifuger contenant la phase DMF/H₂O. On met le bouchon en verre et on agite vigoureusement pendant 30 secondes. On prélève ensuite la phase cyclohexane avec une pipette Pasteur et on la transfère dans un tube à centrifuger.
- On ajoute 1.0 ± 0.1 mL de cyclohexane dans la phase DMF/H₂O restante et on l'agite à nouveau, comme décrit ci-dessus (cf. paragraphe précédent).
- On lave les extraits de cyclohexane avec 2 mL d'eau et, après transfert dans un nouveau tube en verre, on les sèche avec 1 g de Na₂SO₄.
- Enfin, on transfère l'extrait d'échantillon dans un récipient Turbovap et on lave le Na₂SO₄ avec 1 mL de cyclohexane.
- On réduit ensuite l'extrait d'échantillon au Turbovap, jusqu'au volume souhaité (valeur indicative 1 mL) et, si nécessaire, on le lave encore dans une colonne de gel de silice.

53 Lavage au gel de silice

531 Remplissage de la colonne

On remplit avec les produits suivants la colonne de chromatographie décrite au *paragraphe 211*, de bas en haut et à sec, puis on la compacte avec un vibreur:

- un peu de coton nettoyé (cf. *paragr. 222.2*);
- 2 g de Na₂SO₄ (cf. *paragr. 222.4*);
- 5 g de gel de silice (cf. *paragr. 222.3*);
- 2 g de Na₂SO₄ (cf. *paragr. 222.4*).

On remplit et on rince ensuite deux fois la colonne avec du n-hexane.

532 Fractionnement des extraits d'échantillons

On introduit sur la colonne, avec une pipette Pasteur, tout l'extrait de l'échantillon ou, pour les sols plus pollués, une quantité aliquote correspondant à 2 g de sol environ. Dans ce cas, il

faut mesurer exactement le volume de l'échantillon, afin de pouvoir corriger les taux de récupération. Après introduction de tout l'extrait, on rince deux fois avec 1 mL de n-hexane.

On élue ensuite la fraction de HAP avec 40 mL d'un mélange n-hexane/toluène 7+3 et on la transfère dans un récipient du Turbovap. On réduit l'extrait à 1 mL environ dans un Turbovap 500. On peut ensuite encore réduire l'extrait à 200-300 μ L au minimum avec un courant d'azote. Toutefois, le courant de gaz ne doit pas faire onduler la surface du solvant. L'échantillon est maintenant prêt pour la quantification.

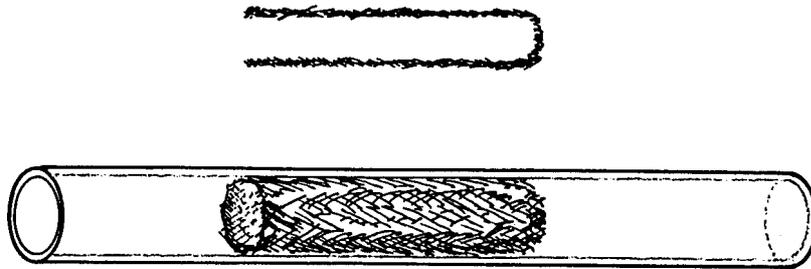
Si des signaux parasites apparaissent dans le chromatogramme, à cause d'une proportion trop élevée de toluène résiduel (épaules, doubles signaux etc.), il faut changer de solvant et utiliser le cyclohexane. Ajouter 5-10 mL en 2 à 3 portions; réduire entre chacune à nouveau à 1 mL.

6 Analyse quantitative

61 Remarques préliminaires

Avant d'effectuer l'analyse quantitative, il faut ajouter à tous les extraits d'échantillons, au moyen d'une seringue de dosage ou d'une micropipette à usage unique, la quantité d'étalon de récupération mentionnée au *paragraphe 45*. Si nécessaire, on réduit le volume de l'échantillon à 200-300 μ L en soufflant avec précaution de l'azote pur. On peut ensuite injecter les quantités d'échantillons mentionnées au *paragraphe 624*.

Figure 1: Positionnement et structure de la laine de verre lors de l'emploi de l'auto-injecteur.



62 Séparation par chromatographie en phase gazeuse

621 Appareillage

- Chromatographe en phase gazeuse.
- Injecteur pour l'injection continue, éventuellement auto-injecteur. Volume du capillaire de vaporisation: 1 mL au minimum. Si l'on utilise un auto-injecteur, il faut remplir le capillaire avec de la laine de verre silanisée; celle-ci est modélée comme une petite cartouche Soxhlet (cf. *fig. 1*).

622 Seringues d'injection

Pour l'injection manuelle, on utilise des seringues de 5 ou 10 μL avec une aiguille rigide, non interchangeable, et un piston métallique. Il en est de même pour l'auto-injecteur.

623 Capillaires de séparation

On utilise les capillaires de séparation suivants:

- *5%-phényl-95%-méthylpolysiloxane*: p. ex. DB5, Ultra 2, CP-Sil 8, RTx5 ou similaire, immobilisé, épaisseur de film 0.1 μm .
- *Dimensions des capillaires*: capillaires en quartz revêtu de polyimide, longueur 25 m, diamètre intérieur 0.25 mm.

624 Conditions d'injection et de séparation

- *Gaz porteur*: He, vitesse du flux 35-45 cm/s.
- *Débit de gaz à l'échappement*: 50 \pm 10 mL He/min.
- *Rinçage du septum*: 0.8-1.0 mL He/min.
- *Température d'injection*: 280 °C.
- *Température d'interface GC/MS*: 260 °C.

Conditions d'injection: injection continue (auto-injecteur ou injection avec aiguille chaude) d'un échantillon de 1 à 3 μL , temps d'attente 2 min avant l'ouverture du robinet de décharge.

Programme de température: 40 °C, temps d'attente 2 min, 40-100 °C avec 30 °C/min, 100-300 °C avec 10 °C/min, 300 °C isotherme (5-10 min).

Injection manuelle avec une aiguille chaude: cette technique permet de transférer quantitativement (>90 %) dans le capillaire même les HAP très peu volatils:

- Aspirer l'échantillon dans la seringue jusqu'à ce que l'aiguille soit vide (volume d'air visible de 2-3 mm).
- Introduire l'aiguille vide et attendre 5 à 10 s (l'aiguille est chauffée).
- Injecter l'échantillon; la surpression provoquée par la vaporisation du solvant extrait l'échantillon de l'aiguille sous forme de gouttelettes d'aérosol.

Comme variante, on peut utiliser l'injection « *on-column* » – dans une pré-colonne désactivée, mais pas chargée (« *retention gap* ») de 2 m de long et de 0.32 à 0.53 mm de diamètre intérieur environ.

Il faut contrôler la plage de temps de mesure pour chaque groupe d'ions (cf. *paragr. 632*), avec un échantillon dopé ou un mélange étalon. Un contrôle précis de toutes les plages de temps de mesure n'est nécessaire que lorsqu'on utilise un nouveau capillaire de séparation pour la première fois ou lorsque les temps de rétention ont beaucoup changé (>30 s). Normalement, il suffit de corriger les plages des temps de rétention de chaque groupe – selon la différence de temps de rétention avec le fluoranthène.

63 Quantification par spectrométrie de masse

631 Appareillage

On utilise un spectromètre de masse avec ionisation électronique (IE). Dans les conditions de détection décrites au *paragraphe 632*, il faut atteindre les limites d'indication typiques suivantes pour la quantité totale d'échantillon (rapport signal/bruit 3:1 pour le signal GC): pour une injection de 1 μL d'extrait d'échantillon, 10 à 100 pg environ. Un volume d'échantillon de 50 μL , par exemple, correspond à une quantité totale de 0.5 à 5 ng par échantillon.

632 Conditions d'optimisation et de détection

- Optimisation manuelle du rendement ionique de la source d'ions et de la transmission du spectromètre de masse quadripolaire, avec de la perfluortributylamine (PFTBA), à l'aide de masses fragmentaires m/z 119.0, 219.0, 264.0 ou 414.0. On règle la largeur du signal à mi-hauteur à 0.55 ± 0.03 u et on étalonne l'échelle de masse avec une précision de ± 0.05 u.
Energie des électrons: 70 eV (IE), température de la source ionique 200 °C.
- Détection des ions M^+ et des fragments $[M-2H]^+$ – resp. $[M-26]^+$ pour des HAP non substitués ou des ions M^+ – et $[M-15]$ pour des HAP substitués par le groupe méthyle. On amorce le spectromètre de masse en mode SIM (« *Selected Ion Monitoring* »). Temps de mesure (« *dwel time* »): 50 ms/ion ou au moins 10 à 12 points de mesure par signal – au total ≤ 11 ions par groupe.

Pour la quantification, on utilise le programme SIM qui figure dans le *tableau 3*. Il faut déterminer par un étalonnage de masse dynamique la masse exacte qui donne le meilleur rapport signal/bruit (rapports signal/bruit d'environ -0.2 à +0.2 u de la masse nominale). Il faut choisir le temps de mesure total par groupe, de manière à définir chaque signal de chromatographie en phase gazeuse avec au moins 10 à 12 points de mesure.

Tableau 3: Masses arrondies des groupes d'ions pour la quantification des HAP par GC/-MS. Les mesures exactes se trouvent au maximum 0.1 u plus haut. Pour la quantification, on utilise l'ion ayant la masse la plus élevée.

| Groupe 1 m/z | Groupe 2 m/z | Groupe 3 m/z |
|-------------------|-------------------|-------------------|
| 128/126 resp. 102 | 178/176 resp. 152 | 254/252 resp. 226 |
| 142/141 resp. 127 | 202/200 resp. 176 | 276/274 resp. 250 |
| 152/150 resp. 126 | 216/201 | 278/276 resp. 252 |
| 154/152 resp. 128 | 228/226 resp. 202 | |
| 166/164 resp. 140 | | |

64 Exécution de la quantification

Une fois l'analyse terminée, on imprime toutes les surfaces intégrées et les fragmentogrammes de masse de chaque HAP. On évalue visuellement la qualité de l'analyse à l'aide des points suivants (cf. également *paragr. 7* « *Assurance de la qualité* »):

- Les fragmentogrammes de masse contiennent-ils des signaux d'interférences? Manque-t-il des composés HAP qui devraient être présents dans les échantillons, ou y a-t-il des signaux secondaires qui n'en font pas partie?
- Les temps de rétention des composés HAP sont-ils justes, par rapport à ceux de l'étalon de référence (cf. *paragr. 76*)?
- La séparation par chromatographie en phase gazeuse est-elle suffisante (cf. instructions pratiques « *Système d'assurance de la qualité – Analyse des HAP, des PCB et des dioxines dans les sols* »)?
- Le rapport signal/bruit est-il suffisant pour une détermination quantitative?

Par ailleurs, toutes les exigences correspondantes mentionnées dans les instructions pratiques « *Système d'assurance de la qualité – Analyse des HAP, des PCB et des dioxines dans les sols* » doivent être respectées.

C'est seulement lorsque tous les points mentionnés ci-dessus ont été jugés corrects que l'on calcule les concentrations dans l'échantillon. On utilise, à cet effet, un programme de calcul de tableaux installé sur un programme approprié du commerce, ou bien le programme de quantification fourni par le fabricant du spectromètre de masse.

On effectue tous les calculs selon le principe suivant:

- On calcule les facteurs de rétention relatifs rf_i de chaque composé HAP i par rapport au composé comme étalon interne correspondant (ISTD). On utilise pour cela les surfaces intégrées et les concentrations de l'étalon de quantification:

$$rf_i = \frac{\text{conc. PAH}_i \times \text{surface ISTD}}{\text{conc. ISTD} \times \text{surface PAH}_i}$$

rf_i : facteur de rétention relatif au PAH_i et à l'étalon interne ISTD
 conc.: concentration dans l'étalon de quantification

- On calcule la quantité totale du composé HAP i dans l'échantillon. On a besoin, pour ce faire, des surfaces intégrées du HAP_i et de l'étalon interne ISTD, ainsi que de la quantité totale d'ISTD utilisée pour l'échantillon:

$$M_i = \frac{\text{quantité d'ISTD} \times \text{surface PAH}_i \times rf_i}{\text{surface ISTD}}$$

M_i : quantité totale de PAH_i dans l'échantillon
 Quantité d'ISTD: quantité totale d'ISTD ajoutée dans l'échantillon

- On calcule la concentration de l'échantillon en divisant la quantité totale M_i par la quantité d'échantillon préparée.
- On calcule le taux de récupération W_i de l'ISTD (ajouté comme étalon interne avant la préparation de l'extrait) en %, à l'aide de l'étalon de récupération (étal. réc.). On ajoute celui-ci à l'échantillon immédiatement avant la quantification:

$$rf_w = \frac{\text{conc. ISTD} \times \text{surface étal. réc.}}{\text{conc. étal. réc.} \times \text{surface ISTD}}$$

rf_w : facteur de rétention de l'ISTD par rapport à l'étalon de récupération

$$W(\%)_i = \frac{\text{quantité étal. réc.} \times \text{surface ISTD} \times rf_w \times 100}{\text{quantité totale ISTD ajoutée} \times \text{surface étal. réc.}}$$

$W(\%)_i$: récupération en % de l'ISTD ajouté
 quantité étal. réc.: quantité totale d'étalon de récupération ajoutée à l'échantillon
 quantité totale ISTD ajoutée: quantité totale d'ISTD ajoutée à l'échantillon

7 Assurance de la qualité

71 Contrôle des solutions étalons pour la quantification

Tous les étalons de référence solides et les étalons de base sont stockés à 4-6 °C à l'obscurité et ont une durée de conservation illimitée. Les étalons de travail conservés à 4-6 °C dans des bouteilles d'échantillonnage avec ouverture capillaire ont, en six mois, des pertes par évaporation <1 mg et une durée de conservation de six mois. Les étalons de travail conservés dans des tubes à essais d'usage courant ne peuvent être utilisés que pendant deux mois au maximum.

Avant de les utiliser, il faut comparer avec l'étalon utilisé auparavant tous les étalons de base nouvellement préparés. Des écarts situés à l'intérieur des limites de répétabilité de la méthode de quantification ($\pm 10\%$), sont acceptables. Il faut contrôler au moins une fois par an l'étalon de base, par rapport à un étalon de référence certifié ou à un étalon de référence d'un essai interlaboratoires.

On ne peut obtenir, actuellement, que des solutions étalons qui ont été préparées par des entreprises commerciales spécialisées et reconnues. La précision garantie est de $\pm 5\%$.

Des différences de concentrations entre les étalons de différents laboratoires sont acceptables et considérées comme normales si elles n'excèdent pas 10 %.

72 Fréquence d'injection de l'étalon de quantification

Il faut injecter l'étalon de quantification (avec une linéarité suffisante) ou la série d'étalonnage avant chaque série d'échantillons et au moins tous les dix échantillons. Lors de séries d'échantillons comportant moins de dix échantillons, il faut injecter encore une fois l'étalon après le dernier échantillon.

73 Valeurs à blanc lors de l'extraction et de la préparation de l'extrait

On trouve sur ce sujet un résumé dans les instructions pratiques « *Système d'assurance de la qualité - Analyse des HAP, des PCB et des dioxines dans les sols* ». Pour une méthode complète (préparation des échantillons/extraction/préparation/quantification), il faut contrôler les valeurs à blanc de tous les HAP mesurés, dans les situations suivantes:

- lors d'analyse d'échantillons avec des différences de concentrations <20, au plus tard après 10 échantillons sur le même système de préparation;
- lors du transfert d'une matrice d'échantillon sur d'autres, lorsque le niveau de concentration prévu est au moins dix fois inférieur;
- après un nettoyage complet ou une remise en état du système de séparation;
- après l'analyse d'un échantillon ayant des concentrations anormalement élevées (facteur >100 fois les concentrations « normales »);
- pour des échantillons très importants, dont le niveau de concentration est inconnu, il faut toujours contrôler préalablement la valeur à blanc de l'unité de préparation utilisée.

Pour pouvoir accepter les résultats d'un essai à blanc, les conditions suivantes doivent être respectées:

- les valeurs à blanc de tous les HAP satisfont les limites de détection pour un rapport signal/bruit de 3:1, ou se trouvent au moins d'un facteur 10 au-dessous des plus faibles concentrations mesurées;
- les taux de récupération de l'étalon interne ajouté se situent entre 70 % et 110 %.

74 Analyse des échantillons témoins

Les méthodes d'analyse et de quantification des HAP sont basées sur l'emploi d'étalons internes comme étalon de préparation de l'extrait et étalon de récupération. Cette technique présente l'avantage qu'il existe pour chaque échantillon analysé une assurance de la qualité complète sous forme de calcul des taux de récupération de l'étalon interne ajouté. De plus, l'assurance de la qualité décrite exige un contrôle relativement fréquent des valeurs à blanc (tous les 10 échantillons environ). La méthode utilisée à cet effet est identique à celle d'un échantillon réel. Il ne manque que la matrice d'échantillon.

On contrôle la reproductibilité de la quantification en analysant régulièrement l'étalon de contrôle. On injecte celui-ci tous les 20 échantillons de HAP ou après le dernier. Pour chaque composé de HAP, on reporte les résultats dans un diagramme de contrôle.

Suite aux mesures précitées pour le contrôle de la qualité, un contrôle supplémentaire de la méthode d'analyse n'est nécessaire que dans une mesure limitée. De plus, on analyse quatre fois par an un échantillon de référence certifié, p. ex. SRM 1941 HAP dans des sédiments (NIST), CRM 524 HAP dans des sols pollués ou CRM 535 HAP dans des sédiments d'eau douce pollués (matériel de référence pour ces derniers: *Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM, Geel, Belgique*). La différence entre les résultats d'analyse et les valeurs certifiées ne doit pas excéder ± 10 %.

Etant donné que les coûts et le temps nécessaire aux essais interlaboratoires sont très élevés pour les HAP, on n'organise que peu d'inter-étalonnages pour les HAP dans différentes matrices d'échantillons. L'objectif est de participer au moins une fois par année à un essai interlaboratoires pour les HAP.

75 Archivage des informations d'assurance de la qualité

Les particularités figurent dans les instructions pratiques « *Système d'assurance de la qualité - Analyse des HAP, des PCB et des dioxines dans les sols* ».

76 Homologation des résultats

Un résumé figure dans les instructions pratiques « *Système d'assurance de la qualité - Analyse des HAP, des PCB et des dioxines dans les sols* ». On retiendra notamment que:

- le temps de rétention d'un composé HAP doit se trouver à l'intérieur d'une fenêtre de ± 3 s par rapport au temps de rétention de l'étalon de quantification;
- le rapport des surfaces entre les deux ions mesurés d'un composé HAP doit se trouver dans les ± 20 % de chaque valeur trouvée pour l'étalon de quantification;
- le rapport signal/bruit doit être d'au moins 3:1 pour une détection et 10:1 pour une quantification;
- le taux de récupération de l'étalon interne ajouté doit être situé entre 50 % et 110 % par rapport à l'étalon de récupération ajouté.

8 Précision et reproductibilité de la méthode

- La précision de la concentration de l'étalon de référence obtenu est de ± 5 %.
- L'écart type d'au moins cinq analyses parallèles d'un échantillon homogène est de ± 10 %. Pour des échantillons difficiles à homogénéiser, on accepte ± 20 %.
- La méthode complète a été, de plus, validée dans des essais interlaboratoires, la dernière fois en 1995, grâce à la participation à l'inter-étalonnage de l'*International Atomic Energy Agency* (organisé pour les matrices plus difficiles « sédiments »)³. Les écarts types de la valeur moyenne des vingt-deux laboratoires participants étaient de 15 % environ.
- L'analyse de séries de longue durée d'échantillons témoins a donné une plage d'incertitude de mesure de ± 10 -25 %.

³ International Atomic Energy Agency, Marine Environment Laboratory, MC 98012 Monaco, Report of December 11, 1995.

9 Bibliographie

Le *paragraphe 74* des instructions pratiques « *Système d'assurance de la qualité - Analyse des HAP, des PCB et des dioxines dans les sols* » comprend une bibliographie détaillée des méthodes utilisées dans les présentes recommandations de méthodes. Il contient, en outre, des données sur des techniques alternatives et des points critiques qui pourraient constituer une source de problèmes.
