



Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air



Développement de matériaux de référence pour les HAP

NOVEMBRE 2009 – VERSION FINALE
Convention : 0005981

*Maryline Peignaux, Julie Cabillic,
Béatrice Lalere, Tatiana Macé*



PREAMBULE

Le Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air

Le Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air est constitué de laboratoires de l'Ecole des Mines de Douai, de l'INERIS et du LNE. Il mène depuis 1991 des études et des recherches finalisées à la demande du Ministère chargé de l'environnement, sous la coordination technique de l'ADEME et en concertation avec les Associations Agréées de Surveillance de la Qualité de l'Air (AASQA). Ces travaux en matière de pollution atmosphérique supportés financièrement par le Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement Durable et de la Mer (MEEDDM) sont réalisés avec le souci constant d'améliorer le dispositif de surveillance de la qualité de l'air en France en apportant un appui scientifique et technique aux AASQA.

L'objectif principal du LCSQA est de participer à l'amélioration de la qualité des mesures effectuées dans l'air ambiant, depuis le prélèvement des échantillons jusqu'au traitement des données issues des mesures. Cette action est menée dans le cadre des réglementations nationales et européennes mais aussi dans un cadre plus prospectif destiné à fournir aux AASQA de nouveaux outils permettant d'anticiper les évolutions futures.

RESUME

Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont des agents carcinogènes génotoxiques pour l'homme et leurs effets sur la santé sont principalement dus aux concentrations retrouvées dans l'air ambiant, et en particulier sur les particules. C'est pourquoi la directive 2004/107/CE (4^{ème} directive fille) a établi la nécessité d'améliorer la surveillance et l'évaluation de la qualité de l'air, en introduisant le suivi des HAP et plus particulièrement du benzo(a)pyrène (B[a]P).

Cette surveillance des HAP implique deux étapes : des prélèvements d'air ambiant sur filtres effectués par les AASQA et l'analyse de ces prélèvements en laboratoire afin de déterminer les concentrations de HAP.

La pertinence d'un tel dispositif de surveillance de l'air repose sur la qualité des informations obtenues. Elle peut être garantie de façon pérenne en développant des processus de quantification impliquant un raccordement des mesures réalisées par les AASQA à un même étalon de référence détenu par un laboratoire de référence. Cette procédure permet d'assurer la traçabilité des mesures réalisées sur site et de comparer les mesures effectuées par l'ensemble des AASQA dans le temps et dans l'espace.

Dans le cas des analyses en laboratoire, le LNE a, entre autres, pour objectif d'établir la traçabilité métrologique des résultats d'analyse en développant des matériaux de référence certifiés (MRC) caractérisés avec des méthodes de référence primaires : l'utilisation de ces MRC lors des analyses en laboratoire permet de s'assurer de la justesse et de la fidélité des résultats et de valider la méthode d'analyse. De plus, ces MRC peuvent également être pris comme échantillons lors d'essais inter laboratoires afin de pouvoir disposer de valeurs de référence et non de valeurs moyennes.

Une synthèse bibliographique sur les MRC de HAP a été réalisée en 2006 et a permis de mettre en évidence que les références de certains MRC disparaissent des catalogues : ceci est le cas des MRC de particules dans l'air qui sont rarement renouvelés, contrairement à d'autres matrices comme les sédiments et les biotes.

De plus, il a été montré que seulement deux types de MRC dans les particules étaient disponibles : un pour l'analyse des particules diesel et l'autre pour l'analyse de poussières dans les habitations. Mais, ces matériaux proposés ne sont pas représentatifs des particules prélevées dans l'air ambiant.

C'est pourquoi le LNE a proposé de développer un MRC adapté à la problématique de la mesure des HAP dans l'air ambiant.

La production d'un tel MRC comprend plusieurs phases :

- Le développement de la méthode d'analyse permettant de caractériser le MRC. Elle comprend plusieurs étapes : une extraction des HAP de la matrice, une purification de l'extrait, une séparation des composés et leur détection. L'étape la plus délicate et qui est source prépondérante d'incertitudes est liée à l'extraction.
- La mise au point de la méthode de dopage de particules avec les HAP.
- L'étude d'homogénéité et de stabilité du lot de particules.

L'année 2009 a été principalement consacrée à finaliser les conditions d'extraction afin d'atteindre un rendement proche de 100%.

Les résultats de l'étude montrent que l'extraction est une étape délicate du processus d'analyse des HAP : en effet, il est nécessaire de mettre en œuvre des conditions permettant d'extraire principalement les composés recherchés tout en préservant leur intégrité (s'assurer que la structure de la molécule n'est pas modifiée). Il est donc nécessaire d'optimiser un grand nombre de paramètres pour obtenir des rendements d'extraction maximaux.

Les différents paramètres testés ont été les suivants : la température d'extraction, le type de solvant d'extraction, le type de matrice de remplissage...

Cependant, malgré l'optimisation de ces paramètres, le problème de sous-estimation des concentrations par rapport à la valeur du Matériau de Référence Certifié n'a pas pu être résolu pour certains composés. Il sera donc nécessaire de tester d'autres paramètres tels que la pression ou le temps d'extraction.

Une grande importance est attachée à ces essais, car ils permettront de réduire au maximum les incertitudes liées à la détermination des concentrations en HAP lors du développement du MRC. Cette étape d'optimisation est indispensable pour poursuivre dans les meilleures conditions le projet de développement d'un matériau de référence pour les HAP.

C'est pour cette raison que ces essais seront poursuivis en 2010.

De plus, en 2010, le LNE fabriquera un MRC synthétique de particules dont les caractéristiques seront suffisamment bien décrites en termes de physico-chimie et qui permettra de valider le protocole analytique (évaluation de la perte des composés, blanc de laboratoire...). L'avantage résidera également dans le fait que le dopage pourra être adapté aux teneurs de la réglementation en vigueur, ainsi qu'aux limites de quantification annoncées par les laboratoires ou à des besoins exprimés par les membres du LCSQA.

SOMMAIRE

| | |
|---|-----------|
| 1. CONTEXTE | 1 |
| 2. OBJECTIFS | 1 |
| 3. RAPPEL DES TRAVAUX ANTERIEURS | 2 |
| 4. OPTIMISATION DE LA METHODE D'EXTRACTION | 4 |
| 4.1. Description de la méthode d'extraction par ase..... | 4 |
| 4.2. Dégradation des HAP due à la lumière | 5 |
| 4.3. Influence de la température d'extraction..... | 5 |
| 4.4. Influence de la stabilisation apres ajout des molecules marquées a l'échantillon | 7 |
| 4.5. Influence de la matrice de remplissage..... | 8 |
| 4.6. Influence de l'étalonnage..... | 9 |
| 4.7. Influence du solvant d'extraction | 10 |
| 4.8. Influence de l'augmentation du nombre de cycle de renouvellement du solvant | 11 |
| 5. ESSAI DE CARACTERISATION POUR LA CERTIFICATION D'UN MRC ORGANISE PAR L'IRMM EN 2009 | 12 |
| 5.1. Introduction | 12 |
| 5.2. Essai de caractérisation de 2009 | 12 |
| 6. CONCLUSION GENERALE | 13 |
| 7. PERSPECTIVES | 14 |
| 8. ANNEXE : PROGRAMME DE TRAVAIL 2009 | 15 |

1. CONTEXTE

Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont des agents carcinogènes génotoxiques pour l'homme et leurs effets sur la santé sont principalement dus aux concentrations retrouvées dans l'air ambiant, et en particulier sur les particules. C'est pourquoi la directive 2004/107/CE (4^{ème} directive fille) a établi la nécessité d'améliorer la surveillance et l'évaluation de la qualité de l'air, en introduisant le suivi des HAP et plus particulièrement du benzo(a)pyrène (B[a]P).

Cette surveillance des HAP implique deux étapes : des prélèvements d'air ambiant sur filtres effectués par les AASQA et l'analyse de ces prélèvements en laboratoire afin de quantifier les concentrations de HAP.

La pertinence d'un tel dispositif de surveillance de l'air repose sur la qualité des informations obtenues qui peut être garantie de façon pérenne en développant des processus de mesure impliquant un raccordement des mesures réalisées par les AASQA à un même étalon de référence détenu par un laboratoire de référence : cette procédure permet d'assurer la traçabilité des mesures réalisées sur site et de comparer les mesures effectuées par l'ensemble des AASQA dans le temps et dans l'espace.

Dans le cas des analyses en laboratoire, le LNE a, entre autres, pour objectif d'établir la traçabilité métrologique des résultats d'analyse en développant des matériaux de référence certifiés (MRC) caractérisés avec des méthodes de référence primaires : l'utilisation de ces MRC lors des analyses en laboratoire permet de s'assurer de la justesse et de la fidélité des résultats d'analyse et de valider la méthode d'analyse. De plus, ces MRC peuvent également être pris comme échantillons lors d'essais inter laboratoires afin de pouvoir disposer de valeurs de référence et non de valeurs moyennes.

NOTE Le programme de travail défini initialement pour l'année 2009 est fourni en annexe 1.

2. OBJECTIFS

Depuis de nombreuses années, les différents Laboratoires Nationaux de Métrologie (LNM) développent des matériaux de référence pour la détermination des HAP dans les différents domaines de l'environnement. En effet, ces composés ont un caractère ubiquiste, ce qui leur permet d'être retrouvés aussi bien dans l'eau, l'air, le sol et la biote. Ainsi, dès les années 70, le NIST, le BCR et d'autres LNM ont proposé des MRC de type : HAP dans les sédiments (SRM 1941b, SRM 1944, HS-6...), dans les sols (BCR 524), dans les boues de station d'épuration (BCR 088...), dans les biotes (SRM 2977, SRM 1974b...) et dans les particules dans l'air (SRM 1649...).

Une synthèse bibliographique sur les MRC de HAP a été réalisée en 2006. Elle a permis de montrer que les MRC décrits ci-dessus sont utilisés régulièrement par les laboratoires d'analyses pour valider ou surveiller la justesse de leur méthode. Toutefois, certaines références disparaissent des catalogues : ceci est le cas des MRC de particules qui sont rarement renouvelés, contrairement à d'autres matrices comme les sédiments et les biotes.

De plus, notre recherche a montré que seulement deux types de MRC dans les particules étaient disponibles : un pour l'analyse des particules diesel et l'autre pour l'analyse de poussières dans les habitations. Mais, ces matériaux proposés ne sont pas représentatifs, au niveau de la composition des particules et donc des interactions analytes-matrice, des particules prélevées dans l'air ambiant.

C'est pourquoi le LNE a proposé de développer un MRC adapté à la problématique de la mesure des HAP dans l'air ambiant.

La production d'un tel MRC comprend plusieurs phases :

- Le développement de la méthode d'analyse permettant de caractériser le MRC. Elle comprend plusieurs étapes : une extraction des HAP de la matrice, une purification de l'extrait, une séparation des composés et leur détection. L'étape la plus délicate et qui conduit aux incertitudes prépondérantes est celle de l'extraction.
- La mise au point de la méthode de dopage de particules avec les HAP.
- L'étude d'homogénéité et de stabilité du lot de particules produit.

3. RAPPEL DES TRAVAUX ANTERIEURS

La concentration des HAP dans les particules, sols ou sédiments est déterminée à partir d'un dosage mettant en œuvre une extraction sous solvant chaud pressurisé et la dilution isotopique associée à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (DI/CG-SM).

En 2009, la méthode d'analyse (détermination et quantification) des HAP par DI-CG/SM, avec l'utilisation d'HAP marqués au ^{13}C , a été développée et validée. Elle est réalisée à l'aide du couplage d'un chromatographe en phase gazeuse « Autosystem XL » et d'un spectromètre de masse quadripolaire « Turbomass » de chez Perkin-Elmer. La séparation des composés est réalisée sur une colonne apolaire (5% Phenyl-95% méthylpolysiloxane ; longueur : 60 m ; diamètre interne : 0,25 mm ; épaisseur de phase : 0,25 μm).

La méthode d'extraction n'avait pas pu être finalisée en 2008. En effet, à la suite des essais d'intercomparaison organisés par l'IRMM et le BIPM, nous avons mis en évidence une différence de comportement entre les HAP non marqués et les HAP deutérés lors de l'extraction. Les résultats de la dilution isotopique étaient donc surestimés (cf. Rapport LCSQA 2008 : Développement des MR pour les HAP).

Une étude bibliographique et des essais supplémentaires nous avaient permis de montrer que les HAP ^{13}C réagissaient de manière identique aux HAP non marqués et qu'ils seraient désormais utilisés pour la dilution isotopique.

De nouveaux essais ont donc été réalisés en février 2009. Les HAP ^{13}C ont été utilisés lors de l'analyse du SRM1944 du NIST (sédiments de canal de New York/New Jersey) contenant des HAP et des PCB dont les concentrations des composés étudiés sont les suivantes :

- Phénanthrène (Ph) : $5,27 \pm 0,22$ mg/kg
- Benzo[a]anthracène (B[a]A) : $4,72 \pm 0,11$ mg/kg
- Benzo[b]fluoranthène (B[b]F) : $3,87 \pm 0,42$ mg/kg
- Benzo[j]fluoranthène (B[j]F) : $2,09 \pm 0,44$ mg/kg
- Benzo[k]fluoranthène (B[k]F) : $2,30 \pm 0,20$ mg/kg
- Benzo[a]pyrène (B[a]P) : $4,30 \pm 0,13$ mg/kg
- Indeno[1,2,3-cd]pyrène (Indeno) : $2,78 \pm 0,10$ mg/kg
- Dibenzo[a,c]anthracène (Dibenzo) : $0,335 \pm 0,013$ mg/kg
- Dibenzo[a,h]anthracène (Dibenzo) : $0,424 \pm 0,069$ mg/kg

Remarque : Les deux composés, dibenzo[a,c]anthracène et dibenzo[a,h]anthracène, ne sont pas séparés en CG/SM et ont les mêmes ions de quantification et de vérification. Les résultats sont donc donnés comme la somme des deux composés (Dibenzo).

Les valeurs obtenues lors de l'extraction par ASE de ce MRC devaient être en accord avec celles du certificat pour valider notre méthode. Or, les écarts relatifs entre les valeurs certifiées et celles mesurées par le LNE n'étaient pas satisfaisants (cf. figure 1).

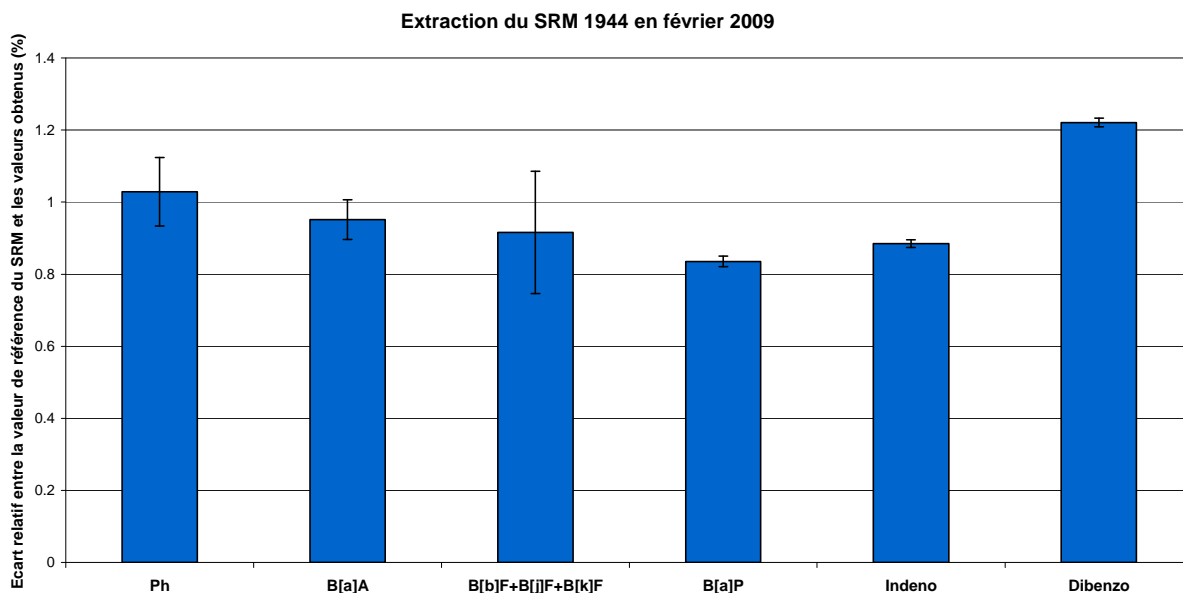


Figure 1 : Extraction du SRM 1944 (Février 2009)

Pour le phénanthrène, le résultat obtenu est en adéquation avec les valeurs du certificat du MRC. Cependant pour les autres composés, il y a un écart :

- ✓ les concentrations sont sous-estimées par rapport à la valeur du certificat pour le benzo[a]anthracène, la somme des trois HAP (benzo[b]fluoranthène, benzo[j]fluoranthène, benzo[k]fluoranthène), le benzo[a]pyrène et l'indéno[1,2,3-cd]pyrène ;
- ✓ les résultats obtenus pour la somme des deux composés, dibenzo[a,c]anthracène et dibenzo[a,h]anthracène, sont sur-estimés par rapport à la valeur du certificat.

Les écarts observés lors des essais d'intercomparaison organisés par l'IRMM et le BIPM ne provenaient donc pas uniquement de la nature des composés marqués, mais une autre difficulté entrainait en jeu.

La méthode d'extraction est une étape délicate de l'analyse des HAP quelle que soit la matrice étudiée et elle représente la source prépondérante de l'incertitude finale. Le nombre d'étapes d'extraction est important : il faut donc s'assurer que les composés recherchés ne soient pas dégradés et/ou transformés lors du processus. Des pertes ou des dégradations des composés peuvent également avoir lieu lors de la manipulation des échantillons ou lors de la conservation des extraits et des étapes de concentration. En effet, par exemple, pour l'analyse des HAP dans l'eau, le LNE a observé des phénomènes d'adsorptions des composés sur les parois du flacon de prélèvement en verre mais également des pertes de composés dues à la dégradation par la lumière.

Les différentes étapes du processus d'extraction ont donc été analysées afin de déterminer l'origine des écarts observés entre la valeur obtenue et la valeur du certificat du MRC.

4. OPTIMISATION DE LA METHODE D'EXTRACTION

4.1. DESCRIPTION DE LA METHODE D'EXTRACTION PAR ASE

Tout d'abord, la cellule d'extraction (cf. figure 2) est remplie avec l'échantillon et le volume mort est complété avec une matrice de remplissage inerte (Na_2SO_4). Les composés marqués sont enfin ajoutés pour la dilution isotopique.

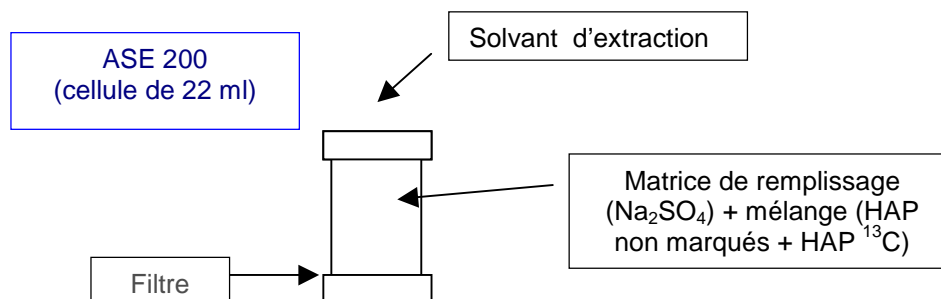


Figure 2 : Présentation de l'ASE 200

Un cycle d'extraction est composé de plusieurs étapes :

1. Remplissage de la cellule avec le solvant d'extraction (solvant unique ou mélange) : importance du choix du solvant, car il va être déterminant pour l'efficacité de l'extraction des composés.
2. Chauffage et pressurisation de la cellule : il est nécessaire de se mettre dans des conditions qui permettent d'extraire tous les composés sans entraîner leur dégradation.
3. Extraction de l'échantillon pendant un temps donné (phase statique d'extraction).
4. Transfert du solvant vers le flacon de récupération et renouvellement du solvant au contact de l'échantillon.
5. Purge à l'azote des résidus de solvant dans l'échantillon vers le flacon de récupération.
6. Remise à pression atmosphérique du système.

De manière plus détaillée, une fois que la cellule d'extraction contenant l'échantillon est mise en place dans le four, le solvant est ajouté et la cellule pressurisée. Lorsque les consignes de pression et de température sont atteintes, l'étape d'extraction statique se poursuit durant laquelle les analytes vont passer de l'échantillon vers le solvant. Sa durée varie selon les applications. A la fin de cette étape statique, la vanne est ouverte et le solvant est renvoyé vers le flacon de récupération. Du solvant « frais », exempt de composés d'intérêts, est alors ajouté pour finir d'extraire l'échantillon.

Le protocole avec lequel nous avons réalisé nos essais, est décrit ci-après. En fonction des essais, certains paramètres ont été modifiés :

- Remplissage de la cellule (22 ml) avec 1 g de SRM1944, ajout des composés marqués ^{13}C et complété le volume restant avec du Na_2SO_4 ,
- Température de la cellule : 120°C
- Pression : 140 bars
- Temps statique : 6 min
- Temps de chauffage : 6 min
- Volume de rinçage : 70% du volume de la cellule
- Temps de purge : 100 secondes

Trois cycles de deux extractions sont réalisés sur chaque échantillon.

4.2. DEGRADATION DES HAP DUE A LA LUMIERE

Les HAP étant photosensibles, il est donc important de prendre des précautions tout au long du processus d'analyse de l'échantillon en les protégeant de la lumière. C'est pourquoi, des essais ont été réalisés avec de la verrerie ambrée : utilisation de flacons de récupération ambrés pour l'ASE et de ballons ambrés pour l'évaporation de l'extrait par évaporateur rotatif. Les résultats obtenus sont résumés sur la figure 3.

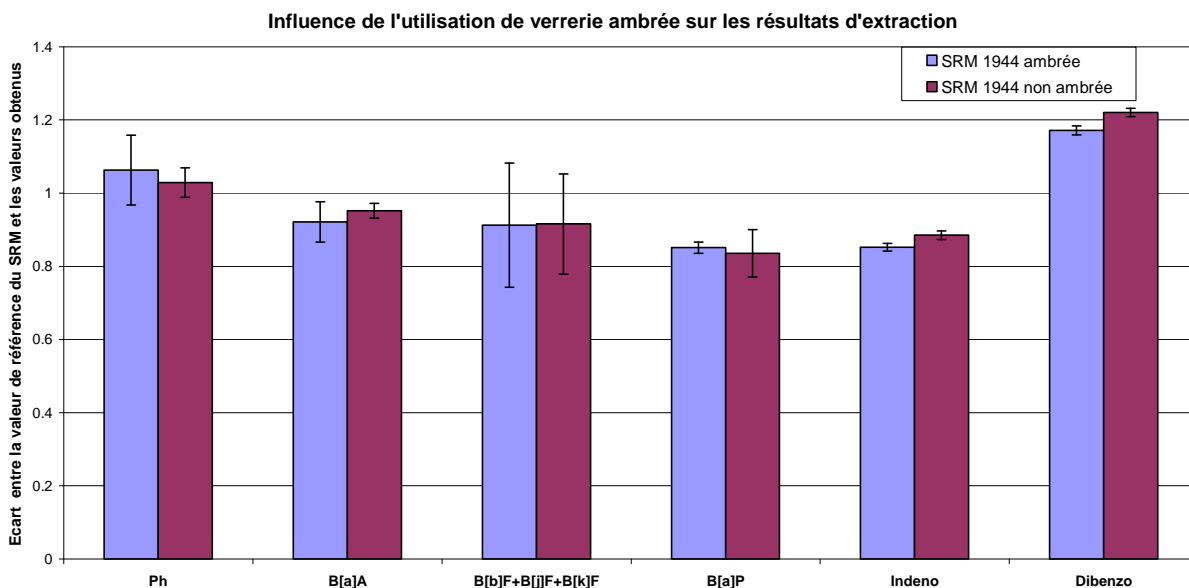


Figure 3 : Résultats des essais avec et sans utilisation d'une verrerie ambrée (SRM 1944)

Pour l'ensemble des composés, les résultats n'ont pas été améliorés avec l'utilisation de la verrerie ambrée. Les écarts entre la valeur du certificat du MRC et la valeur mesurée par le LNE sont toujours de l'ordre de 5 à 20 %. Les HAP n'ont donc pas subi de dégradation à la lumière au cours du processus de traitement de l'échantillon.

Cependant, par mesure de précaution, le LNE continuera à utiliser de la vaisselle ambrée pour la suite des essais d'optimisation de l'extraction.

4.3. INFLUENCE DE LA TEMPERATURE D'EXTRACTION

D'après les contacts que nous avons eus auprès de nos homologues étrangers, la température d'extraction est un paramètre important de la méthode ASE. En théorie, plus la température est augmentée, plus le rendement d'extraction est amélioré. En effet, à haute température, la capacité du solvant à solubiliser les analytes et à rompre les interactions matrice-analyte est favorisée. Cependant, une température trop importante risque de dégrader les composés. Il faut donc trouver un compromis.

L'Institut National de Métrologie Japonaise (NMIJ) a présenté des résultats d'essais montrant l'influence de la température sur l'extraction des HAP (CCQM K50a – draft B). Ces résultats sont reportés sur les figures ci après.

La figure 4 présente les résultats obtenus pour l'extraction d'un sol.

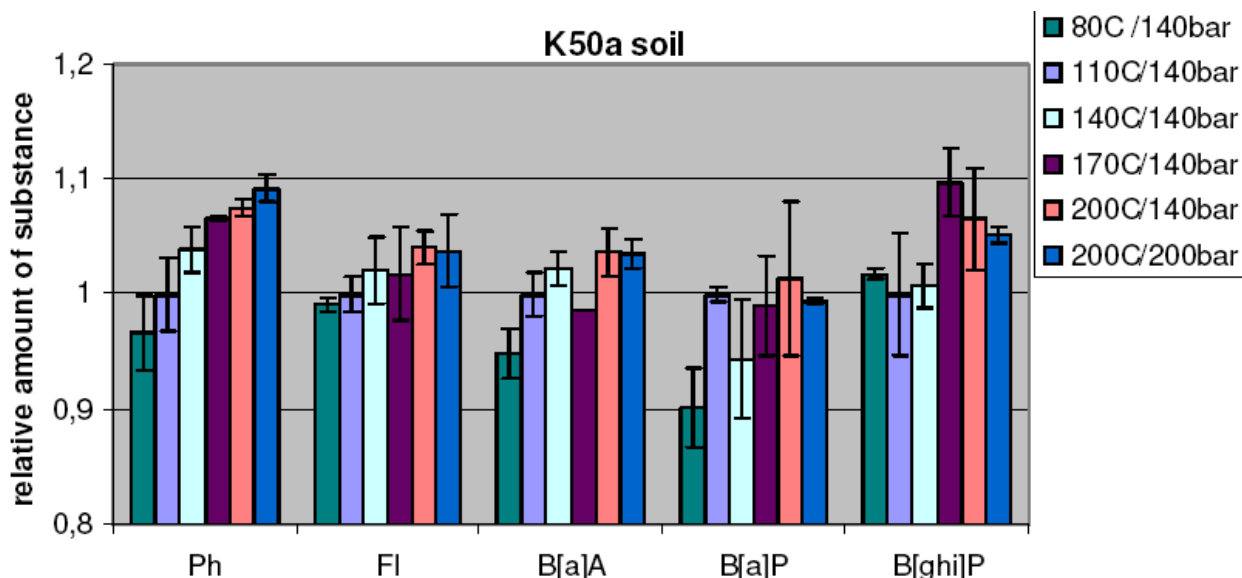


Figure 4 : Résultats des essais d'influence de la température sur l'extraction de HAP dans un sol (CCQM K50 « Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in soil/particulate matter » draft B Report, mars 2009)

La figure 5 présente les résultats obtenus pour l'extraction de particules.

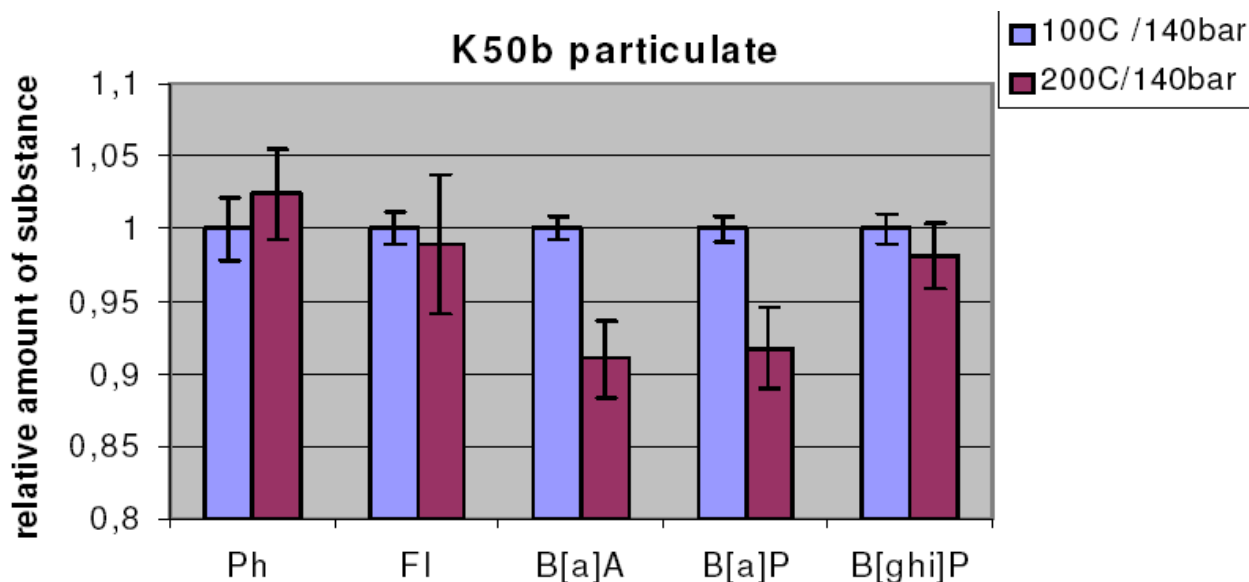


Figure 5 : Résultats des essais d'influence de la température sur l'extraction de HAP dans des particules (CCQM K50 « Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in soil/particulate matter » draft B Report, mars 2009)

Les résultats ne permettent pas de conclure sur une tendance de la variation de la concentration des HAP en fonction de la température d'extraction de l'ASE. Cependant, les profils obtenus lors de la variation de la température sont différents en fonction du type d'échantillon analysé et de l'analyte.

Dans le rapport de résultats Draft B, il est précisé qu'une odeur de « brûlé » a été observée lors de l'extraction des sols à 200°C. Il n'est donc pas à exclure qu'à haute température, il est possible de rencontrer :

- ✓ des processus de décompositions ou de conversions des HAP les plus lourds en HAP plus légers ;
- ✓ la pyrolyse de matières organiques.

Il a été choisi de tester l'influence de la température sur l'extraction du MRC sédiments. Les résultats sont présentés sur la figure 6 ci-après.

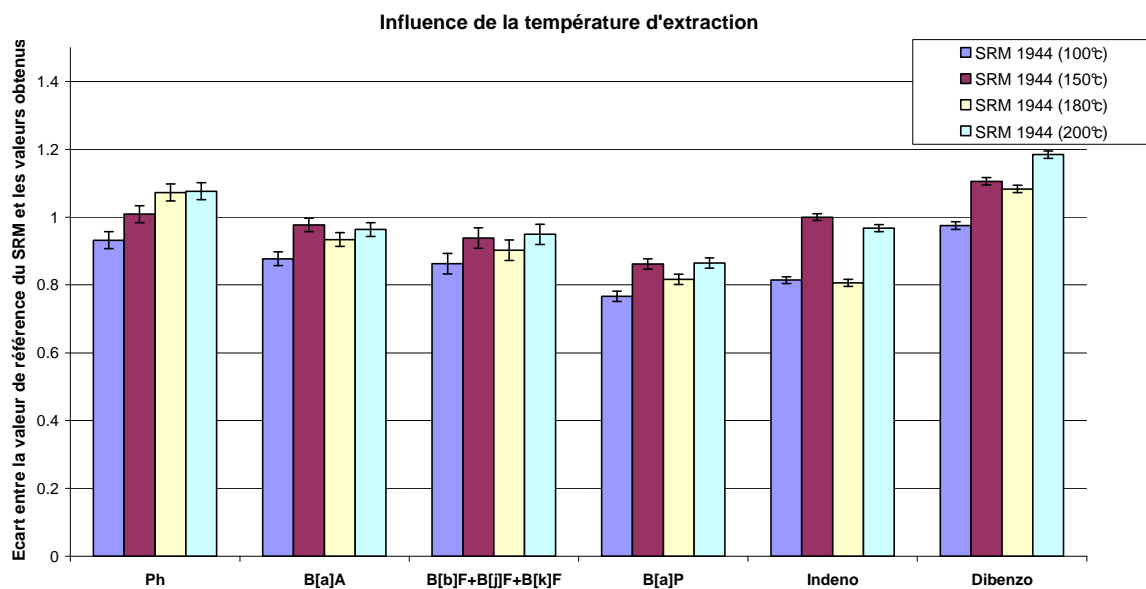


Figure 6 : Influence de la température d'extraction (SRM 1944 : HAP dans sédiments) (SRM 1944)

Comme nos homologues japonais, nous n'observons pas de tendance lors de l'augmentation de la température d'extraction pour des températures supérieures ou égales à 150°C. Cependant, nous pouvons remarquer que, pour une température de 100°C, les résultats obtenus sont les plus mauvais excepté pour le mélange dibenzo[a,c]anthracène et dibenzo[a,h]anthracène.

Le meilleur compromis pour l'ensemble des composés est la température d'extraction 150°C. En effet, si la température est trop élevée, il y a un risque de dégradation des HAP et au contraire si elle est trop basse, certains HAP pourraient ne pas être extraits.

4.4. INFLUENCE DE LA STABILISATION APRES AJOUT DES MOLECULES MARQUEES A L'ECHANTILLON

Dans la bibliographie, certains essais sont réalisés en ajoutant les molécules marquées plusieurs heures avant l'extraction pour que l'équilibre entre la matrice et les composés marqués puissent se réaliser.

Les composés HAP ¹³C ont donc été ajoutés au MRC dans la cellule ASE, 24 heures avant l'extraction (cf. figure 7).

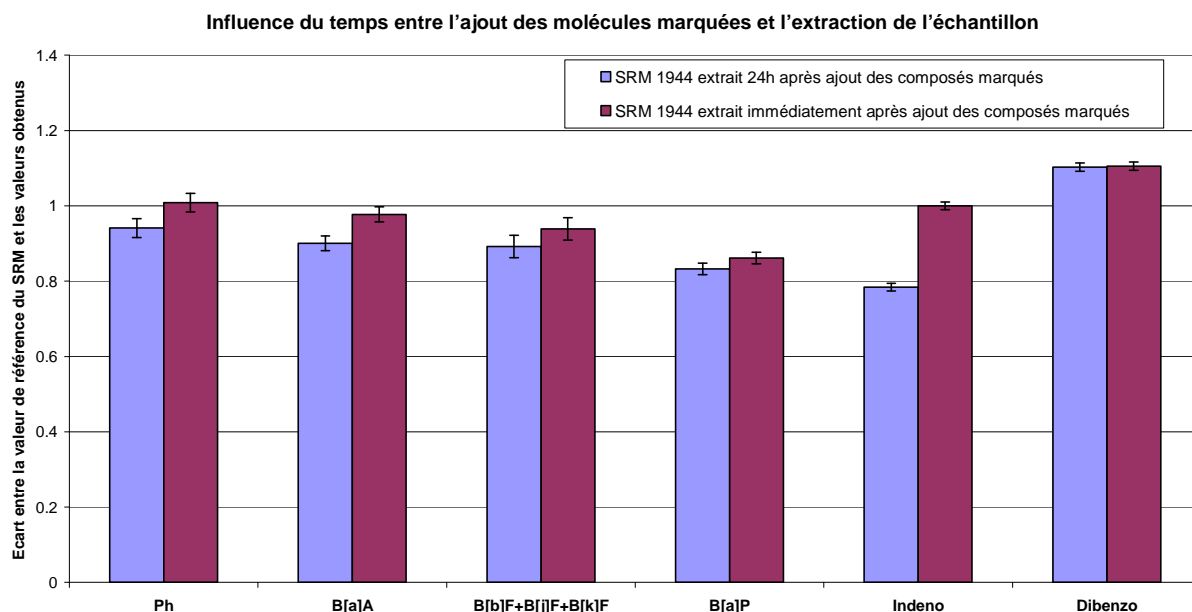


Figure 7 : Influence du temps entre l'ajout des molécules marquées et l'extraction de l'échantillon (SRM 1944)

Les résultats obtenus lorsque l'ajout est réalisé 24 h ou immédiatement avant l'extraction dépendent des composés.

Pour le phénanthrène, le benzo[a]anthracène et l'indeno[123-cd]pyrène, les écarts entre la valeur du certificat du MRC et la valeur mesurée par le LNE sont plus faibles lorsque l'ajout des composés marqués a été fait immédiatement avant extraction.

Le comportement des autres composés est différent puisqu'il n'y a pas de différences significatives entre les deux méthodes d'ajout des molécules marquées dans l'échantillon.

Il a donc été choisi d'ajouter les composés marqués juste avant l'extraction pour éviter de possibles phénomènes de dégradations.

4.5. INFLUENCE DE LA MATRICE DE REMPLISSAGE

De manière générale, il a été observé, que pour la majorité des composés, les résultats obtenus par rapport à la valeur du SRM1944 étaient sous-estimés. L'hypothèse d'une possible interaction des composés avec la matrice de remplissage (Na_2SO_4) a été envisagée.

Un essai a donc été réalisé sans la matrice de remplissage et en utilisant une cellule ayant un faible volume (5 ml), de cette façon, la cellule contient uniquement l'échantillon (cf. figure 8).

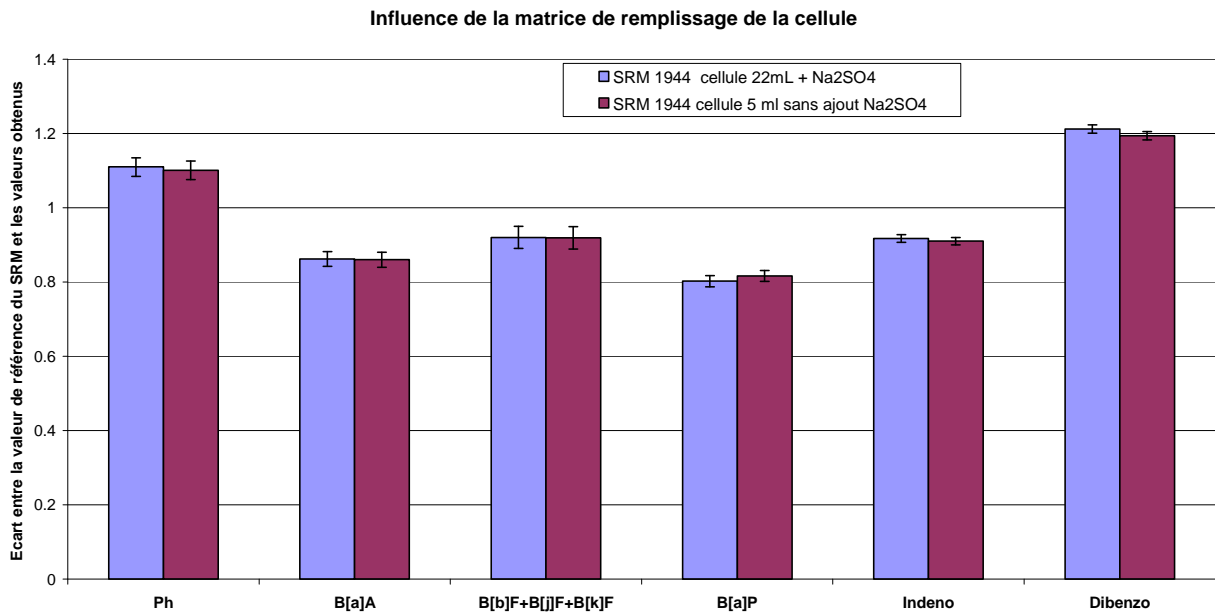


Figure 8 : Influence de la matrice de remplissage de la cellule (SRM 1944)

Les résultats obtenus ne sont pas statistiquement différents : il n'y a pas d'amélioration des écarts avec une cellule dépourvue de Na₂SO₄. La matrice de remplissage (Na₂SO₄) n'a donc pas d'influence sur l'extraction.

La taille de la cellule détermine la quantité de solvant utilisée. Une cellule partiellement remplie avec l'échantillon nécessite plus de solvant qu'une cellule pleine. Or, la cellule de 5 ml contenant uniquement de l'échantillon n'est pas pleine, il reste un volume mort. De plus, l'ajout de Na₂SO₄ permet de sécher l'échantillon.

Il a donc été choisi d'utiliser les cellules de 22 ml et de compléter le volume mort avec du Na₂SO₄.

4.6. INFLUENCE DE L'ETALONNAGE

La gamme étalon est réalisée avec des solutions de HAP. Nous nous sommes interrogés sur l'influence que pourrait avoir la réalisation d'une gamme étalon subissant le même processus que l'échantillon c'est à dire une étape d'extraction. De nombreux chimistes analytiques, dans le but de s'affranchir des rendements, mettent en œuvre un étalonnage dont les solutions étalons subissent également toutes les étapes de préparation des échantillons qui seront analysés.

Pour cela, la matrice de remplissage a donc été dopée aux différents points de la gamme et extraite dans les mêmes conditions que le MRC (cf. figure 9).

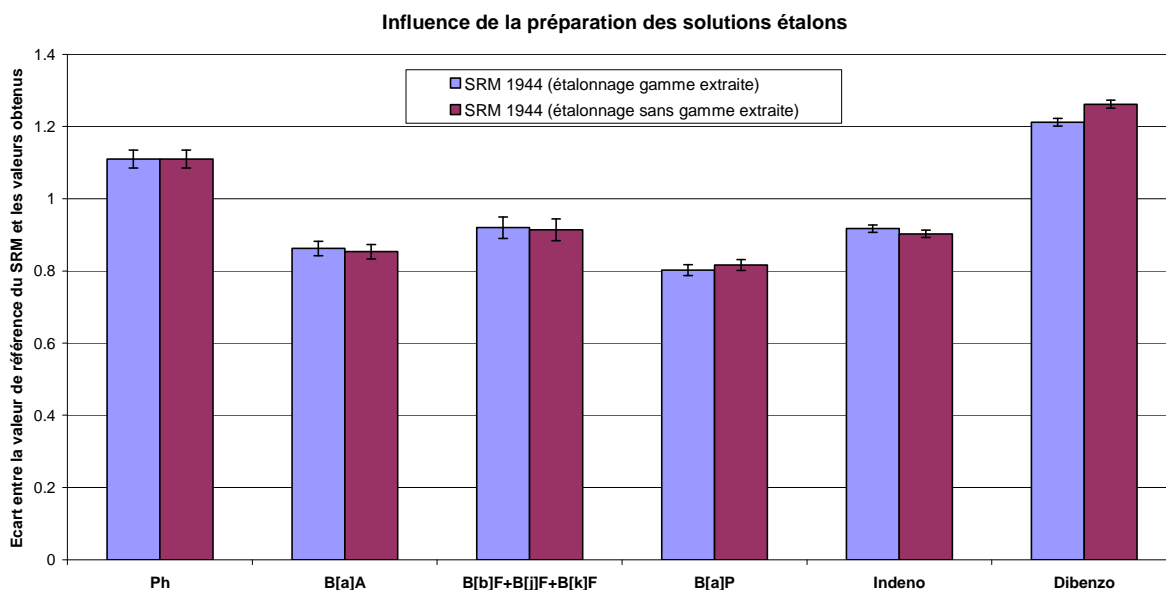


Figure 9 : Influence de la préparation des solutions étalons (SRM 1944)

Pour l'ensemble des composés, il n'existe pas de différence significative entre les résultats obtenus avec et sans gamme extraite. Au vu de ces résultats, il n'apparaît donc pas nécessaire de faire suivre aux étalons le processus d'extraction. C'est pourquoi nous avons choisi de continuer à travailler avec une gamme d'étalonnage en solution.

4.7. INFLUENCE DU SOLVANT D'EXTRACTION

La nature du solvant d'extraction est un facteur déterminant pour la sélectivité et l'efficacité de l'extraction. Le choix du solvant est lié aux caractéristiques physico-chimiques des composés comme leur polarité et leur solubilité dans les différents milieux. Trois types de solvant ont été testés pour l'extraction des HAP dans les sédiments par ASE : l'hexane, le dichlorométhane et un mélange dichlorométhane/hexane 1 :1 (v/v) (cf. figure 10).

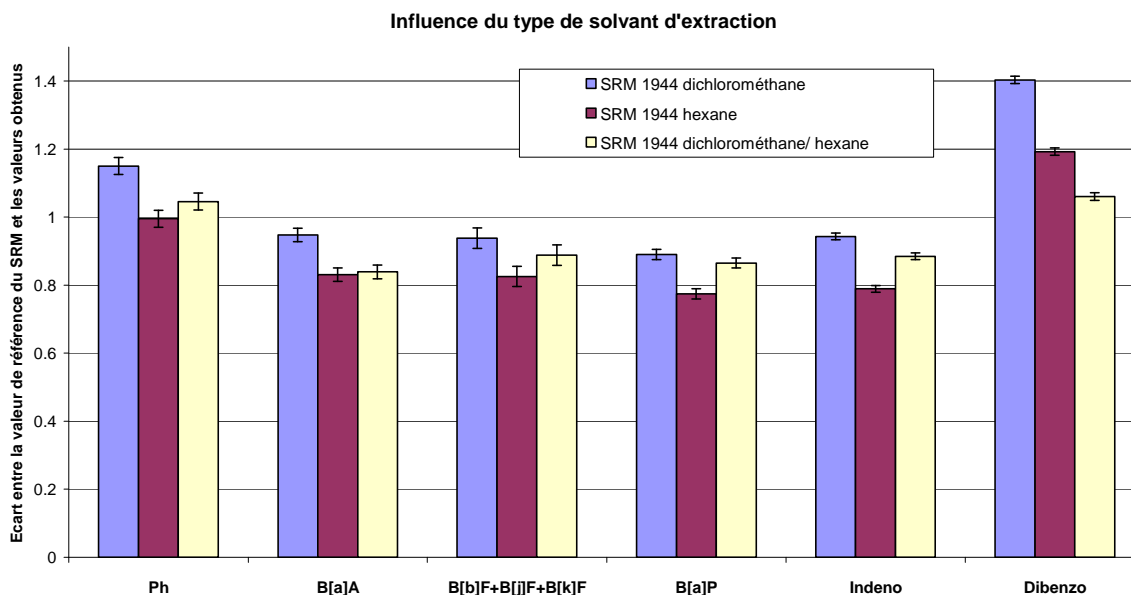


Figure 10 : Influence de la nature du solvant d'extraction (SRM 1944)

Les résultats obtenus avec l'hexane sont plus satisfaisants que ceux obtenus avec le dichlorométhane pour le phénanthrène, le dibenzo[a,h]anthracène et dibenzo[a,c]anthracène. Ils sont cependant plus mauvais pour les autres composés.

Le meilleur compromis est l'extraction réalisée avec un mélange dichlorométhane/hexane (1 :1) et c'est celui que nous conserverons pour la suite des essais. Le changement de solvant n'a donc pas permis d'améliorer les écarts obtenus avec la valeur de référence.

4.8. INFLUENCE DE L'AUGMENTATION DU NOMBRE DE CYCLES DE RENOUVELLEMENT DU SOLVANT

A la fin de la phase statique de l'extraction ASE, le solvant est envoyé dans le flacon de récupération et du solvant « frais », exempt de composés d'intérêt, est alors ajouté à la cellule pour finir d'extraire l'échantillon. Cette étape peut permettre d'améliorer le transfert de masse et par conséquent les taux de récupération. L'introduction de solvant « frais » augmente en effet le gradient de concentration entre la solution présente dans la cellule et la surface de l'échantillon. Plus le gradient de concentration est grand, meilleur est le transfert des composés de la matrice vers le solvant d'extraction.

Dans notre méthode, le renouvellement de solvant n'est peut-être pas suffisant pour extraire tous les composés de la matrice.

Nous avons réalisé des essais en changeant le programme d'extraction et en remplaçant les 3 fois 2 cycles de renouvellement de solvant par 6 fois 1 cycle (cf. figure 11).

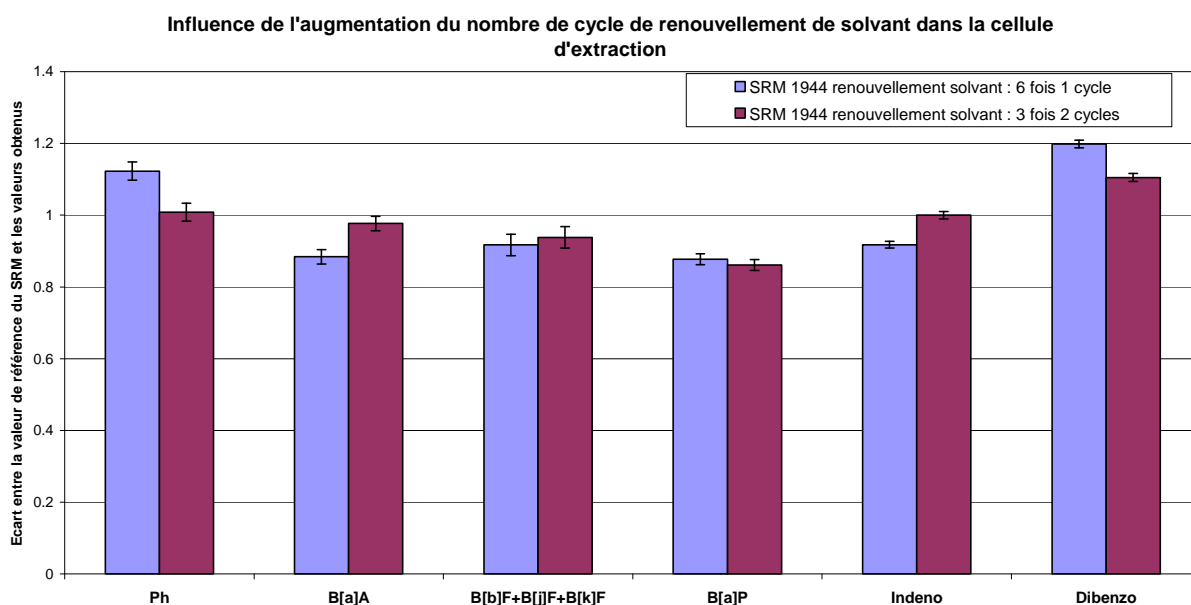


Figure 11 : Influence de l'augmentation du nombre de cycles de renouvellement de solvant dans la cellule d'extraction (SRM 1944)

Pour le phénanthrène, le benzo[a]anthracène, l'indeno[1,2,3-cd]pyrène et les dibenzo[a,c]anthracène / dibenzo[a,h]anthracène, les résultats sont meilleurs lorsqu'il est réalisé 3 fois 2 cycles de renouvellement de solvant. Pour les autres composés, l'augmentation du nombre de cycle de renouvellement de solvant n'a pas d'influence.

Au vu de ces résultats, nous avons donc maintenu les conditions initiales (3 fois 2 cycles de renouvellement).

5. ESSAI DE CARACTERISATION POUR LA CERTIFICATION D'UN MRC ORGANISE PAR L'IRMM EN 2009

5.1. INTRODUCTION

L'IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) qui est l'un des 7 laboratoires de la Commission Européenne a proposé de développer des Matériaux de Référence Certifiés (MRC) pour les HAP sous forme particulière.

Lors de la 8^{ème} réunion AQUILA en juin 2006, l'IRMM a proposé d'organiser des exercices d'intercomparaison pour pouvoir sélectionner un matériau de référence pour les PM 10. Pour cela, il a sélectionné cinq matériaux afin de les tester en vue de la certification de l'un d'entre eux.

En tant que Laboratoire National de Métrologie, le LNE se devait de s'engager au côté de l'IRMM en participant à ces exercices d'intercomparaison.

Le LNE a donc participé aux exercices d'intercomparaison organisés par l'IRMM visant :

- à évaluer différents matériaux candidats pour devenir un MRC en 2008 (cf. Rapport LCSQA 2008 : Développement des MR pour les HAP) ;
- à caractériser un matériau candidat PM10 en 2009.

5.2. ESSAI DE CARACTERISATION DE 2009

En 2009, le LNE a participé à un essai de caractérisation d'un matériau de référence ERM-CZ100 de fine poussière (PM10).

Ce matériau contient les molécules suivantes avec des concentrations approximatives de :

- Benzo[a]anthracène (1 mg/kg),
- Benzo[b]fluoranthène (2 mg/kg),
- Benzo[k]fluoranthène (1 mg/kg),
- Benzo[j]fluoranthène (0,5 mg/kg),
- Benzo[a]pyrène (1 mg/kg),
- Indeno[123-c,d]pyrène (1 mg/kg),
- Dibenzo[a,h]anthracène (0,5 mg/kg),
- Benzo[b+k+j]fluoranthène (3 mg/kg).

Les échantillons ont été réceptionnés fin septembre 2009. L'analyse a été réalisée avec le couplage d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890N et d'un spectromètre de masse quadripolaire Agilent 5975B. La séparation des composés est réalisée sur une colonne apolaire (8% Phényl Polycarbonate-siloxane ; longueur : 50 m ; diamètre interne : 0,22 mm ; épaisseur de phase : 0,25 µm).

Le protocole d'extraction appliqué est décrit dans le tableau ci-après :

| Solvant | Mélange dichlorométhane/hexane 1 : 1 (v : v) |
|-----------------------|--|
| Température (°C) | 150 |
| Pression (bars) | 140 |
| Temps statique (min) | 6 |
| Volume de rinçage (%) | 70 |
| Temps de purge (s) | 100 |
| Nombre de cycles | 3 |
| Nombre d'extraction | 2 |

Tableau 1 : Protocole d'extraction ASE

Les résultats ont été rendus en décembre 2009 (cf. tableau 2).

| | Ph | B[a]A | B[b]F | B[j]F | B[k]F | B[a]P | Indeno | Dibenzo |
|-----------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|
| QC | 1,87 | 1,17 | 5,17 | | | 1,00 | 2,02 | 0,26 |
| incertitude k=2 | 0,08 | 0,051 | 0,22 | | | 0,04 | 0,09 | 0,02 |

| | Ph | B[a]A | B[b]F | B[j]F | B[k]F | B[a]P | Indeno | Dibenzo |
|------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|
| écht CZ100 N°1776 X1 | 2,34 | 0,92 | 2,98 | | | 0,71 | 1,14 | 0,092 |
| écht CZ100 N°1776 X2 | 2,63 | 1,00 | 3,20 | | | 0,77 | 1,26 | 0,103 |
| écht CZ100 N°1776 X2/2 | 2,49 | 1,00 | 3,12 | | | 0,74 | 1,25 | 0,106 |
| moyenne | 2,49 | 0,97 | 3,10 | | | 0,74 | 1,22 | 0,100 |
| incertitude k=2 | 0,27 | 0,10 | 0,29 | | | 0,08 | 0,13 | 0,030 |

| | Ph | B[a]A | B[b]F | B[j]F | B[k]F | B[a]P | Indeno | Dibenzo |
|------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|
| écht CZ100 N°1520 Y2 | 2,71 | 1,03 | 3,24 | | | 0,80 | 1,31 | 0,110 |
| écht CZ100 N°1520 Y1/2 | 2,26 | 0,94 | 2,97 | | | 0,69 | 1,18 | 0,099 |
| écht CZ100 N°1520 Y3/2 | 2,51 | 1,01 | 3,09 | | | 0,73 | 1,21 | 0,102 |
| moyenne | 2,49 | 0,99 | 3,10 | | | 0,74 | 1,23 | 0,103 |
| incertitude k=2 | 0,33 | 0,10 | 0,30 | | | 0,09 | 0,13 | 0,022 |

Remarque : QC = échantillon de contrôle

Tableau 2 : Résultats obtenus par le LNE lors de la caractérisation du MRC (ERM-CZ 100) organisé par l'IRMM

L'IRMM est actuellement en cours d'exploitation des données qui devraient être communiquées à l'ensemble des participants au cours de l'année 2010.

6. CONCLUSION GENERALE

L'année 2009 a été principalement consacrée à finaliser les conditions d'extraction afin d'atteindre un rendement proche de 100%.

Les résultats de l'étude montrent que l'extraction est une étape délicate du processus d'analyse des HAP : en effet, il est nécessaire de mettre en œuvre des conditions permettant d'extraire principalement les composés recherchés tout en préservant leur intégrité (s'assurer que la structure de la molécule n'est pas modifiée). Il est donc nécessaire d'optimiser un grand nombre de paramètres pour obtenir des rendements d'extraction maximaux.

Les différents paramètres testés ont été les suivants : la température d'extraction, le type de solvant d'extraction, le type de matrice de remplissage...

Cependant, malgré l'optimisation de ces paramètres, le problème de sous-estimation des concentrations par rapport à la valeur du Matériau de Référence Certifié n'a pas pu être résolu pour certains composés. Il sera donc nécessaire de tester d'autres paramètres tels que la pression ou le temps d'extraction.

Une grande importance est attachée à ces essais, car ils permettront de réduire au maximum les incertitudes liées à la détermination des concentrations en HAP lors du développement du MRC.

Cette étape d'optimisation est indispensable pour poursuivre dans les meilleures conditions le projet de développement d'un matériau de référence pour les HAP.

C'est pour cette raison que ces essais seront poursuivis en 2010.

7. PERSPECTIVES

La détermination des HAP dans les particules représente un véritable challenge analytique dont il est nécessaire de maîtriser les différentes étapes. C'est pourquoi le LNE attache une attention particulière à la validation de la méthode analytique.

En 2010, le LNE fabriquera un MRC synthétique de particules dont les caractéristiques seront suffisamment bien décrites en termes de physico-chimie et qui permettra de valider le protocole analytique (évaluation de la perte des composés, blanc de laboratoire...). L'avantage résidera également dans le fait que le dopage pourra être adapté aux teneurs de la réglementation en vigueur, ainsi qu'aux limites de quantification annoncées par les laboratoires ou à des besoins exprimés par les membres du LCSQA.

Tous les deux ans, le LCSQA et en particulier l'INERIS organise un essai inter laboratoires (EIL) pour la détermination des HAP dans les particules. En 2010, le LNE fournira les solutions de référence certifiées pour évaluer les performances métrologiques des prélèvements de HAP réalisés par les AASQA dans l'air ambiant.

8. ANNEXE : PROGRAMME DE TRAVAIL 2009

Métrologie – Assurance qualité Programme pluriannuel

DEVELOPPEMENT DE MATERIAUX DE REFERENCE POUR LES HAP

Responsable de l'étude : LNE

1. OBJECTIF

Depuis plusieurs années, des mesures de HAP sont régulièrement effectuées par les AASQA. Par conséquent, les pouvoirs publics doivent disposer de moyens fiables pour pouvoir comparer les évolutions dans le temps de ce type de pollution.

L'objectif de cette étude est de fournir des MRC contenant plusieurs HAP (benzo[a]pyrène, benzo[a]anthracène, benzo[b]fluoranthène, benzo[j]fluoranthène, benzo[k]fluoranthène, dibenzo[a,h]anthracène, indeno[1.2.3.c-d]pyrène et phénanthrène) pour assurer la traçabilité des analyses de HAP dans les particules pour la fin 2009.

2. CONTEXTE ET TRAVAUX ANTERIEURS

En 2007, lors du développement de la méthode de dopage de particules par solution liquide, les essais réalisés sur la nature de la matrice ont posé quelques difficultés. En effet, il a été mis en évidence que la rétention des HAP sur du sable de Fontainebleau (connu comme étant une « matrice neutre ») n'était pas optimale. Des essais montrent qu'il faudra privilégier des matrices à tendance polaire, tel que l'alumine neutre, qui posséderont suffisamment de sites de rétention pour retenir les HAP.

D'autre part, ces travaux ont permis de montrer que le maintien, pendant 24 heures, de la solution de HAP en contact avec une matrice n'entraînait pas de dégradation ou de perte des composés.

En 2008, lors de l'essai interlaboratoire sur les HAP organisé par l'INERIS, le LNE a préparé, par gravimétrie, et certifié des solutions correspondant aux différentes concentrations de HAP pouvant être rencontrées dans l'environnement : la méthode mise en œuvre pour la certification des concentrations est une méthode primaire basée sur la dilution isotopique en chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse, la dilution isotopique utilisant des molécules marquées. Cette participation a permis de mettre en évidence un problème analytique dû à la nature des composés marqués (molécules deutérées) qui présentent de fortes interactions avec les molécules recherchées. Des molécules marquées au carbone 13 ont été retenues comme nouvel étalon interne. La méthode analytique a été développée et validée avec ces nouvelles molécules.

Des essais complémentaires ont été effectués pour valider le choix de l'étalon interne :

- ✓ Réalisation d'essais de comparaisons molécules marquées carbone 13 / molécules deutérées sur les différents types de matrice évalués l'année précédente (sable de fontainebleau, alumine...);
- ✓ Réalisation d'essais pour s'assurer que, lors de l'extraction sous solvant chaud pressurisé (Cf. Norme européenne 15549), le matériau de remplissage des cellules d'extraction (qui permet d'éviter les volumes morts) ne retient pas les molécules marquées.

Les résultats de ces essais ont permis de conclure que les molécules deutérées devaient être remplacées par des molécules marquées au carbone 13 pour la dilution isotopique.

Le LNE a également mis au point et validé une méthode de détermination des HAP par chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre fluorescence.

3. TRAVAUX PROPOSES POUR 2009

En 2009, le LNE propose de finaliser le développement de la méthode de dopage qui comprendra :

- ✓ La détermination de la nature des particules à doper,
- ✓ L'influence du solvant de dopage,
- ✓ La détermination du mode de séchage des particules,
- ✓ L'influence de la concentration de la solution de dopage,
- ✓ L'étude de l'homogénéité,
- ✓ L'étude de la robustesse du dopage.

4. COLLABORATION

- MEEDDAT, ADEME

5. DUREE DES TRAVAUX

Cette étude de développement est effectuée sur 4 ans (2006-2009).

6. PERSONNEL EN CHARGE DES TRAVAUX

- Béatrice Lalère (Coordinateur)
- Julie Cabillic, Maryline Peignaux