

A-III-1 : DÉTERMINATION DU LEVOGLUCOSAN ET DE SES ISOMÈRES PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE ET DÉTECTION PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure pour la détermination quantitative par chromatographie gazeuse à détection par spectrométrie de masse du levoglucosan, galactosan et mannosan dans les particules de type PM10.

2. Domaine d'application

La présente méthode de référence est applicable aux particules de type PM10.

La gamme de mesure applicable à l'appareil est de 0.05 à 50 µg/ml par composé ce qui correspond à 1 ng/m³ pour 55 m³ prélevé.

3. Définitions et abréviations

GC-MS : Chromatographie gazeuse – détection par un spectromètre de masse

TMCS : Chlorure de triméthylsilyle

BSTFA : N,O-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacetamide

SI : Standard interne

4. Interférences

Aucune interférence à mentionner.

5. Principe

Après addition d'un étalon interne, les filtres sont extraits au moyen d'un mélange dichlorométhane-méthanol. Une portion de l'extrait est concentrée à sec sous flux d'azote. Après dérivatisation à l'aide de TMCS, évaporation presque à sec et reprise dans le cyclohexane. L'étalonnage interne corrige les rendements d'extraction, la prise d'essai et les fluctuations à l'injection. Les calculs sont basés sur la détermination préalable de facteurs de réponse moyens.

6. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons sont prélevés sur des filtres en quartz et placés dans des boîtes de pétri. Ils sont stockés au congélateur à -18°C et à l'abri de la lumière.

7. Appareillages et matériels utilisés

- Chromatographe en phase gazeuse, muni d'un détecteur de masse de type simple quadripôle. Un autre type de détecteur, notamment un triple quadripôle, peut être utilisé à condition de démontrer des performances au moins égales.
- Colonne chromatographique capillaire de faible polarité (type DB-5ms).
- Propipettes (volumes variables de 10 à 1000 µl)
- Seringues 10 µl
- Tube à centrifuger de 15 ml
- Pied gradué de 25 ml
- Rampe de concentration sous flux d'azote chauffé
- Flaconnages en verre, hermétiques, silanisés avec bouchons à face téflonée pour GC/MS
- Etuve
- Bain ultrason chauffant
- Petit matériel divers de laboratoire

8. Réactifs utilisés

8.1. Méthanol, dichlorométhane, dodécane et cyclohexane p.a., résidus de pesticides

8.2. Pyridine anhidre

8.3. BSTFA + 1% TMCS

8.4. Levoglucosan, galactosan et mannosan, Levoglucosan-d7 (SI), Methyl-β-L-Arabinopyranoside (SID), min 96% de pureté

8.4.1. **Solutions mères** : Dissoudre 30 mg de chaque standard ou de standard interne dans 3 ml de méthanol soit une concentration de 10 mg/ml (S0).

8.4.2. **Solution fille** :

- SF1 : Ajouter 100 µl de chaque solution mère de standard non marqué dans 10 ml de méthanol. Soit une solution à 100 µg/ml notée SF1.
- SF2 : Ajouter 25 µl de chaque solution mère de standard non marqué dans 10 ml de méthanol. Soit une solution à 25 µg/ml notée SF2.
- SF3 : Ajouter 100 µl de la solution SF1 dans 10 ml. Soit une solution à 1 µg/ml notée SF3.
- SF-SID : Ajouter 100 µl de la solution mère de standard de méthyl-β-L-Arabinopyranoside dans 10 ml de méthanol. Soit une solution à 100 µg/ml notée SF-SID.
- SF-SI : Ajouter 100 µl de la solution mère de standard interne Levoglucosan-D7 dans 1 ml de méthanol. Soit une solution à 1000 µg/ml notée SF-SI.

8.4.3. Courbe de calibration :

Pour la courbe de calibration procéder, par exemple, comme suite dans un volume de 1 ml :

	[Théorique] (µg/ml)	SF1 (µl)	SF2 (µl)	SF3 (µl)	SF-SI (µl)	SF-SID (µl)
S1	50	500			25	10
S2	10	100			25	10
S3	5	50			25	10
S4	1		40		25	10
S5	0,75		30		25	10
S6	0,5		20		25	10
S7	0,1			100	25	10
S8	0,05			50	25	10

8.4.4. **QC** : Dopé un filtre à une concentration type S4. Soit 40 µl de SF2 et 25 µl de SF-SI déposé sur un filtre.

9. Préparation de l'échantillon

L'échantillon est amené à température ambiante.

10. Mode opératoire

10.1 Extraction :

Plier le filtre et le mettre dans un tube à centrifuger de 15 ml. Ajouter 25 µl de SF-SI. Ajouter environ 5 ml d'un mélange 80/20 (V/V) dichlorométhane/méthanol et reboucher le tube. Placer ce dernier dans le bain à ultrason chauffé à 60°C pendant 2 fois 15 minutes. Laisser s'échapper la surpression entre les deux périodes.

Prendre 1 ml de l'extrait et le placer dans un vial silanisé, ajouter 10 µl de SF-SID (β-L) puis évaporer à sec à 40°C. Une quantité plus grande d'extrait peut être prise afin de diminuer la limite de quantification à condition de s'assurer que la réaction de dérivation est complète.

Faire la même chose avec le QC.

Essai à blanc : effectuer une extraction dans les mêmes conditions sur un filtre vierge. La valeur du blanc ne doit pas être supérieur à 10% de la valeur mesurée la plus faible.

10.2 Dérivatisation :

Ajouter dans le vial 100 µl de la solution de BSTFA à 1% de TMCS puis 100 µl de pyridine anhydre. Boucher le vial et incuber à 80°C pendant minimum 1 heure. Après ce temps de réaction ajouter 50 µl de dodécane. Evaporer gentiment (40°C) à 50 µl et reprendre avec 1 ml de cyclohexane.

10.4 Analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC-MS)

10.4.1 Préparation du système d'analyse :

Avant analyse, contrôler l'approvisionnement en gaz.

Contrôler le spectromètre de masse.

Au besoin, remplir les flacons de rinçage. Vérifier l'état de la seringue.

Utiliser une colonne capillaire répondant à la spécification.

Vérifier les programmations en température. Par exemple:

- injecteur à 250°C en mode splitless
- source à 250°C
- ligne de transfert à 250°C
- la rampe de température : 100 (2.00) 10/240 (0.00) 35/310 (5.00) pour une colonne de 30m et 110 (1.00) 20/220 (0.00) 40/280 (2.00) pour une colonne de 15m.

10.4.2 Quantification des composés (simple quad)

Nom du composé	Ion SIM	Ions de quantification	Dwell time (ms)
Levoglucosan	204-217-333	333	50
Mannosan	204-217-333	204	50
Galactosan	204-217-333	217	50
Levoglucosan-D7	220-339	220	50
Methyl-β-L-arabi.	204-217-333	217	50

10.4.4 Quantification des composés (triple quad)

Nom du composé	Ions précurseurs	Ions produits	Energie de collision (eV)
Mannosan- Levoglucosan	333	103	12
	333	143	8
	333	171	6
Galactosan	218	74	16
	218	143	10
	218	144	10
Levoglucosan-D7	339	105	12
	339	147	22
	339	149	8
	339	177	8
Methyl-β-L-arabi.	147	131	8
	204	189	6
	217	143	12

10.4.3 Etalonnage avec un standard interne

L'étalonnage en spectrométrie de masse se fait par la méthode de l'étalonnage interne (levoglucosan-d7). On injecte les différents étalons (minimum 5 – recommandé 8) de façon croissante. Un étalonnage linéaire 1/x est utilisé.

La dérivatisation est contrôlée par l'ajout d'un second standard interne (Methyl-β-L-arabinopyranoside).

L'étalonnage est réalisé à chaque séquence. Un QC est injecté tous les 20 échantillons et placé dans une carte de contrôle.



11. Calcul et expression des résultats

Les intégrations des chromatogrammes sont contrôlées. Les temps de rétention définis par l'analyse des solutions étalons et les abondances relatives caractéristiques sont utilisés pour la reconnaissance automatique des pics lors du traitement des résultats des inconnus. Le résultat est corrigé par le standard interne.

$$x = \frac{L * 1000}{D}$$

Où :

- x est le résultat exprimé en ng/m³ avec 3 chiffres significatifs.
- L est la concentration en levoglucosan à l'appareil en µg/ml
- D est la quantité d'air passée à travers le filtre en m³.

12. Sécurité

- Le méthanol et le cyclohexane sont des solvants neurotoxiques. Travailler en atmosphère ventilée. Il convient de pratiquer les opérations d'extraction/concentration sous hotte.
- La pyridine est nocive par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Travailler avec des gants et sous hotte.
- BSTFA + 1% TMCS est corrosif. Travailler avec des gants, des lunettes et sous hotte.
- Eviter toutes sources de chaleur et d'étincelles.

13. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les références de date de prélèvement et de début de traitement de l'échantillon ;
- Les résultats du dosage conformément au point 11 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

14. Références

SIMONEIT B. R. T., Analysis of sugars in environmental samples by GC/MS, *J. Chromatogr. A*, 1141 (2007) 271-278

MONKS P. S., Validation of an assay for the determination of Levoglucosan and associated monosaccharide anhydrides for the quantification of wood smoke in atmospheric aerosol, *Anal. Bioanal. Chem.* (2014) 406:5283-5292

CLAYES M., Development of a gas chromatographic/ion trap mass spectrometric method for the determination of levoglucosan and saccharidic compounds in atmospheric aerosols. Application to urban aerosols, *J. Mass Spectrom.* (2002) 37:1249-1257

MAENHAUT W., Improved method for quantifying levoglucosan and related monosaccharide anhydrides in atmospheric aerosols and application to samples from urban and tropical locations, *Environ. Sci. Technol.* (2002) 36:747-753

WISE S. A., Determination of levoglucosan in particulate matter reference materials, *Aerosol Sci. Tech.* (2006) 40:781-787

