

E-III-6V1 : DÉTERMINATION PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE ET DÉTECTION PAR CAPTURE D'ÉLECTRONS DES PCB N°28, 52, 101, 118, 138, 153 ET 180 DANS LES EAUX

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure pour la détermination quantitative par chromatographie gazeuse à détection par capture d'électrons des PCB n° 28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180 (selon la numérotation de Ballschmiter) dans les eaux.

2. Domaine d'application

La présente méthode de référence est applicable à tous les types d'eaux.

La gamme de mesure applicable est de 5^(*) à 1000 ng/l par composé pour une prise d'essai d'un litre. La limite inférieure peut être divisée par deux en doublant la prise d'essai.

(*) Remarque : moyennant des teneurs en PCB de moins de 1 ng/l (par congénère) dans le blanc, cette limite peut être portée à 2,5 ng/l.

3. Définitions et abréviations

GC-ECD : Chromatographie gazeuse – détection par capture électronique

PCB : Polychlorobiphényles ou biphényles polychlorés.

4. Interférences

Les interférences potentielles sont dues aux : acides gras, détergents, phtalates, silicones (siloxanes), pesticides chlorés, composés nitro semi-volatiles, polysulfures (S6, S8, ...), ...

5. Principe

Après addition d'un étalon interne, les eaux sont extraites (extraction liquide-liquide) au moyen d'un solvant organique (n-hexane). Les extraits sont séchés sur sulfate de sodium anhydre et concentrés sous flux d'azote. Les extraits nécessitant une purification sont passés sur colonne de Florisil et éventuellement désulfurés au cuivre. L'analyse est réalisée par GC-ECD sur colonne capillaire. L'étalonnage interne corrige les rendements d'extraction 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 dans des conteneurs en verre (fumé de préférence), munis de bouchons à revêtement PTFE et stockés au réfrigérateur à 4 °C et à l'abri de la lumière. Les échantillons sont en tous cas extraits au plus vite et dans un délai d'une semaine au plus (ISO 5667-3). Les extraits peuvent être conservés au réfrigérateur un mois en flacons hermétiques et protégés de la lumière.

7. Appareillages et matériels utilisés

- Chromatographe en phase gazeuse, muni d'un détecteur à capture d'électrons.
- Trébuchet
- Balance analytique de laboratoire de résolution 0,1 mg
- Propipettes (volumes variables de 10 à 200 µl)
- Pipettes Pasteur
- Pipettes jaugées ou graduées en verre (différents volumes de 0,1 à 10 ml)
- Flacons jaugés
- Agitateurs magnétiques, puces téflonnées
- Ampoules à décanter, robinet en téflon
- Colonnes de chromatographie, diamètre 1 cm environ
- Entonnoirs en verre
- Filtres en fibre de verre type GF/C, rincés au solvant d'extraction
- Concentrateur sous flux d'azote + tubes de concentration
- Flaconnages en verre, hermétiques avec bouchons à face téflonnée
- Colonne capillaire WCOT, phase apolaire de type DB5, de dimensions 60 m x 0,25 mm d.i. et d'une épaisseur de film de 0,2 µm (les dimensions sont facultatives dès lors que le pouvoir séparateur de la colonne est suffisant et vérifié dans les conditions d'utilisation).
- Petit matériel divers de laboratoire

Le matériel en verre utilisé est autant que possible à usage unique ou réservé à l'analyse de traces. Dans le cas de matériel réutilisable, les meilleures procédures de nettoyage disponibles sont utilisées (trempage en bain détergent, rinçage au solvant et/ou passage au four à 450 °C pendant 1 nuit). Des matériaux comme le caoutchouc butylique et le latex sont susceptibles de produire des interférences importantes et sont donc à éviter.

8. Réactifs utilisés

8.1. Eau grade milliQ

8.2. Hydroxyde de sodium p.a.

8.3. Solvants pour analyse de résidus de pesticides : n-hexane, cyclohexane, isooctane, acétone, ...

8.4. Sulfate de sodium anhydre p.a. : séché à 600 °C pendant 6 h minimum. Conservation à l'abri de l'humidité.

8.5. Colonnes de purification de Florisil commerciale : diamètre de 1 cm environ, type colonne SPE (0,5g/6ml ou 2g/15ml)

ou colonne remplie manuellement avec du Florisil (silicate de magnésium $MgSiO_3$), actif anhydre, de granulométrie comprise entre 60 et 100 Mesh - Activé à 140°C pendant au moins 16 heures.



8.6. Cuivre en granules

8.7. Polychlorobiphényles de puretés individuelles supérieures à 95 %: solution(s) mère(s) à 10 µg/ml dans le cyclohexane ou l'isooctane. Par exemple :

- Mix PCB n° 3 de Dr. Ehrenstorfer, GmbH (mélange des sept PCB). Stockage à 4 °C, à l'abri de la lumière. Les solutions dans l'isooctane peuvent être conservées à température ambiante (à 4 °C l'isooctane congèle, entraînant la précipitation des congénères de PCB à haut taux de chloration et des risques de mauvaise remise en solution). Durée de conservation : voir dates de validité du fournisseur pour les flacons non entamés et un an, en général, pour les solutions entamées et conservées dans les conditions optimales.
- Solution de PCB n° 30 à 10 µg/ml (Dr. Ehrenstorfer, GmbH)
- Solution de PCB n° 209 à 10 µg/ml (Dr. Ehrenstorfer, GmbH)

8.8. Solutions diluées de concentrations adaptées à la gamme de mesure : 5 points minimum. Ajouts (de 50 µl à 1 ml par ex.) de solution mère (8.5a) à un volume fixe de solvant (cyclohexane). Les dilutions sont mesurées par pesée. Conservation : 6 mois maximum

8.9. Solution d'étalon interne pour ajout dans l'eau : congénères n° 30/209 à 0,5 ng/µl dans l'acétone/cyclohexane 9/1 v/v. La dilution est réalisée par ajouts de 0,5 ml des solutions mères (8.5b et 8.5c) à de l'acétone amenée à 10 ml. La concentration est calculée par pesée. Conservation : 1 mois maximum.

8.10. Solution d'étalon interne pour mesure du facteur de réponse moyen : congénères n° 30/209 à 5 ng/µl dans le cyclohexane. La dilution est réalisée par mélange de deux volumes égaux des solutions mères mesurées par pesée. Cette solution est utilisée pour réaliser un ajout de 10 µl dans une fraction aliquote de 1 ml de solution diluée d'étalon (8.6). Cet ajout est réalisé directement dans les fioles de passeur d'échantillon.

9. Préparation de l'échantillon

L'échantillon est amené à température ambiante. Le conteneur est essuyé de toute trace de condensation et pesé au trébuchet (à 0.1 g près).

L'étalon interne (100 µl de solution 8.9) est additionné à la propipette directement dans le conteneur. Celui-ci est rebouché et agité manuellement pour homogénéiser l'ajout. Le pH de l'échantillon est contrôlé et amené entre 7 et 9,5 par de l'hydroxyde de sodium (Zappoli S. et al). Les avantages de la mise en pH basique de l'eau résident dans la rétention des acides fulviques et humiques, des composés phénoliques et des composés esters et des acides phtaliques dans la phase aqueuse ainsi qu'une meilleure récupération des PCB.

10. Mode opératoire

10.1 Extraction :

L'extraction se fait par addition directe dans la bouteille ou en erlenmeyer (préalablement taré) de 50 ml de n-hexane par litre d'échantillon. L'eau est extraite pendant 1 h par agitation mécanique sur une plaque magnétique. La phase organique est recueillie par décantation en ampoule ou pipetage de la phase organique surnageante. La fraction est filtrée sur sulfate de sodium anhydre préalablement rincé avec le solvant d'extraction. L'ampoule à décanter et le sulfate sont rincés par du solvant. Le rinçage est ajouté aux extraits.

Les fractions combinées sont concentrées à 35 °C sous un flux d'azote de qualité 4.8 (99,998 %) au moins. La pression est ajustée afin d'évaporer une quantité de 100 ml de solvant en 30 minutes environ.

L'extrait est transféré par pipetage en fiole de 2 ml tarée. Les tubes de concentration sont rincés avec un peu de solvant qui est concentré et combiné à l'extrait final. Le volume final se situe entre 1 et 1,7 ml. (Essai à blanc : effectuer une extraction dans les mêmes conditions sur un volume d'eau milliQ.)

10.2 Purification : (dans le cas d'eaux fortement chargées et/ou d'extraits intensément colorés)

Sur une colonne de 500mg de Florisil est ajouté environ 1 cm de sulfate de sodium anhydre. Ensuite l'extrait (voir extraction) est transféré sur la colonne. La fiole d'extraction est rincée avec deux fois 2 ml de n-hexane et les rinçages sont également transférés sur la colonne. La colonne est éluée avec deux fois 10 ml de n-hexane dans une fiole de type EPA 40 ml. L'extrait purifié est concentré sous flux d'azote jusque 10 ml environ.

10.3 Désulfuration : (dans le cas d'eaux fortement chargées et/ou d'extraits intensément colorés)

Une bonne cuillère à café de cuivre est ajoutée à la fiole contenant l'extrait. L'extrait est mélangé pendant au moins 4 heures et le contenu de la fiole est ensuite filtré dans une autre fiole de 40 ml. La fiole initiale et le filtre contenant les granules de cuivre sont rincés à l'hexane.

L'extrait est concentré sous flux d'azote jusque 0,5 ml et est transféré dans une fiole de passeur d'échantillon préalablement tarée. Le flacon intermédiaire est rincé et le rinçage est additionné à l'extrait. La fiole du passeur d'échantillon est pesée.

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

10.4.1 Préparation du système d'analyse :

- A. DETECTEUR ECD : Contrôle et réglage du bruit de fond détecteur et des conditions initiales selon la procédure d'utilisation

<u>Paramètre</u>	<u>Valeurs</u>
Pulse amplitude	50 V
Current	1 nA
Pulse Width	1 µsec (azote), 0,1 µsec (argon/méthane)
Température	310 °C

B. CHROMATOGRAPHE :

1. Identification de la colonne installée et contrôle des connexions
2. Recherche des fuites au septum de l'injecteur et vérification des débits :
 - pression d'entrée : fonction de la colonne
 - débit de split : fonction de la dilution voulue
 - balayage du septum : 2,5 ml/min env.
 - pression de gaz make-up : 170 kPa (fonction du détecteur)
3. Vérification des programmations de température :
 - four (pour une colonne de 60 m) : 60 °C (2:00 min) 20 °C/min // 160 °C (0:00 min) 1,2 °C/min // 280 °C (5:00 min).
 - Injecteur : 230 °C à 260 °C
 - Embase détecteur : 290 °C
4. Contrôle logiciel :
 - compléter la table d'échantillonnage avec noms de fichier, identification des solutions d'étalonnage et d'échantillons, les volumes d'échantillon et les dopages d'étalon interne et concentrations des solutions étalons.

C. PASSEUR D'ECHANTILLONS :

1. Remplissage du (des) flacon(s) de rinçage de seringue
2. Contrôle visuel de l'état de la seringue d'injection
3. Rinçage (abondant) de la seringue
4. Contrôle de la propreté du système par une injection à blanc de solvant

10.4.2 Etalonnage et analyse :

Un étalonnage est réalisé conjointement à chaque série de mesure.

Il faut injecter dans l'ordre le blanc, les cinq solutions étalons (par ordre croissant de concentration ; habituellement dans la gamme de 5 à 300 ng/ml) et les échantillons en se référant à la procédure d'utilisation du chromatographe en phase gazeuse.

11. Calcul et expression des résultats

Les intégrations des chromatogrammes sont vérifiées manuellement et les temps de rétention définis par l'analyse des solutions étalons sont utilisés pour la reconnaissance automatique des pics lors du retraitement des résultats des inconnus. Dans tous les cas, l'attribution correcte des pics est soumise à vérification (par comparaison des temps de rétention des inconnus avec ceux des étalons ou calcul des temps de rétention relatifs au PCB 209). L'identification d'un profil ou de plus de trois pics simultanément n'est pas suivie de confirmation. Dans les cas ou moins de trois pics et/ou lorsqu'un doute surgit quant à l'authenticité de la contamination, une confirmation peut être menée par analyse des échantillons litigieux sur une colonne de polarité différente ou par analyse par GC-MS.

Le calcul des concentrations finales est réalisé selon un modèle de régression linéaire (sans pondération) calculé sur la hauteur des pics relativement à un étalon interne. Le PCB 30 est utilisé comme étalon interne. En fonction des interférents présents, le PCB 209 peut également être utilisé.

Les résultats sont exprimés en ng/l. La somme des 7 congénères est réalisée conjointement à la présentation des résultats individuels. La limite indiquée est variable et fonction de la quantité d'échantillon (< 18 ng/l pour 2 litres, < 35 ng/l pour 1 litre).

12. Sécurité

- L'hexane est un solvant neurotoxique, il convient de pratiquer les opérations d'extraction/concentration des échantillons aqueux sous hotte.
- Les composés organiques halogénés sont biopersistants et toxiques. Leur manipulation doit être réalisée par du personnel qualifié, équipé des moyens de protection individuels requis (gants, lunettes de protection, blouse de laboratoire, ...) dans des locaux adaptés et sous interdiction de consommation de nourritures et boissons.
- Le détecteur ECD contient une source radioactive dont la manipulation est réglementée.

13. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne et à l'ISO6468 : 1996;
- 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

ISO 5667-3: 2013 : Qualité de l'eau – Echantillonnage – Partie 3 : Lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau

ISO 6468:1996 : Qualité de l'eau – Dosage de certains insecticides organochlorés, des polychlorobiphényles et des chlorobenzènes – Méthode par chromatographie en phase gazeuse après extraction liquide-liquide

Zappoli S. et al., Dissolved organic matter en pH affect the extraction efficiency of PCB's from aqueous samples, Chemosphere 35/8 (1997), 1729-1736

ORIGINAL 2014