

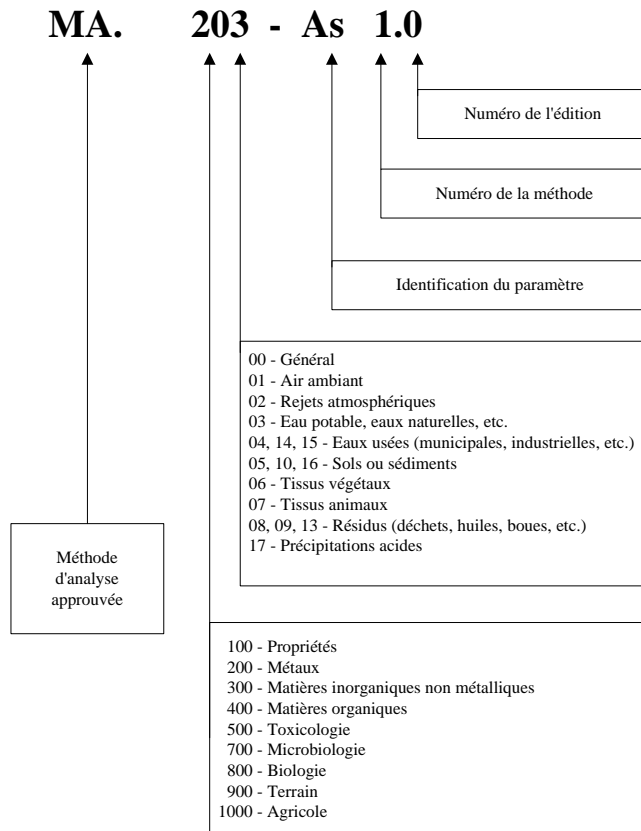
Méthode d'analyse



MA. 400 - BPCHR 1.0

Détermination des biphényles polychlorés (congénères) :
dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée
à un spectromètre de masse à haute résolution

Exemple de numérotation :



La première édition d'une méthode est marquée de l'indice « 0 ». De façon usuelle, après quatre révisions successives, l'indice est augmenté de 1. Il peut également être élevé si une révision entraîne des modifications en profondeur de la méthode. La date de révision est suivie d'un chiffre qui indique le numéro de la révision en cours.

Ce document doit être cité de la façon suivante :

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC.
Détermination des biphényles polychlorés (congénères) : dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse à haute résolution, MA. 400 – BPCHR 1.0, Rév. 2, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2011, 33 p.

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
2700, rue Einstein, bureau E.2.220
Québec (Québec) G1P 3W8

Téléphone : 418 643-1301
Télécopieur : 418 528-1091
Courriel : ceaeq@mddep.gouv.qc.ca

© Gouvernement du Québec, 2011

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
1. DOMAINE D'APPLICATION	5
2. PRINCIPE ET THÉORIE	5
3. INTERFÉRENCES	6
4. CONSERVATION	7
5. APPAREILLAGE	7
6. RÉACTIFS ET ÉTALONS	8
7. PROTOCOLE D'ANALYSE	13
7.1. Préparation spéciale de la verrerie	14
7.2. Extraction	14
7.3. Purification	21
7.4. Dosage des BPC congénères	25
8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS	28
8.1. Critères d'identification des substances recherchées	28
8.2. Méthode de quantification avec une solution étalon volumétrique	28
8.3. Détermination des limites de détection	30
9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ	31
10. BIBLIOGRAPHIE	32

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Conservation	7
Tableau 2	Composition de la solution étalon de recouvrement (a) et de la solution étalon volumétrique (b)	11
Tableau 3	Composition des solutions étalons de calibration	11
Tableau 4	Ordre d'élution des constituants d'un mélange de BPC selon cette procédure	27
Tableau 5	Masses ioniques pour l'analyse des BPC congénères	27

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Analyse organique multiparamètre en ultratrace	13
Figure 2	Colonne multicouche	23

INTRODUCTION

Les biphényles polychlorés, ou BPC, sont des composés synthétiques formés de deux noyaux benzéniques joints par un de leurs sommets et dont les 10 atomes d'hydrogène peuvent être substitués par autant d'atomes de chlore. Ils sont caractérisés par une grande stabilité thermique, chimique et biologique. Les biphényles polychlorés sont peu solubles dans l'eau mais hautement solubles dans les graisses, les huiles et les liquides non polaires.

Auparavant, les BPC étaient utilisés, entre autres, comme plastifiants dans les fluides hydrauliques, les lubrifiants et les composés de scellement et aussi comme isolants dans les transformateurs et condensateurs électriques.

Cette méthode consiste à doser et à rapporter spécifiquement 41 congénères de BPC qui sont ciblés soit pour leur toxicité, leur persistance dans l'environnement ou leur abondance dans les quatre mélanges commerciaux les plus fréquemment utilisés au Québec, à savoir les Arochlor[®] 1242, 1248, 1254 et 1260. Les congénères ciblés servent à générer des facteurs de réponse moyens qui permettent de calculer la concentration des autres BPC présents dans l'échantillon. Un total, défini comme « BPC totaux », est obtenu par la somme des 41 congénères spécifiques et des autres BPC non étalonnés; précisons que les BPC constituant ce total sont des BPC ayant entre 3 et 10 atomes de chlore. La méthode permet de souligner, lorsque possible, la présence d'un ou de plusieurs Arochlor[®].

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode d'analyse est utilisée pour mesurer la concentration des BPC possédant de 3 à 10 atomes de chlore. Elle est applicable aux eaux usées, aux eaux de surface, à l'eau potable, aux effluents industriels, aux déchets liquides aqueux, aux sols, aux sédiments, aux déchets solides, à l'air ambiant et aux tissus biologiques. Le domaine d'étalonnage des congénères par GC/MS est de 0,25 à 200 pg/µl.

Lors des analyses des BPC par haute résolution, la limite de détection de la méthode doit être évaluée pour chacun des congénères ciblés, et ce, pour chaque échantillon. L'évaluation de la limite de détection s'effectue selon la procédure décrite à la section 8.3.

De façon générale, les limites de détection varient de 10 à 100 pg/l en fonction des congénères et du niveau de concentration des coextractants pour les échantillons aqueux, entre 1 et 50 pg/g en fonction des congénères pour les échantillons solides (sols, boues, sédiments) et les tissus biologiques. Pour les échantillons d'air ambiant, ces limites varient entre 10 fg/m³ et 500 fg/m³ en fonction des congénères pour des volumes d'air de l'ordre de 1 500 m³. La présence d'interférences peut faire augmenter ces limites.

2. PRINCIPE ET THÉORIE

Chaque échantillon est fortifié avec une solution de BPC marqués au carbone 13 (¹³C) (étalon de recouvrement = étalon analogue; cf. DR-12-VMC) avant le début des manipulations. Les échantillons aqueux sont ensuite filtrés pour extraire la phase dissoute et la phase particulaire séparément. Les particules filtrées sont extraites au bain à ultrasons avec un mélange acétone :

hexane (1 : 1 volume : volume) comme solvant tandis que la phase dissoute est extraite sous forme liquide-liquide avec le dichlorométhane. Les deux extraits sont ensuite combinés, concentrés jusqu'à un volume de 3 à 5 ml et échangés avec de l'hexane. Les sédiments, les sols et les déchets solides sont extraits au four à micro-ondes avec un mélange acétone : hexane (1 : 1 volume : volume) comme solvant. Ils peuvent également être séchés sous la hotte puis extraits au soxhlet avec le toluène comme solvant. L'extrait est également concentré et échangé pour de l'hexane. Les échantillons d'air ambiant sont constitués de deux mousses de polyuréthane (PUF) et d'un filtre en fibre de verre recouvert de téflon. Ce système permet ainsi de capter les contaminants associés aux particules sur le filtre et les contaminants à l'état gazeux sont adsorbés sur les mousses. Les filtres et les mousses sont extraits ensemble au soxhlet avec le toluène comme solvant. Les tissus biologiques sont séchés à froid durant 48 heures et les tissus végétaux pendant 60 heures à l'aide d'un lyophilisateur. Par la suite, le tissu est extrait au soxhlet avec le toluène comme solvant.

L'extrait est ensuite purifié sur une colonne multicouche et une colonne d'alumine (dans le cas de certaines matrices, un traitement préliminaire à l'acide sulfurique ainsi qu'un traitement avec du cuivre peuvent être nécessaires). Ces colonnes enlèvent, par réaction et adsorption sélective, la plupart des composés organiques coextraits avec les BPC. L'extrait résultant est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif, transféré dans un vial et un volume précis d'une solution étalon pour injection (étalon volumétrique) est ajouté.

L'extrait est injecté dans un système de chromatographie en phase gazeuse où les différents composés sont séparés. À la sortie de la colonne chromatographique, ceux-ci pénètrent dans la source du spectromètre de masse haute résolution, où ils sont ionisés pour produire un ion radicalaire. Les ions positifs formés sont par la suite séparés selon leur masse exacte et enregistrés en mode d'ions sélectifs. Le détecteur est relié à un système informatique qui permet d'enregistrer l'abondance de chaque ion tout au long de l'analyse. L'identification et la concentration des BPC sont déterminées par comparaison du signal mesuré pour une solution étalon connue et celui de l'échantillon, en regard des critères des temps de rétention, des rapports isotopiques et de l'intensité des signaux correspondants. Les concentrations trouvées sont corrigées pour la récupération des étalons de recouvrement ajoutés au début des manipulations. Les 41 congénères spécifiques sont rapportés individuellement et le paramètre « BPC totaux » est calculé grâce à la somme des BPC spécifiques et des autres BPC calculés à l'aide d'un facteur de réponse moyen; de plus les groupes homologues sont rapportés.

3. INTERFÉRENCES

Les interférences peuvent être causées par des contaminants contenus dans les solvants, les réactifs, la verrerie ou les appareils de préparation. Tous les solvants, les réactifs et les appareils doivent être régulièrement vérifiés par l'analyse de blanc de procédure. D'autres composés organiques coextraits peuvent interférer lors du dosage des BPC. La procédure de purification décrite dans cette méthode suffit généralement à les éliminer. Dans de rares cas, lorsque la concentration en BPC est extrêmement élevée, il peut y avoir saturation du détecteur, ce qui peut nuire à la détermination de la concentration des composés marqués.

4. CONSERVATION

Les renseignements sur la conservation des échantillons sont présentés dans les cahiers du *Guide d'échantillonnage à des fins d'analyses environnementales*.

Les données ci-après sont présentées à titre de renseignement seulement.

Tableau 1 : Conservation

Échantillon	Volume ou poids échantillonné	Volume ou poids analysé	Conservation	Délai de conservation
<u>Aqueux</u>				
eau usée	0,5 - 1,0 l	0,5 l	Chambre froide	3 mois
eau de surface	0,5 - 1,0 l	0,5 l	Chambre froide	3 mois
déchet liquide	0,5 - 1,0 l	0,01 - 0,5 l	Chambre froide	6 mois
<u>Solide</u>				
sol, sédiment, déchet	100 – 500 g	1 - 20 g sec	Congélateur Chambre froide	Indéfiniment 3 mois
<u>Tissu biologique</u>	20 – 50 g	10 - 20 g humide	Congélateur	Indéfiniment
<u>Tissu végétal</u>	20 – 50 g	5 – 10 g sec	Congélateur	Indéfiniment
<u>Air ambiant</u>	200 – 2 000 m ³	entier	Congélateur	Indéfiniment

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (haute résolution, HRMS)
- 5.2. Colonne chromatographique capillaire d'une longueur de 60 m × 0,25 mm Di, de type DB-5, dont la phase est d'une épaisseur de 0,25 µm
- 5.3. Colonnes en verre de 20 mm Di × 230 mm (purifications multicouches)
- 5.4. Colonnes en verre de 10 mm Di × 115 mm (purifications alumine 3F)
- 5.5. Colonnes en verre de 2,5 cm Di × 30 cm (purification alumine grand format)
- 5.6. Colonnes en verre pour le sulfate de sodium anhydre
- 5.7. Système d'évaporation sous jet d'azote
- 5.8. Évaporateur rotatif
- 5.9. Bain circulant réfrigérant
- 5.10. Four à moufle
- 5.11. Colonne à reflux, gaine chauffante et rhéostat

- 5.12. Filtre de type GF/C
- 5.13. Extracteur soxhlet d'une capacité de 500 ml
- 5.14. Extracteur soxhlet d'une capacité de 1 000 ml pour la décontamination des mousses de polyuréthane (PUF)
- 5.15. Système de filtration sous vide
- 5.16. Plaques agitrices
- 5.17. Balance analytique dont la sensibilité est de 0,01 g
- 5.18. Bain ultrasonique
- 5.19. Verrerie (ballons, cylindres et autres)
- 5.20. Dessiccateur
- 5.21. Agitateur rotatif (de type « Rollacell »)
- 5.22. Lyophilisateur
- 5.23. Four à micro-ondes
- 5.24. Agitateur culbuteur (de type « Réax »)
- 5.25. Étuve à température contrôlée

6. RÉACTIFS ET ÉTALONS

L'eau utilisée doit être déminéralisée.

Les gaz utilisés (azote, hélium) sont de qualité grade zéro ou l'équivalent, ou de qualité supérieure.

Tous les solvants utilisés sont de qualité pesticide (distillés dans le verre) ou l'équivalent.

Les réactifs commerciaux utilisés sont de qualité ACS, à moins d'indication contraire.

- 6.1. Acide sulfurique, H_2SO_4 (CAS n° 7664-93-9)
- 6.2. Acide chlorhydrique, HCl (CAS n° 7647-01-0)
- 6.3. Hydroxyde de sodium, $NaOH$, (CAS n° 1310-73-2)
- 6.4. Hexane, C_6H_{14} (CAS n° 110-54-3)
- 6.5. Toluène, $C_6H_5CH_3$ (CAS n° 108-88-3)

- 6.6. Dichlorométhane, CH_2Cl_2 (CAS n° 75-09-2)
- 6.7. Acétone, CH_3COCH_3 (CAS n° 67-64-1)
- 6.8. Iso-octane, $(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (CAS n° 540-84-1)
- 6.9. Cuivre métallique (20-30 Mesh), Cu (CAS n° 7440-50-8)
- 6.10. Nitrate d'argent, AgNO_3 (CAS n° 7761-88-8)
- 6.11. Silice, (CAS n° 112926-00-8)

La silice utilisée est une silice neutre dont la granulométrie est de 100 à 200 Mesh (Selecto Scientific ou l'équivalent).

- 6.12. Solution d'acide chlorhydrique 1,0 N

Diluer, par exemple, 83 ml de HCl (*cf.* 6.2) dans environ 800 ml d'eau, laisser refroidir et compléter à 1 000 ml.

- 6.13. Solution d'hydroxyde de sodium 1,0 M

Dissoudre, par exemple, 4 g de NaOH (*cf.* 6.3) dans environ 80 ml d'eau déminéralisée tout en agitant, laisser refroidir et compléter à 100 ml avec de l'eau.

- 6.14. Sulfate de sodium anhydre, Na_2SO_4 (CAS n° 7757-82-6)

Dans un creuset, introduire du Na_2SO_4 granulaire anhydre et calciner au four à environ 650 °C pendant une nuit. Laisser refroidir à la température ambiante au dessiccateur et transférer dans une bouteille opaque.

- 6.15. Laine de verre traitée

Dans un bécher, mettre de la laine de verre et la laver avec deux portions successives d'hexane (*cf.* 6.4) dont le volume de chaque portion équivaut au double du volume occupé par la laine. Après décantation, laver de nouveau avec deux portions successives de dichlorométhane (*cf.* 6.6) dont le volume est semblable à celui utilisé pour l'hexane et décanter. Laisser sécher dans la hotte et recouvrir le bécher avec un papier d'aluminium traité avec de l'hexane et du dichlorométhane. Sécher à l'étuve à 40 - 50 °C pendant une nuit.

- 6.16. Silice purifiée

Dans une colonne de verre, transférer environ 500 g de silice (*cf.* 6.11) et la laver avec deux portions successives d'hexane (*cf.* 6.4) dont le volume de chaque portion équivaut au double du volume occupé par le gel de silice. Après élution, laver de nouveau avec deux portions successives de dichlorométhane (*cf.* 6.6) dont le volume est semblable à celui utilisé pour l'hexane et décanter. Laisser sécher dans la hotte et recouvrir le bécher avec un papier d'aluminium traité avec de l'hexane et du dichlorométhane. Placer à l'étuve à environ 50 °C et augmenter graduellement la température jusqu'à environ 115 °C sur une

période de 5 heures. Conditionner à l'étuve à environ 500 °C pendant 48 heures. Laisser refroidir à la température ambiante et placer au dessiccateur.

6.17. Silice imprégnée de nitrate d'argent 10 % (P/P)

Dans un bécher, peser 5,6 g de nitrate d'argent (*cf.* 6.10) et ajouter 21,5 ml d'eau déminéralisée pour le dissoudre. Dans une bouteille opaque munie d'un bouchon avec garniture de téflon, peser 50 g de silice purifiée (*cf.* 6.16). À l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter par petites portions la solution de nitrate d'argent, agiter après chaque addition afin d'uniformiser la distribution du nitrate d'argent sur la silice. Utiliser une tige de verre pour briser les agglomérats présents dans le mélange. Lorsque tout le nitrate d'argent est ajouté, laisser reposer pendant 30 minutes. Par la suite, placer à l'étuve à environ 30 °C et augmenter graduellement la température de l'étuve jusqu'à environ 115 °C sur une période de 5 heures. Conditionner à l'étuve à environ 115 °C pendant une nuit. Laisser refroidir à la température ambiante et mettre au dessiccateur.

6.18. Silice imprégnée d'hydroxyde de sodium 1,0 M 33 % (P/P NaOH : Silice)

Dans une bouteille de verre ambré munie d'un bouchon avec garniture de téflon, peser 50 g de silice purifiée (*cf.* 6.16). À l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter par petites portions 24,6 g de la solution de NaOH 1,0 M (*cf.* 6.13), agiter après chaque addition afin d'uniformiser la distribution du NaOH 1,0 M sur la silice. Utiliser une tige de verre pour briser les agglomérats présents dans le mélange.

6.19. Gel de silice imprégné d'acide sulfurique 44 % (P/P H₂SO₄ : Silice)

Dans un bécher, peser 78,6 g de H₂SO₄ (*cf.* 6.1). Dans une bouteille de verre ambré munie d'un bouchon avec garniture de téflon, peser 100 g de gel de silice purifié (*cf.* 6.16). À l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter par portion d'environ 5 ml le H₂SO₄, agiter après chaque addition afin d'uniformiser la distribution du H₂SO₄ sur le gel de silice. Utiliser une tige de verre pour briser les agglomérats présents dans le mélange.

NOTE – Ce réactif possède les mêmes propriétés que l'acide sulfurique.

6.20. Oxyde d'aluminium 90 activité 1 (CAS no 1344-28-1)

Cette alumine est un oxyde d'aluminium dont la granulométrie est de 70-230 Mesh (EMD). Elle est utilisée telle que reçue et conservée au dessiccateur après la première utilisation.

6.21. Solution étalon de recouvrement et solution étalon volumétrique

NOTE – On peut se procurer, auprès de la Cambridge Isotope Laboratories de Woburn (MA) ou de Wellington Laboratories de Guelph (Ont.), des solutions étalons certifiées de BPC « naturels », des étalons marqués au carbone 13 ainsi que des mélanges servant à la définition des fenêtres des temps de rétention chromatographiques.

Tableau 2 : Composition de la solution étalon de recouvrement (a) et de la solution étalon volumétrique (b)

Composition	Concentrations visées (pg/μl) (iso-octane)
(a) Solution étalon de recouvrement *	
¹³ C ₁₂ - Cl ₃ - IUPAC n° 28	500
¹³ C ₁₂ - Cl ₄ - IUPAC n° 52	500
¹³ C ₁₂ - Cl ₅ - IUPAC n° 111	500
¹³ C ₁₂ - Cl ₆ - IUPAC n° 153	500
¹³ C ₁₂ - Cl ₇ - IUPAC n° 178	500
¹³ C ₁₂ - Cl ₈ - IUPAC n° 194	500
¹³ C ₁₂ - Cl ₉ - IUPAC n° 208	500
(b) Solution étalon volumétrique *	
¹³ C ₁₂ - Cl ₄ - IUPAC n° 47	500
¹³ C ₁₂ - Cl ₅ - IUPAC n° 101	500
¹³ C ₁₂ - Cl ₇ - IUPAC n° 170	500
¹³ C ₁₂ - Cl ₁₀ - IUPAC n° 209	500

* Conserver cette solution à -10 °C dans un vial en verre vissé muni d'une garniture de téflon.

6.22 Solutions étalons de calibration

Tableau 3 : Composition des solutions étalons de calibration

Solutions étalons de calibration	Concentration visée (pg/μl)				
	CS1*	CS2*	CS3*	CS4*	CS5
(a) Étalons « nature »					
Cl ₃ - IUPAC n° 18	0,25	1	10	50	200
Cl ₃ - IUPAC n° 17	0,06	0,25	2,5	12,5	50
Cl ₃ - IUPAC n° 31	0,19	0,75	7,5	37,5	150
Cl ₃ - IUPAC n° 28	0,25	1	10	50	200
Cl ₃ - IUPAC n° 33	0,25	1	10	50	200
Cl ₄ - IUPAC n° 52	0,25	1	10	50	200
Cl ₄ - IUPAC n° 49	0,25	1	10	50	200
Cl ₄ - IUPAC n° 44	0,25	1	10	50	200
Cl ₄ - IUPAC n° 74	0,25	1	10	50	200
Cl ₄ - IUPAC n° 70	0,25	1	10	50	200
Cl ₅ - IUPAC n° 95	0,12	0,5	5	25	100
Cl ₅ - IUPAC n° 101	0,25	1	10	50	200
Cl ₅ - IUPAC n° 99	0,25	1	10	50	200
Cl ₅ - IUPAC n° 87	0,25	1	10	50	200
Cl ₅ - IUPAC n° 110	0,25	1	10	50	200
Cl ₅ - IUPAC n° 82	0,06	0,25	2,5	12,5	50
Cl ₆ - IUPAC n° 151	0,25	1	10	50	200
Cl ₆ - IUPAC n° 149	0,25	1	10	50	200

Solutions étalons de calibration	Concentration visée (pg/μl)				
	CS1*	CS2*	CS3*	CS4*	CS5
Cl ₅ – IUPAC n° 118	0,25	1	10	50	200
Cl ₅ – IUPAC n° 105	0,06	0,25	2,5	12,5	50
Cl ₆ – IUPAC n° 153	0,25	1	10	50	200
Cl ₆ – IUPAC n° 132	0,12	0,5	5	25	100
Cl ₆ – IUPAC n° 138	0,25	1	10	50	200
Cl ₆ – IUPAC n° 158	0,06	0,25	2,5	12,5	50
Cl ₇ – IUPAC n° 187	0,25	1	10	50	200
Cl ₇ – IUPAC n° 183	0,25	1	10	50	200
Cl ₆ – IUPAC n° 128	0,25	1	10	50	200
Cl ₇ – IUPAC n° 177	0,25	1	10	50	200
Cl ₇ – IUPAC n° 171	0,25	1	10	50	200
Cl ₆ – IUPAC n° 156	0,25	1	10	50	200
Cl ₇ – IUPAC n° 180	0,25	1	10	50	200
Cl ₇ – IUPAC n° 191	0,25	1	10	50	200
Cl ₆ – IUPAC n° 169	0,25	1	10	50	200
Cl ₇ – IUPAC n° 170	0,25	1	10	50	200
Cl ₈ – IUPAC n° 199	0,19	0,75	7,5	37,5	150
Cl ₉ – IUPAC n° 208	0,25	1	10	50	200
Cl ₈ – IUPAC n° 195	0,25	1	10	50	200
Cl ₈ – IUPAC n° 194	0,25	1	10	50	200
Cl ₇ – IUPAC n° 205	0,25	1	10	50	200
Cl ₈ – IUPAC n° 206	0,251	1	10	50	200
Cl ₁₀ – IUPAC n° 209	0,251	1	10	50	200
(b) <u>Étalons de recouvrement</u>					
¹³ C ₁₂ - Cl ₃ – IUPAC n° 28	50	50	50	50	50
¹³ C ₁₂ - Cl ₄ – IUPAC n° 52	50	50	50	50	50
¹³ C ₁₂ - Cl ₅ – IUPAC n° 111	50	50	50	50	50
¹³ C ₁₂ - Cl ₆ – IUPAC n° 153	50	50	50	50	50
¹³ C ₁₂ - Cl ₇ – IUPAC n° 178	50	50	50	50	50
¹³ C ₁₂ - Cl ₈ – IUPAC n° 194	50	50	50	50	50
¹³ C ₁₂ - Cl ₉ – IUPAC n° 208	50	50	50	50	50
(c) <u>Étalons volumétriques</u>					
¹³ C ₁₂ - Cl ₄ - IUPAC n° 47	50	50	50	50	50
¹³ C ₁₂ - Cl ₅ - IUPAC n° 101	50	50	50	50	50
¹³ C ₁₂ - Cl ₇ - IUPAC n° 170	50	50	50	50	50
¹³ C ₁₂ - Cl ₁₀ - IUPAC n° 209	50	50	50	50	50

* Réfère aux différents types de solutions de calibration (CS) requis dans le protocole d'analyse (voir section 7).

NOTE – Lors de la préparation de toutes ces solutions, placer l'ampoule dans le bain à ultrasons afin de s'assurer que le composé est bien dissout.

7. PROTOCOLE D'ANALYSE

Le traitement des échantillons est fonction de leur nature et des paramètres qui devront être analysés. Ainsi, afin d'optimiser le temps et le coût des analyses, un protocole analytique multiparamètre a été élaboré pour l'ensemble des matrices traitées. Le logigramme présenté ci-dessous résume l'ensemble de ce protocole multiparamètre. L'analyste adoptera une séquence d'opération analytique en fonction de la nature de l'échantillon et des paramètres demandés.

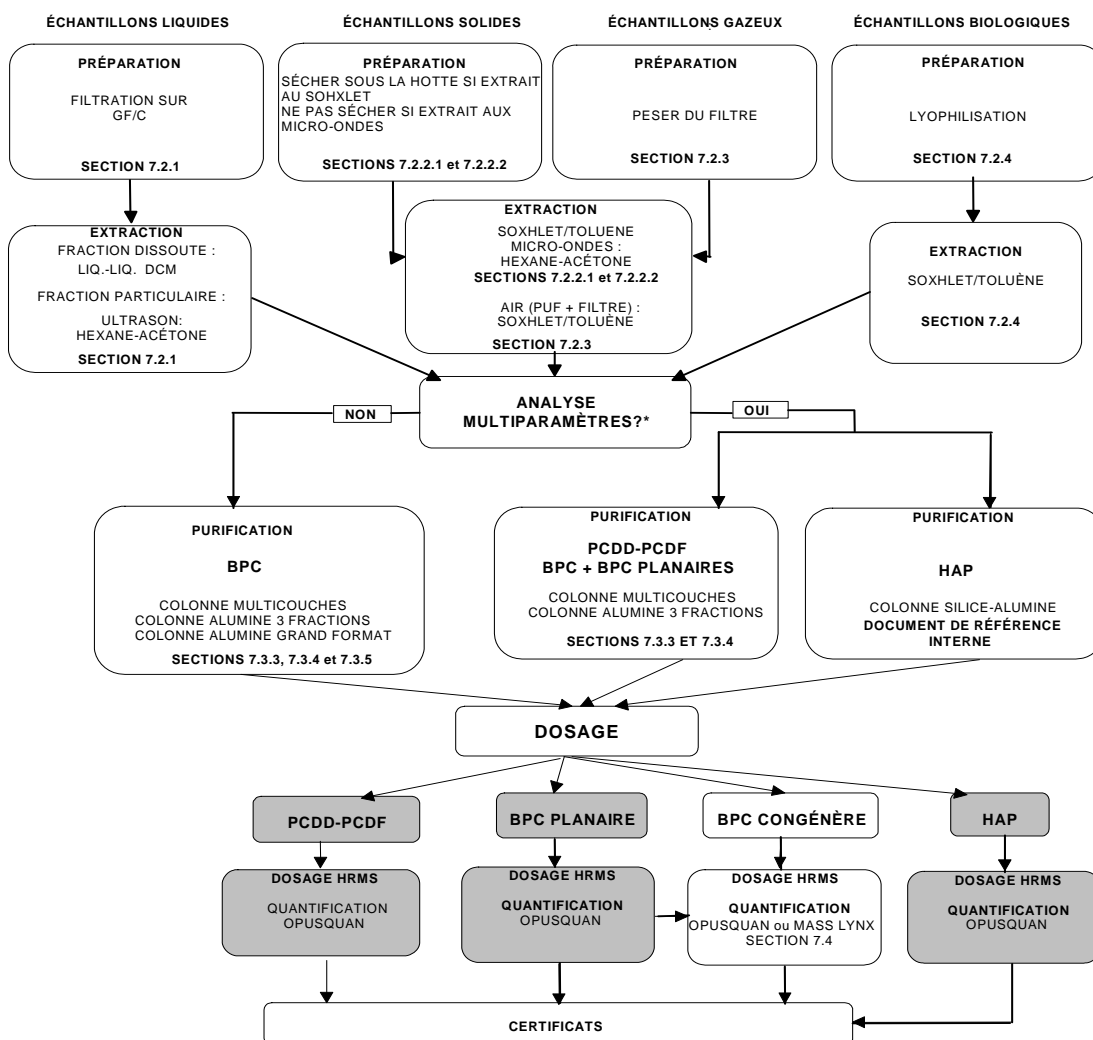
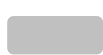


Figure 1 : Analyse organique multiparamètre en ultratrace

* Si l'analyse des HAP est requise, diviser l'extrait en deux. L'extrait peut être divisé en plus de deux fractions si d'autres paramètres sont à analyser.



Les sections ombragées ne sont pas présentées dans cette méthode. Elles sont incluses dans des documents de références internes ou dans la méthode MA. 400 - D.F. 1.0 pour les PCDD-PCDF.

7.1. PRÉPARATION SPÉCIALE DE LA VERRERIE

Toute la verrerie utilisée pour l'ensemble de ces procédures doit être préalablement décontaminée selon la procédure suivante :

- Après utilisation, rincer la vaisselle à l'acétone et laisser tremper dans la solution de DECON ou l'équivalent (2 - 4 %).
- Laver au lave-vaisselle en deux cycles :
 - rinçage à l'eau chaude cycle court
 - rinçage à l'eau chaude cycle long
 - sécher à l'étuve
 - juste avant de l'utiliser, la verrerie doit être rincée à l'hexane et au dichlorométhane.

NOTE – Pour éviter la contamination des blancs et des échantillons, la vaisselle utilisée à l'exception de celle pour l'analyse par grand volume, est traitée à l'acide sulfochromique au minimum pendant 2 heures avant d'être lavée au lave-vaisselle en utilisant le cycle long.

7.2. EXTRACTION

7.2.1. Extraction des liquides aqueux

1^{re} étape : Préparation de l'échantillon

- De façon générale, les échantillons aqueux (500 - 1 000 ml) sont prélevés en duplicata et transférés au laboratoire dans des bouteilles de 1 litre en verre ambré. Conserver le duplicata de l'échantillon pour une reprise d'analyse au besoin.
- Le volume nécessaire à la réalisation d'une analyse doit être mesuré à l'aide d'un cylindre gradué préalablement décontaminé, à moins que le volume de l'échantillon corresponde exactement au trait de jauge, soit 500 ml. Avant de mesurer ce volume, agiter l'échantillon pendant 1 à 2 minutes. Noter le volume précis d'échantillon dans le cahier de laboratoire et retransférer l'échantillon dans sa bouteille originale ou dans une bouteille de 1 litre en verre ambré.
- Acidifier l'échantillon à $\text{pH} \leq 2$ à l'aide de H_2SO_4 (cf. 6.1).
- Préparer la solution de fortification de l'échantillon en ajoutant, dans un tube jetable de 15 ml, 1 ml d'acétone (cf. 6.7) et 50 ou 100 μl des étalons de recouvrement de BPC (500 $\text{pg}/\mu\text{l}$) préparés à la section 6 (cf. 6.21).

NOTE – Inscrire dans le cahier de laboratoire le volume ajouté ainsi que la concentration de la solution d'étalons de recouvrement et la date de préparation.

NOTE – Pour le blanc de méthode, la solution des étalons de recouvrement est ajoutée en deux parties, soit à cette étape-ci, dans la bouteille de verre ambré réservée pour le

blanc à laquelle on ajoute 150 ml de dichlorométhane et à l'étape de l'extraction de la phase particulaire, soit dans la fiole de centrifugation contenant un filtre.

- À l'aide d'une pipette Pasteur, transférer la solution de fortification à l'échantillon et rincer le tube avec deux portions successives d'acétone d'environ 1 ml.
- Introduire un barreau magnétique décontaminé recouvert de téflon et débiter l'agitation. Laisser agiter pendant 30 minutes.

2^e étape : Filtration de l'échantillon et extraction du filtrat et du filtre

- Préparer un appareil à filtration avec un Büchner de 10 cm muni d'un filtre en fibre de verre dont la porosité est de 1,2 μm et d'un erlenmeyer à vide. Bien décontaminer la verrerie.
- Filtrer l'échantillon sous vide et récupérer le filtre ou les filtres dans une fiole à centrifugation et immerger le filtre (50 à 75 ml) avec une solution hexane-acétone 50 : 50 (V/V). Changer de filtre si la vitesse de filtration ralentit à cause de l'obturation des pores du filtre.

NOTE – Attendre que le filtre soit sec avant de le retirer du Büchner.

- Extraire les filtres au bain à ultrasons pendant 2 minutes.
- Répéter l'extraction deux autres fois avec une portion fraîche d'hexane-acétone 50 : 50 (V/V).
- Récupérer ces trois portions (extractions) dans un ballon de 500 ml et concentrer l'extrait à l'aide d'un évaporateur rotatif dont la température du bain est inférieure à 22 °C, jusqu'à un volume d'environ 3 ml.
- Récupérer le filtrat dans sa bouteille de verre ambré.
- Rincer le Büchner et l'erlenmeyer à vide avec environ 150 ml de dichlorométhane (*cf.* 6.6), et transférer ce dichlorométhane dans la bouteille de verre ambré.
- Placer la bouteille de verre ambré contenant le filtrat et le dichlorométhane sur une plaque agitatrice et laisser agiter au minimum 1 heure. Lors de l'agitation, s'assurer que le vortex est suffisamment fort pour bien mélanger ensemble le dichlorométhane et l'eau.
- Placer ensuite cette bouteille sur un agitateur rotatif pour la nuit.

3^e étape : Séparation du filtrat et combinaison des phases particulières et dissoutes

- Placer un ballon de 500 ml sous une colonnette de sulfate de sodium. Rincer le ballon ainsi que le sulfate de sodium avec environ 30 ml de dichlorométhane (*cf.* 6.6).

- Transférer l'extrait de 3 ml de la phase particulaire dans la colonnette de sulfate de sodium. Rincer le ballon avec 3 portions d'hexane (cf. 6.4) et transférer le solvant de rinçage dans la colonnette.
- Transférer la phase dichlorométhane contenue dans la bouteille ambrée à l'aide d'une pipette jetable de 25 ml sur la colonnette de sulfate de sodium qui a servi à l'assèchement de la phase particulaire.

Note – La phase particulaire (extrait de 3 ml) ainsi que la phase dissoute sont asséchées dans la même colonnette de sulfate de sodium et sont récupérées dans le même ballon de 500 ml.

- Ajouter 70 ml de dichlorométhane (cf. 6.6) dans la bouteille ambrée, placer sur une plaque agitatrice pendant environ 10 minutes et remettre à l'agitateur rotatif pendant un minimum de 2 heures.
- Séparer de nouveau la phase organique telle que mentionnée plus haut et combiner ce deuxième extrait au premier après l'avoir asséché sur la colonnette de sulfate de sodium. Ajouter alors 20 ml d'hexane pour le transfert de solvant.
- Fixer le ballon à l'évaporateur rotatif dont la température du bain est ajustée à une température inférieure à 25 °C.

Démarrer l'évaporation jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 1 à 2 ml.

NOTE – Conserver cet extrait dans l'hexane pour les étapes de purification sur colonne (se reporter à la section 7.3).

Pour certains échantillons, un volume de 3,5 l est utilisé afin d'abaisser les limites de détection. L'échantillon est filtré sur un filtre de 293 mm de diamètre et de porosité de 0,7 µm. Le filtrat est extrait à l'aide d'un agitateur rotatif comme pour les échantillons de 0,5 l. Quant au filtre, il est extrait au soxhlet avec du toluène. Les extraits sont combinés puis purifiés et dosés comme pour les échantillons de 0,5 l.

7.2.2. Extraction des solides

7.2.2.1 Extraction au soxhlet

1^{re} étape : Préparation de l'échantillon

L'échantillon solide est déposé dans un vase de Pétri préalablement décontaminé (environ 30 - 40 g d'échantillon) et placé sous la hotte pendant une période de 24 heures ou jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Prendre note du poids de l'échantillon humide et sec dans le cahier de laboratoire afin de pouvoir évaluer le pourcentage d'humidité de l'échantillon.

- Une fois sec, l'échantillon est broyé finement.

2^e étape : Extraction des solides

- Les cartouches pour extracteur en cellulose (33 mm × 118 mm) sont traitées de la façon suivante avant usage : introduire dans le soxhlet la cartouche pour extracteur et un volume de 300 ml de toluène (*cf.* 6.5); laisser refluer pendant toute une nuit.
- Retirer la cartouche du soxhlet, la déposer dans un bécher et laisser sécher sous la hotte avant d'introduire l'échantillon à extraire. Rejeter le toluène ayant servi au prétraitement.
- Introduire entre 1 et 20 g du solide broyé dans la cartouche préalablement traitée. Noter le poids sec extrait dans le cahier de laboratoire (1 à 5 g pour les échantillons contaminés).
- Introduire la cartouche dans le soxhlet préalablement décontaminé à chaud au dichlorométhane (*cf.* 6.6).
- Ajouter directement sur le solide broyé 50 ou 100 µl des étalons de recouvrement de BPC (500 pg/µl) préparés à la section 6 (*cf.* 6.21).

NOTE – Incrire dans le cahier de laboratoire le volume ajouté ainsi que la concentration de la solution d'étalons de recouvrement et la date de préparation.

- Verser environ 300 ml de toluène dans le ballon du soxhlet.
- Compléter le montage de l'appareil à reflux et extraire l'échantillon durant une nuit au rythme de 3 à 5 cycles/heure.
- Après la nuit, laisser refroidir et récupérer le maximum de solvant possible dans le ballon.
- Démonter l'appareil et siphonner le solvant qui reste dans le soxhlet.
- Fixer le ballon à l'évaporateur rotatif dont la température du bain est ajustée à une température entre 28 - 33 °C.

NOTE – Dans le cas où l'échantillon n'est pas mis sous évaporateur rotatif immédiatement, conserver l'échantillon au congélateur.

- Démarrer l'évaporation jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 2 à 3 ml.
- Changer de solvant en ajoutant environ 20 ml d'hexane (*cf.* 6.4) et reprendre l'étape de concentration, à une température inférieure à 25° C, jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 1 à 2 ml.

NOTE – L'échantillon est maintenant prêt pour la purification (se reporter à la section 7.3).

7.2.2.2 Extraction aux micro-ondes

- Les vaisseaux de téflon sont décontaminés avec un mélange acétone : hexane 50 : 50 (V/V).

- Introduire entre 5 et 15 g d'échantillon humide directement dans les vaisseaux de téflon. Noter le poids humide dans le cahier de laboratoire.
- Ajouter directement sur l'échantillon 50 ou 100 µl des étalons de recouvrement de BPC (500 pg/µl) préparés à la section 6 (cf. 6.21).

NOTE – Inscrire dans le cahier de laboratoire le volume ajouté ainsi que la concentration de la solution d'étalons de recouvrement et la date de préparation.

- Verser environ 30 ml d'un mélange acétone : hexane 50 : 50 (V/V) et extraire aux micro-ondes pendant 20 minutes.
- Laisser refroidir les vaisseaux avant de les ouvrir.
- Filtrer les extraits sur filtre Whatman n° 41 préalablement pesé, rincer le vaisseau de téflon ainsi que le filtre avec le mélange acétone : hexane 50 : 50 (V/V). Récupérer le filtrat dans un ballon de 250 ml.
- Placer le filtre sous la hotte pendant une période de 24 heures ou jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Noter le poids et déterminer le poids sec de l'échantillon.
- Fixer le ballon à l'évaporateur rotatif dont la température du bain est ajustée à une température inférieure à 22 °C.
- Démarrer l'évaporation jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 3 ml. Ajouter alors 20 ml d'hexane (cf. 6.4) pour le transfert de solvant. Évaporer de nouveau jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 3 ml.
- Transférer l'extrait de 3 ml dans une colonnette de sulfate de sodium décontaminée avec environ 30 ml d'hexane. Rincer le ballon avec 3 portions d'hexane et transférer le solvant de rinçage dans la colonnette.
- Fixer le ballon à l'évaporateur rotatif dont la température du bain est ajustée à une température inférieure à 25 °C.
- Démarrer l'évaporation jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 1 à 2 ml.

NOTE – L'échantillon est maintenant prêt pour la purification (se reporter à la section 7.3).

7.2.3. Extraction des échantillons d'air ambiant

1^{re} étape : Préparation de l'échantillon

- À la réception des échantillons, vérifier l'identification de chacune des composantes. Le filtre, comme les deux mousses de polyuréthane, devraient être reçus emballés dans des feuilles d'aluminium préalablement décontaminées.

- Ouvrir le papier aluminium contenant le filtre et le laisser sécher au dessiccateur durant un minimum de 6 heures avant de procéder à l'extraction. Une fois sec, si le poids des particules est demandé par le client, peser le filtre et noter ce poids sur l'enveloppe de réception du filtre afin d'évaluer le poids des particules.

2^e étape : Extraction du filtre et des mousses de polyuréthane

- Introduire les mousses de polyuréthane et le filtre dans le soxhlet préalablement décontaminé à chaud au dichlorométhane (cf. 6.6).
- Ajouter de façon uniforme directement sur le filtre 50 ou 100 µl des étalons de recouvrement de BPC (500 pg/µl) préparés à la section 6 (cf. 6.21).

NOTE – Incrire dans le cahier de laboratoire le volume ajouté ainsi que la concentration de la solution d'étalons de recouvrement et la date de préparation.

- Verser environ 300 ml de toluène (cf. 6.5) dans le soxhlet.
- Compléter le montage de l'appareil à reflux et éviter l'exposition aux rayons ultraviolets.
- Extraire l'échantillon pendant une nuit au rythme de 3 à 5 cycles/heure.
- Laisser refroidir et récupérer le maximum de solvant dans le ballon.
- Démontez l'appareil et siphonner le solvant qui reste dans le soxhlet.
- Fixer le ballon à l'évaporateur rotatif dont la température du bain est ajustée à une température entre 28 - 33 °C.

NOTE – Si l'échantillon n'est pas mis sous évaporateur rotatif immédiatement, conserver l'échantillon au congélateur.

- Démarrer l'évaporation jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 2 ml. Ajouter environ 20 ml d'hexane.
- Fixer le ballon à l'évaporateur rotatif dont la température du bain est ajustée à une température inférieure à 25 °C.
- Démarrer l'évaporation jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 1 à 2 ml.

NOTE – L'échantillon est maintenant prêt pour la purification (se reporter à la section 7.3).

7.2.4. Extraction des échantillons biologiques et des tissus végétaux

1^{re} étape : Préparation de l'échantillon

- L'échantillon, préalablement homogénéisé, est déposé dans un plat de Pétri préalablement décontaminé (environ 10 - 15 g d'échantillon) et placé au lyophilisateur pendant une

période de 48 heures pour les tissus biologiques et de 60 heures pour les tissus végétaux. Prendre note du poids de l'échantillon humide dans le cahier de laboratoire.

- Une fois sec, couper l'échantillon (pour les tissus biologiques) en morceaux à l'aide d'un scalpel décontaminé.

2^e étape : Extraction des tissus biologiques et végétaux

- Les cartouches pour extracteur en cellulose (33 mm × 118 mm) sont traitées de la façon suivante avant usage : introduire dans le soxhlet la cartouche pour extracteur et un volume de 300 ml de toluène (*cf.* 6.5); laisser refluer pendant toute une nuit.
- Retirer la cartouche pour extracteur, la déposer dans un bécher et laisser sécher sous la hotte avant d'introduire l'échantillon à extraire. Rejeter le toluène ayant servi au prétraitement.
- Introduire tout l'échantillon lyophilisé pour les tissus biologiques et entre 5 et 10 g pour les tissus végétaux dans la cartouche pour extracteur préalablement traité.
- Introduire la cartouche dans un soxhlet préalablement décontaminé à chaud au dichlorométhane (*cf.* 6.6).
- Ajouter directement sur l'échantillon lyophilisé 50 ou 100 µl des étalons de recouvrement de BPC (500 pg/µl) préparés à la section 6 (*cf.* 6.21).

NOTE – Inscrire dans le cahier de laboratoire le volume ajouté ainsi que la concentration de la solution d'étalons de recouvrement et la date de préparation.

- Verser environ 300 ml de toluène dans le soxhlet.
- Compléter le montage de l'appareil à reflux et éviter l'exposition aux rayons ultraviolets.
- Extraire l'échantillon durant une nuit au rythme de 3 à 5 cycles/heure.
- Laisser refroidir et récupérer le maximum de solvant possible dans le ballon.
- Démontez l'appareil et siphonner le reste de solvant de l'extracteur.
- Fixer le ballon à l'évaporateur rotatif dont la température du bain est ajustée à une température entre 28 - 33 °C.

NOTE – Si l'échantillon n'est pas mis sous évaporateur rotatif immédiatement, conserver l'échantillon au congélateur.

- Démarrer l'évaporation jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 2 - 3 ml.
- Changer de solvant en ajoutant environ 20 ml d'hexane (*cf.* 6.4) et reprendre l'étape de concentration, à une température inférieure à 25 °C, jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 1 ml.

- Transférer l'extrait concentré dans un tube à centrifugation de 25 ml préalablement décontaminé (jaugé à 6 ml) et rincer le ballon avec trois portions successives d'environ 2 ml d'hexane.
- Ajuster à 6 ml avec de l'hexane.
- Ajouter 15 ml d'acide sulfurique (*cf.* 6.1) concentré afin d'éliminer les lipides contenus dans l'extrait.
- Brassier sur un agitateur culbuteur de type « Réax » durant une nuit.
- Centrifuger pendant environ 10 minutes.
- Extraire la partie organique (phase supérieure) et transférer dans un tube à centrifuger décontaminé et jaugé à 1 ml.
- Évaporer sous jet d'azote le tube contenant la partie organique jusqu'à l'obtention d'un volume de 1 ml.

NOTE – L'échantillon est maintenant prêt pour la purification (se reporter à la section 7.3).

7.3. PURIFICATION

7.3.1. Purification par traitement à l'acide

Certains échantillons nécessitent un traitement à l'acide.

- Transférer l'extrait à être traité à l'acide dans un tube à centrifugation de 25 ml préalablement décontaminé (jaugé à 6 ml) et rincer le ballon avec trois portions successives d'environ 2 ml d'hexane.
- Ajuster à 6 ml avec de l'hexane (*cf.* 6.4).
- Ajouter 15 ml d'acide sulfurique concentré (*cf.* 6.1).
- Brassier sur un agitateur culbuteur de type « Réax » durant une nuit.
- Centrifuger pendant environ 10 minutes.
- Extraire la partie organique (phase supérieure) et transférer dans un tube à centrifuger décontaminé et jaugé à 1 ml.
- Évaporer sous jet d'azote le tube contenant la partie organique jusqu'à un volume de 1 ml.
- L'échantillon est maintenant prêt pour la purification sur colonne silice multicouches.

7.3.2. Purification par traitement au cuivre

Certains échantillons (principalement les sédiments) nécessitent un traitement au cuivre afin d'éliminer le soufre.

7.3.2.1 Activation du cuivre

- Juste avant son utilisation, peser environ 15 g de cuivre métallique (cf. 6.9).
- Ajouter environ 10 ml d'une solution de HCl 1,0 N (cf. 6.12) afin de bien immerger le cuivre.
- Agiter avec une tige de verre, décanté et jeter la solution acide.
- Si nécessaire, répéter la mise en contact avec la solution de HCl 1,0 N jusqu'à l'obtention d'une couleur métallique.
- Rincer par petites portions avec environ 100 ml d'eau distillée.
- Immerger avec deux portions successives de 10 ml d'acétone (cf. 6.7), suivies de deux portions successives de 10 ml d'hexane (cf. 6.4) afin d'éliminer l'acétone.

7.3.2.2 Traitement au cuivre

- Ajouter quelques milligrammes de cuivre fraîchement activé à l'extrait. Agiter pendant quelques secondes. Si tout le cuivre est devenu noir, ajouter du cuivre et répéter l'agitation. Le soufre (entre autres) a totalement réagi lorsqu'une partie du cuivre ajouté conserve son apparence métallique. L'extrait est par la suite transféré pour la purification sur colonne silice multicouches.

7.3.3. Purification sur colonne silice multicouches

Préparation de la colonne

- Utiliser une colonne de 20 mm Di × 230 mm préalablement décontaminée.
- Ajouter comme indiqué dans la figure 2 :
 - un tampon de laine de verre traitée (cf. 6.15)
 - 0,75 g de silice imprégnée de AgNO₃ 10 % (cf. 6.17)
 - 0,5 g de silice purifiée (cf. 6.16)
 - 1,0 g de silice imprégnée de NaOH 1,0 M 33 % (cf. 6.18)
 - 0,5 g de silice purifiée (cf. 6.16 6.16)
 - 4,0 g de silice imprégnée de H₂SO₄ 44 % (cf. 6.19)
 - 2,0 g de silice purifiée (cf. 6.16)
 - 4,0 g ou 1 cm de Na₂SO₄ (cf. 6.14)

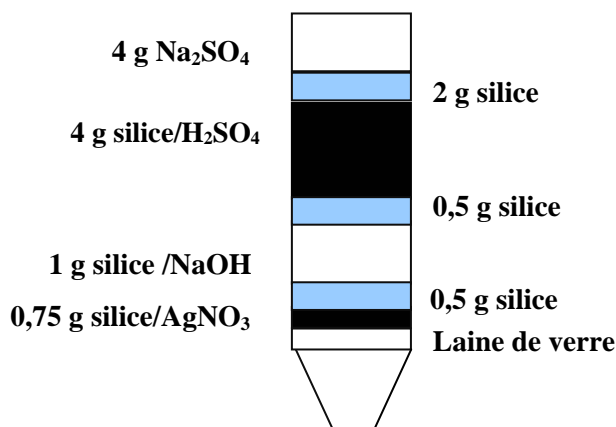


Figure 2 : Colonne multicouche

- Frapper le long de la paroi de la colonne entre chaque addition afin de tasser et d'obtenir des couches planes.
- Pour chacune des colonnes, préparer 100 ml de dichlorométhane/hexane (2 % dichlorométhane).
- Laver cette colonne avec 35 ml de dichlorométhane/hexane (2 % dichlorométhane).
- Placer un ballon à évaporation de 125 ml sous la colonne et transférer l'extrait avec une pipette Pasteur sur la colonne. Rincer le ballon ou le tube contenant l'extrait concentré avec trois portions successives de 5 ml de dichlorométhane/hexane (2 % dichlorométhane).
- Éluer la colonne avec 50 ml de dichlorométhane/hexane (2 % dichlorométhane). Le volume total d'élution équivaut à 65 ml.
- Fixer le ballon à l'évaporateur rotatif dont la température du bain est ajustée entre 15 et 22 °C. Démarrer l'évaporation jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 1 à 2 ml.

NOTE – Réserver l'extrait pour la purification subséquente.

7.3.4. Purification sur colonne d'alumine 3 fractions

Préparation de la colonne

- Dans une colonne décontaminée (Di 6 - 7 mm), ajouter dans l'ordre :
 - un peu de laine de verre traitée (cf. 6.15)
 - 2 g d'alumine gardée au dessiccateur (cf. 6.20)
 - 0,5 cm de Na₂SO₄ (cf. 6.14)
- Décontaminer un tube de 15 ml et deux ballons de 125 ml pour chaque extrait à purifier.
- Jauger le tube à 500 µl précisément.

Purification sur la colonne

- Si nécessaire, concentrer sous azote les tubes d'extrait à 1 ml avant la purification sur colonne.
- Pour chacune des colonnes, préparer : 19 ml de dichlorométhane/hexane (1 % de dichlorométhane); 20 ml de dichlorométhane/hexane (5 % de dichlorométhane) et 25 ml de dichlorométhane/hexane (50 % de dichlorométhane).
- Rincer la colonne avec 8 ml de dichlorométhane/hexane 1 % juste avant d'ajouter l'extrait.
- Ajouter l'extrait et rincer le tube trois fois à partir du 11 ml de dichlorométhane 1 % utilisé pour la F1.
- Récupérer les fractions d'éluat comme suit :
F1 : 11 ml de dichlorométhane/hexane 1 % + 1 ml d'échantillon (ballon de 125 ml);
F2 : 20 ml de dichlorométhane/hexane 5 % (ballon de 125 ml le même que pour F1);
F3 : 25 ml de dichlorométhane/hexane 50 % (ballon de 125 ml).
- La **fraction F1** contient la majorité des congénères de BPC. La **fraction F2** contient les congénères de BPC planaires. Pour l'analyse des BPC congénères les fractions 1 et 2 sont combinées. La fraction F3 contient l'ensemble des congénères de dioxines et furanes chlorés. Le mélange des fractions 1 et 2 est alors concentré à l'évaporateur sous vide jusqu'à environ 1 - 2 ml. Ensuite, il est transféré dans un tube de 15 ml et concentré par évaporation sous jet d'azote jusqu'à environ 250 µl. Ajouter 50 µl de la solution étalon volumétrique pour le dosage des BPC congénères (500 pg/µl) préparé à la section 6 (cf. 6.21) et compléter au trait de jauge avec de l'iso-octane (cf. 6.8). Transférer dans un vial pour GC.
- Si l'analyse des BPC planaires et coplanaires est requise la fraction F-1 est modifiée de la façon suivante : le premier 8 ml est récupéré dans le premier ballon de 125 ml et le 3 ml suivant est récupéré dans le second ballon avec la fraction F-2.

NOTE – Conserver les vials au congélateur jusqu'à l'étape du dosage (se reporter à la section 7.4).

7.3.5. Purification sur colonne d'alumine grand format

Certains extraits ainsi que les extraits en provenance des milieux biologiques et des tissus végétaux nécessitent une purification sur une colonne d'alumine de grand format.

Préparation de la colonne

- Dans une colonne de 2,5 cm Di × 30 cm préalablement décontaminée, ajouter dans l'ordre :

- un peu de laine de verre traitée (cf. 6.15)
 - 80 ml d'hexane (cf. 6.4)
 - 50 g d'alumine gardée au dessiccateur (cf. 6.20). Taper légèrement la colonne afin d'obtenir une surface plane et un volume uniforme de l'adsorbant. Laisser ensuite l'hexane s'écouler jusqu'à l'égalité de l'alumine.
- Décontaminer un tube de 15 ml et un ballon de 250 ml pour chaque extrait à purifier.
 - Jauger le tube à 500 µl précisément.

Purification sur la colonne

- Pour chacune des colonnes, préparer : 170 ml d'hexane (cf. 6.4); 160 ml de dichlorométhane/hexane (20 % de dichlorométhane).
- Ajouter l'extrait à purifier sur la colonne et rincer le contenant trois fois en utilisant une portion du 170 ml d'hexane.
- Éluer la colonne avec l'hexane restant (fraction rejetée).
- Éluer avec 160 ml de dichlorométhane/hexane 20 % (récupérer cette fraction dans le ballon de 250 ml).
- Fixer le ballon à l'évaporateur rotatif dont la température du bain est ajustée entre 15 - 22 °C. Débuter l'évaporation jusqu'à l'obtention d'un volume d'environ 1 à 2 ml.
- Transférer dans le tube de 15 ml. Si la solution d'étalon volumétrique a déjà été ajoutée, concentrer par évaporation sous jet d'azote jusqu'au trait de jauge et transférer dans un vial de GC. Si la solution d'étalon volumétrique n'avait pas été ajoutée, concentrer par évaporation sous jet d'azote jusqu'à environ 250 µl. Ajouter 50 µl de la solution étalon volumétrique pour le dosage des BPC congénères (500 pg/µl) préparée à la section 6 (cf. 6.21) et compléter au trait de jauge avec de l'iso-octane (cf. 6.8). Transférer dans un vial pour GC.

NOTE – Conserver les vials au congélateur jusqu'à l'étape du dosage (se reporter à la section 7.4).

7.4. DOSAGE DES BPC CONGÉNÈRES

Analyser les solutions étalons et les échantillons par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse opérant à une résolution statique d'au moins 10 000, en mode d'ions sélectifs.

Les conditions chromatographiques sont les suivantes :

- INJECTEUR :** on column
température initiale : 100 °C pendant 0 min
programmation : 100 °C/min jusqu'à 310 °C et maintenir 20 min
volume d'injection : 1 µl
- COLONNE :** DB-5 de 60 m × 0,25 mm Di, avec une phase stationnaire de 0,25 µm d'épaisseur
Température initiale : 100 °C pendant 1,0 min
rampe n° 1 : 40 °C/min
Température : 210 °C pendant 0 min
rampe n° 2 : 5 °C/min
Température : 320 °C pendant 5,0 min
- GAZ VECTEUR :** Hélium avec un débit constant de 0,85 ml/min

Les conditions du spectromètre de masse sont les suivantes :

- Mode d'ionisation : production d'ions radicalaires
Temps de balayage : 1 s ou moins
Temps de séjour : environ 40 ms/ion pour les BPC
Énergie d'ionisation : environ 35 eV (à optimiser selon l'instrument)

La résolution de l'appareil doit être vérifiée avant toute série d'analyse. Des copies papier de la forme et de la largeur des pics doivent être disponibles.

L'analyse des BPC congénères se fait en mode de balayage d'ions sélectifs en séparant les congénères en quatre groupes. L'aimant de l'appareil doit se situer à une masse légèrement plus basse que le premier ion à doser, puis le voltage d'accélération doit être calibré de façon à enregistrer tous les ions de ce groupe qui se trouvent dans le tableau 5.

Au début, ou lors de tout changement aux conditions chromatographiques, un mélange contenant le premier et le dernier isomère de chaque groupe à éluer du système chromatographique doit être injecté de façon à définir les domaines d'acquisition des quatre groupes (voir le tableau 4). La coupure du premier groupe d'ions s'effectue environ 30 secondes après le dernier Tri, celle du deuxième groupe d'ions s'effectue environ 12 secondes avant le premier Hepta, celle du troisième groupe d'ions s'effectue environ 10 secondes après le dernier Hepta et, finalement, celle du quatrième groupe s'effectue avec la fin de l'acquisition. Ces temps de coupure peuvent varier selon l'état de la colonne chromatographique

L'intensité de chaque masse d'ancrage doit être enregistrée et ne doit pas avoir de variations soudaines importantes à l'intérieur de sa propre fenêtre. Plusieurs variations soudaines peuvent être indicatrices de la présence d'interférents, ce qui peut réduire substantiellement la sensibilité de l'instrument. La réinjection de cet échantillon à cette étape ne résoudra pas le problème; la seule option viable est de purifier davantage l'extrait, jusqu'à ce que l'intensité de la masse d'ancrage demeure à l'intérieur des limites acceptables. Ces enregistrements doivent être conservés et disponibles pour consultation ultérieure.

Tableau 4 : Ordre d'élution des constituants d'un mélange de BPC selon cette procédure

BPC	1 ^{er} isomère à éluer	Dernier isomère À éluer	Temps de rétention approximatif (min)
Tri	2,2',6	3,4,4'	15,3 – 18,2
Tétra	2,2',6,6'	3,3',4,4'	16,4 – 20,4
Penta	2,2',4,6,6'	3,3',4,4',5	18,1 – 22,2
Hexa	2,2',4,4',6,6'	3,3',4,4',5,5'	19,3 – 24,0
Hepta	2,2',3,4',5,6,6'	2,3,3',4,4',5,5'	21,3 – 24,5
Octa	2,2',3,3',5,5',6,6'	2,3,3',4,4',5,5',6	23,1 – 25,4
Nona	2,2',3,3',4,4',5,5',6	2,2',3,3',4,5,5',6,6'	25,0 – 26,2

Tableau 5 : Masses ioniques pour l'analyse des BPC congénères

Composé	Ion de quantification		Rapport isotopique	Limites de contrôle acceptables
	m1	m2		
Groupe 1				
Tri-BPC	255,9613	257,9585	M/M+2	0,88 - 1,18
¹³ C ₁₂ - Tri-BPC	268,0016	269,9986	M/M+2	0,88 - 1,20
Tétra-BPC	289,9224	291,9195	M/M+2	0,66 - 0,90
¹³ C ₁₂ - Tétra-BPC	301,9626	303,9597	M/M+2	0,66 - 0,90
Penta-BPC	325,8805	327,8776	M/M+2	1,32 - 1,78
PFK	330,9792		Ancrage	
Groupe 2				
Tétra-BPC	289,9224	291,9195	M/M+2	0,66 - 0,90
Penta-BPC	325,8805	327,8776	M+2/M+4	1,32 - 1,78
¹³ C ₁₂ - Penta-BPC	337,9207	339,9177	M+2/M+4	1,33 - 1,79
Hexa-BPC	359,8415	361,8386	M+2/M+4	1,06 - 1,44
PFK	330,9792		Ancrage	
Groupe 3				
Penta-BPC	325,8805	327,8776	M+2/M+4	1,32 - 1,78
Hexa-BPC	359,8415	361,8386	M+2/M+4	1,06 - 1,44
¹³ C ₁₂ - Hexa-BPC	359,8415	361,8386	M+2/M+4	1,32 - 1,78
Hepta-BPC	393,8025	395,7996	M+2/M+4	0,88 - 1,20
¹³ C ₁₂ - Hepta-BPC	405,8428	407,8398	M+2/M+4	0,88 - 1,20
Octa-BPC	427,7635	429,7606	M+2/M+4	0,76 - 1,02
¹³ C ₁₂ - Octa-BPC	439,8038	441,8008	M+2/M+4	0,76 - 1,02
PFK	380,9761		Ancrage	
Groupe 4				
Octa-BPC	427,7635	429,7606	M+2/M+4	0,76 - 1,02
¹³ C ₁₂ - Octa-BPC	439,8038	441,8008	M+2/M+4	0,76 - 1,02
Nona-BPC	461,7246	463,7217	M+2/M+4	0,66 - 0,90
¹³ C ₁₂ - Nona-BPC	473,7648	475,7619	M+2/M+4	0,66 - 0,90
Déca-BPC	497,6827	499,6798	M+4/M+6	0,99 - 1,35
PFK	430,9729		Ancrage	

8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS

Les résultats d'analyse sont obtenus à l'aide d'un système informatisé de traitement de données.

8.1. CRITÈRES D'IDENTIFICATION DES SUBSTANCES RECHERCHÉES

Les constituants sont reconnus comme des BPC si les résultats de la GC-MS satisfont aux critères suivants :

1. Le signal obtenu pour chacun des deux ions choisis, ou la somme des deux ions de chacun des composés, doit être au moins trois fois plus élevé que le bruit de fond (rapport signal/bruit > 3).
2. Le rapport isotopique des ions choisis ne doit pas s'écarter de plus de 15 % du rapport obtenu pour le composé correspondant dans la solution étalon ou le rapport isotopique calculé théoriquement.
3. Le temps de rétention pour les deux ions de quantification correspond à 3 secondes près.

8.2. MÉTHODE DE QUANTIFICATION AVEC UNE SOLUTION ÉTALON VOLUMÉTRIQUE

Cette méthode (aussi appelée méthode de normalisation interne) est basée sur la linéarité des mesures du spectromètre de masse dans les intervalles séparant une série de quatre points ou plus sur une courbe d'étalonnage. La méthode de la solution étalon volumétrique est facilement intégrée à l'expression automatisée des résultats d'analyse.

Dans ce cas, les coefficients de réponse obtenus par le dosage des inconnues non marquées sont corrélés aux coefficients de réponse obtenus pour le dosage des ajouts marqués (utilisés comme étalons analogues) qui leur correspondent. Ces coefficients de réponse relatifs (RRF) restent constants pour tout l'intervalle de linéarité du spectromètre de masse. En utilisant conjointement ces coefficients de réponse relatifs et les résultats des étalons de recouvrement, mesurés dans l'échantillon lors de l'analyse, il est possible de calculer directement les concentrations de BPC sans avoir, au préalable, calculé le pourcentage de recouvrement de ces étalons ajoutés à l'échantillon. Ce pourcentage de recouvrement doit néanmoins être calculé séparément et communiqué, car il donne une indication de la qualité des résultats publiés.

Les résultats de la courbe d'étalonnage qui servent à établir les coefficients de réponse relatifs doivent être d'une qualité suffisante et définissable. L'écart type relatif (RSD) des coefficients relatifs moyens établis pour les quatre ou cinq points de la courbe d'étalonnage doit être inférieur à $\pm 20\%$. Cette dernière valeur correspond effectivement à un critère de linéarité. Pour des cas exceptionnels mais explicables, il est possible d'enlever un point d'étalonnage pour un analyte particulier si au moins trois points de courbe de bonne qualité existent toujours pour cet analyte.

Les coefficients de réponse relatifs pour les étalons nature (RRF_{nat.}) et les étalons de recouvrement (RRF_{surr.}) se calculent à l'aide des équations suivantes :

$$RRF_{nat.} = \frac{A_{nat.} \times C_{surr.}}{A_{surr.} \times C_{nat.}} \quad \text{et} \quad RRF_{surr.} = \frac{A_{surr.} \times C_{istd.}}{A_{istd.} \times C_{surr.}}$$

où

RRF_{nat.} : coefficient de réponse relatif (étalon nature sur étalon de recouvrement);

RRF_{surr.} : coefficient de réponse relatif (étalon de recouvrement sur étalon volumétrique);

A_{nat.} : aires des pics produits par les ions de quantification de l'étalon nature;

A_{surr.} : aires des pics produits par les ions de quantification de l'étalon de recouvrement approprié;

A_{istd.} : aires des pics produits par les ions de quantification (étalon volumétrique);

C_{nat.} : concentration de l'étalon nature (pg/μl);

C_{surr.} : concentration de l'étalon de recouvrement (pg/μl);

C_{istd.} : concentration de la solution étalon volumétrique (pg/μl).

Au moyen des coefficients de réponse relatifs (RRFs), il est possible de calculer, à l'aide des équations qui suivent, les teneurs en BPC dans les échantillons et le taux de recouvrement des étalons marqués ajoutés.

$$C(X) = \frac{A_x \times Q_{surr.}}{A_{surr.} \times RRF_{nat.} \times V} \quad \text{et} \quad \% R(X) = \frac{A_{surr.} \times Q_{istd.} \times 100}{A_{istd.} \times Q_{surr.} \times RRF_{surr.}}$$

où

RRF_{nat.} : coefficient de réponse relatif (étalon nature sur étalon de recouvrement);

RRF_{surr.} : coefficient de réponse relatif (étalon de recouvrement sur étalon volumétrique);

C(X) : concentration du groupe d'homologue X ou du congénère spécifique, corrigé en fonction du taux de recouvrement de l'étalon de recouvrement correspondant, en picogramme par litre (ou gramme pour échantillon solide) d'échantillon; (x = 1 isomère pour l'analyse par congénères spécifiques);

A_x : la sommation des aires des K pics produits pour l'ion de quantification pour les n isomères du groupe homologue X (n = 1 pour l'analyse de congénère spécifique);

- $Q_{surr.}$: quantité, en picogramme, de l'étalon de recouvrement X ajouté à l'échantillon;
- $A_{surr.}$: aires des pics produits par l'ion de quantification de l'étalon de recouvrement mesuré dans l'échantillon;
- V : volume de l'échantillon en litre ou poids en gramme pour échantillon solide;
- % R(X) : taux de recouvrement de l'étalon de recouvrement X;
- $Q_{istd.}$: quantité, en picogramme, de l'étalon volumétrique ajouté à l'extrait d'échantillon;
- $A_{istd.}$: aires des pics produits par les ions de l'étalon volumétrique présent dans l'extrait.

Pour un analyte faisant partie de la classe des groupes homologues et n'ayant pas de RRF spécifique, le RRF utilisé est le facteur de réponse relatif moyen des congénères ayant le même nombre d'atomes de chlore. La somme des concentrations des congénères spécifiques pour ce groupe donne la concentration totale pour ce groupe homologue.

8.3. DÉTERMINATION DES LIMITES DE DÉTECTION

Pour le dosage des BPC congénères, le seuil de détection se définit comme la concentration minimale d'une substance qui produira un pic bien défini correspondant au rapport isotopique acceptable et dont le rapport signal/bruit ne sera pas inférieur à 3.

Les variables comme la matrice de l'échantillon, la quantité d'échantillon utilisée, le volume de l'extrait final, le volume d'injection, le taux de recouvrement des étalons marqués, la performance de la colonne de chromatographie, les paramètres utilisés, le bruit électronique ainsi que la sensibilité de l'appareil peuvent tous influencer directement le seuil de détection de la méthode.

Le seuil de détection doit être corrigé en fonction du taux de recouvrement des étalons marqués ajoutés et peut se calculer comme suit :

$$LDM = \frac{3 \times N \times A / H \times Q_{surr.}}{A_{surr.} \times RRF_n \times V}$$

où

- LDM : limite de détection de la méthode;
- N : bruit de fond exprimé en hauteur de pic;
- A/H : rapport entre la surface et la hauteur du pic produit par l'ion de quantification de l'étalon marqué;
- $Q_{surr.}$: quantité, en picogramme, de l'étalon de recouvrement ajouté à l'échantillon;
- $A_{surr.}$: aire du pic produit par l'ion de quantification de l'étalon de recouvrement;
- RRF_n : coefficient de réponse relatif (étalon nature sur étalon de recouvrement);
- V : volume de l'échantillon en litre ou poids en gramme pour échantillon solide.

Lorsqu'il y a lieu, le bruit pour chaque groupe d'isomères doit être déterminé à partir des chromatogrammes réels de l'échantillon. Cependant, lorsque la trace d'un ion de quantification renferme un large pic qui empêche l'observation du bruit, le bruit mesuré pour la trace du même ion, provenant de la solution témoin analysée le même jour, peut être utilisé à titre de valeur par défaut.

La sensibilité minimale acceptable pour l'instrument, basée sur un rapport signal/bruit ≥ 3 , doit être supérieure à 0,25 pg. Pour chaque tranche de 8 à 12 heures où des échantillons sont analysés, un mélange CS3 doit être injecté afin de vérifier la courbe de calibration ou un mélange CS1 afin de s'assurer de la limite de détection. Alternier ces deux vérifications pour la prochaine tranche de 8 heures.

9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ

Les termes utilisés dans cette section sont définis dans le document DR-12-SCA-01 et sont appliqués comme suit :

Les résultats des duplicatas et des répliqués ne doivent pas différer de plus de 30 % entre eux quelle que soit la matrice pour des résultats supérieurs à 10 fois la LDM.

Pour garantir la qualité et la validité des résultats des analyses des BPC congénères, un programme d'assurance de la qualité est nécessaire. Les principaux critères d'acceptabilité des éléments de ce programme d'assurance de qualité sont les suivants :

Préalablement à l'extraction, chaque échantillon doit être enrichi avec une solution d'étalons de recouvrement composée de produits marqués d'éléments isotopiques. Ces solutions étalons serviront à mesurer la perte de constituants à doser durant les manipulations. Si le taux moyen recouvert se trouve à l'extérieur de l'intervalle souhaitable de 40 à 130 % et qu'aucune explication méthodologique ne permet de justifier les résultats obtenus, il faudra, si possible, analyser de nouveau l'échantillon.

Pour chaque série d'au plus 10 échantillons, un blanc de méthode doit être analysé. Pour des matrices aqueuses, le blanc sera constitué de 150 ml de dichlorométhane enrichi avec une solution d'étalons de recouvrement. Un filtre enrichi avec une solution d'étalons de recouvrement sera également extrait. Pour des matrices solides, le blanc sera constitué uniquement des réactifs normalement utilisés dans cette série. La valeur du blanc ne doit pas dépasser 3 fois la valeur moyenne des blancs (déterminée par l'historique des blancs de l'année précédente), et ce, pour une même nature au niveau du résultat des BPC totaux. **La valeur du blanc est soustraite de la valeur de l'échantillon pour chaque congénère.**

Pour chaque série d'au plus 10 échantillons (voir le document DR-12-SCA-01), un matériau de référence ou un matériau de référence certifié de même nature, si possible, que les échantillons doit être analysé pour vérifier l'exactitude de la méthode analytique. Les limites d'acceptabilité pour les matériaux de référence pour chacun des congénères de BPC sont définies selon l'historique des performances de cette méthode pour la matrice donnée.

Immédiatement avant l'analyse par GC-MS, il faut ajouter à chaque échantillon une quantité connue et constante d'une solution étalon volumétrique comme indicateur de la performance

(solution étalon volumétrique). Les composés marqués de cette solution servent de point de référence pour les temps de rétention et pour le calcul de la récupération des étalons marqués ajoutés à l'échantillon.

Suivant toute modification au système chromatographique, un mélange constitué du premier et du dernier composé à éluer pour chacun des groupes d'homologues des BPC doit être analysé pour définir correctement les intervalles des temps de rétention.

Préalablement à l'analyse des échantillons, et périodiquement par la suite, il faut élaborer des courbes d'étalonnage pour vérifier la linéarité de l'appareil à l'égard de tous les isomères dans l'intervalle de concentrations de 0,25 à 200 pg/µl.

Toutes les 8 à 12 heures d'analyse, une solution étalon permettant de confirmer la courbe d'étalonnage (CS3) ou la limite de détection (CS1) doit être analysée. Les écarts permisibles par rapport aux valeurs attendues sont de 25 % pour la solution CS3 et 25 % pour la solution CS1. Ces résultats doivent être compilés et conservés; au moins 80 % des résultats doivent satisfaire ces critères.

Les données brutes de GC-MS, y compris les données d'étalonnage et les données de contrôle de qualité, doivent être conservées dans l'éventualité d'une consultation ultérieure.

La résolution de l'instrument doit être vérifiée et documentée (copie papier) avant toute série d'analyse, en mesurant la largeur du pic du PFK à la masse 331 (ou toute autre masse appropriée) à 5 % de sa hauteur.

10. BIBLIOGRAPHIE

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Guide d'échantillonnage à des fins d'analyse environnementale*, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs.

[<http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/documents/publications/echantillonnage.htm>]

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Lignes directrices concernant les travaux analytiques en chimie*, DR-12-SCA-01, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, Édition courante.

[http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/PALA/DR12SCA01_lignes_dir_chimie.pdf]

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie*, DR-12-VMC, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, Édition courante.

[http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/PALA/DR12VMC_protocole_val_chimie.pdf]

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Modes de prélèvement et de conservation des échantillons relatifs à l'application du Règlement sur les matières dangereuses*, DR-09-01, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, Édition courante.

[http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/documents/publications/echantillonnage/dr09_01.pdf]

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC.
*Détermination des dibenzo-para-dioxines polychlorés et dibenzofuranes polychlorés,
Dosage par chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse,*
MA. 400 – D.F. 1.1, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des
Parcs du Québec, Édition courante.

ENVIRONNEMENT CANADA. *Méthode de référence pour le dosage des
polychlorodibenzopara-dioxines (PCDD) et des polychlorodibenzofuranes (PCDF) dans
les effluents des usines de pâtes et papiers,* Rapport EPS1/RM/19, 1992.