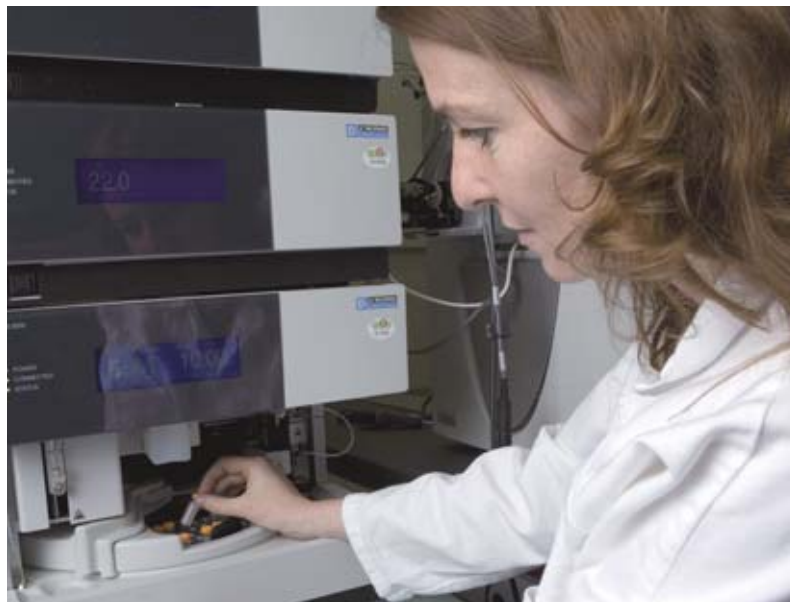


L'analyse environnementale des composés organiques

Les chercheurs du CEA mettent à profit leurs instrumentations les plus modernes pour rechercher les substances polluantes présentes à l'état de traces dans l'environnement.

Conformément à la réglementation environnementale, le CEA évalue l'impact écologique de ses centres et inscrit sa politique de gestion dans une démarche de développement durable. De longue date, des équipes surveillent l'impact radiologique des centres en réalisant des mesures régulières de **radioactivité** aux alentours des installations. De plus, certains services utilisant des substances telles que des carburants, des solvants et divers réactifs organiques, le CEA prend également en compte l'évaluation de l'impact chimique organique, même s'il s'avère très limité.

Le travail du chimiste-analyste constitue la base de ces évaluations et son expertise permet de dresser un tableau objectif de la situation environnementale dans les sols, l'eau et l'air. Dans le cadre de cette mission, les chi-



Spectromètre de masse pour l'analyse des échantillons.

F.Rhodes/CEA



mistes du CEA développent des méthodes d'analyses spécifiques et cherchent à rendre leurs instruments de mesure toujours plus performants. Parvenir à cet objectif suppose d'accroître la diversité des substances détectables mais également d'améliorer les limites de détection afin de pouvoir déceler les **traces** infimes de polluants dilués dans des matrices complexes.

Origine des substances retrouvées dans l'environnement

Innombrables, les **composés organiques** détectables dans les prélèvements naturels proviennent d'origines diverses, tant naturelles qu'anthropiques. Ainsi, la présence dans l'environnement d'un solvant organochloré comme le **chloroforme** s'explique, à plus de 90 %, par les émissions naturelles comme

la synthèse opérée par les micro-organismes ou les champignons. Par ailleurs, le **Centre interprofessionnel technique d'étude de la pollution atmosphérique (CITEPA)** estimait également qu'en 2005, près de 49 % des composés organiques volatils (tableau 1), dispersés dans l'**atmosphère** de la France métropolitaine provenaient de sources naturelles (figure 1). En revanche, l'origine d'autres substances organiques découle des activités humaines, notamment industrielles. Leur présence dans l'environnement constitue donc la marque indubitable d'apports anthropiques. C'est notamment le cas des polychlorobiphényles (PCB) et polychloroterphényles (PCT), des pesticides organochlorés ou encore des **dioxines**.

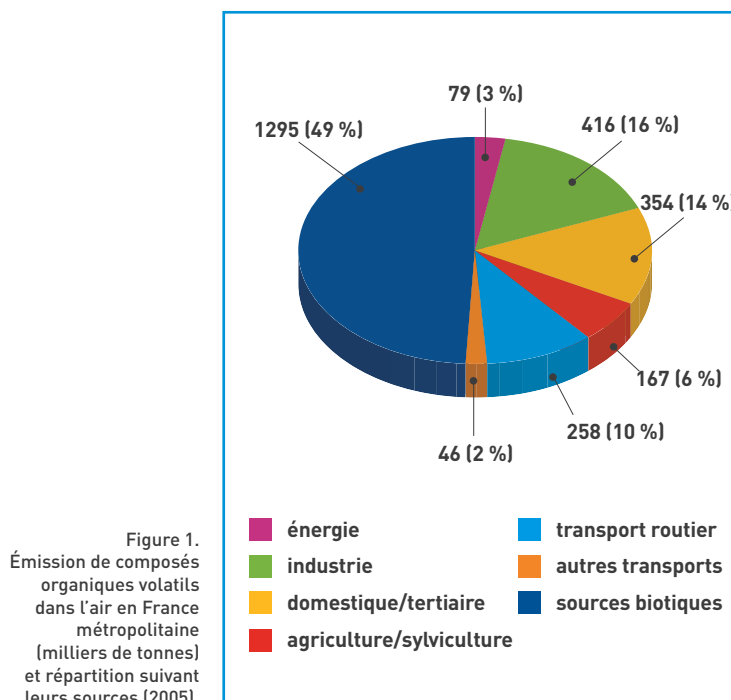
Méthodologie et technologies de l'analyse environnementale organique

Les progrès réalisés en matière d'analyse organique environnementale ont entraîné une réduction du nombre des techniques de laboratoire. Aujourd'hui, seules les méthodes reposant sur des instrumentations physiques offrent une polyvalence (détection et identification de composés multiples) et une sensibilité suffisantes. Pour affiner ses expertises, l'analyste doit néanmoins suivre, avec méthode, certaines étapes et protocoles (tableau 2).

L'extraction et la purification, destinée à séparer les **analytes** du milieu expertisé, se justifie en raison de la fréquente incompatibilité des milieux (sols, eaux, air) avec les méthodes instrumentales de quantification. Pour les sols, les analytes sont, le plus souvent, libérés de leur gangue minérale au moyen d'une **extraction par solvants**, laquelle s'opère à haute température (100 à 150 °C) et sous pression (près de 100 fois la pression atmosphérique). Il s'agit d'une des techniques parmi les plus modernes. Quant aux échantillons liquides ou gazeux, le développement de **phases solides absorbantes** pour prélever directement les analytes dans le milieu ou pour traiter les

famille de composés organiques	molécules types (exemple)	usages principaux
hydrocarbures ou huiles minérales	alcanes (hexane) cyclanes (cyclohexane) hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (naphthalène, anthracène)	carburants, solvants divers
composés organiques volatils	cétones (acétone) chlorofluorocarbone (CFC) composés aromatiques monocycliques (benzène, toluène, xylènes, etc.) composés halogénés (chloroforme, trichloroéthane, etc.) composés phénoliques	chimie de synthèse
polychlorobiphényles (PCB)	Arochlore, Pyralène	fluides diélectriques
extractants hydrométallurgiques	tributylphosphate (TBP) cyanex 301	hydrométallurgie du cycle du combustible nucléaire
explosifs	TNT, HMX RDX, TATB	explosifs
agents phytosanitaires	fongicides insecticides, etc.	lutte contre les insectes et les moisissures

Tableau 1. Contaminants organiques présentés par famille de produits.



Fibre de micro-extraction en phase solide permettant l'absorption directe des substances présentes dans l'eau ou dans l'air avant leur analyse chimique, notamment par chromatographie en phase liquide ou gazeuse.

étape du protocole analytique	procédé usuel en analyse organique
prélèvement (garantit la représentativité du prélèvement et de l'analyse)	prélèvement de terrain (air, eau, sol); l'air peut être prélevé en bonbonnes ou sac adaptés, ou échantillonné par pompage et concentration des analytes à travers des médias absorbants.
préservation (permet la conservation des analytes labiles)	acidification des solutions (acide sulfurique, pH=2), réfrigération (4 °C), ou congélation conservation à l'obscurité en flacons hermétiques en verre fumé ou en Téflon
extraction, concentration, purification (conduit à l'élimination de la matrice environnementale et à la concentration des analytes)	extraction liquide-liquide, liquide-solide (SPE, SPME, SBSE), ou solide-gaz (tubes remplis d'absorbants: Tenax, etc.)
analyse (se décompose souvent en deux étapes: séparation et détection)	
séparation (permet l'identification et la quantification des analytes lors de l'étape ultérieure)	chromatographie gazeuse ou liquide
détection, identification, quantification	détecteurs réfractométriques, thermiques, à ionisation de flamme, à capture d'électrons, etc.; spectromètres divers (émission de flamme, spectrométrie UV-visible ou infrarouge, spectrométrie de masse, etc.)

Tableau 2. Étapes et procédés usuels en analyse organique environnementale.



Cartouches absorbantes pour le traitement d'échantillons aqueux (a) ou d'air (b).

échantillons a constitué un progrès majeur à l'origine de nouvelles technologies, appliquées sur le terrain ou au laboratoire. Ces phases solides (**polymères, silice greffée, carbone graphitisé, polymères à empreintes moléculaires**) présentent des affinités fortes pour les analytes. Conditionnées sous forme de cartouches pré-remplies, elles permettent de "filtrer" le prélèvement par percolation et d'y retenir les analytes plus ou moins spécifiquement (figure 2). Une variante consiste à déposer les phases absorbantes sur un support rigide (fibre de verre, barreau agitateur), directement placé dans le milieu analysé, et y prélever les analytes. Cette technologie fait partie des méthodes modernes largement employées par les laboratoires spécialisés. Une fois extraites et purifiées de leur matrice d'origine, les substances d'intérêt sont reprises chimiquement par un solvant ou relarguées thermiquement pour être injectées dans l'instrumentation analytique proprement dite.

À l'heure actuelle, les détecteurs modernes ne pouvant pas offrir, en même temps, une polyvalence, une sélectivité et une sensibilité suffisantes, l'introduction de mélanges d'analytes dans ces instruments requiert toujours le passage par une étape séparative, souvent réalisée par un processus **chromatographique**. L'identification et la quantification des analytes s'effectuent par couplage de ces **techniques séparatives** avec des détecteurs judicieusement choisis suivant les substances d'intérêt (tableau 3). Les laboratoires environnementaux, qui doivent analyser une

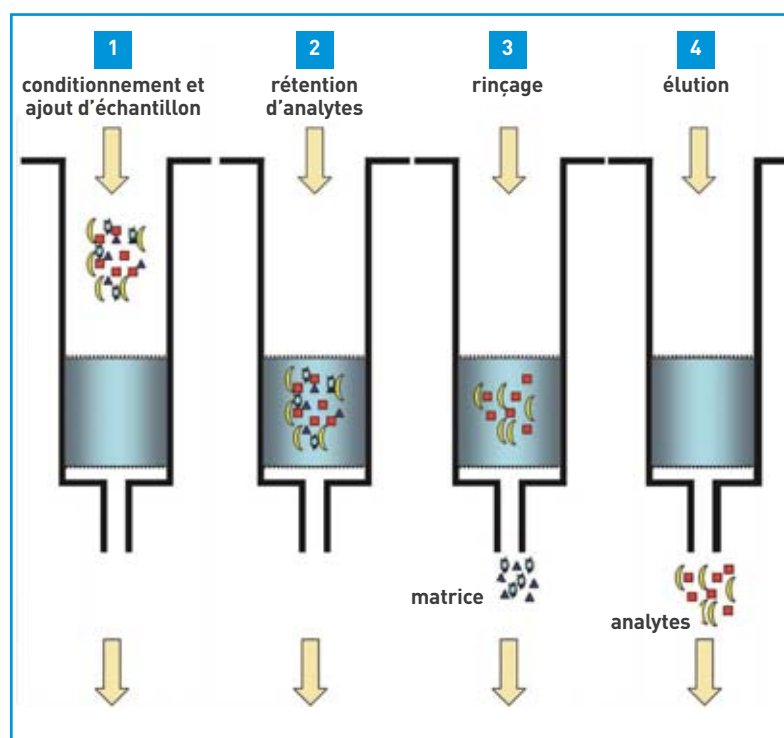


Figure 2. Principe de l'extraction sélective d'analytes par cartouche d'extraction en phase solide. Séquences opératoires montrant l'introduction de l'échantillon liquide dans une cartouche d'extraction (1), la rétention sélective des analytes par rapport à la matrice (2 et 3), puis la récupération des analytes (4) avant injection dans l'instrumentation analytique.



atome [isotope] (ou espèce moléculaire)	masse (unité atomique)
hydrogène (^1H)	1,007825
deutérium (^2H)	2,0140
oxygène 16 (^{16}O)	15,994915
carbone 12 (^{12}C)	12,000000
azote 14 (^{14}N)	14,003074
monoxyde de carbone ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}$)	27,994915
azote ($^{14}\text{N}_2$)	28,006148
éthylène ($^{12}\text{C}_2^{1}\text{H}_4$)	28,03130

Tableau 3.

Masses atomiques précises permettant l'identification univoque de formules chimiques brutes.

grande diversité de substances, s'orientent nécessairement vers la **spectrométrie de masse**. Cette technique offre de nombreux avantages car elle associe une très bonne sensibilité et une grande polyvalence. Il existe deux grandes catégories de techniques chromatographiques, couplées à la spectrométrie de masse, à savoir la **chromatographie en phase gazeuse (GC-MS)** et la **chromatographie en phase liquide (LC-MS)**. L'une et l'autre reposent sur la séparation des analytes introduits, sous forme d'un mélange, en tête d'une colonne. Ces analytes subissent d'une part l'effet d'une force d'**élution** due à l'éluant gazeux ou liquide percolant dans la colonne et, d'autre part, l'effet de

L'analyse des molécules organiques par spectrométrie de masse haute résolution : vers une identification absolue en environnement complexe

L'amélioration des **techniques instrumentales d'analyse** offre désormais au chimiste la possibilité de réduire la complexité de la préparation des échantillons, alors qu'elle était incontournable dans le passé. Outre la réduction des risques de pollution et d'erreur d'analyse induits par tout traitement d'échantillon, les progrès technologiques des **analyseurs** offrent désormais une fiabilité accrue pour l'identification précise des substances détectées. Pour se placer au niveau le plus haut des performances techniques du moment, le CEA s'équipe d'instrumentations modernes et pertinentes pour répondre à ses missions. Les **spectromètres de masse** à très haute résolution font partie de ces instrumentations. Pour effectuer ses analyses avec un haut souci de fiabilité, le Département analyse, surveillance, environnement (Dase) s'équipera, en 2009, d'un **spectromètre de masse haute résolution de type "orbitrappe"** (illustration), le premier à la Direction des applications militaires. Le principe de l'identification **moléculaire** par spectrométrie de masse haute résolution repose sur la mesure précise des masses **ioniques** (figure 1). Chaque **atome** ayant une masse que l'on connaît avec précision (tableau 3 ci-dessus), les combinaisons d'atomes que constituent les molécules conduisent à des édifices dont la masse précise (si elle peut être mesurée avec près de 5 décimales) permet de connaître la formulation. L'identification chimique ne repose donc plus sur la mise en évidence de propriétés chimiques des molécules mais sur la mesure ultra-précise de leur masse.

Sur ce principe, l'identification moléculaire impose d'introduire les substances dans le spectromètre sans les endommager, sans créer de dégradation moléculaire. Les **sources d'ionisation** classiques



Spectromètre Orbitrappe (Marque Thermo Electron).

ment employées en spectrométrie de masse avaient tendance à provoquer une fragmentation moléculaire.

Dans le cas présent, le couplage du spectromètre avec une source d'ionisation telle que la **source par**

électrospray (ESI), est donc impératif car cette source permet d'obtenir une **ionisation** douce des substances moléculaires et leur introduction directe dans le spectromètre. Certaines variantes telles que les sources **DESI** (associant ionisation par électrospray et **désorption** surfacique) permettent d'expertiser directement des surfaces solides ou tout autre matériau solide pouvant constituer un support de prélèvement. En 2002, ces techniques valurent le prix Nobel de chimie à leurs inventeurs : John B. Fenn (USA) et Koichi Tanaka (Japon).

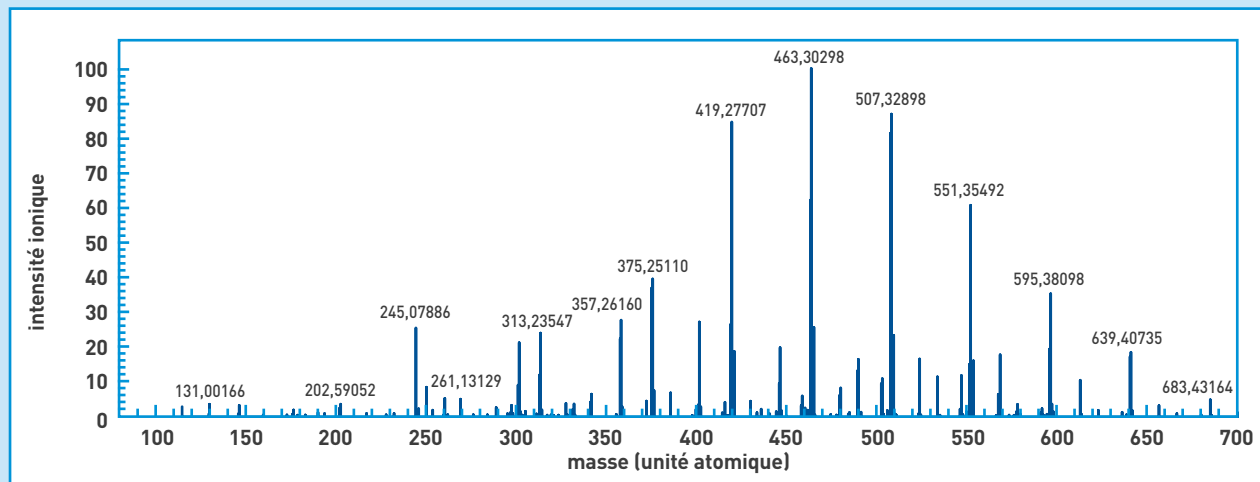


Figure 1.

Spectre de masse complet en haute résolution. Chaque pic correspond à un produit chimique unique, parfaitement caractérisé (identifié) par la mesure très précise de la masse moléculaire.

forces de rétention dues aux interactions entre analyte et phase stationnaire de la colonne. Les propriétés physico-chimiques distinguant les analytes entre eux induisent des vitesses d'élution différentes à travers les colonnes aboutissant à la séparation physique de ces analytes selon leur nature chimique (figure 3). À l'issue de leur séparation chromatographique, les **molécules** sont transférées dans le spectromètre de masse où elles subissent une **ionisation**, puis une analyse spectrale. Cette analyse permet d'identifier leur nature chimique (figure 4).

Les mélanges complexes de composés organiques, notamment de composés organiques volatils, relèvent souvent de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. En effet, l'utilisation de colonnes **chromatographiques capillaires**⁽¹⁾ permet d'accéder à un pouvoir séparateur très élevé (grande résolution) de plus d'une centaine de substances (figure 3). Comme indiqué précédemment, leur identification et leur quantification s'effectuent en utilisant un **détecteur spectrométrique** (figure 4).

À l'heure actuelle, hormis pour le cas spécifique de la technique récente de chromatographie liquide ultra-rapide, la **chromatographie en phase liquide** offre un pouvoir séparateur inférieur à celui de la **chromatographie capillaire en phase gazeuse**. En conséquence, elle convient davantage à l'analyse d'échantillons peu complexes, c'est-à-dire ne contenant seulement que quelques composés. En revanche, elle permet l'analyse de composés lourds ou thermolabiles en évitant des étapes d'extractions. Ici encore, l'analyse qualitative et quantitative des substances d'intérêt s'effectue, de plus en plus fréquemment, par spectrométrie de masse.

L'analyse organique environnementale figure comme l'un des éléments importants pour évaluer l'impact

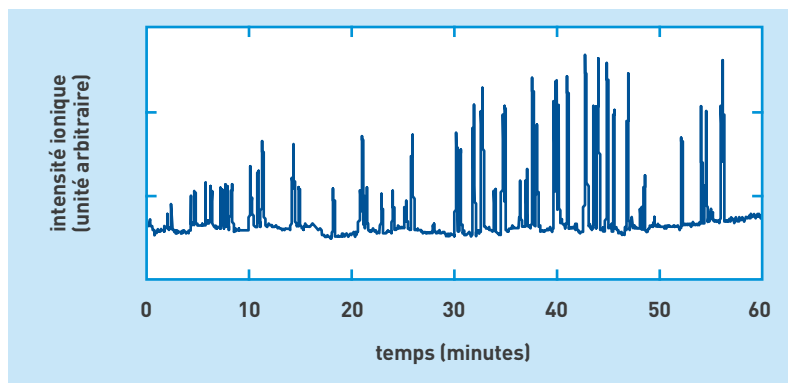


Figure 3. Séparation de 54 composés organiques volatils par chromatographie en phase gazeuse. Chaque pic correspond à l'isolement d'un composé présent dans l'échantillon.

des installations du CEA. Pour mener à bien cette démarche, les chimistes disposent de technologies modernes reposant sur des principes physico-chimiques sophistiqués : par exemple, les procédés d'extraction multiples et les différents types de spectrométries. Ces instruments et ces méthodes permettent de détecter les substances à des niveaux avoisinant quelques picogrammes (10^{-12} g). Elles permettent également de suivre l'évolution de la réglementation environnementale exigeant de réduire, toujours plus, les concentrations limites de polluants dans l'environnement. Au-delà du respect normal des réglementations environnementales générales, la spécificité des activités du CEA a conduit ses chimistes à développer ou améliorer les instrumentations et les méthodes analytiques nécessaires à ses besoins spécifiques.

> **Xavier Machuron-Mandard**

Département analyse, surveillance, environnement (Dase)

Direction des applications militaires
CEA Centre DAM Ile-de-France.

(1) Typiquement, il s'agit de tubes de silice de 30 à 100 m de longueur et de 100 à 500 μm de diamètre interne.

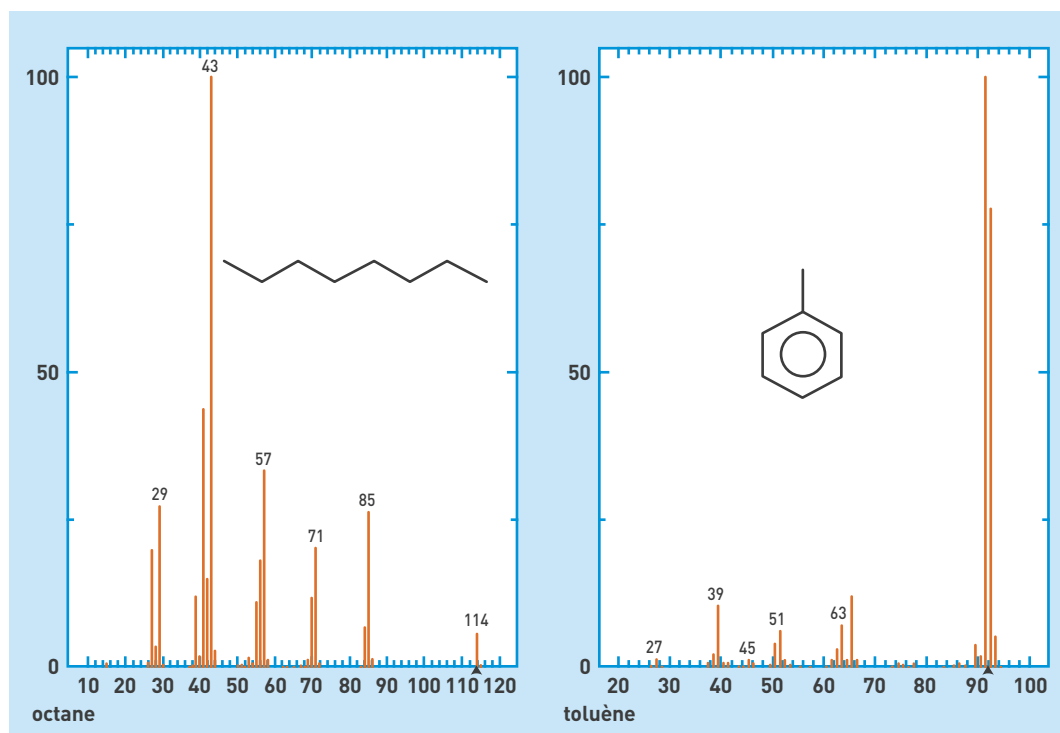


Figure 4. Spectres de masse du n-octane et du toluène. Le spectre de masse obtenu par impact électronique, dans des conditions énergétiques standard (énergie incidente des **électrons** : 70 eV), conduit, par fragmentation moléculaire, à l'enregistrement d'une "empreinte spectrale" qui, comparée à une spectrothèque, permet d'identifier l'analyte.