



THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR
ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES EXACTES ET DE LEURS APPLICATIONS

Par Catherine CARLIER-PINASSEAU

pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité : Chimie et Microbiologie de l'Eau

SPECIATION DES ORGANOETAINS DANS LE RESEAU HYDROLOGIQUE
EN GC-FPD APRES ETHYLATION PAR NaBe₄
DEVELOPPEMENT DE LA METHODE ANALYTIQUE

soutenu le 19 décembre 1996

Après avis de :

M. J. C. FISCHER, Professeur à l'Université de Lille
M. R. LOBINSKI, Chargé de Recherche au CNRS URA 348, Bordeaux I
M. P. MICHEL, Ingénieur, chef du Laboratoire "Chimie-Environnement" à l'IFREMER, Nantes

Rapporteurs

Devant la Commission d'examen formée de

M. M. ASTRUC, Professeur à l'université de Pau et des Pays de l'Adour
M. J. C. FISCHER, Professeur à l'Université de Lille
M. R. LOBINSKI, Chargé de Recherche au CNRS URA 348, Bordeaux I
M. P. MICHEL, Ingénieur, chef du Laboratoire "Chimie-Environnement" à l'IFREMER, Nantes

Président
Rapporteurs

Mme P. BERMEJO-BARRERA, Professeur à l'université de St Jacques de Compostelle
Mme G. LESPEL, Martre de Conférences à l'université de Pau et des Pays de l'Adour
M. C. BREUZIN, Ingénieur d'études à l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse

Examineurs

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE

PARTIE I :

LA SPECIATION DES ORGANOETAINS 10

1. Les organoétains dans l'environnement 11

1.1 Présentation des organoétains 11

1.1.1 Formule générale 11

1.1.2 Utilisations et sources de pollutions environnementales 12

1.1.2.1 Pollution du milieu dulcicole 13

1.1.2.2 Pollution du milieu marin 13

1.1.3 Comportements dans l'environnement 14

1.1.3.1 Introduction dans le milieu naturel 14

1.1.3.2 Transport 14

1.1.3.3 Transformations 14

1.2 Toxicité des organoétains 15

1.2.1 Métabolisme : bioaccumulation et détoxification 15

1.2.1.1 Bioaccumulation 16

1.2.1.2 Métabolisme et dépuration 16

1.2.2 Activité biologique 17

1.2.2.1 Effets sur la faune aquatique 17

1.2.2.2 Effets sur les mammifères terrestres 18

1.2.2.3 Risques pour la santé humaine 19

1.3 Législation 20

1.3.1 Législation française 20

1.3.2 Législation européenne 21

2. Techniques analytiques utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CC)	21
2.1 Détermination directe des organoétains	22
2.2 Réactions de dérivation	22
2.2.1 L'hydruration	22
2.2.2 La réaction de Grignard	24
2.2.3 L'éthylation par le tétraéthylborate de sodium (NaBEt ₄)	26
2.2.4 Conclusion sur les protocoles de dérivation	28
2.3 Séparation par chromatographie gazeuse et détection	28
2.3.1 Séparation	30
2.3.2 Détection	31
2.3.2.1 Détecteurs optiques	31
2.3.2.2 Spectrométrie de masse (ou MS : Mass Spectrometry)	32
2.3.2.3 Conclusion sur les détecteurs	32
2.4 Conclusion sur les techniques analytiques utilisant la GC et appliquées à la spéciation des organoétains	33
 Bibliographie	 34

PARTIE II :

OPTIMISATION DE LA METHODE ANALYTIQUE ET APPLICATIONS A L'ANALYSE D'ECHANTILLONS AQUEUX 34

1. Principe, réactifs et appareillage utilisés	45
1.1 Ethylation des organoétains	45
1.1.1 Réaction	35
1.1.2 Réactifs utilisés	46
1.1.2.1 Tétraéthylborate de sodium : NaBEt ₄	46
1.1.2.2 Solutions étalons	46
1.1.3 Réacteur	37
1.2 Chromatographie Gazeuse (GC)	47
1.2.1 Injection	47
1.2.2 Séparation	48

1.3 Détection par photométrie de flamme (FPD)	49
2. Optimisation de l'analyse	50
2.1 Etude de la réaction d'éthylation-extraction	50
2.1.1 Géométrie du réacteur	50
2.1.2 Paramètres réactionnels	52
2.1.2.1 Solvant d'extraction	53
2.1.2.2 Effet de l'agitation	55
2.1.2.3 Durée de la réaction d'éthylation-extraction	56
2.1.2.4 Etude du pH	57
2.1.3 Conclusion sur la réaction d'éthylation-extraction par NaBEt_4	59
2.2 Optimisation de l'analyse par GC-FPD	60
2.2.1 Injection	60
2.2.1.1 Temps de séjour	61
2.2.1.2 Température	62
2.2.1.3 Volume injecté	63
2.2.2 Séparation	63
2.2.2.1 Débit de gaz vecteur	63
2.2.2.2 Température de la colonne	65
2.2.3 Détection	66
2.2.3.1 Température	66
2.2.3.2 Composition de la flamme	67
2.2.3.3 Débit d'azote du "make up"	68
2.2.4 Conclusion	69
2.3 Performances de la méthode	69
2.3.1 Méthodes de quantification	69
2.3.1.1 Recherche d'un étalon interne	70
2.3.1.2 Méthode de l'étalon interne	70
2.3.2 Caractères analytiques	72
2.3.2.1 Limites de détection, domaine de linéarité	72
2.3.2.2 Répétabilité, reproductibilité	74
3. Applications	76
3.1 Analyse d'échantillons dopés	76
3.1.1 Intercomparaisons d'analyses d'échantillons synthétiques pour la CIPR	76
3.1.2 Analyses d'eaux dopées	80

3.2 Analyse d'échantillons environnementaux	81
3.2.1 Eau de mer	81
3.2.2 Eau résiduaire industrielle	82
3.2.3 Eau d'entrée de station d'épuration	83
3.3 Influences de la matrice	84
3.3.1 Effets de la matière organique dissoute	85
3.3.2 Effet de la matière en suspension	86
3.3.3 Conclusion sur les effets de matrices	87
4. Contrôle qualité	88
5. Conclusion	89
Bibliographie	90
<u>PARTIE III :</u>	
APPLICATION A L'ANALYSE DES SEDIMENTS	94
1. Prétraitements du sédiment : synthèse bibliographique	95
1.1 Conservation	96
1.2 Séchage	97
1.3 Tamisage	98
1.4 Extraction	98
1.4.1 Extraction par soxhlet	101
1.4.2 Extraction par un fluide à l'état supercritique	101
1.4.3 Digestion acide	101
1.5 Analyse	102
1.6 Conclusion sur les prétraitements	103

2. Optimisation de l'extraction : comparaison de deux procédés	103
2.1 Préparation d'un matériau dopé	103
2.1.1 Choix du matériau	104
2.1.2 Choix du protocole de dopage	104
2.1.2.1 Description	105
2.1.2.2 Résultats et commentaires	107
2.1.2.3 Conclusion sur le protocole de dopage	108
2.2 Extraction : comparaison de deux procédés testés	108
2.2.1 Extraction par HCl/MeOH	108
2.2.2 Extraction par l'acide éthanoïque	111
2.2.3 Conclusion sur l'extraction	113
3. Analyse	115
3.1 Détermination de la siccité	115
3.2 Détermination des conditions opératoires	115
3.3 Performances de la méthode	116
3.3.1 Limites de détection	116
3.3.2 Répétabilité, reproductibilité	117
4. Applications et intercomparaisons	118
4.1 Analyse du matériau de référence PACS- 1	118
4.2 Intercomparaison des analyses de divers sédiments	118
4.2.1 Sédiment espagnol	118
4.2.2 Sédiments suisses	120
4.2.3 Sédiment du Rhin	121
5. Conclusion	122
Bibliographie	i24

PARTIE IV :

APPLICATION A L'ANALYSE DE LA BIOMASSE

129

1. Préparation des échantillons biologiques	30
1.1 Choix d'un matériau biologique	131
1.1.1 Préparation de l'échantillon	131
1.1.2 Dopage	132
1.2 Conservation et prétraitement	132
1.2.1 Conservation	132
1.2.2 Détermination de la siccité	133
1.2.3 Lyophilisation de l'échantillon	133
1.3 Conclusion sur le matériau préparé	134
2. Choix et optimisation d'un procédé d'extraction	134
2.1 Synthèse bibliographique	134
2.2 Extraction des organoétains du matériau biologique : comparaison de trois procédés	137
2.2.1 Hydrolyse enzymatique	137
2.2.2 Extraction par l'acide éthanoïque	140
2.2.3 Extraction par HCl/MeOH	142
2.3 Conclusion sur le procédé d'extraction des organoétains dans la biomasse	144
3. Analyse	146
3.1 Détermination des conditions opératoires	146
3.2 Performances de la méthode	147
3.2.1 Limites de détection	147
3.2.2 Répétabilité, reproductibilité	148
4. Applications et intercomparaisons	149
4.1 Analyse du matériau de référence NIES	150

4.2 Intercomparaisons d'analyses	151
4.2.1 Moules de La Spezia	151
4.2.2 Moules du lac de Zurich	152
4.3 Analyse de poissons prélevés dans La Moselle et dans Le Rhin	154
4.3.1 Présentation des échantillons	154
4.3.2 Analyse et résultats	154
5. Conclusion	155
Bibliographie	157
CONCLUSION GENERALE	160
ANNEXES	162

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Au cours des trente dernières années, l'usage anthropogénique d'organométalliques de synthèse s'est beaucoup **développé**, engendrant l'introduction massive de ces composés dans l'environnement. Les organoétains, en particulier, ont été largement utilisés pour leurs propriétés biocides. Leur impact sur la faune aquatique a été vérifié : ils sont facilement adsorbés sur les particules en suspension, principale voie de transport vers les sédiments, ou absorbés par la biomasse. Sédiments et organismes vivants jouent ainsi un rôle d'accumulateur et peuvent engendrer un transfert direct dans la chaîne alimentaire.

Les composés les plus employés, le tributylétain et le triphénylétain, ont été reconnus comme toxiques.

La contamination des milieux marin et dulcicole par le tributylétain est maintenant bien connue : elle est principalement due à la lixiviation des peintures antisalissures contenant le tributylétain et destinées à protéger les coques de bateaux. Le triphénylétain, aussi présent dans ces peintures, est surtout utilisé en agriculture comme fongicide. Il permet de protéger indifféremment les récoltes de pomme de terre, céleri, betterave à sucre, café, riz, contre certaines maladies parasitaires. Mais ce pesticide non sélectif agit au détriment de l'environnement.

La reconnaissance de la toxicité des organoétains dès les faibles concentrations a stimulé le développement de méthodes analytiques sensibles et fiables.

Le dosage des butylétains dans les différents compartiments de l'environnement marin est aujourd'hui maîtrisé. Cependant, d'une part, la pollution organostannique s'étend au milieu dulcicole, et, d'autre part, elle concerne de nombreux composés organiques de l'étain, en particulier les composés phénylés sur lesquels peu de travaux ont encore été réalisés.

Au sein de la Communauté Européenne, la Commission Internationale pour la Protection du Rhin (C.I.P.R.) s'est associée avec l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse dans un projet de lutte contre la pollution chimique engendrée par un certain nombre de produits organiques dont les butyl- et les phénylétains. Une collaboration entre le Laboratoire de Chimie Analytique de l'Université de Pau, qui travaille depuis plusieurs années sur les composés butylés de l'étain, et l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse s'est alors établie. Elle a abouti au financement de cette thèse dont le but est de mettre au point une méthode analytique répondant aux exigences européennes. Pour cela, elle doit permettre un dosage fiable et précis des organoétains dans le réseau hydrologique, en particulier des espèces butylées et phénylées, et être utilisable en routine.

Le dosage des mono-, di-, et tributylétains était jusqu'à présent réalisé au laboratoire par le **couplage** Génération d'Hydrures / Chromatographie Gazeuse - Spectrométrie d'**Absorption** Atomique avec Four en Quartz. Or, les dérivés phénylés de l'étain forment des hydrures peu volatils.

La première partie de ce mémoire situe, tout d'abord, les problèmes posés par les organoétains dans l'environnement. Puis, une étude bibliographique est consacrée à la description des techniques de spéciation des organoétains faisant appel à la chromatographie en phase gazeuse.

Cette synthèse sur les techniques analytiques a permis d'envisager une méthode de dosage des butyl- et phénylétaïns dont l'optimisation et l'application à des échantillons naturels aqueux sont présentées dans la deuxième partie.

Les troisième et quatrième parties sont consacrées à l'application de la méthode analytique respectivement à l'étude des sédiments et de la biomasse.

L'analyse d'échantillons naturels ainsi que diverses études d'intercomparaisons sont présentées à l'issue de chacune des trois dernières parties. Elles ont pour but de valider la méthode et de démontrer sa fiabilité, sa sensibilité, sa précision ainsi que sa simplicité qui autorise une utilisation en routine.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le travail présenté avait pour but de développer une méthode de routine pour l'analyse des butyl- et phénylétains.

L'introduction anthropogénique des organoétains dans l'environnement est liée aux nombreuses propriétés biocides de ces composés. Mais leur action non sélective peut être désastreuse pour l'environnement aussi bien marin que dulcicole. En effet, les composés alkylés ou arylés de l'étain possèdent des propriétés toxiques très variées sur un grand nombre d'organismes vivants. Dès lors, il est primordial de savoir évaluer leurs concentrations dans tous les compartiments de l'environnement.

Si les butylétains ont fait l'objet de nombreuses études, le dosage des phénylétains s'avérait délicat. L'étape de dérivation usuelle - par la réaction de Grignard - était longue et fastidieuse. Les applications de telles méthodes restaient donc limitées.

La méthode analytique que nous avons développée repose sur un couplage éthylation par NaBEt_4 / chromatographie en phase gazeuse et détection par photométrie de flamme. Sa mise en oeuvre, simple et rapide, a permis pour la première fois le dosage simultané en routine des composés butylés et phénylés de l'étain. Elle a été, dans un premier temps, appliquée au dosage des organoétains dans des échantillons aqueux marins et dulcicoles. La quantification obtenue est spécifique, fiable, reproductible et sensible : les butyl- et phénylétains sont dosables à des limites de détection de 0,3 à 1 $\text{ng}(\text{Sn})/\text{l}$ inférieures aux valeurs bibliographiques. D'autres composés de l'étain, tels que les méthyl- ou les octylétains, ont également été détectés.

La technique analytique optimisée a ensuite été appliquée au dosage des butyl- et phénylétains dans les sédiments et dans la biomasse.

Les protocoles de préparation, de détermination de l'humidité, de dopage et de stockage des échantillons ont tout d'abord été soigneusement définis afin d'éviter toute modification des espèces chimiques recherchées. Puis, l'extraction des organoétains dans ces matériaux a été étudiée.

Après avoir testé différents procédés d'extraction, nous avons retenu pour chaque type de matrice la digestion acide :

- par l'acide éthanoïque glacial pour les sédiments,
- par solution méthanolique de HCl à la concentration de 0,1 mol/l pour les matériaux biologiques.

Ces deux procédés sont simples et rapides car ils nécessitent un nombre minimal de manipula-

tions. Appliqués aux espèces phénylées et suivis d'une éthylation par NaBEt_4 , ils constituent des procédés de mise en solution nouveaux. Ils permettent une extraction simultanée et quantitative des espèces butylées et phénylées de l'étain sans induire de décomposition. Les extraits obtenus peuvent être directement éthylés, puis analysés par GC-FPD. Pour cela, les conditions opératoires sont adaptées en fonction de la composition du matériau analysé afin de réduire les effets de matrice : une étape de décantation peut être ajoutée au protocole et le volume de la prise d'essai **d'extrait** est limité. Ce dernier choix ne s'est pas avéré restrictif car les échantillons analysés présentent **généralement** un niveau de pollution suffisant. Ainsi, chaque procédé d'extraction permet une détermination précise et reproductible des butyl- et phénylétains dans les sédiments et les matériaux biologiques issus des milieux marin et dulcicole à des limites de détection de l'ordre de quelques $\text{ng}(\text{Sn})/\text{g}$.

Pour les différents types de matrices, la méthode analytique optimisée a été validée, d'une part, par l'étude de matériaux de référence, lorsque cela était possible, et d'autre part, par des **intercomparaisons** d'analyses effectuées par des laboratoires et des méthodes analytiques différents. Elle est alors apparue appropriée à une utilisation en routine, en particulier pour le contrôle de la pollution de l'environnement aquatique, des rejets industriels ou urbains.

Il sera intéressant d'étudier plus en détail les effets de matrice afin de les comprendre et de s'en affranchir sans limiter la prise d'essai. Cela permettra d'abaisser les limites de détection. Par ailleurs, la méthode pourra être adaptée à l'étude d'autres organoétains tels que les composés méthylés, octylés et cyclohexylés de l'étain.

