

Validation de l'analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les eaux de pluie par la méthode du profil d'exactitude

Marjolaine Bourdat-Deschamps¹

Résumé : Une méthode d'analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) contenus dans l'eau de pluie a été optimisée au laboratoire par la méthodologie des plans d'expériences. La méthode d'analyse (absorption sur barreau magnétique SBSE – analyse en chromatographie liquide haute performance avec détection de fluorescence) présente les deux caractéristiques suivantes : l'étape d'extraction ne permet pas d'analyser plus de 12 échantillons par jour et c'est une méthode multi-analytes (15 HAP). Cet article décrit sa validation par la méthode du profil d'exactitude ; les résultats pour le pyrène et le benzo(k)fluoranthène sont présentés à titre d'exemple.

Mots clés : hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), eau de pluie, validation, profil d'exactitude

Introduction

Les HAP sont des molécules apolaires, issues de la combustion incomplète des matières organiques dont certaines sont cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction. Les flux de HAP provenant des dépositions atmosphériques totales (retombées sèches et humides) sont de l'ordre de 150 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{an}$ (zone urbaine et péri-urbaine, Azimi *et al.*, 2005). Disposant d'un pluviomètre permettant de récolter les retombées humides (pluie) et suivant par ailleurs les teneurs en HAP dans les sols dans le cadre d'un suivi expérimental de longue durée, nous avons souhaité connaître le flux des HAP *via* l'eau de pluie en regard du stock en HAP du sol. Une méthode d'analyse a été optimisée (Bourdat-Deschamps *et al.*, 2007) qui permet de concentrer les HAP par absorption sur barreau magnétique (SBSE : Stir Bar Sorptive Extraction), de les désorber dans un très faible volume d'acétonitrile et de les analyser par chromatographie liquide haute performance avec un détecteur de fluorescence. La méthode a été caractérisée (linéarité, répétabilité à deux niveaux de concentration, fidélité intermédiaire, limite de quantification). La méthode du profil d'exactitude a été employée pour valider l'analyse des HAP contenus dans les eaux de pluie. Dans une première partie, chaque étape de la méthode de validation est détaillée (cf. Feinberg M, 2010^b). Dans une deuxième partie, différents profils d'exactitude du pyrène et du benzo(k)fluoranthène sont présentés et commentés.

¹ UMR1091 EGC- Environnement et Grandes Cultures, INRA-F-78850 Thiverval-Grignon

☎ 01 30 81 53 12 ✉ marjolaine.deschamps@grignon.inra.fr

1. Étapes pour la validation (Max Feinberg, 2010^b)

1.1. Étape 0 : description du mode opératoire

Objectif de la méthode

Quantifier 15 HAP (naphtalène, acénaphène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, dibenzo(ah)anthracène, benzo(ghi)pérylène, indéno(1,2,3-cd)pyrène) contenus dans des eaux de pluie. La méthode doit être juste (nous avons besoin des concentrations en ng/l pour calculer les flux de HAP *via* l'eau de pluie et les comparer au stock du sol, qui est déterminé par une autre méthode analytique). La méthode doit être fidèle (les analyses sont réalisées une fois par an, il n'y a pas de répétition par échantillon). Les résultats sont destinés aux scientifiques utilisant le dispositif expérimental.

Méthode analytique optimisée et mode opératoire rédigé sous trame qualité du laboratoire

Voici quelques informations concernant le mode opératoire (Bourdat-Deschamps *et al.*, 2007).

Les eaux de pluies sont collectées de façon hebdomadaire et sont congelées. Après décongélation, un échantillon moyen mensuel est réalisé. Dans un volume de 10 ml d'eau de cet échantillon, additionné de 200 µl d'acétonitrile, on place un Twister® (barreau aimanté recouvert d'un film polymérique), préalablement conditionné. L'extraction est réalisée dans un bain marie à 25°C, avec une agitation de 800 tr/mn pendant 140 mn. Le barreau est ensuite placé dans un flacon HPLC avec insert. Un volume de 100 µl d'acétonitrile est rajouté. L'étape de désorption réalisée à l'abri de la lumière dure 25 mn dans un bain marie à 50°C. Le barreau est ensuite sorti du flacon. Le flacon est rebouché, stocké à l'abri de la lumière avant analyse par HPLC-fluorescence (colonne à polarité de phases inversée spéciale HAP, gradient acétonitrile-eau). La quantification est réalisée par étalonnage externe : dopage d'eau milli-Q à 4 ou 5 niveaux de concentrations de HAP, extraction des HAP selon la procédure détaillée ci-dessus, quantification des HAP contenus dans l'eau de pluie avec la droite d'étalonnage réalisée dans l'eau milli-Q dopée.

Initialement, la méthode prévoyait deux désorptions successives dans l'acétonitrile afin de maximiser le rendement de désorption. Cependant la réalisation de deux désorptions successives limitait à 8 le nombre d'expériences qui pouvaient être réalisées dans une journée. Afin d'augmenter à 12 le nombre d'expériences réalisables par jour, le protocole a été modifié et désormais une seule désorption est réalisée.

En général, 12 échantillons d'eau de pluie sont extraits par jour. Le lendemain, ce sont les échantillons d'étalonnage (eau Milli-Q dopée) qui sont extraits. Puis, l'analyse HPLC est réalisée pour l'ensemble des échantillons d'eau de pluie et d'étalonnage.

Caractérisation réalisée : linéarité, répétabilité à deux niveaux de concentration, fidélité intermédiaire, limite de quantification (pour eau milli-Q) (Cf. Bourdat-Deschamps *et al.*, 2007).

Teneurs approximatives des échantillons à analyser : nous avons analysé des échantillons d'eau de pluie à l'aide de la méthode décrite ci-dessus. Les teneurs sont variables selon les HAP et selon les saisons (de quelques ng/l à quelques dizaines de ng/l).

1.2 Étape 1 : Définition du mesurande

Que mesure-t-on ? Chacun des 15 HAP contenu dans de l'eau de pluie (échantillon moyen mensuel)

Comment exprime-t-on le résultat final ? Un seul échantillon d'eau par mois est analysé (pas de répétition). La teneur (ng/l) est déterminée par étalonnage externe (eau milli-Q dopée).

1.3 Étape 2 : paramètres de la validation

Domaine d'application (*a priori*) : d'après l'étude de linéarité (caractérisation de la méthode) : de 1 à 50 ng/l (voire jusqu'à 100 ou 200 ng/l pour certains HAP). Les analyses préalables d'échantillons d'eau de pluie ont montré que les teneurs maximales de chaque HAP n'excédaient pas 30 ng/l. Le domaine d'application choisi a donc été de **1 à 30 ng/l**.

Limites d'acceptabilité (λ) : $\pm 20\%$, ce qui signifie que pour une teneur de 1 ng/L le résultat sera compris au maximum entre 0,8 et 1,2 ng/L et pour une teneur de 30 ng/L, il sera compris au maximum entre 24 et 36 ng/L.

Intervalle de tolérance (β) : 80 % (pas de réglementation pour cette application, en général, on choisit $\beta \geq 80\%$).

1.4 Étape 3 : échantillons de validation et définition des valeurs de référence

Quels échantillons pour l'étape de validation ? Afin de représenter au mieux la matrice « eau de pluie », un échantillon moyen a été réalisé en rassemblant des eaux de pluies récoltées tous les mois d'une année. Cet échantillon a été homogénéisé et a été stocké à l'abri de la lumière à 4°C pour la durée des expériences de validation. Afin de minimiser la modification de la matrice au cours du temps (développements microbiens), l'ensemble des expériences pour la validation a été réalisé sur 1,5 semaine.

Quelle est la valeur de référence pour chaque échantillon ? Des ajouts dosés à différentes concentrations ont été réalisés sur la matrice ainsi préparée, avec une solution étalon commerciale contenant les 15 HAP, chacun à la même concentration.

1.5 Étape 4 : essais de validation

Quatre niveaux de concentration (1,9 ; 4,7 ; 9,5 ; 28,5 ng/l) ont été choisis. Selon les saisons et les HAP, certaines teneurs risquent d'être proches des limites de quantification. Lors de la caractérisation de la méthode, ces limites avaient été évaluées (rapport signal sur bruit de l'ordre de 10) autour de 1 à 5 ng/l selon les HAP, ce qui explique notre choix pour les deux niveaux bas de concentration.

La matrice que nous avons dopée contient probablement des HAP (c'est de l'eau de pluie naturelle). Un échantillon non dopé a également été analysé.

Deux répétitions par niveau de concentration ont été réalisées car nous pouvons effectuer au maximum 12 extractions par jour. Or (4 niveaux de concentration + 1 échantillon non dopé) \times 2 répétitions = 10 extractions.

Trois séries de mesures ont été réalisées, sur trois jours.

1.6 Étape 5 : essais d'étalonnage

Nous avons choisi d'appliquer le protocole d'extraction SBSE aux échantillons d'étalonnage qui sont constitués d'eau Milli-Q dopée avec les HAP.

Comme indiqué dans le mode opératoire à l'étape 0, les extractions des échantillons de terrain sont réalisées un jour et les extractions des échantillons d'eau milli-Q dopée sont réalisées un autre jour. Nous avons donc procédé de même pour la validation de la méthode. **Pour chaque série**, les extractions SBSE des échantillons d'étalonnage ont été réalisées le lendemain des extractions d'échantillons de validation. Ensuite, les injections HPLC de tous ces échantillons de la même série ont été réalisées sur une nuit.

Cinq niveaux de concentration (de 0,9 à 27,6 ng/l) ont été choisis. Le point le plus élevé de la gamme d'étalonnage est légèrement inférieur à celui de la gamme de validation. Comme le rendement d'extraction SBSE est inférieur à 83 %, cela ne posera pas de problème car les aires obtenues pour les échantillons de validations seront comprises dans la gamme des aires des échantillons d'étalonnage.

Une analyse par niveau a été réalisée. Ce choix a été fait car dans l'organisation de la semaine de travail, il n'était pas possible de réaliser deux répétitions (le conditionnement des barreaux demandant beaucoup de temps). Par ailleurs, le coefficient de variation caractérisant la répétabilité de la méthode pour chaque HAP, déterminé notamment pour de l'eau Milli-Q dopée à 5ng/l, est inférieur à 10% (excepté pour le benzo(ghi)pérylène : 12,8 %), ce qui a conforté ce choix.

Trois séries de mesures ont été réalisées c'est-à-dire trois jours, comme pour les échantillons de validation.

1.7 Étape 6 : réalisation des essais (validation et étalonnage)

Pour les étapes 6 à 9, seuls les résultats concernant le pyrène seront présentés, la méthodologie étant la même pour les 14 autres HAP.

Essais de validation

Tableau 1 : mesurages correspondant aux essais de validation (eau de pluie dopée)

niveaux	séries	valeur ref (ng/L)	Mesurages pyrène (aires)*	
			rep 1	rep 2
1	1	1,9	36539	36785
	2		60086	35295
	3		57695	59731
2	1	4,7	102066	98495
	2		99897	93547
	3		115298	111584
3	1	9,5	188665	191294
	2		188657	198683
	3		221678	194983
4	1	28,5	595999	604704
	2		520857	501025
	3		557258	541355

* pour chaque série, les aires contenues dans les « blancs » (matrice non dopée) ont été soustraites aux aires obtenues pour chaque niveau.

Essais d'étalonnage avec l'eau milli-Q dopée subissant l'intégralité du protocole

Tableau 2 : mesures correspondant aux essais d'étalonnage (eau milli-Q dopée)

niveaux	séries	valeur ref (ng/L)	Mesurages pyrène (aires)
1	1	0,9	43083
	2		24719
	3		35684
2	1	4,6	117767
	2		112319
	3		115840
3	1	9,2	238120
	2		202957
	3		249807
4	1	18,4	450132
	2		398342
	3		440029
5	1	27,6	682393
	2		611523
	3		633748

1.8 Étape 7 : Modèle d'étalonnage pour chaque série

À partir des données du **tableau 2**, pour chaque série d'étalonnage, les coefficients du modèle d'étalonnage sont déterminés (**tableau 3**), sachant que dans notre cas, le modèle d'étalonnage est une droite. Ensuite, à partir des mesurages réalisés sur les échantillons de validation (**tableau 1**), ces coefficients permettent de calculer les concentrations retrouvées des échantillons de validation (tableau 4).

La **figure 1** est une représentation graphique des tableaux 1 et 2.

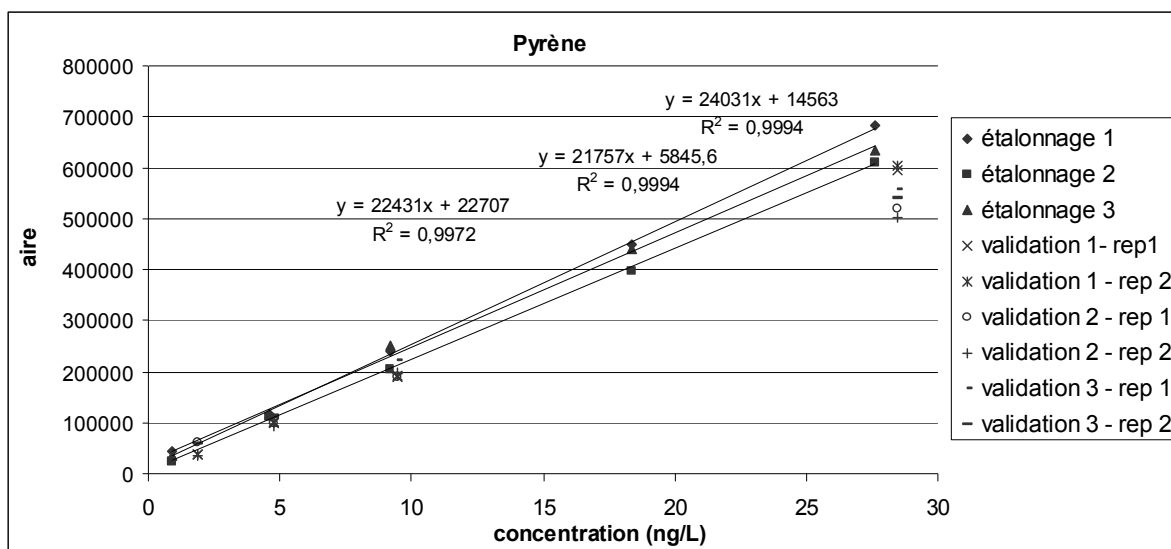
**Figure 1** : représentation graphique des aires mesurées lors des essais d'étalonnage et de validation, en fonction de la concentration

Tableau 3 : détermination des coefficients du modèle d'étalonnage pour chaque série

	a_1	a_0
étalonnage série 1	24031	14563
étalonnage série 2	21757	5845
étalonnage série 3	22431	22707

Tableau 4 : concentrations retrouvées des échantillons de validation

Niveaux	Séries	Valeur de référence (ng/l)	Concentrations pyrène (ng/l)	
			Rép. 1	Rép. 2
1	1	1,9	0,91	0,92
	2		2,49	1,35
	3		1,56	1,65
2	1	4,7	3,64	3,49
	2		4,32	4,03
	3		4,13	3,96
3	1	9,5	7,24	7,35
	2		8,40	8,86
	3		8,87	7,68
4	1	28,5	24,20	24,56
	2		23,67	22,76
	3		23,83	23,12

1.9 Étapes 8 et 9 : calcul et tracé du profil d'exactitude

Les données du **tableau 4** sont saisies dans le fichier Excel® pour réaliser les calculs et tracer le profil d'exactitude. L'exploitation des données de chaque HAP, comme présentée aux paragraphes 1.7 à 1.9 permet de tracer le profil d'exactitude pour chacun des HAP.

2. Résultats et interprétations

2.1 Résultats pour le pyrène

Le tracé du profil d'exactitude pour le pyrène est présenté sur la **figure 2**.

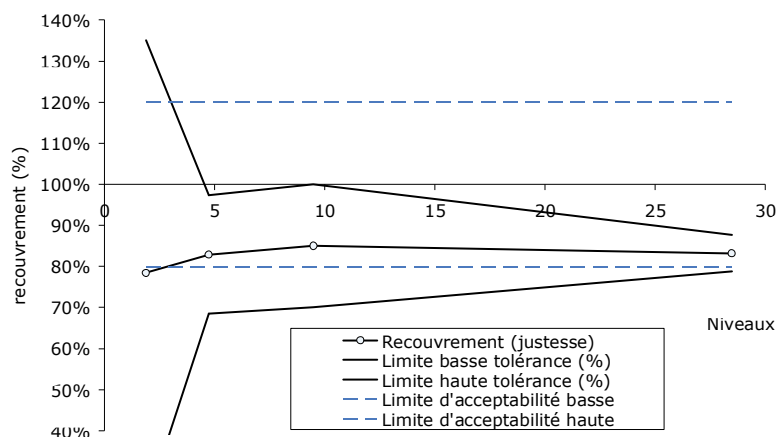


Figure 2 : profil d'exactitude pour le pyrène (d'après tableau 4), pour $\lambda=20\%$ et $\beta=80\%$

La méthode présente un **biais systématique** (la ligne de recouvrements moyens n'est pas à 100%) qui est explicable par un effet matrice. Or cela invalide la méthode puisque nous avons besoin qu'elle soit juste. En traçant les concentrations retrouvées (données du **tableau 4**) en fonction des concentrations théoriques pour les échantillons de validation (**figure 3**), il est possible de déterminer la pente moyenne des taux de recouvrement. L'inverse de cette pente moyenne donne le **facteur de correction** (1,20) que l'on peut appliquer à chacune des concentrations retrouvées afin de retracer un profil d'exactitude corrigé (**figure 4**).

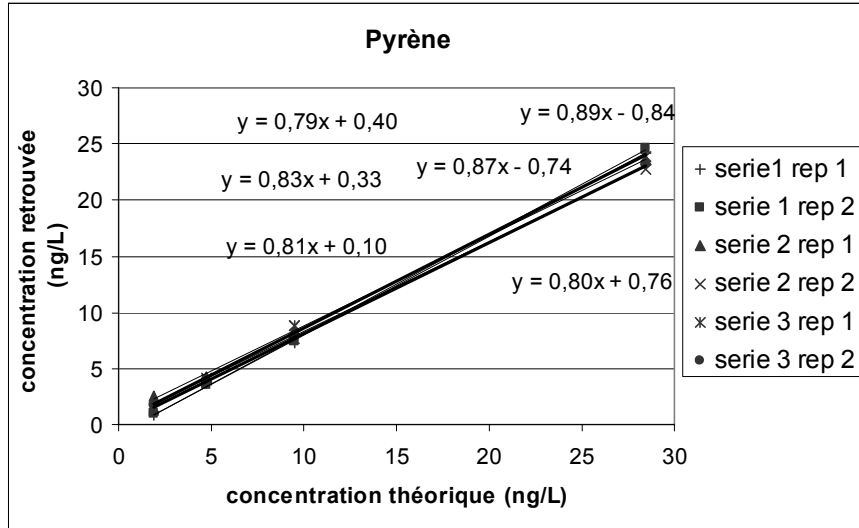


Figure 3 : concentrations de pyrène retrouvées en fonction des concentrations théoriques des échantillons de validation

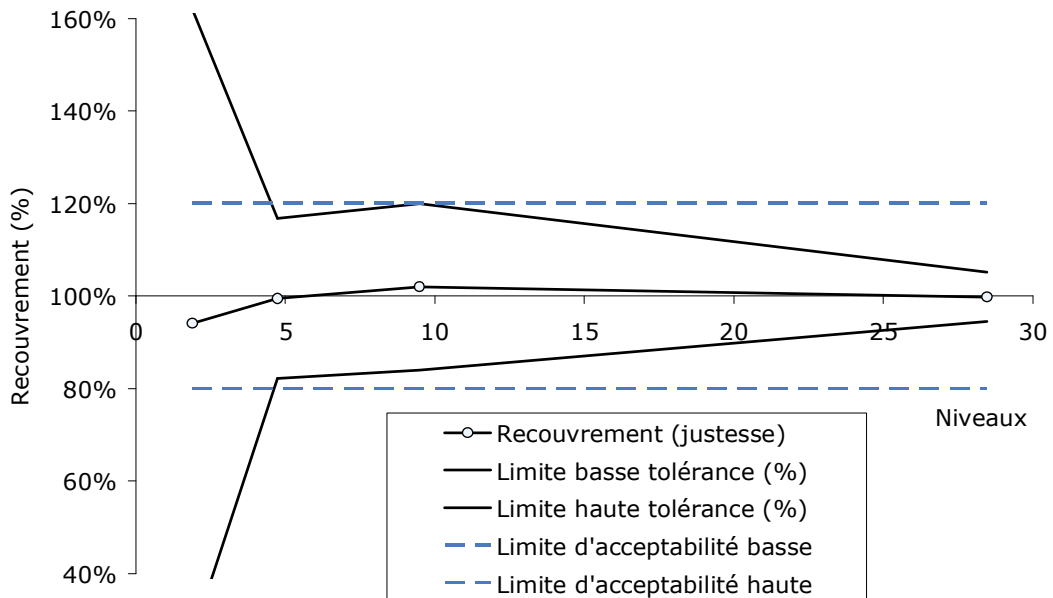


Figure 4 : profil d'exactitude pour le pyrène en appliquant un facteur de correction (1,20) aux concentrations de validation ($\lambda=20\%$ et $\beta=80\%$)

En corrigeant les valeurs retrouvées avec le facteur de correction, la **méthode devient juste** (biais inférieur à 3% pour des concentrations entre 5 et 28 ng/l).

Afin de valider le facteur de correction, une nouvelle série de mesures a été réalisée (échantillons de validation : 4 niveaux et 2 répétitions par niveau ; échantillons d'étalonnage : 5 niveaux sans répétition). Le facteur de correction déterminé auparavant a été appliqué aux concentrations retrouvées. Les teneurs corrigées se situent dans le profil d'exactitude présenté **figure 4**.

La **limite de quantification basse** est déterminée par l'intersection entre la limite d'acceptabilité et la limite de tolérance. Elle est de 4,7 ng/l. La **limite de quantification haute** correspond au point haut de gamme des échantillons de validation (28,5 ng/l).

La **méthode est donc validée entre 4,7 et 28,5 ng/l ($\lambda = 20\%$ et $\beta = 80\%$)** car dans ce domaine, l'intervalle de tolérance est compris dans l'intervalle d'acceptabilité.

En dessous de 4,7 ng/l, **les limites de tolérance haute et basse divergent très rapidement** et de façon symétrique.

Vers 10 ng/l, **la limite haute de tolérance est proche de la limite d'acceptabilité haute**, ce qui signifie que le risque moyen d'avoir en routine une proportion moyenne de résultats non acceptables est proche de 1/10 (car $\beta = 80\%$, soit une proportion moyenne de 1/5, et l'intervalle de tolérance est proche de la limite d'acceptabilité sur la partie haute du profil seulement, ce qui divise le risque par 2). Mais une proportion moyenne de 1/10 signifie qu'elle peut varier autour de cette moyenne. Comme les intervalles de tolérance se resserrent de 10 à 28 ng/l, ce risque diminue fortement.

Le profil d'exactitude peut être employé pour **choisir les teneurs des contrôles qualités (CQ)** qui seront employés lors des analyses en routine. En effet, on pourra choisir un CQ proche de 10 ng/l. Le CQ se comportant comme les échantillons, s'il ne passe pas, il faudra refaire la série d'analyse. Si on choisit d'utiliser 3 CQ de niveaux de concentrations différents, on peut choisir un CQ à 5 ng/l (proche de la limite de quantification basse), un CQ à 10 ng/l (concentration « critique » du profil) et un CQ à 25 ng/l (proche de la limite haute).

Les résultats présentés à la **figure 1** ont été obtenus en prenant une droite ($a_1 X + a_0$) comme modèle d'étalonnage. D'autres modèles d'étalonnage ont été testés (droite passant par zéro, modèle quadratique), ainsi que des pondérations ($1/X$) de ces modèles. Ces modèles d'étalonnage, pondérés ou non, ont été déterminés à partir des données du **tableau 2**, en utilisant le logiciel Statgraphics Plus 4.1. Les coefficients de ces modèles ont été appliqués aux données du **tableau 1** afin de déterminer les concentrations de pyrène retrouvées dans chaque échantillon de validation. Les profils d'exactitude (avec application d'un facteur de correction aux données de validation) correspondant à chaque modèle ont été tracés (**figure 5**).

Aucun modèle ne donne de profil plus satisfaisant (justesse, étroitesse de l'intervalle de tolérance, étendue du domaine de validité de la méthode) que le profil obtenu avec le modèle linéaire avec facteur de correction (**figure 4**).

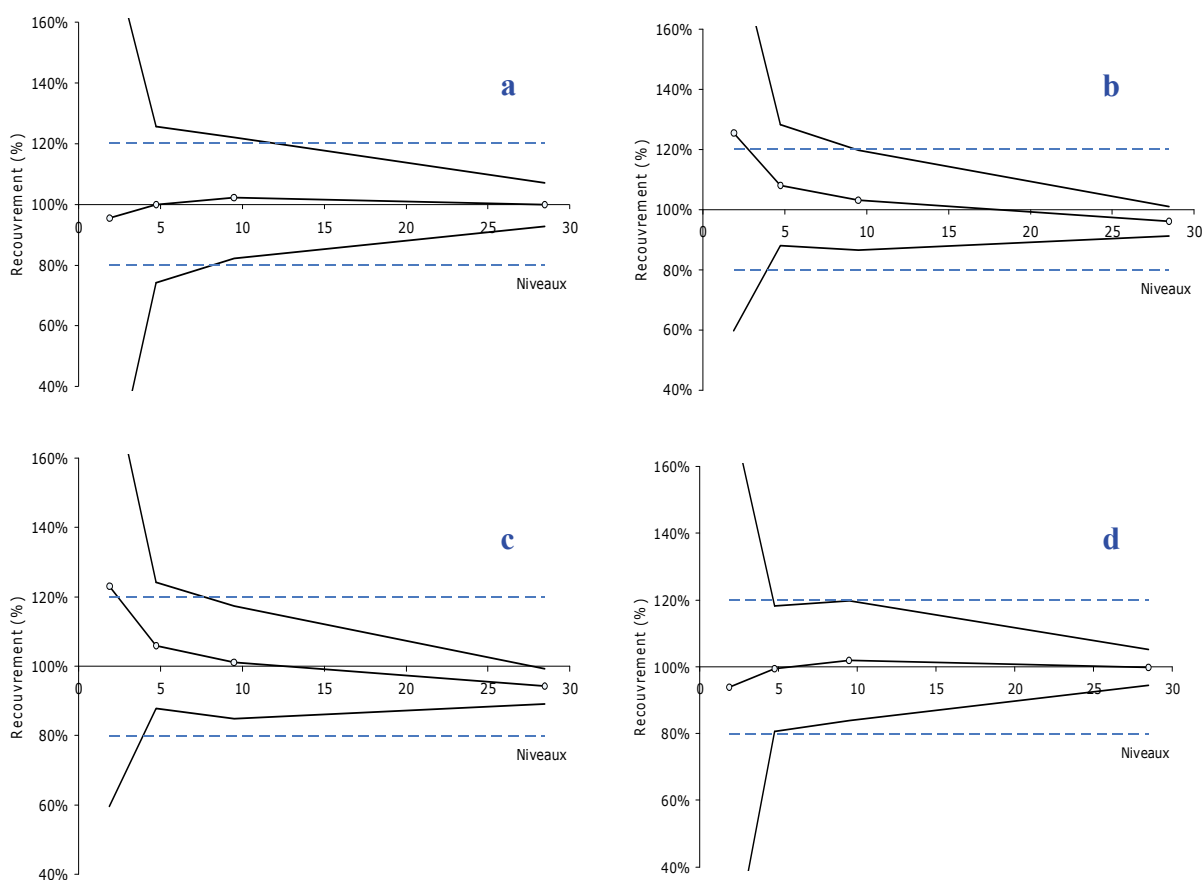


Figure 5 : profils d'exactitude pour le pyrène ($\lambda=20\%$ et $\beta=80\%$)

- (a) modèle linéaire ($a_1 X + a_0$) pondéré ($1/X$), facteur de correction (1,20)
- (b) modèle linéaire passant par zéro ($a_1 X$), facteur de correction (1,16)
- (c) modèle linéaire passant par zéro ($a_1 X$) pondéré ($1/X$), facteur de correction (1,16)
- (d) modèle quadratique ($a_2 X^2 + a_1 X + a_0$), facteur de correction (1,20)

Nous avons choisi d'appliquer aux échantillons d'étalonnage l'ensemble du protocole expérimental (extraction SBSE, désorption, analyse HPLC) (cf. étape 5). Cependant, nous pourrions choisir comme échantillons d'étalonnage des solutions dans un solvant organique (HAP dans l'acétonitrile), qui ne subiraient pas le protocole d'extraction. Cette méthode présente l'avantage de raccourcir la durée des expérimentations, mais l'inconvénient de ne pas montrer l'impact de l'extraction sur la fonction de réponse (droite dans notre cas). Le profil d'exactitude, **figure 6**, a été déterminé en réalisant les essais d'étalonnage avec des étalons de HAP dans l'acétonitrile (4 niveaux de concentrations, 2 répétitions par niveau, 3 séries, qui ont été injectés en HPLC en même temps que les échantillons de validation et les échantillons d'étalonnage subissant l'intégralité du protocole), et en appliquant un facteur de correction de 1,5. La méthode n'est juste (biais inférieur à 5 %) qu'entre 10 et 28 ng/l et la limite de quantification inférieure est assez élevée (13,4 ng/l), ce qui nous conforte dans notre choix de faire subir aux échantillons d'étalonnage l'intégralité du protocole extraction-analyse.

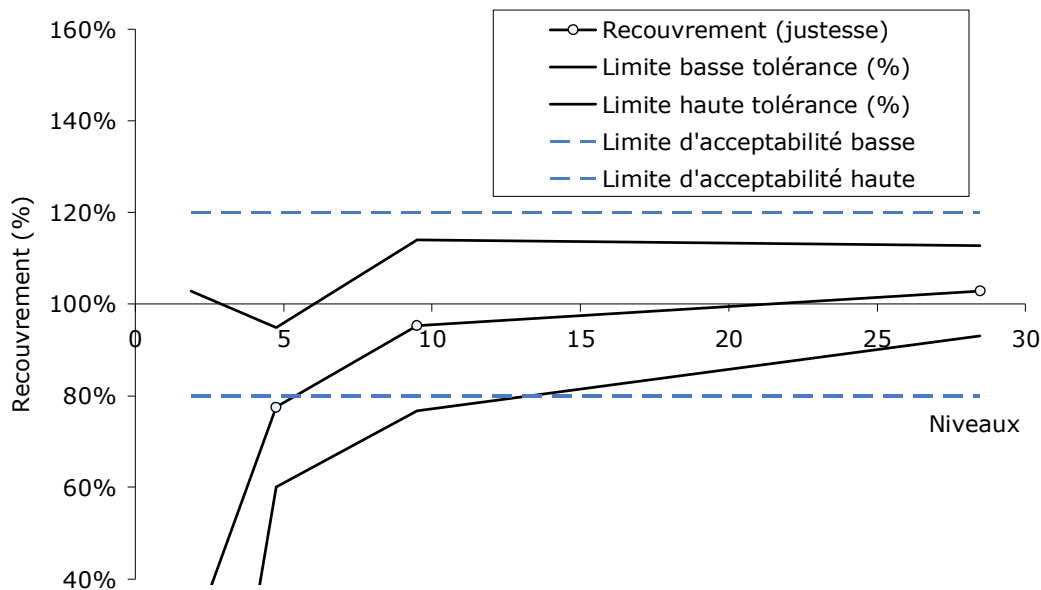


Figure 6 : profil d'exactitude pour le pyrène en appliquant un facteur de correction (1,5) aux concentrations de validation ($\lambda = 20\%$ et $\beta = 80\%$). Les échantillons d'étalonnage étaient des étalons de HAP dans l'acétonitrile et n'ont pas subi le protocole d'extraction.

2.2 Autre exemple de résultats : le benzo(k)fluoranthène

Pour le benzo(k)fluoranthène (**figure 7a**), la méthode présente un biais (effet matrice) qui est plus important que dans le cas du pyrène (car celui-ci est plus apolaire que le pyrène et présente de plus fortes interactions avec la matière organique dissoute de l'eau de pluie). Après application d'un facteur de correction (**figure 7b**), le biais est corrigé pour les teneurs entre 8 et 18 ng/L, mais il subsiste un biais qui s'accroît quand la concentration diminue. La méthode non corrigée est assez fidèle (**figure 7a**), mais après application du facteur de correction (figure 7b), les intervalles de tolérance s'élargissent considérablement. Ce qui est normal puisque le facteur de correction est supérieur à 1 et a pour effet d'augmenter les écarts-types.

Après application du facteur de correction, la limite haute de tolérance dépasse la limite haute d'acceptabilité à 17,5 ng/l, ce qui correspond à la limite basse de quantification. Sachant que les teneurs en benzo(k)fluoranthène dans les échantillons d'eau de pluie sont généralement inférieures à cette valeur, la méthode n'est donc pas validée pour réaliser les analyses de ce composé.

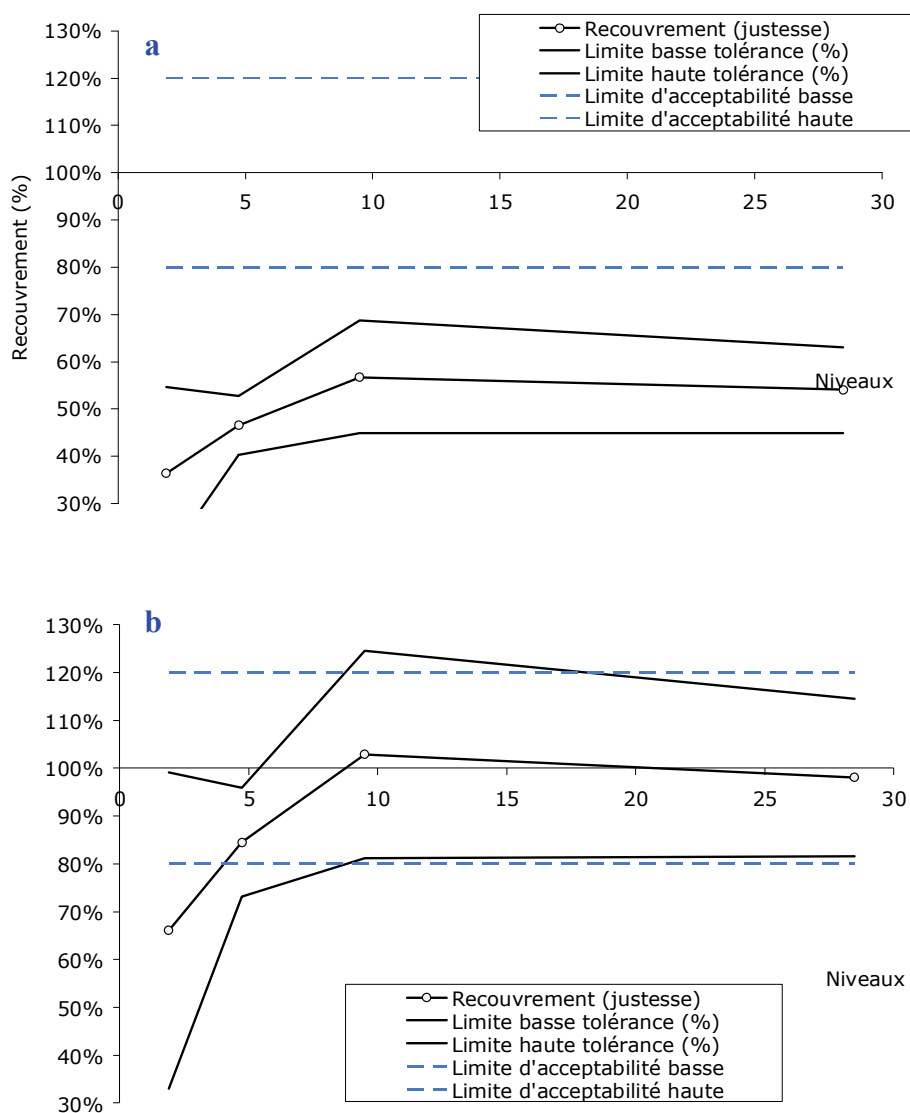


Figure 7 : profils d'exactitude pour le benzo(k)fluoranthène pour $\lambda=20\%$ et $\beta=80\%$, modèle d'étalonnage : droite
 (a) tracé à partir des valeurs des plans d'expériences d'étalonnage et de validation
 (b) après application d'un facteur de correction (1,81)

Pour que la méthode soit validée, le facteur β pourrait être diminué (70 % par exemple, **figure 8**) ; dans ce cas, le risque moyen d'avoir un résultat qui ne sera plus acceptable serait augmenté et il est peu raisonnable d'augmenter ce risque (on choisit en général un β d'au minimum 80 %).

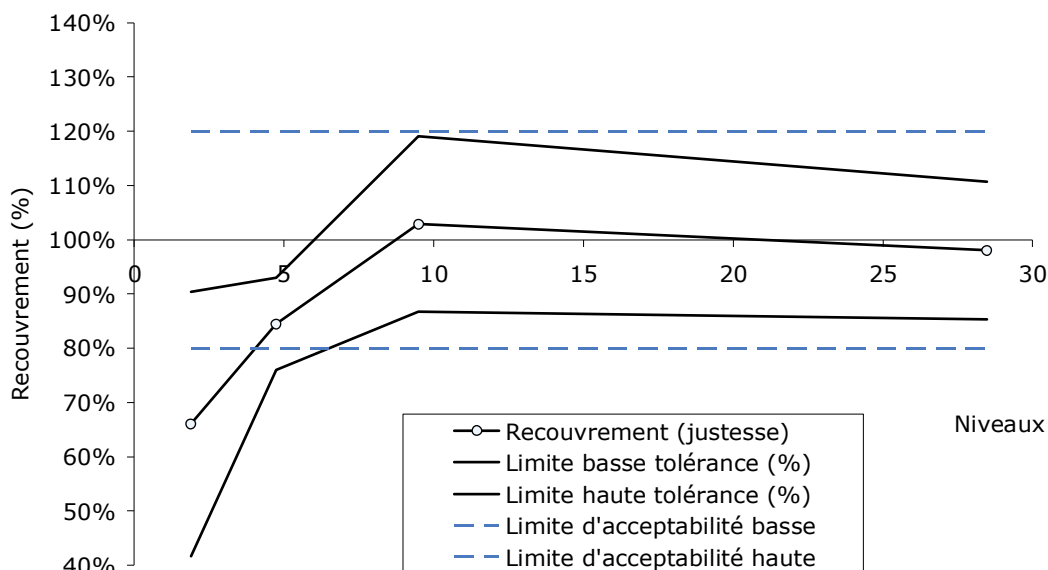


Figure 8 : profil d'exactitude pour le benzo(k)fluoranthène pour $\lambda = 20\%$ et $\beta = 70\%$, avec facteur de correction (1,81)

En revanche, **augmenter la limite d'acceptabilité λ à 25 %** (avec $\beta = 80\%$) (**figure 9**) permet de valider la méthode sur un domaine plus large (entre 6 et 28,5 ng/l), tout en conservant un risque acceptable. Augmenter λ de 20 à 25% signifie que pour une teneur de 10 ng/l, le résultat sera compris au maximum entre 7,5 et 12,5 ng/l (au lieu de 8 à 12 ng/l). Ceci reste acceptable pour l'utilisation des résultats qu'il est prévu de faire. À la limite de quantification basse (6 ng/l), le biais est de 10%. Il devient inférieur à 3% entre 8 et 28 ng/l.

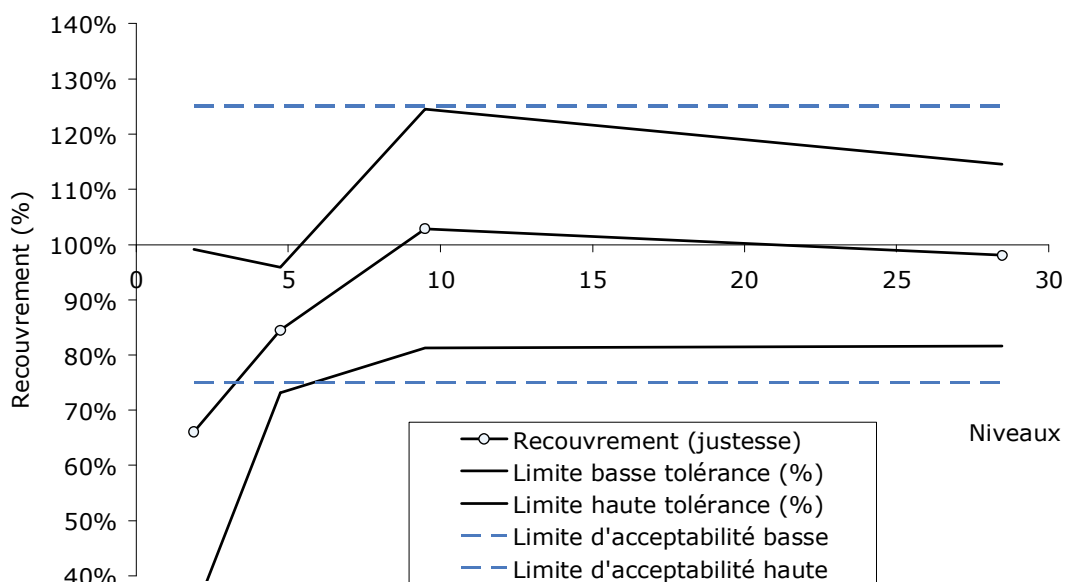


Figure 9 : profil d'exactitude pour le benzo(k)fluoranthène pour $\lambda = 25\%$ et $\beta = 80\%$, avec facteur de correction (1,81)

D'autres profils d'exactitude ont été tracés avec différents modèles d'étalonnages (pondérés ou non). Il s'avère que le modèle linéaire donne le profil (**figure 9**) le plus adapté aux objectifs de la méthode (intervalle de tolérance le plus étroit, meilleure justesse, limite de quantification la plus basse).

Comme dans le cas du pyrène, nous avons tracé le profil d'exactitude en utilisant des échantillons d'étalonnage dans l'acétonitrile (ne subissant pas le protocole d'extraction) (**figure 10**), et après application d'un facteur de correction (2,45). La figure 10 est à comparer avec la figure 7b, où les échantillons d'étalonnage ont subi l'intégralité du protocole extraction-analyse.

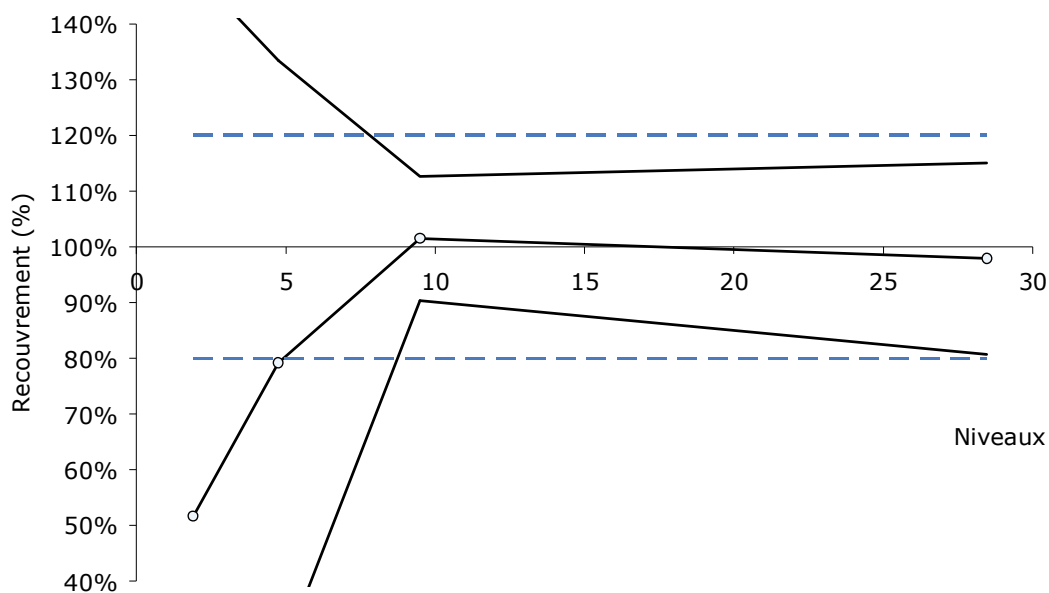


Figure 10 : profil d'exactitude pour le benzo(k)fluoranthène pour $\lambda = 20\%$ et $\beta = 80\%$, après application d'un facteur de correction (2,45)

La méthode est juste entre 8 et 28 ng/l (biais inférieur à 5 %), comme c'était le cas figure 7b. En revanche, figure 10, l'intervalle de tolérance se situe à l'intérieur des limites d'acceptabilité entre 8,8 et 28 ng/l. Le domaine de validité de la méthode ainsi défini, avec $\lambda = 20\%$ et $\beta = 80\%$, est plus étendu que celui du profil d'exactitude figure 7b. Pour valider la méthode en utilisant des étalons qui subissent le protocole d'extraction, nous avons été contraints d'augmenter λ à 25 % (**figure 9**), mais le domaine de validité était plus étendu (entre 6 et 28 ng/l). Dans le cas du benzo(k)fluoranthène, le choix de la méthode d'étalonnage est à orienter en fonction des besoins scientifiques : domaine de validité étendu et $\lambda = 25\%$ (ce que nous avons choisi) ou domaine de validité plus restreint (limite basse de quantification plus élevée) et $\lambda = 20\%$.

Conclusion

Nous avons réalisé un total de 47 essais pour essayer de valider la méthode d'analyse de 15 HAP contenus dans de l'eau de pluie selon la méthode du profil d'exactitude. Les expériences ont été réalisées avec le mélange des 15 HAP (méthode multi-analytes), mais les résultats ont été traités individuellement pour chaque HAP.

L'étendue du domaine de validation varie selon les HAP. Pour la plupart des HAP, il est nécessaire d'appliquer un facteur de correction afin de corriger le biais (effet matrice) et de valider la méthode. Pour certains HAP, nous avons choisi d'augmenter la limite d'acceptabilité λ à 25 % (au lieu de 20 %) afin de valider la méthode sur un domaine de concentration plus large (mais toujours compris entre les niveaux bas et haut des échantillons de validation, l'extrapolation hors du domaine testé étant proscrite).

Outre l'intérêt pour la validation de la méthode, le profil d'exactitude est également un outil diagnostique pour déterminer les points faibles de la méthode et également pour choisir judicieusement les contrôles qualité qui seront employés en routine. Le tracé des profils d'exactitude pour des modèles d'étalonnages variés, pondérés ou non, permet de déterminer le modèle d'étalonnage qui donnera le profil le plus en adéquation avec les objectifs scientifiques. De même, le tracé des profils d'exactitude en prenant des échantillons d'étalonnage qui subissent ou non le protocole d'extraction permet de déterminer la procédure d'étalonnage qui valide la méthode.

Bibliographie

- Azimi S., Rocher V., Muller M., Moilleron R., Thevenot D. (2005) Source, distribution and variability of hydrocarbons and metals in atmospheric deposition in an urban area (Paris, France). *Sci. Total Environ.* 337:223-239
- Bourdat-Deschamps M., Daudin J.-J., Barriuso E. (2007) An experimental design approach to optimize the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons from rainfall water using stir bar sorptive extraction and high performance liquid chromatography – fluorescence. *J. Chromatogr. A.* 1167 :143-153
- Feinberg M. (2010^b) Mise en œuvre du profil d'exactitude *in* Validation des méthodes d'analyse quantitatives physico-chimiques par le profil d'exactitude. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*, numéro spécial : 27-44