

HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP)

Substances mesurables

Nom	Formule brute	Masse molaire	N° CAS
Pyrène	C ₁₆ H ₁₀	202,26	129-00-0
Benzo(a)anthracène, B(a)A	C ₁₈ H ₁₂	228,29	56-55-3
Benzo(b)fluoranthène, B(b)F	C ₂₀ H ₁₂	252,32	205-99-2
Benzo(k)fluoranthène, B(k)F	C ₂₀ H ₁₂	252,32	207-08-9
Benzo(a)pyrène, B(a)P	C ₂₀ H ₁₂	252,32	50-32-8
Dibenzo(ah)anthracène, dB(ah)A	C ₂₂ H ₁₄	278,35	53-70-3
Benzo(ghi)pérylène, B(ghi)P	C ₂₂ H ₁₂	276,34	191-24-2
Indéno(1, 2, 3-cd)pyrène, IP	C ₂₂ H ₁₂	276,34	193-39-5

Valeur(s) limite(s) de moyenne d'exposition (VME) : valeur recommandée par la CNAM : 150 ng/m³ en benzo(a)pyrène (produit utilisé comme traceur).

Domaine d'application

Cette méthode s'applique aux hydrocarbures aromatiques polycycliques sous forme particulaire. Toutefois, le cas du pyrène peut également être traité par cette méthode et un dispositif de prélèvement est proposé pour le dosage des HAP sous toutes leurs formes (particulaires et volatils) en [annexe 4](#) et [annexe 5](#).

Note

Pour un volume de prélèvement de 240 L d'air, le seuil de quantification est généralement inférieur à 15 ng/m³.

PRÉLÈVEMENT

Échantillonneur

Cassette porte-filtre de Ø 37 mm contenant un filtre en fibre de verre ou de quartz.

Conditions usuelles d'utilisation

Débits :

- 1 L/min pour déterminer la fraction inhalable (cassette fermée),
- 2 L/min pour déterminer la fraction maximale collectée (cassette ouverte) pour des prélèvements d'ambiance.

Volumes minimums recommandés :
240-480 L.

Un prélèvement à 25 L/min est possible pour des prélèvements d'ambiance et dans un objectif autre que celui de comparaison à une valeur limite (par exemple, pour une étude de ventilation). Dans ce cas, il ne s'agit plus d'évaluation de l'exposition professionnelle.

Conservation (après prélèvement)

La mise en solution doit être pratiquée moins d'une semaine après l'échantillonnage. Les solutions peuvent être conservées à l'abri de la lumière et entre 0°C et 5°C pendant un maximum de 15 jours avant l'analyse (norme NF X 43-294).

Précautions particulières

Durant le transport, protéger les cassettes et les tubes de la lumière, de la chaleur et éviter le stockage à proximité de solvants.

ANALYSE

Méthode

Chromatographie liquide haute performance, détection par UV et/ou fluorescence.

Désorption

Les HAP piégés sur le filtre sont désorbés en général au dichlorométhane à l'appareil de soxhlet ou aux ultrasons.

Les HAP retenus sur les parois internes des cassettes sont récupérés par rinçage au méthanol.

Colonne HPLC

Phase de silice greffée C18.

Éluant

Méthanol, acétonitrile, dichlorométhane, cyclohexane,... en fonction de la colonne utilisée.

Débit d'éluant

De l'ordre de 1 mL/min.

Volume injecté

De l'ordre de 5 à 20 µL.

Étalonnage

Externe avec des étalons commerciaux de HAP.

INTERFÉRENCES

Elles sont essentiellement liées à la présence de fumées de tabac dans l'air des lieux de travail.

MATÉRIEL DE PRÉLÈVEMENT

- Pompe de prélèvement individuel capable d'assurer un débit régulé de 1 ou 2 L/min ($\pm 5\%$) ou appareil de prélèvement capable d'assurer un débit de 25 L/min.
- Cassette porte-filtre \varnothing 37 mm contenant un filtre en fibre de quartz ou en fibre de verre.
- Tuyaux souples de connexion pompe-échantillonneur.
- Débitmètre.

MATÉRIEL ANALYTIQUE

- Cuve à ultrasons.
- Appareil de Soxhlet.
- Flacons de désorption.
- Évaporateur rotatif et pompe à vide.
- Chromatographe liquide comportant :
 - un système d'injection (vanne) et d'échantillonnage (boucle d'injection de 5, 10 ou 20 μ L),
 - une pompe,
 - un détecteur UV à longueurs d'ondes variables,
 - un détecteur à fluorescence à longueurs d'ondes d'excitation et d'émission variables,
 - un enregistreur ou un intégrateur et, si possible, un calculateur.
- Sorbonne.
- Colonne analytique remplie de phase silice greffée octadécyle C18.
- Cartouches "silice" pour traitement d'échantillons.
- Système de filtration :
 - seringues, béchers, cristallisoirs, etc.
 - flacons équipés de vanne Mininert®.
- Gants de protection en latex.

RÉACTIFS ET GAZ (qualité analytique)

- Méthanol.
- Acétonitrile.
- Dichlorométhane.
- Toluène.
- Hexane.
- Solutions étalons (utiliser de préférence des HAP certifiés en produits purs ou en mélange).
- Eau déionisée.

GAZ

- Hélium pour le dégazage des éluants.
- Azote pour l'évaporation des échantillons.

PRÉCAUTIONS PARTICULIÈRES

- Certains HAP étant cancérigènes, éviter autant que possible la manipulation de produits purs solides, susceptibles de passer dans l'atmosphère, et donc d'être inhalés ou fixés sur les surfaces environnantes (utiliser de préférence les solutions étalons prêtes à l'emploi).
- Toute manipulation de produits purs ou en solution nécessite le port de gants de protection : en cas de manipulation de HAP à l'état de poudre, il est recommandé d'utiliser des gants à jeter en coton afin d'éviter la dispersion de la poudre par effet électrostatique ; pour les HAP en solution, il est recommandé d'utiliser des gants en latex à jeter dès contamination, de préférence aux gants vinyle.
- L'élimination de déchets contenant des HAP doit se faire soit par recours à un organisme spécialisé, soit par destruction chimique effectuée directement au laboratoire. Dans le second cas, se référer aux méthodes recommandées par le Centre International de Recherche sur le Cancer (I.A.R.C.) décrites dans "Laboratory Decontamination and Destruction of Carcinogens in Laboratory Wastes - Some Polycyclic Hydrocarbons" I.A.R.C. Scientific Publications n° 49 - 1983.
- Tous les solvants mis en œuvre doivent être manipulés sous une sorbonne.

TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

- Conserver les filtres et les tubes ayant été utilisés lors des prélèvements à l'abri de la lumière et de la chaleur afin de minimiser les pertes de HAP.
- Rincer toute la vaisselle, après lavage normal, au dichlorométhane.
- Effectuer l'extraction des filtres au dichlorométhane, excepté dans les cas où la matrice nécessite un solvant particulier ; pour le déterminer, réaliser des essais d'optimisation sur des échantillons massifs d'accompagnement.
- Conserver au froid (réfrigérateur entre 0 et 5°C ou congélateur, si possible) les extraits organiques obtenus après mise en solution.

EXTRACTION DU FILTRE

Deux types d'extraction sont possibles : soit à l'appareil de Soxhlet, soit aux ultrasons.

Extraction à l'appareil de Soxhlet

- Placer le filtre dans le Soxhlet, ainsi qu'une quantité adaptée de solvant dans le ballon d'extraction.
- Régler le thermostat du système de chauffage afin d'obtenir des cycles de rotation de solvant d'un quart d'heure environ.
- Pratiquer l'extraction pendant une durée de 8 h.
- Concentrer l'extrait par évaporation dans un évaporateur rotatif sous vide à une température ne dépassant pas 35-40°C (au-delà, il y a risque de dégradation des HAP). Récupérer l'échantillon avant totale évaporation (culot de 0,5 mL environ) et effectuer un dernier rinçage au dichlorométhane.
- Évaporer sous une sorbonne, puis récupérer l'échantillon par un volume connu (0,5 mL, voire plus suivant pollution) d'un solvant adapté à la nature de l'éluant et de la colonne choisie pour effectuer l'analyse (cf. [annexe 1](#)).

Extraction aux ultrasons

- Extraire le filtre avec au moins 5 mL de solvant (la quantité de solvant sera proportionnelle à la taille et à la charge relative du filtre) pendant 1/4 d'heure dans une cuve à ultrasons.
- Répéter cette opération pour optimiser l'extraction.
- Concentrer l'extrait obtenu par évaporation naturelle ou forcée (courant d'azote, générateur d'air froid...) puis reprendre l'extrait par un volume connu (0,5 mL, voire plus suivant pollution) de solvant adapté (cf. [annexe 1](#)).

RINÇAGE DES PAROIS INTERNES DES CASSETTES

- Dans certains cas, les dépôts sur les parois représentent une proportion importante de la fraction collectée sur le filtre. Ils font partie de la fraction considérée comme inhalable et sont systématiquement pris en compte.
- Introduire 1 à 5 mL de méthanol par l'orifice de la cassette. Remettre en place le bouchon.
- Agiter mécaniquement puis soumettre à l'action des ultrasons. Injecter dans la colonne analytique une quantité aliquote de la solution filtrée.
- Si la solution est trop diluée :
 - transvaser dans un flacon en verre,
 - effectuer un rinçage de la cassette,
 - évaporer sous courant d'azote ou d'hélium.
- L'extrait est ensuite repris par un volume connu de solvant adapté à la nature de l'éluant et de la colonne choisie pour effectuer l'analyse. Cette solution est analysée indépendamment de l'extrait du filtre.

TRAITEMENT DES EXTRAITS

Le traitement proposé ci-après permet d'éliminer certains composés qui peuvent interférer avec les HAP.

- Reprendre les solutions d'extraction des filtres par environ 1 mL d'un mélange 50/50 hexane/dichlorométhane, puis l'introduire à l'aide d'une seringue en tête d'une micro-colonne de silice prête à l'emploi (modèle "1 mL"), préconditionnée.
- A l'aide d'une seringue ou par soutirage sous vide, éluer les HAP par 5 mL d'un mélange à volumes égaux de n-hexane et de dichlorométhane.
- Laisser évaporer la solution sous une sorbonne, comme précédemment, puis récupérer par un volume connu du solvant retenu (cf. [annexe 1](#)).

Réaliser une filtration :

- soit à partir des solutions d'extraction des filtres, avant concentration, sur filtre en fibre de verre (\varnothing 25 mm),
- soit à partir de la solution qui sera directement injectée dans une seringue de filtration sur filtre PTFE de porosité 0,45 μ m.

Remarque

Traiter les témoins de la même façon.

ANALYSE

CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES

- Colonne chromatographique de silice greffée "C18" (cf. [annexe 1](#)).
- Volume de la boucle d'injection : de l'ordre de 5 à 20 μ L.
- Éluant : à optimiser en fonction du type de colonne choisie (cf. [annexe 1](#)).
- Débit de l'éluant : environ 1mL/min (à optimiser, si besoin).
- Longueurs d'onde optimales pour l'absorption UV : 254 ou 284 nm, voire 296 pour le dosage du dB(ah)A (cf. [annexe 2](#) et [annexe 3](#)).
- Longueurs d'ondes optimales pour la fluorescence, en fonction des HAP à détecter :
 - excitation 365 nm et émission 420 nm ; dosage du B(a)A, B(a)P, B(b)F, B(k)F et du B(ghi)P,
 - excitation 296 nm et émission 405 nm ; dosage du B(b)F, B(a)P, dB(ah)A, B(k)F et du B(ghi)P,
 - excitation 300 nm et émission 500 nm ; dosage du B(b)F, B(k)F et de l'IP,
 - excitation 335 nm et émission 385 nm ; dosage du pyrène.

ÉTALONNAGE

- Préparer les solutions étalon à partir d'une solution mère, achetée dans le commerce, et comportant les différents HAP en mélange à des concentrations connues (elles devront être conservées au réfrigérateur).

Exemple de gamme : de 0,5 à 5,0 μ g/mL pour une boucle de 5 μ L.

- En injecter une quantité aliquote connue sur la colonne chromatographique.
- Identifier les différents HAP à l'aide de leur temps de rétention et tracer, si nécessaire, les courbes d'étalonnage correspondant à chacun d'entre eux.

DOSAGE

- Injecter ensuite les témoins et les échantillons suivant les mêmes conditions analytiques.
- Repérer, grâce à leur temps de rétention, les HAP à doser et les estimer à partir des courbes d'étalonnages déjà établies.
- Si les concentrations en HAP obtenues pour les échantillons "sortent" de la gamme d'étalonnage, procéder aux dilutions nécessaires et injecter de nouveau.

Des exemples de conditions d'analyses sont donnés dans l'[annexe 1](#) et des exemples de chromatogrammes en [annexe 2](#) et [annexe 3](#).

EXPRESSION DES RÉSULTATS

CAS DES FILTRES

La concentration, dans les extraits, de chaque HAP est déterminée sur la courbe d'étalonnage.

La concentration atmosphérique correspondant au polluant sous forme particulaire piégé sur le filtre, Cf (en ng/m³), est calculée à partir de la formule suivante :

$$C_f = (C_x - C_b) \times v \times \frac{1000}{V}$$

avec : C_x (ng/mL) : concentration de chaque HAP dans l'extrait injecté

C_b (ng/mL) : concentration moyenne de chaque HAP dans les filtres servant de témoins

V (L) : volume d'échantillon d'air prélevé

v (mL) : volume de solvant utilisé pour dissoudre l'extrait

RINÇAGE DES PAROIS

La concentration de chaque HAP, dans les solutions de rinçage des parois de cassettes, est déterminée sur la courbe d'étalonnage.

La concentration atmosphérique correspondant au polluant sous forme particulaire déposé sur les parois, Cp (en ng/m³), est calculée à partir de la formule suivante :

$$C_p = (C_x - C_b) \times v \times \frac{1000}{V}$$

avec : C_x (ng/mL) : concentration de chaque HAP dans la solution de rinçage des parois

C_b (ng/mL) : concentration moyenne de chaque HAP sur les parois des cassettes servant de témoins

V (L) : volume d'échantillon d'air prélevé

v (mL) : volume de solvant utilisé pour la solution de rinçage des parois

Dans le cas du dosage de B(a)P, la concentration totale mesurée dans l'air correspondra à la somme Cf + Cp.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] NF X 43-025. Octobre 1988. Qualité de l'air - Air ambiant. Détermination des hydrocarbures polycycliques aromatiques. Paris-La-Défense, AFNOR, 1988, 18 p.
- [2] NF X 43-294. Juin 1995. Air des lieux de travail - Échantillonnage et analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Paris-La-Défense, AFNOR, 1995, 18 p.

ANNEXE 1 EXEMPLES DE CONDITIONS ANALYTIQUES

Colonnes	Éluants	Gradients
VYDAC 201 TPB5 25 cm	CH ₃ OH	100 % (isocratique)
VYDAC 201 TPB5 25 cm	CH ₃ CN/H ₂ O	de 40 à 100 % CH ₃ CN en 1 heure
VYDAC 201 TP5 25 cm	CH ₃ CN/H ₂ O	de 45 à 100 % CH ₃ CN en 30 min
VYDAC 201 TP5 25 cm	CH ₃ CN/H ₂ O	85 % CH ₃ CN - 15 % H ₂ O (isocratique)
SUPERSPHER 100 RP 18	CH ₃ CN/CH ₃ OH/H ₂ O	87 % (CH ₃ CN 90 % - CH ₃ OH 10%) 13 % H ₂ O
CHROMSPHER PAH 20 cm	CH ₃ CN/H ₂ O	85 % CH ₃ CN - 15 % H ₂ O (isocratique)
T.C.P.P. SCHANDON	CH ₂ Cl ₂ /C ₆ H ₁₂	40 % CH ₂ Cl ₂ - 60 % C ₆ H ₁₂ (isocratique) ou de 20 % CH ₂ Cl ₂ - 80 % C ₆ H ₁₂ à 60 % CH ₂ Cl ₂ - 40 % C ₆ H ₁₂ en 20 min
CHROMSPHER 3PHA	CH ₃ OH/H ₂ O	86% à 100% CH ₃ OH en 17 min

Remarque

Les échantillons sont mis en solution :

- soit dans du cyclohexane, de l'acétonitrile, un mélange dichlorométhane/méthanol ou un mélange toluène/méthanol quand l'éluant utilisé est du méthanol (100 % ou MeOH/H₂O),
- soit dans de l'acétonitrile quand l'éluant en contient.

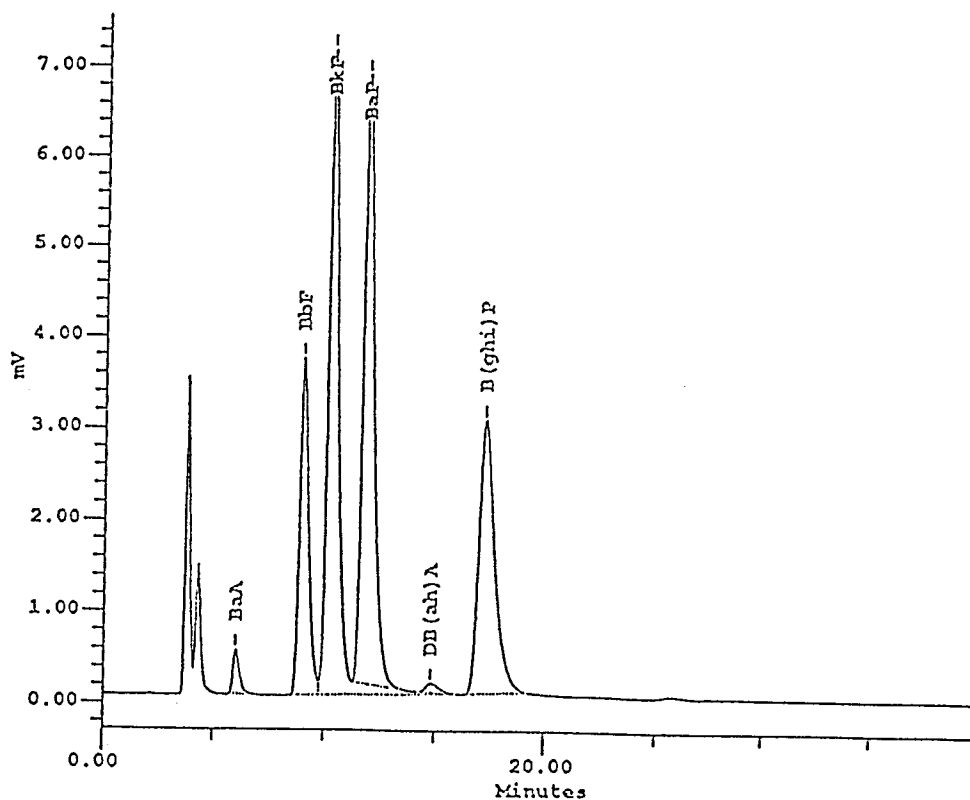
ANNEXE 2 EXEMPLE DE CHROMATOGRAMME

CONDITIONS D'ANALYSE

Colonne : Partisil C18.

Éluant : méthanol.

Fluorescence, longueur d'onde excitation : 365 nm, émission : 420 nm.



Substances	Temps de rétention (min)	Surface	Hauteur	Concentration (ng/μL)
BaA	6,033	10 422	499	1,000
BbF	9,017	101 599	3 686	2,000
BkF	10,267	240 123	7 105	1,000
BaP	11,883	228 859	6 708	1,000
DB(ah)A	14,833	4 465	104	2,000
B(ghi)P	17,250	147 949	2 995	2,000

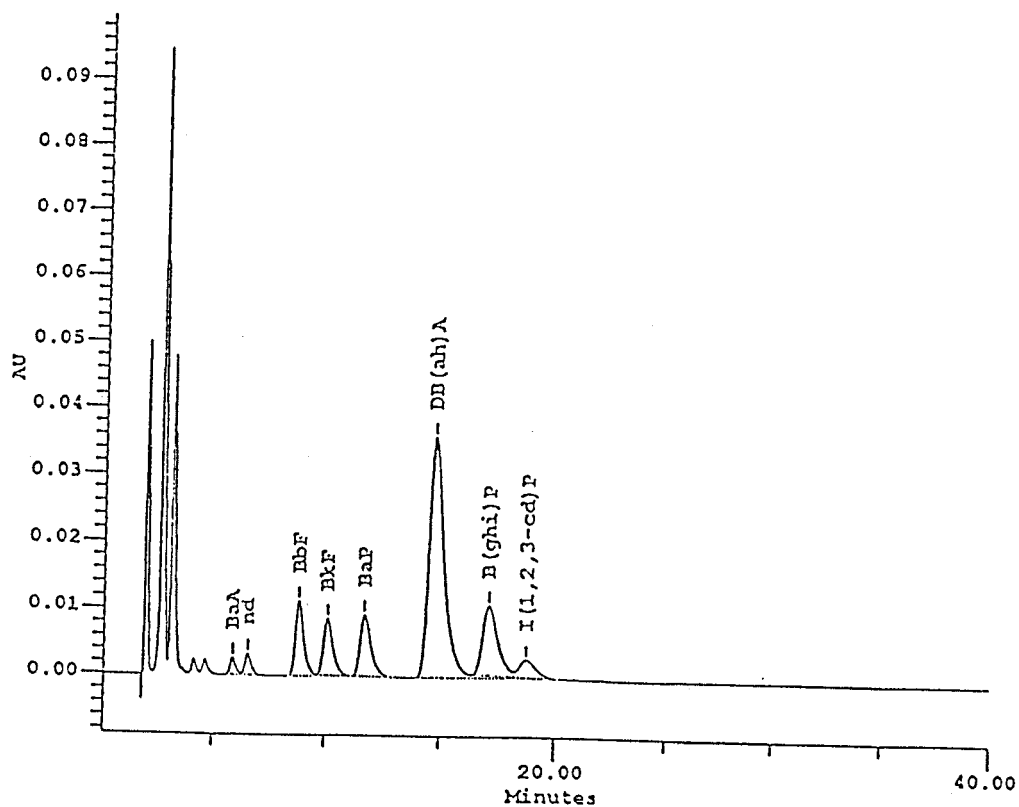
ANNEXE 3 EXEMPLE DE CHROMATOGRAMME

CONDITIONS D'ANALYSE

Colonne : Partisil C18.

Éluant : méthanol.

Absorption UV, longueur d'onde 296 nm.



Substances	Temps de rétention (min)	Surface	Hauteur	Concentration (ng/μL)
BaA	5,880	47 280	2 692	1,000
BbF	8,655	324 796	11 404	2,000
BkF	10,105	244 903	8 619	1,000
BaP	11,713	302 481	9 361	1,000
DB(ah)A	14,713	1 666 578	36 250	2,000
B(ghi)P	17,080	481 881	10 592	2,000
I(1,2,3-cd)P	18,730	339 408	2 730	1,000

ANNEXE 4 DOSAGE DES HAP SOUS TOUTES LEURS FORMES (HAP PARTICULAIRES ET VOLATILS)

Une méthode identique à celle décrite dans la fiche est utilisable pour le dosage des HAP sous toutes leurs formes (HAP particulaires et volatils), qui permettra en particulier de traiter le cas du pyrène ($C_{16}H_{10}$, $M = 202,26$, CAS = 129-00-0).

Modifications apportées à la méthode

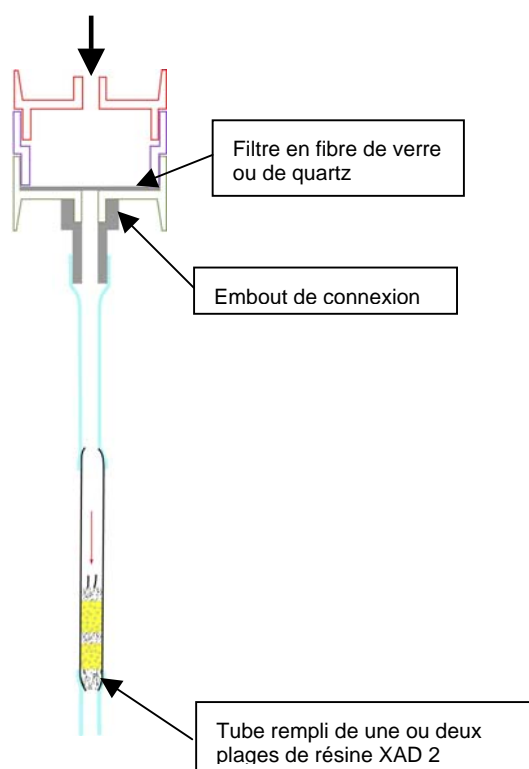
Échantillonneur

Ensemble constitué successivement (voir schéma de montage) :

- pour les HAP sous forme particulaire, d'une cassette porte-filtre de \varnothing 37 mm contenant un filtre en fibre de verre ou de quartz,
- pour les HAP volatils, d'un tube en verre, longueur 50 mm, \varnothing intérieur 10 mm, contenant une plage de 600 mg de résine XAD 2, maintenue par deux tampons en laine de verre,

ou

d'un tube commercial équivalent (référence ORBO n° 43, 2 plages d'adsorbant Supelpak 20U).



Conditions usuelles d'utilisation

Débit :

- 1 L/min pour déterminer la fraction inhalable des HAP particulaires (cassette fermée) et la concentration en HAP volatils (dont le pyrène),
- un débit de 2 L/min est possible dans les cas de très faibles pollutions.

Précautions particulières

Durant le transport, protéger les cassettes et les tubes de la lumière, de la chaleur et éviter le stockage à proximité de solvants.

Désorption

Les HAP piégés sur le tube sont désorbés par au moins 3 mL de toluène.

TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

Conserver les filtres et les tubes ayant été utilisés lors des prélèvements à l'abri de la lumière et de la chaleur afin de minimiser les pertes de HAP.

DÉSORPTION DES TUBES

- Transférer le tampon d'entrée et la première plage de résine dans un flacon de verre et, dans le cas du tube commercial, le tampon intermédiaire et la deuxième plage dans un second flacon de verre.
- Ajouter au moins 3 mL de toluène dans chacun des flacons et fermer hermétiquement. Extraire pendant ¼ d'heure aux ultra-sons.
- Ajouter à chaque désorbat un volume connu de solvant (par exemple 3 mL de méthanol) choisi pour que l'échantillon se retrouve en final dans une solution adaptée à l'analyse (cf. [annexe 1](#) pour le choix de ce solvant).
- Effectuer l'analyse sur le surnageant.

Remarque

Traiter les témoins de la même façon.

ANALYSE

CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES

Longueurs d'ondes optimales de fluorescence, pour le dosage du pyrène :
- excitation 335 nm et émission 385 nm.

EXPRESSION DES RÉSULTATS

CAS DES TUBES

La concentration de chaque HAP, dans les désorbats des tubes, est déterminée sur la courbe d'étalonnage.

La concentration atmosphérique du polluant volatil, C_v (en ng/m^3), est calculée à partir de la formule suivante :

$$C_v = (C_x - C_b) \times v \times \frac{1000}{V}$$

avec : C_x (ng/mL) : concentration de chaque HAP dans le désorbat injecté

C_b (ng/mL) : concentration moyenne de chaque HAP dans les tubes servant de témoins

V (L) : volume d'échantillon d'air prélevé

v (mL) : volume de solvant utilisé pour la solution de désorption du tube

Dans le cas du dosage de pyrène, la concentration totale mesurée dans l'air correspondra à la somme $C_f + C_p + C_v$.

avec : C_f : concentration atmosphérique correspondant au polluant sous forme particulaire piégé sur le filtre

C_p : concentration atmosphérique correspondant au polluant sous forme particulaire déposé sur les parois

C_v : concentration atmosphérique du polluant volatil

ANNEXE 5 EXEMPLE DE CHROMATOGRAMME (CAS DU PYRÈNE)

CONDITIONS D'ANALYSE

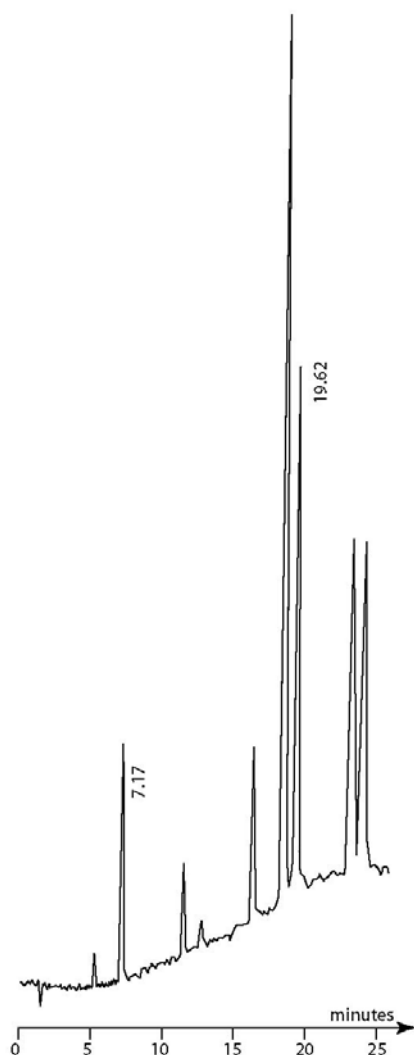
Colonne : CHROMSPHER 3PHA.

Éluant : CH₃OH/H₂O, gradient 86 % à 100% CH₃OH en 17 min.

Fluorescence, longueur d'onde d'excitation : 335 nm, d'émission : 385 nm pendant 8,5 min, puis excitation : 296 nm, émission : 405 nm.

Injection d'une dilution au 1/10 000 dans un mélange CH₂Cl₂/ MeOH (50/50) de la solution étalon EPA 610 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Mix.

Concentrations respectives en pyrène et BaP égales à 10 ng/mL.



Pyrène (temps de rétention = 7,17 min)

BaP (temps de rétention = 19,62 min)

HISTORIQUE

Version	Date	Modification(s) faisant l'objet de la nouvelle version	Paragraphes concernés
011		Création et mise à jour	
011/V01	08/05/2005	Nouvelle présentation Cas des HAP volatils (pyrène) traité en annexe Création de l'historique	Réorganisation de la fiche dans sa totalité
011/V01.01	17/10/2007	Conditions d'utilisation de l'échantillonneur pour le dosage des HAP particuliers et volatils	Annexe 4