

Analyse des alkylphénols et de leurs éthoxylats

M. François DAVID
Responsable Recherche et développements

SGS MULTILAB ROUEN

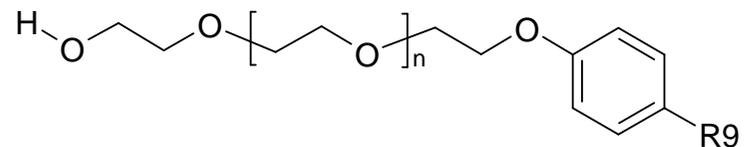
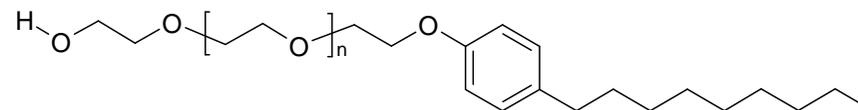
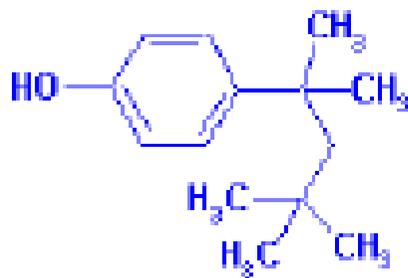
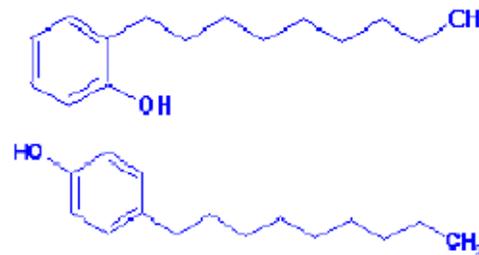
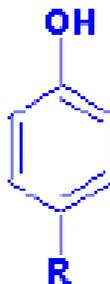
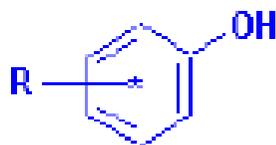
Technopôle du Madrillet
65 rue Ettore Bugatti – BP 90014
76801 Saint Etienne du Rouvray
Tél. : 02 35 07 91 80
Fax : 02 35 07 91 90

WHEN YOU NEED TO BE SURE



- Contexte de la circulaire RSDE
- Méthode développée au laboratoire
 - Choix de la méthode
 - Etapes critiques de la méthode
 - Blanc de manipulation
 - Etape de silylation
 - Interférents
- Cas des dépassements de limites de quantification
- Axes d'amélioration
 - LC/MS-MS
 - Automatisation
- Résultats d'inter calibration
- Conclusions

- Les nonylphénols et leurs éthoxylates sous toutes leur formes :



Contexte de la circulaire RSDE

- Annexe 5.2 : Prescriptions techniques applicables aux opérations de prélèvements et d'analyses (14 juin 2010)

Famille	Substances	Codes CAS	Codes SANDRE ¹	LQ ² à atteindre par substance par les laboratoires prestataires en µg/l Eaux Résiduaires
<i>Alkylphénols</i>	Nonylphénols	25154-52-3 84852-15-3	6598= 1957 ³ + 1958	0.1 pour la somme des deux substances (1957 et 1958)
	NP1OE	26027-38-3 28679-13-2 27986-36-3	6366	0.1* pour l'ensemble des substances
		NP2OE	20427-84-3 27176-93-8 156609-10-8	6369
	Octylphénols		1806-26-4 140-66-9	6600 = 1920 + 1959
	OP1OE	2315-67-5	6370	0.1*
	OP2OE	2315-61-9	6371	0.1*

- Annexe 5 paragraphe 4 : Cas des alkylphénols

Dans le cas des alkylphénols, il est demandé de rechercher simultanément les nonylphénols, les octylphénols ainsi que les deux premiers homologues d'éthoxylates² de nonylphénols (NP1OE et NP2OE) et les deux premiers homologues d'éthoxylates² d'octylphénols (OP1OE et OP2OE). La recherche des éthoxylates peut être effectuée sans surcoût conjointement à celle des nonylphénols et des octylphénols par l'utilisation du projet de norme ISO/DIS 18857-2³.

Contexte de la circulaire RSDE

- Contraintes demandées en fonction des Matières en Suspension (MES)
 - Si les MES sont strictement comprises entre 50mg/l et 250 mg/l, au moins trois extractions successives de l'échantillon brute doivent être réalisées.
 - Si les MES sont supérieures ou égales à 250 mg/l, l'analyse sera réalisée séparément la phase aqueuse et la phase particulaire après filtration ou centrifugation de l'échantillon brut.

- Analyse des alkylphénols accrédité COFRAC

- *Section Laboratoires – Accréditation n°1-0281*



Analyses physico-chimiques des eaux (100-1) :

**EAUX RESIDUAIRES ET EAUX DOUCES
(NATURELLES, DESTINEES A LA CONSOMMATION HUMAINE,
DE PISCINES ET DE BAINADES)**

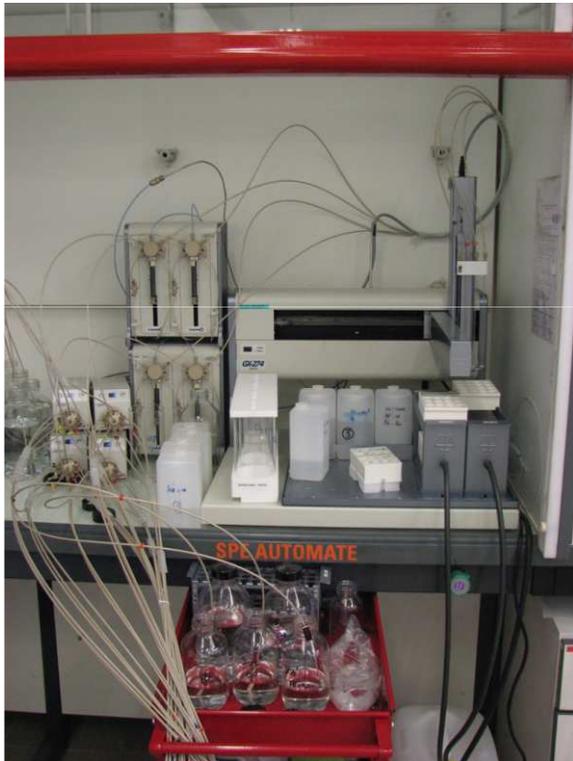
OBJET	CARACTERISTIQUE MESUREE OU RECHERCHEE	PRINCIPE DE LA METHODE	REFERENCE DE LA METHODE	
Eaux résiduares	Alkyls phénols : Octylphénol, octylphénol monoéthoxylate, octylphénol diétholxyltae, nonylphénol, nonylphénol monoéthoxylate, nonylphénol diéthoxylate	Dérivation, extraction SPE et dosage par GC/MS	ISO 18857-2	

Méthode développée au laboratoire

- Choix de la méthode ISO 18 857-2 septembre 2009
 - Indiqué dans les annexes de la circulaire.
 - Méthode dosant tous les alkylphénols, les alkylphénols mono et di-éthoxylates.
 - Donnée pour des échantillons non filtrés, limite donnée pour les MES dans la norme de 500 mg/l (limité à 50 mg/l selon les critères de la circulaire).
 - Domaine de validité de la norme donnée à 0,005 µg/l à 0,2 µg/l pour le 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol (OP), et les composés mono- (OP1EO) et diethoxylate (OP2EO) et 0,03 µg/l à 0,2 µg/l pour les 4-nonylphenol (mélange d'isomères) (NP), et les composés mono-(NP1EO) and diethoxylate (NP2EO).
 - Domaine de validité du laboratoire : de 0,1 µg/l à 1µg/l pour les OP/OP1EO/OP2EO et de 0,1 µg/l à 5µg/l pour les NP/ NP1EO/NP2EO.

Méthode développée au laboratoire

- Choix de la méthode ISO 18 857-2 septembre 2009



- Méthode rapide par rapport aux extractions liquide-liquide
- Méthode utilisant peu de solvants
- Méthode automatisable

Méthode développée au laboratoire

- Choix de la méthode ISO 18 857-2 septembre 2009



- Ajout d'étalon interne marqué au ^{13}C ajouté à l'échantillon:
 - 4 tert Octylphenol (ring $^{13}\text{C}_6$).
 - 4 tert Octylphenol monoethoxylate (ring $^{13}\text{C}_6$).
 - 4 tert Octylphenol diethoxylate (ring $^{13}\text{C}_6$).
 - 4(3,6-dimethyl-3-heptyl)phenol (ring $^{13}\text{C}_6$).
 - 4(3,6-dimethyl-3-heptyl)phenol monoethoxylate (ring $^{13}\text{C}_6$).
 - 4(3,6-dimethyl-3-heptyl)phenol diethoxylate (ring $^{13}\text{C}_6$).
- Silylation au MSTFA et injection en Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Méthode développée au laboratoire

- Choix de la méthode ISO 18 857-2 septembre 2009

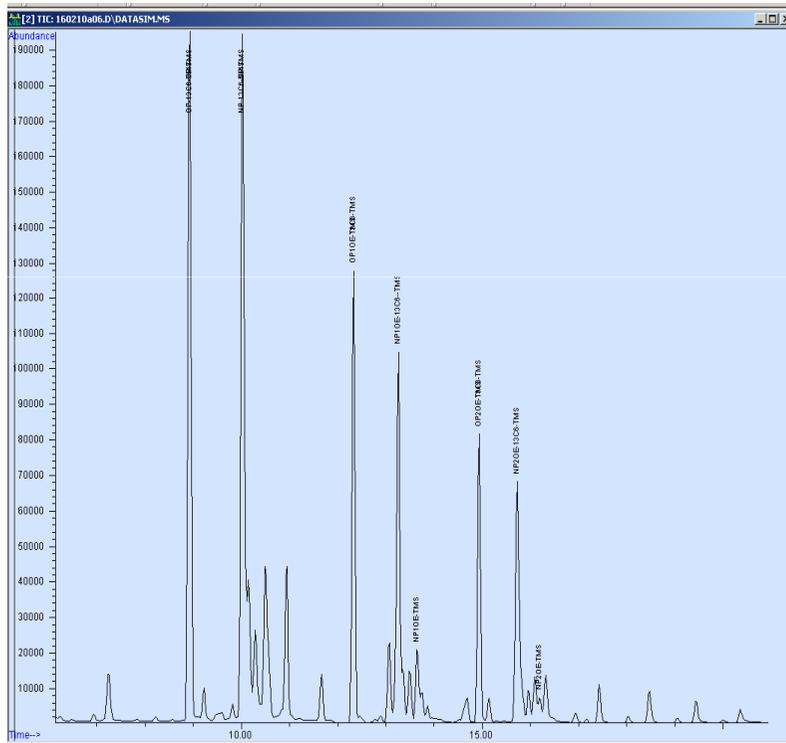
- Quantification sur les ions spécifiques :
 - Pour les analytes :

Composés	OP-TMS	NP-TMS	OP10E-TMS	NP10E-TMS	OP20E-TMS	NP20E-TMS
Acquisition en SIM sur les ions	207	207	251	251	295	295
	208	221	252	265	366	309
	278	193	322	307	296	351

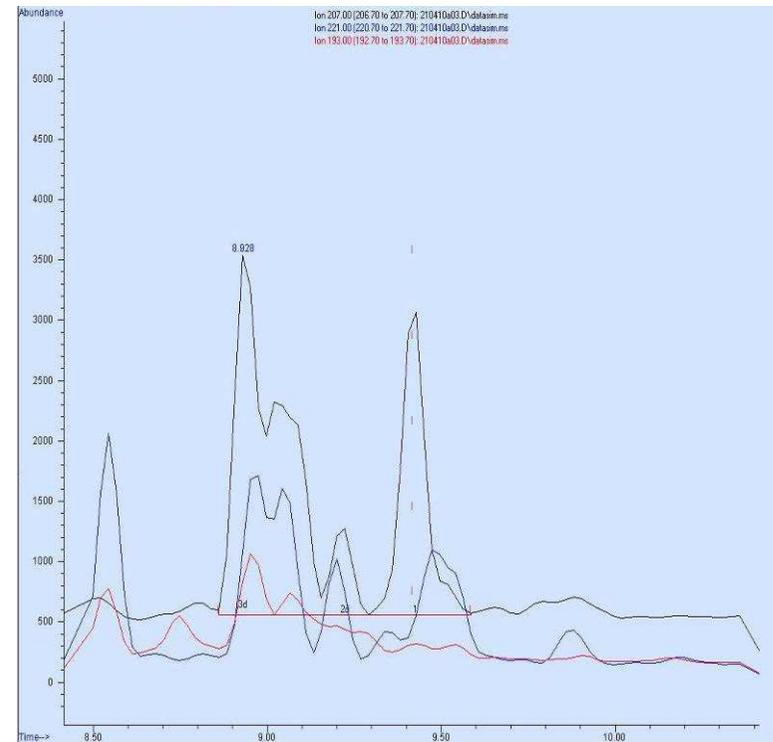
- Pour les étalons internes :

Composés	OP- ¹³ C ₆ - TMS	NP- ¹³ C ₆ - TMS	OP10E- ¹³ C ₆ - TMS	NP10E- ¹³ C ₆ - TMS	OP20E- ¹³ C ₆ - TMS	NP20E- ¹³ C ₆ - TMS
Acquisition en SIM sur les ions	213	227	257	271	301	315
	214	269	328	313	213	357
	284	298	213	342	372	386

- Choix de la méthode ISO 18 857-2 septembre 2009
 - Exemple de chromatogrammes :



Chromatogramme d'un étalon à 100 ng/ml solution étalon pour les octaphénols et 500mg/ml pour les nonylphénols en TIC.



Chromatogramme d'un étalon 5 ng/ml de 4-nonylphénol sur les ions spécifiques.

- Choix de la méthode ISO 18 857-2 septembre 2009
 - Modification apportée à la norme :

	ISO 18857-2	MO-0357	Intérêt
Etalon interne Gamme étalon	Stock solution et working solution pour préparer la gamme	Working solution commerciale prête à l'emploi	Pas de pesée et dilution intermédiaire : impact sur l'incertitude et erreurs potentielles
Rinçage SPE	H ₂ O acidifiée	H ₂ O milliQ	Modification de la norme car élution de l'acide avec l'acétone et destruction des colonnes GC
Séchage cartouche	Séchage N ₂ 500 mL /min pdt 1 H	Séchage N ₂ 1,5 bar + pompe pdt 45 minutes	Séchage renforcé (Etape critique de la manipulation car l'eau épuise le réactif (MFTFA))
Elution	1 mL d'acétone : équilibrage 10 min puis élution 1x5 mL d'acétone	6 mL d'acétone pour équilibrage, robinet fermé jusqu'à imprégnation totale de la colonne et ouverture pour élution	Meilleur équilibrage et adaptation aux 500 mg de phase (les 1mL d'équilibrage de la norme sont pour des cartouches de 200mg)

Méthode développée au laboratoire

- Etapes critiques de la méthode : Blanc de manipulation

- Blanc de manipulation

- De façon générale, il y a possibilité de pollution aux alkylphénols dès qu'il y a des plastiques. Plus ils sont souples et plus la probabilité de pollution est grande surtout aux teneurs que nous recherchons.
- De nombreuses publications ont déjà annoncés des teneurs trouvés dans divers matériaux et produits chimiques.
- Nous citerons pour exemple quelques résultats d'une publication de M. A Fernandes, C Charlton and M Rose, « REPORT FD 04/17: Method development for the analysis of nonylphenol in different types of food packaging », Central Science Laboratory (DEFRA), Sand Hurton, YORK, North Yorkshire

■ Etapes critiques de la méthode

Table 4: Testing the developed method analysis with some samples of packaging.

Material Type	Sub-Type	Sample type	Concentration µg/g	Recovery (%)
Polyolefins and co-polymers	PE (HDPE)	Dairy drink container	< 0.026	102
	hard PP	Baby first years cup	0.049	100
	PE (LDPE)	Clingfilm (non-PVC)	0.061	102
	clear PP	Snack pots	0.049	95
Polystyrene and co-polymers	HIPS	Fish trays, Hard PS film	265	80
	EPS	Fish trays, Expanded PS	0.073	48
	PS buta co-poly	Ice-tray (butadiene co-polymer)	64.2*	112*
	PS buta co-poly	Filter coffee holders	duplicate	72
Polyesters and co-polymers	hard PET	Water container	< 0.026	53
	film PET	Roasting bag	< 0.026	50
	PEN	not available		
Chlorinated polymers and co-polymers	PVC film	All purpose clingfilm	287	107
	PVdC	Hard pvc	< 0.026	85
	Vinyl Acetate	Bread bag	1.423*	177*
	Vinyl Acetate	Wine stopper	duplicate	60
Polyamides	Nylon	Fish container	0.108	73
	Nylon	Roasting bag	duplicate	93
Polycarbonate	PC	Baby feeding bottle	0.311	88
Cellulose and cellulose esters	RCF	Fudge wrapper	0.094	50
	RCF	Cough sweet wrapper	duplicate	95
Thermoset phenolic polymers	MF	Melamine	< 0.026	71
	PF	not available		
Rubbers	rubber latex	Baby natural latex teats	0.394	73
	synthetic r	Wine stopper	duplicate	98
	synthetic r	Silicone teats	0.062	82
Papers	paper	Greaseproof paper,	0.04	98
	coated paper	Paper coffee cup	0.037	98

* Estimated value due to co-extracted interference on ¹³C internal standard. Likely to be underestimate.

- Etapes critiques de la méthode : Blanc de manipulation
 - Nécessité de suivre tous les réactifs, la verrerie et les systèmes d'analyses.
 - Un blanc de manipulation qui reprend toute la manipulation pour chaque série d'analyses (1 tous les 11 analyses).
 - Un blanc de réactif reprenant la manipulation à partir de la silylation.
 - Un blanc de solvant entre chaque injection d'échantillon afin de contrôler la chaîne de mesure.
 - Les blancs doivent être inférieurs à la limite de quantification.
 - Les blancs de manipulation sont corrigés du résultat.

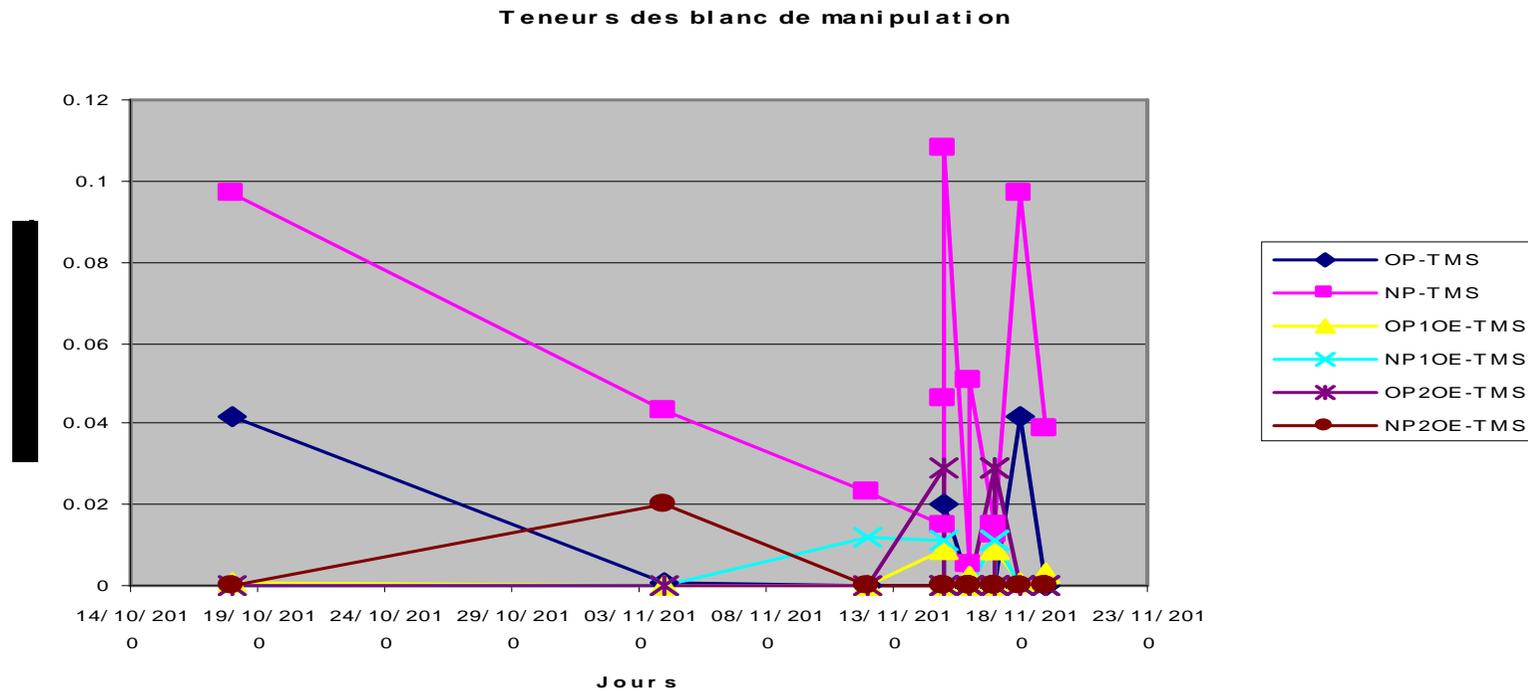


Méthode développée au laboratoire

- Etapes critiques de la méthode : Blanc de manipulation en µg/L

Date	OP-TMS	NP-TMS	OP10E-TMS	NP10E-TMS	OP20E-TMS	NP20E-TMS
18/10/2010	0.042	0.097	0.001	0.000	0.000	0.000
04/11/2010	0.001	0.043	0.000	0.000	0.000	0.020
12/11/2010	0.000	0.023	0.000	0.012	0.000	0.000
15/11/2010	0.000	0.015	0.009	0.011	0.029	0.000
15/11/2010	0.000	0.046	0.000	0.000	0.000	0.000
15/11/2010	0.020	0.108	0.000	0.000	0.000	0.000
16/11/2010	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000
16/11/2010	0.000	0.051	0.002	0.000	0.000	0.000
16/11/2010	0.000	0.051	0.002	0.000	0.000	0.000
17/11/2010	0.000	0.015	0.009	0.011	0.029	0.000
17/11/2010	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000
17/11/2010	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000
17/11/2010	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000
17/11/2010	0.000	0.015	0.009	0.011	0.029	0.000
18/11/2010	0.042	0.097	0.001	0.000	0.000	0.000
19/11/2010	0.000	0.039	0.003	0.000	0.000	0.000
19/11/2010	0.000	0.039	0.003	0.000	0.000	0.000

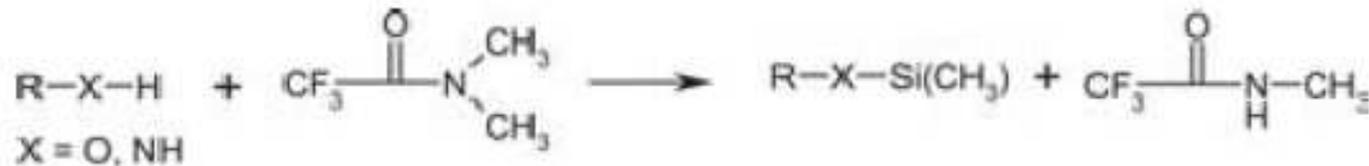
■ Etapes critiques de la méthode : Blanc de manipulation



Méthode développée au laboratoire

■ Etapes critiques de la méthode : Silylation

- Silylation des alkylphénols au MSTFA (N-Méthyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide)



- Réagit avec l'eau ou tout interférent ayant des fonctions OH...
- Compétition entre réactions

Méthode développée au laboratoire

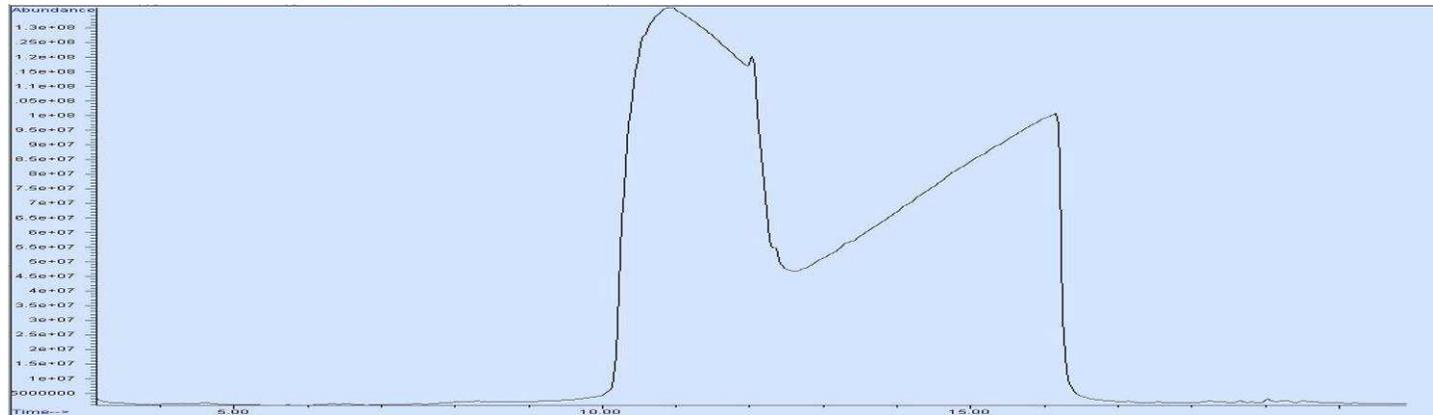
- Etapes critiques de la méthode : Interférents
 - Méthode adaptée pour des eaux propres.
 - Remarque dans la méthode exprimant le fait qu'il faille diminuer les prises d'essai sur des échantillons de rejets.
 - Problèmes d'intégration sur les basses teneurs surtout sur les coupes type nonylphénols lorsque la ligne de base est bruiteuse.
 - Diversité des familles d'interférents en fonction des industries.

■ Etapes critiques de la méthode : Interférents

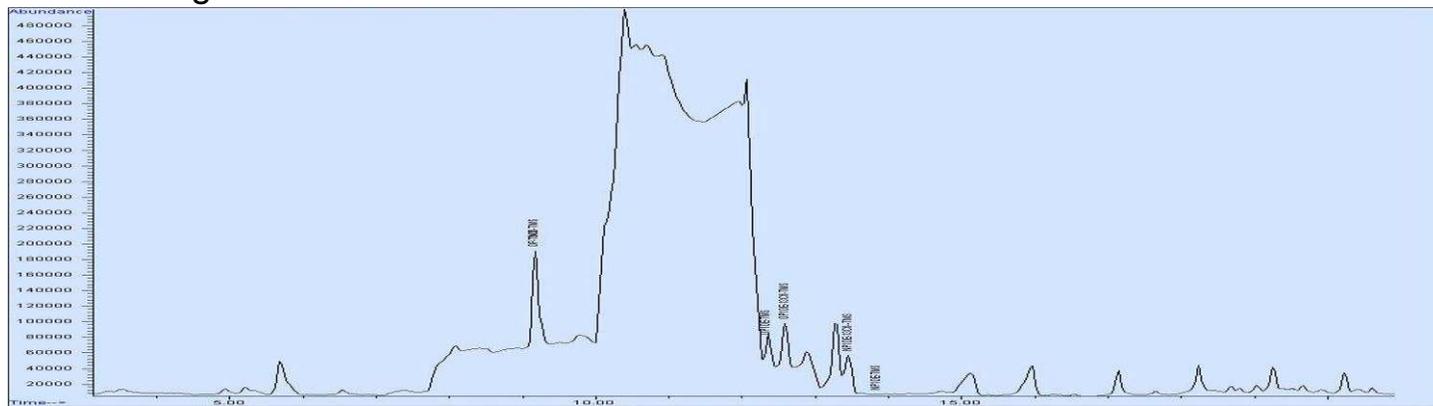
- Etude de cas : Rejet industriel
 - MES : 37 mg/L.
 - DCO : 4250mg/L.



■ Etapes critiques de la méthode : Interférents

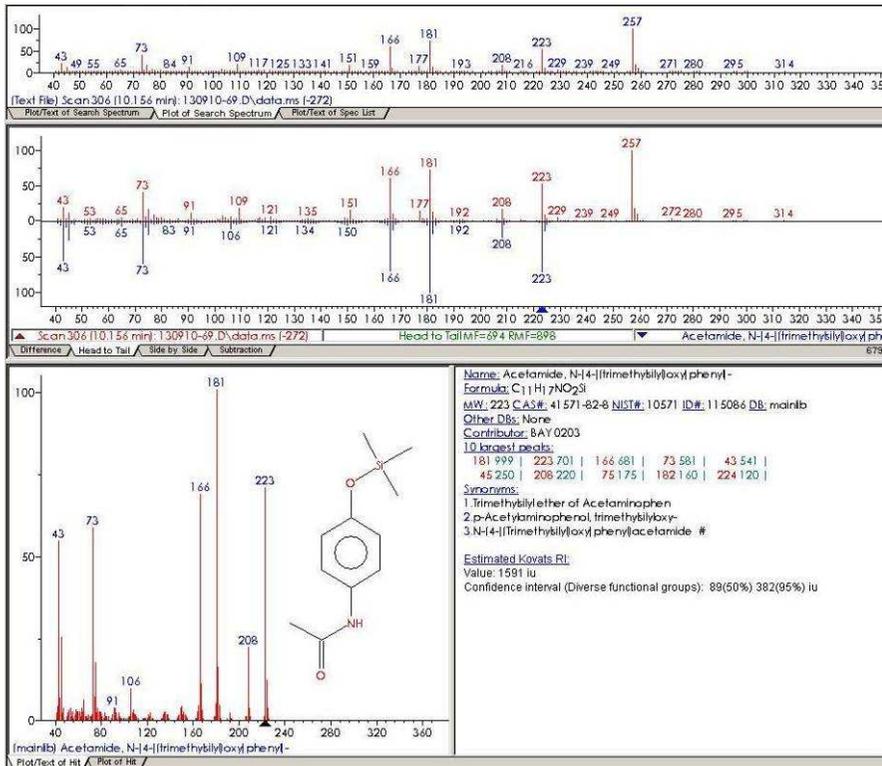


Chromatogramme en TIC

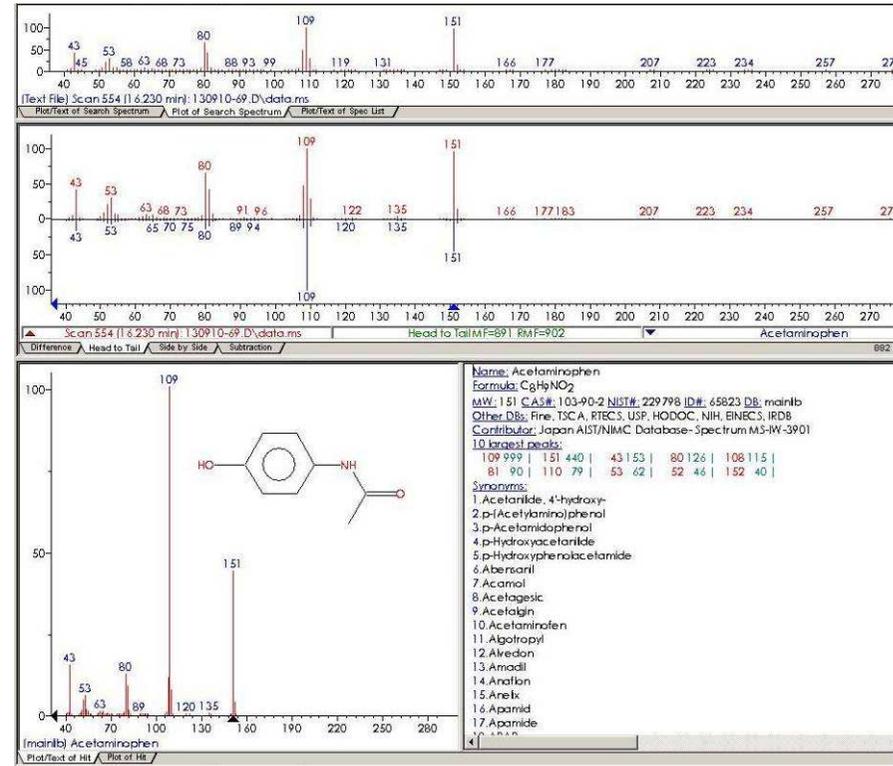


Chromatogramme en SIM

- Etapes critiques de la méthode : Interférents
 - Identification des interférents



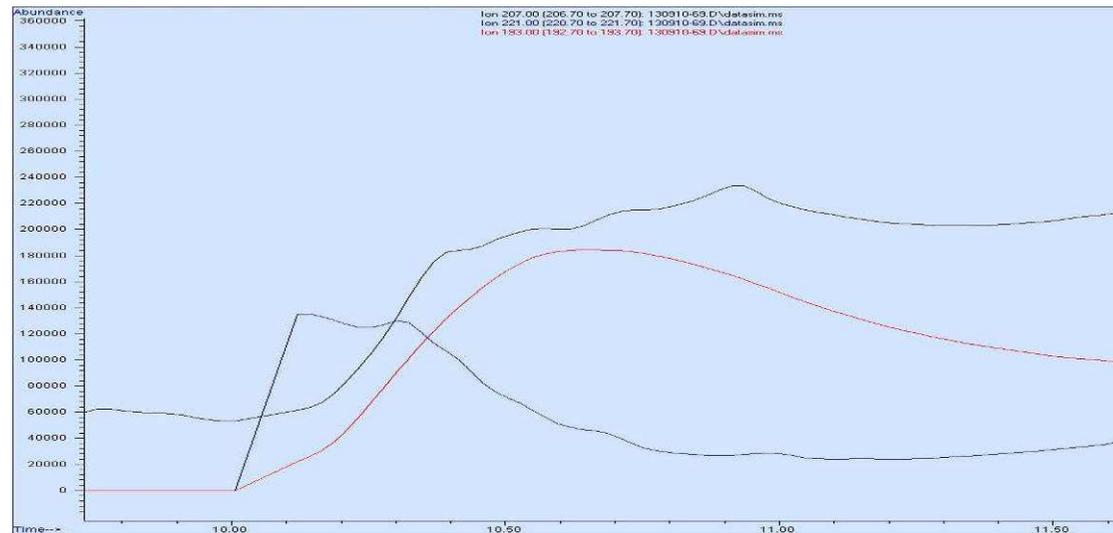
Premier pic



Deuxième pic

Méthode développée au laboratoire

- Etapes critiques de la méthode : Interférents
 - Chromatogramme inexploitable sans purification et dilution



Zoom sur le chromatogramme en SIM pour le 4-nonylphenol

- De plus, nous n'avons pas d'information sur le taux de conversion de la silylation

Cas des dépassements de limites de quantification

- Envoi du courrier justifiant cette augmentation de limite de quantification
 - Descriptif de la méthode.
 - Descriptif des problèmes :
 - » Problème d'interférents sur les analytes et les étalons internes.
 - » Problème de limite de détection.
 - Dérogation de la méthode.
 - Conclusion sur les résultats d'analyses et le dépassement de limite de quantification.

Cas des dépassements de limites de quantification

- Envoi du courrier justifiant cette augmentation de limite de quantification

DOSAGE DES ALKYLPHENOLS ECHANTILLON RN10-06636.001 (EV10-13164.001)

I. Principe de la méthode :

- Texte de référence :

ISO 18857-2:

Water quality- Determination of selected alkyls phenols-

Part 2: Determination of alkyls phenols, alkyls phenol ethoxylates and bisphenol A- Method for non- filtered samples using solid phase extraction and gas chromatography with mass selective detection after derivation.

- Méthode validée : MO-035/B

Cette méthode permet de doser les Alkyls Phénols, Alkyl phénol éthoxy/ates dans les eaux de consommation, les eaux de surface souterraines et les eaux résiduaires non filtrées

- *Nb : (*) Attention (selon l'annexe 5 de la circulaire PSDE).*
- *si 50 < MES < 250 mg/l, alors l'extraction liquide - liquide est requise.*
- *si MES ≥ 250 alors analyser séparément la phase aqueuse et la phase particulaire.*

La présente méthode a été validée sur eau résiduaire dont la MES est <50 (*) mg/L (matrice soumise à l'accréditation).

Les analytes couverts par cette méthode lors de la validation sont :

Analyte	Formula	Abbreviation	CAS* -Nu
4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol	C ₁₄ H ₂₂ O	OP	140-56-9
4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol monoethoxylate	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	OP ₁ EO	not available
4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol diethoxylate	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	OP ₂ EO	not available
4-nonylphenol (mixture of isomers)	C ₁₅ H ₂₄ O	NP	84852-15-3
4-nonylphenol monoethoxylate (mixture of isomers)	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	NP ₁ EO	not available
4-nonylphenol diethoxylate (mixture of isomers)	C ₁₉ H ₃₂ O ₃	NP ₂ EO	not available

La limite de quantification de cette méthode validée est de :

Analyte	LQ en µg/l	Teneur étudiée en validation en µg/l
OP/OP ₁ EO/OP ₂ EO	0,1	0,02 - 0,1 - 1
NP/ NP ₁ EO/NP ₂ EO	0,1	0,1 - 0,5 - 5

III. Analyse en GC/MS

Analyse des extraits en GC/MS. Quantification en étalonnage interne par ajout dans la gamme et dans les extraits d'un mix de 6 étalons internes.

L'acquisition est réalisée en SIM (Single Ion Monitoring) sur 3 ions. La quantification est réalisée sur un ion. Les deux autres qualifieurs permettent de s'assurer de l'identité du composé et de s'affranchir de faux positifs.

IV. Echantillon RN10-06636.001

- Une première préparation a été réalisée selon notre protocole analytique c'est-à-dire à partir d'une prise d'essai de 20mL d'échantillon.

Lors de l'analyse en GC/MS, la réponse des étalons internes des familles des nonylphénols et des octylphénols (et donc celle des composés d'intérêt associés), s'est avérée être masquée par des interférents très importants (composés type Paracétamol, ...)

Cette analyse ne peut techniquement être exploitée sans risquer de rendre des résultats faussement négatifs (taux de recouvrement trop faibles).

Notre méthode prévoit dans ce cas :

« NB : Dans le cas d'échantillons chargés en d'autres composés pouvant interférer avec la syllilation (voir en « full scan »), telles que des matières actives, acides gras ou toute autre molécule critique au vu de l'expérience de l'analyste, alors la prise d'essai est réduite (en théorie 20mL, pouvant aller jusque 2 mL (cette dérogation est spécifiée sur l'IM-0291 et la LQ augmentée en conséquence) ».

-Une deuxième préparation a donc été réalisée avec une prise d'essai de 2 mL et avec une étape de purification afin de diminuer l'effet matrice.

Cette préparation ne peut pas être exploitée, l'effet matrice est toujours trop important.

- Une troisième préparation a donc été réalisée avec une prise d'essai de 0.2 mL et avec une étape de purification afin de diminuer l'effet matrice.

Les résultats obtenus sont enfin exploitables sauf pour l'octylphénol qui est toujours masqué par une interférent.

Cette diminution de la prise d'essai impacte directement sur les limites de quantification :

- la limite de quantification des nonylphénols et éthoxylates passe de 0.1 µg/L à 5 µg/L

Cas des dépassements de limites de quantification

- Proportions des dépassements de limites de quantification :
- Depuis 2010 à fin décembre, le laboratoire a traité 1845 analyses d'alkylphénols.
- 20 dépassements de limites.
- Soit 1,1% de dépassement.

■ Amélioration des purifications après l'extraction

- Utilisation de toutes sorte de phases

- Essais sur silice
- Essais sur alumine
- Essais sur colonne NH₂ ...

- Essais à prévoir en GC/MSMS

- Diminution du bruit.
- Meilleure spécificité.



Axes d'amélioration

■ Essai en LC / MSMS

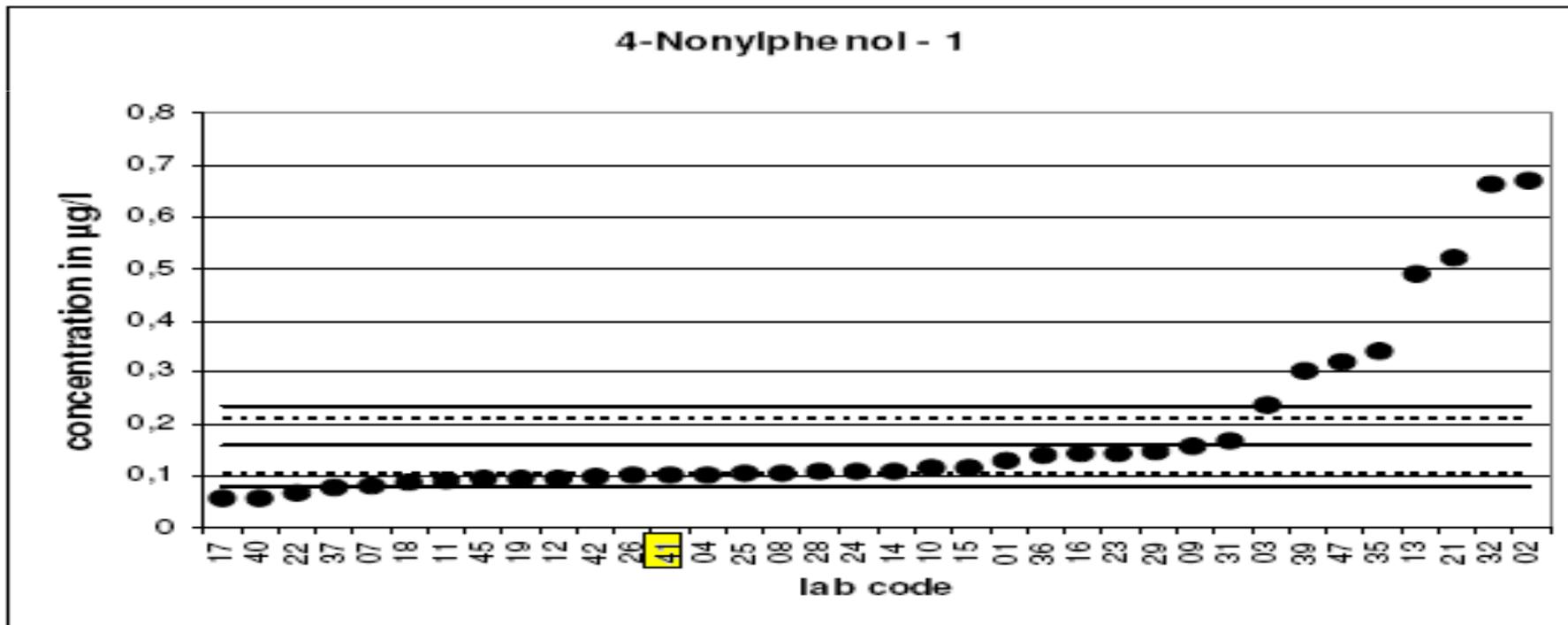
- Analyse directe sans silylation.
- Bonne sensibilité.
- Ne résout pas les problèmes d'interférents.
- Résout les problèmes d'intégration de coupes de 4-nonylphénol.



- Résultats de l'inter-calibration: PT-WFD proficiency test in the framework programme 2010 : EU WFD - Alkylphenols and Bisphenol-A relevant to the WFD in Surface Waters.
 - Eau de surface de rivière (de la rivière Ruhr, prélevée à Muelheim)
 - Résultat du laboratoire SGS Multilab Rouen à l'intercalibration :

Code	Parameter/Dimension	Sample	assigned value	lab result	assessment	valid	method	Z(U)-score	evaluation
41	4-Nonylphenol µg/l	41-I	0.742	0.646	+	J	04-Other	-0.5	successful
41	4-Nonylphenol µg/l	41-II	0.1579	0.099	+	J	04-Other	-1.5	successful
41	4-Nonylphenol µg/l	41-III	0.3272	0.3035	+	J	04-Other	-0.3	successful
41	Octylphenol µg/l	41-I	0.1725	0.182	+	J	04-Other	0.2	successful
41	Octylphenol µg/l	41-II	0.6556	0.685	+	J	04-Other	0.2	successful
41	Octylphenol µg/l	41-III	0.06787	0.072	+	J	04-Other	0.2	successful
41	Bisphenol-A (BPA) µg/l	41-I	0.08147	0.0523	+	J	04-Other	-1.4	successful
41	Bisphenol-A (BPA) µg/l	41-II	0.3594	0.1655	-	J	04-Other	-2.2	questionable
41	Bisphenol-A (BPA) µg/l	41-III	0.4682	0.2285	+	J	04-Other	-2	successful

- Résultats de l'inter-calibration: PT-WFD proficiency test in the framework programme 2010 : EU WFD - Alkylphenols and Bisphenol-A relevant to the WFD in Surface Waters.
 - Tendence des résultats pour l'échantillon à la teneur assignée de 0.1579 µg/L de 4 nonylphenol :



- Méthode performante pour des eaux propres.
- Méthode délicate pour les eaux de rejet chargées.
- La préparation de l'échantillon reste la partie la plus importante de la manipulation.
- Vigilance sur les sources de contaminations.
- Problématique identique aux phtalates.

- Merci de votre attention.

