CONSIDERATIONS SUR CERTAINS ASPECTS METROLOGIQUES LIES A LA MESURE DU 4-NONYLPHENOL

-

Etat de l'art, évaluation de la pureté des étalons, de l'exactitude de mesure et des perspectives sur leur mesure

Thème D : Amélioration des opérations d'analyses physico-chimiques

Claudine CHATELLIER, Francois LESTREMAU

Décembre 2014

Programme scientifique et technique
Année 2014

Rapport final

Avec le soutien de ONEMA et de

Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2014 dans le cadre du partenariat ONEMA – AQUAREF 2014, au titre de l'action D- Amélioration des opérations d'analyses physico-chimiques.

Auteur (s) : Claudine CHATELLIER et François LESTREMAU

Claudine CHATELLIER
INERIS
Email : claudine.chatellier@ineris.fr

François LESTREMAU
INERIS
Email : francois.lestremau@ineris.fr

Vérification du document :

Sophie LARDY-FONTAN
LNE
Email : sophie.lardy-fontan@lne.fr

Anne TOGOLA
BRGM
Email : a.togola@brgm.fr

Les correspondants

Onema : Pierre-François Staub

Etablissement : Francois Lestremau

Référence du document : Claudine Chatellier, François Lestremau – Considérations sur certains aspects métrologiques liés à la mesure du 4-nonylphénol - Etat de l'art et perspectives – Rapport AQUAREF 2014 – 108p

Droits d'usage :	*R1 avant publication*
Couverture géographique :	***International***
Niveau géographique :	***National***
Niveau de lecture :	***Professionnels, experts***
Nature de la ressource :	***Document***

TABLE DES MATIÈRES

1. GLOSSAIRE 13

2. LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES 15

3. INTRODUCTION 17

4. CADRE LEGISLATIF ET DEFINITION SELON LES NUMEROS CAS ET LES CODES SANDRE 19

4.1 Directive Cadre Eau (DCE) 19

4.2 Positionnement d'Aquaref 19

4.3 Conclusion 20

5. ANALYSE DES NONYLPHENOLS 21

5.1 Textes normatifs 21

5.2 Etude bibliographique sur la mesure individuelle des nonylphénols 22

6. CARACTERISATION ANALYTIQUE DE LA COUPE 4-NONYLPHENOL PAR CG-SM 25

6.1 Optimisation de la séparation chromatographique d'après la norme ISO 24293 26

6.2 Optimisation des conditions de détection par spectrométrie de masse 28

7. CARACTERISATION ANALYTIQUE MASSIQUE DES SOLUTIONS NONYLPHENOL PAR CG-FID 31

7.1 Principe 31

7.2 Produits commerciaux obtenus auprès des fournisseurs 31

7.3 Protocole de caractérisation de la coupe 4-nonylphénol ramifiée 32

7.3.1 Caractérisation des différents isomères par CG/FID 32

7.3.2 Caractérisation de la fenêtre d'élution de la coupe 4-nonylphénol 33

7.4 Analyse des références commerciales par CG-FID 34

7.5 Pureté des solutions commerciales de 4-nonylphénol 37

7.6 Contribution des isomères individuels de la coupe 4-NP en CG/FID 40

7.7 Constitution de Mélange D'isomères individuels de 4-nonylphénol 42

7.7.1 Solutions individuelles disponibles commercialement 42

7.7.2 Analyse des solutions d'isomères individuels par CG/FID 45

7.7.3 Conclusion. 46

8. ETUDE DE LA QUANTIFICATION PAR ANALYSE PAR CG/SM 47

8.1 Etude de la quantification de la coupe 4-nonylphénol en CG/SM par isomère individuel 47

8.1.1 Mode de calcul des facteurs de réponse en SM - Généralités 47

8.1.2 Calcul des facteurs de réponse en SM pour l'ion m/z = 107 48

8.1.3 Calcul des facteurs de réponse en SM pour l'ion m/z = 135 50

8.1.4 Facteur de réponse des isomères individuels 50

8.1.5 Conclusion 51
8.2 Etude de la quantification globale de la coupe 4-nonylphénol sur des échantillons réels. 51

9. ANALYSE PAR CG/SM D'ECHANTILLONS REELS 53
9.1 Traitement des échantillons de sédiments. 53
9.2 Extraction et purification des échantillons. 53
9.3 Analyse par CG/SM 53
9.4 Conclusion 54

10. CONCLUSION GENERALE 57

11. REFERENCES 59

12. LISTE DES ANNEXES 61

CONSIDERATIONS SUR CERTAINS ASPECTS METROLOGIQUES LIES A LA MESURE DU 4-NONYLPHENOL - ETAT DE L'ART ET PERSPECTIVES

CLAUDINE CHATELLIER ET FRANÇOIS LESTREMAU

RESUME

Bien que les alkylphénols soient des substances réglementées dans le cadre de la DCE depuis 2000, la multiplicité des substances individuelles ou des groupes de substances agrégées sous ce vocable a nui à la fiabilité des analyses. En raison du caractère large de la notion de "Nonylphénol", des substances de référence qui sont commercialisées sous les numéros CAS visés par la réglementation ne correspondent pas, en fait, aux substances à rechercher. Les laboratoires tributaires de ces erreurs de référencement sont amenés à rendre des résultats parfois erronés.

Afin de remédier à ces erreurs métrologiques entrainant un biais lors de la surveillance de ces composés, un état des lieux a été établi sur l'analyse des alkylphénols et plus particulièrement des 4-nonylphénols. Malgré de notables améliorations, certains textes ou normes demeurent encore incorrects sur la définition des substances à rechercher notamment des erreurs dans l'attribution des numéros CAS.

Il a été également constaté que les mélanges disponibles commercialement présentaient une pureté de seulement 85 à 95% en 4-nonylphénol. Pour l'étalonnage et la quantification des 4-nonylphénols, il est donc recommandé d'utiliser un mélange commercial dont la pureté et la contribution massique de chaque isomère auront été caractérisées au préalable avec un GC/FID qui donne une réponse équimassique de chaque isomère des nonylphénols.

La composition du mélange « 4-nonylphénol technique » s'avère beaucoup plus large que les 13 isomères identifiés par la norme ISO 24293. Ainsi, la quantification par isomère n'est pas souhaitable car elle est plus laborieuse techniquement et ne semble pas apporter d'amélioration significative sur la fiabilité du résultat obtenu par rapport à une détermination de la coupe globale. De plus, tous les isomères individuels ne sont pas disponibles commercialement.

L'ion m/z 135 recommandé par la norme NF EN ISO 18857-1 n'apparait pas pertinent pour la quantification de la coupe 4-nonylphénol, car certains isomères ne produisent pas de réponse pour cet ion, ce qui entraine un résultat avec plus d'incertitude qu'avec l'ion m/z 107 qui devrait être utilisé.

Bien que le protocole de la norme NF EN ISO 18857-1 avec l'ion m/z 107 entraine encore une inexactitude, il semble représenter le meilleur compromis pour la mesure des mélanges en 4-nonylphénol dans l'environnement possédant des compositions isomériques très variées.

Mots clés :
Alkylphénols, 4-nonylphénol, eau, caractérisation, solutions étalons, pureté, exactitude, comparabilité

CONSIDERATIONS ON PARTICULAR METROLOGICAL ASPECTS RELATED TO THE CARACTERISATION OF 4-NONYLPHENOL – STATE OF THE ART AND PERSPECTIVES

CLAUDINE CHATELLIER AND FRANÇOIS LESTREMAU

ABSTRACT

Although alkyphenols have been included in the Water Frame Work directive (WFD) since its inception in 2000, the complexity of its individual composition in term of substances or the substances often wrongly affiliated under its banner has been detrimental for providing reliable monitoring data for these substances. As example of the confusion observed, reference substances commercialized meant to correspond to the WFD requirement do not match actually the substances to be monitored.

To circumvent these issues which are not generally known, a state of the art study has been performed on the analysis of the alkyphenols and particularly on 4-nonylphenol. Despite noticeable improvement, reference standard or legal text remains sometimes incorrect on the definition on substances to be monitored notably CAS number.

It was therefore demonstrated that products commercially available were in fact only containing 85 to 95% in 4-nonylphenols. For calibration and quantification of 4-nonylphenol, it is therefore recommended to use a commercial mixture which would have been previously characterized using a GC/FID.

The composition of the alkyphenols technical mixture appears containing more than the 13 isomers identified by the Standard ISO 24293. Therefore, the quantification by isomer is not recommended since it is technically more tedious. Moreover, all considered isomers are not commercially available.

Ion m/z 135 recommended by standard NF EN ISO 18857-1 does not appear relevant for the quantification of the 4-nonylphenol mixture, since some isomers do not produce a spectrometric response for this ion, which lead to a more inaccurate result compare to ion m/z 107.

Although this approach using standard NF EN ISO 18857-1 with ion m/z 107 still produce a degree of uncertainty, it represents the best compromise for the monitoring of mixture of 4-nonylphenol determined in the environment with a large range of isomeric composition.

Key words:

Alkylphenol, 4-nonylphenol, water, characterization, standard solution, purity, accuracy, comparability

PRÉAMBULE

Le présent rapport a été établi sur la base des informations fournies à l'INERIS, des données (scientifiques ou techniques) disponibles et objectives et de la réglementation en vigueur.

La responsabilité de l'INERIS ne pourra être engagée si les informations qui lui ont été communiquées sont incomplètes ou erronées.

Les avis, recommandations, préconisations ou équivalent qui seraient portés par l'INERIS dans le cadre des prestations qui lui sont confiées, peuvent aider à la prise de décision. Etant donné la mission qui incombe à l'INERIS de par son décret de création, l'INERIS n'intervient pas dans la prise de décision proprement dite. La responsabilité de l'INERIS ne peut donc se substituer à celle du décideur.

Le destinataire utilisera les résultats inclus dans le présent rapport intégralement ou sinon de manière objective. Son utilisation sous forme d'extraits ou de notes de synthèse sera faite sous la seule et entière responsabilité du destinataire. Il en est de même pour toute modification qui y serait apportée.

L'INERIS dégage toute responsabilité pour chaque utilisation du rapport en dehors de la destination de la prestation.

	Rédaction	**Vérification**	**Approbation**
NOM	Claudine CHATELLIER François LESTREMAU	Marie-Pierre STRUB	Nicolas ALSAC
Qualité	Unité « Innovation pour la Mesure » Direction des Risques Chroniques	Ingénieur au Pôle « Caractérisation de l'Environnement » Direction des Risques Chroniques	Responsable de Pôle « Caractérisation de l'Environnement » Direction des Risques Chroniques
Visa			

1. GLOSSAIRE

4-NP :	4-nonylphénol en mélange technique
ASE™ :	Accelerated Solvent Extractor
CAS :	Chemical Abstract Service
CG:	Chromatographie en phase Gazeuse
CGHR :	Chromatographie en phase Gazeuse Haute Résolution
CMA :	Concentration maximale admissible
DCE:	Directive cadre eau
EI :	Etalon interne
FS :	Full scan (balayage des ions sur une gamme de masse)
FID :	Détecteur à Ionisation de Flamme
IE :	Impact électronique
LQ :	Limite de quantification
MA :	Moyenne annuelle
NP :	Nonylphénol
NQE :	Norme de qualité environnementale
PLE :	Extraction par un fluide sous pression (Pressurized Fluid Extraction)
RMN :	Résonance magnétique nucléaire
SANDRE :	Services d'administration nationale des données et des référentiels sur l'eau.
SIS :	Single Ion Storage (scrutation d'ions en trappe d'ions)
SIM:	Single Ion Monitoring (scrutation d'ions en quadripôle)
SM :	Spectromètre de masse
SMHR :	Spectromètre de Masse à Haute Résolution
SPE :	Solid-Phase Extraction (extraction sur phase solide)

2. LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES

Tableau 1 : Liste des 13 isomères de 4-NP de la norme ISO 24293 25

Tableau 2 : Références commerciales de mélanges 4-Nonylphénol. 32

Tableau 3 : RRT(i) des 13 isomères de la coupe 4-NP 34

Tableau 4 : Puretés fabricants et puretés calculées en interne sur des solutions commerciales de 4-nonylphénol 38

Tableau 5 : Contribution des 13 isomères de la coupe 4-NP..... 41

Tableau 6 : Liste des fournisseurs et des références des isomères commercialement disponibles..... 44

Tableau 7 : Facteur de réponse de chaque isomère sur l'ion m/z = 107 uma, pour 2 mélanges techniques de CAS [84852-15-3] à 100 µg/mL. 49

Tableau 8 : Facteur de réponse et réponse recalculée en SM de chaque isomère sur l'ion m/z = 135 uma, dans 2 mélanges techniques de CAS [84852-15-3]..... 50

Tableau 9 : Facteur de réponse relatif de chaque isomère calculé à partir de solutions d'isomère individuel. 51

Tableau 10 : Résultat des analyses du sédiment de Nimy-Blatton en fonction des méthodes et des références choisies..... 54

Figure 1: Familles d'isomères de position des nonylphénols..... 17

Figure 2: Isomères de chaîne des 4-nonylphénols..... 17

Figure 3: Compositions en isomères des profils nonylphénol dans des échantillons d'eau de la baie de Tokyo (données issues du dossier de validation de la norme ISO 24293). . 23

Figure 4: Comparaison de la séparation chromatographique des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol sur la colonne DB5 MS UI (30 m x 0,25 mm x 0 ,25 µm) en fonction du choix de l'insert (conditions de l'annexe 6) 27

Figure 5: Séparation chromatographique des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol sur la colonne DB5 (30 m x 0,25 mm x 0 ,25 µm) (conditions de l'annexe 4) 27

Figure 6: Séparation chromatographique des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol sur la colonne 5 % diphényl – 95 % diméthyl siloxane (30 m x 0,25 mm x 0 ,25 µm) selon les conditions de l'annexe 4 en CG/SM-Full scan (TIC)..... 28

Figure 7: Chromatogramme obtenu pour NP2, NP 7 et NP 11 en TIC, sur la réponse m/z = 220 uma et m/z = 135 uma, ions de diagnostique de la norme ISO 24293. 29

Figure 8: Chromatogramme des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol sur la colonne 5 % diphényl – 95 % diméthyl siloxane (30 m x 0,25 mm x 0 ,25 µm) selon les conditions de l'annexe 4 en CG/SM-SIS en fonction des ions scrutés. 30

Figure 9: Chromatogramme de la coupe des 4-nonylphénols ramifiés en présence de 4-nonylphénol linéaire en CG/FID 33

Figure 10: Chromatogramme de la référence ALDRICH-290858, CAS 84852-15-3, réception février 2014, « Nonylphenol technical grade, mixture of ring and chain isomers", en CG/FID 35

Figure 11: Chromatogramme de la référence Nonylphénol (Technical) CAS 25154-52-3 en CG/FID. 35

Figure 12: Chromatogramme de la référence ALDRICH-290 858, CAS 11066-49-2, réception février 2002 « Nonylphenol technical grade, mixture of ring and chain isomers", en CG/FID. 36

Figure 13: Chromatogrammes des analyses en CG/FID obtenus pour 8 solutions commerciales..... 37

Figure 14: Chromatogramme des références ARO 299 (CAS 24254-52-3) et ARO 300 (CAS 84852-15-3) en CG/FID 39

Figure 15: Superposition de 5 chromatogrammes de la coupe de 4-nonylphénol selon les références de mélange de nonylphénol (CG/FID)..... 42

Figure 16: Chromatogrammes en CG/FID des 3 composés 353-NP, 363-NP et 33-NP superposés au chromatogramme de la coupe 4-NP (ARO 300) 45

Figure 17: Chromatogrammes en CG/SM (Full-scan) des 3 composés 353-NP, 363-NP et 33-NP superposés au chromatogramme de la coupe 4-NP..... 46

Figure 18: Différence de composition massique entre l'étalon analytique de référence interne ARO300 (CAS 84852-15-3) et 3 échantillons environnementaux issus de la Baie de Tokyo (résultats provenant du dossier de validation de la norme ISO 24293)..... 52

3. INTRODUCTION

De grandes quantités de nonylphénols (NP) sont utilisées pour produire des éthoxylates de nonylphénols (NPEO), qui sont ensuite incorporés dans des formulations. Les éthoxylates de nonylphénols ne sont pas stables dans l'environnement et sont rapidement dégradés en nonylphénols. Pour cette raison, l'union européenne a évalué conjointement les risques pour les nonylphénols et les éthoxylates de nonylphénols [1].

Les NP et NPEO ne peuvent être mis sur le marché ni employés en tant que substances ou constituants de préparations à des concentrations égales ou supérieures à 0,1 % en masse et seulement pour les usages suivants (directive 2003/53/CE du 18 juin 2003 et reprise dans l'Annexe XVII du règlement REACH [1]) :

- nettoyage industriel et institutionnel (sauf lorsque les liquides de nettoyage sont recyclés ou incinérés) ;
- produits de nettoyage domestique ;
- traitement des textiles et cuirs (sauf si certains traitements (pas de rejets dans les eaux ou traitement spécial des eaux) sont mis en place) ;
- produits de traitement des trayons (médecine vétérinaire) ;
- usinage des métaux (sauf lorsque les liquides de nettoyage sont recyclés ou incinérés) ;
- fabrication de papier et de pâte à papier ;
- produits cosmétiques et d'hygiène corporelle (sauf spermicides) ;
- co-formulants dans les pesticides et les biocides (les pesticides bénéficiant d'une autorisation nationale avant le 17 Juillet 2003 échappent à cette disposition jusqu'à expiration de leur autorisation).

Ces dispositions sont applicables depuis le 17 janvier 2005.

Les nonylphénols appartiennent à la famille des alkylphénols. Ils constituent une famille composée de plusieurs centaines d'isomères [11]. Leur nomenclature est principalement liée à la position des groupements alcool (-OH) et groupement nonyl ($-C_9H_{19}$) sur le cycle benzénique qui comporte 6 carbones, il existe ainsi 3familles d'isomères de position présentées dans la figure suivante :

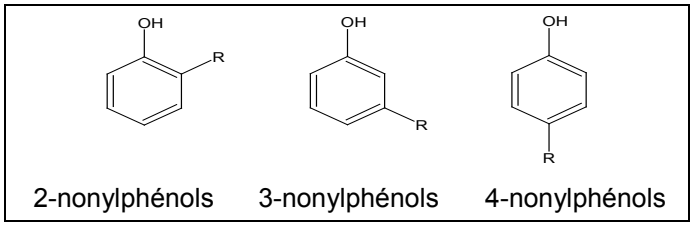


Figure 1: Familles d'isomères de position des nonylphénols.

Chaque famille d'isomères de position est composée d'isomères individuels de par la composition de la chaîne carbonée nonyl qui peut être linéaire ou ramifiée comme présentée dans la figure ci-dessous :

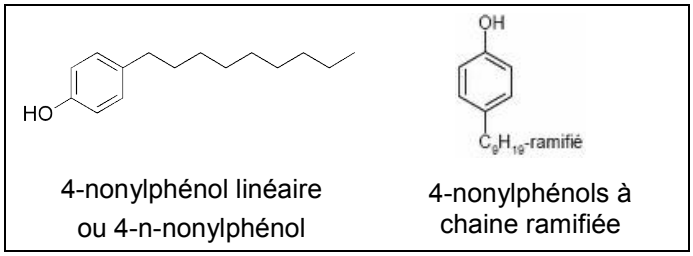


Figure 2 : Isomères de chaîne des 4-nonylphénols.

Le nonylphénol commercial correspond à un mélange complexe d'isomères du 4-nonylphénol, les principales impuretés présentes dans ces mélanges sont le 2-nonylphénol, le décylphénol et/ou le 2,4-dinonylphénol [7]. Par conséquence, **l'analyse des nonylphénols constitue en fait l'analyse des isomères du 4-nonylphénol**.

Les nonylphénols ont été identifiés comme étant des perturbateurs endocriniens. Ils ont fait l'objet d'interdiction d'emploi et d'autorisation de mise sur le marché dans de multiples usages. Au niveau des milieux aquatiques, les nonylphénols ont été classés comme substances dangereuses prioritaires par la DCE entrainant leur surveillance obligatoire. Les nonylphénols étant un mélange complexe, une certaine confusion règne autour de leur définition dans les textes réglementaires. Cet aspect est abordé en détails dans ce document.

L'analyse des nonylphénols reste délicate par les laboratoires de surveillance qui sont confrontés à des confusions dans les dénominations des composés ciblés, à la fois chez les donneurs d'ordre et les fabricants, en plus de la difficulté analytique.

Leur mesure dans les milieux environnementaux est donc problématique. Plusieurs points distincts peuvent se dégager sur cet aspect:

- Les mélanges commerciaux qui sont utilisés pour l'identification, l'étalonnage et la quantification ne sont pas bien caractérisés ce qui contribue à une inadéquation avec l'objectif de la mesure.
- Ces mélanges techniques ont des compositions différentes entre eux et par rapport à celles trouvées dans le milieu naturel. Ainsi, la quantification de ces composés est largement influencée vis à vis de l'instrument analytique par la différence existant entre ces mélanges et la réalité du terrain.
- L'analyse chromatographique de ces composés est complexe. De plus certaines méthodes normées sont basées sur une quantification globale de tous les isomères ce qui amène, en plus des points cités ci-dessus, un surcroit d'incertitude sur le résultat.

Des méthodes existent pour l'analyse individuelle des isomères qui permettent d'obtenir un résultat plus précis. Cependant, ces méthodes sont beaucoup plus longues à mettre en œuvre et donc plus coûteuses. Les méthodes pour la quantification du 4-nonylphénol seront donc évaluées afin de savoir si elles répondent aux objectifs de leur mise en œuvre et si elles sont en mesure de répondre aux besoins de la DCE. Tous ces points sur la problématique analytique seront également abordés en détails au travers de ce document.

Basées sur les informations existantes ou celles obtenues lors de cette étude, des recommandations seront ainsi émises sur ces différent aspects.

4. CADRE LEGISLATIF ET DEFINITION SELON LES NUMEROS CAS ET LES CODES SANDRE

4.1 DIRECTIVE CADRE EAU (DCE)

Historiquement, en 2000, la directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000 identifie comme substances dangereuses et prioritaires (Annexe X, page 75) :

- les nonylphénols sous le numéro CAS 25154-52-3
- le « 4-(para)-nonylphénol » sous le numéro CAS 104-40-5

La NQE-MA (norme de qualité environnementale exprimée en valeur moyenne annuelle) est de 0,3 µg/L et la NQE-CMA (norme de qualité environnementale exprimée en concentration maximale admissible) est de 2 µg/L.

A cette date, la DCE référençait le mélange d'isomères des nonylphénols sous un numéro CAS incorrect car le CAS 25154-52-3 qui est répertorié dans le registre CAS depuis le 16/11/1984 est décrit comme étant le mélange des 3 isomères linéaires de nonylphénol.

Une confusion d'écriture apparaissait également pour le 4-n-nonylphénol (CAS 104-40-5) décrit comme « 4-(para)-nonylphénol » de manière incorrecte.

En 2008, la directive fille 2008/105/CE du 16 décembre 2008 modifie la directive 2000/60/CE et établit la norme de qualité environnementale dans le domaine de l'eau (NQE) pour le « Nonylphénol (4-nonylphénol) » sous le numéro CAS 104-40-5. Selon cette directive, seul l'isomère linéaire qu'est le 4-n-nonylphénol est réglementé.

Dernièrement, la directive cadre DCE 2013/39/EU du 12 Août 2013 amendant les directives 2000/60/EC (DCE) et 2008/105/CE (NQE)présente des erreurs de définition:

- dans l'Annexe I : Annex X (p. 226/12 et 226/13), il est fait référence pour l'appellation « nonylphénols » au CAS 25154-52-3 dont la définition dans ce texte indique qu'il inclut le CAS 104-40-5 et 84852-15-3. Il subsiste ainsi une erreur de définition sur le mélange d'isomères de CAS 25154-52-3 qui inclut bien le CAS 104-40-5 mais pas le CAS 84852-15-3 (voir détails ci-dessous).

En revanche, dans l'Annexe II : Annex I (p.226/15), dans la partie Environmental Quality Standard (EQS) (Normes de Qualité Environnementale (NQE)), il est fait référence, à juste titre, au CAS 84852-15-3 pour l'appellation « nonylphenols (4-nonylphenol) » pour la surveillance dans l'eau brute (eau de surface).

Cette directive a ainsi réintroduit dans la réglementation le terme de 4-nonylphénols ramifiés (CAS 84852-15-3).

4.2 POSITIONNEMENT D'AQUAREF

Suite à la confusion établie lors de la publication de la première version de la DCE, afin de préciser la position d'Aquaref et ainsi porter appui aux agences de l'eau, un document a été publié par Aquaref en 2010 [2]. Il est disponible sur le site de l'Aquaref : « CAS du Nonylphénol et de l'Octylphénol »

(http://www.aquaref.fr/system/files/2009_Fiche%25234_DRC-09-102844-15164D.pdf)

Cette note indique la correspondance entre les numéros CAS, les codes SANDRE et les substances à prendre en compte concernant les nonylphénols, octylphénols et les dérivés éthoxylés du nonylphénol.

Cette note permet d'établir les correspondances des numéros CAS indiqués dans la DCE2013/39/EU :

- CAS 25154-52-3 (code Sandre 1957) : mélange d'isomères de position (du groupe phénol sur le cycle benzénique) à chaine nonyl linéaire, et inclut le 4-n- nonylphénol (CAS 104-40-5), ce mélange est constitué de 3 isomères :

- le 2-n-nonylphénol ou l'ortho-n-nonylphénol ou l'o-n-nonylphénol.
- le 3-n-nonylphénol ou le méta-n-nonylphénol ou le m-n-nonylphénol.
- le 4-n-nonylphénol ou le para-n-nonylphénol ou le p-n-nonylphénol (CAS 104-40-5, code Sandre 5474).

❖ CAS 84852-15-3 (code Sandre 1958) : mélange de nonylphénols à chaines ramifiées, toutes en position 4 sur le cycle benzénique (ou para), correspondant à la principale proportion des nonylphénols industriels.

❖ CAS 104-40-5 (code Sandre 5474) : la substance associée au n° CAS 104-40-5 est très précisément le 4-n-nonylphénol à chaine linéaire, à l'exclusion de tout isomère de position et de toute ramification de chaine.

À ce jour, aucune évolution et redéfinition n'a été opérée par le Chemical Abstracts Service (CAS) sur les numéros CAS 25154-52-3, 84852-15-3 et 104-40-5 comme défini par la note Aquaref. Les enregistrements CAS sont joints en annexes 1, 2 et 3.

Ainsi, le registre CAS indique bien:

❖ le CAS 25154-52-3 (code Sandre 1957) est le mélange nonylphénol des 3 isomères de position de la chaîne nonyl linéaire sur le phénol, soient : le 2-n-nonylphénol, le 3-n-nonylphénol et le 4-n-nonylphénol (CAS104-40-5 ; sandre 5474).

❖ le CAS 84852-15-3 (code Sandre 1958) est le mélange 4-nonylphénol des isomères à chaîne nonyl ramifiée sans l'isomère à chaîne linéaire (CAS 104-40-5, code Sandre 5474).

Il n'y a donc pas de recouvrement entre CAS 25154-52-3 (code Sandre 1957) et CAS 84852-15-3 (code Sandre 1958).

4.3 CONCLUSION

La note publiée en 2010 par Aquaref [2] constitue toujours une référence auprès des décideurs et des laboratoires d'analyse.

La substance identifiée sous le numéro CAS 84852-15-3 (code sandre 1958), le mélange des 4-nonylphénols à chaînes ramifiées, est la plus pertinente pour la définition du bon état chimique dans le cadre de la mise en œuvre de la DCE.

Concernant la parution de la directive DCE 2013/39/EU, bien qu'une correction ait été apportée par rapport aux versions précédentes, une confusion persiste au sujet du paramètre « Nonylphénol (CAS 25154-52-3) » qui définit le CAS 25154-52-3 (sandre 1957) incluant le CAS 104-40-5 (sandre 5474) et le CAS 84852-15-3 (code Sandre 1958) (note 5, page 13). Le CAS 84852-15-3 n'est pas inclus dans le CAS 25154-52-3.

Cette confusion devra être signalée auprès des autorités compétentes afin d'apporter une correction à ce texte.

Par contre, le CAS 84852-15-3 indiqué dans le corps du texte indique correctement la forme qui doit être recherchée pour le paramètre « Nonylphénols (4-nonylphénol) ».

5. ANALYSE DES NONYLPHENOLS

L'analyse des nonylphénols est particulièrement complexe car elle vise généralement à fournir une concentration unique pour un mélange d'une dizaine (voire plus) de composés différents mais ayant en commun d'être des isomères.

Différentes stratégies ont été mises en œuvre, soit en fournissant une valeur globale soit en effectuant une mesure individuelle des différents isomères.

Les nonylphénols peuvent être analysés par chromatographie en phase gazeuse (CG) couplée à la spectrométrie de masse (SM) ou par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse. Les méthodes d'analyse de référence sont toutes réalisées par CG/SM. Ainsi, il ne sera évoqué dans le reste du document que l'analyse avec cette technique analytique.

5.1 TEXTES NORMATIFS

Pour répondre à la directive cadre eau, 3 normes sur l'analyse des nonylphénols dans l'eau sont disponibles :

Deux normes qui se réfèrent à la mesure globale des nonylphénols:

- NF EN ISO 18857-1 (2006) (Qualité de l'eau) : Dosage d'alkylphénols sélectionnés - Partie 1 : méthode pour échantillons non filtrés par extraction en phase liquide-liquide et chromatographie en phase gazeuse avec détection sélective de masse [3].

  Cette norme spécifie une méthode de dosage du 4-nonylphénol (mélange d'isomères) et du 4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl)phénol (ou 4-tert-octylphénol) dans des échantillons non filtrés d'eaux potables, d'eaux souterraines et d'eaux de surface. La méthode est applicable dans une plage de concentrations comprise entre 0,02 µg/l et 0,2 µg/l pour le 4-nonylphénol (mélange d'isomères).

- NF EN ISO 18857-2 (2012) (Qualité de l'eau) : Dosage d'alkylphénols sélectionnés - Partie 2 : dosage par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse d'alkylphénols, de leurs éthoxylates et de bisphénol-A dans des échantillons non filtrés après extraction en phase solide et dérivation [4].

  Cette méthode est applicable dans un domaine de travail allant de 0,03 µg/l à 0,2 µg/l pour le 4-nonylphénol (mélange d'isomères).

Une norme qui est basée sur la mesure individuelle des isomères :

- ISO 24293 (2009) (Qualité de l'eau) : Détermination des isomères individuels de nonylphénol - Méthode par extraction en phase solide (SPE) et chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM) [5].

  Elle permet d'identifier et de quantifier les isomères de la coupe 4-nonylphénol dans un domaine de travail allant de 0,001 µg/L à 0,1 µg/L pour les isomères individuels et de 0,01 µg/L à 0,2 µg/L pour la somme des 4-nonylphénols (mélange d'isomères).

A noter que les normes NF EN ISO 18857-1 et NF EN ISO 18857-2 spécifient que ce sont les nonylphénols ayant pour numéro CAS 84852-15-3 qui sont visés.

A l'inverse, la norme ISO 24293 cite le numéro CAS 25154-52-3 comme étant un mélange de 4-nonylphénol à chaîne ramifiée en désaccord avec le registre CAS qui attribue cette définition au CAS 84852-15-3. Cela devra être signalé lors de la prochaine révision de la norme.

La norme NF EN ISO 18857-2 décrit l'analyse des alkylphénols via une étape de dérivation alors que les normes NF EN ISO 18857-1 et ISO 24293 utilisent une analyse directe des alkylphénols (sans étape de dérivation). Cette étude ne s'est intéressée qu'à cette dernière approche afin de pouvoir comparer les protocoles, descriptions et résultats des normes 18857-1 et 24293 et de pouvoir statuer sur ces différents aspects.

5.2 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA MESURE INDIVIDUELLE DES NONYLPHENOLS

Les nonylphénols sont fabriqués sous catalyse acide par alkylation du phénol par du nonène. Or, le nonène est lui-même synthétisé par trimérisation du propyléne ce qui conduit à un mélange d'isomères du fait de réarrangement possible lors de la réaction [6]. L'isomérie des nonylphénols dépend donc à la fois de la position du groupe nonyl sur le groupe phénol et de l'isomérie du nonène. Pratiquement, la réaction d'alkylation aboutit principalement à la formation de 4-nonylphénol ramifié [6-7]. Selon les calculs de Robinson *et al.* (1976), il y aurait théoriquement 211 isomères possibles de 4-nonylphénol [8].

Depuis plus de 20 ans de nombreuses études ont été menées afin d'identifier expérimentalement la composition de la coupe 4-nonylphénol ainsi que la structure de la chaîne nonyl. Elles ont permis de dénombrer une vingtaine d'isomères. Entres autres, Wheeler *et al.* (1997) ont identifié 22 isomères individuels de la coupe des 4-nonylphénols par HRCG/SM [7]. A partir de conditions chromatographiques similaires, Thiele *et al*. (2004) ne séparent que 21 isomères et identifient la structure de 10 isomères par spectroscopie RMN (résonance magnétique nucléaire) et par spectrométrie de masse [9]. Ils classent alors les isomères en 6 groupes selon leur fragmentation en spectrométrie de masse et la ramification de la chaîne nonyl. A partir d'autres conditions de séparation par chromatographie gazeuse, Kim *et al.* (2004) séparent 16 isomères, qu'ils identifient par spectroscopie RMN (résonance magnétique nucléaire) et spectrométrie de masse [10].

En 2008, Katase et al. [11] établissent la liste de 13 isomères dont la contribution est supérieure à 1% dans 3 mélanges techniques à partir d'expérimentation par CG/SM et RMN. Ils synthétisent un mélange étalon et définissent une méthode de quantification par CG/SM-SIM, qui leur permet de calculer les contributions d'isomères de la coupe 4-nonylphénol dans 3 mélanges techniques. La norme ISO 24293 (2009) est inspirée de cette étude, elle permet de quantifier les 13 isomères identifiés représentant plus de 90% de la coupe 4-nonylphénol.

Bien que la DCE exige une valeur sur l'ensemble des isomères de la coupe 4-nonylphénol, la quantification de la coupe 4-nonylphénol en termes d'isomères individuels peut être à considérer, pour deux raisons :

- En mesurant individuellement les isomères, elle permet de prendre en compte la différence de toxicité existante entre les différents mélanges environnementaux. En effet, les normes NF EN ISO 18857 partie 1 et 2 [3-4] considèrent la coupe globale de 4-nonylphénol basée sur une injection de référence à base de solution commerciale. Ainsi, aucune distinction n'est effectuée entre les différents isomères. Or un échantillon environnemental ne présente pas toujours une distribution massique en isomères identique à celle d'un mélange technique de référence. Aussi, les contributions des 13 isomères individuels suivis par Katase *et al.* [11]) sur les échantillons environnementaux d'eau de surface sont différents de celles observées sur un mélange technique (figure 3).

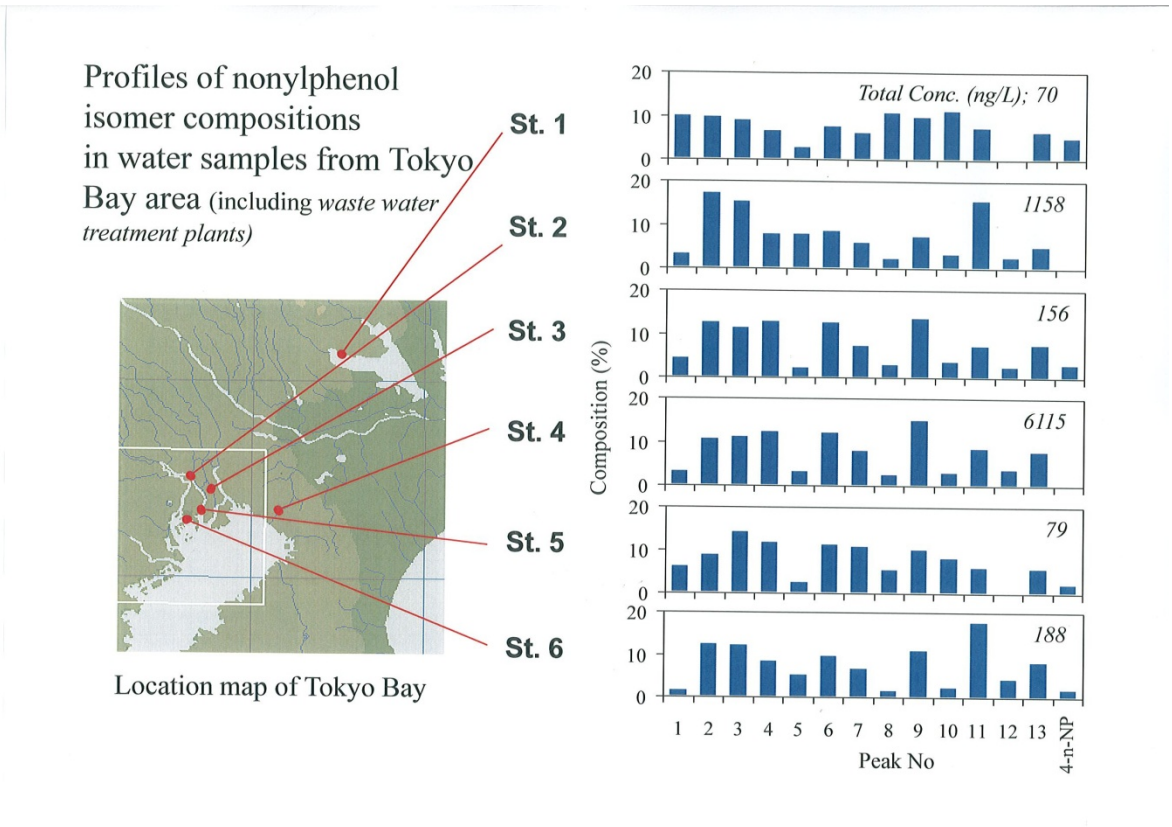


Figure 3: Compositions en isomères des profils nonylphénol dans des échantillons d'eau de la baie de Tokyo (données issues du dossier de validation de la norme ISO 24293).

- La seconde raison est en rapport avec les écarts possibles à la valeur exacte du fait que tous les isomères individuels n'ont pas le même facteur de réponse en CG/SM. Si on retient un mélange technique en tant qu'étalon et que l'on considère la coupe 4-nonylphénol dans sa globalité, le facteur de réponse est pondéré par les contributions de chaque isomère. Les contributions relatives observées dans les échantillons environnementaux étant différentes, la valeur rendue pour la concentration totale pourrait être erronée. Par analogie, cela reviendrait à mesurer la concentration des BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène, xylènes) avec la fonction d'étalonnage du seul toluène.

De nombreux biais pourraient donc être cumulés tout au long du processus de mesure et donc :

1. impacter significativement l'exactitude des mesures ;
2. engendrer des incertitudes trop importantes par rapport aux besoins de la surveillance (50% à la NQE)
3. aboutir à un manque de comparabilité des mesures dans l'espace et dans le temps.

La mesure de chaque isomère pourrait donc être considérée pour rendre la concentration en 4-nonylphénol en tant que concentration cumulée. Cette approche est présentée en partie 9. Elle est comparée avec les approches de mesure globale de l'empreinte (de coupe) du 4-nonylphénol.

6. CARACTERISATION ANALYTIQUE DE LA COUPE 4-NONYLPHENOL PAR CG-SM

Les méthodes analytiques utilisées dans les normes NF EN ISO 18857-1, NF EN ISO 18857-2 et ISO 24293 mettent en œuvre une analyse par chromatographie en phase gazeuse (CG) couplée à un spectromètre de masse (SM). Dans le cas de la norme ISO 24293, un détecteur par ionisation de flamme (FID) doit également être utilisé afin de déterminer la composition massique par isomère du mélange. En effet, alors que les normes NF EN ISO 18857 quantifient la coupe 4-nonylphénol dans sa globalité, la norme ISO 24293 (2009) prend en compte et quantifie individuellement les isomères supérieurs à 1 % et séparés chromatographiquement [5-11]. La liste des isomères de la norme ISO 24293 est présentée dans le tableau 1 ci-dessous :

Tableau 1 : Liste des 13 isomères de 4-NP de la norme ISO 24293

N° de pic	Composé	Abréviation	Synonyme
1	4-(2,4-Diméthylheptan-4-yl)-phénol	NP1	244-NP
2	4-(2,4-Diméthylheptan-2-yl)-phénol	NP2	242-NP
3	4-(3,6-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	NP3	363-NP
4	4-(3,5-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	NP4	353-NP
5	4-(2,5-Diméthylheptan-2-yl)-phénol	NP5	252-NP
6	4-(3,5-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	NP6	353-NP
7	4-(3-Ethyl-2-methylheptan-2-yl)-phénol	NP7	3E22-NP
8	4-(3,4-Diméthylheptan-4-yl)-phénol	NP8	344-NP
9	4-(3,4-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	NP9	343-NP
10	4-(3,4-Diméthylheptan-4-yl)-phénol	NP10	344-NP
11	4-(2,3-Diméthylheptan-2-yl)-phénol	NP11	232-NP
12	4-(3-Méthyloctan-3-yl)-phénol	NP12	33-NP
13	4-(3,4-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	NP13	343-NP

Un des objectifs de cette étude est de pouvoir apporter un résultat de concentration le plus pertinent possible sur un mélange de 4-nonylphénol présent dans l'environnement. Le constat établi dans les paragraphes précédents sur les biais cumulés, du fait des méthodes analytiques utilisées, a amené à s'inspirer de la norme ISO 24293 (mesure individuelle des isomères) afin de pouvoir appréhender les différences analytiques se rapportant pour chaque isomère en termes de composition du mélange ou de réponse spectrométrique. Cette démarche a pour but d'être ensuite extrapolée en considérant l'ensemble des isomères afin de pouvoir donner une valeur globale pour la concentration de 4-nonylphénol dans l'eau.

Pour les expériences effectuées lors de cette étude, un couplage CG/SM a été utilisé comportant :

- un chromatographe à phase gazeuse VARIAN 3800
- un spectromètre de masse type trappe d'ion VARIAN 4000
- un passeur d'échantillon VARIAN CombiPAL.

Les conditions de débits de gaz et de température sont détaillées en annexe 4.

Le couplage CG/FID utilisé pour déterminer la composition massique par isomère des mélanges de 4-nonylphénol comporte :

- un chromatographe à phase gazeuse VARIAN 3800 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).
- un passeur d'échantillon VARIAN 3400.

Les conditions de débits de gaz et de température sont présentées en annexe 5.

6.1 OPTIMISATION DE LA SEPARATION CHROMATOGRAPHIQUE D'APRES LA NORME ISO 24293

Dans un premier temps, les analyses sont réalisées par chromatographie en phase gazeuse (CG) couplée à un spectromètre de masse (SM) en impact électronique (IE) et full scan (FS) sur une gamme de masse allant de 50 à 300 uma.

La référence commerciale pour mettre en place les conditions analytiques est Nonylphénol-4 ; A2S, NP38P100 (CAS 84852-15-3)

Le choix de la colonne de chromatographie est déterminant dans la séparation des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol. Toutes les normes répertoriées recommandent une colonne de 30 mètres, de 0,25 mm de diamètre intérieur avec une épaisseur de film de 0,25 µm. La colonne DB5 est notamment citée en annexe de la norme ISO 24293. Il s'agit d'une phase 5 % diphényl - 95% diméthylpolysiloxane, non polaire, greffée et réticulée à faible ressuage avec des groupements phénylène dans la structure de chaîne polysiloxane. Cette colonne est testée sur la coupe 4-nonylphénol (CAS 84852-15-3). Afin d'optimiser la séparation des différents isomères, les essais réalisés en CG/SM sont les suivants :

- Deux programmations en température avec des débits de gaz vecteurs différents (annexes 4 et 6) sont comparées sur une colonne DB5.
- Une seconde colonne neuve de type DB5 testée selon les 2 programmations en température citées ci-dessus.
- Trois types d'insert, tous avec des restrictions en bas du corps de l'insert mais avec des formes de corps différentes.

La programmation en température du four et/ou le débit de gaz vecteur ne sont pas des paramètres qui ont une influence conséquente sur la séparation chromatographique. En revanche, le type d'insert est important (voir figure 4), les conditions optimales de séparation sont obtenues sur un insert à simple rétreint (avec ou sans fritté):

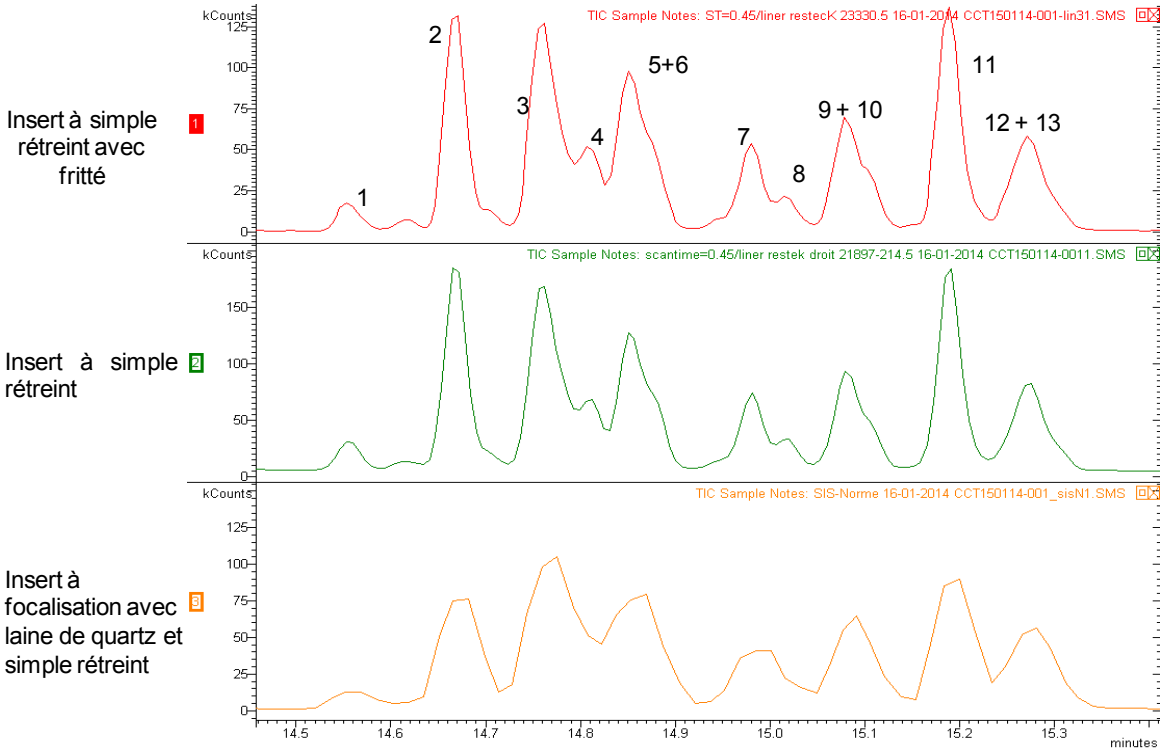


Figure 4: Comparaison de la séparation chromatographique des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol sur la colonne DB5 MS UI (30 m x 0,25 mm x 0 ,25 µm) en fonction du choix de l'insert (conditions de l'annexe 6)

En résumé, le chromatogramme obtenu selon les conditions analytiques (annexe 4) de la norme ISO 24293 en CG/SM – Full Scan avec un insert à simple rétreint (avec fritté), est présenté ci-dessous (figure 5). On constate cependant que les groupements de pics 9-10 ; 7-8 ainsi que le groupement de pics 3,4 et 5 restent très peu résolus.

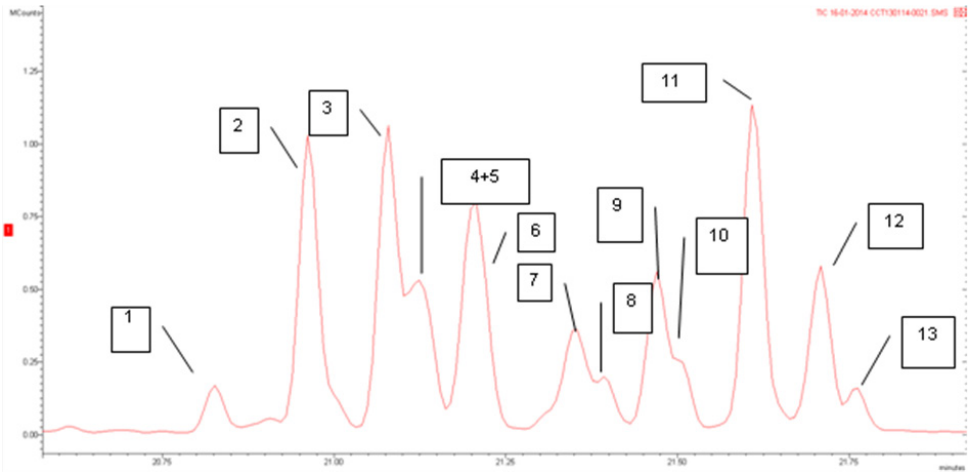


Figure 5: Séparation chromatographique des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol sur la colonne DB5 (30 m x 0,25 mm x 0 ,25 µm) (conditions de l'annexe 4)

Afin de pouvoir améliorer la séparation de ces isomères, une colonne de polarité similaire mais de greffage différent (5% diphényl – 95 % diméthyl siloxane sans groupement phénylène dans la structure de la chaîne polysiloxane) a été testée. Il s'agit de la colonne RXi-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) de chez RESTEK.

L'analyse a été réalisée en comparaison de celle effectuée avec la colonne DB5, avec un liner simple rétreint (avec fritté) selon la programmation de température définie en annexe 4.

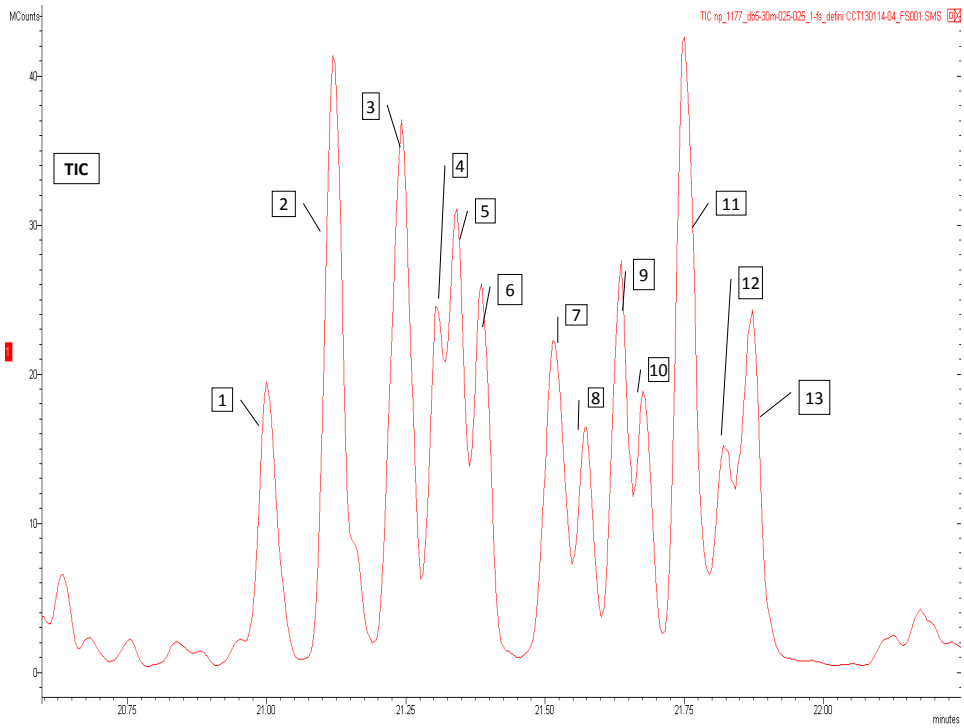


Figure 6: Séparation chromatographique des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol sur la colonne 5 % diphényl – 95 % diméthyl siloxane (30 m x 0,25 mm x 0 ,25 µm) selon les conditions de l'annexe 4 en CG/SM-Full scan (TIC).

Cette colonne permet de mieux séparer les pics 3, 4, 5 et 6 ainsi que les pics 7 et 8 et les pics 9 et 10 (figure 6).

Une colonne de spécificité similaire mais de fournisseur différent a aussi été testée, la colonne TG-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) de chez Thermo-Fisher et permet d'obtenir une séparation similaire.

En conclusion, les conditions optimales de séparation des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol est donc obtenue sur une colonne RXi-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) de chez RESTEK ou une colonne TG-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) de chez Thermo-Fisher avec un insert à simple rétreint (avec ou sans fritté). Il semblerait que les colonnes comportant des groupements phénylènes dans la structure de la chaîne polysiloxane ne permettent pas de séparer les 13 isomères de la coupe 4-NP identifiés dans la norme ISO 24293.

6.2 OPTIMISATION DES CONDITIONS DE DETECTION PAR SPECTROMETRIE DE MASSE

Les différents isomères de la coupe 4-nonylphénol n'ont pas la même fragmentation. Wheeler *et al.* ont défini 5 groupes de fragmentation [7], chacun correspondant à un profil dépendant de la ramification de la chaîne nonyl et en particulier des substitutions présentes sur le carbone en position alpha de la chaine carbonée principale.

Ces travaux sont repris par Katase *et al.* [11] qui classifient les 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol en 3 types selon la structure de ramification du groupement nonyl. Chaque type de structure présente une fragmentation avec un fragment d'intensité majoritaire qui sont : m/z = 135 uma ; m/z = 149 uma et m/z = 163 uma.

La norme ISO 24293 recommande, en fonction de la fragmentation des isomères, de scruter des ions de diagnostic (ions de qualification et de quantification) listés en annexe 7. Les ions de fragmentation de l'isomère dont l'intensité est majoritaire sont principalement retenus comme ions de quantification [11].

Le spectromètre de masse utilisé pour les essais est une trappe d'ions. Le traitement d'ion est l'impact électronique (IE) en mode de scrutation d'ions (SIS).

Sur une trappe d'ions, le mode SIS limite à 6 le nombre d'ions scrutés par fenêtre de temps pour limiter les risques d'interaction entre les différents ions dans la trappe ionique et donc pour diminuer les risques d'instabilité du système. De plus, les pics chromatographiques des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol ne sont pas suffisamment bien séparés pour créer des fenêtres de temps permettant de scruter les 2 (ou 3) ions spécifiques à chaque isomère. Par conséquent, sur cet analyseur, il faut faire un choix parmi les 7 ions (m/z = 107, 121, 135, 149, 163, 191, 220 uma) que la norme ISO 24293 impose pour l'ensemble des isomères de la coupe 4-nonylphénol.

L'ion qualifiant m/z = 220 uma retenu comme ion qualifiant pour les isomères NP2, NP7 et NP11 ne fournit pas de réponse pour NP7 et NP11 et il y a un décalage de temps de rétention sur la réponse de l'ion m/z = 220 uma pour NP2 (figure 7). L'absence de réponse sur l'ion m/z = 220 uma est probablement à attribuer au type d'analyseur utilisé ici qui est une trappe d'ion. En effet les ions parents tel que peut l'être l'ion m/z = 220 uma pour les nonylphénols, ne sont pas aussi représentés que sur les spectres obtenus avec un quadripôle. Par ailleurs, hormis pour le NP8, les 6 autres ions de diagnostique de la norme ISO 24293 (m/z = 107, 121, 135, 149, 163 et 191 uma) ont une résolution acceptable (figure 8).

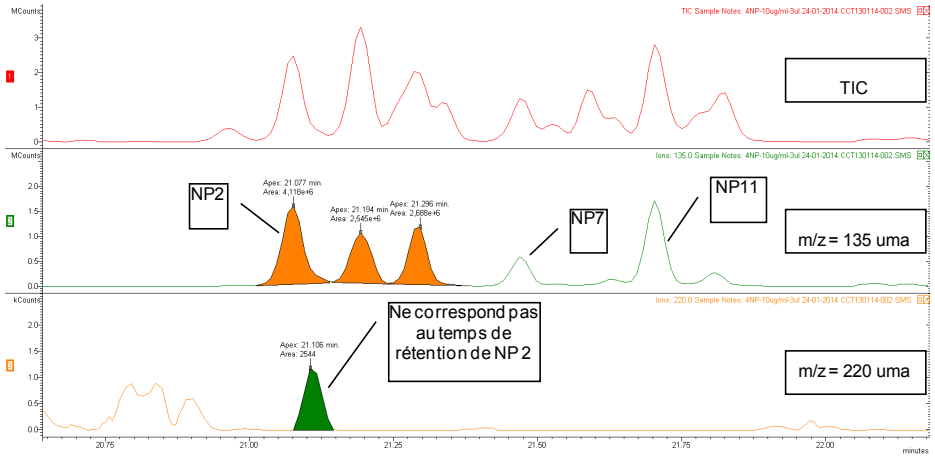


Figure 7: Chromatogramme obtenu pour NP2, NP 7 et NP 11 en TIC, sur la réponse m/z = 220 uma et m/z = 135 uma, ions de diagnostique de la norme ISO 24293.

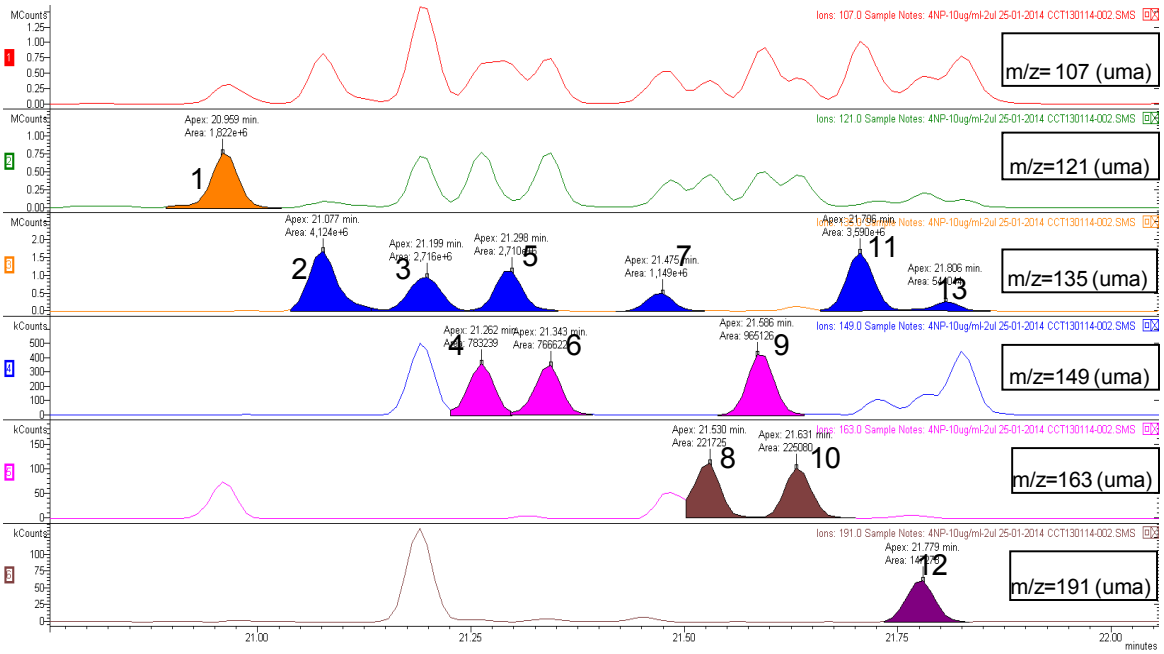


Figure 8: Chromatogramme des 13 isomères de la coupe 4-nonylphénol sur la colonne 5 % diphényl – 95 % diméthyl siloxane (30 m x 0,25 mm x 0 ,25 µm) selon les conditions de l'annexe 4 en CG/SM-SIS en fonction des ions scrutés.

En conclusion, l'ion m/z = 220 uma n'est donc pas retenu contrairement aux prescriptions de la norme ISO 24293 qui le retient comme ion qualifiant pour les isomères NP2, NP7 et NP11. Ces isomères peuvent cependant être suivis par l'ion m/z = 107 uma qui est le seul qui apporte une réponse pour l'ensemble des isomères de 4-nonylphénol. Ainsi, seuls les ions m/z = 107, 121, 135, 149, 163 et 191 uma seront scrutés dans la méthode SIS.

7. CARACTERISATION ANALYTIQUE MASSIQUE DES SOLUTIONS NONYLPHENOL PAR CG-FID

L'analyse par CG/FID a été utilisée en vue de :

- vérifier la pureté en 4-nonylphénol des étalons analytiques commerciaux
- pouvoir déterminer la composition massique de chacun des 13 isomères sélectionnés dans chacun des mélanges techniques de 4-nonylphénol

7.1 PRINCIPE

La norme ISO 24293 exige une caractérisation de l'étalon analytique de 4-nonylphénol par analyse en chromatographie gazeuse (CG) couplée à un détecteur par ionisation de flamme (FID).

En effet, à la différence de la spectrométrie de masse qui n'offre pas de réponse homogène car la fragmentation est dépendante des caractéristiques physico-chimiques des molécules étudiées, cet analyseur permet d'obtenir, en théorie, un facteur de réponse identique[1] quelque soit l'isomère de la famille des nonylphénols car ils possèdent tous un nombre de liaisons carbone-hydrogène identiques .

En considérant que chaque isomère a un facteur de réponse identique (ou équi-massique) en CG/FID, il est ainsi possible par cette analyse de déterminer le pourcentage de chaque isomère dans le mélange et d'attribuer une contribution massique pour chacun d'eux. Il est ainsi obtenu par le ratio de l'aire du pic de l'isomère individuel sur la somme des aires des pics des 13 isomères, ce calcul est repris au paragraphe 7.6.

7.2 PRODUITS COMMERCIAUX OBTENUS AUPRES DES FOURNISSEURS

Il existe plusieurs dénominations fournisseur de « nonylphénol ». Seuls les produits commerciaux dont la dénomination fournisseur est « nonylphénol technique» et/ou possède le CAS 84852-153-3 ont été retenues.

Huit produits ont été répertoriés pour cette étude :

- six produits avec le numéro CAS 84852-15-3, sous différentes appellations commerciales
- un produit « nonylphénol technique » avec le numéro CAS 25154-52-3
- un produit « nonylphénol technique » avec le numéro CAS 11066-49-2.

[1] Le détecteur par ionisation de flamme est un analyseur destructif qui brûle les composés à la sortie de la colonne de chromatographie, dans une flamme alimentée par un mélange hydrogène/air. Sous l'effet de la chaleur, les liaisons carbone-hydrogène se cassent et libèrent des ions qui sont détectés sous forme d'un courant électrique mesuré par un électromètre qui le transforme en courant enregistré. La quantité d'ions est fonction du nombre de liaisons carbone-hydrogène. Dans le cas des nonylphénols, le nombre de ces liaisons est identique quelque soit l'isomère, donc en théorie, une réponse équi-massique est obtenue.

Tableau 2 : Références commerciales de mélanges 4-Nonylphénol.

Appellations commerciales	**Nonylphénol-4**	**Nonylphenol PESTANAL® analytical standard**	**Nonylphenol technical grade, mixture of ring and chain isomers**	**Nonylphenol mixture of ring and chain isomers Tech. Grade**	**4-nonylphenol (mixture of branched chain isomers)**	**Nonylphénol**	**Nonylphenol technical grade, mixture of ring and chain isomers**	**Nonylphenol Technical**
Nature du produit	Liquide visqueux	Liquide visqueux	Liquide visqueux	Liquide visqueux	Liquide visqueux	Solution étalon	Liquide visqueux	Liquide visqueux)
CAS	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[11066-49-2]	[25154-52-3]
Fabricant	A2S	SIGMA-ALDRICH	ALDRICH	Pfaltz & Bauer	TCI	Accustandard	ALDRICH	Dr Ehrenstorfer
Fournisseur	CIL-Cluzeau	SIGMA-ALDRICH	SIGMA-ALDRICH	Interchim	Interchim	Interchim	SIGMA-ALDRICH	CIL-Cluzeau
Référence fournisseur	N038P100	46018	290858	N14080	N0300	D-7485-01	290858	15629000
Date d'achat	Mars 2013	Février 2014	Février 2014	Février 2014	Février 2014	Février 2014	Février 2002	Mars 2013
Pureté indiqué sur le certificat fabricant	99,0%	95,4%	Pas de donnée	Pas de donnée	« Pass Test »	« Tech. mix »	Pas de données	Pas de données
Méthode de mesure de la pureté	HPLC/UV	CG/SM	Pas de donnée	Pas de données	CG	CG/FID	Pas de donnée	Pas de donnée
Référence interne	ARO300	ARO316	ARO315	ARO318	ARO319	SOL REF 699	ARO129	ARO299

7.3 PROTOCOLE DE CARACTERISATION DE LA COUPE 4-NONYLPHENOL RAMIFIEE

7.3.1 Caractérisation des différents isomères par CG/FID

La caractérisation du mélange technique 4-nonylphénol selon la norme ISO 24293 a été être réalisée en CG/FID sur le même type de colonne et avec le même type d'insert que ceux retenus en CG/SM et selon les conditions décrites en annexe 5.

Sa caractérisation est définie par un profil chromatographique de coupe constituée de 13 pics contenus dans une fenêtre de temps établie à partir d'une solution d'un mélange technique 4-nonylphénol (ou 4-nonylphénol ramifiés, CAS 84852-15-3) à 100 µg/mL en présence de 4-nonylphénol linéaire (ou 4-n-nonylphénol (4-n-NP) CAS 104-40-5) à 10 µg/mL préparée dans l'hexane. A cette concentration, la coupe des 4-nonylphénols ramifiés est alors facilement identifiable par ses 13 pics majoritaires, comme le montre la figure ci-dessous :

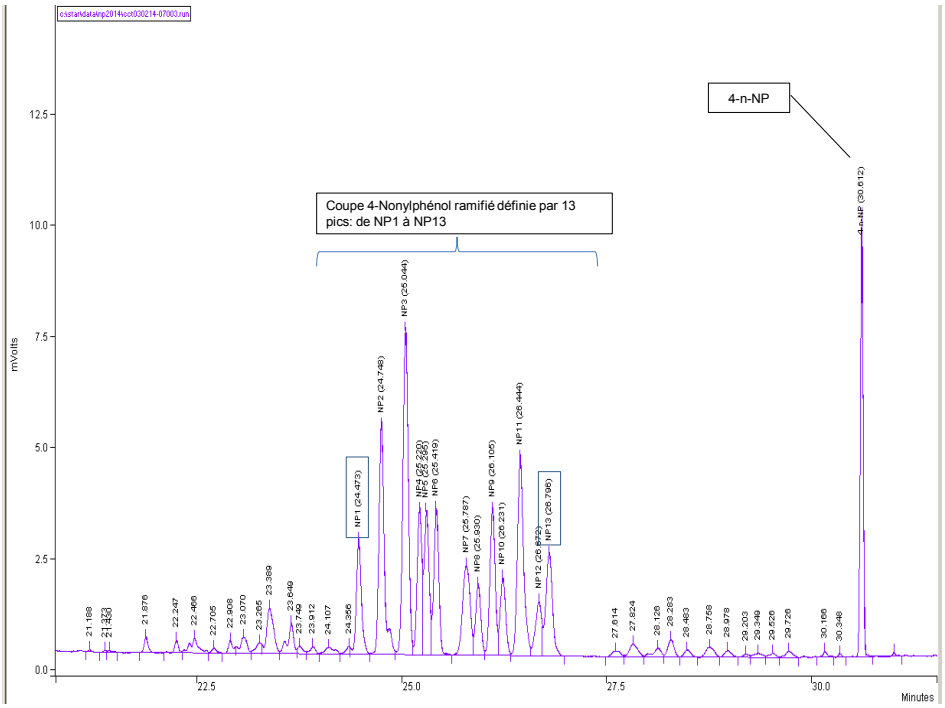


Figure 9: Chromatogramme de la coupe des 4-nonylphénols ramifiés en présence de 4-nonylphénol linéaire en CG/FID

7.3.2 Caractérisation de la fenêtre d'élution de la coupe 4-nonylphénol

Comme indiqué dans la suite de ce document, d'autres composés peuvent être présents dans les solutions étalons de 4-nonylphénol. Ainsi, afin de définir une fenêtre correspondant à l'élution de la coupe des différents isomères, le temps de rétention n'apporte qu'une référence limitée. En effet, les temps de rétention peuvent varier en fonction de diverses influences notamment la condition de la colonne. Ainsi, afin de pouvoir disposer de conditions de référence qui permettent de déterminer clairement les limites de la coupe de 4-nonylphénol, un temps de rétention relatif calculé par rapport à une substance de référence est préférable. La substance de référence choisie est le 4-nonylphénol linéaire (4-n-NP) qui a l'avantage d'appartenir à la famille des 4-nonylphénols mais dont la trace chromatographique se présente sous la forme d'un composé individuel détaché de la coupe de 4-nonylphénols et donc aisément identifiable. Ainsi cette substance de référence reflète les éventuelles variations de temps de rétention que peut subir le mélange des 4-nonylphénols.

Une détermination du temps de rétention relatif de chaque pic d'isomère par rapport au temps de rétention du 4-nonylphénol linéaire peut être ainsi un second indicateur permettant de définir la fenêtre de temps pendant laquelle la coupe du mélange technique de 4-nonylphénol est séparée.

Le calcul du temps de rétention relatif (RRT) est défini comme suit :

$$RRTi = Tr(i)/Tr(4\text{-}n\text{-}nonylphénol)$$

RRTi : temps de rétention relatif de l'un des 13 pics constituants la coupe des 4-nonylphénols ramifiés.

Tr(i): temps de rétention de l'un des 13 pics constituants la coupe des 4-nonylphénols ramifiés, en minutes.

Tr(4-n-nonylphénol): temps de rétention du 4-n-nonylphénol , en minutes.

A titre d'exemple, l'exercice de calcul des RRTi a été réalisé sur 2 références : ARO 300 et ARO 315, dont les contributions massiques sont sensiblement différentes (voir tableau 3), et à deux dates d'analyse différentes pour la référence ARO 300.

Tableau 3 : RRT(i) des 13 isomères de la coupe 4-NP

Référence commerciale du mélange technique	**A2S - N038P100**				**ALDRICH - 290858**	
Référence interne	ARO 300				ARO 315	
Date d'analyse	04/02/2014		15/05/2014		15/05/2014	
Tr(4-n-nonylphénol) :	30,777 min		30,612 min		30,610 min	
	Tr(i)	**RRT(i)**	**Tr(i)**	**RRT(i)**	**Tr(i)**	**RRT(i)**
NP1	24,824	0,81	24,473	0,80	24,473	0,80
NP2	25,112	0,82	24,748	0,81	24,75	0,81
NP3	25,21	0,82	25,044	0,82	25,047	0,82
NP4	25,596	0,83	25,22	0,82	25,216	0,82
NP5	25,684	0,83	25,295	0,83	25,3	0,83
NP6	25,808	0,84	25,419	0,83	25,42	0,83
NP7	26,185	0,85	25,787	0,84	25,777	0,84
NP8	26,337	0,86	25,93	0,85	25,934	0,85
NP9	26,518	0,86	26,105	0,85	26,109	0,85
NP10	26,648	0,87	26,231	0,86	26,237	0,86
NP11	26,868	0,87	26,444	0,86	26,45	0,86
NP12	27,104	0,88	26,672	0,87	26,674	0,87
NP13	27,234	0,88	26,796	0,88	26,806	0,88

Dans cet exemple de calcul, on observe une diminution du temps de rétention des 4-nonylphénols entre l'analyse du 04/02/14 et du 15/05/14, dû à un probable vieillissement de la colonne de chromatographie, toutefois le RRT n'est que très peu impacté. Aussi, le résultat obtenu pour chaque isomère est indépendant de la référence retenue et donc de la variation en composition massique de la coupe 4-nonylphénol.

Cette caractérisation permet en plus de s'assurer de la bonne identification des 13 pics d'isomères de la coupe à partir de laquelle la pureté du mélange (7.5) ainsi que la contribution massique de chaque isomère peuvent être établies (7.6).

Cette approche peut être également appliquée pour la détection par spectrométrie de masse notamment dans le cas d'échantillons complexes. En effet, pour ce type d'échantillon, lorsque des ions peu sélectifs sont utilisés (par exemple l'ion m/z= 107 dans ce cas), des interférences peuvent masquer partiellement le début et la fin de la coupe 4-nonylphénol. Les temps de rétention peuvent également être modifiés par des effets de matrice. Les temps de rétention relatifs peuvent ainsi être utilisés pour définir les limites d'intégration de la coupe et réduire une éventuelle surestimation du résultat rendu.

7.4 ANALYSE DES REFERENCES COMMERCIALES PAR CG-FID

Chacune des références commerciales citées dans le tableau 2 a été analysée par CG/FID.

Les chromatogrammes obtenus pour 3 substances aux numéros CAS différents sont présentés ci-dessous :

Solution avec CAS 84252-15-3

- Solution SIGMA-ALDRICH 290858 (référence interne ARO 129), qui illustre le profil chromatographique obtenu pour ce numéro CAS.

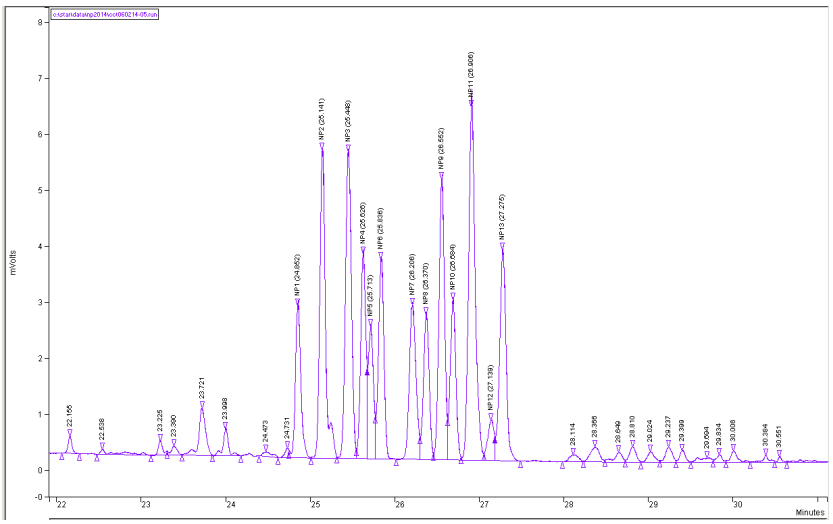


Figure 10: Chromatogramme de la référence ALDRICH-290858, CAS 84852-15-3, réception février 2014, « Nonylphenol technical grade, mixture of ring and chain isomers", en CG/FID

Solution avec CAS 25154-52-3

- La référence « Nonylphénol Technical » (référence interne ARO299) commercialisé avec le numéro CAS 25154-52-3 montre principalement un profil chromatographique de coupe de 4-nonylphénol et non pas un chromatogramme avec 3 pics correspondant aux isomères 2-n-NP, 3-n-NP et 4-n-NP comme le Chemical Abstract Service définit ce numéro CAS.

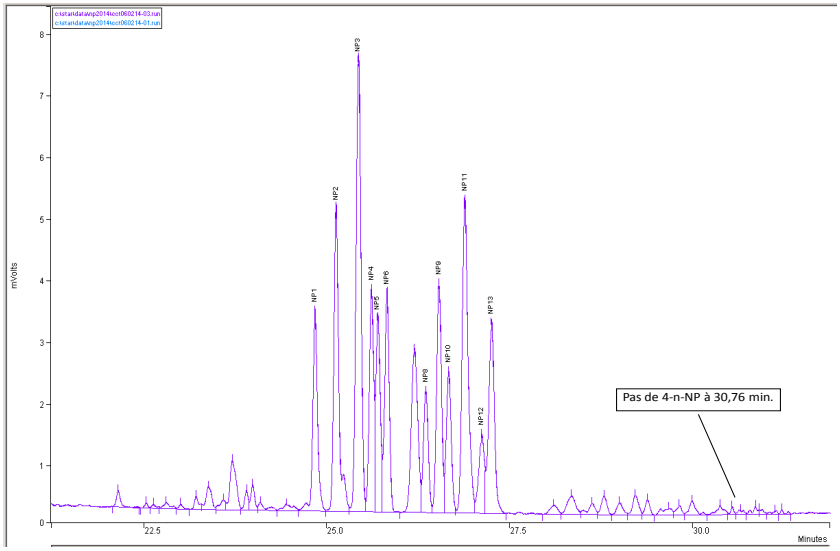


Figure 11: Chromatogramme de la référence Nonylphénol (Technical) CAS 25154-52-3 en CG/FID.

Solution avec CAS 11066-49-2

- SIGMA-ALDRICH commercialise depuis plus de dix ans une référence catalogue 290858 de « Nonylphenol technical grade, mixture of ring and chain isomers", le numéro CAS attribué en 2002 était 11066-49-2 (celui de l'isononylphénol), en 2014 le numéro CAS attribué est le 84252-15-3 correspondant au mélange de 4-nonylphénol (chaine nonyl ramifiée, voir 5.2).

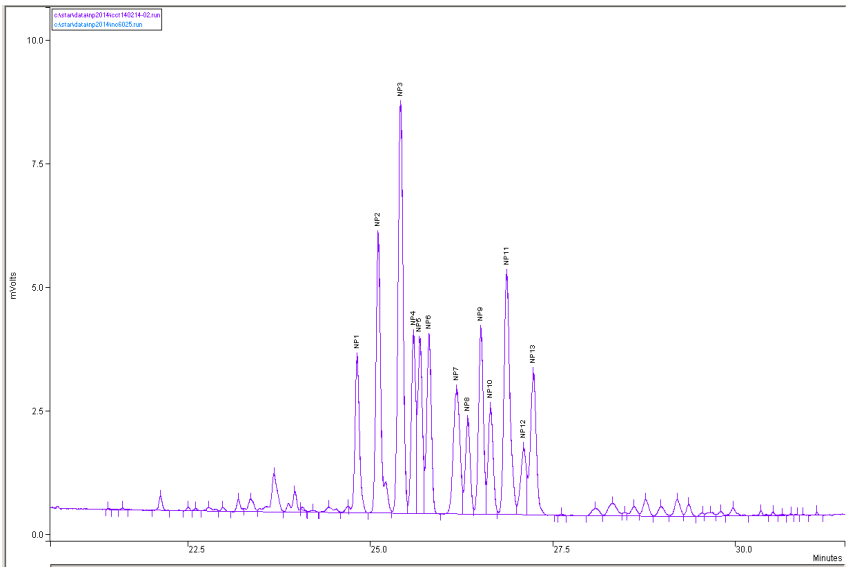


Figure 12: Chromatogramme de la référence ALDRICH-290 858, CAS 11066-49-2, réception février 2002 « Nonylphenol technical grade, mixture of ring and chain isomers", en CG/FID.

Le numéro CAS 11066-49-2 attribué en 2002 à la référence catalogue 290858 s'avère contenir la coupe des isomères 4-nonylphénol (en figure 12).

Les profils chromatographiques de la référence 290858 sous les numéros CAS 11066-49-2 et CAS 84852-15-3 sont identiques. Le fabricant a ainsi effectué entre temps une correction (pertinente) sur le numéro CAS correspondant en rapport à la solution vendue.

Pour conclure sur l'analyse des coupes par CG/FID, les chromatogrammes obtenus sur l'ensemble de références présentent des profils semblables comme l'illustre la figure 13 ci-après :

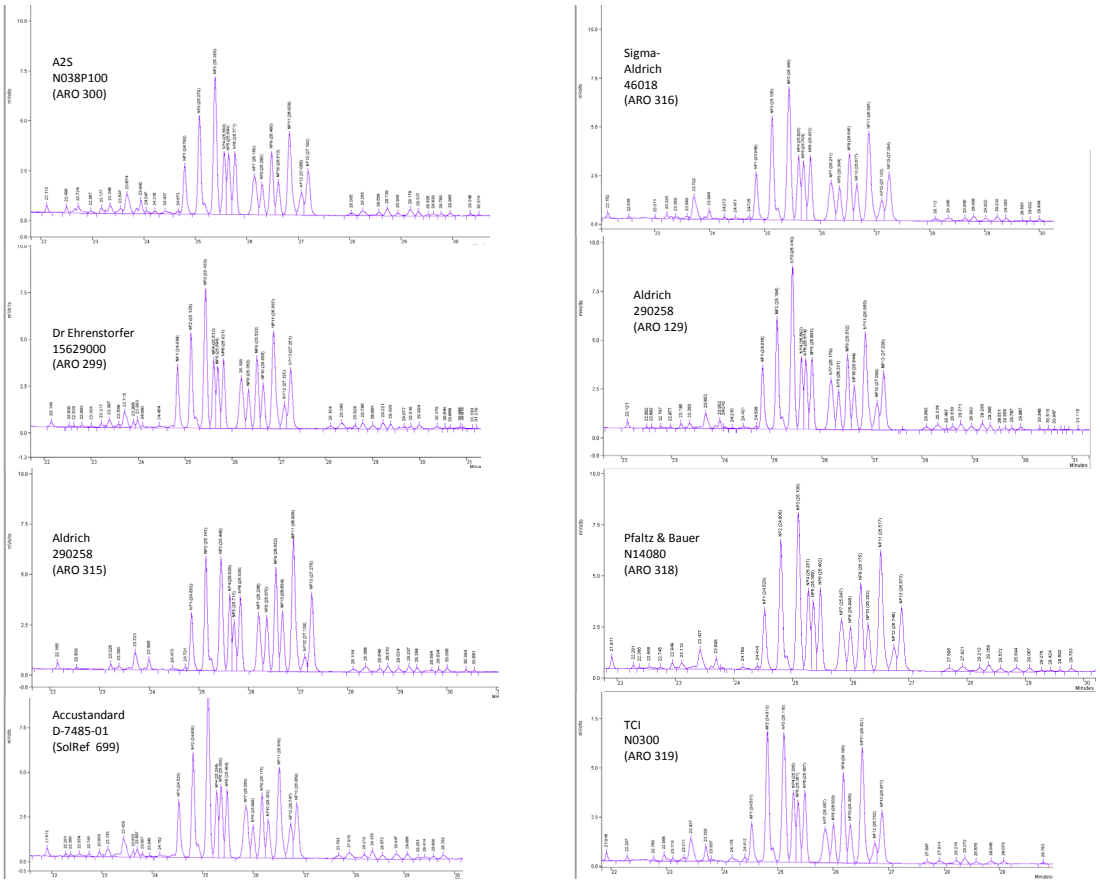


Figure 13: Chromatogrammes des analyses en CG/FID obtenus pour 8 solutions commerciales

7.5 PURETE DES SOLUTIONS COMMERCIALES DE 4-NONYLPHENOL

L'analyse des solutions commerciales permet d'observer des pics avant et après la coupe (figures 11). Ces observations semblent indiquer que les solutions ne présentent pas un degré de pureté analytique >99%. Ainsi, au vu de ces résultats, on peut même douter du degré de pureté affiché par certains fabricants. Par conséquent, le calcul de pureté est établi en interne selon les conditions CG/FID et par le calcul suivant :

$$Pureté\ (\%) = \frac{(somme\ des\ aires\ des\ constituants) - (somme\ des\ aires\ des\ impuretés)}{(somme\ des\ aires\ des\ constituants)}\ x100$$

Les résultats obtenus sont comparés à ceux des certificats d'analyses des fournisseurs :

Tableau 4 : Puretés fabricants et puretés calculées en interne sur des solutions commerciales de 4-nonylphénol

	Nonylphénol (Technical)	**Nonylphénol-4**	**Nonylphénol technical grade, mixture of ring and chain isomers**	**Nonylphénol PESTANAL® analytical standard**	**Nonylphénol technical grade, mixture of ring and chain isomers**	**Nonylphénol mixture of ring and chain isomers Tech. Grade**	**4-Nonylphénol (mixture of branched chain isomers)**	**Nonylphénol**
CAS	[24254-52-3]	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[11066-49-2]	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[84852-15-3]
Fabricant	Dr Ehrenstorfer	A2S	ALDRICH	SIGMA-ALDRICH	ALDRICH	Pfaltz & Bauer	TCI	Accustandard
Référence fournisseur	15629000	N038P100	290858	46018	290858	N14080	N0300	D-7485-01
Pureté Fabricant	Pas de données	99,0%	Pas de données	95,4%	Pas de données	Pas de donnée	Pas de donnée	« Tech. Mix »
Impuretés (%) Avant coupe 4-nonylphénol	7%	10%	5%	7%	5%	7%	7%	7%
Impuretés (%) Après coupe 4-nonylphénol	5%	6%	5%	4%	5%	5%	4%	7%
Pureté estimée(%) de l'étalon commercial	88%	84%	90%	89%	90%	88%	89%	86%
Référence interne	ARO299	ARO300	ARO315	ARO316	ARO129	ARO 318	ARO 319	SOL REF 699

Ces résultats permettent donc de ne considérer aucune des références de nonylphénol comme étant pures à 99%, ce qui explique peut être l'absence d'indication de pureté pour les références internes ARO299, ARO315, ARO129, ARO318, ARO319 et SOL REF 699.

En revanche, 2 références sont fournies avec certificat d'analyse et pourcentage de pureté :

- La référence interne ARO300 où le certificat d'analyse fourni par A2S (annexe 8) présente une analyse en HPLC/UV qui ne prend pas en compte au moins 2 pics d'impuretés, un avant et l'autre après le pic de 4-nonylphénol (la chromatographie de la coupe de 4-nonylphénol en HPLC se présente également sous la forme d'un seul pic, il n'y a pas de séparation des isomères)
- La référence interne ARO316 de SIGMA-ALDRICH (annexe 9) annonce une pureté de 95,4% définie par analyse en CG/SM où la pureté est calculée à partir de l'intensité de l'ion m/z= 220 uma. Cet ion est le pic moléculaire du spectre de masse des nonylphénols, il n'est pas spécifique à la position 4- de la chaîne nonyl sur le cycle benzénique et majore donc le résultat de pureté du mélange 4-nonylphénol s'il y a présence d'autres isomères de position. Pour notre étude, l'addition du 4-nonylphénol et de l'impureté avant la coupe du 4-nonylphénol correspondant au 2-nonylphénol permet d'obtenir un pourcentage de 96%, comparable à la valeur annoncée par le fabricant.

En complément des résultats obtenus en CG/FID, les données bibliographiques décrivent depuis plusieurs décennies (1992), le mélange de nonylphénols comme étant un mélange complexe d'isomères, non pas seulement de 4-nonylphénol (para-nonylphénol) mais également de 2-nonylphénol (ortho-nonylphénol) [6, 7, 12].

Kirk-Othmer [6] précise en 2004 qu'il existe commercialement 3 qualités de 4-nonylphénol :

- 2 qualités techniques de 4-nonylphénol qui sont composées de 10-12% de 2-nonylphénol, 85-90% de 4-nonylphénol et jusqu'à 5% de 2,4-dinonylphénol,
- 1 qualité de haute pureté de 4-nonylphénol qui contient au maximum 5% de 2-nonylphénol, 95% de 4-nonylphénol et seulement quelques traces de 2,4-dinonylphénol.

Weehler *et al.* [7] ont défini le mélange de p-nonylphénol (4-nonylphénol) comme étant un mélange complexe d'isomères dont la composition est approximativement de 3-6% d'o-nonylphénol (2-nonylphénol), de 90-93% de p-nonylphénol (4-nonylphénol) et de 2-5% de décylphénol et non pas de 2,4-dinonylphénol.

Une note d'application SIGMA-ALDRICH [13] rédigée par O. Heemkem (Membre du groupe de travail ISO/DIN « Phenols with CG ») et N. Amann (Chef de produit « Etalon analytique » de chez Sigma-Aldrich) rejoint la description de Wheeler *et al.* [7] concernant la présence de décylphénol. Cette note décrit la qualité technique de nonylphénol comme un mélange d'isomères para à branches ramifiées (>90%), d'isomères ortho- à branches ramifiées (<10%) et de traces de décylphénol [13]. Cette description est illustrée par une analyse CG/SM (colonne 5 % phényl – 95 % polyméthylsiloxane 25 m x 0,25 mm x 0,25 µm) où les isomères ortho-nonylphénol (2-nonylphénol) sortent avant la coupe 4-nonylphénol et les isomères décylphénol sortent après la coupe 4-nonylphénol.

Pour résumer, les mélanges techniques distribués commercialement sous l'appellation « 4-nonylphénol » ou « nonylphénol technique » (CAS 84857-15-3) sont en fait composés de 85 à 95% de 4-nonylphénol avec 10 à 12% de 2-nonylphénol (pics qui éluent dans les conditions spécifiées avant la coupe 4-nonylphénol) et 2 à 5 % de décylphénol et/ou de 2,4-dinonylphénol (pics qui éluent après la coupe 4-nonylphénol), en concordance avec les résultats trouvés (tableau 3). La composition des mélanges techniques peut être illustrée par la figure suivante :

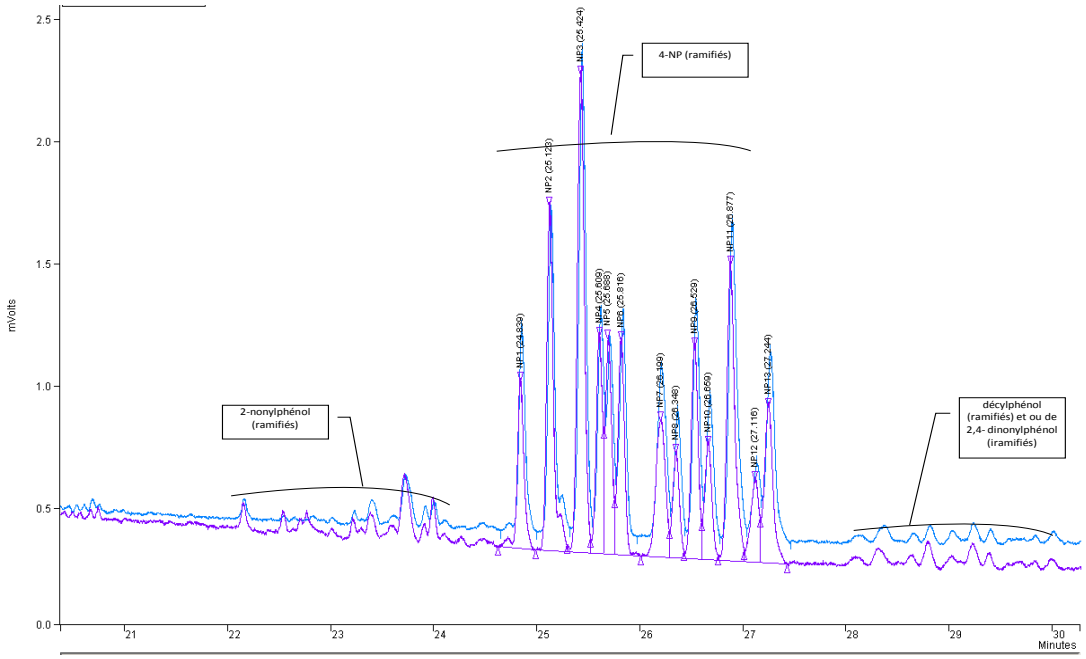


Figure 14: Chromatogramme des références ARO 299 (CAS 24254-52-3) et ARO 300 (CAS 84852-15-3) en CG/FID

En conclusion, les étalons analytiques utilisés par les laboratoires de routine pour la surveillance du 4-nonylphénol (ou 4-nonylphénol-ramifié) sont mal caractérisés par les fabricants. Dans de nombreux cas, les mélanges vendus sont sous l'appellation « nonylphénol » ce qui implique qu'ils sont composés en grande majorité de 4-nonylphénol mais aussi de 2-nonylphénol (entre 5 et 10%). En outre, le degré de pureté en 4-nonylphénol n'est soit pas connu/indiqué par le fabricant, soit incorrect dans le cas où il affiché. Enfin, il faut également mentionner que les certificats accompagnant ces étalons sont peu explicites aussi bien au niveau de l'identification de la substance que de sa pureté.

Deux recommandations peuvent être formulées :

- Soit une action en amont en imposant aux fabricants:
  - → Dans le cas des étalons sous formes brutes (liquide visqueux), un mode de détermination unique de la pureté par CG/FID (ou par l'utilisation d'une technique adaptée (GC * GC,…) en conservant une détection par FID).
  - → Dans le cas des solutions étalons, d'être en mesure de :
    - Démontrer qu'il a connaissance de la pureté des étalons analytiques utilisés pour la fabrication de ce mélange à façon.
    - Spécifier dans la concentration de la solution si la pureté a été prise ou compte et si oui, comment.
- Soit une action en aval en imposant aux laboratoires de routine de vérifier la pureté de leur mélange technique par CG/FID (ou technique adaptée avec détection FID), cette solution étant plus contraignante.

7.6 CONTRIBUTION DES ISOMERES INDIVIDUELS DE LA COUPE 4-NP EN CG/FID

La détermination de la contribution de chaque isomère par CG/FID est nécessaire pour chaque référence fournisseur utilisée car la composition des mélanges de 4-nonylphénol ramifié varie selon le fabricant.
La norme ISO 24293 recommande la détermination de la contribution de chaque isomère de la coupe 4-NP par analyse CG/FID selon le calcul suivant :

$$Wi = Ai(FID)/At(FID) * 100$$

Avec :
Wi : la contribution de l'isomère individuel, en pourcentage
Ai (FID): l'aire du pic de l'isomère individuel, unité d'aire
At (FID): la somme des aires des isomères individuels, unité d'aire.

Selon les conditions analytiques en annexe 5, les contributions ont été déterminées sur plusieurs références étalons dont la dénomination fournisseur est « Nonylphenol Technique» et/ou possède le CAS 84852-153-3.

Nous avons effectué cette démarche et ce calcul pour toutes les solutions testées (tableau 5).

Tableau 5 : Contribution des 13 isomères de la coupe 4-NP

Dénomination	**Nonylphenol (Technical)**	**Nonylphénol-4**	**Nonylphenol technical grade, mixture of ring and chain isomers**	**Nonylphénol PESTANAL® analytical standard**	**Nonylphenol technical grade, mixture of ring and chain isomers**	**Nonylphenol mixture of ring and chain isomers Tech. Grade**	**4-Nonylphenol (mixture of branched chain isomers)**	**Nonylphénol**
CAS	[25154-52-3]	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[11066-49-2]	[84852-15-3]	[84852-15-3]	[84852-15-3]
Fabricant	Dr Ehrenstorfer	A2S	ALDRICH	SIGMA-ALDRICH	ALDRICH	Pfaltz & Bauer	TCI	Accustandard
Fournisseur	CIL-Cluzeau	CIL-Cluzeau	SIGMA-ALDRICH	SIGMA-ALDRICH	SIGMA-ALDRICH	Interchim	Interchim	Interchim
Référence	15629000	N038P100	290858	46018	290858	N14080	N0300	D-7485-01
Date d'achat	Mars 2013	Mars 2013	Février 2014	Février 2014	Février 2002	Février 2014	Février 2014	Février 2014
Pureté	Pas de donnée	99,0% par analyse HPLC/UV	Pas de donnée	95,4% par analyse CG/SM	Pas de donnée	Pas de donnée	Pas de donnée	« Tech. Mix »
Abréviation	Contribution (%)	Contribution (%)	Contribution (%)	Contribution (%)	Contribution (%)	Contribution (%)	Contribution (%)	Contribution (%)
NP1	6,7%	5,6%	5,4%	5,2%	5,9%	5,5%	3,9%	5,9%
NP2	10,8%	12,0%	11,3%	12,7%	11,5%	12,4%	14,5%	11,3%
NP3	15,9%	17,1%	11,8%	16,7%	17,3%	15,6%	14,8%	18,2%
NP4	7,1%	7,0%	6,9%	7,1%	6,7%	7,4%	7,5%	6,2%
NP5	5,7%	6,8%	4,2%	6,3%	6,6%	5,6%	5,6%	7,2%
NP6	7,1%	7,1%	7,1%	7,2%	6,9%	7,3%	7,2%	6,5%
NP7	7,3%	6,7%	6,6%	6,4%	7,0%	6,3%	5,3%	7,9%
NP8	4,1%	3,6%	5,4%	3,9%	3,8%	4,1%	4,1%	3,3%
NP9	7,8%	7,8%	10,2%	8,2%	7,5%	8,4%	9,7%	6,7%
NP10	4,7%	4,2%	5,7%	4,2%	4,5%	4,3%	4,1%	4,0%
NP11	12,6%	12,2%	15,1%	12,5%	12,0%	13,3%	14,0%	11,5%
NP12	2,8%	3,3%	1,7%	2,7%	3,1%	2,5%	2,4%	4,2%
NP13	7,4%	6,7%	8,6%	6,9%	7,1%	7,2%	6,7%	7,1%
Référence interne	ARO299	ARO300	ARO315	ARO316	ARO129	ARO318	ARO319	SOL REF 699

Globalement, toutes les solutions présentent une coupe sensiblement similaire. Cependant, la composition par isomère diffère plus ou moins significativement selon la référence retenue. Par exemple :

- pour la référence interne ARO315, les contributions de l'isomère NP2 (11,3 %) et de l'isomère NP3 (11,8%) sont proches alors que dans les autres mélanges, elles sont différentes de 4% au minimum.
- la contribution de l'isomère NP11 est de 15,1% pour la référence interne ARO315 alors que dans les autres références, sa contribution est de 12,3 $^{+}/_{-}$ 0,3 %.

Ces variations observées d'un mélange à l'autre sont illustrées par la figure suivante :

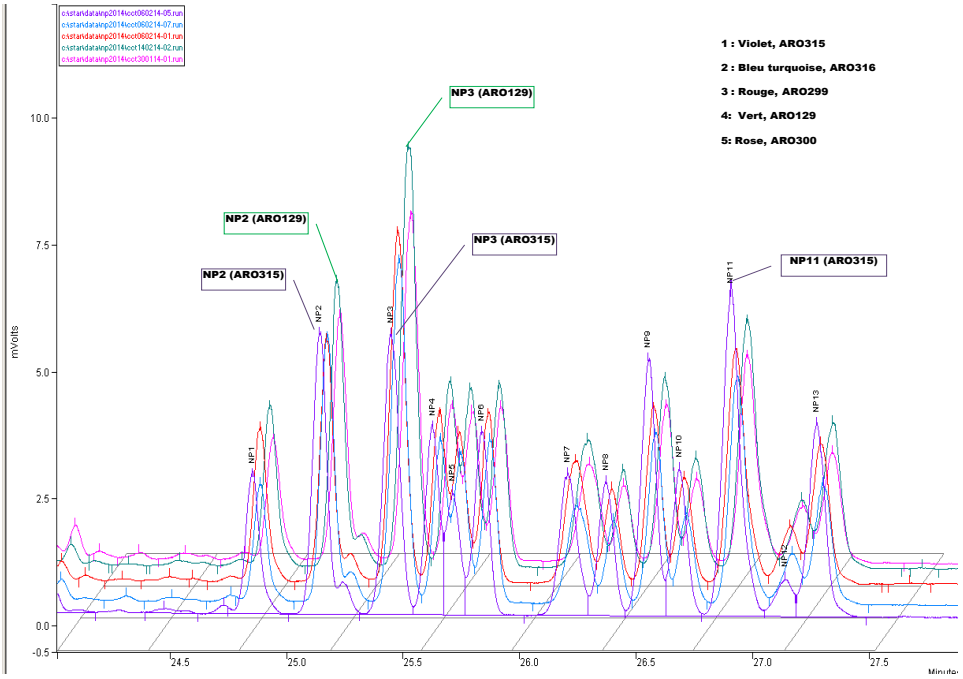


Figure 15: Superposition de 5 chromatogrammes de la coupe de 4-nonylphénol selon les références de mélange de nonylphénol (CG/FID)

Les références commerciales, bien que présentant de nombreuses similitudes, ne sont pas complètement semblables. Il semble ainsi pertinent d'effectuer la caractérisation précise du mélange technique 4-nonylphénol par CG/FID afin de pouvoir appréhender les différences observées pour les analyses par CG/SM. Cette caractérisation ne peut pas être réalisée en CG/SM du fait des variations de rendement d'ionisation d'un analyseur à l'autre notamment dans le cas de technologies différentes (analyseur type trappe d'ions et un analyseur type quadripôle par exemple).

En conclusion, la caractérisation des mélanges techniques de nonylphénol par CG/FID met en évidence un problème de pureté des mélanges techniques déjà exposé dans d'autres études [6-11] ainsi que des différences de contributions massiques des différents isomères selon les mélanges commerciaux disponibles comme précédemment évoqué dans la littérature [11].

7.7 CONSTITUTION DE MELANGE D'ISOMERES INDIVIDUELS DE 4-NONYLPHENOL

Les solutions commerciales n'étant composées qu'autour de 90% en 4-nonylphénol, nous avons cherché à déterminer si une solution synthétique constituée d'étalon d'isomères individuels purs pouvait être utilisée.

7.7.1 Solutions individuelles disponibles commercialement

Plusieurs équipes de recherche ont rapporté la synthèse d'isomères individuels de 4-nonylphénol :

- Katase *et al.* ont synthétisé 13 isomères [11] dans leur laboratoire de l'Université de Nihon, Fujisawa (Japon).
- Thiele *et al.* ont fait synthétiser 10 isomères individuels [9] par K.H. Dötz et ses collaborateurs de l'Université de Bonn (Allemagne).

D'autres équipes de recherche ont eu l'approche inverse, celle de fractionner la coupe 4-nonylphénol des mélanges techniques commerciaux afin d'isoler des isomères individuels. Ainsi, l'équipe de Kim *et al.* [10] a développé 6 méthodes par HPLC-préparative et une méthode CG de purification afin de séparer 18 isomères individuels. Deux analyses d'identification sont ensuite nécessaires, une en CG-SM et une autre en RMN. Cette approche est cependant longue, onéreuse et complexe à mettre en œuvre pour les laboratoires analytiques.

Les travaux rapportés par d'autres équipes de recherche se limitent à la séparation des isomères des mélanges techniques. Ils s'appuient ensuite sur la littérature ou travaillent en collaboration avec d'autres équipes de recherche qui ont les moyens de synthétiser les isomères pour postuler des identifications d'isomère:

- Ieda *et al.* [14] séparent 102 composés du mélange technique de nonylphénols par CG*CG-SM. Cependant leur identification s'appuie sur la littérature, dont une publication à la base de la norme ISO 24293, et se limite à 12 isomères de 4-nonylphénol.
- Makino [15] a divisé le mélange technique de nonylphénol en 13 fractions par HPLC puis s'est approché d'autres équipes de recherches telles que Kim *et al.* [10] pour la synthèse d'isomères individuels.

Cette démarche n'est cependant pas possible pour des laboratoires d'analyse. Il faut disposer de produits individuels mais qui soient accessibles commercialement.

La liste des 13 isomères identifiés par l'ISO 24293 est celle qui devrait servir de référence puisqu'il s'agit des isomères dont la contribution massique est majoritaire.

Cette liste a permis de définir une base de recherche des numéros CAS et des fournisseurs éventuels. La recherche des numéros CAS a été réalisée sur le site de Chemspider, puis plusieurs fournisseurs susceptibles de répondre à la demande ont été interrogés :

- TCI-Europe (Anvers-Belgique)
- SIGMA-ALDRICH (Saint Quentin Fallaviers-France)
- LCG-Standards (Molsheim-France)
- Cluzeau (Sainte-Foy-la-Grande-France)
- GRACE Discovery Sciences - ACSD2 (Epernon-France)
- Interchim (Montluçon-France)
- ABI-Chemicals (Munich Allemagne)
- ACHEMICA (Aigle-Suisse)
- BOC Sciences (New-York-USA ou Cambridge-UK)
- TRACTUS (Hong-Kong-Chine)

Les différents fournisseurs des isomères individuels commercialement disponibles sont répertoriés dans le tableau 6 :

Tableau 6 : Liste des fournisseurs et des références des isomères commercialement disponibles.

ISO 24293	selon nomenclature	Nom du composé	Synonyme de la référence fournisseur	Numéro CAS	Fournisseur	Référence fournisseur
NP-1	244-NP	4-(2,4-Diméthylheptan-4-yl)- phénol	Phénol, 4-(1,3-diméthyl-1-propylbutyl)-	142731-65-5	ACHEMICA	ACMC-20n1q4
NP-2	242-NP	4-(2,4-Diméthylheptan-2-yl)-phénol	Phénol, 4-(1,1,3-Triméthylhexyl)-	174305-83-0	ABI CHEM-Tractus-HK	AC2A0E73W
NP-3	363-NP	4-(3,6-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	4-(3',6'-diméthyl-3'-heptyl)-phénol	142731-63-3	ABI Chem	AC2A05EFF
NP-3	363-NP	4-(3,6-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	4-(3',6'-diméthyl-3'-heptyl)-phénol	142731-63-3	BOC Science	142731-63-3
NP-3	363-NP	4-(3,6-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	4-(1-Ethyl-1,4-diméthylpentyl)-phénol	142731-63-3	Sigma-Aldrich	33701
NP-3	363-NP	4-(3,6-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	Phénol, 4-(1-ethyl-1,4-dimethylpentyl)-	142731-63-3	ACHEMICA	ACMC-20eiie
NP-4 et NP-6	353-NP	4-(3,5-Diméthylhepan-3-yl)-phénol	4-(1-Ethyl-1,3-Diméthylpentyl)-phénol	186825-36-5	Sigma-Aldrich	33707
NP-5	252-NP	4-(2,5-Diméthylheptan-2-yl)-phénol	Pas de fournisseur	Pas de CAS	-	-
NP-7	3E22-NP	4-(3-Ethyl-2-méthylhexan-2-yl)-phénol	Pas de fournisseur	Pas de CAS	-	-
NP-8 et/ou NP-10	344-NP	4-(3,4-Diméthylheptan-4-yl)-phénol	Phénol, 4-(1,2-diméthyl-1-propylbutyl)-	866790-13-8	ABI Chem-Tractus-HK	AC2A0FH7B
NP-9 et/ou NP-13	343-NP	4-(3,4-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	Phénol, 4-(1-éthylL-1,2-diméthylpentyl)-	866790-14-9	ABI Chem-Tractus-HK	AC2A0FH7C
NP-11	232-NP	4-(2,3-Diméthylheptan-2-yl)-phénol	Pas de fournisseur	Pas de CAS	-	-
NP-12	33-NP	4-(3-Méthyl-3-octyl)-phénol	4-(1-éthyl-1-méthylhexyl)-phénol	52427-13-1	Sigma-Aldrich	32702
NP-12	33-NP	4-(3-Méthyl-3-octyl)-phénol	4-(1-éthyl-1-méthylhexyl)-phénol	52427-13-1	ABI Chem	AC2A05UJK
NP-12	33-NP	4-(3-Méthyl-3-octyl)-phénol	4-(1-éthyl-1-méthylhexyl)-phénol	52427-13-1	BOC Science	52427-13-1

Les isomères NP-5, NP-7 et NP-11 n'ont pas de numéro CAS attribué ce qui constitue une importante entrave pour la recherche de fournisseurs qui s'est avérée infructueuse. Pour le NP1, le seul fournisseur, ACHEMICA, n'a pas donné suite à notre demande. Aussi, une mise en garde est à noter sur le fait que certains sites de commerce peuvent lister des références d'isomères sans assurer leur disponibilité. Il semblerait que la disponibilité de ces références dépende d'un stock limité et irrégulièrement approvisionné de la part des fournisseurs.

Les composés 363-NP, 353-NP et 33-NP (isomères NP-3, NP-4/NP-6 et NP-12) ont été commandés chez SIGMA ALDRICH avec un délai de livraison de quelques jours. Les autres composés 242-NP, 344-NP et 343-NP (isomères NP-2, NP-8/NP-10, NP-9/NP-13) ont été commandés chez Tractus qui était le seul fournisseur qui annonçait pouvoir nous fournir à la date de l'étude avec un délai de 10 semaines. Cependant, au terme de 5 mois de tentative de production, le fournisseur Tractus n'a pas réussi à nous fournir.

Les résultats des analyses sur les isomères reçus : NP-3, NP-4, NP-6 et NP-12 sont présentés dans la suite. Cependant, au vu du faible nombre d'isomères disponibles, la démarche d'élaborer un mélange synthétique d'isomères maîtrisé à partir d'isomères purs n'a pas été poursuivie et ne semble pas constituer une option possible pour une surveillance routinière.

7.7.2 Analyse des solutions d'isomères individuels par CG/FID

Les composés 353-NP (4-(3,5-Diméthylhepan-3-yl)-phénol), 363-NP (4-(3,6-Diméthylheptan-3-yl)-phénol) et 33-NP (4-(3-Méthyl-3-octyl)-phénol) sont les seuls isomères individuels qui ont pu être obtenus.

Le composé 353-NP est un mélange de deux diastéréoisomères [3,9]. La norme ISO 24293 identifie ces 2 diastéroisomères comme étant les isomères NP-4 et NP-6. Les composés 363-NP et 33-NP sont des composés ne comportant chacun qu'un seul isomère individuel, respectivement le NP-3 et le NP-12. Les conditions chromatographiques retenues (annexes 4 et 5) permettent bien de séparer ces 4 isomères. Les temps de rétention de ces isomères correspondent à ceux identifiés dans la norme ISO 24293.

Les chromatogrammes en CG/FID et CG/SM (Full-scan) obtenus pour chaque solution individuelle de ces composés, sont présentés ci-dessous en comparaison d'un chromatogramme de mélange technique de 4-nonylphénol :

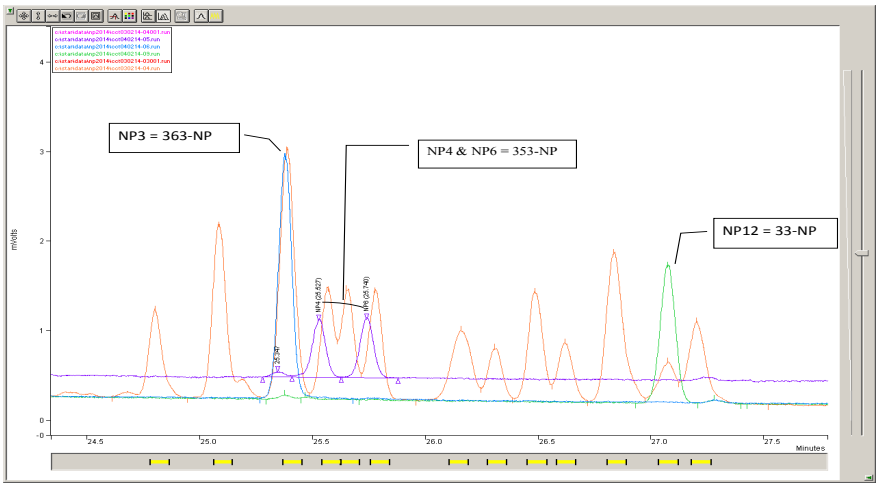


Figure 16: Chromatogrammes en CG/FID des 3 composés 353-NP, 363-NP et 33-NP superposés au chromatogramme de la coupe 4-NP (ARO 300)

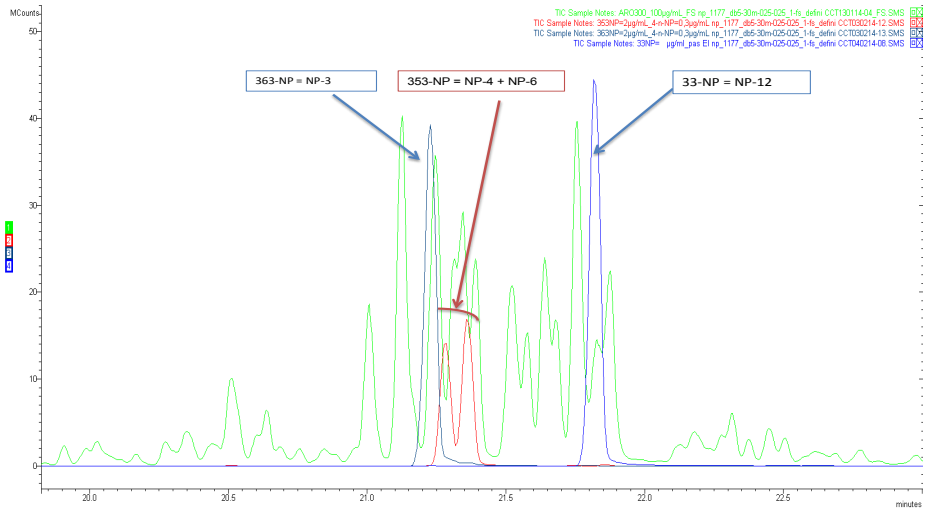


Figure 17: Chromatogrammes en CG/SM (Full-scan) des 3 composés 353-NP, 363-NP et 33-NP superposés au chromatogramme de la coupe 4-NP

7.7.3 Conclusion.

Seules 4 solutions d'isomères individuels définis selon la norme ISO 24293 ont pu être approvisionnées. Ainsi, il n'est pas possible de reconstituer un mélange synthétique représentatif des mélanges techniques disponibles commercialement et/ou retrouvés dans l'environnement.

8. ETUDE DE LA QUANTIFICATION PAR ANALYSE PAR CG/SM

Les quantifications du 4-nonylphénol ont été effectuées par CG/SM selon les différentes normes en vigueur.

- La norme ISO 24293 quantifie 13 isomères individuels en utilisant les ions spécifiques de chaque isomère, elle fait intervenir la notion de contribution massique de chaque isomère.
- La norme ISO 18857-1 recommande l'utilisation des ions m/z= 107 et m/z= 135 pour la mesure de la coupe 4-nonylphénol en intégrant l'enveloppe de la coupe dans sa globalité.

Afin de pouvoir étudier l'influence des différents mélanges techniques de 4-nonylphénol utilisés pour l'étalonnage sur les résultats provenant d'échantillons environnementaux, les différentes démarches de quantification en SM sont évaluées.

8.1 ETUDE DE LA QUANTIFICATION DE LA COUPE 4-NONYLPHENOL EN CG/SM PAR ISOMERE INDIVIDUEL

La coupe des 4-nonylphénols ramifiés a été définie par la norme ISO 24293 comme étant majoritairement un mélange de 13 isomères individuels de 4-nonylphénols. Ainsi, elle amène à réaliser un étalonnage en CG/SM à partir de mélanges techniques commerciaux après leur caractérisation par CG/FID. Une quantification par isomère mais selon un mélange reconstitué d'isomères individuels commerciaux pourrait être proposée et permettrait ainsi d'éviter des écarts de mesure éventuels liés à la variation de composition des mélanges techniques commerciaux. Cependant cette définition de coupe 4-nonylphénol étant toujours sujette à controverse quant au nombre d'isomères pouvant la constituer (voir en 5.2), le calcul du facteur de réponse relatif obtenu sur chaque isomère en CG/SM corrigée de la contribution massique définie par analyse CG/FID est d'abord étudié car, si la coupe est composé de 13 isomères majoritaires, ce calcul devrait mettre en évidence le même facteur de réponse relatif quelque soit le mélange technique choisi.

8.1.1 Mode de calcul des facteurs de réponse en SM - Généralités

Les contributions massiques des isomères obtenues en CG/FID (Wi) sur ces mêmes mélanges (paragraphe 8.6) permettent de définir la concentration de chaque isomère selon la formule :

$$Ci = C_{4\text{-}NP} \times Wi$$

Avec :

Ci : concentration de l'isomère i, en µg/mL ou en ng/mL.

i : numéro de l'isomère, avec $i \in [1;13]$

$C_{4\text{-}NP}$: concentration en coupe de 4-nonylphénol, µg/mL ou ng/mL.

Wi : contribution massique de l'isomère i définie en CG/FID (définie en 7.6), en pourcentage.

Ainsi, les facteurs de réponse sont calculés pour chaque isomère en CG/SM, basés sur la réponse de chaque isomère divisée par la concentration de l'isomère. Afin de prendre en compte les variations de signal ou de conditions de l'appareil chromatographique, ce facteur est normalisé par rapport à la réponse du 4-n-nonylphénol, ajouté en tant qu'étalon interne (EI), obtenue dans la même injection.

$$FRRi = (A_i / A_{ei}) \times (C_{ei} / C_i)$$

où :

FRRi : facteur de réponse relatif pour chaque isomère individuel, sans unité.

A_i: aire de l'isomère individuel, déterminée par spectrométrie de masse, en unité d'aire.

A_{ei}: aire de l'étalon interne, déterminée par spectrométrie de masse, en unité d'aire.

C_{ei} : concentration de l'étalon interne, en µg/mL.

C_i : concentration de l'isomère i, en µg/mL ou en ng/mL.

Pour l'ensemble de l'étude, la concentration en 4-n-nonylphénol (C_{ei}) est constante, à 10 µg/mL.

Ces calculs ont été réalisés sur 2 mélanges techniques commerciaux de 4-nonylphénol dont le numéro CAS est 84852-15-3 à la concentration de 100 ng/µl en présence de 4-n-nonylphénol.

Les réponses (en unité d'aire) des ions m/z=107 uma et m/z=135 uma sont étudiées car ce sont les ions de quantification communs aux normes ISO 24293 et ISO 18857-1. L'ion m/z=107 uma étant un ion commun à tous les isomères des nonylphénols tandis que l'ion 135 n'est spécifique que pour certains isomères (NP-2, NP-3, N-5, NP-7, NP-11 et NP-13).

8.1.2 Calcul des facteurs de réponse en SM pour l'ion m/z = 107

Le tableau 7 répertorie le facteur de réponse de chaque isomère obtenues sur l'ion m/z = 107 uma pour les 2 mélanges testés.

Tableau 7 : Facteur de réponse de chaque isomère sur l'ion m/z = 107 uma, pour 2 mélanges techniques de CAS [84852-15-3] à 100 µg/mL.

Référence commerciale du mélange technique		N038P100- A2S CAS [84852-15-3]		290858-Aldrich CAS [84852-15-3]	
Référence interne:		ARO 300		ARO 315	
Isomère	Ion sélectionné (uma)	Ci (µg/mL)	Facteur de réponse FFRi	Ci (µg/mL)	Facteur de réponse FFRi
NP1	107	5,64	0,71	5,78	0,71
NP2	107	12,10	0,48	12,10	0,50
NP3	107	17,24	0,75	12,64	0,75
NP4	107	7,06	0,80	7,39	0,84
NP5	107	6,85	0,48	4,50	0,36
NP6	107	7,16	0,78	7,60	0,94
NP7	107	6,75	0,73	7,07	0,70
NP8	107	3,63	0,92	5,78	1,00
NP9	107	7,86	1,04	10,92	1,17
NP10	107	4,23	0,90	6,10	0,97
NP11	107	12,30	0,61	16,17	0,65
NP12	107	3,33	0,94	1,82	0,93
NP13	107	6,75	1,00	9,21	1,08

Pour un même mélange technique, les facteurs de réponse sont différents d'un isomère à l'autre. Cette variation peut être attribuée à une différence de rendement de fragmentation de l'ion m/z = 107 uma en fonction des isomères et plus particulièrement de la configuration spatiale de la chaîne nonyl.

Le facteur de réponse recalculé pour un même isomère présente des différences d'un mélange à l'autre alors que cette réponse corrigée de la composition massique définie par CG/FID devrait être identique. Si pour certains isomères, ces facteurs sont relativement proches, d'autres comme le NP5 sont sensiblement éloignés. Ce constat remet donc en doute la définition des mélanges techniques comme étant le mélange de 13 isomères majoritaires plutôt qu'un mélange de 21 ou 22 isomères [7, 9]. On peut supposer que la réponse peut, pour certains pics, être la somme des réponses de plusieurs isomères éluant au même temps de rétention et ayant une fragmentation en ion m/z = 107 uma.

Cette hypothèse est appuyée par les résultats de traitements d'ions du pic NP13, par exemple, présentés dans l'annexe 10. Le tracé du signal correspondant à l'ion m/z = 135 uma est décalé en temps de rétention par rapport au tracé en courant total du pic NP13. Selon Wheeler *et al.* [7] pour qui la coupe nonylphénol serait composée de 22 isomères, le pic NP13 (le pic 18 dans cette publication) ne comporte qu'un seul isomère de nonylphénol dont le pic de masse majoritaire est m/z= 149 uma et le pic secondaire est l'ion m/z = 107 uma. Ainsi les résultats obtenus au travers du présent travail (Annexe 10) sont cohérents avec les conclusions de Wheeler *et al.* [7] en contradiction à la norme ISO 24293 qui sélectionne l'ion m/z = 135 uma en tant qu'ion de quantification pour le pic NP13.

8.1.3 Calcul des facteurs de réponse en SM pour l'ion m/z = 135

La réponse relative obtenue sur l'ion m/z = 135 uma a été également étudiée car elle est retenue pour la quantification selon la norme ISO 18857-1 comme ion spécifique à la coupe 4-nonylphénol. Les facteurs de réponse sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Facteur de réponse et réponse recalculée en SM de chaque isomère sur l'ion m/z = 135 uma, dans 2 mélanges techniques de CAS [84852-15-3]

Référence commerciale du mélange technique		N038P100- A2S CAS [84852-15-3]		290858-Aldrich CAS [84852-15-3]	
Référence interne:		ARO300		ARO315	
Isomère	Ion sélectionné (uma)	Ci (µg/mL)	Facteur de réponse FFRi	Ci (µg/mL)	Facteur de réponse FFRi
NP1	135	5,64	-	5,78	0,16
NP2	135	12,10	3,22	12,10	3,45
NP3	135	17,24	1,41	12,64	1,66
NP4	135	7,06	-	7,39	-
NP5	135	6,85	3,49	4,50	4,36
NP6	135	7,16	-	7,60	-
NP7	135	6,75	1,58	7,07	2,61
NP8	135	3,63	0,28	5,78	0,23
NP9	135	7,86	-	10,92	0,09
NP10	135	4,23	0,68	6,10	0,30
NP11	135	12,30	2,65	16,17	3,09
NP12	135	3,33	-	1,82	-
NP13	135	6,75	0,74	9,21	0,39

Aucune réponse n'est observée sur l'ion m/z = 135 uma pour les isomères NP4, NP6, et NP12 sur les 2 références et pour, la référence interne ARO 300, s'ajoute l'absence de réponse sur NP1 et NP9. Des différences significatives pour certains facteurs de réponse sont également observées entre les 2 mélanges ce qui accrédite l'hypothèse de présence d'autres isomères parmi les 13 définis par la norme ISO 24293. L'ion m/z=135 étant plus sélectif, les différences observées pour certains isomères ne corrèlent pas celles observées pour l'ion m/z= 107.

8.1.4 Facteur de réponse des isomères individuels

Les facteurs de réponse ont été déterminés pour les isomères individuels qui ont pu être acquis, les 353-NP, 363-NP et 33-NP. Comme dans le cas des mélanges, un étalon interne, le 4-n-NP, a été utilisé afin de prendre en compte les variations de signal liées à l'appareillage.
Des solutions individuelles de 353-NP, 363-NP et 33-NP ont donc été préparées, avec la présence du 4-n-NP à 10 µg/mL. Ces solutions ont été analysés par rapport à l'ion m/z = 107 uma.

Tableau 9 : Facteur de réponse relatif de chaque isomère calculé à partir de solutions d'isomère individuel.

Composé individuel	Isomère selon la norme ISO 24293	Pureté (%) (solution individuelle)	Ci (µg/mL) (solution individuelle)	Facteur de réponse FFRi calculé (solution individuelle)	Facteur de réponse FFRi calculé (mélange technique ARO 315)
363-NP	NP-3	99,9	29,2	0,24	0,75
353-NP	NP-4	40,4	6,0	0,36	0,84
	NP-6	59,6	8,8	0,31	0,94
33-NP	NP-12	99,9	15,7	0,63	0,93

Les facteurs de réponse relatifs de ces 4 isomères calculés à partir de solution individuelles montrent des écarts par rapport aux facteurs de réponse calculés à partir des mélanges techniques. Ils sont 3 fois plus faibles pour les NP-3, NP-4 et NP-6 et 1,5 fois plus faible pour l'isomère NP-12.

Il est important de noter que Wheeler [7] a défini le pic NP3 comme étant une co-élution de 3 isomères nommés dans la publication 4b, 4a et 5 qui d'après leur spectre appartenaient à des groupes, ainsi :

- l'isomère 4b du groupe 2 (avec m/z = 121 uma, m/z = 149 uma et m/z = 191 uma),
- l'isomère 4a du groupe 1 (ion majoritaire m/z=135)
- l'isomère 5 du groupe 1 (ion majoritaire m/z=135).

De même, le pic NP12 serait constitué de 2 isomères nommés isomères 16 du groupe 2 et l'isomère 17 du groupe 1, dans cette publication.

8.1.5 Conclusion

Les facteurs de réponse calculés sur les ions m/z =107 et m/z =135 présentent des différences pour certains isomères. Les écarts de facteur de réponse calculés à partir des 4 solutions individuelles ont également permis de souligner la présence possible d'autres isomères dans les 4 pics correspondants identifiés dans la norme ISO 24293.

Enfin, l'utilisation de 13 isomères individuels pour la quantification pourrait être biaisée par la non prise en compte d'autres isomères éluant sous les pics parents avec des facteurs de réponse différents.

8.2 ETUDE DE LA QUANTIFICATION GLOBALE DE LA COUPE 4-NONYLPHENOL SUR DES ECHANTILLONS REELS.

Des différences de composition massique entre les mélanges techniques des étalons analytiques et les échantillons réels existent, comme le montre la figure 18 qui présente les résultats d'analyse d'exemple d'échantillons réels analysés avec la détermination individuelle de chacun des 13 isomères considérés, dans le cadre de la validation de la norme ISO 24293, et un mélange de nonylphénol technique dont nous avons déterminé la contribution massique par analyse CG/FID.

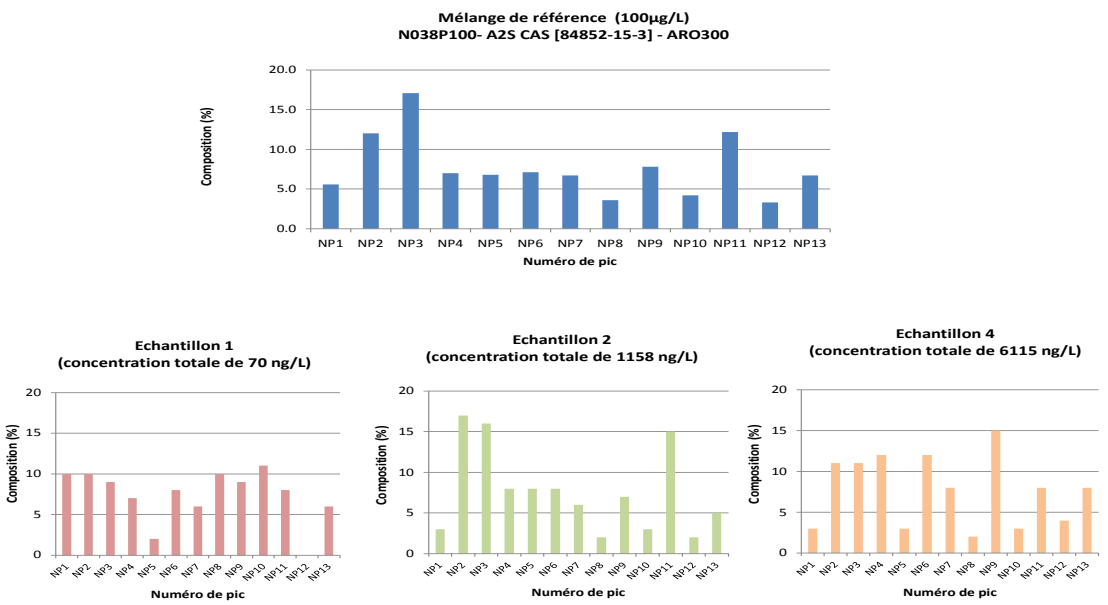


Figure 18: Différence de composition massique entre l'étalon analytique de référence interne ARO300 (CAS 84852-15-3) et 3 échantillons environnementaux issus de la Baie de Tokyo (résultats provenant du dossier de validation de la norme ISO 24293).

Les échantillons environnementaux montrent des empreintes de distributions massiques, entre isomères individuels, différentes d'un échantillon à l'autre et aussi par rapport à celle du mélange technique commercialement disponible de 4-nonylphénol.

Si la mesure de la coupe 4-nonylphénol avec un étalonnage sur chaque isomère permet majoritairement de s'affranchir de ces écarts de concentrations, quels sont les écarts qui peuvent être constatés lorsque la quantification est effectuée avec un étalonnage global ?

9. ANALYSE PAR CG/SM D'ECHANTILLONS REELS

Des essais visant à mesurer la teneur en 4-nonylphénol dans un échantillon réel ont été réalisés à partir d'un échantillon de sédiments provenant du canal de Nimy-Blatton (Belgique). Cet échantillon a déjà fait l'objet de mesures en 2010 dans le cadre d'une étude AQUAREF qui abordait les conditions d'extraction et d'analyse des alkylphénols, des alkylphénols éthoxylés et du bisphénol A dans les sédiments [16]. De cette étude, seules les conditions d'extraction et de purification sont reprises (annexe 11), les analyses étant alors réalisées suivant la norme ISO 18857-2, avec une dérivatisation qui amène à cibler des ions différents de ceux des normes ISO 24293 et NF EN ISO 18857-1. Les analyses sont donc réalisées selon les conditions décrites en annexe 4 en ciblant les ions spécifiques de la norme ISO 24293 ainsi que les ions spécifiques de la norme NF EN ISO 18857-1.

9.1 TRAITEMENT DES ECHANTILLONS DE SEDIMENTS.

Les sédiments ont été séchés à l'étuve avant d'être broyés puis homogénéisés. Un broyeur planétaire à billes (Pulverisette6®, Fritsch) a été utilisé, avec une vitesse de 250 tours/min pendant 2 min. Les sédiments ont été ensuite tamisés et la fraction comprise entre 80 µm et 1 mm, récupérée. Cette préparation a été réalisée en juin 2012 (référence interne : JBE280612-01) et conservée dans un endroit sec à l'abri de la lumière.

9.2 EXTRACTION ET PURIFICATION DES ECHANTILLONS.

Toutes les extractions sont effectuées sur une prise d'essai de 2 g et, avant extraction, 2,5 µg de 4-n-NP marqué $^{13}C_6$ (250 µL d'une solution à 10 ng/µL dans le méthanol) sont ajoutés à la prise d'essai. L'extraction est réalisée avec un mélange hexane/acétone (1/1 v/v) par extraction par fluide pressurisé (PLE), l'extrait est ensuite purifié par extraction sur phase solide (SPE) sur une cartouche de silice avant d'être analysé. Toutes les conditions d'extraction et de purification sont reprises en annexe 11.

9.3 ANALYSE PAR CG/SM.

Les caractérisations réalisées par CG/FID sur les différents mélanges techniques de 4-nonylphénols ont permis d'établir un degré de pureté souvent différent de celui fourni dans les certificats d'analyse des fournisseurs. A ce titre, l'étalonnage réalisé ici, à partir de ces mélanges techniques, tient compte de la pureté établie par l'analyse CG/FID réalisée au paragraphe 8.

Les analyses ont donc été effectuées en CG/SM en SIS en scrutant les ions m/z = 107, 121, 135, 149, 163, 191 uma, selon les conditions décrites en annexe 4. Le traitement des données a ensuite été réalisé selon :

- la norme ISO 24293 quantification effectuée avec des étalonnages individuels pour chaque isomère selon leurs ions de quantification spécifiques (annexe 7).
- la norme NF EN ISO 18857-1, quantification effectuée en utilisant l'ion m/z = 107 uma.
- la norme NF EN ISO 18857-1, quantification effectuée en utilisant l'ion m/z = 135 uma.

Pour chacun de ces modes de détermination, les quantifications ont été effectuées avec 2 mélanges commerciaux différents afin d'évaluer l'impact de ce paramètre.

Les résultats de ces analyses sont présentés ci-dessous (tableau 10).

Tableau 10 : Résultat des analyses du sédiment de Nimy-Blatton en fonction des méthodes et des références choisies.

		Sédiment de Nimy-Blatton		
Méthode suivie	Référence de mélange technique utilisé	Moyenne (n=3)	Ecart type (n=3)	CV
		ng/g	ng/g	
ISO-24293 ions spécifiques à chaque isomère	ARO300	2135	102	+/- 5%
	ARO315	1981	125	+/- 6%
NF EN ISO 18857-1 ion m/z = 107 uma	ARO300	2270	185	+/- 8%
	ARO315	2162	174	+/- 8%
NF EN ISO 18857-1 ion m/z = 135 uma	ARO300	1925	149	+/- 8%
	ARO315	1908	143	+/- 7%

Les résultats obtenus selon la norme NF EN ISO 18857-1, en scrutant l'ion de quantification m/z = 107 uma montrent peu d'écart avec ceux obtenus par la détermination des isomères individuels selon ISO 24293. Ainsi, avec ce constat et cette corrélation, il peut être supposé que ces deux modes de détermination produisent une valeur proche de la valeur exacte, même si des approximations difficiles à appréhender demeurent.

Des différences sont également constatées avec les résultats obtenus pour les 2 mélanges commerciaux testés particulièrement pour la détermination par isomère individuel (ISO 24293) : ceci montre l'impact des différences de mélange sur ce mode de détermination. Cet écart pourrait être attribué à la présence d'autres isomères, outre les 13 suivis, dans les mélanges commerciaux utilisés.

La moyenne observée pour lion m/z=135 produit un résultat décalé par rapport aux moyennes obtenues pour les autres modes de détermination (~10% dans ce cas) (le mélange analysé avait une composition isomérique proche de celle du mélange étalon. Cette différence est accentuée lorsque cet exercice de comparaison est effectué avec des échantillons ayant une différence de composition isomérique importante. Cela a fortement été observé avec les mélanges cités en figure 18).

L'utilisation de l'ion m/z 135 ne semble donc pas pertinent pour la mesure des 4-nonylphénols selon un étalonnage global, car il ne prend pas en compte la réponse de tous les isomères.

9.4 CONCLUSION

Comme évoqué dans le rapport [17], de nombreux problèmes liés à la quantification du mélange 4-nonylphénols ont pu être constatés lors de la comparaison des résultats issus d'un essai interlaboratoires. Des recommandations semblent ainsi nécessaires afin de pouvoir aboutir à une standardisation des pratiques.

Ainsi, la quantification de la coupe 4-nonylphénols avec un étalonnage global à partir d'un mélange technique commercial semble entrainer des écarts de justesse à cause de la différence de composition entre le mélange commercial et les échantillons réels.

La détermination individuelle par pics de composés est envisageable car cette méthode de calcul fournit, à priori, une concentration plus juste. Cependant, un étalonnage individuel de chaque isomère est nécessaire et cela est donc beaucoup plus long et contraignant (et donc plus couteux en terme de moyens humains pour le traitement de données).

Malgré les imprécisions inhérentes à la méthode ISO 18857-1, les résultats comparés à ceux obtenus avec la méthode ISO 24293 sont relativement proches et elles semblent constituer donc des méthodes de référence pour la mesure du 4-nonylphénol.

Contrairement à ce qui est requis par la norme ISO 18857-1, l'utilisation de l'ion m/z=135 n'est cependant pas recommandée pour la quantification du mélange global car certains isomères ne fournissent pas de réponse pour cet ion.

10. CONCLUSION GENERALE

- Des confusions quant à la dénomination des nonylphénols persistent et doivent être corrigées par les instances concernées:
  - → concernant la parution de la directive DCE2013/39/EU, bien qu'une correction ait été apportée par rapport aux versions précédentes, une confusion persiste au sujet du paramètre « Nonylphénol (CAS 25154-52-3) » qui définit le CAS 25154-52-3 (sandre 1957) incluant le CAS 104-40-5 (sandre 5474) et le CAS 84852-15-3 (sandre 1958) (note 5, page 13). Le CAS 84852-15-3 n'est pas inclus dans le CAS 25154-52-3.
  - → dans le domaine normatif, la norme ISO 24293 cite le numéro CAS 25154-52-3 comme étant un mélange de 13 isomères de 4-nonylphénol à chaîne ramifiée en désaccord avec le registre CAS qui attribue cette définition au CAS 84852-15-3. Cela devra être signalé lors de la prochaine révision de la norme.

  La note publiée en 2010 par Aquaref [1] constitue toujours un document de référence auprès des décideurs et des laboratoires d'analyse.

- La fabrication des mélanges techniques du 4-nonylphénol n'est pas totalement maitrisée et reproductible en termes de répartition des isomères et en termes de pureté. Ainsi, les mélanges techniques commercialement vendus sous l'appellation « nonylphénol technique » ou même « 4-nonylphénol technique » (CAS 84852-15-3) sont composés en fait de 85 à 95% de 4-nonylphénol, de 10 à 12% de 2-nonylphénol et de 2 à 5 % de décylphénol et/ou de 2,4- dinonylphénol.

  Ce constat amène les laboratoires de routine à utiliser pour la surveillance des mélanges techniques dont la composition réelle en 4-nonylphénol (ou 4-nonylphénol à chaîne ramifiée) n'est pas ou mal déterminée par les fabricants.

  Deux recommandations peuvent être formulées :

- Soit une action en amont en imposant aux fabricants:
  - → Dans le cas des étalons sous formes brutes (liquide visqueux), un mode de détermination unique de la pureté par CG/FID (ou par l'utilisation d'une technique adaptée (GC * GC,…) en conservant une détection par FID).
  - → Dans le cas des solutions étalons, d'être en mesure de :
    - Démontrer qu'il a connaissance de la pureté des étalons analytiques utilisés pour la fabrication de ce mélange à façon.
    - Spécifier dans la concentration de la solution si la pureté a été prise ou compte et si oui, comment.
- Soit une action en aval en imposant aux laboratoires de routine de vérifier la pureté de leur mélange technique par CG/FID (ou technique adaptée avec détection FID.

- L'absence de réponse sur l'ion m/z = 135 uma pour 5 des 13 isomères ne permet pas de quantifier tous les isomères de la coupe 4-nonyphénol. Ainsi, le résultat obtenu présentera un biais. Bien qu'il soit moins sélectif, il est préférable d'utiliser l'ion m/z=107 pour la quantification car c'est le seul qui est produit conjointement par tous les isomères. Ainsi, cela sera recommandé par l'AFNOR lors de la révision de la NF EN ISO 18857-1.

- La notion d'isomère individuel présentée dans la norme ISO 24293, ne semble pas refléter complètement le degré réel de complexité du mélange. La composition des mélanges techniques est probablement définie par plus de 13 isomères [7,10]. Ainsi, il se produit des co-élutions d'isomères non maîtrisées influençant le résultat de par leur différence de réponse spectrale. Cette méthode semble néanmoins celle dont les résultats chiffrés semblent les plus pertinents.

  De plus, il est actuellement difficile de constituer un mélange étalon à partir de solutions individuelles d'isomères car la grande majorité d'entre eux n'est pas disponible commercialement.

- La méthode NF EN ISO 18857-1, après caractérisation du mélange étalon par GC/FID permet d'obtenir des résultats concordants avec la méthode ISO 24293. Ainsi, de par sa plus grande simplicité d'utilisation, à ce jour, cette méthode avec l'utilisation de mélanges techniques contrôlés semble donc être la méthode de quantification des 4-nonylphénols la plus adaptée à une surveillance récurrente des milieux aquatiques.

- Les laboratoires prestataires devront être informés de ces différents constats afin de pouvoir mettre en œuvre des actions adéquates, le cas échéant. Cette sensibilisation peut être notamment effectuée à l'occasion des journées techniques. Ce fut ainsi le cas lors de la journée technique consacrée à la mesure des alkylphénols organisée fin 2014. Elle pourra également être poursuivie lors des commissions de normalisation et en particulier lors des révisions des normes évoquées dans ce document.

11. REFERENCES

[1] INERIS, 2011, Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Nonylphénols, DRC-11-118962-11079A, 74 p, (http://rsde,ineris,fr/ ou http://www,ineris,fr/substances/fr/)

[2] M.-P. Strub (2010) – N° CAS du nonylphénol et de l'octylphénol DRC-09-102844-15164D

[3] : NF EN ISO 18857-1 (2006) (Qualité de l'eau) : Dosage d'alkylphénols sélectionnés - Partie 1 : méthode pour échantillons non filtrés par extraction en phase liquide-liquide et chromatographie en phase gazeuse avec détection sélective de masse.

[4] NF EN ISO 18857-2 (2012) (Qualité de l'eau) : Dosage d'alkylphénols sélectionnés - Partie 2 : dosage par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse d'alkylphénols, de leurs éthoxylates et de bisphénol-A dans des échantillons non filtrés après extraction en phase solide et dérivation.

[5] ISO 24293 (2009) (Qualité de l'eau) : Détermination des isomères individuels de nonylphénol - Méthode par extraction en phase solide (SPE) et chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM)

[6] Kirk-Othmer. Encyclopedia of chemical technology, Vol. 2, 5th ed. John Wiley & Sons, New York, 2004, p225-226.

[7] T.F. Wheeler, J.R. Heim, M.R. LaTorre, and A. Blair Janes. Journal of chromatographic science, Vol. 35, 1997. Mass spectral characterization of p-nonylphenol isomers using high-resolution capillary GC-MS, p19-30.

[8]: R. W. Robinson, F. Harary, A.T. Balaban. Tetrahedron vol. 32 issue 3, 1976. The numbers of chiral and achiral alkanes and monosubstitued alkanes, p355-361.

[9] B. Thiele, V. Heinke, E. Kleinst, K. Guenther. Environmental Science & Technology, Volume 38, 2004. Contribution to the structural elucidation of 10 isomers of technical p-nonylphenol, p3405-3411.

[10] Y.-S. Kim, T. Katase, S. Sekine, T. Inoue,M. Makino, T. Uchiyama, Y. Fujimoto, N. Yamashita, Chemosphere, vol54, issue 8, 2004. Variation in estrogenic activity among fractions of a commercial nonylphenol by high performance liquid chromatography, p1961-1972.

[11] T. Katase, K. Okuda, Y.-S. Kim, H. Eun, H. Takada, T. Uchiyama, H. Saito, M. Makino, Y. Fujimoto. Chemosphere 70, 2008. Estrogen equivalent concentration of 13 branched para-nonylphenols in three technical mixtures by isomer-specific determination using their synthetic standard in SIM mode with GC-MS and two new diasteromeric isomers, p1961-1972.

[12] B.. Bhatt, J.V. Prasad, Kalpana and S. Ali. Journal of chromatographic science, vol.30, 1992. Separation and characterization of isomers of p-nonylphenols by capillary GC/CG-MS/GC-FTIR Techniques, p203-210.

[13] O. P. Heemken, N. Amann, AnalytiX Volume 7 Issue 4, 2007. Analysis of Alkylphenols and Alkylphenol Ethoxylates Using new 13C-Labeled and Deuterated Internal Standards According to ISO 18857-2, p6-7.

[14] T. Ieda, Y. Horii, G. Petrick, N. Yamashita, N. Ochiai, and K. Kannan. Environmental sciences and technology, vol 39, 2005. Analysis of nonylphenol isomers in technical mixture and in water by comprehensive two-dimensional gas chromatrography-mass spectrometry. p7202-7207

[15] M. Makino, T. Uchiyamam, H. Saito, S. Ogawa, T. Iiada, T. Katase, Y. Fujimito. Chemosphere 73, 2008. Separation, synthesis and estrogenic activity of 4-nonylphenols: Two sets of new diastereomeric isomers in a commercial mixture.

[16] O. Diago, F. Lestremau - Mesure des alkylphénols, des alkylphénols polyethoxylés à courte chaîne et du bisphenol a dans les sédiments : Etude des conditions d'extraction et d'analyse – Rapport AQUAREF 2010 – 26p (INERIS-DRC-11-112048-02767A).

[17] B. Lalère, S. Lardy-Fontan, R. Champion, E. Alasonati, Mise en œuvre du schéma de tracabilité pour quelques substances d'intérêt ; démonstrateurs de la traçabilité métrologique : Exemples de l'importance de la traçabilité métrologique pour la qualité des données – rapport Aquaref 2012 – 29 p (N030919).

12. LISTE DES ANNEXES

Repère	Désignation	Nombre de pages
Annexe 1	Enregistrement CAS 25154-52-3	1
Annexe 2	Enregistrement CAS 84852-15-3	1
Annexe 3	Enregistrement CAS 104-40-5	1
Annexe 4	Conditions CG/SM selon la norme ISO 24293	2
Annexe 5	Conditions CG/FID selon la norme ISO 24293	1
Annexe 6	Conditions CG/SM d'une méthode interne	2
Annexe 7	Liste des ions de diagnostiques pour l'identification et la quantification des isomères de la coupe 4-nonylphénol	1
Annexe 8	Certificat d'analyse de nonylphénol-4 de pureté annoncée à 99,0% de chez A2S	3
Annexe 9	Certificat d'analyse de nonylphénol PESTANAL® de pureté établie à 95,4% par le fournisseur SIGMA-ALDRICH	2
Annexe 10	Résultats de traitements d'ions m/z = 121,135 et 149 uma; des pics NP7 et NP13 à partir d'une analyse CG/SM full scan (100 à 500 uma)	1
Annexe 11	Conditions d'extraction des sédiments	2

ANNEXE 1

Enregistrement CAS 25154-52-3
(Requête du 18/11/2014)

CAS Presents "COMMON CHEMISTRY"

Search | About | Contact Us | Help

Substance Details

CAS Registry Number: 25154-52-3

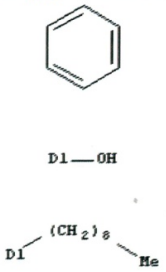
CA Index Name: Phenol, nonyl-

Synonyms:

- (2,6-Dimethylheptan-4-yl)phenol
- Monononylphenol
- n-Nonylphenol
- nonilfenol
- Nonylphenol
- NONYLPHENOL (ISOMERENGEMISCH)
- Nonylphenol (mixed isomers)
- Nonylphenol and its ethoxylates
- Phenol, nonyl
- Phenol, nonyl-
- UN 2810

Chemical Structure:

Registry Number: 25154-52-3
Formula: $C_{15}H_{24}O$



(disclaimer)

Bookmark with:

Delicious Digg reddit Facebook StumbleUpon

ANNEXE 2

Enregistrement CAS 84852-15-3
(Requête du 18/11/2014)

CAS Presents "COMMON CHEMISTRY"

Substance Details

CAS Registry Number: 84852-15-3

CA Index Name: Phenol, 4-nonyl-, branched

Synonyms:

- 4-Nonylphenol, branched
- Branched 4-nonylphenol
- Branched 4-nonylphenol (mixed isomers)
- Branched p-nonylphenol
- C9 branched alkyl phenol
- fenol, 4-nonil-, ramificado
- Nonylphenol
- Nonylphenol and its ethoxylates
- phenol ramifie, nonyl-4
- Phenol, 4-nonyl-, branched
- Phenol, 4-Nonyl-, verzweigt
- p-Nonylphenol ramifie

Chemical Structure:

Registry Number: 84852-15-3
Formula: Unspecified

No Structure Diagram Available

(disclaimer)

Bookmark with:

Delicious Digg reddit Facebook StumbleUpon

A division of the American Chemical Society
Copyright © 2014 American Chemical Society All Rights Reserved

ANNEXE 3

Enregistrement CAS 104-40-5
(Requête du 18/11/2014)

CAS Presents "COMMON CHEMISTRY"

Substance Details

CAS Registry Number: 104-40-5

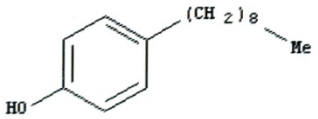
CA Index Name: Phenol, 4-nonyl-

Synonyms:

- 4-n-Nonyl phenol
- 4-Nonylphenol
- Nonyl phenol
- Nonylphenol
- Phenol, 4-nonyl-
- Phenol, p-nonyl-
- p-n-Nonylphenol
- p-nonilfenol
- p-Nonylphenol
- p-NP

Chemical Structure:

Registry Number: 104-40-5
Formula: $C_{15}H_{24}O$



Wikipedia Link

(disclaimer)

Bookmark with:

Delicious Digg reddit Facebook StumbleUpon

ANNEXE 4

Conditions d’analyse en CG/SM selon la norme ISO 24293

1. Passeur d'échantillon : CombiPAL

Seringue de 10 µL, volume injecté 2 µL.
Mode d'injection : « CG Liquid »

- vitesse d'injection 50 µL/s. Temps de résidence après injection : 5s.
- avec prélèvement d'air de 1 µL après le volume d'échantillon (« air volume below sample»).
- Solvant de rinçage de la seringue : hexane.

2. Chromatographe : VARIAN-3800

Colonne (au choix):

- RXi-5MS (30 m X 0,25 mm x 0,25 µm) de chez Restek (testée dans notre étude)
- TG-5MS (30 m X 0,25 mm x 0,25 µm) de chez Thermo-Fisher (testée dans notre étude)
- ou toute autre colonne 5 % phényl - 95% méthylpolysiloxane sans groupement phénylène dans la structure de chaîne polysiloxane.

3. Injecteur : type 1079

- Température : isotherme à 250 °C
- EFC programmé en débit constant de gaz vecteur à 1,3 mL/min.
- Liner de l'injecteur : Split-Single taper, 2 mm de diamètre interne, (référence SGE 092039 ou référence Grace Discovery 1092039)
- Réglages du débit de fuite (Split) :

Date (min)	Etat de la vanne de fuite (Split State)	Débit de fuite ou Split ratio (ratio) (débit de fuite/débit de gaz vecteur)
Initial (avant l'injection)	Ouvert (On)	20 (débit de fuite = 26 mL/min)
0,00 (à l'injection)	Fermé (Off)	Pas de débit de fuite
1,00	Ouvert (On)	50 (débit de fuite = 65 mL/min)
5,00	Ouvert (On)	20 (débit de fuite = 26 mL/min)

4. Four de la colonne

- Programmation en température

Température (°C)	Gradient de température (°C/min)	Pause (min)	Temps écoulé (min)
50	0	4	4,00
280	8	5	37,75

5. Spectromètre de masse : Varian-4000

Source : IE (impact électronique) en mode externe.
Gaz tampon (damping gaz) : 4 mL/min.
Température de trappe : 200 °C.
Température de source : 200 °C.
Température de la ligne de transfert : 280 °C.
Température du Manifold : 50 °C

Courant d'émission : 65 µA.
Target TIC: 10000 counts.

Temps d'ionisation maximum: 65000 µs.

Multiplicateur d'électrons : valeur définie par l'auto-tune (ici, 1400V) avec gain de + 200V.

Type de scrutation d'ions (au choix) :

Full scan : de 50 à 300 uma.

SIS (single ion storage): ions m/z= 107, 121, 135, 149, 163, 191 uma.

ANNEXE 5

Conditions d’analyse en CG/FID selon la norme ISO 24293

1. **Passeur d'échantillon : VARIAN-8400**

Seringue de 10µL, volume injecté 1µL.
Mode d'injection : « Standard On-Column »

- vitesse d'injection 5 µL/s.
- avec prélèvement d'air de 1 µL (« air plug ») après le volume d'échantillon.
- Solvant de rinçage de la seringue : hexane.

2. **Chromatographe : VARIAN-CP3800 avec détecteur FID**

Exemple de colonne:

- RXi-5MS (30 m X 0,25 mm x 0,25 µm) de chez Restek
- TG-5MS (30 m X 0,25 mm x 0,25 µm) de chez Thermo-Fisher
- ou toute autre colonne 5 % phényl - 95% méthylpolysiloxane sans groupement phénylène dans la structure de chaîne polysiloxane.

3. **Injecteur : type 1079**

- Température : isotherme à 260 °C
- EFC programmé en débit constant de gaz vecteur à 1mL/min.
- Liner de l'injecteur : Split-Single taper, 2 mm de diamètre interne, (référence SGE 092039 ou référence Grace Discovery 1092039)
- Réglages du débit de fuite (Split) :

Date (min)	Etat de la vanne de fuite (Split State)	Débit de fuite ou Split ratio (ratio) (débit de fuite/débit de gaz vecteur)
Initial (avant l'injection)	Ouvert (On)	5 (débit de fuite = 5 mL/min)
0,00 (à l'injection)	Fermé (Off)	Pas de débit de fuite
1,50	Ouvert (On)	20 (débit de fuite = 20 mL/min)
2,00	Ouvert (On)	5 (débit de fuite = 5 mL/min)

4. **Four de la colonne**

- Programmation en température

Température (°C)	Gradient de température (°C/min)	Pause (min)	Temps écoulé (min)
50	0	4	4,00
170	8	10	29,00
280	20	5	39,50

5. **Détecteur FID**

Débit d'azote (make-up): 25 mL/min.
Débit d'hydrogène : 30 mL/min. Débit d'air : 300 mL/min.

ANNEXE 6

Conditions d’analyse en CG/SM d’une méthode interne

1. Passeur d'échantillon : CombiPAL

Seringue de 10µL, volume injecté 1µL.
Mode d'injection : « CG Liquid »

- vitesse d'injection 50 µL/s. Temps de résidence après injection : 5s.
- avec prélèvement d'air de 1 µL après le volume d'échantillon (« air volume below sample»).
- Solvant de rinçage de la seringue : hexane.

2. Chromatographe : VARIAN-3800

Colonne : DB-5MS Ui (30 m X 0,25 mm x 0,25 µm) de chez Restek

3. Injecteur : type 1177

- Température : isotherme à 250 °C
- EFC programmé en débit constant de gaz vecteur à 1,0 mL/min.
- Liner de l'injecteur : Focus liner, 4 mm de diamètre interne, (référence SGE 92002 ou référence Grace Discovery 85474)
- Réglages du débit de fuite (Split) :

Date (min)	Etat de la vanne de fuite (Split State)	Débit de fuite ou Split ratio (ratio) (débit de fuite/débit de gaz vecteur)
Initial (avant l'injection)	Ouvert (On)	20 (débit de fuite = 26 mL/min)
0,00 (à l'injection)	Fermé (Off)	Pas de débit de fuite
1,50	Ouvert (On)	20 (débit de fuite = 26 mL/min)

4. Four de la colonne

- Programmation en température

Température (°C)	Gradient de température (°C/min)	Pause (min)	Temps écoulé (min)
60	0	1	1,00
280	10	10	33,00

5. Spectromètre de masse : Varian-4000

Source : IE (impact électronique) en mode externe.
Gaz tampon (damping gaz) : 4 mL/min.
Température de trappe : 200 °C.
Température de source : 220 °C.
Température de la ligne de transfert : 280 °C.
Température du Manifold : 50 °C
Courant d'émission : 25 µA.
Target TIC: 20000 counts.
Temps d'ionisation maximum: 65000 µs.
Multiplicateur d'électrons : valeur définie par l'auto-tune sans gain.
Type de scrutation d'ions (au choix) :
Full scan : de 50 à 300 uma.
SIS (single ion storage): ions m/z= 107, 113, 135 uma

ANNEXE 7

Liste des ions de diagnostiques pour l'identification et la quantification des isomères de la coupe 4-nonylphénol.

N° de pic (*)	Composé	Abréviation	Ions de quantification	Ions de qualification
1	4-(2,4-Diméthylheptan-4-yl)-phénol	NP1	121	163
2	4-(2,4-Diméthylheptan-2-yl)-phénol	NP2	135	220
3	4-(3,6-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	NP3	135	107 ou 121
4	4-(3,5-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	NP4	149	191
5	4-(2,5-Diméthylheptan-2-yl)-phénol	NP5	135	163
6	4-(3,5-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	NP6	149	191
7	4-(3-Ethyl-2-methylheptan-2-yl)-phénol	NP7	135	220
8	4-(3,4-Diméthylheptan-4-yl)-phénol	NP8	163	121
9	4-(3,4-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	NP9	149	107
10	4-(3,4-Diméthylheptan-4-yl)-phénol	NP10	163	121
11	4-(2,3-Diméthylheptan-2-yl)-phénol	NP11	135	220
12	4-(3-Méthyloctan-3-yl)-phénol	NP12	191	163
13	4-(3,4-Diméthylheptan-3-yl)-phénol	NP13	135	107

(*) ordre d'élution chromatographique

ANNEXE 8

Certificat d'analyse de nonylphénol-4 de pureté annoncée à 99,0% de chez A2S

Standards Analytiques

ARo300

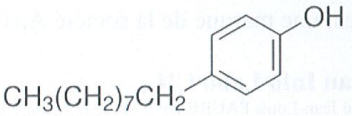
Distribué par

CLUZEAU INFO LABO

Nonylphenol-4

Certificat d'Analyse

Code produit : N038P100
Lot n°: N038A130307
Date d'expiration : 7 Mars 2016
Conservation : 4°C à l'obscurité
Masse attendue 100 mg
Opérateur : JH



	Nom	Pureté en %	CAS	EINECS	Masse en mg
1	Nonylphenol-4	99,0	84852-15-3	284-325-5	103.10

Données chimiques produit	Données analytiques et sécurité
Nom : Nonylphenol-4 **Formule brute** : $C_{15}H_{24}O$ **Masse molaire** : 220.35 $gmol^{-1}$ **Aspect** : liquide **Couleur** : incolore **Point de fusion** n.d. **Point d'ébullition** n.d. **Densité** 0.937 g/cm3 à 25°C **Incertitude :** Toutes les sources d'erreurs relatives à la préparation de l'échantillon ont été identifiées et quantifiées. Un facteur 2 est appliqué à la somme des erreurs relatives pour donner une *Incertitude Standard Relative Finale* de **0,025**	**Analyses :** Voir ci-après **RMN ^{1}H** : n.d. **LC** : Gradient Eau/ACN 10-90% en 10min colonne Cluzeau Stability Basic C18 100mm 1,9µm **UV** : Analyse par barrette de diode entre 190 et 400nm **MS** : n.d. **Données sécurité du produit :** **C** Corrosif **Xn** Nocif **Xi** Irritant **N** Dangereux pour l'environnemnt H : 302 314 361fd 410 P : 273 280 305+351+338 310 501 N° Index : 601-053-00-8

Nota : La date de péremption est indiquée sur la base d'informations connues sur les produits maintenus hermétiques dans leurs conditions de stockage optimales (température, pression…). Toute dégradation ne pourra être prise en compte par la société A2S.

La société A2S a été certifiée ISO 9001 : 2008 pour l'ensemble de son activité le 20 août 2012 réf N°2012/51356.1.

afaq ISO 9001 Qualité AFNOR CERTIFICATION

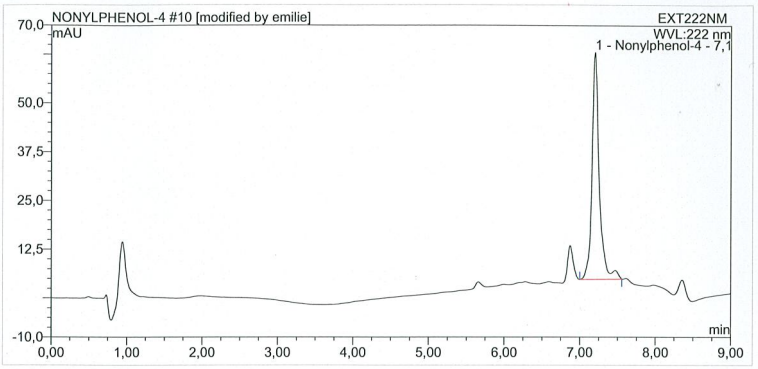
Date de Validation	Signature Melle RAYMOND Resp.Laboratoire	Signature Dr. C. RUBIO Gérant
7 Mars 2013		

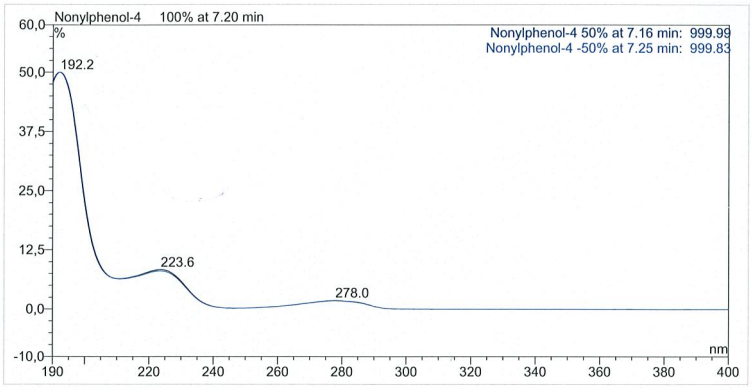
A2S® est une marque de la société Analytical Standard Solutions commercialisée par

Cluzeau Info Labo CIL
33-35 rue Jean-Louis FAURE BP 88 F-33220 Sainte-Foy-La-Grande France
Tél : 05.57.46.00.44
Fax : 05.57.46.53.96
e-mail : cil@cluzeau.com

La société A2S a été certifiée ISO 9001 : 2008 pour l'ensemble de son activité le 20 août 2012 réf N°2012/51356.1.

Données Analytiques





Sequence:NONYLPHENOL-4
27/2/2013 4:27 PM

Chromeleon (c) Dionex 1996-2006
Version 6.80 SR10 Build 2818 (166959)

ANNEXE 9

Certificat d'analyse de Nonylphénol PESTANAL® de pureté établie à 95,4% (SIGMA-ALDRICH - 46018)

AR 316

SIGMA-ALDRICH

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH D-30918 Seelze
Telefon: +49 5137 8238-150

Seelze, 10.11.2010/147620/10/24740

Order-No.:
Customer-No.:

Order-Code:

Quantity:

Production Date: 02.Nov.2010
Expiry Date: 02.Nov.2015

Article/Product: 46018 Batch : SZBA306XV

Nonylphenol PESTANAL®

Reference Material (RM)

1. General Information

Formula: C15H24O
CAS-No.: [84852-15-3]
Usage : Metabolite

Molar mass: 220.35 g/Mole
Recomm. storage temp.: roomtemp.

The estimated uncertainty of a single measurement of the assay can be expected to be 1 % relative (confidence level = 95%, n= 6) whereby the assay measurements are calculated by 100% minus found impurities.

2. Batch Analysis

Identity (NMR)	complying
Assay (GCMS)	95.4 %
Water (Karl Fischer)	0.03 %
Date of Analysis	09.Nov.2010

3. Advice and Remarks

- The minimum shelf life is based on the current knowledge and holds only for proper storage conditions in the originally closed flasks/ packages.
- Whenever the container is opened for removal of aliqout portions of the substance, the person handling the substance must assure, that the integrity of the substance is maintained and proper records of all its handlings are kept. Special care has to be taken to avoid any contamination or adulteration of the substance.
- We herewith confirm that the delivery is effected according to the technical delivery conditions agreed.
- Particular properties of the products or the suitability for a particular area of application are not assured.
- We guarantee a proper quality within our General Conditions of Sales.

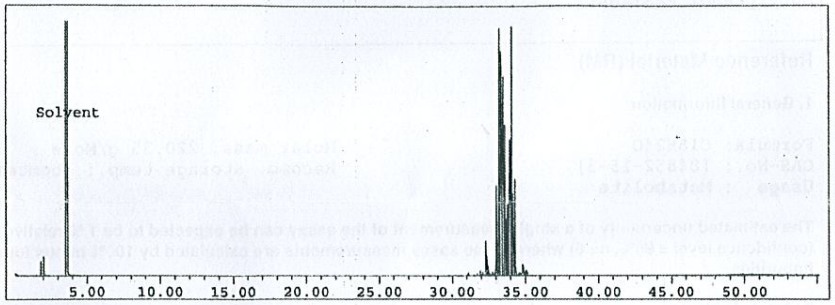
Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH
Quality Management SA-LC

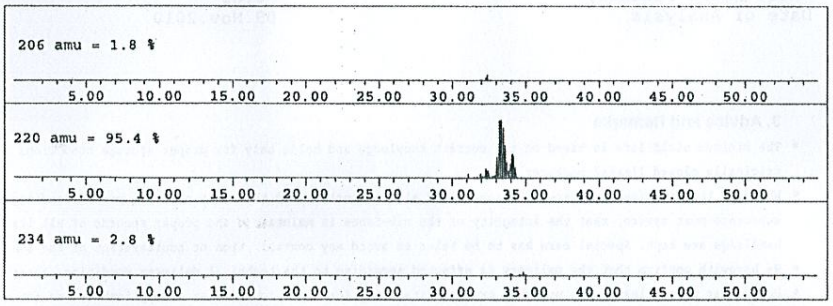
This document was produced electronically and is valid without a signature

46018
Nonylphenol
SZBA306XV

G C / M S - A N A L Y S E N E R G E B N I S 10 D 110603

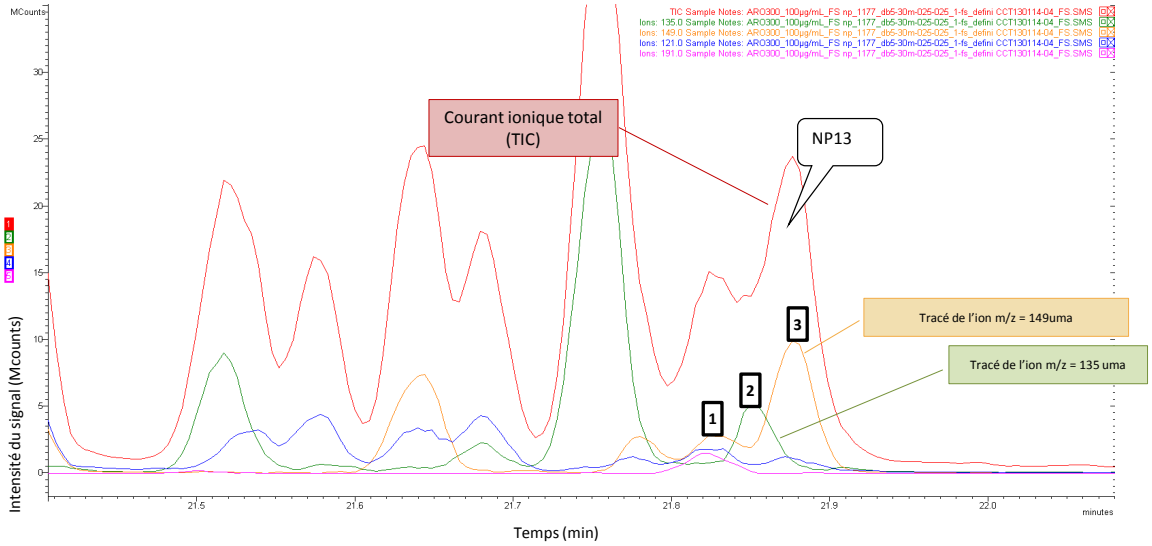
Probenbez. : Nonylphenol PESTANAL #46018
LZ / Info : <10/24740> Batch SZBA306XV (50mg/ml in DCM)
Flasche Nr.: 3
Bearbeiter : Ahrens GC-Säule: 044
Datum/Zeit : 8 Nov 10 1:46 pm Methode: UE10M0
Auswertung : DEFAULT.M Instrument: 5970 >D<



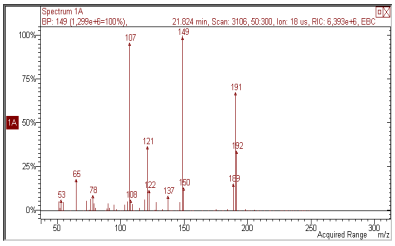


ANNEXE 10

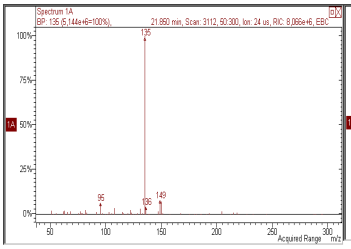
Résultats de traitements d'ions m/z = 135 et 149 uma;
du NP13 à partir d'une analyse CG/SM full scan
(100 à 500 uma)



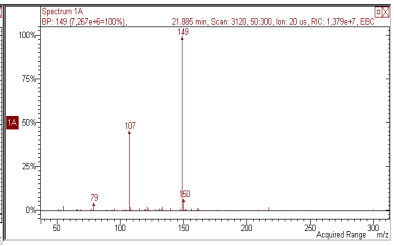
Spectre 1



Spectre 2



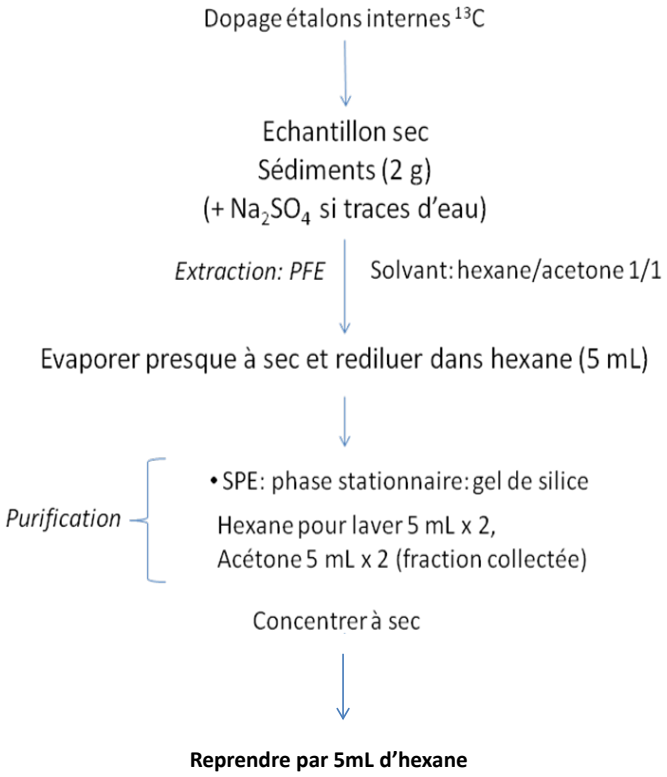
Spectre 3



ANNEXE 11

Conditions d’extraction/purification des sédiments

Protocole analytique pour l'analyse des nonylphénols et composés apparentés dans les sédiments



- **Paramètres d'extraction PLE**

Instrument : ASE® 200 (Dionex)

Paramètres	Conditions analytiques
Cellule	33 mL
Solvant	Hexane/acétone (1 : 1, v/v)
Pression	100 Bar
Température	100 °C
Preheat time	0 min
Static time	5 min
Flush volume	60 %
Purge time	200 s
Nombre de cycles	3

- **Paramètres de purification SPE**

Après extraction PLE, l'extrait hexane/acétone est évaporé presque à sec (50 à 100 µL) puis repris dans 5 mL d'hexane.
Les extraits sont traités à l'aide de cartouche SPE de 3 mL contenant 500 mg de silice (Alltech, 209250) selon le protocole suivant :

Paramètres	Solvant	Volume (min)	Débit de passage (mL/min)
Conditionnement	Hexane	5	1
Extrait	Hexane	5	1
Rinçage-1	Hexane	5	1
Rinçage-2	Hexane	5	1
Elution-1	Acétone	5	1
Elution-2	Acétone	5	1

Les 2 fractions d'acétone sont récupérées et combinées.