Phénols, triclosan et méthyltriclosan
Méthode d'analyse dans les eaux - fraction dissoute

Généralités

Nom de la famille de substances	Autres phénols

Nom des substances individuelles

pentachlorophénol	4-méthylphénol	3,4-dichlorophénol
2,3,4,5-tétrachlorophénol	3-méthylphénol	2,6-dichlorophénol
2,3,4,6-tétrachlorophénol	2-méthylphénol	2,5-dichlorophénol
2,3,5,6-tétrachlorophénol	2,4-diméthylphénol	4-chlorophénol
2-chlorophénol	2,3,6-trichlorophénol	3-chlorophénol
2,4-dichlorophénol	2,3,5-trichlorophénol	3,4,5-trichlorophénol
2,4,5-trichlorophénol	2,3,4-trichlorophénol	triclosan
2,4,6-trichlorophénol	2,3-dichlorophénol	méthyltriclosan
4-chloro-3-méthylphénol	3,5-dichlorophénol	

Code SANDRE des substances individuelles

1235	1638	1647
1273	1639	1648
1274	1640	1649
1275	1641	1650
1471	1642	1651
1486	1643	1723
1548	1644	5430
1549	1645	6664
1636	1646	

Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Eau : Eau souterraine [3] Eau douce de surface [3]
Principe de la méthode	Micro extraction sur phase solide supportée par un barreau aimanté (SBSE) avec dérivation simultanée (acétylation) et analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse en mode Full Scan
Acronyme	SBSE/GC/MS
Domaine d'application	De 10 ou 25 ng/L à 200 ng/L pour chacune des substances. Teneur en MES < 25 mg/L. Il a été vérifié pour cette méthode que la SBSE ne prend pas en compte les composés susceptibles d'être présents sur les MES (Aquaref_2014_D1c_BRGM_SBSE_et_MES_VF).
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	Teneur en MES [1305], NF EN 872

Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode

Réactifs :
Anhydride acétique : vérifier/quantifier la présence des composés phénoliques notamment phénol, méthylphénols et chlorophénols, au préalable.

Manipulation :
Utiliser des gants nitrile propres, la canne magnétique téflonée et la pince brucelles pour manipuler les barreaux. Ne jamais toucher les barreaux et les liners avec les doigts nus.

Nettoyage des barreaux :
- trempage dans l'eau Milli-Q® 3 à 4 h
- trempage dans CH_2Cl_2/Méthanol 50/50 (v :v) 1 à 2 h maximum
- séchage à T ambiante 1h minimum sous une feuille d'aluminium, sous hotte
- reconditionnement thermique :

Température (°C)	Rampe (°C/min)	Durée (min)
40		30
300	5	60

Interférents

Une pollution de l'anhydride acétique en phénol et en 4-méthylphénol est observée, quels que soient la qualité et le fournisseur. Le phénol ne peut pas être quantifié à ces niveaux de concentration (25-200 ng/L) et la concentration minimale du 4-méthylphénol est limitée à 50 ng/L.
Lors de cette étude, 7 références ont été testées, les composés identifiés sont indiqués dans le tableau ci-dessous (+ trace, ++ présence, +++ présence plus importante) :

anhydride acétique	phénol	2-méthyl phénol	3-méthyl phénol	4-méthyl phénol	2,4-dichloro-phénol	4-chloro phénol
Acros 97% lot1	+++				+	+++
Acros 97% lot2	++	+++	+++	+++		
Acros 99%	+++	+++	+++	+++		
VWR 99%	+++	+++	+++	+++		
Fisher 97%	++		+	+++		
Sigma 99%	+++	+++	+++	+++		
Fluka 99%	+++	+	+	+++	+	

Le 2,6-dichlorophénol et le 3,4-dichlorophénol sont interférés par la présence de siloxanes relargués par les barreaux. L'intensité est variable selon les barreaux et leur nombre de réutilisation. Cela a été pris en compte pour la détermination de la LQ.

***AVERTISSEMENT** : Il convient que l'utilisateur de cette méthode connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Cette méthode n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur. Certains des solvants utilisés dans le mode opératoire sont toxiques et dangereux. Les manipuler avec précaution.*

Il est absolument essentiel que les essais conduits conformément à cette méthode soient exécutés par du personnel ayant reçu une formation adéquate.

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée	Eau : Phase aqueuse [3]
Conditionnement et conservation des échantillons - Lavage du contenant : - Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,…) :	Flacon en verre muni de bouchon à face interne téflonnée rempli à ras bord. Flacon à usage unique. Les chlorophénols doivent être extraits dans les 2 jours après conservation à 4°C à l'abri de la lumière (NF EN 12673, 1999). Les alkylphénols sont stables 14 jours après acidification de l'échantillon à pH=2 (NF EN ISO 5667-3, 2013). Des essais au laboratoire dans une eau souterraine ont montré que les composés phénoliques se conservent à 4°C jusqu'à 5 jours. La congélation dans des flacons plastiques permet de conserver les échantillons pendant une durée de 3 semaines.

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai	Eau : Eau douce de surface = 2 x 10 mL Eau souterraine = 2 x 10 mL Pour chaque échantillon, deux micro-extractions/dérivations sont réalisées en parallèle, l'une en présence de sel. Les 2 barreaux sont ensuite introduits dans le même liner (sans ordre particulier) pour être désorbés et analysés en même temps.
Extraction et dérivation Micro-extraction	Des essais préliminaires ont été réalisés pour déterminer la présence de méthanol, la présence et la quantité de sel, le moment de l'étape de dérivation (avant extraction des composés sur SBSE ou simultanément), la nature de l'agent dérivant (K_2CO_3 ou $NaHCO_3$) la quantité d'agent dérivant et la durée de l'agitation (45 min à 2h). En résumé, l'ajout de sel favorise la récupération des composés les plus polaires mais défavorise celle des composés plus apolaires. La nature de l'agent dérivant n'a pas d'effet. L'augmentation des quantités d'agent dérivant n'améliore pas les taux de récupération. La suppression de méthanol permet d'atteindre l'équilibre plus rapidement et améliore la récupération des composés polaires jusqu'à logKow 3,6 (sans affecter celle des composés moins polaires). Pour une récupération optimale de tous les composés, deux extractions en parallèle sont nécessaires, l'une en présence de sel pour favoriser la récupération des composés les plus polaires (jusqu'à logKow=3,3), l'autre sans sel pour les composés les moins polaires. **Flacon A sans NaCl :** - Ajouter dans un vial de 20 ml taré 0,5 g de K_2CO_3. - Ajouter 10 ml d'échantillon. - Boucher le flacon avec un bouchon à vis à face téflonée et agiter jusqu'à dissolution complète. - Ajouter 100 µl de méthanol, - Ajouter 20 µl de la solution d'étalons internes. - Ajouter 10 µl de solution du traceur 2,4-dibromophénol. - Ajouter 250 µl d'anhydride acétique. - Homogénéiser avec une pipette par prélèvements et rejets successifs. Attention au dégazage qui peut engendrer un débordement. - Ne pas refermer le flacon.

Extraction et dérivation
Micro-extraction

Flacon B avec NaCl :
- Ajouter dans un vial de 20 ml taré 0,5 g de K_2CO_3 et 3,3 g de NaCl.
- Ajouter 10 ml d'échantillon.
- Boucher le flacon avec un bouchon à vis à face téflonée et agiter jusqu'à dissolution complète,
- Ajouter 100 µl de méthanol.
- Ajouter 20 µl de la solution d'étalons internes.
- Ajouter 10 µl de solution de traceur 2-bromophénol.
- Ajouter 250 µl d'anhydride acétique.
- Homogénéiser avec une pipette par prélèvements et rejets successifs. Attention au dégazage qui peut engendrer un débordement.
- Ne pas refermer le flacon.

Extraction :
- Placer les 2 flacons sur une plaque d'agitation.
- Ajouter un barreau (twister® 10mmx0,5mm Gerstel : 942340), dans chaque flacon.
- Ne pas fermer les flacons (pour éviter une surpression) mais protéger les de la pollution atmosphérique (couvercle, feuille d'aluminium… sur la table d'agitation).
- Agiter 1 heure à 1200 rpm.
- Récupérer chaque barreau à l'aide d'une canne magnétique téflonée, les rincer avec de l'eau Milli-Q®, les sécher avec un papier non pelucheux et les placer dans le liner, sans ordre particulier.

Conservation de l'extrait

Conservation des barreaux après micro-extraction/dérivation de l'échantillon non testée. Analyse immédiate à l'issue des extractions.

Méthode analytique utilisée

Unité de thermo-désorption (TDU) en mode *solvent venting* :
- *split* ouvert GC 1/50, *vent* pendant 0,5 min à 40°C, fermeture de la vanne de *split* pour désorption.
- programmation en température pour la désorption des barreaux :

Température (°C)	Rampe (°C/min)	Durée (min)
40	/	0,50
270	720	5,00

Injecteur CIS :
La cryofocalisation se fait à -100 °C, et l'injection des composés en tête de colonne se produit à 270 °C avec la programmation suivante :

Température (°C)	Rampe (°C/s)	Durée (min)
-100	/	0,20
270	12	8,00

Chromatographie :
Colonne Rxi-XLB® (30mx0.25mmx0.25µm ; Restek 13723)
Gaz vecteur : Hélium, 2 ml/min
Programmation en température du four :

Température (°C)	Rampe (°C/min)	Durée (min)
35	/	1,00
122	5	1,60
320	20	3,10

Méthode analytique utilisée

Spectrométrie de masse :
Mode d'ionisation : Impact Electronique (EI) source externe

Délai du solvant :	5 min
Température de la trappe :	220°C
Température de la ligne de transfert :	300°C
Température de la source :	200°C
Température du manifold :	50°C
Débit du damping gas:	1,0 mL/min
Courant d'émission du filament :	25 µA
Fenêtre de masse :	60 à 450 m/z

Tension du multiplicateur d'électrons : réglée automatiquement par «l'autotune».

Tr (min)	Substances	Ion(s) quantifiant(s) (u.m.a.)	Ion(s) qualifiant(s) (u.m.a.)
14,97	2-méthylphénol*	108	107+80
15,87	3-méthylphénol*	108	107+80
16,13	4-méthylphénol*	108	107+80
16,89	2-chlorophénol-3,4,5,6-d4	132	134
16,94	2-chlorophénol*	128+130	
17,79	3-chlorophénol*	128+130	
18,12	4-chlorophénol*	128+130	
18,19	2,4-diméthylphénol*	122+107	
19,40	*2-bromophénol*	172+174	
20,74	2,6-dichlorophénol*	162+164	
21,06	4-chloro-3-méthylphénol*	142+107+77	
21,23	2,5-dichlorophénol*	162	164
21,28	2,4-dichlorophénol*	162	164
21,50	3,5-dichlorophénol*	162+164	
21,75	2,3-dichlorophénol*	162+164	
22,22	3,4-dichlorophénol*	162+164	
22,68	2,4,6-trichlorophénol**	196+198+200+97	
23,18	2,3,6-trichlorophénol**	196+198+200+97	
23,26	2,3,5-trichlorophénol**	196+198+200+97	
23,33	2,4,5-trichlorophénol**	196+198+200+97	
23,64	*2,4-dibromophénol*	250+252+254	
23,77	2,3,4-trichlorophénol**	196+198+200+97	
23,89	3,4,5-trichlorophénol**	196+198+200+97	
24,41	2,3,5,6-tétrachlorophénol**	230+232	
24,45	2,3,4,6-tétrachlorophénol**	230+232	
24,88	2,3,4,5-tétrachlorophénol**	230+232	
25,21	2,4,6-tribromophénol	330+331+332+333	
25,69	pentachlorophénol**	266+268+264	
27,42	méthyltriclosan**	303+304	302
27,63	triclosan**	288	253

* : quantification avec l'étalon interne 2,4-dichlorophénol-d4
** : quantification avec l'étalon interne 2,4,6-tribromophénol
italique : traceur

Equipements (modèles utilisés)

Chromatographe en phase gazeuse (Varian 450®) avec module de desorption TDU et cryofocalisation CIS® (Gerstel), couplé à un spectromètre de masse (Varian 240)

Type d'étalonnage	Interne
Modèle utilisé **Etalons / Traceurs utilisés** **Domaine de concentration**	Etalonnage quadratique pour chaque substance. Etalons internes : 2-chlorophénol-d4 (0,250 mg/L) et 2,4,6-tribromophénol (0,125 mg/L) en mélange dans le méthanol. Traceurs : 2-bromophénol (1 mg/l dans le méthanol) pour l'extraction avec NaCl. 2,4-dibromophénol (0,05 mg/l dans le méthanol) pour l'extraction sans NaCl. Etalonnage en matrice (Evian).
Méthode de calcul des résultats Rendement Blancs	Etalonnage en matrice sur tout le protocole, pas de correction de rendement. Matrice utilisée : eau d'Evian - Blanc matériel : barreaux propres injectés pour contrôler l'état de fonctionnement de l'appareil, inférieur à la LD. - Blanc matrice (Evian) : inférieur à la LQ Soustraction du blanc : Non

Références de la méthode

La méthode est dérivée de la publication suivante	Montero L., Conradi S., Weiss H., Poppa P., Determination of phenols in lake and ground water samples by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 1071 (2005) 163-169. Casas Ferreira A.M., Möderb M., Fernández Laespada M.E., Stir bar sorptive extraction of parabens, triclosan and methyl ticlosan from soil, sediment, and sludge with *in situ* derivatization and determination by gas chromatography-mass spectrometry, Journal of Chromatography A,1218 (2011) 3837-3844.
Niveau de validation selon Norman	Niveau 1

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée **Domaine de validation**	NF T90-210:2009 10 à 200 ng/L
Matériaux de référence utilisés	Pas de matériau de référence disponible. Dopage de matrices vierges (eaux souterraines) avec des étalons.
Blanc analytique	Inférieur à la limite de quantification
Rendement (exactitude)	Détermination des taux de récupération par ajout des étalons (10 à 200 ng/L) dans 6 échantillons d'eau souterraine différents, analysés sur 6 jours différents, en duplicats (moyenne et écart-type, n=12).

Rendement (exactitude)

Concentration (ng/L)	10	25	50	100	200
2-méthylphénol	/	**97**	**90**	**93**	**99**
	/	9%	10%	13%	5%
4-chloropénol	**100**	**97**	**93**	**93**	**100**
	7%	7%	7%	7%	5%
4-méthylphénol	/	**95**	**91**	**97**	**97**
	/	21%	14%	17%	5%
pentachlorophénol	**99**	**100**	**100**	**101**	**94**
	19%	18%	10%	11%	7%
triclosan	/	**93**	**92**	**90**	**92**
	/	23%	16%	14%	9%
méthyltriclosan	/	**94**	**97**	**100**	**88**
	/	8%	8%	8%	11%

Autres phénols :

Concentration (ng/L)	10	25	50	100	200
2,3,4,5-tétrachlorophénol	**104**	**102**	**94**	**100**	**104**
	21%	7%	13%	7%	21%
2,3,4,6-tétrachlorophénol	**100**	**100**	**99**	**98**	**100**
	16%	10%	9%	6%	16%
2,3,4-trichlorophénol	**92**	**94**	**94**	**99**	**92**
	11%	9%	8%	5%	11%
2,3,5,6-tétrachlorophénol	**92**	**94**	**94**	**98**	**92**
	11%	9%	8%	7%	11%
2,3,5-trichlorophénol	**127**	**114**	**99**	**103**	**127**
	13%	14%	12%	8%	13%
2,3,6-trichlorophénol	**95**	**98**	**96**	**97**	**95**
	19%	9%	5%	7%	19%
2,3-dichlorophénol	**97**	**94**	**95**	**103**	**97**
	8%	11%	6%	8%	8%
2,4,5-trichlorophénol	**101**	**102**	**96**	**97**	**101**
	15%	10%	9%	6%	15%
2,4,6-trichlorophénol	**92**	**92**	**95**	**96**	**92**
	16%	10%	11%	6%	16%
2,4-dichlorophénol	**113**	**111**	**102**	**103**	**113**
	8%	9%	6%	10%	8%
2,4-diméthylphénol	**99**	**97**	**101**	**100**	**99**
	16%	10%	17%	6%	16%
2,5-dichlorophénol	**97**	**96**	**94**	**105**	**97**
	9%	11%	9%	8%	9%
2,6-dichlorophénol	**118**	**109**	**97**	**102**	**118**
	10%	7%	5%	13%	10%
2-chlorophénol	**120**	**118**	**112**	**101**	**120**
	16%	10%	7%	7%	16%
3,4,5-trichlorophenol	**98**	**94**	**94**	**95**	**98**
	9%	6%	9%	5%	9%
3,4-dichlorophénol	/	/	**99**	**92**	**101**
	/	/	20%	16%	10%
3,5-dichlorophénol	**113**	**108**	**102**	**103**	**113**
	16%	14%	9%	6%	16%
3-chlorophénol	**96**	**90**	**91**	**100**	**96**
	8%	8%	9%	6%	8%
3-méthylphénol	**94**	**85**	**89**	**99**	**94**
	26%	20%	15%	4%	26%
4-chloro-3-méthylphénol	**103**	**101**	**99**	**101**	**103**
	7%	11%	7%	10%	7%

Limite de quantification (LQ)

Limites de quantification vérifiées dans la matrice eau souterraine :

Substances	LQ (ng/L)
2-méthylphénol	25
4-chlorophénol	10
4-méthylphénol	25
pentachlorophénol	10
triclosan	25
méthyltriclosan	25

Autres phénols :

Substances	LQ (ng/L)
2,3,4,5-tétrachlorophénol	10
2,3,4,6-tétrachlorophénol	25
2,3,4-trichlorophénol	25
2,3,5,6-tétrachlorophénol	10
2,3,5-trichlorophénol	25
2,3,6-trichlorophénol	25
2,3-dichlorophénol	25
2,4,5-trichlorophénol	10
2,4,6-trichlorophénol	25
2,4-dichlorophénol	25
2,4-diméthylphénol	25
2,5-dichlorophénol	25
2,6-dichlorophénol	25
2-chlorophénol	25
3,4,5-trichlorophenol	25
3,4-dichlorophénol	50
3,5-dichlorophénol	25
3-chlorophénol	25
3-méthylphénol	25
4-chloro-3-méthylphénol	25

Incertitudes (%) sur les résultats

Méthode d'évaluation : NF ISO 11352 §8.3.2.
Facteur d'élargissement : k = 2
Matrice : eau souterraine

Concentration (ng/L)	10	25	50	100	200
2-méthylphénol	/	23	32	34	14
4-chlorophénol	18	20	23	23	15
4-méthylphénol	/	48	37	38	16
pentachlorophénol	41	40	23	25	22
triclosan	/	53	39	38	27
méthyltriclosan	/	24	20	20	37

Incertitudes (%) sur les résultats

Autres phénols :

Concentration (ng/L)	10	25	50	100	200
2,3,4,5-tétrachlorophénol	32	46	19	33	17
2,3,4,6-tétrachlorophénol	/	36	24	21	17
2,3,4-trichlorophénol	/	30	24	23	14
2,3,5,6-tétrachlorophénol	50	30	25	23	18
2,3,5-trichlorophénol	/	54	39	28	21
2,3,6-trichlorophénol	/	43	22	17	19
2,3-dichlorophénol	/	21	28	20	21
2,4,5-trichlorophénol	31	34	23	22	17
2,4,6-trichlorophénol	/	40	29	28	18
2,4-dichlorophénol	/	30	29	16	24
2,4-diméthylphénol	/	35	24	35	16
2,5-dichlorophénol	/	24	28	26	22
2,6-dichlorophénol	/	39	24	15	29
2-chlorophénol	/	48	38	28	18
3,4,5-trichlorophénol	/	21	20	26	18
3,4-dichlorophénol	/	/	43	39	23
3,5-dichlorophénol	/	43	35	21	18
3-chlorophénol	/	21	30	29	16
3-méthylphénol	/	58	56	41	14
4-chloro-3-méthylphénol	/	18	25	17	23

Contacts

Auteurs	Girardeau B., Amalric L.
Institut	BRGM
Contact	l.amalric@brgm.fr