

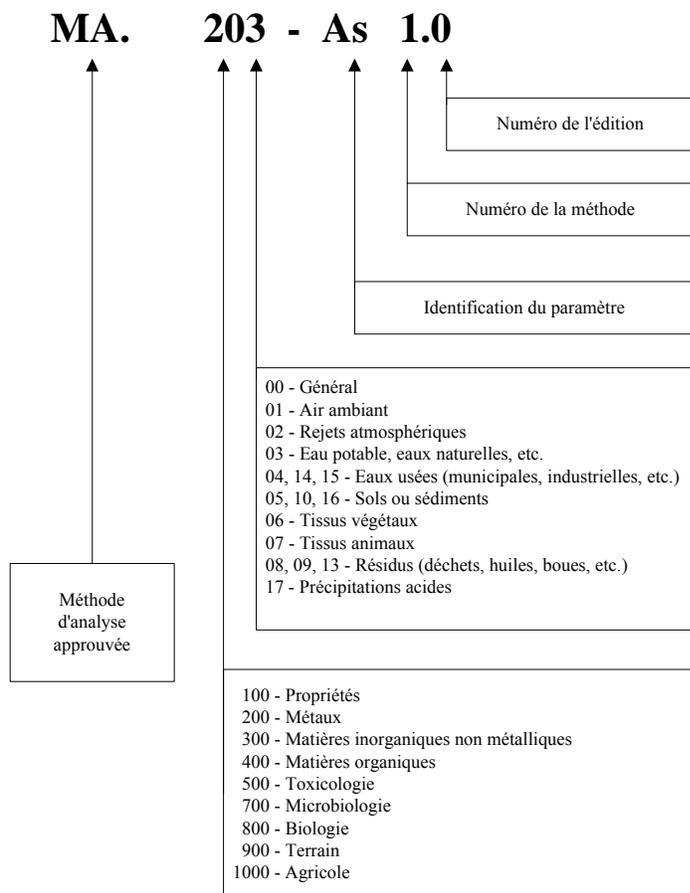
Méthode d'analyse



MA. 404 – Alkylphénols 1.0

Détermination des alkylphénols dans les eaux usées :
extraction liquide-solide, dérivation et dosage par
chromatographie en phase gazeuse couplée à un
spectromètre de masse

Exemple de numérotation :



La première édition d'une méthode est marquée de l'indice « 0 ». De façon usuelle, après quatre révisions successives, l'indice est augmenté de 1. Il peut également être élevé si une révision entraîne des modifications en profondeur de la méthode. La date de révision est suivie d'un chiffre qui indique le numéro de la révision en cours.

Ce document doit être cité de la façon suivante :

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC.
Détermination des alkylphénols dans les eaux usées : extraction liquide-solide, dérivation et dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse, MA. 404 – Alkylphénols 1.0, Ministère du développement durable, de l'environnement et des Parcs du Québec, 2012, 14 p.

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
2700, rue Einstein, bureau E.2.220
Québec (Québec) G1P 3W8

Téléphone : 418 643-1301
Télécopieur : 418 528-1091
Courriel : ceaeq@mddep.gouv.qc.ca

© Gouvernement du Québec, 2012

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
1. DOMAINE D'APPLICATION	5
2. PRINCIPE ET THÉORIE	5
3. FIABILITÉ	6
3.1. Interférences	6
4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION	6
5. APPAREILLAGE	6
6. RÉACTIFS ET ÉTALONS	7
7. PROTOCOLE D'ANALYSE	10
7.1. Préparation du matériel	10
7.2. Extraction	10
7.3. Dérivation	11
7.4. Préparation des solutions d'étalonnage	12
7.5. Dosage	12
8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS	12
9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ	13
10. BIBLIOGRAPHIE	14

INTRODUCTION

L'activité humaine produit de nombreux composés organiques qui sont rejetés dans l'environnement par l'intermédiaire des eaux usées. Pour les grandes villes, ce dégagement représente une source majeure de pollution pour le système aquatique. Une grande variété de contaminants sont aussi présents dans les rejets des usines de traitement des eaux usées, et peuvent avoir un impact sur la faune et les humains en raison de leur effet biologique, en particulier sur les systèmes hormonaux.

Dans cette méthode, les alkylphénols ont été ciblés. Dans la famille des alkylphénols, le nonylphénol et l'octylphénol ont été retenus. Le nonylphénol est un composé de synthèse qui est un précurseur dans la fabrication des nonylphénols polyéthoxylés utilisés comme agents tensioactifs dans plusieurs produits industriels et domestiques. Il est également utilisé pour la fabrication de résines phénoliques. L'octylphénol a un usage et des propriétés similaires au nonylphénol. Ces produits sont classés comme œstrogénomimétiques et pourraient être considérés comme perturbateurs endocriniens potentiels chez plusieurs espèces. Le Conseil canadien des ministres de l'environnement a émis une recommandation pour la protection de la vie aquatique limitant à 1,0 µg/l la concentration dans l'eau pour l'ensemble de ces produits.

Plusieurs études ont montré la présence de ces contaminants dans les boues, les rejets d'usines de traitement des eaux usées, les sédiments, les organismes aquatiques et les eaux de surface.

Le Règlement numéro 2008-47 sur l'assainissement des eaux de la Communauté métropolitaine de Montréal a fixé deux normes maximales pour les nonylphénols selon le type de procédé utilisé à la station d'épuration recevant les déversements. La valeur de 120 µg/l est applicable aux déversements dans les réseaux d'égouts dotés d'une station d'épuration avec traitement physico-chimique et la valeur de 300 µg/l aux stations avec traitement biologique. La valeur retenue est la somme des nonylphénols qualité technique et le p-n-nonylphénol.

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode s'applique à la détermination des alkylphénols dans les eaux usées. Le domaine d'application est présenté dans le tableau qui suit pour chacun des composés.

Composés	Limite inférieure (µg/l)	Limite supérieure (µg/l)
4-ter-octylphénol	0,150	6,25
Nonylphénol qualité technique	2,0	62,5
p-n-nonylphénol	0,100	6,25

2. PRINCIPE ET THÉORIE

Les composés sont extraits de l'échantillon par extraction liquide-solide avec une colonne de type C-18. L'extrait est évaporé à sec et une dérivation a lieu en présence de BSTFA + 1 % TMCS et de pyridine.

Les composés sont séparés sur une colonne de chromatographie en phase gazeuse. Le détecteur utilisé est un spectromètre de masse, ce qui permet l'identification des composés à l'aide du jumelage des temps de rétention et des ions spécifiques choisis (SIM). Les concentrations des composés qui sont contenues dans l'échantillon sont calculées en comparant les surfaces des pics des produits de l'échantillon à celles obtenues avec des solutions étalons de concentrations connues.

3. FIABILITÉ

Les données de validation et de performance méthodologiques sont disponibles dans les documents qualité de la division de chimie organique.

3.1. INTERFÉRENCES

Les interférences peuvent être causées par des contaminants contenus dans les solvants, les réactifs, la verrerie ou les appareils de préparation. Tous les solvants, les réactifs et les appareils doivent être régulièrement vérifiés par l'analyse de solutions témoins. Évitez tous les contenants en plastique.

4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION

Prélever un échantillon représentatif dans un contenant de verre sans contaminant. Conserver l'échantillon à environ 4 °C. Le délai de conservation entre le prélèvement et l'analyse ne doit pas excéder 14 jours.

5. APPAREILLAGE

Les marques de commerce apparaissant ci-dessous ne sont mentionnées qu'à titre de renseignement.

- 5.1. Chromatographe en phase gazeuse de marque Agilent Instruments, modèle 6890N, couplé à un spectromètre de masse, modèle 5975N, et à un injecteur automatique
- 5.2. Colonne chromatographique capillaire d'une longueur de 30 m × 0,25 mm Di de type HP-5 MS, dont la phase est d'une épaisseur de 0,25 µm
- 5.3. Balance analytique dont la sensibilité est de 0,01 mg
- 5.4. Système d'évaporation sous jet d'argon, avec bain-marie
- 5.5. Bain d'extraction sous vide de marque Visiprep ou l'équivalent
- 5.6. Pompe à vide
- 5.7. Sèche-colonnes avec système à jet d'argon

- 5.8. Bain à ultrasons
- 5.9. Colonnes de type C-18, 1 g, 6 ml
- 5.10. Agitateur à vortex

6. RÉACTIFS ET ÉTALONS

Tous les solvants utilisés sont de qualité pesticide ou l'équivalent. Les réactifs commerciaux utilisés sont de qualité ACS, à moins d'indication contraire. L'eau utilisée est de l'eau déminéralisée, traitée sur charbon activé et sur résine libre de matières organiques.

À moins d'indication contraire, les solutions préparées sont utilisées jusqu'à épuisement.

Pour les étalons (*cf.* 6.18 à 6.28), les solutions sont conservées au congélateur jusqu'à épuisement ou jusqu'à ce que le critère d'acceptabilité pour les solutions étalons (point 9) ne soit plus respecté.

- 6.1. Acide chlorhydrique, HCl (CAS n° 7647-01-0)
- 6.2. Méthanol, CH₃OH (CAS n° 67-56-1)
- 6.3. Isooctane, C₈H₁₈ (CAS n° 26635-64-3)
- 6.4. Acétone, C₃H₆O (CAS n° 67-64-1)
- 6.5. Dichlorométhane, CH₂Cl₂ (CAS n° 75-09-2)
- 6.6. 4-tert-octylphénol, C₁₄H₂₂O (CAS n° 140-66-9)
- 6.7. Nonylphénol qualité technique, C₁₅H₂₄O (CAS n° 84852-15-3) utilisé au laboratoire
- 6.8. P-n-nonylphénol, C₁₅H₂₄O (CAS n° 104-40-5)
- 6.9. 4-nonylphénol-2,3,5,6-d₄, C₁₅D₄H₂₀O (CAS non disponible)
- 6.10. Bisphénol A-d₁₆, C₁₅D₁₆O₂ (CAS n° 96210-87-6)
- 6.11. Estriol-2,4,17-d₃, C₁₈H₂₁D₃O₃ (CAS 79037-36-8)
- 6.12. 3,3', 5,5'-tétrabromobiphényle, C₁₂H₆Br₄ (CAS n° 16400-50-3)
- 6.13. Benzo(a)anthracène-D₁₂, C₂₀D₁₂ (CAS n° 63466-71-7)
- 6.14. BSTFA + 1 % TMCS, Bis(triméthylsilyl)trifluoroacetamide avec triméthylchlorosilane C₈H₁₈F₃NOSi₂ (CAS n° 25561-30-2) (CAS n° 75-77-4)
- 6.15. Pyridine, C₅H₅N (CAS n° 110-86-1)

6.16. Solution d'acide chlorhydrique 6 N

Dans une bouteille de 2 litres, ajouter à 1000 ml d'eau purifiée 1000 ml d'acide chlorhydrique concentré (cf. 6.1).

6.17. Solution d'eau Millipore acidifiée

Dans une fiole de 1000 ml, diluer 1,5 ml d'acide chlorhydrique (cf. 6.1) dans environ 800 ml d'eau Millipore. Jauger à 1000 ml à l'aide d'eau Millipore. Le pH sera d'environ 2.

6.18. Solution étalon de 4-tert-octylphénol à 200 mg/l*

Utiliser une solution commerciale ou la préparer comme suit : dissoudre 0,0020 g de 4-tert-octylphénol dans environ 5 ml de méthanol. Compléter à 10 ml avec du méthanol.

6.19. Solution étalon de nonylphénol qualité technique à 1000 mg/l*

Utiliser une solution commerciale ou la préparer comme suit : dissoudre 0,0100 g de nonylphénol qualité technique dans environ 5 ml de méthanol. Compléter à 10 ml avec du méthanol.

6.20. Solution étalon de p-n-nonylphénol à 200 mg/l*

Utiliser une solution commerciale ou la préparer comme suit : dissoudre 0,0020 g de p-n-nonylphénol dans environ 5 ml de méthanol. Compléter à 10 ml avec du méthanol.

6.21. Solution étalon d'estriol-d₃ de 200 mg/l*

Utiliser une solution commerciale ou la préparer comme suit : dissoudre 0,0020 g d'estriol-d₃ dans environ 5 ml de méthanol. Compléter à 10 ml avec du méthanol.

6.22. Solution étalon de 3,3',5,5' tétrabromobiphényle de 10 mg/l*

Utiliser une solution commerciale et la diluer comme suit : dans un ballon de 10 ml ajouter 1 ml de la solution commerciale 100 µg/ml et compléter à 10 ml avec de l'isooctane.

6.23. Solution étalon de benzo(a)anthracène-d₁₂ de 200 mg/l*

Utiliser une solution commerciale ou la préparer comme suit : dissoudre 0,0020 g de benzo(a)anthracène-d₁₂ dans environ 5 ml d'isooctane. Compléter à 10 ml avec de l'isooctane.

* Le poids indiqué est celui utilisé pour une substance dont le pourcentage est égal à 100. Tout écart peut être compensé par une correction du poids indiqué. La concentration de la solution étalon peut être changée de même que le volume final.

6.24. Solution étalon de 4-nonylphénol-d₄ de 200 mg/l*

Utiliser une solution commerciale ou la préparer comme suit : dissoudre 0,0020 g de 4-nonylphénol-d₄ dans environ 5 ml de méthanol. Compléter à 10 ml avec du méthanol.

6.25. Solution des étalons d'injection : 3,3',5,5'-tétrabromobiphényle et benzo(a)anthracène-d₁₂

Dans un ballon de 25 ml contenant 250 µl d'acétone, effectuer les dilutions nécessaires pour obtenir les concentrations suivantes. Compléter avec de l'isooctane.

Solution étalon	Concentration finale (µg/l)
Benzo(a)anthracène-d ₁₂	500
3,3',5,5'-tétrabromobiphényle	200

NOTE – Le standard est constitué de 99 % d'isooctane et de 1% d'acétone. Préparer une quantité suffisante pour la séquence d'analyse en incluant la courbe des standards.

6.26. Solution des étalons d'extraction avec standards deutérés

Effectuer les dilutions nécessaires avec du méthanol pour obtenir les concentrations suivantes :

Solution étalon	Concentration finale (µg/l)
4-nonylphénol-d ₄	250

6.27. Solution des étalons de dérivation avec standards deutérés

Effectuer les dilutions nécessaires avec du méthanol pour obtenir les concentrations suivantes :

Solution étalon	Concentration finale (µg/l)
Bisphénol A-d ₁₆	250
Estriol-d ₃	1000

* Le poids indiqué est celui utilisé pour une substance dont le pourcentage est égal à 100. Tout écart peut être compensé par une correction du poids indiqué. La concentration de la solution étalon peut être changée de même que le volume final.

6.28. Solution d'ajout

Effectuer les dilutions nécessaires avec du méthanol pour obtenir les concentrations suivantes :

Solution étalon	Concentration finale ($\mu\text{g/l}$)
4-tert-octylphénol	250
Nonylphénol qualité technique	2500
p-n-nonylphénol	250

7. PROTOCOLE D'ANALYSE

Pour toute série d'échantillons, les recommandations des *Lignes directrices concernant les travaux analytiques en chimie*, DR-12-SCA-01, sont suivies pour s'assurer d'une fréquence d'insertion adéquate en ce qui concerne les éléments de contrôle et d'assurance de la qualité (blanc, matériaux de référence, duplicata, etc.). Tous ces éléments d'assurance et de contrôle de la qualité suivent les mêmes étapes du protocole analytique que les échantillons.

7.1. PRÉPARATION DU MATÉRIEL

NOTE – Le rinçage de la vaisselle est important car une contamination avec le bisphénol A et le cholestérol est possible.

NOTE – Éviter tous les plastiques ainsi que l'eau naturelle embouteillée dans des contenants en plastique pour les ajouts.

- Rincer les fioles de 50 ml avec des portions successives de dichlorométhane et de méthanol.
- Rincer les tubes jetables de 10 ml avec des portions successives d'acétone et de méthanol.
- Si nécessaire, rincer les réservoirs avec du méthanol et de l'eau purifiée.

7.2. EXTRACTION

- Ajouter 125 μl d'acide chlorhydrique 6 N. Vérifier le pH de l'échantillon. Ajuster à 2 si nécessaire en ajoutant plus d'acide chlorhydrique 6 N.
- Dans des fioles de 50 ml, préparer les échantillons, le blanc et l'ajout selon le tableau suivant.

	Volume initial (ml)	Acide chlorhydrique 6 N (µl)	Étalon d'ajout (µl) (cf. 6.28)	Étalon d'extraction (µl) (cf. 6.26)
Blanc	50	125	s. o.	200
Ajout dans l'eau purifiée 1000 µg/l	50	125	500	200
Ajout dans l'eau purifiée 200 µg/l	50	125	100	200
Ajout dans l'échantillon	50	125	500	200
Échantillons	50	125	s. o.	200

- Conditionner chacune des colonnes C-18, 1 g, 6 ml à l'aide de : 2 fois 5 ml d'acétone, 3 fois 5 ml de méthanol et 3 fois 5 ml d'eau acidifiée purifiée (pH 2). **Ne pas aller à sec entre ces étapes.**
- Laisser passer les échantillons sur les colonnes à un débit d'environ 4 ml/minute.
- Rincer la fiole et le réservoir de chaque échantillon avec 5 ml d'eau purifiée.
- Sécher les colonnes sous jet d'argon durant 1 heure à 1 heure et demie.
- Éluer les colonnes dans des tubes jetables de 15 ml avec 10 ml d'acétone.

7.3. DÉRIVATION

- Évaporer à sec dans un bain-marie à environ 30 °C sous jet d'argon.
- Ajouter 100 µl de la solution des étalons de dérivation de bisphénol A-d₁₆ et d'estriol-d₃ à 250-1000 µg/l (cf. 6.27).
- Évaporer à sec.
- Ajouter 50 µl de BSTFA + 1 % TMCS et 50 µl de pyridine. Visser fermement les tubes et passer à l'agitateur à vortex.
- Effectuer la dérivation dans un bain-marie à 60 °C durant 30 minutes.
- Ajouter 500 µl de la solution des étalons d'injection de 3,3',5,5'-tétrabromobiphényle et benzo(a)anthracène-d₁₂ (cf. 6.25).
- Transférer les extraits dans des vials pour injection sur GC-MS.

NOTE – Si cela est nécessaire, filtrer les extraits (blanc, ajouts, échantillons) sur un filtre de nylon 0,45 µm de 4 mm. Avant la filtration, il arrive qu'il y ait un précipité blanc dans les tubes.

7.4. PRÉPARATION DES SOLUTIONS D'ÉTALONNAGE

- Dans des tubes jetables de 10 ml, ajouter les standards d'ajout et d'extraction. Évaporer à sec. Ajouter le standard de dérivation. Évaporer à sec.
- Dériver de la même façon que les échantillons. Ajouter ensuite le standard d'injection.
- Le volume final est de 0,5 ml. Voir le tableau qui suit pour la préparation des étalons.

Courbe de 100-200-500-750-1000-2500 µg/l :

Étalons (µg/l)	Solution d'ajout (µl) (cf. 6.28)	Étalons d'extraction (µl) (cf. 6.26)	Étalons de dérivation (µl) (cf. 6.27)	Étalons d'injection et solvant (µl) (cf. 6.25)
100	50	200	100	500
200	100	200	100	500
500	250	200	100	500
750	375	200	100	500
1000	500	200	100	500
2500	1250	200	100	500

7.5. DOSAGE

Analyser les solutions étalons et les échantillons par chromatographie en phase gazeuse couplé à une spectrométrie de masse.

NOTE – Pour connaître les conditions de fonctionnement des différentes composantes de l'appareil, veuillez consulter le document de référence approprié dans la documentation qualité de la division de chimie organique.

8. **CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS**

Les résultats d'analyse sont obtenus à l'aide d'un système informatisé de traitement de données.

Les échantillons sont dosés à partir de la courbe d'étalonnage, calculée à partir de solutions étalons. Les résultats sont corrigés par l'étalon d'injection 3,3',5,5'-tétrabromobiphényle.

$$C_e = \frac{A_x \times C_{is}}{A_{is} \times R_f} \times \frac{V_f}{V_i} \times F$$

où

$$R_f = \frac{A_s \times C_{ise}}{A_{ise} \times C_s}$$

où

C_e : concentration du composé d'intérêt contenu dans l'échantillon (µg/l);
 A_x : aire du composé d'intérêt dans la solution dosée (échantillon);

- C_{is} : concentration de l'étalon d'injection dans l'échantillon ($\mu\text{g/l}$);
 A_{is} : aire de l'étalon d'injection dans l'échantillon;
 R_f : facteur de réponse de la solution étalon;
 V_i : volume initial (ml);
 V_f : volume final (ml);
 F : facteur de dilution, si nécessaire;
 A_s : aire du composé d'intérêt dans la solution étalon;
 C_{ise} : concentration de l'étalon d'injection dans la solution étalon ($\mu\text{g/l}$);
 A_{ise} : aire de l'étalon d'injection dans la solution étalon;
 C_s : concentration du composé d'intérêt dans la solution étalon ($\mu\text{g/l}$).

NOTE – La concentration du nonylphénol qualité technique est calculée en prenant la moyenne des concentrations mesurées avec les six pics chromatographiques les plus importants.

Pour se conformer à la réglementation, le calcul de la concentration totale de nonylphénol est obtenue en additionnant les concentrations du nonylphénol qualité technique et du p-n-nonylphénol.

9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ

Éléments de contrôle	Critères d'acceptabilité
Matériaux de référence	La valeur obtenue doit être à l'intérieur de l'intervalle de ± 2 écarts types calculé à partir de la moyenne de tous les résultats obtenus pour ces échantillons de contrôle ou être à l'intérieur de l'intervalle : valeur moyenne $\pm 30\%$ pour 2 composés sur 3.
Étalon de contrôle	Le résultat doit être \geq à 50 % de la valeur attendue pour 2 composés sur 3.
Étalon d'extraction	Le pourcentage de récupération doit être entre 50 et 140 %.
Étalon de dérivation	Le résultat doit être entre 70 et 120 % de la valeur attendue.
Ajout dosé	La récupération doit être comprise entre 50 et 120 % pour 2 composés sur 3.
Blanc	Lorsqu'il y a un résultat positif, et jusqu'à concurrence de 10 fois la limite de détection, il sera soustrait du résultat des échantillons.
Solution étalon	Un écart de 25 % est accepté entre les valeurs de la nouvelle et de l'ancienne solution étalon pour 2 composés sur 3.
Courbe d'étalonnage	Coefficient de corrélation (r) $> 0,95$.

10. BIBLIOGRAPHIE

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Guide des bonnes pratiques de laboratoire en chimie organique*, DR-09-COS-001, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Lignes directrices concernant les travaux analytiques en chimie*, DR-12-SCA-01, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante. [http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/PALA/DR12SCA01_lignes_dir_chimie.pdf]

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie*, DR-12-VMC, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante. [http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/PALA/DR12VMC_protocole_val_chimie.pdf]

COMMUNAUTÉ MÉTROPOLITAINE DE MONTRÉAL. *Règlement numéro 2008-47 sur l'assainissement des eaux*, 11 décembre 2008. [http://www.cmm.qc.ca/fileadmin/user_upload/reglements/2008-47_v2.pdf]

JEANNOT, ROGER, HASSAN SABIK, EMMANUEL SAUVARD, THIERRY DAGNAC et KATJA DOHRENDORF, BRGM. *Determination of alkylphenols, bisphenol A, steroids and sterols in surface and waste water using gas chromatography with mass spectrometry (GC/MS and HPLC-MS/MS)*, Service d'analyse et de caractérisation minérale, Centre Saint-Laurent, Environnement Canada, Journal of Chromatography, 18 février 2002.

ZHANG Z. L., A. HIDHERB, J. L. ZHOU. *Optimization of derivatization for the analysis of estrogenic compounds in waters by solid-phase extraction GC-MS*, Analytical chemical acta, Vol. 57, no 1, p. 52-61, 2006.