



**AMP est une société créée en 1977 par Mr PEENAERT**

**AMP est spécialisée dans l'Environnement**

- Prélèvements accrédités COFRAC : Eaux naturelles, eaux potables, eaux résiduaires dont les RSDE**
- Analyses accréditées COFRAC : Physico-chimie, recherche de micropolluants organiques et microbiologiques**

**Agréments des Ministères de la Santé et de l'Environnement**

**Traitement des effluents ( Pesticides, dérivés phénolés, résidus pharmaceutiques, etc.)**

# La SBSE comme alternative à la méthode d'analyse des RSDE.

## SBSE et Normalisation.

**Olivier DOUILLET**



# **L'analyse des micropolluants organiques dans les eaux (naturelles et résiduaires) ?**

**OUI mais après validation de la méthode selon la norme NF T 90-210, intitulée Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire.**

# **Cas des dérivés phénolés :**

- Les Halogénophénols**
- Les Alkylphénols**

**Molécules largement et diversement  
utilisées par les industries.**

**Molécules ubiquitaires dans  
l'environnement**

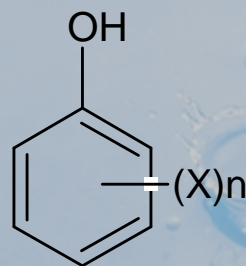


# **Cas des dérivés phénolés :**

- Rappels sur les dérivés phénolés**
- État de l' Art des techniques analytiques**
- Étapes de la validation d' une méthode  
à l' accréditation COFRAC**

# Rappels sur les dérivés phénolés :

Structure générale des halogénophénols :

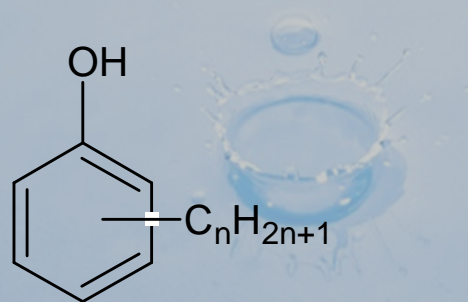


avec X = Cl ou Br et n = 1 à 5

- Très répandus
- Activité microbienne
- Produits pharmaceutiques, colorants ...
  - Dégradation de certains pesticides
  - Certains sont classés RSDE

# Rappels sur les dérivés phénolés :

Structure générale des alkylphénols :



avec  $n = 1$  à  $9$

- Lipophiles et persistants
- Très répandus
- Perturbateurs endocriniens
- 4-nonylphénols classés comme RSDE



# Etat de l' Art des techniques analytiques

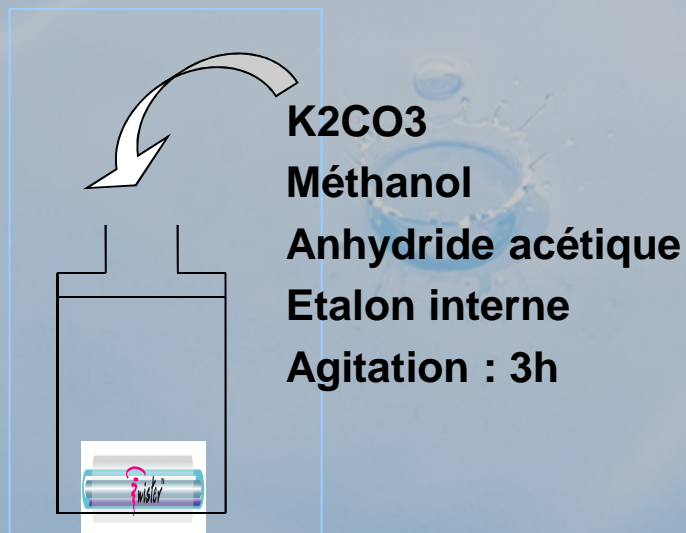
- Chromatographie en phase gazeuse ou chromatographie en phase liquide
- Détection : spectromètre de masse ou détecteur à capture d' électrons (Halogénophénols)
- Extraction : Liquide/liquide ou Phase solide (SPE)



Une alternative : l' extraction sur barreau magnétique recouvert de PDMS Twister®  
(Stir Bars Sorptive Extraction : SBSE)



# Descriptif de la technique SBSE/GC/MS



Extrait brut

- Faible volume d'échantillon : 100 µl
- Peu de solvants : 5 à 10 µl de méthanol
- Dérivation par l'anhydride acétique

# Validation de méthode

- Exemple de linéarité du Pentachlorophénol

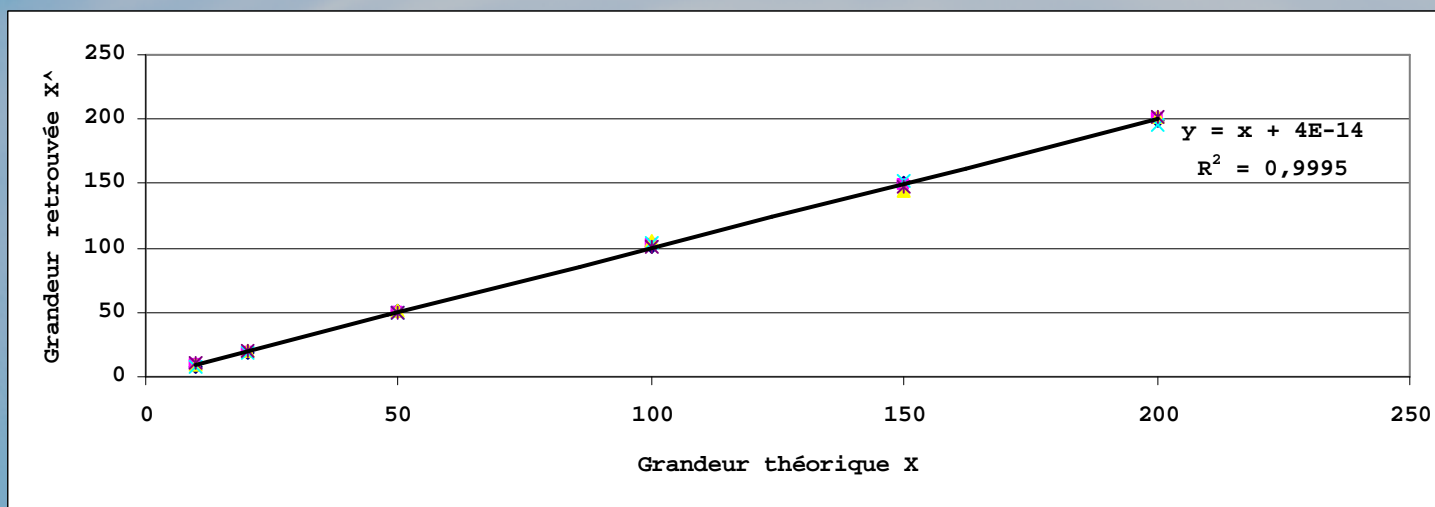


Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4	niv 5	niv 6
jour différent	10	20	50	100	150	200
J1	-16,61%	-4,03%	3,34%	1,45%	0,87%	-0,98%
J2	-2,01%	-6,54%	0,43%	3,19%	-1,03%	-0,17%
J3	-13,49%	-2,48%	1,08%	5,44%	-3,72%	0,73%
J4	-20,61%	-6,00%	0,60%	4,19%	1,91%	-2,05%
J5	2,53%	1,64%	-0,55%	0,25%	-1,21%	0,63%

# Validation de méthode

- Exemple de linéarité du 4-Nonylphénols

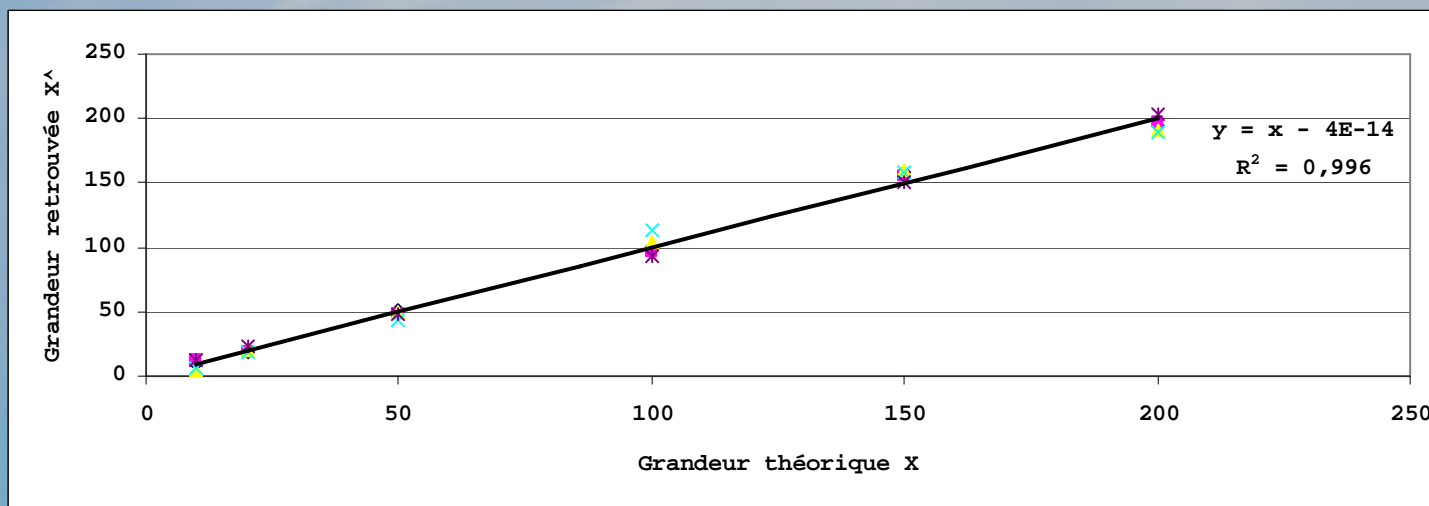


Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4	niv 5	niv 6
jour différent	10	20	50	100	150	200
J1	-13,28%	-8,22%	3,03%	-1,02%	5,64%	-2,99%
J2	25,10%	-4,71%	-3,26%	-3,39%	3,68%	-1,03%
J3	-46,55%	-0,93%	0,47%	4,14%	6,25%	-4,45%
J4	-31,32%	-4,22%	-13,50%	13,36%	5,65%	-5,55%
J5	24,03%	15,40%	-4,22%	-7,46%	0,69%	1,53%

# Validation de méthode

- Étude de la limite de quantification pour le Pentachlorophénol sur une eau entrée de station d'épuration

DCO : 661 mgO<sub>2</sub>/l

MES : 310 mg/l

n = 5 et p = 2

Concentration dans l'échantillon d'eau résiduaire  
utilisé : 4,26 ng/l

Série	Répétitions - ER		Statistiques	
	1	2	Moyenne	Var. des séries
1	9,68	9,77	9,725	0,004
2	10,8	10,4	10,60	0,08
3	9,53	9,42	9,475	0,006
4	9,21	9,01	9,11	0,02
5	12,86	12,25	12,555	0,186

Variance de répétabilité : $s^2_{\text{répét}}$	0,0592
Variance des moyennes : $s(\bar{z}_i)^2$	1,9005
Variance inter-séries : $s^2_B$	1,8709
Variance de fidélité intermédiaire : $s^2_{LQ}$	1,9301
Moyenne générale : $Z_{LQ}$	10,29
Écart-type de fidélité intermédiaire : $s_{LQ}$	1,3893
CV de fidélité intermédiaire en % : $CV_{LQ}$	13,497
Réf	10,00
EMA = 60% x Réf	6,00
LQ + 60% x LQ	16,00
$Z_{LQ} + 2 \times s_{LQ}$	13,07
$Z_{LQ} - 2 \times s_{LQ}$	7,51
LQ - 60% x LQ	4,00

Exactitude LQ vérifiée : VRAI



# Validation de méthode

- Étude de la limite de quantification pour le 4-Nonylphénols sur une eau entrée de station d'épuration

DCO : 661 mgO<sub>2</sub>/l

MES : 310 mg/l

Concentration dans l'échantillon d'eau résiduaire utilisé : 0 ng/l

Série	Répétitions - ER		Statistiques	
	1	2	Moyenne	Var. des séries
1	7,78	10,74	9,26	4,381
2	12,29	15,59	13,94	5,445
3	10,72	9,53	10,125	0,708
4	12,39	9,66	11,025	3,726
5	9,13	5,99	7,56	4,930

n = 5 et p = 2

Variance de répétabilité : $s^2_{\text{répét}}$	3,8380
Variance des moyennes : $s^2_{(Z_i)}$	5,5904
Variance inter-séries : $s^2_B$	3,6713
Variance de fidélité intermédiaire : $s^2_{LQ}$	7,5094
Moyenne générale : $Z_{LQ}$	10,38
Écart-type de fidélité intermédiaire : $s_{LQ}$	2,7403
CV de fidélité intermédiaire en % : $CV_{LQ}$	26,395
Réf	10,00
EMA = 60% x Réf	6,00
LQ + 60% x LQ	16,00
$Z_{LQ} + 2 \times s_{LQ}$	15,86
$Z_{LQ} - 2 \times s_{LQ}$	4,90
LQ - 60% x LQ	4,00

Exactitude LQ vérifiée

VRAI

# Validation de méthode

- Étude de l'exactitude pour le Pentachlorophénol sur une eau entrée de station d'épuration

	Entrée Step 10	Entrée Step 50	Entrée Step 150
Valeur de référence : Réf	10,00	50	150
Incertitude-type sur la valeur de référence : $u_{ref}$	0,987	0,724	3,248
EMA en % de Réf	60%	20%	20%
EMA	6	10	30
Nombre de séries	5	5	5
Nombre de répétitions par séries	2	2	2
Moyenne générale Z	10,293	50,510	151,260
Ecart-type de fidélité intermédiaire : $s_{FI}$	1,389	1,742	2,526
CV de fidélité intermédiaire en % : $CV_{FI}$	13,497	3,449	1,670

	Entrée Step 10	Entrée Step 50	Entrée Step 150
Ecart normalisé EN	0,251	0,480	0,366
Critère	2	2	2
La justesse de la méthode	Vérifiée	Vérifiée	Vérifiée
Réf + EMA	16	60	180
$Z + 2 \times s_{FI}$	13,07	53,99	156,31
$Z - 2 \times s_{FI}$	7,514	47,026	146,208
Réf - EMA	4	40	120
Inégalité (1) : $Z - 2 \times s_{FI} > \text{Réf} - \text{EMA}$	Vérifiée	Vérifiée	Vérifiée
Inégalité (2) : $Z + 2 \times s_{FI} < \text{Réf} + \text{EMA}$	Vérifiée	Vérifiée	Vérifiée
Exactitude de la méthode vérifiée	VRAI	VRAI	VRAI

# Validation de méthode

- Étude de la spécificité pour le 4-Nonylphénols sur une eau entrée de station d'épuration

	Entrée Step 10	Entrée Step 50	Entrée Step 150
Valeur de référence : Réf	10,00	50	150
Incertitude-type sur la valeur de référence : $u_{ref}$	3,232	3,152	3,423
EMA en % de Réf	60%	20%	20%
EMA	6	10	30
Nombre de séries	5	5	5
Nombre de répétitions par séries	2	2	2
Moyenne générale Z	10,382	50,430	149,500
Ecart-type de fidélité intermédiaire : $s_{FI}$	2,740	3,961	3,048
CV de fidélité intermédiaire en % : $CV_{FI}$	26,395	7,854	2,039

	Entrée Step 10	Entrée Step 50	Entrée Step 150
Ecart normalisé EN	0,111	0,119	0,136
Critère	2	2	2
La justesse de la méthode	Vérifiée	Vérifiée	Vérifiée
Réf + EMA	16	60	180
$Z + 2 \times s_{FI}$	15,86	58,35	155,60
$Z - 2 \times s_{FI}$	4,901	42,508	143,404
Réf - EMA	4	40	120
Inégalité (1) : $Z - 2 \times s_{FI} > \text{Réf} - \text{EMA}$	Vérifiée	Vérifiée	Vérifiée
Inégalité (2) : $Z + 2 \times s_{FI} < \text{Réf} + \text{EMA}$	Vérifiée	Vérifiée	Vérifiée
Exactitude de la méthode vérifiée	VRAI	VRAI	VRAI



# Validation de méthode

Estimation des incertitudes de mesure réalisée à partir des plan d'expérience sur la linéarité

## Exemple du Pentachlorophénol

Niveaux de concentrations	$u_{\text{étalonnage}, A}$ par niveau	Incetitude élargie	Incetitude élargie (%)
10	0,987	1,97	19,7
20	0,657	1,31	6,6
50	0,724	1,45	2,9
100	2,080	4,16	4,2
150	3,248	6,50	4,3
200	2,329	4,66	2,3

## Exemple du 4-Nonylphénols

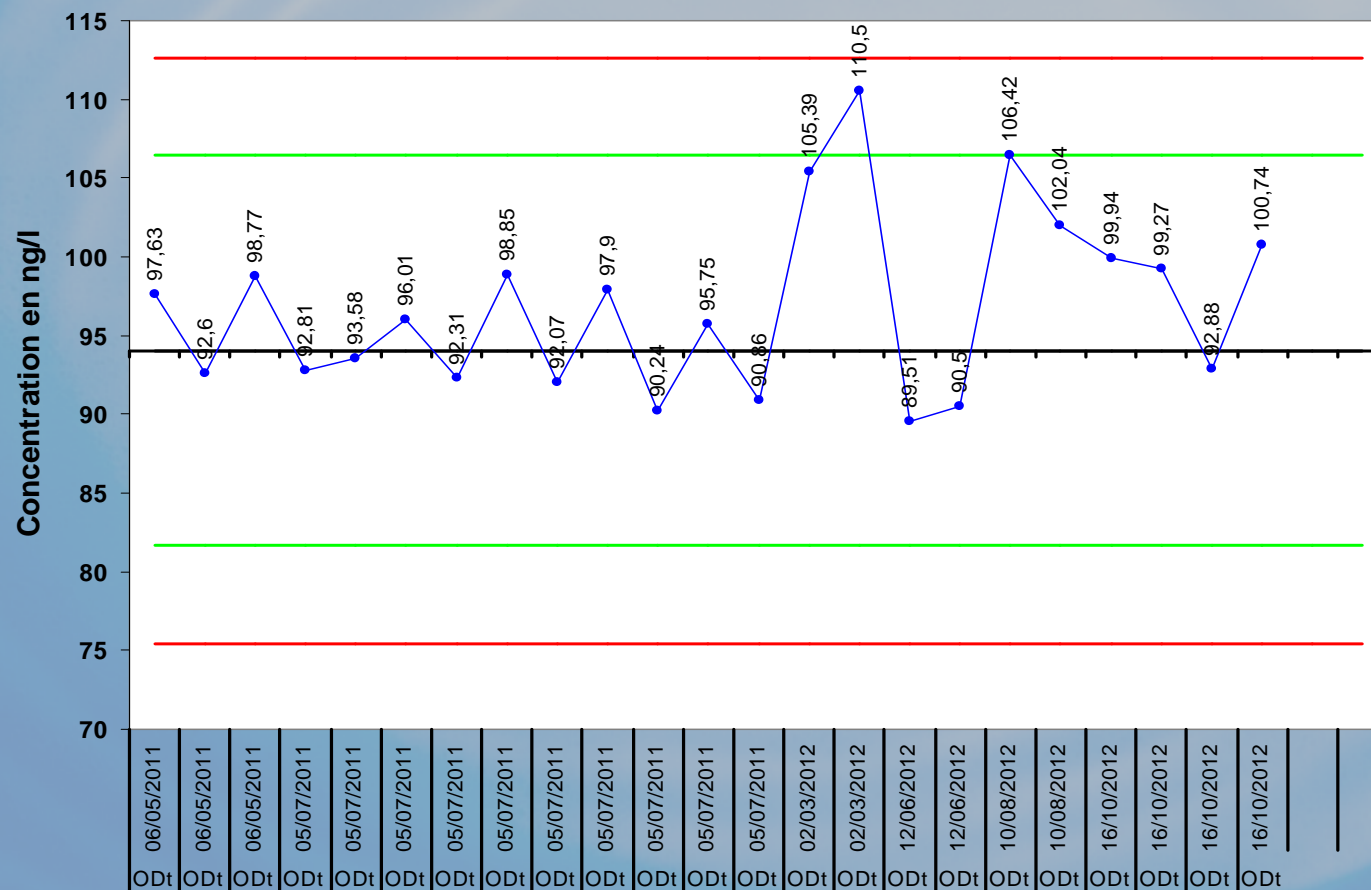
Niveaux de concentrations	$u_{\text{étalonnage}, A}$ par niveau	Incetitude élargie	Incetitude élargie (%)
10	3,232	6,46	64,6
20	1,856	3,71	18,6
50	3,152	6,30	12,6
100	8,023	16,05	16,0
150	3,423	6,85	4,6
200	5,635	11,27	5,6



# Suivi de la méthode en routine

- Établissement de la carte de contrôle pour le Pentachlorophénol

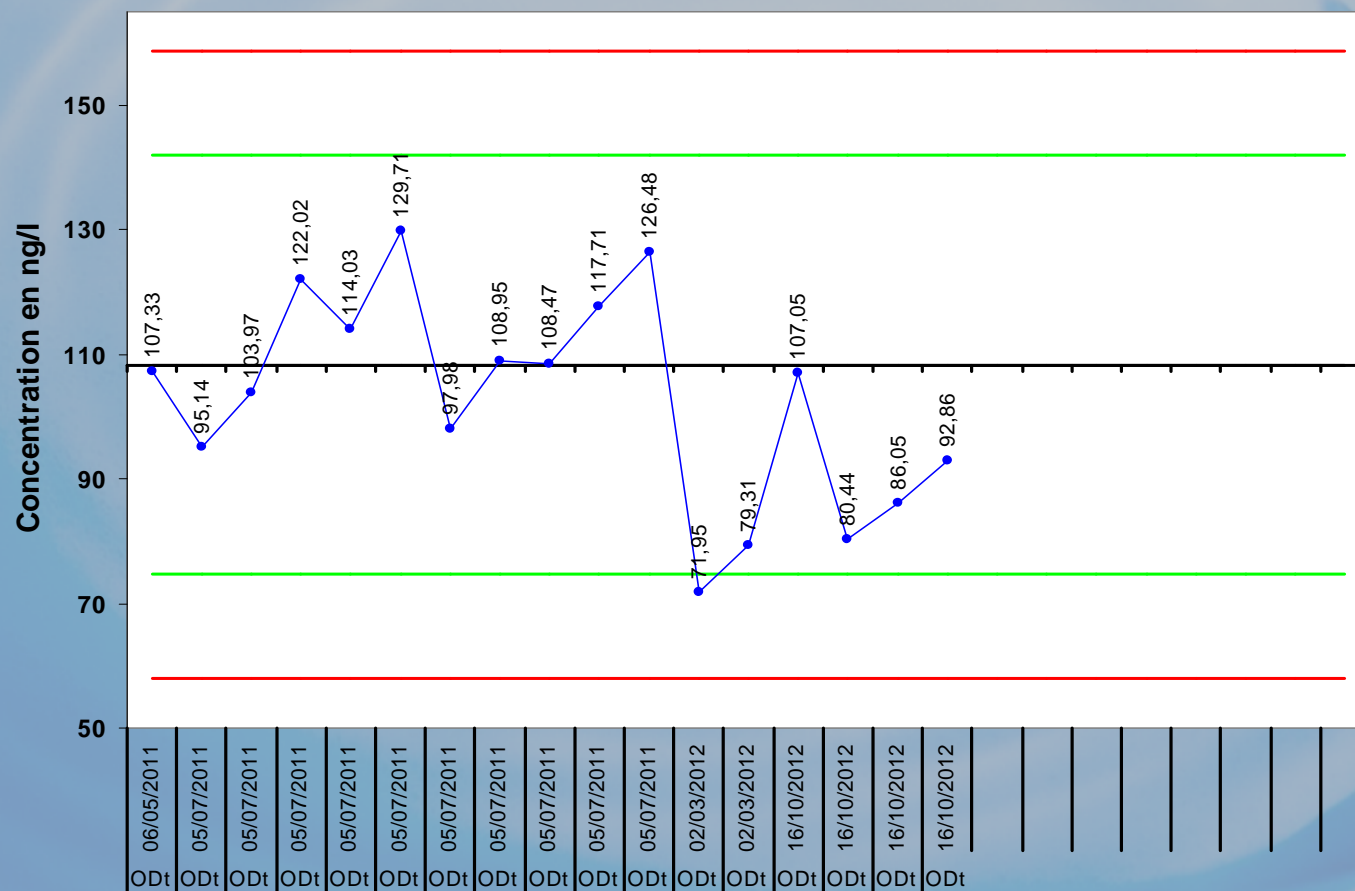
Carte de contrôle Pentachlorophénol - ILA 19



# Suivi de la méthode en routine

- Établissement de la carte de contrôle pour le 4-Nonylphénols

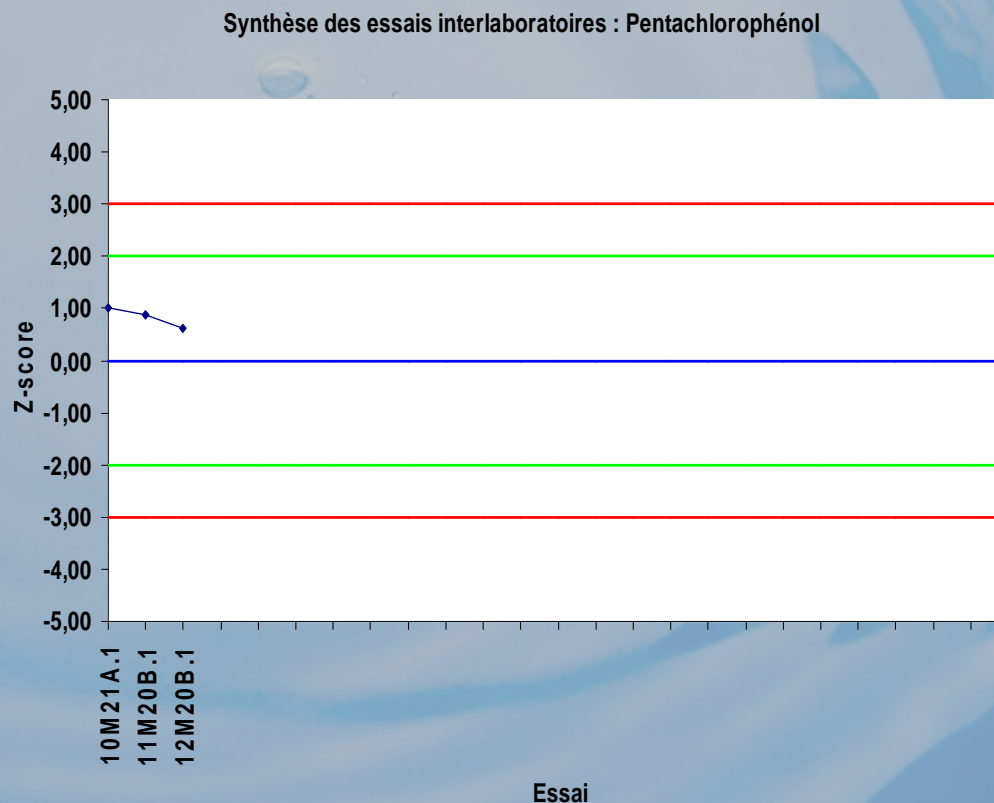
Carte de contrôle 4-Nonylphénols - ILA 19



# Suivi de la méthode en routine

- Résultats des essais interlaboratoires pour le Pentachlorophénol

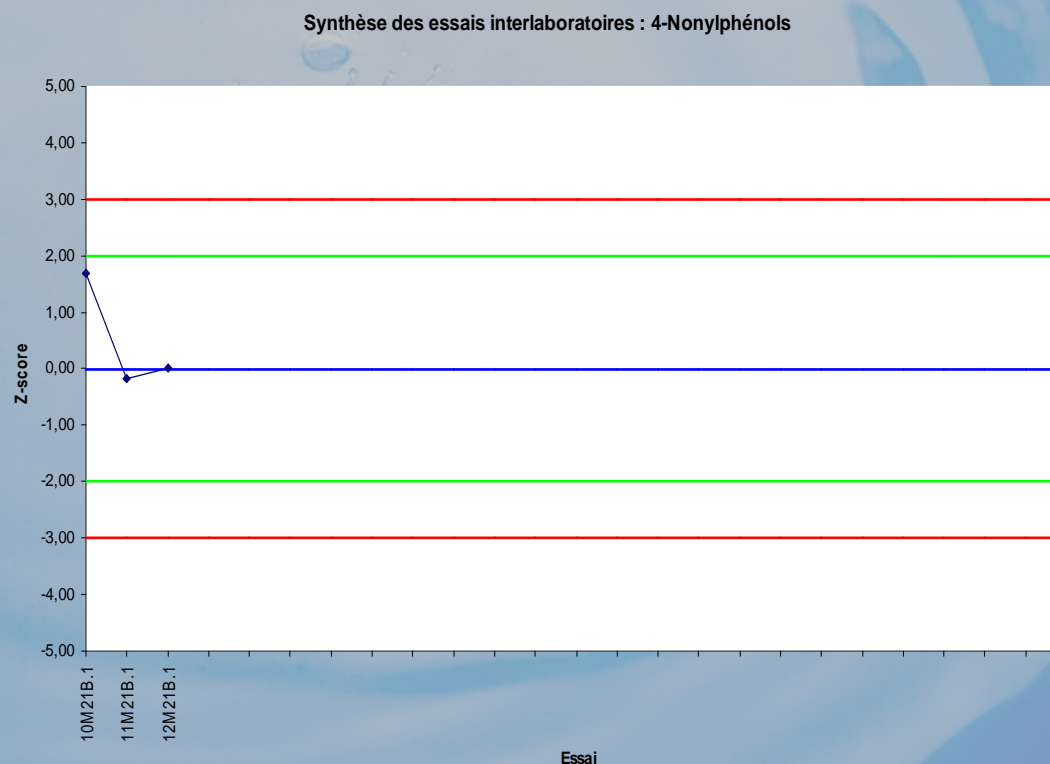
Essai	Moyenne des participants	Valeur cible	Laboratoire
10M21A.1	8,5310	10,5570	10,9370
11M20B.1	6,0525	6,9800	7,0350
12M20B.1	4,7629	5,6250	5,4345



# Suivi de la méthode en routine

- Résultats des essais interlaboratoires pour le 4-n-Nonylphénols

Essai	Moyenne des participants	Valeur cible	Laboratoire
10M21A.1	2.7370	3.3930	5.0030
11M20B.1	4.3010	5.5990	4.0260
12M20B.1	3.7885	6.6920	3.8190





# Conclusion

- Préparation d'échantillon peu énergivore
- Compétitive par rapport aux méthodes alternatives normalisées
  - Ultime étape : Accréditation COFRAC
- Faire reconnaître cette méthode au niveau de l'AFNOR
  - En un mot : PERSEVERER  
(Il faut au minimum 6 mois pour valider une méthode)



**Merci à Mr David BENANOU**

**Je vous remercie de votre attention**