

Composés perfluorés PFCs

Méthode d'analyse dans les biotes.

Généralités

Nom de la famille de substances	Composés perfluorés (chaîne linéaire en C8)
Nom des substances individuelles	Acide perfluorooctanoïque (PFOA). Perfluorooctane sulfonate (PFOS).
Code SANDRE des substances individuelles	Acide perfluoro-octanoïque : 5347 Perfluorooctane sulfonate : 6561
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Biote : → Poisson : 4
Principe de la méthode	Extraction solide-liquide (ESL) des composés perfluorés par du Méthanol, purification du surnageant par extraction dispersive sur phase solide et analyse en CLHP/ SM-SM par ionisation avec électronebulisation (ElectroSpray Ionization, ESI) en mode négatif.
Acronyme	ESL/CLHP/ SM-SM.
Domaine d'application	5 à 20 ng/g de masse sèche..
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	Taux d'humidité. Pourcentage de lipides.
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	Tous les réactifs doivent être de qualité « pour analyse de résidu ». Proscrire tous les flaconnages en polymères fluorés qui peuvent contenir des traces de PFOA et/ou PFOS. La méthode isocratique présentée ici permet de s'affranchir des relargages de substances perfluorées observés lors de la mise en œuvre des méthodes chromatographiques de type gradient. Aucune précaution particulière n'est donc nécessaire au niveau des tubulures de la partie chromatographique.
Interférents (préciser la matrice)	Interférents identifiés : les polymères fluorés (opercules de flaconnage, par exemple) qui peuvent contenir des traces de PFOA et/ou PFOS. Matrices testées : Eau de source en contact avec ces polymères (opercule de flaconnage), test réalisé dans une étude précédente.

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 :	Muscle de poisson : 102
Conditionnement et conservation des échantillons	Conservation sous forme congelée : à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en attente de lyophilisation, à l'abri de la lumière. Conservation sous forme lyophilisée : à l'abri de la lumière et à $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$, à l'abri de la lumière.
- Protocole :	Poissons : disséquer, broyer/homogénéiser, lyophiliser, broyer/homogénéiser.
- Nature du contenant de stockage :	Flacon de 100 mL en verre ambré ou protégé de la lumière par une feuille d'aluminium. Bouchon à visser ; opercule en aluminium entre le col du flacon et le bouchon.
- Lavage du contenant :	Flacons et opercules calcinés 8 heures à 500°C .
- Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :	Pour cette étude, les échantillons ont été conservés à $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ immédiatement après leur préparation, pendant un délai maximum de 6 heures.
Filtration :	Pas de filtration.
Pré-traitement des échantillons liquide ou solide	Dissection, broyage, lyophilisation, broyage/homogénéisation.

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)	Muscle de poisson lyophilisé et broyé : 1g.
Dérivation	Sans objet.
Extraction	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ajout des étalons internes. 2. Ajouter 10mL de méthanol à 1 g d'échantillon. 3. Agitation mécanique 30 min par vortex 4. Centrifugation 20 min à 3000 tr/min 5. Prélèvement du surnageant (~7,5 mL) et transfert en flacon ambré de 10 mL. 6. Concentration sous flux d'azote jusqu'à 1 mL.
Purification (type de purification, paramètres de purification, méthode de concentration)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ajout de 50 mg de carbone activé (Envicarb®) et 50 μL d'acide acétique glacial 2. Agitation manuelle ou vortex pendant 1 min 3. Centrifugation 10 mn à 3000 tr/min 4. Prélèvement du surnageant (~0,8 mL) et transfert dans un flacon d'injection
Conservation de l'extrait	Conservation à $+4^{\circ}\text{C}$.

Volume ou masse finale avant analyse :

Nature du solvant d'injection : Méthanol

Afin de surveiller la contamination du cône du détecteur et ainsi une baisse du signal spectrométrique, un étalon d'injection, le $^{13}\text{C}_2$ -PFDA peut être ajouté. Dans ce cas, 25 μl de solution à 5 ng/mL de $^{13}\text{C}_2$ -PFDA sont ajoutés à 800 μl de la solution étalon ou de l'extrait final.

•Conditions chromatographiques :

1. Colonne : XBridge® C18 (50 mm x 2,1 mm-2,5 μm ; Waters), thermostatée à 50 °C.
2. Méthode de d'élution en mode isocratique avec rinçage :

Temps (min.)	Solvant A :	Solvant B :	Débit (mL/min)	Etape
	H ₂ O à 20 mM d'acétate d'ammonium (%)	MeOH à 20 mM d'acétate d'ammonium (%)		
0	40	60	0,3	Elution des composés d'intérêt
6	40	60	0,3	
7	5	95	0,3	Rinçage de la colonne de chromatographie
11	5	95	0,3	
11,1	40	60	0,3	
16	40	60	0,3	

3. Volume d'injection : 5 μL .

•Conditions spectrométriques :

1. Mode d'ionisation : ESI(-),
2. Tension du capillaire : 3 kV,
3. Température de la source : 150° C,
4. Température du gaz de désolvatation (N₂) : 400° C,
5. Débit en gaz de désolvatation (N₂) : 800 L/h,
6. Débit en gaz rideau (N₂) : 50 L/h,
7. Mode d'acquisition : MRM (Multiple Reaction Monitoring),
8. Débit en gaz de collision (Argon) : 0,17 mL/min

Composés	Ion précurseur (m/z)	Transition (m/z)	Dwell Time (s)	Tension de cône (V)	Energie de collision (eV)
PFOA	412,9	412,9 > 368,9 ^a	0,1	20	11
		368,9 > 169 ^b	0,1	35	16
$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	416,9	416,9 > 371,9 ^a	0,1	10	10
		371,9 > 172,0 ^b	0,1	36	15
PFOS	498,9	498,9 > 98,9 ^a	0,1	60	45
		498,9 > 79,9 ^b	0,1	60	47
$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	502,9	502,9 > 98,9 ^a	0,1	60	37
		502,9 > 79,9 ^b	0,1	60	36
$^{13}\text{C}_4$ -PFDA	502,9	514,9 > 470,0 ^a	0,1	14	10
		514,9 > 219,5 ^b	0,1	14	16

^a : Transition de quantification

^b : Transition de confirmation

Méthode analytique utilisée :

Indiquer les paramètres complets de la méthode (exemple pour la chromatographie : gradient, phase mobile, débit, T °C, colonne, mode de détection)

Pour la détection par masse : mode d'ionisation et ions de quantification et de confirmation

Equipement¹ (modèles utilisés) :	Chromatographe : Alliance 2795 (WATERS). Spectromètre de masse : Triple quadripôle, ACQUITY TQD (WATERS).
Type d'étalonnage	Interne
Modèle utilisé	Linéaire pondéré
Etalons / Traceurs utilisés	¹³ C ₄ -PFOA : Acide perfluoro-n-[1,2,3,4- ¹³ C ₄]octanoïque (traceur d'extraction) ¹³ C ₄ -PFOS : Perfluoro-n-[1,2,3,4- ¹³ C ₄]octane sulfonate. (traceur d'extraction) ¹³ C ₂ -PFDA : Acide Perfluoro n-[1,2- ¹³ C ₂]décanoïque (traceur d'injection).
Domaine de concentration	Gamme d'étalonnage préparée dans le méthanol, de 5 à 200 µg/L.
Méthode de calcul des résultats	Calcul des résultats par étalonnage interne en mode linéaire pondéré par rapport à leur homologue marqué au ¹³ C utilisés comme traceur.
Rendement	Pas de correction du rendement.
Blancs	Blancs méthodes et échantillons analysés inférieurs à la limite de détection.

Références de la méthode

La méthode est dérivée de la publication suivante	Fernandez-Sanjuan M., Meyer J., Damasio J., Faria M., Barata C., Lacorte S.,: «Screening of perfluorinated chemicals (PFCs) in various aquatic organisms» Anal. Bioanal. Chem. 398 (2010) 1447-1456.
Norme dont est tirée la méthode	
Niveau de validation selon Norman	Niveau 1

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée	NF T90-210 (2009)
Domaine de validation	5 à 200 ng/g de masse sèche de muscle de poisson.
Matériaux de référence utilisés	Pas de matériau de référence disponible.
Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)	Blancs méthodes et échantillons analysés inférieurs à la limite de détection.
Rendement	Détermination suivant NF T90-210 (2009) réalisée par ajout d'une quantité connue de chacun des 2 composés dans les biotes Nombre d'essais : 2 répétitions/jour sur 5 jours successifs.

¹ Les matériels cités ici constituent des exemples d'application satisfaisante. Ces mentions ne constituent pas une recommandation exclusive, ni un engagement quelconque de la part du rédacteur ou d'AQUAREF

- par molécule**PFOA**

Valeur des niveaux (ng/g poids sec exprimée en dopant ajouté)	Rendement (n=10)	Ecart type (n=10)
5 (LQ)	104%	5%
44	101%	2%
131	102%	6%
174	106%	7%
218	108%	6%

PFOS

Valeur des niveaux (ng/g poids sec exprimée en dopant ajouté)	Rendement (n=10)	Ecart type (n=10)
5 (LQ)	111%	13%
43	98%	5%
129	100%	1%
173	100%	2%
216	101%	1%

**Limite de quantification(LQ)
Limite de détection (LD)**

(indiquez la méthode de détermination en précisant la matrice testée)

- LQ : Détermination suivant NF T90-210 (2009) réalisée par ajout d'une quantité connue de chacun des 2 composés dans les biotes.
- Nombre d'essais : 2 répétitions/jour sur 5 jours successifs.
- LD = 1/3 x LQ.

Composés	LQ* (ng/g poids sec exprimée en dopant ajouté)	LD* (ng/g poids sec exprimée en dopant ajouté)
PFOS	5	1,7
PFOA	5	1,7

**Incertitudes (%) sur les
résultats**

Estimation des incertitudes réalisée à partir des données de fidélité intermédiaire par interpolation à différents niveaux de concentration couvrant le domaine de la méthode.

Facteur d'élargissement : $k = 2$

Nombre d'essais par niveau de concentration : 2 répétitions/jour pendant 5 jours.

Matrice : muscle de truite

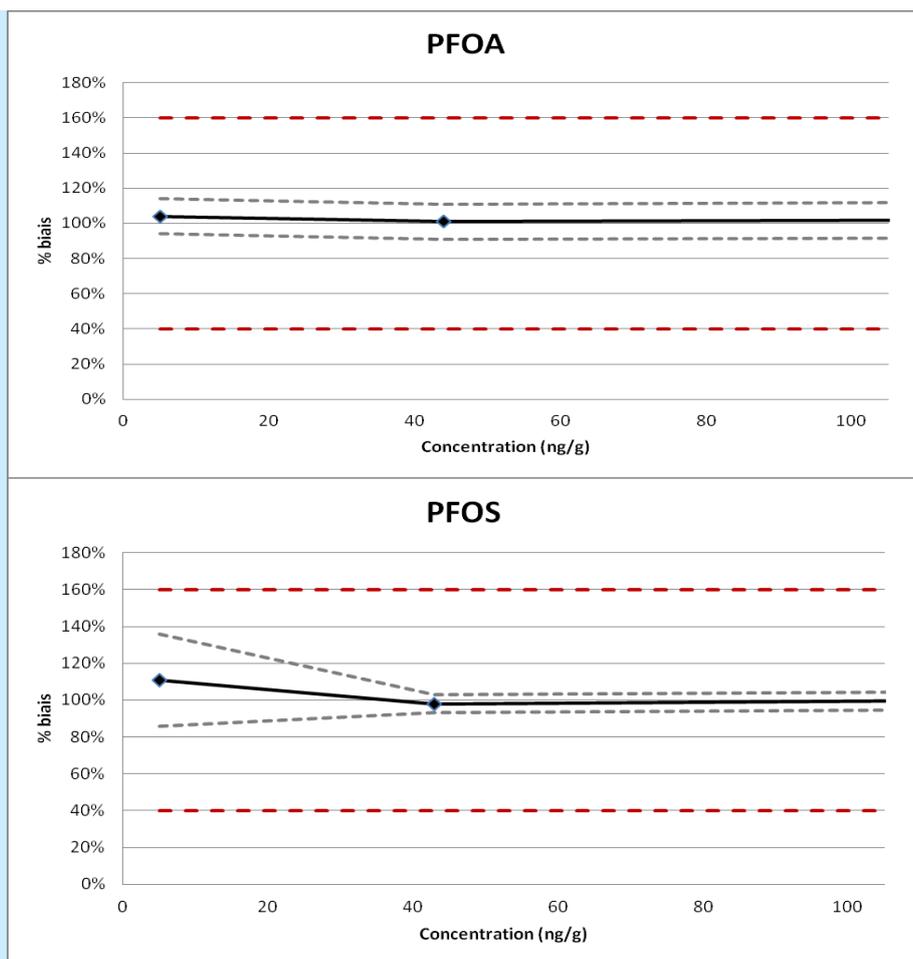
Valeur des niveaux : (ng/g poids sec exprimé en dopant ajouté)

En noir trait plein : recouvrement (justesse)

En gris trait hachuré : Valeur haute et basse de reproductibilité

En rouge trait hachuré : Limite haute et basse d'acceptabilité

- par molécule



Contacts

Auteurs	Claudine CHATELLIER ; François LESTREMAU
Institut	INERIS
Contact	claudine.chatellier@ineris.fr ; Francois.lestremau@ineris.fr