

RAPPORT D'ÉTUDE
N°DRC-09-95687-05202B

09/04/2009

**Proposition de position française concernant un
protocole analytique pour les composés
perfluorés**

**Convention INERIS-ONEMA 2008
Action 3**



Proposition de position française concernant un protocole analytique pour les composés perfluorés dans les eaux

Convention INERIS-ONEMA 2008

Action 3

Direction des Risques Chroniques
INERIS
Verneuil-en-Halatte

Client : ONEMA

Liste des personnes ayant participé à l'étude :

Said Kinani, Olivier Aguerre-Chariol, Marie-Pierre Strub

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.

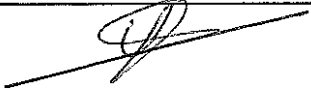
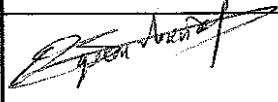
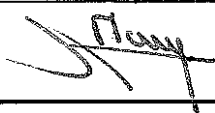
	Rédaction	Vérification	Approbation
NOM	M.P. STRUB / S. KINANI	O. AGUERRE-CHARIOL	A. MORIN
Qualité	Ingénieur Mission Eau / Responsable de laboratoire « Chimie Organique »	Responsable de l'Unité « Innovation pour la Mesure »	Responsable de la Mission Eau Direction des Risques Chroniques
Visa			

TABLE DES MATIÈRES

1. GLOSSAIRE.....	4
2. RESUME.....	5
3. CONTEXTE	6
4. GENERALITES	7
5. METHODES D'ANALYSE DU PFOS ET DU PFOA.....	8
5.1 Extraction du PFOA et du PFOS.....	11
5.2 Séparation chromatographique et analyse du PFOA et du PFOS	11
6. DIFFICULTES LIEES A L'ANALYSE DU PFOS ET DU PFOA.....	12
6.1 Contamination lors du prélèvement et du stockage des échantillons.....	12
6.2 Contamination lors de l'analyse instrumentale (HPLC-MS).....	12
7. ENSEIGNEMENTS DES EXERCICES PERFORCE 1 & 2	14
7.1 Influence des différentes sources d'étalons utilisés par les participants	16
7.2 Modalités de quantification	16
7.3 Incertitudes	18
7.4 Effet matrice	18
7.5 Extraction	19
7.6 Purification.....	19
7.7 Conclusions.....	19
8. METHODE NORMALISEE ISO 25101 : PFOS ET PFOA DANS LES EAUX PAR LC/MS ...	20
9. CONCLUSION.....	21
10. BIBLIOGRAPHIE	22

1. GLOSSAIRE

CATB	bromure de cétyltriméthyl ammonium,
ELL	Extraction liquide-liquide
EtAc	Acétate d'éthyle
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
JISC	Japanese Industrial Standards Committee
LLE	extraction liquide-liquide,
MRM	Multiple reaction monitoring
MS/MS	Spectrométrie de masse en tandem
MTBE	méthyl tert-butyl éther,
N-EtPFOSA	N-éthyl perfluoro octane sulfonamide
PFBS	acide perfluorobutanesulfonique
PFCs	Composés perfluorés (<i>Perfluorinated organic compounds</i>).
PFDA	acide perfluoro décanoïque,
PFDoA	acide perfluoro dodécanoïque,
PFDS	acide perfluoro décane sulfonique,
PFHpA	acide perfluoro heptanoïque
PFHxA	acide perfluoro hexanoïque
PFNA	acide perfluorononanoïque,
PFOA	acide perfluorooctanoïque,
PFOS	acide perfluorooctane sulfonique, ou sulfonate correspondant
PFOSA	acide perfluoro octanesulfonique, ou sulfonate correspondant
PFPeA	acide perfluoro pentanoïque,
PFUnA	acide perfluoro undécanoïque,
POP	Polluants organiques persistants
SIM	Single ion monitoring
SM	Spectromètre de masse
SPE	Extraction sur phase solide
SPE	Extraction sur phase solide,
STEP	stations de traitement des eaux usées

2. RESUME

Les PFCs, substances exclusivement anthropiques, ont été identifiées récemment, mais de manière ubiquitaire, dans les milieux aquatiques. L'historique de la contamination est mal connu, leurs caractéristiques physico-chimiques rendant jusqu'à un passé récent les méthodes d'analyse disponibles peu adaptées à leur mise en évidence. L'utilisation croissante des techniques de couplage HPLC-MS l'a maintenant rendue possible. Elle a également permis de mener les études confirmant le caractère persistant de ces molécules.

Des programmes de recherche incluant le développement de protocoles analytiques harmonisés se sont développés en Europe et dans le monde, en amont ou en soutien de questionnements réglementaires. Il ressort de l'évaluation de ces développements analytiques que :

- la technique analytique HPLC-MS employée permet d'identifier les molécules ciblées. Néanmoins, elle est sujette à de nombreuses interférences encore mal maîtrisées car identifiées au fil des expérimentations en cours ;
- une harmonisation des conditions expérimentales est nécessaire pour espérer obtenir des données fiables, concernant en particulier la définition des étalons de dosage ;
- l'encadrement métrologique de l'étape d'enrichissement préalable est impératif et encore insuffisant.

Les travaux auxquels l'INERIS s'est associé dans le cadre de la publication de la norme ISO 25101 « Qualité de l'eau – Dosage du PFOS et du PFOA – méthode pour eaux non filtrées par extraction sur phase solide suivi de HPLC-MS » ont conduit à mettre en évidence le manque de robustesse de ce texte, et à refuser sa reprise nationale.

Si l'analyse des composés perfluorés, et plus particulièrement du PFOS et du PFOA, est actuellement possible dans les milieux aquatiques, sa fiabilité n'a pas encore atteint un niveau qui permette d'inclure ces molécules dans des programmes permanents de surveillance environnementale.

3. CONTEXTE

Bien que les analyses des composés alkyle perfluorés (PFCs) utilisent des techniques pour la plupart parfaitement maîtrisés (extraction liquide-liquide, SPE, HPLC et SM), les résultats de la première comparaison inter-laboratoires mondiale (projet PERFORCE-1¹ (2004)) sur eaux, biote et sang ont montré des variabilités très importantes. Très peu de laboratoires avaient obtenu des résultats analytiques satisfaisants. L'analyse des eaux est de loin celle qui présente les résultats les plus médiocres. Ainsi, les variations inter-laboratoires obtenues, hors résultats aberrants, atteignent 40 % pour le PFOS et 80 % pour le PFOA. Ces résultats décevants ont motivé l'organisation en 2007 d'une deuxième campagne de comparaison inter-laboratoires (projet PERFORCE-2). Cette deuxième campagne a montré des résultats très prometteurs du fait d'une amélioration significative de la qualité de l'analyse des PFCs.

Parallèlement à ces travaux menés en collaboration entre industriels de la filière des PFCs et universitaires, l'activité réglementaire autour de ces composés a connu une évolution modeste, au travers du Mandat M/402, donné par la commission européenne au CEN pour développer des méthodes d'analyse permettant de quantifier les résidus de PFCs libres dans les préparations, produits semi finis et biens de consommation, y compris textiles et matériaux enduits, en application de la directive 2006/122/EC. Sont principalement visés les ustensiles de cuisine antiadhésifs et les textiles antitaches ou déperlants.

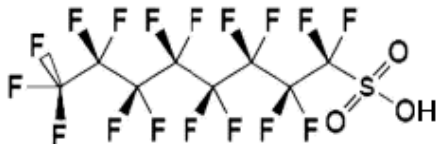
Bien qu'aucune réglementation environnementale ne soit à l'heure actuelle attachée aux PFCs, ils apparaissent sur la liste des substances de l'annexe III de la directive NQE de 2008 à prendre en considération pour la révision de la liste des substances prioritaires de la DCE. Ils sont également l'objet d'intérêt des instances réglementaires en dehors de l'Europe, le Japon ayant soutenu le pilotage par le JISC du développement d'une norme de dosage des PFCs dans les eaux dans le cadre de l'ISO TC147.

Le but de ce rapport est de faire le point des connaissances actuelles sur les méthodes utilisées et sur les difficultés rencontrées lors de la préparation des échantillons et lors de l'analyse du PFOA et du PFOS dans les eaux.

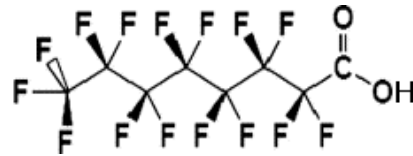
¹ PERFluorinated ORganic Chemicals in the European environment, www.science.uva.nl/perforce

4. GENERALITES

Le perfluorooctane sulfonate (PFOS) et l'acide perfluorooctanoïque (PFOA) sont deux produits chimiques d'origine exclusivement anthropique (Key et al., 1997) appartenant à une grande famille de composés désignés sous le nom de composés alkyle perfluorés (PFCs : *PerFluorinated organic Compounds*). Chimiquement, les PFCs sont constitués d'une chaîne carbonée (en C₄ à C₁₀) perfluorée hydrophobe, et d'un groupement fonctionnel hydrophile.



Acide perfluoro octanesulfonique



Acide perfluoro octanoïque

Le littérature mentionne principalement deux procédés de fabrication industriels des PFCs (Hekster et al., 2003). Il s'agit de la fluoration électrochimique et la télomérisation. La fluoration électrochimique a été développée dès 1945 et adoptée par la compagnie 3M, principal producteur mondial de PFCs avant l'an 2000. La télomérisation² a été développée la première fois par les laboratoires de la société DuPont, avant d'être utilisée par un très grand nombre de sociétés, dont Asahi Glass, Atofina, Clariant et Daikin (Lange et al., 2006). Les PFCs ont trouvé des applications très diverses. Ils sont largement répandus dans la fabrication de substances hydrofuges, oléofuges, anti-salissantes et imperméables aux graisses qui sont appliquées sur les tissus, les emballages, les tapis et les moquettes. Ils participent également à la formulation d'agents tensio-actifs, de détergents, d'émulsifiants, de mouillants, de dispersants et de mousses extinctrices.

Les propriétés physicochimiques particulières des composés perfluorés tiennent à la solidité des liaisons fluor-carbone (F-C) composant ces molécules. En effet, la forte énergie des liaisons F-C confèrent aux PFCs une importante résistance à l'hydrolyse acido-basique, à la photolyse, à la dégradation microbienne et à la métabolisation par les vertébrés (Giesy et Kannan, 2001 ; Prevedouros et al., 2006). Ceci explique la persistance, la bioaccumulation et la bioamplification des PFCs et justifie leur présence dans la liste des polluants organiques persistants (POP). Contrairement aux POP classiques, les PFCs, qui présentent un caractère hydrophile très marqué. En raison de leurs propriétés tensio-actives, leurs K_{ow} n'a pu être déterminé expérimentalement, mais des modélisations sur des bases SAR conduisent à des valeurs négatives. Ils sont principalement émis dans les eaux de surface *via* les effluents des stations d'épuration des eaux industrielles au cours de la fabrication ou de l'utilisation industrielle des produits (85 % des émissions), mais aussi urbaines en raison de la dégradation des biens de consommation qui en renferment. Ainsi, l'eau est le principal réservoir de PFCs dans l'environnement et leur plus important moyen de dissémination (Prevedouros et al., 2006 ; McLachlan et al., 2007). Toutefois, un transport par voie atmosphérique est possible, étant donné la volatilité de certains PFCs à chaînes courtes.

Bien que la production des PFCs ait commencé dès l'année 1945, ce n'est qu'au cours des années 1990 que la communauté scientifique s'est rendu compte de leur persistance, de leur accumulation dans les organismes aquatiques et de leur toxicité potentielle. En effet, les PFCs sont à la fois hydrophiles et lipophiles. De ce fait, ils se lient de préférence aux protéines présentes dans le plasma, comme l'albumine et les α -lipoprotéines (Kerstner-Wood et al., 2003), et dans le foie, notamment les protéines liant les acides gras du foie (L-FABP; Luebker et al., 2002). Cette affinité PFCs-protéines est à la base d'effets toxicologiques : cas de tumeur de la thyroïde et du foie, effets reprotoxiques, réduction du taux de cholestérol, modifications de la perméabilité des membranes cellulaires (Renner, 2001 ; Hekster et al., 2003 et Schultz et al., 2003).

Les composés perfluorés ont été largement détectés dans tous les compartiments de l'environnement et chez divers organismes vivants, y compris dans les régions éloignées des sources potentielles d'émission comme l'Arctique (Giesy et Kannan, 2002), ce qui indique que les PFCs sont sujets au transport à grande distance (pollution générale). Les deux PFCs les plus fréquemment retrouvés sont le PFOA et la PFOS.

² polymérisation par réaction en chaîne, effectuées en présence d'un grand excès d'agent de transfert et telle que les groupes terminaux sont des fragments de l'agent de transfert. La télomérisation conduit en général à des polymères de faible degré de polymérisation : ici, 3 monomères.

5. METHODES D'ANALYSE DU PFOS ET DU PFOA.

La récente publication des résultats de étude inter-laboratoires PERFORCE-2, à laquelle ont participé trois laboratoires français, montre que de nombreux laboratoires ont développé l'analyse des PFCs aux cours des dernières années ([van Leeuwen et al., 2009](#)). La littérature concernant le développement de méthodes analytiques est relativement fournie. Le tableau I présente un résumé non exhaustif des différents protocoles d'extraction et d'analyse mis en œuvre pour la quantification du PFOS et du PFOA dans les matrices aqueuses. Ce tableau montre que les recherches concernant l'analyse des PFCs portent sur les trois principaux aspects de l'analyse : la préparation de l'échantillon, la chromatographie et la spectrométrie de masse.

Tableau 1 : Résumé de principales méthodes rapportées dans la littérature pour l'analyse du PFOA et du PFOS à partir d'échantillons d'eau

Matrice	Analytes	Pré-traitement	Technique d'extraction	Rendement (%)	Méthode d'analyse	LOQ (ng/L)	Références
Eaux de rivières Effluents de STP	PFOA, PFOS.	Filtration sur fibre de verre (Whatman GF/B)	<u>SPE</u> (Presep-C Agri cartridge C ₁₈) : 100 mL d'eau, élution : MeOH, concentration à 1 mL, injection de 10 µL d'échantillon.	100 ± 10	HPLC-ESI(-)-SIM (Q)	PFOA : 0,10 PFOS : 0,20	Lien et al., 2008.
Eaux de rivières	PFOA, PFHpA, PFNA, PFDA, PFUnA, PFOS.	Décantation	<u>SPE</u> (Oasis [®] HLB, 200 mg) : 400 mL d'eau, élution : MeOH, concentration à 300 µL, injection de 5 µL d'échantillon.	PFOA : 60 ± 11 PFOS : 56 ± 10	HPLC-API(-)-MRM (TQ)	PFOA : 0,30 PFOS : 0,30	Loos et al., 2007
Eaux de surface	PFFEtS, PFPrS, PFBS, PFHxS, PFOS , PFHxA, THPFOS, PFHpA, PFOA , PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTeDA, PFHxDA, PFOcDA, 8:2FTCA, PFOSA, 8:2ETUCA, N-EtFOSAA, N-EtFOSA.	Aucun	<u>SPE</u> (Oasis [®] WAX, 150 mg, 6 mL) : 500 mL d'eau, élution : MeOH, injection de 10 µL d'échantillon.	PFOA : 100 PFOS : 90	HPLC-ESI(-)-MRM (TQ)	PFOA : 0,08 PFOS : 0,02	Guruge et al., 2007
Eaux de rivières	PFBS, PFHxS, PFOS, PFOSA, PFHxA, PFHpA, PFNA, PFDA, PFTeDA, PFHxDA, PFOcDA.	Aucun	<u>SPE</u> (WAX, 6 mL, 150 mg) : 300 à 1000 mL d'eau, élution : MeOH, concentration à 500 µL, injection de 10 µL d'échantillon.	PFOA : 95 ± 2 PFOS : 99 ± 7	HPLC-ESI(-)-MRM (TQ)	PFOA : 0,030 PFOS : 0,005	So et al., 2007.
Eaux de rivières	PFOS, PFOA , PFBS, PFH-S, PFOSA, PFDoA.	Ajout de thiosulfate de sodium (200 µL, 250 mg/mL)	<u>SPE</u> (Oasis [®] HLB) : 500 mL d'eau, élution : MeOH, concentration à 1000 µL, injection de 20 µL d'échantillon.		HPLC-ESI(-)-MRM (TQ)	PFOA : 0,9 PFOS : 3,0	Senthilkumar et al., 2007.
Eaux résiduelles	PFos, PFOSA, PFHxS, PFOA, PFNA, PFDA, PFDoDA, PFUnDA.	Décantation	<u>SPE</u> (Oasis [®] HLB, 60 mg, 3 mL) : 200 mL d'eau, élution : MeOH, concentration à 1000 µL, filtration (Nylon, 0,2 µM)	PFOA : 90 PFOS : 90	HPLC-ESI(-)-MRM (TQ)		Loganathan et al., 2007.
Eaux de surface	PFHxA, PFHpA, PFOA , PFNA, PFDA, PFUnA, PFDoA, PFOS , PFOSA.	Filtration (0,2 µm, polypropylène)	Sans extraction : Injection directe de 100 µL du mélange échantillon : MeOH (1 : 1, v/v).	100	HPLC-ESI(-)-MS/MS (ITD)	0,3 à 1,6	Furdui et al., 2006.
Eaux résiduelles Eaux de rivières	HFBA, PFHeA, PFOA, PFOS , PFNA, PFDeA.	Filtration (0,2 µm, nylon)	<u>SPE</u> (Silice / CTAB, 500 mg / 75 mg, 6 mL) : 500 mL d'eau, élution : MeOH, concentration à 1000 µL, injection de 50 µL.	PFOA > 88,4 PFOS > 77,3	HPLC-ESI(-)-MS/MS (TQ)	PFOA : 0,2 PFOS : 0,6	Zhao et al., 2007.

Matrice	Analytes	Pre-traitement	Technique d'extraction	Rendement (%)	Méthode d'analyse	LOQ (ng/L)	Références
Eaux	PFHxA, PFHpA, PFOA , PFNA, PFDA, PFUnA, PFDoA, PFOS , PFDS, PFOSA, EtPFOSA.	Aucun	<u>LLE</u> : 900 mL d'eau + H ₂ SO ₄ (pH = 4) + NaCl (50 g/L), solvant d'extraction : MTBE, concentration à 1 mL, injection de 10 µL d'échantillon.	80 à 95	HPLC-ESI(-)-MRM (TQ)	PFOA : 1,20 PFOS : 0,94	González-Barreiro et al., 2006.
			<u>SPE</u> (Isolute C ₁₈ , 1g) : 500 mL d'eau + NaOH (pH = 11), élution : MeOH.	81 à 102			
Eaux de rivières	PFOA , PFOS , PFDA, PFBS, PFPeA.	Aucun	<u>SPE</u> (ENVI-C ₁₈ , 3 mL, 0,5 g) : 250 mL d'eau + HCl (pH = 3), élution : MeOH.	78 à 81	HPLC-ESI(-)-MS/MS (ITD)	PFOA : 2,0 PFOS : 0,5	Tseng et al., 2006
Eaux marines	PFOSA, PFOS , PFNA, THPFOS, PFOA , PFHS, PFBS.	Ajout de thiosulfate de sodium (200 µL, 250 mg/mL)	<u>SPE</u> (Oasis HLB, 200 mg, 6 mL) : 500 mL d'eau, élution MeOH, concentration à 0,5 mL, injection de 10 µL d'échantillon.	PFOA : 170 ± 13 PFOS : 98 ± 17	HPLC-ESI(-)-MRM (TQ)	PFOA : 0,020 PFOS : 0,005	So et al., 2004.
Eaux du lac	PFOA , PFOS , PFOSulfinate, PFOSAA, N-EtFOSE, FOSA, N-EtFOSAA, N-EtFOSA	Aucun	<u>SPE</u> (C ₁₈ , 10 g, 35 mL) : 500 à 1000 mL d'eau, élution MeOH, injection de 10 µL d'échantillon.	PFOA : 109 ± 5 PFOS : 167 ± 8	HPLC-ESI(-)-SIM (Q)	PFOA : 10 PFOS : 0,2	Boulangé et al., 2004.
Eaux marines	PFOS , PFHS, PFBS, PFOA , PFNA, PFOSA.	Ajout de thiosulfate de sodium (200 µL, 250 mg/mL)	<u>SPE</u> (Sep-pak C ₁₈ , 10 g, 35 mL) : 500 à 1000 mL d'eau, élution MeOH, injection de 5 à 10 µL d'échantillon.	PFOA : 124 ± 36 PFOS : 83 ± 3	HPLC-ESI(-)-MRM (TQ)	PFOA : 0,016 PFOS : 0,003	Yamashita et al., 2004.
			<u>SPE</u> (Oasis HLB, 200 mg, 6 mL) : 1000 mL d'eau, élution MeOH, injection de 5 à 10 µL d'échantillon.	PFOA : 147 ± 25 PFOS : 87 ± 17			
Eaux souterraines	PFBS, PFHxS, PFOS , PFPS, PFHpS, PFOA	Aucun	Sans extraction : Injection directe de l'échantillon		HPLC-ESI(-)-MRM (TQ)	PFOA < 36000 PFOS < 5000	Melissa et al., 2004.

5.1 EXTRACTION DU PFOA ET DU PFOS

Pour les échantillons aqueux, deux techniques sont très majoritairement utilisées. Il s'agit de l'extraction liquide-liquide (ELL) traditionnelle en ampoule à décanter et de l'extraction sur phase solide (SPE).

Dans la littérature, un seul article fait référence à l'utilisation de l'ELL pour l'extraction des PFCs à partir des échantillons d'eau ([González-Barreiro et al., 2006](#)). La méthode décrite dans cet article utilise le méthyl-tertiobutyl éther (MTBE) comme solvant d'extraction. Dans le cadre de la même étude les auteurs ont montré que les meilleurs rendements d'extraction sont obtenus à pH = 4 et à une concentration en NaCl de 50 g/L.

La SPE est la technique la plus utilisée dans la littérature. Outre la quantité moindre des solvants utilisés lors de l'extraction, la SPE présente l'avantage d'être automatisable, ce qui est appréciable pour des grandes séries d'analyses. Différents types de supports (phase stationnaire) d'extraction ont été rapportés dans la littérature. Il s'agit de supports hydrophobes à base de silice greffée octyldécyle (C₁₈) ([Yamashita et al., 2004](#) ; [Boulangé et al., 2004](#) ; [González-Barreiro et al., 2006](#) ; [Tseng et al., 2006](#) ; [Lien et al., 2008](#)), de supports hydrophiles-lipophiles à base de copolymères ([Yamashita et al., 2004](#) ; [So et al., 2004](#) ; [Loos et al., 2007](#)) et de supports à base des résines échangeuses d'anions ([So et al., 2007](#) ; [Guruge et al., 2007](#)). La diversité des supports d'extraction utilisés tient au caractère amphiphile des PFCs. En effet, le PFOS et le PFOA peuvent développer à la fois des interactions apolaires *via* leur chaîne carbonée perfluorée et des interactions polaires *via* leurs groupements fonctionnels.

Bien que les supports d'extraction soient de nature diverse, les protocoles d'extraction sont très semblables. Après conditionnement au méthanol et à l'eau, les échantillons sont chargés sur la cartouche SPE à très faible débit. La cartouche est ensuite lavée à l'eau puis séchée par centrifugation. Le solvant d'élution utilisé est exclusivement le méthanol.

Les études comparant l'efficacité en termes de rendement d'extraction de l'extraction liquide-liquide et de l'extraction par SPE sont très peu nombreuses. Un seul article fait référence à une telle comparaison ([González-Barreiro et al., 2006](#)). Les résultats obtenus montrent une efficacité semblable entre les deux techniques. Concernant la comparaison des supports d'extraction SPE, la littérature est plus fournie ([Yamashita et al., 2004](#) ; [Taniyasu et al., 2005](#)). Les résultats obtenus mentionnent des rendements d'extraction comparables quelque soit la nature du support utilisé. Les rendements d'extraction obtenus varient de 60 à 170 % pour le PFOA et de 56 à 167 % pour le PFOS (voir tableau 1), ce qui démontre l'existence d'une marge d'amélioration dans la maîtrise de cette étape

Furdui et al. (2006) ont proposé une méthode d'analyse en injection directe sans passer étape de préconcentration. Les limites de quantification indiquées pour cette méthode (0,3 à 1,6 ng/l selon les molécules) sont de 10 à 100 fois supérieures à celles obtenues avec les méthodes utilisant l'extraction ELL ou une extraction par SPE.

5.2 SEPARATION CHROMATOGRAPHIQUE ET ANALYSE DU PFOA ET DU PFOS

Dans l'état actuel des connaissances scientifiques, le PFOS et le PFOA sont systématiquement analysés par chromatographie en phase liquide (HPLC) couplée à un spectromètre de masse (SM).

La séparation chromatographique s'effectue généralement sur des colonnes en phase inverse de type C₁₈, à l'aide d'un gradient composé de méthanol et d'eau. Une méthode utilisant un gradient acétonitrile-eau a été rapportée par Loos et al. (2007) et Senthilkumar et al. (2007).

L'ionisation par électronébulisation (ESI : *Electrospray ionization*) en mode négatif est le mode d'ionisation le plus utilisé pour la détection des PFCs. Un tampon acétate d'ammonium (5 à 20 mM) est souvent ajouté dans la phase mobile afin d'augmenter le rendement d'ionisation. Deux ions dominent le spectre de source en ESI (-) du PFOS ($[M-H]^-$, $m/z = 499$ et $[FSO_3]^-$, $m/z = 99$) tandis que le spectre de source du PFOA est beaucoup plus riche en ions ($[M-H]^-$, $m/z = 413$; $[M-K]^-$, $m/z = 455$; $[M-COOH]^-$; $m/z = 369$) et $[C_3F]^-$; $m/z = 169$). Une étude utilisant l'ionisation chimique à pression atmosphérique (API-CI : *Atmospheric pressure chemical ionization*) en mode négatif a été également rapportée ([Loos et al., 2007](#)).

Les analyseurs les plus couramment utilisés pour la détection des PFCs sont : les trappes d'ions (ITD) et les triples quadripôles (TQ). La quantification peut être réalisée sur les ions cités précédemment en mode SIM (*Selected Ion Monitoring*) mais la méthode manque alors grandement de spécificité. Associer la sélectivité du mode d'acquisition MRM à la sensibilité des spectromètres de masse permet d'obtenir des seuils de détection en PFOS et PFOA inférieurs à 1 pg injecté. Les seuils obtenus avec les triples quadripôles sont généralement plus bas que ceux obtenus avec les trappes ioniques (voir tableau 1). Une méthode utilisant un analyseur temps de vol (TOF : Time of flight) a été développée par [Berger et al. \(2004\)](#). Cette méthode s'est montrée sensible et sélective pour l'analyse du PFOS et PFOA.

6. DIFFICULTES LIEES A L'ANALYSE DU PFOS ET DU PFOA

6.1 CONTAMINATION LORS DU PRELEVEMENT ET DU STOCKAGE DES ECHANTILLONS

Au cours de l'ensemble de la procédure de prélèvement et de stockage des échantillons, l'utilisation de matériaux en verre devrait être réduite au minimum ([Lien et al., 2008](#)). En effet, lors du stockage, la polarité des molécules de PFOS et PFOA, s'adsorbent à la surface du verre, ce qui conduit à une sous-estimation de la quantité réelle de ces deux molécules.

L'utilisation des matériaux contenant des polymères fluorés est fortement déconseillée. L'utilisation des récipients à base de polymères fluorés (ex. PTFE : polytétrafluoréthylène) conduit à une surestimation de la quantité réelle de PFOA et de PFOS. Cette surestimation est expliquée par un relargage de PFOA et PFOS utilisés comme adjuvants dans ces matériaux ([Poulsen et al., 2005](#)).

Pour le prélèvement des échantillons d'eaux, les auteurs préconisent l'utilisation de récipients en acier inoxydable préalablement lavés au méthanol, à l'eau distillée puis à l'eau à prélever. Pour le stockage des échantillons, l'utilisation des bouteilles en polypropylène ou en polyéthylène haute densité est fortement recommandée ([So et al., 2004](#) ; [Melissa et al., 2004](#) ; [van Leewen et al., 2009](#)).

6.2 CONTAMINATION LORS DE L'ANALYSE INSTRUMENTALE (HPLC-MS)

L'appareil HPLC représente la principale source de contamination par les composés perfluorés lors de l'analyse des échantillons environnementaux. En effet, des vannes, des tuyaux et des joints en PTFE sont couramment utilisés dans ces appareils analytiques. Ces matériaux en PTFE présentent une source de contamination potentielle par les PFCs. Ainsi, [Yamashita et al. 2004](#) ont montré que le niveau de contamination des blancs d'appareillage par le PFOA est d'environ 30 pg par 10 μ L de méthanol injecté. En revanche, dans ces blancs d'appareillage, la concentration en PFOS et en autres PFCs est de 1 à 2 ordres de grandeur inférieure à celle du PFOA. Afin de remédier à ce problème, [Yamashita et al. 2004](#) et [Melissa et al. 2004](#) ont préconisé de remplacer tous les tuyaux en PTFE par des tuyaux en acier inoxydable ou en PEEK (polyétheréthercétone). Ils ont également préconisé d'isoler les vannes de dégazage et la vanne permettant le lavage de la tête de piston, qui sont habituellement fabriquées en PTFE. Suite à toutes ces modifications instrumentales, les auteurs ont constaté une baisse très significative du niveau de contamination par l'appareil HPLC.

Aujourd'hui d'autres alternatives techniques s'offrent à l'analyse des PFCs dans les échantillons environnementaux : par exemple l'utilisation de vannes en titane exempt de toutes traces de PFCs.

Malgré toutes ces mesures extrêmes, [Melissa et al. \(2004\)](#) ont mentionné un effet mémoire fréquent du PFOA et PFOS, constaté surtout dans les blancs d'appareillage consécutivement à l'analyse d'échantillons très concentrés en PFCs. Dans de tels cas, les auteurs préconisent de rincer l'ensemble des composants de la chaîne HPLC susceptibles d'accumuler des PFCs (boucle d'injection, vanne d'injection,..), ainsi que la colonne chromatographique, par une phase mobile composée d'un mélange binaire isopropanol : acide formique (90 : 10, v/v).

6.2.1 CONTAMINATION PAR LES VALVES "SEPTUM" DES FLACONS DE PASSEUR

Les flacons utilisés lors de l'analyse par HPLC-SM représentent une source non négligeable de contamination par les PFCs. En effet, les valves "septum" utilisées pour assurer l'étanchéité des flacons contenant les échantillons à analyser sont souvent constituées de PTFE ou de Viton® (fluoropolymères). [Yamashita et al. 2004](#) ont montré que l'utilisation de flacons de passeur munis de valves en Viton® et PTFE induisent, respectivement, jusqu'à 32 et 0,4 ng/L en PFOS et 4,6 et 0,8 ng/L en PFOA dans les blancs d'appareillage. Dans le cadre de la même étude, les auteurs ont montré que la seule utilisation de bouchons en polyéthylène permet de remédier à ce problème (PFOS < 0,003 ng/L, PFOA < 0,009 ng/L).

Enfin, afin d'éviter tout phénomène d'adsorption du PFOS et du PFOA sur les parois internes des flacons de passeur en verre, l'utilisation de flacons en polypropylène est fortement conseillée.

6.2.2 PROVENANCE ET PURETE DES ETALONS ANALYTIQUES.

Un des paramètres pouvant fausser les concentrations réelles en PFOS et en PFOA dans les échantillons environnementaux est la pureté des étalons.

Dans la plupart des cas, la pureté des étalons PFCs est mesurée par un dosage acido-basique après passage sur une résine échangeuse d'ions. Bien évidemment, cette technique est loin d'être spécifique. La présence d'impuretés (Olsen et al., 2003 ; Seacat et al., 2003 ; Kannan et al., 2004) conduit à une surestimation de la concentration réelle des PFCs. Par conséquent, l'utilisation de ces étalons conduit inévitablement à une surestimation de la quantité réelle en PFCs dans les échantillons environnementaux.

La meilleure méthode pour la détermination de la pureté des étalons analytiques est de loin la HPLC-MS. Ainsi, [Arsenault et al. \(2008\)](#) ont étudié la pureté de quatre étalons de PFOS en comparant à chaque fois la valeur annoncée par les fournisseurs (> 98 %) à celle obtenue par analyse HPLC-MS. Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude montrent un écart atteignant jusqu'à 20 % par rapport à la valeur annoncée par les fournisseurs. Ceci peut être à l'origine des écarts observés lors des essais inter-laboratoires où chaque laboratoire utilise ses propres étalons, comme dans le cadre de l'étude PERFORCE-1 ([van Leeuwen et al., 2006](#)). Afin de pallier ces problèmes, l'utilisation d'étalons analytiques issus d'une même provenance est fortement recommandée.

Il est à noter que malgré l'utilisation d'étalons issus d'une même provenance, la justesse observée en essais inter-laboratoires peut dépendre du lot utilisé. En effet, tous les standards PFCs n'ont pas la même répartition en termes de taux de branchement de la chaîne alkyle. Certains PFCs comportent jusqu'à 30 % de branchement ([Arsenault et al., 2008](#)). Bien que [Arsenault et al. \(2008\)](#) aient montré que les PFOS ramifiés présentent les mêmes coefficients de réponse que le PFOS linéaire en ESI(-)-SIM, leurs coefficients de réponse en ESI(-)-MRM sont encore mal connus.

La nature des cations associés aux étalons analytiques des PFCs peuvent aussi constituer une source potentielle de variabilité inter-laboratoires. En effet, [Arsenault et al. \(2008\)](#) ont constaté que la méthode d'analyse utilisant comme étalon le PFOS sous forme de sel de potassium est jusqu'à 3 % plus sensible que celle utilisant le PFOS sous forme de sel de sodium. Les auteurs ont expliqué cette constatation par une volatilité relative plus importante du $\text{PFOS}^-, \text{K}^+$ comparé à celle du $\text{PFOS}^-, \text{Na}^+$.

7. ENSEIGNEMENTS DES EXERCICES PERFORCE 1 & 2

Les produits de sortie de PERFORCE peuvent être consultés sur le site www.science.uva.nl/perforce.

Sur ce site, on trouvera en particulier des méthodes d'analyse destinées au monitoring de rivières et de la présence des composés perfluorés dans le sang, ayant fait l'objet des investigations de PERFORCE 1 (2004 et 2006), pour lesquelles on constatera que les variations (CV_R), hors aberrants, ont été importantes. A titre d'exemple, en 2006 sur un étalon :

- PFOS : $CV_R = \pm 40\%$
- PFOA : $CV_R = \pm 80\%$

Pour l'eau, les CV_R sont parmi les moins bons. La raison en est la stabilisation acide des prélèvements qui diminue la solubilité des analytes et augmente l'adsorption sur les parois des flacons en HDPE. Elle est donc à déconseiller.

Les meilleurs CV_R sont observés pour la matrice biologique (sang). La typologie des laboratoires, tous très expérimentés sur les matrices biologiques, ainsi qu'une utilisation systématique d'étalons internes marqués pour ce type d'analyses, l'explique.

Les enseignements des 2 campagnes PERFORCE 1 étaient les suivants :

- l'absence générale d'étape de purification,
- l'indisponibilité commerciale d'étalons internes radio marqués peut être un handicap,
- l'étalonnage direct augmente la dispersion des mesures, car pour les analyses de sang, pour lesquelles des étalons internes marqués sont utilisés, les différences de protocole analytique sont sans effet majeur sur le résultat final.

Devant cette constatation, l'équipe PERFORCE parmi laquelle l'Université d'Amsterdam (VU), a souhaité initier une suite, PERFORCE 2, sur une base de volontariat, afin de :

- améliorer la justesse et l'exactitude des méthodes d'analyse,
- à plus long terme, créer un noyau de laboratoires de recherche pour développer l'analyse des aldéhydes perfluorés qui sont des métabolites très instables dont la toxicité est encore mal connue, et qui participent au transport aérien,
- développer des modèles pour le retraçage de l'exposition humaine car le seul modèle existant est celui de l'ours blanc, peu applicable à l'homme.

Pour ce faire, elle a réuni en mars 2007 à Amsterdam les développeurs historiques de l'analyse des composés perfluorés, ainsi que des laboratoires susceptibles de détenir l'expertise nécessaire à une participation à ces travaux, afin de créer un réseau suffisamment dense d'analystes experts. Trois laboratoires français ont pris part à cette nouvelle étude : IPL santé environnement (Nancy), CAR (Strasbourg) et LERES (Rennes).

Cet exercice est également l'occasion d'introduire dans le protocole d'autres composés perfluorés (longueurs de chaîne différentes, sulfonamide) susceptibles de coexister dans l'environnement aux côtés du PFOS et du PFOA.

A l'issue de deux journées d'échanges techniques, destinées à harmoniser le niveau des participants et valider les conditions d'exercice, le protocole de la campagne 2007 a été arrêté. Il a pris en compte les difficultés signalées ci-dessus, à savoir :

- conservation, manipulation des matériaux d'essai et contamination *via* le système analytique, au travers d'un séminaire préalable d'échange entre les participants et de consignes très précises sur la manipulation des matériaux d'essai,
- fourniture à tous les participants d'étalons nécessaires à créer un référentiel commun (PFCs linéaires uniquement), en provenance d'un lot fournisseur unique, spécialement préparé par Wellington Labs. Pour l'occasion.

La phase technique s'est déroulée entre le début juillet 2007, date de distribution des matériaux et la fin août 2007, date limite de restitution des résultats.

Après une première exploitation statistique des données, les organisateurs ont choisi, en novembre 2007, de réunir les contributeurs, avant de procéder à l'exploitation finale des données. Les détails de la définition de la campagne ainsi que les motifs ayant conduit aux choix d'exploitations sont exposés dans les deux comptes-rendus opérationnels (réf. : DRC-07-86356-04570A et DRC-07-86356-14424A).

Les méthodes mises en œuvre par les participants sont regroupées dans le tableau 2. Les laboratoires français participant à l'étude portent respectivement les codes d'identification 22, 23 et 24.

Tableau 2 : méthodes mises en œuvre par les participants pour l'analyse des eaux

Laboratoire	Extraction (SPE sauf indication contraire)	Purification	détermination
1	C ₁₈	Lavage à l'eau	LC-ESI-QQQMS
2	Oasis-HLB	aucune	LC-ESI-QQQMS
4	C ₁₈	aucune	LC-ESI-QQQMS
5	SPE	Confidentiel	LC-ESI-QQQMS
6	Oasis-HLB	Lavage à l'eau	LC-ESI-QQQMS
8	Oasis-WAX	Lavage à l'eau	LC-ESI-QQQMS
9	SPE C ₁₈	aucune	LC-ESI-QQQMS
11	Oasis HLB	Méthanol:H ₂ O(60:40)	LC-ESI-QTOFMS
12	Styrène-divinylbenzène avec IPA (paire d'ions)	Méthanol:H ₂ O (20:80)	LC-ESI-QMS
14	Oasis HLB	Méthanol:H ₂ O (40:60)	FIA-LC-ESI-QQQMS
15	Oasis HLB	acétonitrile:H ₂ O(40:60)	LC-ESI-QQQMS
17	LLE (MTBE)	aucune	LC-ESI-QQQMS
19	Oasis HLB	tampon acétate	LC-ESI-QQQMS
20	n.a. : injection large volume de 1 mL	aucune	LC-ESI-QQQMS
21	Oasis HLB	aucune	LC-ESI-QQQMS
22	Oasis-HLB	aucune	LC-ESI-QQQMS
23	LLE(MTBE)	aucune	LC-ESI-QQQMS
24	LLE (MTBE)	aucune	LC-ESI-QQQMS

Les résultats de la campagne 2007 sur les eaux sont décrits ci-après. Ils s'attachent aux principales tendances mises en évidence par l'essai. Une exploitation graphique particulière aux trois participants français est présentée lorsqu'elle est pertinente.

7.1 INFLUENCE DES DIFFERENTES SOURCES D'ETALONS UTILISES PAR LES PARTICIPANTS

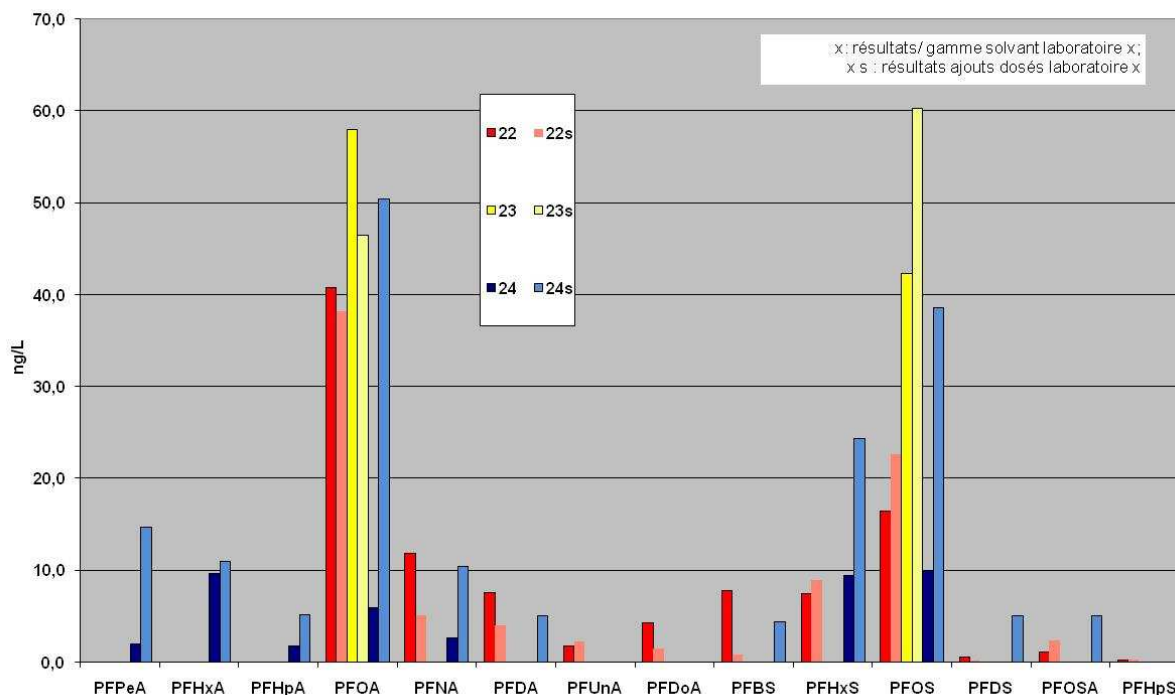
Les étalons utilisés par chaque participant ont été confrontés à l'étalon commun. Les étalons commercialisés par Fluka semblent conduire à une sous-estimation systématique, alors que ceux commercialisés par Oakwood et Lancaster présentent l'effet inverse. Ceux commercialisés par Interchim sont les plus concordants avec l'étalon commun. D'autres producteurs étaient représentés, mais en effectif insuffisant pour une exploitation plus exhaustive. En tout état de cause, l'importance du paramètre « définition de la composition de l'étalon » dans une éventuelle méthode de référence est confirmée, et doit conduire à l'utilisation exclusive d'étalons ne contenant que des isomères strictement linéaires. Les laboratoires français utilisent des étalons commercialisés par Ehrenstorfer (22), ou des mélanges Aldrich/Fluka.

7.2 MODALITES DE QUANTIFICATION

La quantification par étalonnage en solvant a été comparée à la quantification par ajouts dosés, réputée pour permettre de mieux prendre en compte les effets matrices et le rendement de préparation des échantillons. Les participants sont peu familiers de la quantification par ajouts dosés, et n'ont pour la plupart pas respecté les consignes de mise en œuvre indiquées ce qui explique en partie les résultats de moindre qualité obtenus par cette méthode.

La figure 1 présente les performances comparées des laboratoires français sur les différents composés : elle permet d'appréhender la maîtrise comparée de chaque mode de quantification par chaque participant. Les figures 2 à 4 s'attachent aux composés principaux, pour lesquels les résultats ont été replacés dans le contexte de l'essai pour chaque mode de quantification.

Figure 1 : comparaison des résultats des laboratoires français suivant les deux méthodes de quantification mises en œuvre



La Figure 1 permet de constater que les résultats du laboratoire 22 sont cohérents quelle que soit la technique analytique employée. La valeur vraie n'est en revanche pas connue, on ne peut se prononcer sur leur justesse.

Sur les figures 2 et 3, on peut constater que les 3 laboratoires nationaux ont des performances acceptables par rapport à la valeur moyenne de la population lorsqu'ils utilisent un étalonnage en solvant. En revanche, seul le 22 maîtrise la technique des ajouts dosés.

Figure 2 : Eau -Quantification par rapport à une gamme en solvant

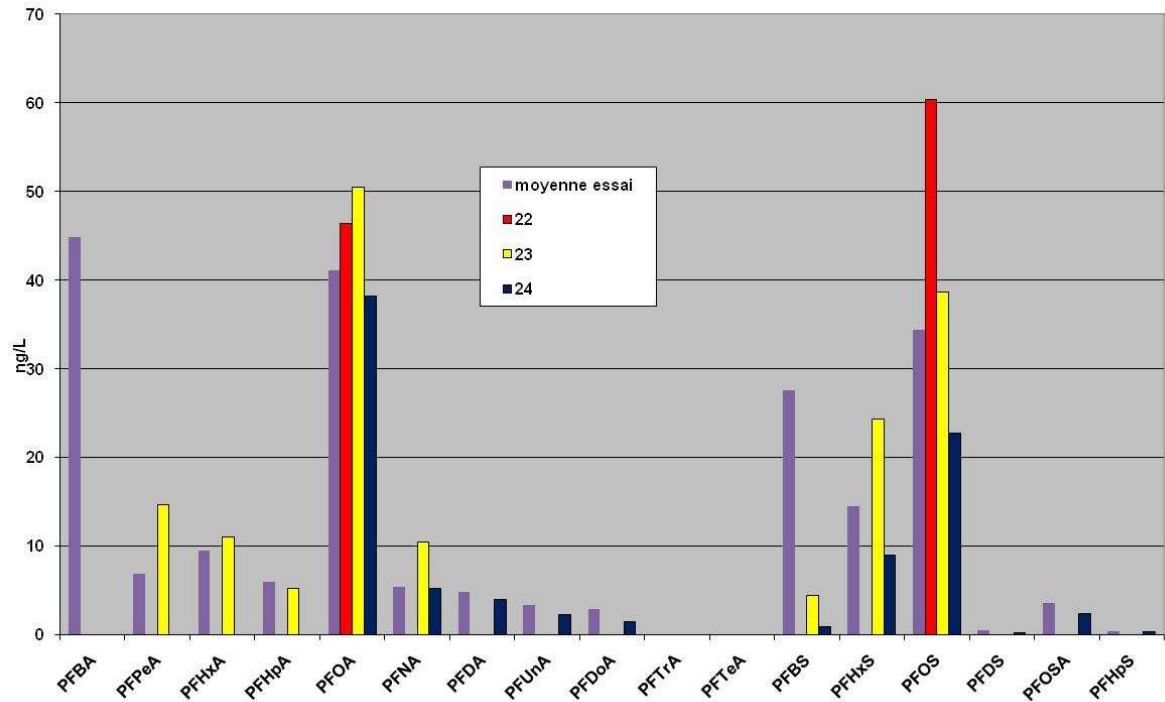


Figure 3 : Eau -Quantification par la méthode des ajouts dosés

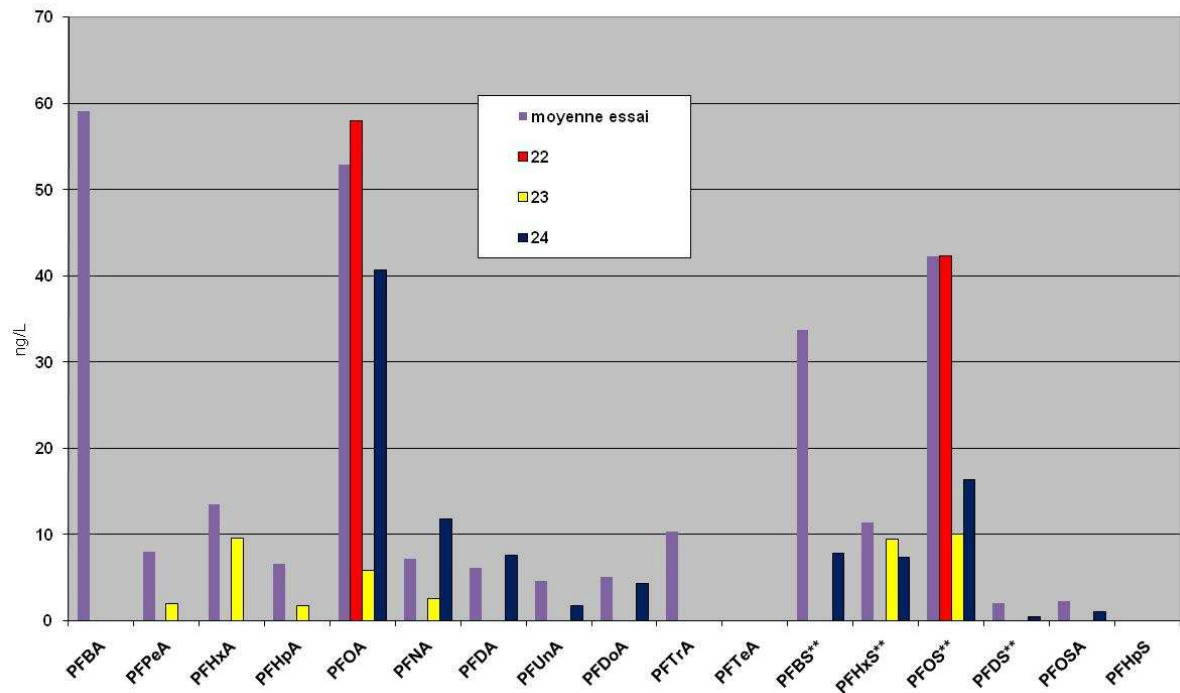
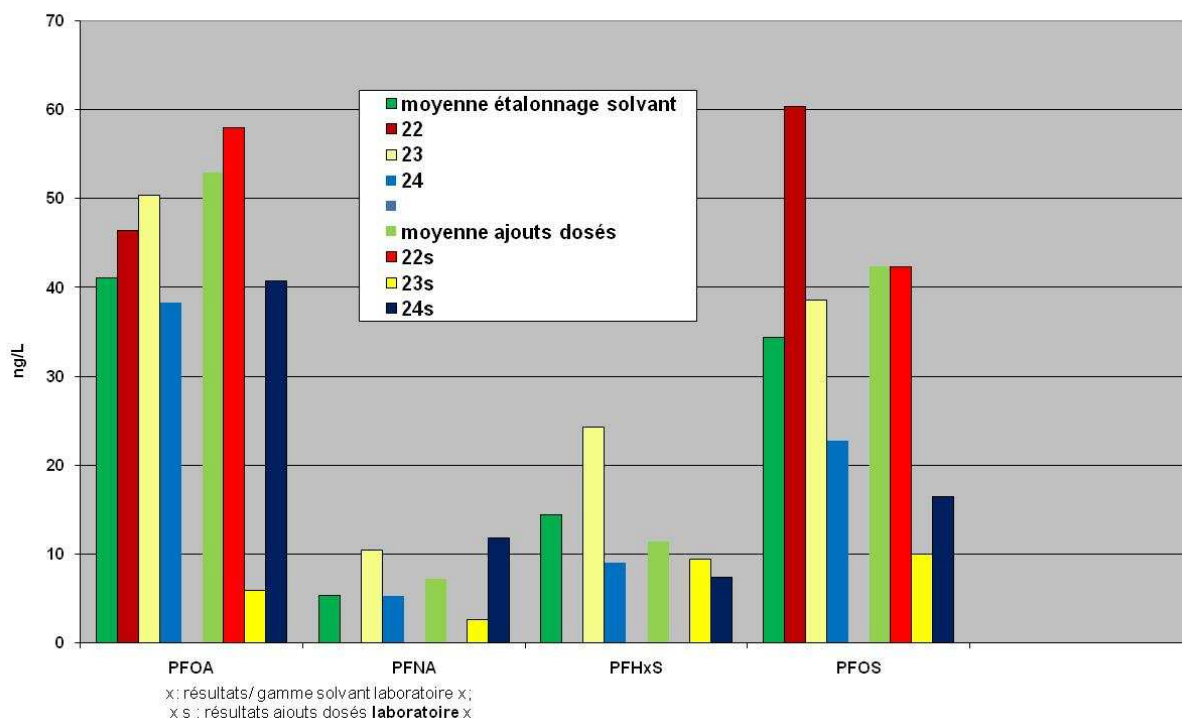


Figure 4 : comparaison étalonnage solvant vs. ajouts dosés sur les principaux composés dosés



7.3 INCERTITUDES

Bien que les données disponibles ne permettent pas un calcul d'incertitude approfondi, une évaluation au travers de la variabilité intra-laboratoire sur les réplicats (CV_r) ou répétabilité de chaque participant est possible. Dans le cas de la quantification par rapport à un étalonnage externe en solvant, les variabilités intra-laboratoires moyennes de la plupart des participants sont < 15% pour l'ensemble des composés, à trois exceptions près dont le laboratoire 24.

Aucun réplicat n'ayant été réalisé pour la méthode des ajouts dosés, l'étude des incertitudes n'est pas possible.

7.4 EFFET MATRICE

La spectrométrie de masse avec électrospray est une technique sujette à de nombreux effets matrice qu'il est important de connaître afin d'établir la stratégie de purification des extraits.

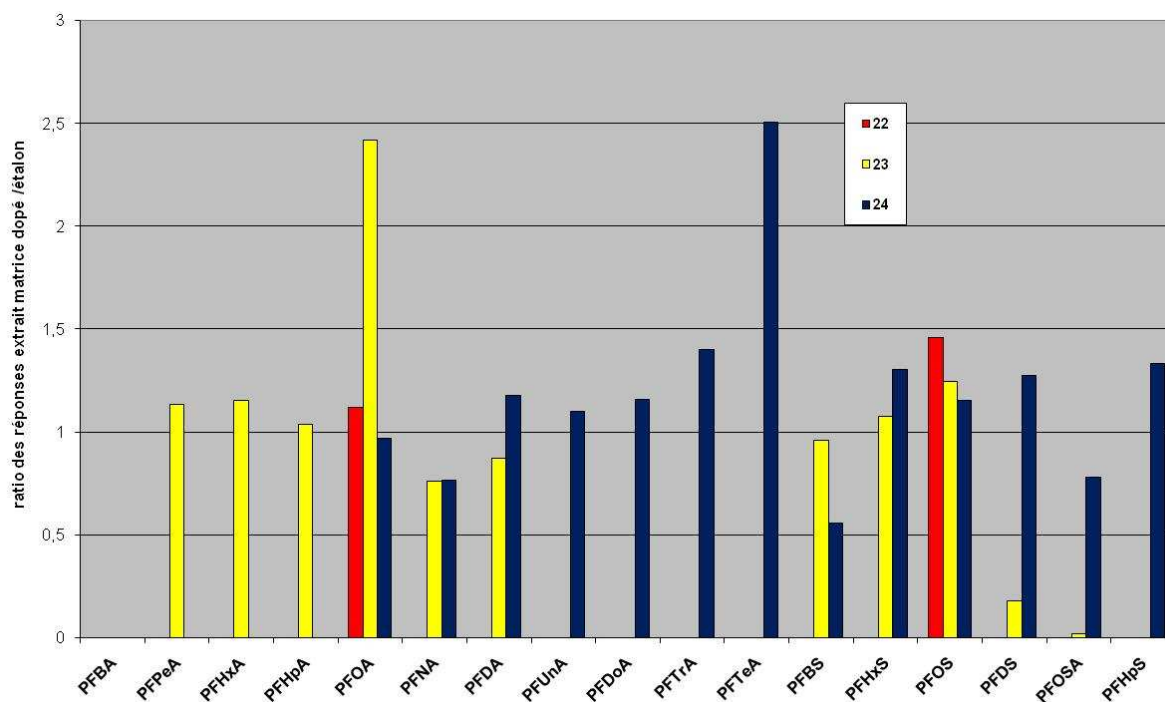
Dans ce but, une solution étalon a été fournie aux participants, afin de comparer les résultats obtenus par l'analyse d'une dilution en solvant avec ceux obtenus lors de l'analyse d'un extrait provenant d'un blanc dopé avec cette solution. L'effet matrice est caractérisé par le ratio des deux résultats, qui est égal à 1 en l'absence d'effet matrice. Les effets matrices observés sur l'ensemble des participants sont très variables : ils vont de -91 % pour un participant sur le PFOA à + 330 % pour un autre participant pour le PFOSA. D'une manière générale, c'est un phénomène de suppression qui est le plus souvent observé avec des valeurs de -10 à -20 % pour l'ensemble des composés. Seul l'usage d'étalons internes radio marqués peut palier ce phénomène. Ils ne sont pas disponibles pour l'ensemble des analytes.

Les résultats fournis par les laboratoires français (Figure 5) montrent qu'aucun d'entre eux n'a poussé son développement suffisamment loin pour maîtriser les effets matrices à la date de l'essai. En particulier, des résultats très variables suivant les substances laissent à penser que toutes les sources de contamination provenant de l'appareillage ne sont pas identifiées et maîtrisées.

Cette constatation, si elle est particulièrement flagrante ici du fait du protocole mis en œuvre pour circonvenir le problème, est probablement latente dans l'analyse de nombreuses autres substances par HPLC/MS ou HPLC/MS-MS.

Il faut néanmoins saluer le volontarisme de ces trois laboratoires qui ont répondu à la sollicitation de l'INERIS alors que ces substances ne font l'objet d'aucune demande régulière.

Figure 5 : Effet matrice



7.5 EXTRACTION

Aucune méthode d'extraction n'est représentée en nombre suffisant pour permettre une étude significative : deux sous-populations peuvent être identifiées, l'une extrayant par extraction liquide-liquide au MTBE, l'autre par SPE sur cartouche OASIS HLB®, mais au sein de chaque de ces populations, aucun résultat ne confirme une tendance quelconque.

7.6 PURIFICATION

La moitié des participants environ mettent en œuvre une étape de purification après extraction. Toutefois, les difficultés mentionnées plus avant ne permettent pas d'effectuer une exploitation des données de nature à recommander un protocole plutôt qu'un autre.

7.7 CONCLUSIONS

Les exercices PERFORCE 1 & 2 ont montré que l'analyse des PFCs dans les eaux douces était possible, mais soumise à plusieurs contraintes fortes :

- la sélection des étalons, qui doivent présenter la même structure moléculaire que les composés à doser,
- l'utilisation d'étalons internes radiomarqués, l'une des solutions pour maîtriser les effets matrices nombreux rencontrés lors de la mise en œuvre de la HPLC-MS, et peut-être aussi induits par l'extraction, ainsi que les pertes lors de cette étape,
- la nécessité probable d'une étape de purification.

Ces conclusions militent pour le développement d'un protocole de référence. On pourrait donc se réjouir de l'existence du projet ISO 25101.

8. METHODE NORMALISEE ISO 25101 : PFOS ET PFOA DANS LES EAUX PAR LC/MS

Le projet ISO 25101 a démarré en 2005 : il a été inscrit suite à la 23^{ème} réunion de l'ISO TC 147/SC2 et alloué au WG56 créée pour l'occasion, sous la coordination de N. Yamashita, pour le JISC. Ce projet s'appuie donc sur les travaux publiés par cet expert : cette norme internationale décrit une méthode pour la détermination des isomères linéaires du perfluorooctanesulfonate (PFOS) et du perfluorooctanoate (PFOA) dans les échantillons non-filtrés d'eaux souterraines d'eau et potables et d'eau de surface (eau douce et eau de mer) employant la HPLC-MS/MS. La méthode revendique une application pour une gamme de concentration de 0.05 µg/l à de 10 µg/l pour PFOS et de 0.1 µg/l à 10 µg/l pour PFOA.

L'extraction des substances de l'échantillon fait appel à l'extraction sur phase solide (SPE), en laissant à chaque utilisateur le soin de déterminer le support d'extraction le plus adapté.

Les interférences signalées dans l'étude bibliographique et constatées lors des exercices PERFORCE sont rappelées dans la norme. Des contrôles d'assurance qualité sont suggérés afin de s'assurer de l'exactitude des mesures : blancs, contrôle du taux de récupération des étalons internes radiomarqués traceurs, par exemple. Un essai inter laboratoires de caractérisation de cette norme s'est déroulé en 2007, selon les procédures de l'ISO.

6 échantillons ont été préparés et distribués par le chef de projet :

- 1 solution étalon de PFOS et de PFOA, de concentration inconnue
- 1 eau de rivière basse concentration
- 1 eau de rivière dopée
- 1 de l'eau de mer
- 1 eau de boisson basse concentration
- 1 eau de boisson dopée

Sur 29 participants inscrits, seuls 23 ont fourni des données. L'INERIS en a assuré l'exploitation statistique. 7 participants ont été écartés par le chef de projet, en raison d'un taux de récupération insuffisant des étalons internes radiomarqués, indiquant que pour 7 laboratoires, soit 30 % de la population, l'étape d'extraction n'est pas maîtrisée. L'identité des laboratoires écartés varie en outre suivant le matériau d'essai : on ne peut donc relier une performance non satisfaisante à un protocole d'analyse isolé, mais plutôt à un manque de robustesse de la méthode elle-même, rendant son transfert à des laboratoires même experts difficile. Cette hypothèse est étayée par le taux global de données aberrantes observées, qui varie de 6 à 63 % sans lien direct avec la complexité des matrices.

Malheureusement, par le jeu des règles de vote ISO, la norme ISO 25101 a été publiée en 2008, malgré l'opposition de la France. Les experts nommés par les autres membres européens de l'ISO, NEN (NL), DIN (D) ou DS, par exemple, souhaitaient également différer l'adoption de ce texte en raison de son manque de robustesse, mais leurs organismes de normalisation n'ont pas souhaité se déjuger par un vote négatif lors du vote final, après plusieurs votes positifs « pour voir » aux étapes antérieures.

Il existe donc une norme pour l'analyse du PFOS et du PFOA dans les eaux environnementales, marines et de consommation humaine, mais sa robustesse est insuffisante pour prétendre à une utilisation dans le cadre d'une surveillance environnementale fiable. C'est pourquoi l'INERIS a proposé à l'AFNOR de ne pas reprendre ce texte dans les collections nationales, et de se positionner pour éviter sa reprise en tant que norme européenne.

9. CONCLUSION

Les PFCs, substances exclusivement anthropiques, ont été identifiées récemment, mais de manière ubiquitaire, dans les milieux aquatiques. Leurs caractéristiques physico-chimiques rendaient jusqu'à lors les méthodes d'analyse disponibles peu adaptées à leur mise en évidence. L'utilisation plus large des techniques de couplage HPLC-MS l'a maintenant rendue possible. Elle a également permis de confirmer le caractère persistant de ces molécules.

Des programmes de recherche incluant le développement de protocoles analytiques harmonisés se sont développés en Europe et dans le monde, en amont ou en soutien de questionnements réglementaires. Il ressort de l'évaluation de ces développements analytiques que :

- la technique analytique HPLC-MS employée permet d'identifier les molécules ciblées. Néanmoins, elle est sujette à de nombreuses interférences encore mal maîtrisées car identifiées au fil des expérimentations en cours ;
- une harmonisation des conditions expérimentales est nécessaire pour espérer obtenir des données fiables, concernant en particulier la définition des étalons de dosage ;
- l'encadrement métrologique de l'étape d'enrichissement préalable est impératif et encore insuffisant.

Les travaux auxquels l'INERIS s'est associé dans le cadre de la publication de la norme ISO 25101 « Qualité de l'eau – Dosage du PFOS et du PFOA – méthode pour eaux non filtrées par extraction sur phase solide suivi de HPLC-MS » ont conduit à mettre en évidence le manque de robustesse de ce texte, et à refuser sa reprise nationale.

On peut saluer ici le volontarisme de quelques laboratoires français, qui ont accepté de s'investir dans les études collaboratives européennes. Leur participation a permis d'évaluer le délai de développement nécessaire pour un laboratoire prestataire de bon niveau. Aucun n'a réussi à maîtriser complètement cette analyse dans les quatre mois impartis à l'obtention des premiers résultats. Néanmoins tous conviennent de la progression obtenue au contact de leurs pairs hors du paysage national.

Une nouvelle campagne européenne est planifiée pour 2009 : les 3 volontaires de 2007 y prendront part, ainsi que 5 nouveaux participants français. L'INERIS assurera la coordination et une exploitation statistique spécifique aux participants français, qui pourront initier des travaux ultérieurs en vue de l'implémentation de ces substances dans les listes réglementaires nationales.

10. BIBLIOGRAPHIE

Arsenault G., Chittim B., McAlees A., McCrindle R., Riddell N., Yeo B. (2008) Some issues relating to the use of perfluorooctanesulfonate (PFOS) samples as reference standards. *Chemosphere* 70 : 616-625.

Boulanger B., Vargo J., Schnoor J.L., Hornbuckle K.C. (2004) Detection of Perfluorooctane Surfactants in Great Lakes Water. *Environmental Science and Technology* 38 : 4064-4070.

Chiao-Li T., Li-Lian L., Chien-Min C., Wang-Hsien D. (2005) Analysis of perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in water and biological tissue samples by liquid chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1105 : 119-126.

Furduia V.I., Crozier P.W., Reiner E.J., Mabury S.A. (2008) Trace level determination of perfluorinated compounds in water by direct injection. *Chemosphere* 73 : 24-30.

Giesy J.P., Kannan K. (2001) Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environmental Science and Technology* 35 : 1339-1342.

Giesy J.P., Kannan K. (2002) Perfluorochemical surfactants in the environment. *Environmental Science and Technology*. 36 : 146-152.

González-Barreiro C., Martínez-Carballo E., Sitka A., Scharf S., Gans O. (2006) Method optimization for determination of selected perfluorinated alkylated substances in water samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386 : 2123-2132.

Gurugea K.S., Taniyasub S., Yamashita N., Managea P.M. (2007) Occurrence of perfluorinated acids and fluorotelomers in waters from Sri Lanka. *Marine Pollution Bulletin* 54 : 1667-1672.

Hekster F.M., Laane R.W.P.M., de Voogt P. (2003) Environmental and Toxicity Effects of Perfluoroalkylated Substances. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 179 : 99-121.

Lien N.P.H., Fujii S., Tanaka S., Nozoe M., Tanaka H. (2008) Contamination of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in surface water of the Yodo River basin (Japan). Deslination 226 : 338-347.

Loganathan B.G., Sajwan K.S., Sinclair E, Kumar K.S., Kannan K. (2007) Perfluoroalkyl sulfonates and perfluorocarboxylates in two wastewater treatment facilities in Kentucky and Georgia. *Water Research* 41 : 4611-4620.

Loos R., Locorosa G., Hubera T., Wollgasta J., Christoph E.H., de Jagera A., Gawlika B.M., Hanke G., Umlauf G., Zaldívar J-M. (2007) Analysis of perfluorooctanoate (PFOA) and other perfluorinated compounds (PFCs) in the River Po watershed in N-Italy. *Chemosphere* 71 : 306-313.

McLachlan M., Holmström K.E., Reth M., Berger U. (2007) Riverine discharge of perfluorinated carboxylates from the European Continent. *Environmental Science and Technology* 21 : 7260-5.

Poulsen P.B., Jensen A.A., Wallström E. (2005) More environmentally friendly alternatives to PFOS-compounds and PFOA, *Environmental Protection Agency, Danish Ministry of the Environment*.

Prevedouros K., Cousins I.T., Buck R.C., Korzeniowski S.H. (2006) Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environmental Science and Technology* 40 : 32-44.

Renner R. (2001) Growing concern over perfluorinated chemicals. *Environmental Science and Technology* 35 : 154-160.

Schultz M.M., Barofsky D.F., Field J.A. (2003) Fluorinated alkyl surfactants. *Environmental Engineering Science* 20 : 487-501.

So M.K., Taniyasu S., Yamashita N., Giesy J.P., Zheng J., Fnag Z., Im S.H., Lam P.K.S. (2004) Perfluorinated Compounds in Coastal Waters of Hong Kong, South China, and Korea. *Environmental Science and Technology* 38 : 4056-4063.

So M.K., Miyake Y., Yeung W.Y., Ho Y.M., Taniyasu S., Rostkowski P., Yamashita N., Zhou B.S., Shi X.J., Wang J.X., Giesy J.P., Yu H., Lam P.K.S. (2007) Perfluorinated compounds in the Pearl River and Yangtze River of China. *Chemosphere* 68 : 2085-2095.

Taniyasu S., Kannan K., So M.K., Gulkowskad A., Sinclair E., Okazawa T., Yamashita N. (2005) Analysis of fluorotelomer alcohols, fluorotelomer acids, and short- and long-chain perfluorinated acids in water and biota. *Journal of Chromatography A* 1093 : 89-97.

van Leeuwen S.P.J., Swart C.P., van der Veen I., de Boer J. (2009) Significant improvements in the analysis of perfluorinated compounds in water and fish: Results from an interlaboratory method evaluation study. *Journal of Chromatography A* 1216 : 401-409.

van Leeuwen S.P.J., Krrman A., van Bavel B., de Boer J., Lindstrm G. (2006). Struggle for Quality in Determination of Perfluorinated Contaminants in Environmental and Human Samples. *Environmental Science and Technology* 40 : 7854-7860.

Yamashita N., Kannan K., Taniyasu S., Horii Y., Okazawa T., Petrick Gert., Gamo T. (2004) Analysis of Perfluorinated Acids at Parts-Per-Quadrillion Levels in Seawater Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Environmental Science and Technology* 38 : 5522-5528.

Senthilkumar K., Ohi E., Sajwan K., Takasuga T., Kannan K. (2007) Perfluorinated Compounds in River Water, River Sediment, Market Fish, and Wildlife Samples from Japan. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 79 : 427-438.

Zhao X., Li J., Shi Y., Cai Y., Mou S., Jiang G. (2007). Determination of perfluorinated compounds in wastewater and river water samples by mixed hemimicelle-based solid-phase extraction before liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography* 1154 : 52-59.