

Composés Perfluorés PFCs

Méthode d'analyse dans l'eau brute

Généralités

Nom de la famille de substances	Composés perfluorés (chaîne alkyl linéaire de C6 à C10)
Nom des substances individuelles	Acide perfluoro-n-hexanoïque (PFHxA) (CAS : 307-24-4) Acide perfluoro-n-heptanoïque (PFHpA) (CAS : 375-85-9) Acide perfluoro-n-octanoïque (PFOA) (CAS : 335-67-1) Acide perfluoro-décanoïque (PFDA) (CAS : 335-76-2) Acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS) (CAS : 335-46-4) Acide perfluorooctane sulfonique (PFOS) (CAS : 1763-23-1) Acide perfluorodécane sulfonique (PFDS) (CAS : 335-77-3)
Code SANDRE des substances individuelles	Acide perfluoro-n-hexanoïque : [5978] Acide perfluoro-n-heptanoïque : [5977] Acide perfluoro-n-octanoïque : [5347] Acide perfluoro-décanoïque : [6509] Acide perfluorohexane sulfonique : [6830] Acide perfluorooctane sulfonique : [6560] Acide perfluorodécane sulfonique : [6550]
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Eau [3] : Méthode applicable aux eaux douces de surface et aux eaux souterraines.
Principe de la méthode	Filtration de l'échantillon d'eau sur un filtre en microfibre de verre borosilicaté de 47mm de diamètre, avec un seuil de rétention de $\approx 0,7 \mu\text{m}$ type GF/F Whatman®. Extraction du filtre aux ultrasons par du méthanol. Récupération du surnageant et ajout à l'échantillon d'eau filtrée. Extraction en phase solide (SPE) sur une cartouche échangeuse d'anion faible (WAX). Analyse en chromatographie liquide ultra-haute performance couplée à un spectromètre de masse en tandem (UHPLC/MS/MS) avec ionisation par électronébulisation en mode négatif (ESI-).
Acronyme	SPE/UHPLC/MS/MS
Domaine d'application	1 ng/L à 100 ng/L

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

De manière générale les matériaux en polymère fluoré sont à proscrire car contenant potentiellement des traces de PFCs (ex : flaconnage, bouchons...). Il est préférable d'utiliser du verre calciné (400°C pendant 8 h) ou du polyéthylène rincé au méthanol.

Les tubulures et électrovannes en téflon sont des sources de contamination identifiées notamment au cours de l'extraction (automate de SPE) et au cours de l'analyse (chaîne UHPLC).

Pour diminuer le relargage de PFCs pendant la mise en œuvre de la méthode chromatographique, il convient de faire l'analyse de plusieurs blancs de méthanol, jusqu'à obtenir une réponse stable.

Un moyen pour diminuer la « contamination système » est le changement des lignes de solvant en PTFE par du PEEK et des autres tubulures en PTFE du système par de l'innox. Pour des contaminations importantes, l'ajout d'une colonne C18 2,1x50 mm sur le chemin fluide entre la sortie du mixer de la pompe UHPLC et l'entrée de l'injecteur permet de décaler l'élution de la « contamination système » par rapport aux composés d'intérêt et d'avoir un retour à la ligne de base des pics.

Il est donc recommandé de faire en routine des rinçages répétés et des mesures de blanc du système d'extraction et du système analytique pour atténuer ces contaminations et d'en vérifier fréquemment les effets par des mesures de blanc méthode (ensemble du protocole) et des mesures de blanc analytique (chromatographie).

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

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

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée :	Eau : Eau brute [23]
Conditionnement et conservation des échantillons - Protocole : - Nature du contenant de stockage : - Lavage du contenant : - Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :	<p>Les échantillons sont conservés à 4°C à l'abri de la lumière.</p> <p>Flacons en polyéthylène de 500 mL. L'utilisation de flacons en verre est possible mais un phénomène d'adsorption des PFCs les plus lourds (PFCs possédant une chaîne alkyle \geq à C10) a été observé.</p> <p>Rinçage des flacons en PE et des bouchons par 20 mL de méthanol (qualité LC/MS).</p> <p>L'étude de stabilité a été réalisée sur une eau de rivière (Eau de l'Oise avec un taux de MES \approx 30 mg/L) dopée à 20 ng/L et à 70 ng/L et conservée à 4°C à l'obscurité selon l'approche pseudo-isochrone de type 2 issue du rapport Aquaref de 2016 « Lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau. ».</p> <p>Le critère d'instabilité maximale acceptable (IMA) a été fixé à 20%.</p> <p>Dans ces conditions les composés sont stables 7 jours à l'exception du PFDS qui n'est stable que 4 jours.</p> <p>Il est donc recommandé de traiter les échantillons dans un délai de 4 jours après le prélèvement en respectant les conditions de conservations (4°C à l'abri de la lumière)</p>

Analyse

Volume de la prise d'essai	500 mL
Filtration :	<p>Ajouter 5μL d'une solution contenant 7 étalons internes marqués au carbone 13 (PFHxA-¹³C₅, PFHpA-¹³C₄, PFOA-¹³C₈, PFDA-¹³C₆, PFHxS-¹³C₃, PFOS-¹³C₈, PFDaA-¹³C₂) chacun à 2 μg/mL dans le méthanol.</p> <p>Afin d'éviter le colmatage des cartouches SPE, l'eau brute est filtrée. Le filtre est extrait aux ultrasons. L'extrait de filtre + le filtrat sont réunis et extraits par SPE.</p> <p>La filtration s'effectue sur un système de filtration sous vide en verre borosilicaté préalablement calciné à 500°C.</p> <p>Le filtre utilisé est un filtre en microfibre de verre borosilicaté de 47 mm de diamètre, avec un seuil de rétention de ~ 0,7 μm (type GF/F Whatman®). Le filtre est préalablement conditionné par passage de 10 mL de méthanol et séché à l'air libre.</p> <p>Lorsque que le filtre est sec, procéder à la filtration de l'échantillon.</p> <p>Prendre soin de rincer le flacon d'échantillon avec de l'eau MilliQ pour récupérer les MES éventuellement présentes à sa surface.</p> <p>Le filtrat est transvasé dans le flacon d'échantillon d'origine rincé.</p> <p>Le dispositif de filtration en verre est ensuite rincé par 5 mL de méthanol. Ces 5 mL de rinçage sont conservés pour rincer ultérieurement le flacon d'échantillon.</p>
Extraction du filtre :	<p>Le filtre est introduit dans un tube en verre de 16x100 mm et extrait au bain à ultrason par 2 x 5 mL de méthanol pendant 5 min.</p> <p>Les extraits sont réunis dans un nouveau tube et ce dernier est centrifugé 2 min à 2500 tr/min.</p> <p>En prenant soin de ne pas remettre en suspension de MES et de fibres provenant du filtre, les 10 mL d'extrait sont ajoutés au filtrat.</p>

Extraction du filtrat + extrait du filtre :

-Préparation des solutions de lavage et d'élution.

-Protocole d'extraction SPE

Eau de qualité MilliQ
Méthanol de qualité LC/MS

Tampon acétate à 0,025 mol/L à pH 4 :

- Solution A : Mélanger 0,5 mL d'acide acétique (p = 99,9 %) avec 349,5 mL d'eau MilliQ.
- Solution B : Dissoudre 116 mg d'acétate d'ammonium (p = 97 %) dans 60 mL d'eau MilliQ.
- Mélanger 200 mL de la solution A avec 50 mL de la solution B

Solution d'ammoniaque à 0,1 % dans le méthanol :

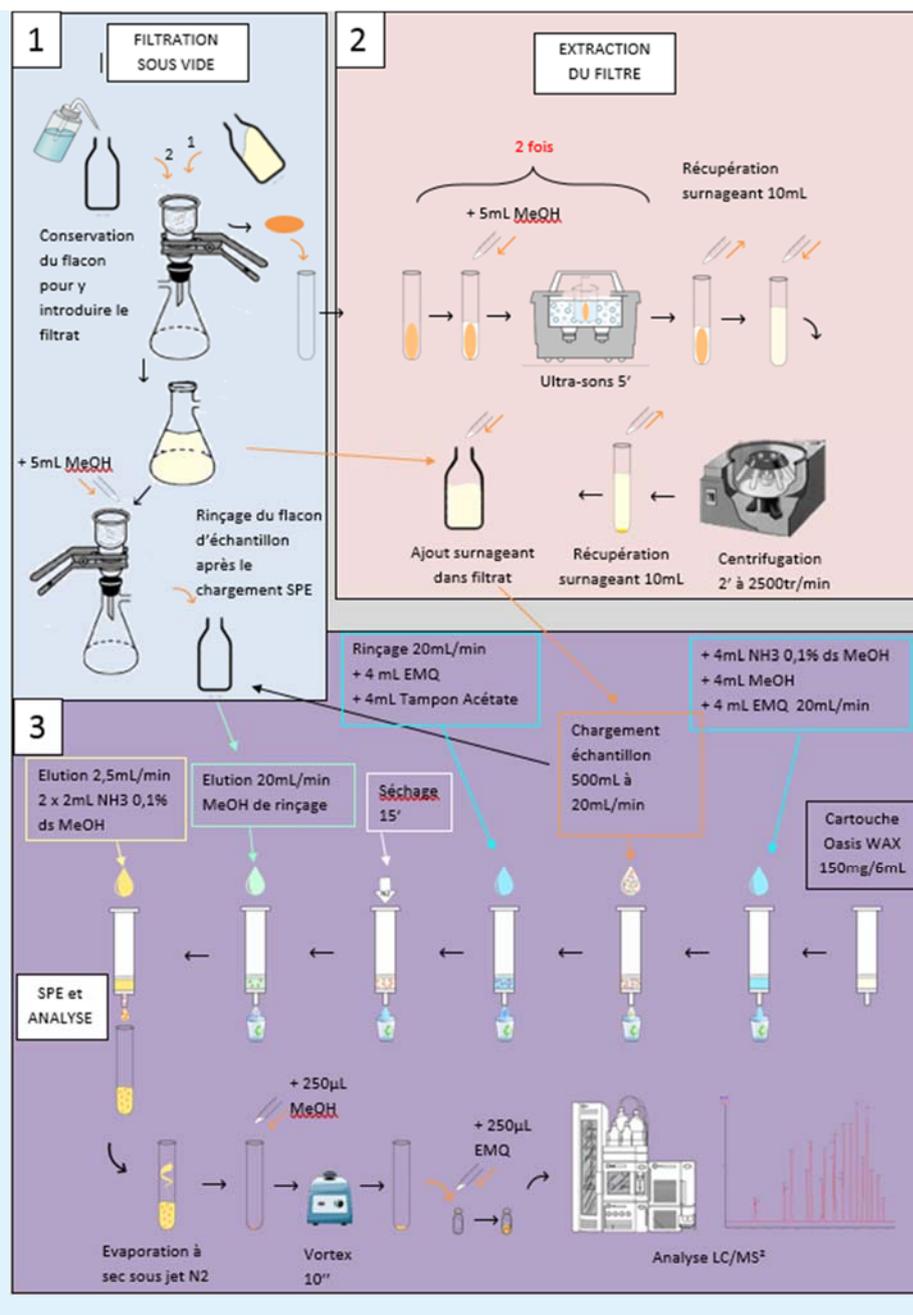
- Mélanger 0,4 mL d'une solution d'ammoniaque à 25 % avec 99,6 mL d'eau MilliQ.

Extraction sur cartouche échangeuse d'anion faible WAX Oasis® (Waters®) contenant 150 mg de phase solide et d'un volume de 6 mL.

- Conditionnement : 4 mL de la solution d'ammoniaque à 0,1 % dans le méthanol, puis 4 mL de méthanol et enfin 4 mL d'eau MilliQ à 20 mL/min en prenant soin de ne pas laisser sécher la cartouche.
- Chargement sur la cartouche des filtrats + extrait de filtre réunis à 20 mL/min.
- Rinçage de la cartouche par 4 mL d'eau MilliQ puis par 4 mL de tampon acétate à 20 mL/min.
- Séchage de la cartouche sous flux d'azote pendant 15 min.
- Rinçage du flacon d'échantillon avec le méthanol ayant servi à rincer le dispositif de filtration.
- Elution de la cartouche avec le méthanol de rinçage à 20 mL/min. Ecartement de cette fraction : permet d'éliminer les traces d'eau et les composés non ioniques piégés encore présents dans la cartouche.
- Elution de la cartouche par 2 x 2 mL de solution d'ammoniaque à 0,1% dans le méthanol à 2,5 mL/min.

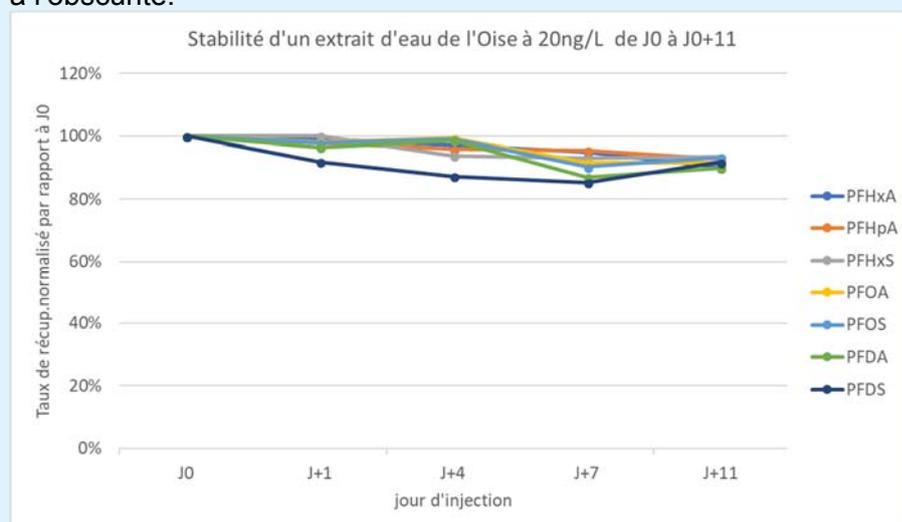
Evaporation à sec de l'extrait sous flux d'azote directement dans le tube de collecte et reprise par 250 µL de méthanol avec agitation au vortex pour bien rincer les parois du tube.

Transfert de l'extrait dans un flacon d'analyse et complément avec 250 µL d'eau MilliQ.



Conservation de l'extrait

L'étude de conservation a consisté à doper à 20ng/L trois échantillons d'eau de l'Oise (MES ~ 30 mg/L). Les échantillons ont été extraits, conservés à 4°C à l'obscurité et analysés à différents jours.. L'extrait est stable pendant au moins 11 jours, s'il est conservé à 4°C à l'obscurité.



Volume final avant analyse :

0,5 mL d'un mélange méthanol/eau MilliQ 1:1 (v/v)

Méthode analytique utilisée :

Chromatographie :

- Colonne ACQUITY UPLC® BEH Shield RP18 (2,1 x 100 mm - taille de particules 1,7 µm) + précolonne VanGuard™ (2,1 x 5 mm) (Waters®).
- Température de colonne : 40°C
- Volume d'injection : 5 µL
- Débit de phase mobile : 0,3 mL/min
- Gradient binaire d'élution :

Temps (min)	Solvant A :	Solvant B :
	Méthanol+2mM d'acétate d'ammonium (%)	Eau MilliQ + 2mM d'acétate d'ammonium (%)
0	30	70
0,5	30	70
10	98	2
15	98	2
17	30	70
25	30	70

Spectrométrie de masse :

- Mode d'ionisation : ESI négatif
- Tension du capillaire : 3 kV
- Température de la source : 150°C
- Température du gaz de désolvatation (N₂) : 400°C
- Débit du gaz de désolvatation (N₂) : 800 L/h
- Débit du gaz cône : 50 L/h
- Mode d'acquisition : MRM
- Débit du gaz de collision (Argon) : 0,17 mL/min

Composé	Temps de rétention (min)	Transition Ion Précurseur > ion fils (m/z)	Tension de cône (V)	Energie de collision (eV)
PFHxA	6,48	313>229 ^a 313>119 ^b	17 17	8 20
PFHxA- ¹³ C ₅	6,47	318>273	17	8
PFHpA	7,44	363>319 ^a 363>169 ^b	15 15	10 17
PFHpA- ¹³ C ₄	7,44	367>322	15	10
PFHxS	7,54	399>80 ^a 399>99 ^b	62 62	38 35
PFHxS- ¹³ C ₃	7,54	402>80	62	38
PFOA	8,16	413>369 ^a 413>169 ^b	17 17	10 18
PFOA- ¹³ C ₈	8,16	421>376	17	10
PFOS	8,78	499>80 ^a 499>99 ^b	65 65	50 45
PFOS- ¹³ C ₈	8,78	507>80	65	50
PFDA	9,24	513>469 ^a 513>169 ^b	20 20	10 18
PFDA- ¹³ C ₆	9,24	519>474	20	10
PFDS	9,66	599>80 ^a 599>99 ^b	60 60	45 50
PFDoA- ¹³ C ₂	10,02	615>570	22	10

^a : Transition de quantification

^b : Transition de confirmation

**Equipements ¹
(modèles utilisés) :**

Automate de SPE : Autotrace (Zymark®)
Chromatographe : UPLC Acquity® (Waters®)
Spectromètre de masse en tandem : triple quadripôle, Acquity® TQD (Waters®)

Type d'étalonnage

Interne, Dilution isotopique sauf pour PFDS

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

<p>Etalons internes utilisés</p>	<p>Chaque composé possède son homologue marqué au carbone 13 à l'exception du PFDS :</p> <ul style="list-style-type: none"> • PFHxA-¹³C₅ : Acide perfluoro-n-[1,2,3,4,6-¹³C₅]hexanoïque pour le PFHxA. • PFHpA-¹³C₄ : Acide perfluoro-n-[1,2,3,4-¹³C₄]heptanoïque pour le PFHpA. • PFOA-¹³C₈ : Acide perfluoro-n-[¹³C₈]octanoïque pour le PFOA • PFDA-¹³C₆ : Acide perfluoro-n-[1,2,3,4,5,6-¹³C₆]décanoïque pour le PFDA • PFHxS-¹³C₃ : Acide perfluoro-1-[1,2,3-¹³C₃]hexane sulfonique pour le PFHxS • PFOS-¹³C₈ : Acide perfluoro-1[¹³C₈]octane sulfonique pour le PFOS • PFDoA-¹³C₂ : Acide perfluoro-n-[1,2-¹³C₂]dodécanoïque pour le PFDS <p>Une solution de chaque composé à 2 µg/mL est préparée dans le méthanol.</p>
<p>Domaine de concentration</p>	<p>Gamme d'étalonnage préparée de 1 à 100 ng/mL dans un mélange méthanol/eau MilliQ 1:1 (v/v).</p>
<p>Méthode de calcul des résultats Rendement</p> <p>Blancs</p>	<p>Etalonnage interne Pas de correction du rendement</p> <p>Soustraction du blanc : possible si niveau de contamination stable. Appareillage :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Faire plusieurs injections de méthanol sur la chaîne UPLC jusqu'à obtenir une réponse stable. Si le signal reste trop important (>1 ng/mL du mélange d'injection) il est conseillé de modifier le système analytique (cf. précautions particulières). • Faire un blanc de chaque voie de l'automate de SPE, en faisant l'extraction d'une cartouche vierge sans passer d'échantillon. <p>Blanc de méthode : faire un blanc d'eau MilliQ pour chaque série d'extraction incluant les étapes de filtration, d'extraction du filtre et de SPE .</p>
<p>Références de la méthode</p>	
<p>Norme dont est tirée la méthode</p>	<p>ISO/CD 21675 :2018 (E): Water quality — Determination of polyfluorinated alkyl substances (PFAS) in water — Method using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)</p>
<p>Niveau de validation selon Norman</p>	<p>Niveau 1</p>

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée

NF T90-210 (2009)
NF ISO 11352 (2012) pour la détermination de l'incertitude de mesure. Les valeurs d'incertitudes ont été estimées à l'aide du logiciel MUKit, il s'agit d'incertitudes relatives élargies pour un niveau de confiance de 95% (k=2)

Domaine de validation

Substances	Domaine de validation
PFHxA	1 à 100 ng/L
PFHpA	2 à 100 ng/L
PFOA	2 à 100 ng/L
PFDA	1 à 100 ng/L
PFHxS	2 à 100 ng/L
PFOS	2 à 100 ng/L
PFDS	2 à 100 ng/L*

* Domaine validé après élargissement des critères d'exactitude (écart maximal acceptable (EMA) fixé à 50% au lieu de 40% et 30% respectivement à 20 et 80 ng/L) pour les niveaux de concentration supérieures à la LQ.

Matériaux de référence utilisés

Pas de matériau de référence disponible
La validation a été réalisée avec un mélange d'1/3 d'eau de rivière (Oise) et de 2/3 d'eau de source (La Neuville en Hez), présentant un taux de MES de 11,6 mg/L, un pH de 8,19 et une conductivité de 641 µs/cm.

Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)

La difficulté à trouver une matrice représentative et vierge en composés d'intérêt nous a amené à diluer une eau de rivière avec une eau de source. Cependant, malgré la dilution, le niveau de blanc quantifié dans la matrice reste conséquent pour la validation de certains composés (entre 0,5 et 1,5 ng/L). Il a donc été nécessaire de soustraire la valeur moyenne du blanc inter-série pour cette validation pour tous les composés sauf le PFDA.

Rendement**- par niveau de concentration**

Détermination suivant NF T90-210 (2009) réalisée par ajout d'une quantité connue de chacun des PFCs dans 500 mL de matrice (1/3 eau de l'Oise + 2/3 eau de source).

Nombre d'essais par niveau de concentration : 2 répétitions/jour pendant 6 jours.

Avec retranchement de la valeur moyenne du blanc inter-série pour chaque composé sauf pour le PFDA.

Composés	Rendement relatif moyen \pm écart-type % (n=12 par niveau)			
	1 ng/L	2 ng/L	20 ng/L	80 ng/L
PFHxA	92 \pm 14%	96 \pm 15%	85 \pm 9%	107 \pm 7%
PFHpA	-	102 \pm 10%	85 \pm 10%	107 \pm 8%
PFOA	-	94 \pm 17%	85 \pm 11%	106 \pm 7%
PFDA	115 \pm 11%	111 \pm 7%	89 \pm 13%	107 \pm 6%
PFHxS	-	88 \pm 13%	83 \pm 10%	104 \pm 6%
PFOS	-	89 \pm 16%	88 \pm 11%	107 \pm 6%
PFDS	-	94 \pm 29%	95 \pm 19%	114 \pm 10%

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 PFCs dans 500 mL de matrice (1/3 eau de l'Oise + 2/3 eau de source).

Nombre d'essais à la LQ : 2 répétitions/jour pendant 6 jours.

Substances	LQ validée
PFHxA	1 ng/L
PFHpA	2 ng/L
PFOA	2 ng/L
PFDA	1 ng/L
PFHxS	2 ng/L
PFOS	2 ng/L
PFDS	2 ng/L

Incertitudes (%) sur les résultats**- par molécule**

Méthode d'évaluation : NF ISO 11352 : 2012

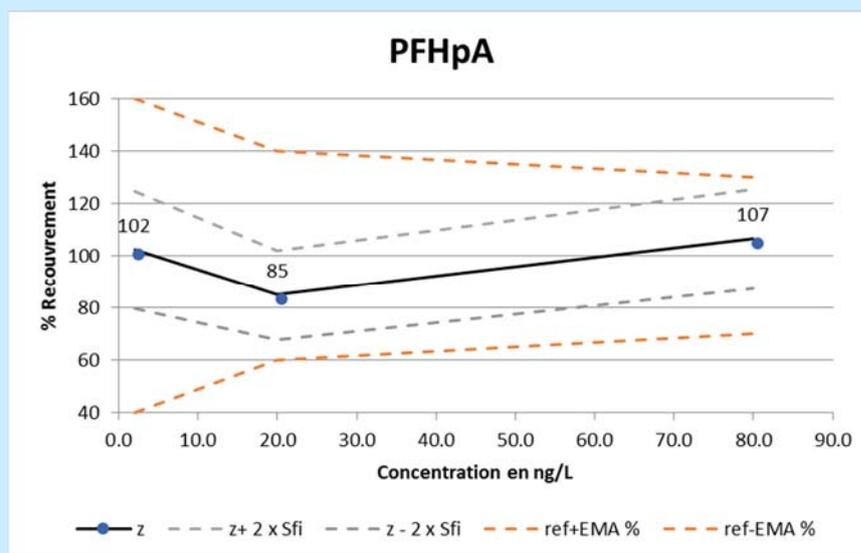
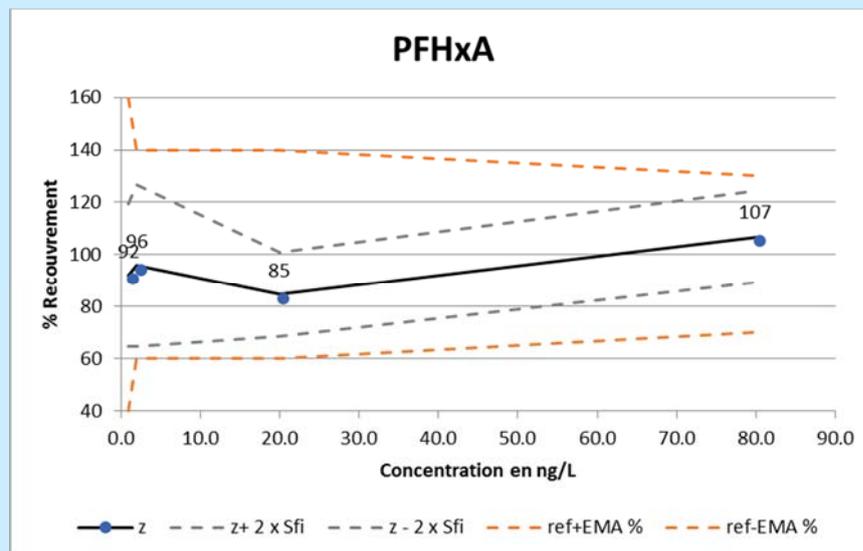
Facteur d'élargissement : k = 2

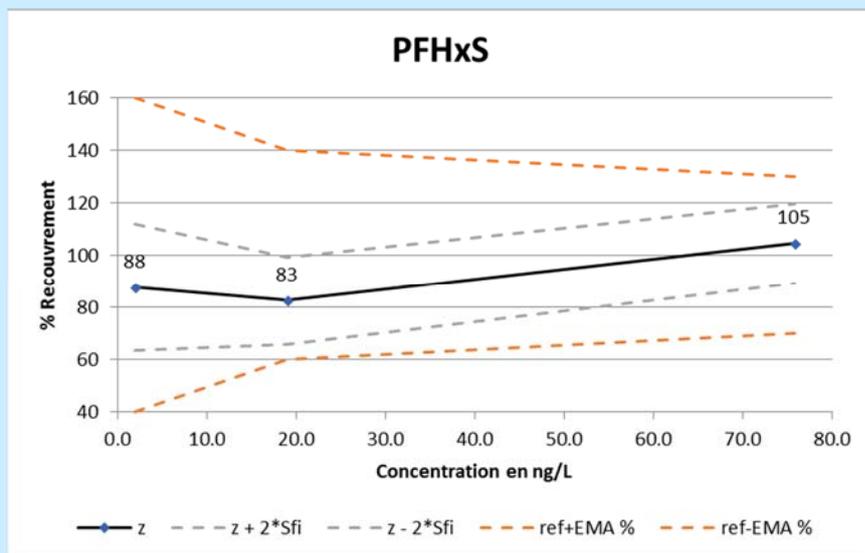
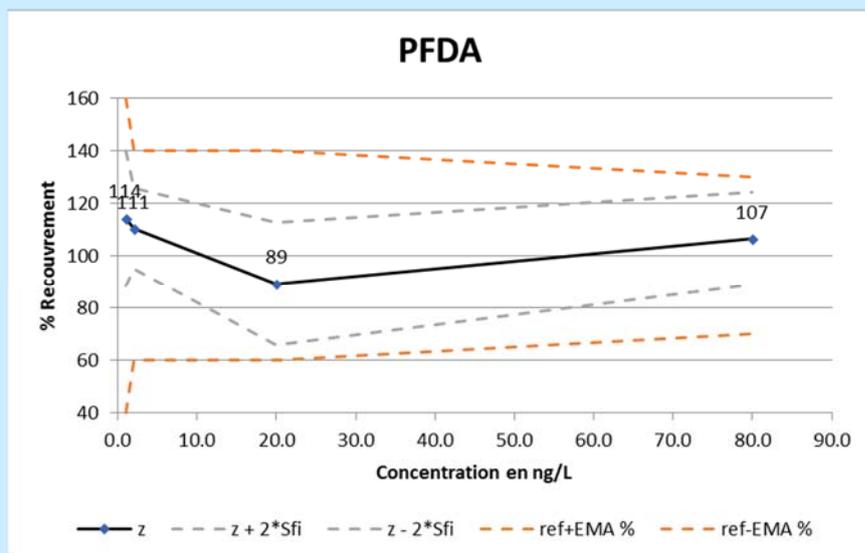
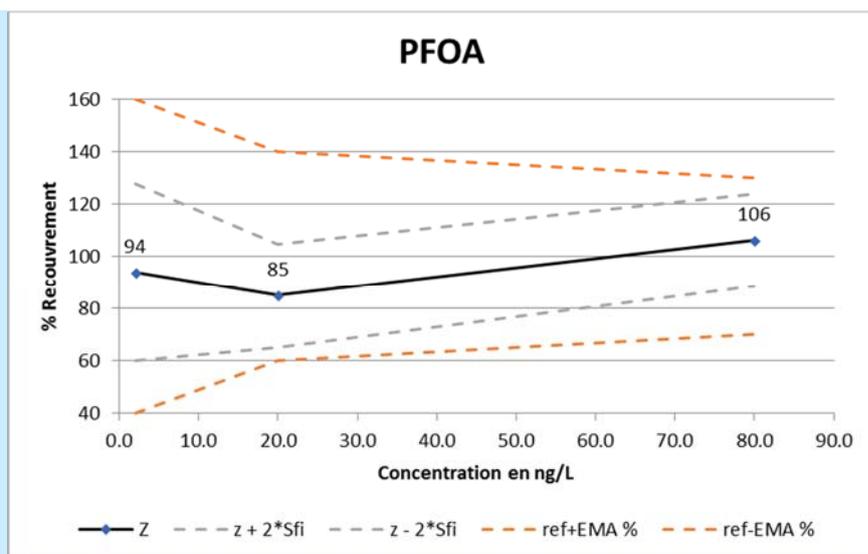
Matrice : 1/3 eau de l'Oise + 2/3 eau de source

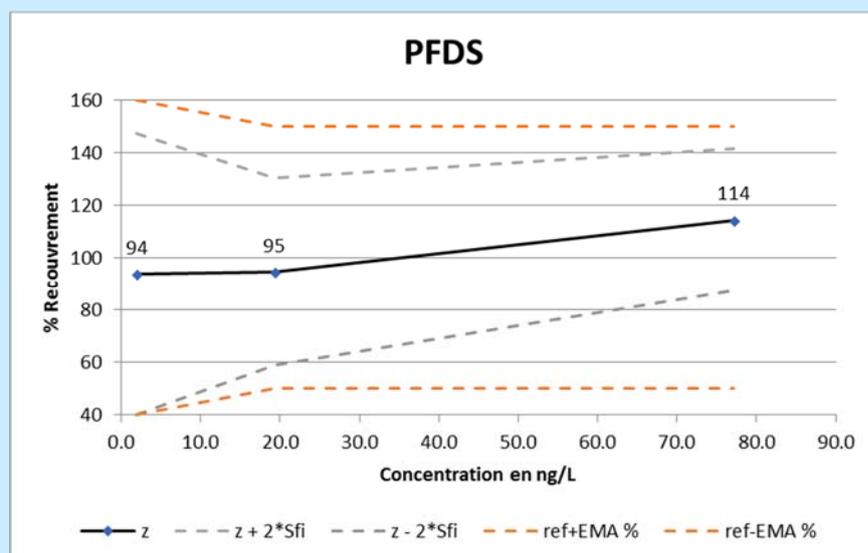
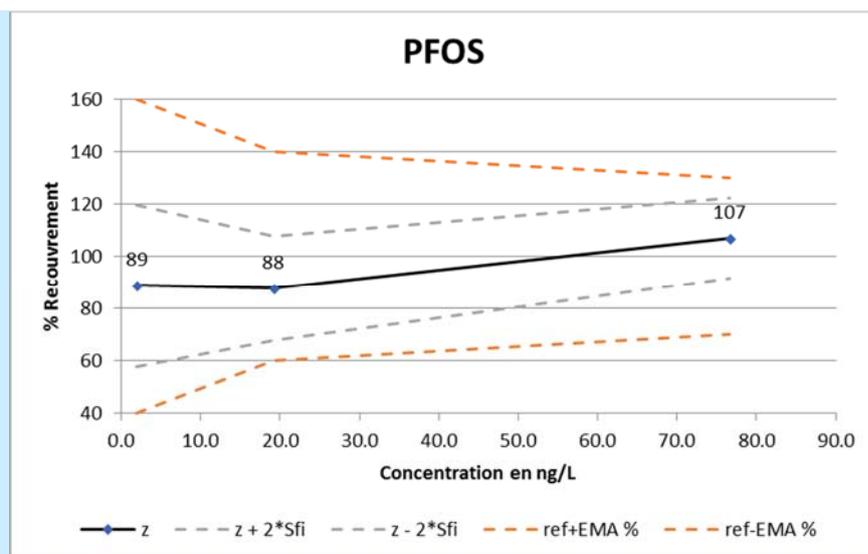
Valeur des niveaux : ng/L de dopant ajouté

Composés	Incertitude U élargie (k=2)			
	1 ng/L	2 ng/L	20 ng/L	80 ng/L
PFHxA	45%	45%	42%	29%
PFHpA	-	34%	43%	31%
PFOA	-	50%	45%	28%
PFDA	46%	31%	43%	29%
PFHxS	-	46%	46%	25%
PFOS	-	51%	41%	28%
PFDS	-	80%	54%	45%

En noir trait plein : recouvrement (justesse)
 En gris trait pointillé : Valeur haute et basse de fidélité intermédiaire
 En orange trait pointillé : Limite haute et basse d'acceptabilité







L'indisponibilité commerciale actuelle d'un étalon interne spécifique au PFDS entraîne une plus grande variabilité des résultats pour ce composé.

Le PFDS n'a donc pas pu être validé dans les mêmes conditions que les autres PFCs. (Critères d'exactitude : EMA=60% au niveau de la LQ, EMA=40% à 20 ng/L et EMA=30% à 80 ng/L)

L'élargissement des critères d'exactitude avec un écart maximal acceptable à 50% pour les concentrations supérieures à la LQ (20 ng/L et 80ng/L), permet de valider la méthode pour ce composé.

Contacts

Auteurs	Jérôme Beaumont ; Ahmad El-Masri ; François Lestremau
Institut	INERIS
Contact	jerome.beaumont@ineris.fr ; ahmad.el-masri@ineris.fr ; francois.lestremau@ineris.fr