

Développement d'une méthode d'analyse des alkylbenzène sulfonates linéaires (LAS) dans les eaux de surface brutes

**Jérôme Beaumont, Ahmad El Masri, François Lestremau,
Azziz Assoumani**

Septembre 2021

Rapport final

Avec le soutien de

Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme scientifique et technique AQUAREF pour l'année 2020, au titre de l'action « D : Améliorer les opérations d'analyses physico-chimiques ».

Auteur (s) :

Jérôme Beaumont
jerome.beaumont@ineris.fr

Ahmad El Masri
ahmad.el-masri@ineris.fr

François Lestremau

Vérification du document :

Sophie Lardy-Fontan
LNE
sophie.lardy-fontan@lne.fr

Anne Togola
BRGM
a.togola@brgm.fr

Approbation : **Document approuvé le 10/01/2022 par BOUDET CELINE**

Les correspondants

OFB : Pierre-François STAUB
pierre-francois.staub@ofb.gouv.fr

Référence du document : Jérôme Beaumont, Ahmad El Masri, François Lestremau, Azziz Assoumani - Développement d'une méthode d'analyse des alkylbenzène sulfonates linéaires (LAS) dans les eaux de surface brutes - Rapport AQUAREF 2020 - 28 p.

Droits d'usage :	<i>Accès libre</i>
Couverture géographique :	<i>International</i>
Niveau géographique :	<i>National</i>
Niveau de lecture :	<i>Professionnels, experts</i>
Nature de la ressource :	<i>Document</i>

1. CONTEXTE	7
2. LES ALKYL BENZÈNE SULFONATES LINÉAIRES (LAS)	8
2.1 Définition	8
2.2 Nomenclature	8
3. MATÉRIELS & METHODES	9
4. DÉVELOPPEMENT DE MÉTHODE	12
4.1 Contamination du système analytique	12
4.2 Comparaison de solutions Etalons	14
4.3 Evaluation de méthodes de préparation d'échantillon	17
5. CONCLUSION	23
6. ANNEXES	24

Liste des annexes :

Annexe 1. Certificat d'analyse obtenu pour le mélange de LAS utilisé dans cette étude
Annexe 2. Analyse des différents étalons utilisés lors de cette étude
Annexe 3. Essais sur l'extraction par l'eau et le méthanol de différents filtres (n = 3)

Développement d'une méthode d'analyse des alkylbenzène sulfonates linéaires (LAS) dans les eaux de surface brutes

Jérôme Beaumont, Ahmad El Masri, François Lestremou, Azziz Assoumani

RÉSUMÉ

Les alkylbenzène sulfonates linéaires (LAS) sont des surfactants anioniques utilisés dans de nombreuses applications telles que les produits de soins personnels (shampoings, savon, dentifrice...) et les produits ménagers (liquide vaisselle, produits nettoyants...).

Lors de la campagne « Emergents Nationaux » de 2018, consacrée à la recherche de polluants d'intérêt émergent dans les milieux aquatiques français, ils ont été classés comme substances fortement critiques dans les eaux et les sédiments. Au moment de la rédaction de ce document, ces substances sont ainsi fortement recommandées pour être intégrées dans la liste des Substances Pertinentes à Surveiller (SPAS).

Leur mesure dans les milieux aquatiques est cependant complexe. En effet, ils se présentent sous la forme de mélanges de congénères avec des longueurs de chaînes alkyles variées. De plus, étant des substances ubiquistes, de nombreux problèmes de contamination peuvent survenir lors du processus analytique. Enfin, la méthode mise en œuvre lors de l'étude Emergents Nationaux était pour l'analyse de la fraction dissoute des eaux alors que, pour les substances organiques, la surveillance réglementaire est exigée sur l'eau brute (avec matières en suspension).

Cette étude visait donc à développer une méthode pour la mesure des LAS dans des eaux de surface brutes.

Une optimisation de la méthode d'analyse, au niveau de l'étape de chromatographie, en utilisant une colonne de « décalage », a permis de séparer les LAS provenant de la contamination du système des LAS provenant des échantillons.

L'analyse des étalons analytiques a fait apparaître de nombreuses difficultés et ambiguïtés potentielles sur la nature des étalons et leur nomenclature.

Un protocole a été développé pour la mesure des LAS dans l'eau brute, via une séparation des phases particulaire et aqueuse. Cette méthode présente un niveau de contamination des blancs aux alentours de 100 ng/L pour les LAS les plus fréquents (LAS C11 et LAS C12). Différents essais ont été effectués sur les eaux, solvants ou filtres utilisés mais n'ont pas permis de déterminer précisément les origines des contaminations observées lors la mise en œuvre de cette méthode.

Avec l'étalon interne utilisé, les performances obtenues en matière de rendement relatifs, après soustraction des concentrations mesurées dans les blancs, décroissent progressivement selon la longueur de la chaîne alkyle, de 80 % pour le LAS C10 à 20 % pour le LAS C14. Les pertes pour les composés les plus lourds sont supposées provenir particulièrement de l'étape de filtration.

Des travaux ultérieurs vont être mis en œuvre afin d'améliorer et valider la méthode et déterminer spécifiquement les limites de quantification atteignables avec cette méthode.

Mots clés :

Eaux de surface, alkylbenzène sulfonates linéaires (LAS), LC-MSMS, eau brute

Development of a method for the analysis of linear alkylbenzene sulfonates (LAS) in whole surface water

Jérôme Beaumont, Ahmad El Masri, François Lestremou, Azziz Assoumani

ABSTRACT

Linear Alkylbenzene Sulfonates (LAS) are anionic surfactants used in many applications such as personal care products (shampoos, soap, toothpaste, etc.) and household products (dishwashing liquid, cleaning products, etc.).

During the "Emergents Nationaux" study devoted to monitoring pollutants of emerging concern in French aquatic environments, they were classified as highly critical substances in water and sediment compartments. At the time of writing, these substances are therefore strong candidates for inclusion in the list of Relevant Substances to Monitor (SPAS).

However, their measurement in aquatic environments is complex. Indeed, being ubiquitous substances, many contamination problems can arise during the analytical process. Additionally, it consists as a mixture of congeners with varying alkyl chain lengths. Finally, the method used in the Emergents Nationaux study was for measurement in the dissolved fraction of the water, while regulatory requirement is generally on whole water.

This study therefore aimed to develop a method for measuring LAS in whole surface water.

Optimization of the instrumental analysis method, using a "shift" column, separated LAS in the samples from those present in the analytical system.

The analysis of analytical standards revealed many difficulties and potential ambiguities regarding the nature of the standards and their nomenclature.

A protocol has been developed for the measurement of LAS in whole water. This method presents a contamination level of around 100 ng/L for the most frequent LAS (LAS C11 and LAS C12). Various tests were carried out on the water, solvents or filters used, but they did not allow to precisely determine the origins of the contamination observed during the implementation of this method.

With the internal standard used, the performances obtained in terms of relative yield, after subtraction of the concentrations determined in the blanks, decreased according to the length of the alkyl chain, from 80 % for LAS C10 to 20 % for LAS C14. The losses for the heavier compounds are supposed to come particularly from the filtration step.

Subsequent work will be implemented in order to improve and validate the method and specifically determine the quantification limits that can be reached with this method.

Key words:

Surface waters, linear alkylbenzene sulfonates (LAS), LC-MSMS, whole water

1. CONTEXTE

L'étude Emergents Nationaux consacrée à l'évaluation de la présence de substances d'intérêt émergent dans certains milieux aquatiques français s'est déroulée de 2018 à 2020. Elle avait pour but d'améliorer les connaissances sur la présence de 2 familles de polluants dans les eaux de surface et les eaux de rejets : les biocides et les surfactants. Les résultats obtenus pour l'analyse des surfactants ont indiqué leur présence fréquente et à des seuils supérieurs aux PNEC (Predicted Non Effect Concentration), particulièrement pour les alkylbenzène sulfonates linéaires ou LAS (venant du terme anglais Linear Alkylbenzene Sulfonates).

Les LAS sont des surfactants anioniques utilisés dans de nombreux produits tels que les produits de soins personnels (shampoings, savons, dentifrices...) et les produits ménagers (liquides vaisselle, produits nettoyeurs...).

Dans l'étude Emergents Nationaux, ils ont été classés comme substances fortement critiques dans les compartiments eaux et sédiments car leur fréquence de dépassement de la PNEC était supérieure à 35 % et/ou le degré de dépassement de la PNEC était supérieur à 100¹. Au moment de la rédaction de ce document, ces substances sont ainsi candidates pour être intégrées dans la liste des Substances Pertinentes à Surveiller (SPAS).

L'analyse des LAS présente cependant de nombreuses difficultés, similaires sur de nombreux aspects à celles rencontrées pour l'analyse des alkylphénols. Les LAS sont des mélanges d'isomères, ce qui entraîne des problématiques sur leur définition/nomenclature, sur les étalons analytiques et leur mesure en général. De plus, étant des composés ubiquistes présents sur le terrain mais également dans l'environnement des laboratoires, un des principaux enjeux pour garantir la fiabilité des mesures produites est la maîtrise de la contamination depuis l'échantillonnage jusqu'à l'analyse finale. Enfin, la méthode mise en œuvre par le laboratoire de recherche lors de l'étude Emergents Nationaux, l'Institut des Sciences Analytiques (ISA), était appliquée à l'analyse de la fraction dissoute des eaux² alors que, pour les substances organiques, la surveillance régulière est requise sur l'eau brute (eaux avec matières en suspension). Par ailleurs, ce laboratoire ayant développé une expertise dans le domaine de l'analyse de traces de détergents, des protocoles spécifiques ont été mis en place, potentiellement difficiles à reproduire dans un contexte de surveillance de routine.

Ainsi, afin d'être prêt à émettre des recommandations (vis-à-vis par exemple des LQ, et du délai de mise en œuvre) en vue de la probable inclusion des LAS sur la liste des SPAS, cette action a consisté à effectuer une adaptation de la méthode utilisée dans le cadre d'Emergents Nationaux pour la rendre compatible avec l'analyse de l'eau brute. Les performances et en particulier les effets de contamination obtenus avec la méthodologie utilisée sont décrits dans ce document.

Des travaux ultérieurs seront mis en œuvre pour clarifier les aspects de nomenclature des étalons analytiques et sur la contamination lors du prélèvement. Ces travaux n'abordent que l'aspect développement, la validation de cette méthode fera également l'objet de travaux spécifiques ultérieurs.

¹ Assoumani A. ; Lestremau F. ; Salomon M. ; Ferret C. ; Lepot B ; Campagne Emergents Nationaux 2018 (EMNAT 2018) - Résultats de la recherche de contaminants émergents dans les eaux de surface et les rejets de STEU – Rapport INERIS ; 2020 ; Ineris - 172894 - 2169068 - v2.0

² Wiest, L ; Giroud, B ; Assoumani, A ; Lestremau, F ; Vulliet, E ; A multi-family offline SPE LC-MS/MS analytical method for anionic, cationic and non-ionic surfactants quantification in surface water, TALANTA, 2021, 122441

2. LES ALKYL BENZÈNE SULFONATES LINÉAIRES (LAS)

2.1 DÉFINITION

Les alkylbenzène sulfonates linéaires sont constitués d'un cycle aromatique avec un groupement sulfonate en position para et attaché à une chaîne alkyle linéaire en n'importe quelle position à l'exception des carbones terminaux. La chaîne carbonée alkyle (majoritairement linéaire, de 87 à 98 %³) possède typiquement de 10 à 14 atomes de carbone. Un rapport de l'OCDE³ précise « alors que le LAS commercial se compose de plus de 20 congénères, le rapport des divers homologues et isomères, représentant différentes longueurs de chaîne alkyle et positions du cycle aromatique le long de la chaîne alkyle linéaire, est relativement constant dans les produits actuellement fabriqués, avec le nombre de carbones moyen pondéré de la chaîne alkyle basé sur le volume de production par région entre 11,7-11,8 ».

Selon ce rapport, pour des mélanges utilisés en Europe, la part de C10 est généralement comprise entre 8 et 20 %, de C11 entre 19 et 39 %, de C12 entre 20 et 50 %, de C13 entre 5 et 23 % et de C14 entre <1 et 3 %.

La Figure 1 présente la formule semi-développée des LAS. Il doit être précisé que cette représentation inclut un sulfonate associé à un groupement sodique. Dans les milieux aquatiques, la forme sodique est dissociée pour obtenir un groupement sulfonate ionisé.

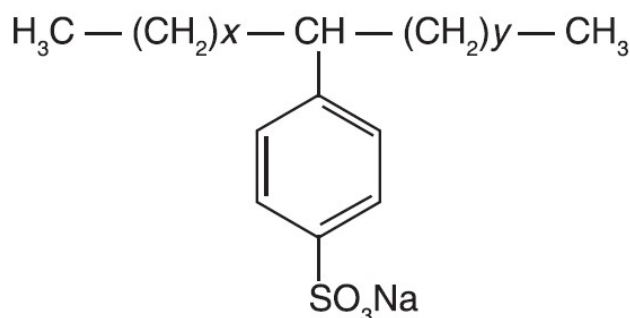


Figure 1. Représentation d'un LAS sous forme de sel de sodium avec, en considérant des chaînes alkyles de C10 à C14, x et y compris entre 0 et 11

Il peut être également souligné qu'il existe des mélanges avec une chaîne alkyle comportant des ramifications (« branched ») mais que ces formes sont appelées BAS (Branched Alkyl Sulfonates). Ces mélanges sont parfois appelés LAS par erreur. Dans le commerce, on retrouve également les appellations « hard type », qui correspond aux BAS, et « soft type », qui correspond aux LAS.

2.2 NOMENCLATURE

Comme indiqué dans la partie 2.1, les principaux LAS considérés comprennent entre 10 et 14 atomes de carbone sur la chaîne alkyle et sont donc référencés sous les noms : LAS C10, LAS C11, LAS C12, LAS C13 et LAS C14. Ces formes de LAS ont été référencées dans la base sandre selon les informations du Tableau 1:

³ Rapport OECD SIDS : LINEAR ALKYL BENZENE SULFONATE (LAS), 2005

Tableau 1. Liste des LAS considérés lors de cette étude et codes sandre associés

Abréviation	Code sandre
LAS C10	8316
LAS C11	8317
LAS C12	8318
LAS C13	8319
LAS C14	8320
LAS C10-C14	8321

Le Tableau 1 présente les LAS considérés dans cette étude et leurs codes sandre. Il est à noter que les noms des LAS affichés sur les fiches sandre font référence aux formes acides des LAS. Il conviendrait de modifier les noms et définition des LAS sur ces fiches. En plus des composés individuels, un code sandre (8321) a également été créé pour le rapportage des données correspondant à la somme (paramètre calculé) des LAS C10 à LAS C14.

3. MATÉRIELS & METHODES

Les travaux présentés dans ce rapport sont basés d'une part sur la méthode d'analyse des LAS développée par l'ISA² pour la campagne Emergents Nationaux, qui visait à mesurer les LAS dans la phase dissoute des échantillons (prise d'essai de 250 mL), au moyen d'un étalonnage en gamme extraite et d'étalons sous forme de mélanges de LAS sous forme acide. D'autre part, certains aspects méthodologiques de la méthode d'analyse des composés perfluorés⁴ dans les eaux brutes ont été mis en œuvre pour le développement de la méthode d'analyse des LAS.

Solutions étalons

De nombreux mélanges de LAS ou de substances proches des LAS sont disponibles commercialement sous diverses appellations assez semblables, ce qui peut contribuer à créer une confusion assez importante.

Dans le cadre de cette étude, quelques mélanges ont été étudiés dans le but de les caractériser en vue de leur utilisation pour la quantification. Mais la problématique des étalons est à approfondir et sera traitée dans une étude spécifique ultérieure.

Les diverses solutions utilisées dans le cadre de cette étude ont permis de mettre en évidence les différences qui existent entre les étalons disponibles (Tableau 2).

⁴ Fiche méthode AQUAREF MA-74 : Composés Perfluorés PFCs

Tableau 2. Solutions étalons utilisées lors de cette étude

Nom	Abréviation	CAS fourni par le fournisseur	Fournisseur	Référence
Sodium dodecylbenzenesulfonate, mixture of branched C10-C14	BAS-10-14 Hard	25155-30-0	HPC Standards	675034
Sodium dodecylbenzenesulfonate, mix of linear C10-C14	LAS 10-14 soft	69669-44-9	HPC Standards	675032
Sodium p-n-decylbenzenesulfonate*	C10	2627-06-7	HPC Standards	675092
Sodium p-n-undecylbenzenesulfonate*	C11	20466-34-6	HPC Standards	675091
Sodium p-n-dodecylbenzenesulfonate*	C12	2211-98-5	HPC Standards	675095
Sodium p-n-tridecylbenzenesulfonate*	C13	14356-40-2	HPC Standards	675093
Sodium p-n-tetradecylbenzenesulfonate*	C14	1797-33-7	HPC Standards	675094
<i>Etalons internes potentiels testés</i>				
Sodium p-n-octylbenzenesulfonate	C8	6149-03-7	HPC Standards	675028
Sodium Dodecyl-d25 Sulfate	SDS-d25	110863-24-6	SIGMA-ALDRICH	451851

Les substances avec un astérisque (*) ne sont pas des LAS à proprement parler car le groupe benzènesulfonate est situé à une extrémité de la chaîne alkyle linéaire (cf. p. 14).

Les solutions mères des composés présentés dans le Tableau 2 ont été préparées à une concentration de 10 µg/mL à partir de solutions ou de poudres, par dilution ou dissolution dans un mélange Eau / Méthanol 80:20 (v/v).

Matrices utilisées

Pour les essais effectués dans le cadre de cette étude, plusieurs matrices ont été utilisées :

- Eau Milli-Q™ et eau d'Evian® pour les essais préliminaires de développement de méthode
- Eau de l'Oise pour le test avec une matrice représentative (concentration des matières en suspension (MES) = 21,9 mg/L, pH = 7,8, Conductivité = 598 µS/cm)

Pour l'ensemble des essais, des prises d'essai de 200 mL ont été utilisées.

Extraction

Pour l'extraction sur phase solide (SPE), un automate AutoTrace™ 280 (ThermoFisher), équipé de 6 lignes, a été utilisé.

Des cartouches SPE de type Cunax2™, 3 mL, 200 mg (United Chemical Technologies©) et Oasis™ WAX, 6 mL, 150 mg (Waters©) ont été employées pour les extractions.

Des filtres en fibre de verre de type GF/F (Whatman®), GF/C (Whatman®) et A/E (Pall Life Sciences®) ont été utilisés lors de cette étude. Tous les filtres ont été calcinés à 450 °C pendant 8 heures avant utilisation.

Des solvants (Eau et Méthanol) de la marque Biosolve® (de qualité LC-MS de pureté > 99,9 %) ont été employés pour l'extraction des composés et l'analyse chromatographique.

Analyse chromatographique et spectrométrie

La méthode utilisée s'est inspirée de celle mise au point par l'ISA. Ce laboratoire avait développé une méthode multi-résidus pour de nombreux détergents alors que cette étude s'est focalisée sur la mesure des LAS. Ainsi, la partie chromatographie a été adaptée notamment dans cette optique.

Equipement : Chromatographe à phase liquide couplé à un spectromètre de masse en tandem (LC-MSMS) de type triple quadripôle : Système XEVO® TQ-XS (Waters®)

Chromatographie :

Une colonne de « décalage » (Kinetex™ C18 EVO 100 x 2,1 mm 5 µm (Phenomenex®) est positionnée entre la sortie du mixer de la pompe binaire et l'entrée du système d'injection et est utilisée pour séparer les LAS provenant des tubulures de la pompe en amont de la colonne de ceux provenant des échantillons (voir partie 4.1).

Colonne analytique : C8 Gravity 50 x 2,1 mm, 1,8 µm (Macherey Nagel®) (cette colonne, qui offre une rétention réduite, a été utilisée dans le but d'obtenir l'élution des différents isomères des LAS de chaque longueur de chaîne sous la forme d'un pic unique)

Température de colonne : 30°C ; Volume d'injection : 5 µL ; Débit de phase mobile : 0,3 mL/min

Solvants : Voie A = Eau (qualité LC-MS) + 2 mM d'acétate d'ammonium + 0,1 % d'acide acétique et Voie B = Méthanol

Tableau 3. Gradient binaire d'élution mise en œuvre pour l'étude

Temps (min)	%A	%B
0	80	20
1	10	90
8	10	90
8,5	80	20
15	80	20

Spectrométrie de masse :

- Mode d'ionisation : ESI négatif
- Tension du capillaire : 2,5 kV
- Température de la source : 120 °C
- Température du gaz de désolvatation (N₂) : 400 °C
- Débit du gaz de désolvatation (N₂) : 1000 L/h
- Débit du gaz cône : 150 L/h
- Mode d'acquisition : MRM
- Débit du gaz de collision (Argon) : 0,15 mL/min

Tableau 4. Paramètres MS spécifiques aux composés analysés

Composé	Temps de rétention (min)	Transition Ion Précurseur > ion fils (m/z)	Tension de cône (V)	Energie de collision (eV)
LAS C10	3,83	297,0>182,9 ^a	74	38
		297,0>118,9 ^b	74	52
		297,0>169,9 ^b	74	32
LAS C11	3,93	311,0>182,9 ^a	74	40
		311,0>118,9 ^b	74	54
		311,0>169,9 ^b	74	32
LAS C12	4,05	324,9>182,9 ^a	52	36
		324,9>118,9 ^b	52	52
		324,9>169,9 ^b	52	36
LAS C13	4,18	339,1>182,9 ^a	78	42
		339,1>118,9 ^b	78	56
		339,1>169,9 ^b	78	36
LAS C14	4,33	353,2>182,9 ^a	88	42
		353,2>118,9 ^b	88	52
		353,2>169,9 ^b	88	38
p-n-octylbenzenesulfonate	3,65	269,0>182,9 ^a	74	34
		269,0>118,9 ^b	74	50
		269,0>169,9 ^b	74	30
SDS-d25	3,78	290,2>97,8 ^a	70	30
		290,2>79,9 ^b	70	52

^a Transition de quantification

^b Transition de qualification

4. DÉVELOPPEMENT DE MÉTHODE

4.1 CONTAMINATION DU SYSTÈME ANALYTIQUE

Les premiers essais effectués avec l'injection d'eau Milli-Q™ dans le système LC-MSMS ont montré une contamination du système analytique provenant probablement des phases mobiles utilisées.

Ainsi, pour reproduire une pratique déjà utilisée pour l'analyse des composés perfluorés⁴, une colonne chromatographique a été ajoutée entre la sortie du mixer de la pompe binaire LC et l'entrée du système d'injection. Le but est de décaler la contamination provenant du système d'analyse en retardant son élution par rapport à l'élution des composés provenant des échantillons.

Dans cette optique, 2 colonnes, de types différents, ont été testées :

- Colonne « isolator » fournie dans le « kit PFC » 50 x 2,1 mm (Waters®)
- Colonne Kinetex™ C18 EVO 100 x 2,1 mm 5 µm (Phenomenex®)

La Figure 2 montre la séparation obtenue avec et sans l'utilisation de ces 2 colonnes. La même colonne chromatographique C8 a été utilisée lors des tests des deux colonnes de décalage. Des p-n-alkylbenzène sulfonates (C8 à C14, voir Tableau 2) ont été utilisés pour ces tests.

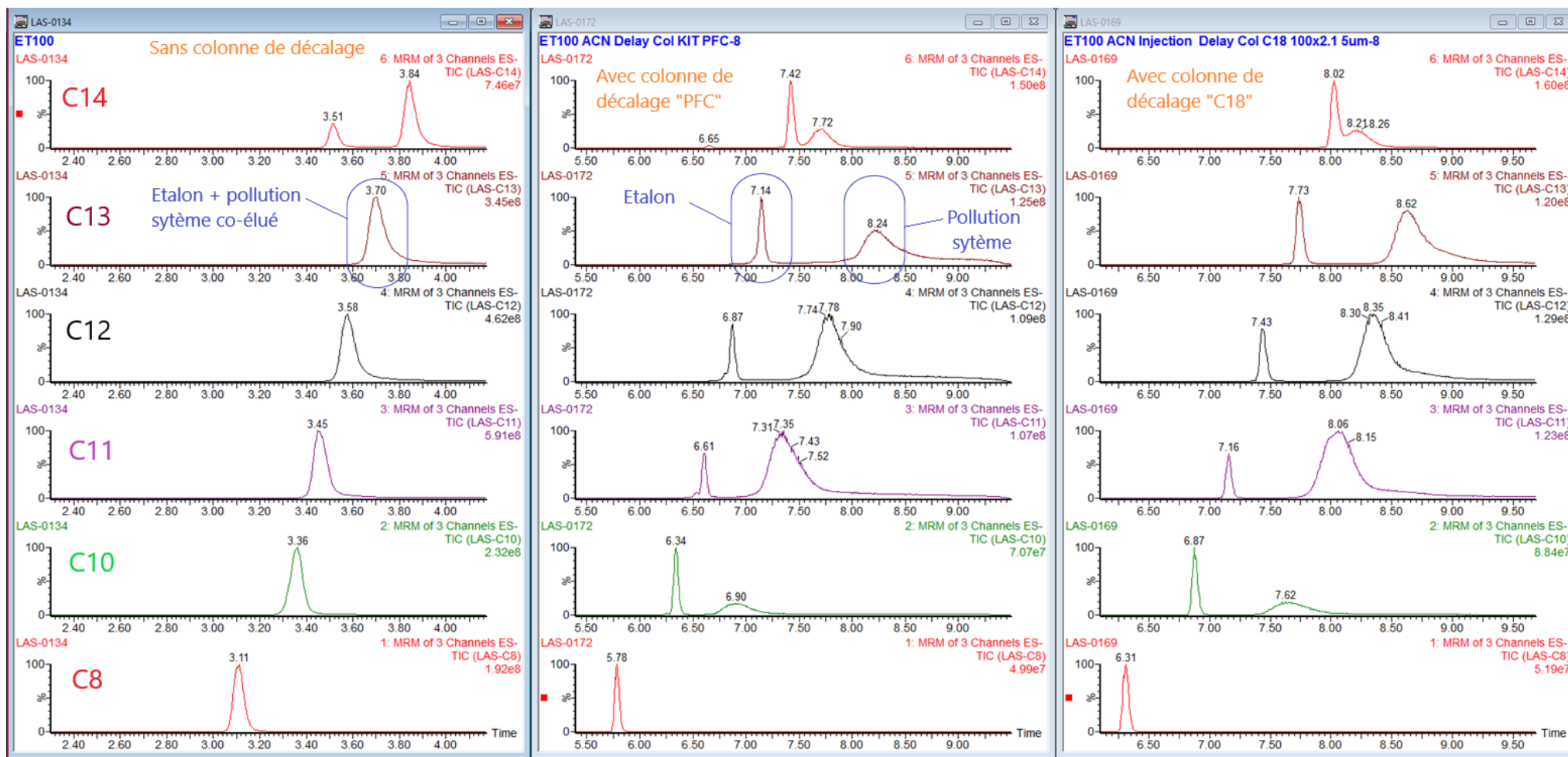


Figure 2. Analyse des composés C8 à C14 sans (à gauche) et avec une colonne de décalage « kit PFC » (au centre) et C18 (à droite)

Avec les deux colonnes de décalage, une bonne séparation est obtenue entre les composés d'intérêt et la contamination système, qui se présente sous la forme d'un pic élargi éluant dans la plupart des cas entre 30 secondes et 1 min après le pic provenant de l'échantillon. Chacune de ces colonnes pourrait donc être utilisée, au choix du laboratoire.

Pour la suite des travaux, la colonne C18 a été choisie. La colonne « kit PFC » fait partie d'un kit spécifique comportant également des tubulures pour empêcher la contamination en composés perfluorés, qui n'auraient pas été utiles pour ce développement de méthode d'analyse des LAS. Le gradient a ensuite été optimisé afin d'obtenir une meilleure élution des LAS notamment par rapport à la contamination système.

4.2 COMPARAISON DE SOLUTIONS ETALONS

Dans le cadre de cette étude, quelques mélanges ont été étudiés dans le but de les caractériser en vue de leur utilisation pour la quantification.

Différents types d'étalons commerciaux ont ainsi été analysés dans les conditions analytiques retenues (colonne de décalage C18 100 x 2,1 mm 5 µm + colonne analytique C8 50 x 2,1 mm 1,8 µm) :

- Etalons individuels alkyles linéaires en position para de C10 à C14 à 100 ng/mL : ces étalons ne sont pas des LAS à proprement parler car le groupe benzènesulfonate est situé à une extrémité de la chaîne alkyle (Figure 3). Ils ont été injectés afin d'évaluer leur temps d'élution par rapport au mélange des LAS.

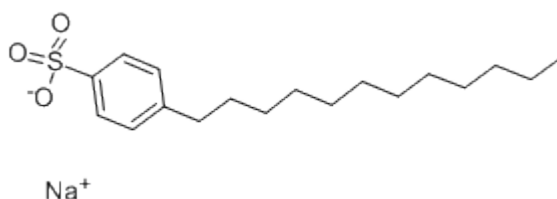


Figure 3. Sodium p-n-dodécylbenzènesulfonate (C12)

- Etalon mélange technique de BAS C10 à C14 Hard Type à 500 ng/mL : cette solution étalon contient la forme ramifiée des alkylbenzène sulfonates (Figure 4). Ainsi, bien qu'ayant la même formule moléculaire et étant proche de la structure des LAS, ils n'en sont pas et sont appelés BAS (Branched Alkylbenzene Sulfonates). Ils ont été injectés afin d'évaluer leur temps de rétention et leur élution par rapport aux LAS

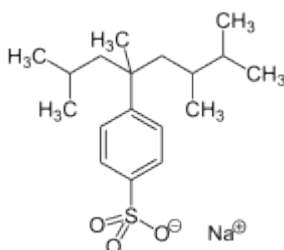


Figure 4. BAS C12

- Etalon mélange technique LAS C10 à C14 Soft Type à 500 ng/mL : pour différencier les LAS des BAS, ils peuvent être appelés par les fabricants « soft type » (Figure 5). La composition exacte et la répartition entre les différents homologues C10 à C14 de ce mélange ne sont cependant pas fournies par le certificat d'analyse (présenté en Annexe 1).

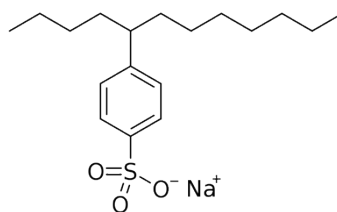


Figure 5. LAS C12

Elution chromatographique

L'analyse par LC-MSMS obtenue pour les étalons utilisés pour chaque homologue de C10 à C14 montre une différence au niveau des temps de rétention et de la séparation des isomères (Figure 6 pour l'homologue C12 et Annexe 2 pour les autres homologues C10, C11, C13 et C14).

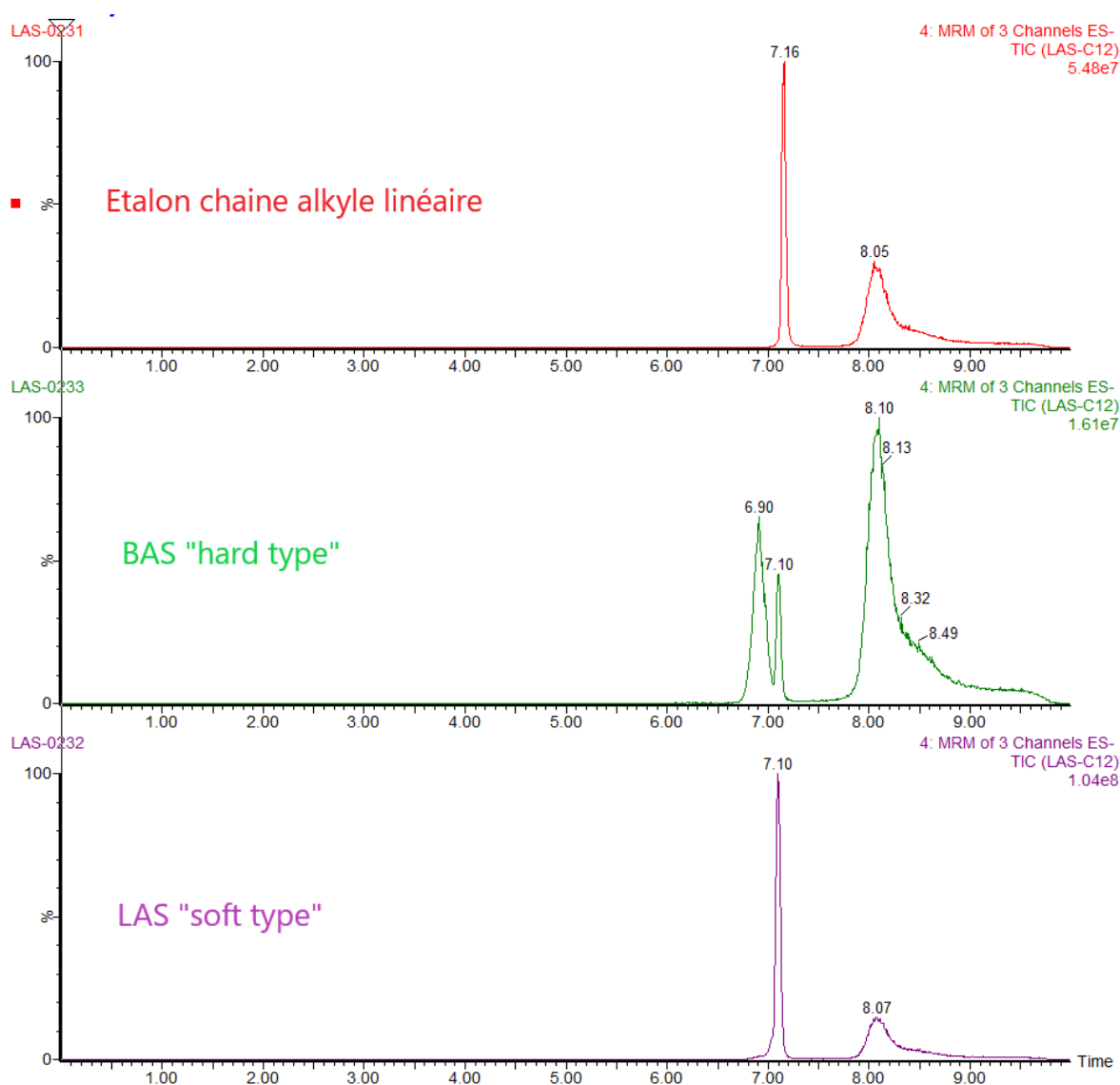


Figure 6. Analyse des différents étalons utilisés lors de cette étude pour l'homologue C12

Dans les conditions chromatographiques utilisées, tous les homologues LAS présentent une élution sous un pic sensiblement unique et bien séparé de la contamination provenant du système analytique (temps de rétention à 8,1 min). Les étalons correspondant à une forme alkyle strictement linéaire éluent sous la forme d'un pic unique avec un temps de

rétenion (7,16 min) légèrement supérieur par rapport aux autres formes. Les substances analysées dans l'étalon de type BAS « hard type » présentent toutes 2 pics : un pic large qui pourrait correspondre à la partie ramifiée et un pic plus fin qui élue au même temps de rétenion que les LAS (et pourrait donc être des LAS).

Composition par homologues des mélanges BAS et LAS

Les solutions étudiées sont des mélanges d'homologues de C10 à C14 dont la proportion précise de chaque homologue n'est pas fournie par le fabricant.

Dans ces conditions et en l'absence d'étalon individuel, il convient ainsi pour le laboratoire utilisant ce type d'étalons de caractériser le mélange.

Pour la campagne Emergents Nationaux, l'ISA avait déterminé pour le mélange C10/C13 utilisé (AC325905000 / ACROS Organics) la proportion des différents homologues selon leurs facteurs de réponses obtenus relativement par spectrométrie de masse.

Cette démarche a également été adoptée dans la caractérisation des mélanges utilisés dans le cadre de cette étude et les pourcentages déterminés sont présentés dans le Tableau 5.

Tableau 5. Pourcentage des différents homologues LAS déterminés selon leur facteur de réponse par LC-MSMS pour différents mélanges considérés

Substance	Mélange « Emergents Nationaux » (extrait de Wiest et al. 2021 ²)	LAS « soft type »	BAS « hard type »
LAS C10	4 %	6 %	11 %
LAS C11	38 %	24 %	20 %
LAS C12	34 %	34 %	57 %
LAS C13	24 %	35 %	10 %
LAS C14	/	1 %	2 %

Ainsi, pour le mélange des LAS « soft type », les résultats ont montré qu'il contenait en majorité des LAS C11, LAS C12 et LAS C13. Dans la suite de l'étude, ces proportions ont été utilisées pour le dopage des solutions et le calcul des concentrations. Ainsi, lorsqu'il est indiqué que les solutions ont été dopées à 1000 ng/L, il est pris comme référence/base le LAS C12 (proche de 1000 ng/L en réalité à 931 ng/L). Le dopage en LAS C10, C11, C12, C13 et C14 était donc respectivement de 154, 645, 931, 959 et 19 ng/L. Les gammes d'étalonnage ont également été construites sur cette base et ces proportions.

Le Tableau 5 montre que les proportions de chaque composé dans les trois mélanges sont différentes. Dans le cadre d'analyses de routine, il conviendrait donc de déterminer les proportions du mélange employé comme étalon. Le mélange utilisé par l'ISA contenait les LAS C10 à C13 sous forme acide, tandis que celui utilisé dans cette étude contenait les LAS C10 à C14 sous forme de sels de sodium. Cependant, les acides et les sels mis en solution forment les mêmes anions.

Etalons internes

Au moment de la réalisation de cette étude, aucun étalon analytique marqué n'a pu être trouvé pour les LAS. Pour l'étude Emergents Nationaux, en l'absence d'étalon interne, un étalonnage en matrice (en utilisant de l'eau de source embouteillée) avait été mis en œuvre. Ce procédé est cependant lourd à mettre en œuvre dans un contexte d'analyse de routine. C'est pourquoi il n'a pas été privilégié lors de cette étude, et l'utilisation d'un

étalon interne a été préférée. En l'absence d'étalon marqué, nous avons choisi d'utiliser les étalons les plus proches des composés cibles. Ainsi, pour cette étude, l'utilisation du p-n-octylbenzènesulfonate en tant qu'étalon interne a été évaluée. Cependant, il existe un risque de la présence de ces étalons dans l'environnement. C'est pourquoi nous avons ajouté un second étalon interne, cette fois-ci marqué, le SDS-d25.

4.3 EVALUATION DE MÉTHODES DE PRÉPARATION D'ÉCHANTILLON

Essais préliminaires sur cartouches SPE

La méthode de préparation d'échantillon développée par l'ISA était basée sur une extraction sur phase solide (SPE) utilisant une cartouche avec une phase HLB. La méthode développée visait cependant tout un ensemble de surfactants anioniques et cationiques et représentait donc le meilleur compromis dans cette optique. Le laboratoire, lors du développement de sa méthode, avait également testé 2 autres cartouches, les Strata-C18-E™ (Phenomenex®, Torrance, USA), et Cunax2™ (United Chemical Technologies®, Bristol, USA). Pour les LAS, de meilleurs résultats avaient été obtenus pour la cartouche Cunax2™ avec environ 100 % de rendements contre environ 80 % pour les cartouches HLB². Pour cette présente étude, comme seuls les LAS étaient visés, l'utilisation d'une cartouche avec un mode mixte comprenant une phase échangeuse d'anions, comme celle de la Cunax2, a été privilégiée.

Ainsi, des cartouches Cunax2™ et Oasis™ WAX (Waters) ont été évaluées pour les premiers essais d'extraction avec de l'eau d'Evian® et un dopage de 930 ng/L (sur la base du LAS C12). De meilleurs résultats ont été obtenus pour la cartouche Oasis™ WAX. Elle a donc été sélectionnée pour la suite des essais.

Essais avec la cartouche SPE WAX sur la fraction dissoute

Des essais ont été effectués avec les cartouches SPE Oasis™ WAX sur l'analyse de l'eau Milli-Q™ et de l'eau d'Evian®. Pour chaque eau testée, 3 extractions ont été effectuées sans dopage de LAS (blancs) et 3 extractions avec dopage à 930 ng/L (sur la base du LAS C12).

Concernant la contamination globale du protocole analytique, aucune différence significative n'a été constatée entre les 2 eaux utilisées (Tableau 6). Il peut donc être conclu que les eaux ne sont pas sources de contamination majeures et que les contaminations peuvent provenir d'autres sources (filtres, solvants ou systèmes analytiques automate SPE et LC-MSMS). Le test de méthanol de 2 sources différentes (Biosolve® et Honeywell™) par injection directe en LC-MSMS n'a pas montré de différence significative vis-à-vis des LAS mesurés.

Tableau 6. Concentrations de LAS mesurés en ng/L pour des extractions des blancs d'eau d'Evian® et d'eau Milli-Q™ et analyse LC-MSMS

	Concentration (ng/L)	
	Eau d'Evian (n = 3)	Eau Milli-Q (n = 2)*
LAS C10	29 ± 3	31 ± 5
LAS C11	123 ± 3	126 ± 12
LAS C12	103 ± 14	130 ± 12
LAS C13	84 ± 13	99 ± 4
LAS C14	4 ± 1	5 ± 1

*Trois blancs ont été testés, cependant un échantillon a été écarté pour ces essais car il présentait une contamination importante

Pour les échantillons dopés, les rendements d'extraction SPE ont été calculés pour chacune des eaux testées (après soustraction des concentrations dans les blancs) (Tableau 7). Les rendements ont été calculés en utilisant le p-n-octylbenzenesulfonate comme étalon interne. Son taux de récupération pour ces essais a été déterminé en moyenne à 79 % (calcul basé sur le ratio des surfaces). Ce composé proche des LAS présente la particularité d'avoir une chaîne linéaire en C8. Ainsi, les rendements relatifs calculés (c'est-à-dire, en prenant en compte l'étalon interne) sont généralement proches de 100 % pour les LAS avec des chaînes les plus courtes (LAS C10 et LAS C11). Le rendement calculé baisse ensuite selon la longueur de chaîne. Des résultats légèrement meilleurs ont cependant été constatés avec les tests effectués avec de l'eau d'Evian®. La soustraction des blancs a été faite pour la détermination des rendements, sans préjuger de la stratégie de prise en compte des contaminations à mettre en place dans le cadre d'une mise en œuvre de la méthode développée. Celle-ci sera évaluée lors de la validation.

Tableau 7. Rendements d'extraction (en %) des LAS mesurés pour l'eau d'Evian® et l'eau Milli-Q™ et analyse LC-MSMS (après soustraction des blancs)

	Rendement d'extraction (%)	
	Eau d'Evian (n = 3)	Eau Milli-Q (n = 2)*
LAS C10	86 ± 1	70 ± 4
LAS C11	80 ± 1	67 ± 2
LAS C12	73 ± 6	60 ± 1
LAS C13	67 ± 7	55 ± 1
LAS C14	59 ± 19	49 ± 2

*Trois échantillons dopés ont été testés, cependant un échantillon a été écarté pour ces essais car il présentait une contamination importante

Les rendements obtenus pour la cartouche SPE Oasis™ WAX étaient satisfaisants pour la phase dissoute.

Essais sur la contamination des filtres

L'ISA a développé l'analyse des LAS sur la fraction dissoute ; les échantillons d'eau de surface étaient filtrés avant d'être extraits et analysés. Les filtres ont été identifiés par l'ISA comme un des principaux contributeurs de la contamination des LAS, même lorsqu'ils avaient été calcinés². La méthode développée dans cette étude était destinée aux échantillons d'eau de surface brute, cependant avec une séparation des phases par filtration. L'impact possible de l'étape de filtration a donc été étudié.

Des essais ont été effectués avec 3 types de filtres en fibre de verre sans liant : GF/C (taille de pore 1,2 µm), GF/F (0,7 µm) de Whatman et A/E (1 µm) de Pall Life Sciences®, afin de déterminer si des différences pouvaient être constatées selon les filtres. Les filtres (en triplicat pour chacun des filtres), préalablement calcinés 8 h à 500 °C, ont ainsi été extraits 5 min par agitation vortex puis 10 min dans un bain à ultra-sons dans 5 mL d'eau ou dans 5 mL de méthanol. L'eau et le méthanol ont été testés afin d'établir si l'un des solvants pouvait extraire plus de LAS. L'eau et le méthanol ayant extrait les filtres, ainsi que de l'eau et du méthanol n'ayant pas été en contact avec les filtres, ont ensuite été analysés directement par LC-MSMS.

Globalement, les résultats des analyses ont montré que les 3 filtres testés n'apportaient aucune contamination en LAS, quel que soit le solvant utilisé. En effet, les niveaux de concentrations des LAS dans les extraits eau des filtres étaient similaires à ceux des blancs eau. Le même constat a été établi pour les tests réalisés avec le méthanol. Les filtres ne semblaient donc pas être une source de contamination de LAS selon le protocole analytique employé. Les contaminations en LAS observées semblaient plutôt

provenir majoritairement des matériels analytiques, mais également du méthanol. En effet, des réponses LC-MSMS plus importantes d'un facteur $\sim 2,5$ (correspondant pour les LAS C11, LAS C12 et LAS C13 à des concentrations comprises entre ~ 2 à ~ 5 ng/mL) ont été constatées pour les tests réalisés avec le méthanol (analyses des extraits de filtres et du solvant) par rapport à ceux dans l'eau (Annexe 3).

Le filtre de type GF/F, couramment utilisé pour la filtration des eaux car équivalent à un seuil de coupure de $0,7 \mu\text{m}$, a donc été sélectionné pour la suite des essais.

Essais avec la cartouche SPE Oasis™ WAX avec étape de filtration de l'eau brute

Un protocole a été mis en œuvre afin d'analyser les LAS dans l'eau brute. Il est présenté en détail dans la Figure 7. Ce protocole est inspiré de celui décrit dans la fiche méthode MA-74 pour des composés avec des problématiques assez semblables (composés ubiquistes, hydrophiles et hydrophobes notamment) : les composés perfluorés⁴.

Les essais ont été effectués sur deux matrices : une matrice simple sans MES (Eau d'Evian®) et une matrice plus complexe avec MES (Eau de l'Oise ; [MES] = 21,9 mg/L). Les tests ont été réalisés avec des prises d'essais de 200 mL pour les deux types d'eau, et des valeurs de dopages de 930 ng/L (sur la base du LAS C12, cf. p.15). Les deux eaux ont été filtrées avant extraction, et pour chaque eau testée, 3 extractions ont été effectuées sans dopage de LAS et 3 avec dopage.

Une première étape de filtration a ainsi été mise en œuvre avec filtration par GF/F des 6 échantillons d'eau d'Evian® et des 6 échantillons d'eau de l'Oise. Les filtres (contenant des MES ou non, selon l'échantillon filtré) ont été extraits avec du méthanol. L'extrait méthanol a été ajouté au filtrat (i.e., la phase aqueuse de l'échantillon). Le filtrat a ensuite été soumis à une extraction par cartouche SPE Oasis™ WAX. La cartouche a été éluée avec 2 fois 2 mL d'un mélange méthanol-ammoniac. L'éluat a été évaporé et repris dans une solution 80/20 eau/méthanol pour injection LC-MSMS (Figure 7).

Calcul des concentrations et rendements avec l'étalon interne p-n-octylbenzenesulfonate

Pour ces essais d'extraction sur phase solide (SPE) d'échantillons d'eau filtrés, les taux de récupération de l'étalon interne p-n-octylbenzenesulfonate, ont été sensiblement identiques (à 80 % en moyenne pour tous les essais) à ceux obtenus lors des essais de SPE d'échantillons d'eau (Milli-Q et d'Evian®) non filtrés.

Les essais SPE menés avec des échantillons d'eau d'Evian® non dopés filtrés ont confirmé que l'étape de filtration ne semble pas apporter de contamination supplémentaire par rapport aux essais SPE réalisés avec les mêmes échantillons non filtrés. En effet, les concentrations obtenues pour l'analyse des échantillons d'eau d'Evian filtrés (Tableau 8) et non filtrés (Tableau 6) étaient semblables.

L'eau de l'Oise présentait des concentrations supérieures à celles constatées pour l'eau d'Evian® mais cela peut être attribué à une présence des LAS dans ces eaux.

Tableau 8. Concentrations de LAS mesurés en ng/L pour des extractions avec le protocole décrit en Figure 7 d'eau d'Evian® et d'eau de l'Oise et analyse LC-MSMS, avec utilisation de l'étalon interne p-n-octylbenzenesulfonate

	Concentration (ng/L)	
	Eau d'Evian (n = 3)	Eau de l'Oise (n = 3)
LAS C10	32 ± 2	108 ± 1
LAS C11	121 ± 2	268 ± 12
LAS C12	101 ± 13	168 ± 29
LAS C13	55 ± 3	97 ± 18
LAS C14	1 ± 1	2 ± 1

Pour les échantillons dopés, les rendements d'extraction (Tableau 9) ont été calculés pour les LAS pour chacune des eaux testées, après soustraction des valeurs observées pour l'analyse des échantillons non dopés (Tableau 8) et en utilisant le p-n-octylbenzenesulfonate comme étalon interne (i.e., rendements relatifs). Comme observé pour les extractions SPE des échantillons d'eau sans filtration préalable (Tableau 7), l'étalon interne n'a pas totalement compensé la perte des LAS avec les chaînes alkyles les plus longues. Cet effet était d'ailleurs plus marqué pour les échantillons filtrés. En effet, pour les eaux d'Evian®, dont les extractions SPE ont été réalisées avec et sans filtration préalable, les rendements pour les LAS C13 (29 % vs 67 %) et LAS C14 (19 % vs 59 %) étaient beaucoup plus faibles lorsque les échantillons d'eau avaient été filtrés que sans filtration. Il peut donc être supposé que des pertes sont survenues lors de l'étape de filtration pour ces composés. Une meilleure récupération des LAS lors de la phase d'extraction des MES sur les filtres permettrait peut-être d'améliorer les performances.

Aucun effet de matrice n'a été observé car les résultats obtenus avec l'eau d'Evian® et l'eau de l'Oise étaient sensiblement équivalents en matière de rendements et d'écarts types.

Tableau 9. Rendements (en %) des extractions avec le protocole décrit en Figure 7 d'eau d'Evian® et d'eau de l'Oise dopées en LAS et analyse LC-MSMS, avec utilisation de l'étalon interne p-n-octylbenzenesulfonate (après soustraction des blancs)

	<i>Rendement d'extraction (%)</i>	
	<i>Eau d'Evian (n = 3)</i>	<i>Eau de l'Oise (n = 3)</i>
LAS C10	81 ± 3	81 ± 11
LAS C11	67 ± 6	67 ± 9
LAS C12	56 ± 10	58 ± 12
LAS C13	29 ± 11	34 ± 8
LAS C14	19 ± 5	22 ± 2

Calcul des rendements avec l'étalon interne SDS-d25

Pour comparer l'impact de l'étalon interne, les résultats bruts des mêmes échantillons d'eau brute ont été recalculés en utilisant le deuxième étalon interne ajouté (SDS-d25). Les taux de récupération de ce composé étaient globalement de 75 % avec l'eau d'Evian® et 60 % pour l'eau de l'Oise, soit légèrement inférieurs à ceux du p-n-octylbenzenesulfonate (environ 80 %).

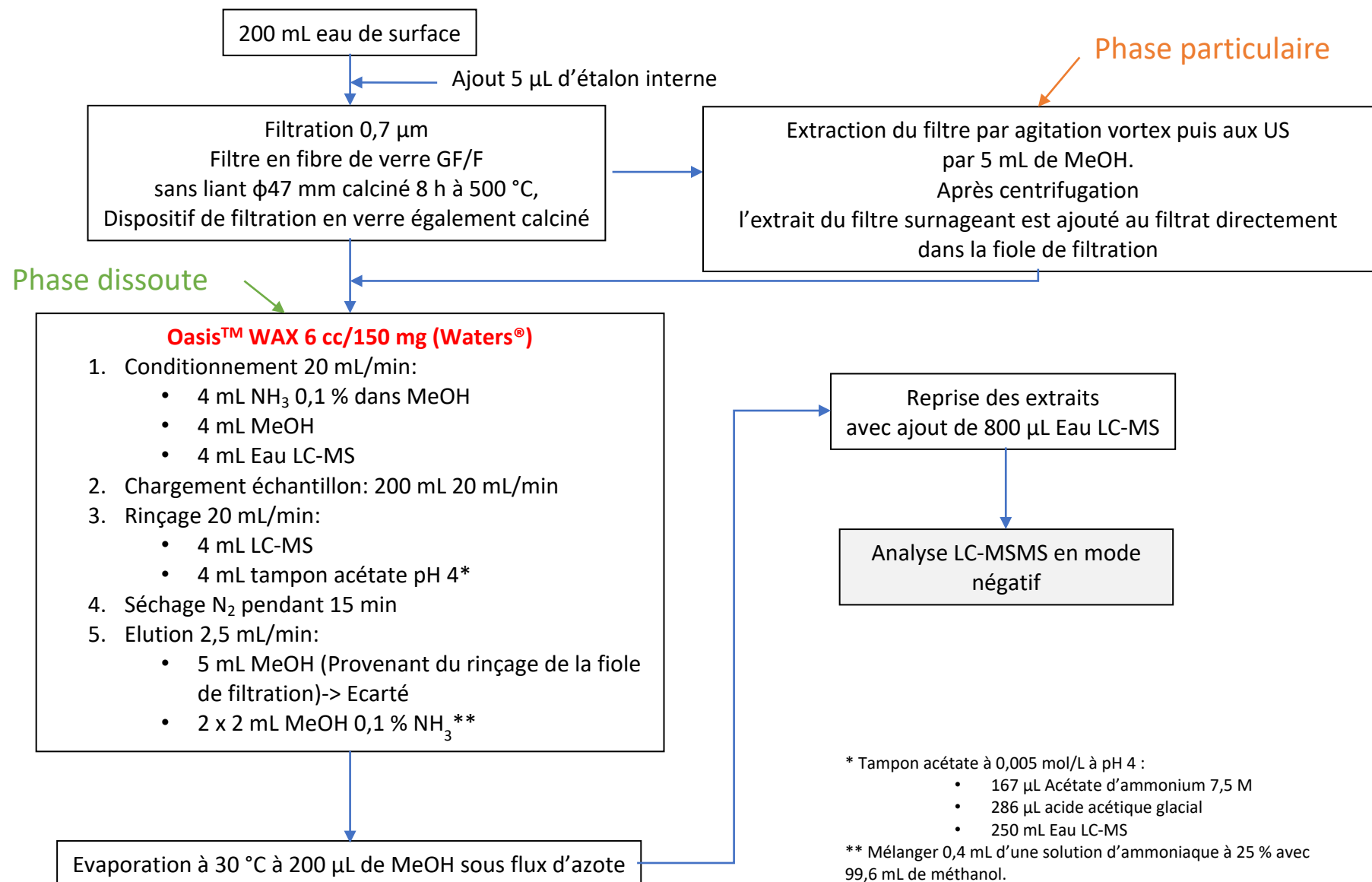
Les rendements relatifs des LAS C10 à LAS C14, calculés avec l'étalon interne SDS-d25 et après soustraction des valeurs dans les blancs, étaient supérieurs à ceux obtenus avec l'étalon interne p-n-octylbenzenesulfonate, notamment pour l'eau de l'Oise (de 16 à 57 % supérieurs) (Tableau 10). Ceci peut être mis en lien avec les taux de récupération du SDS-d25 plus faibles que ceux obtenus pour le p-n-octylbenzenesulfonate.

De faibles rendements ont cependant été observés pour les 2 congénères les plus lourds LAS C13 et LAS C14 pour l'eau d'Evian®. Les coefficients de variation étaient également bien plus élevés par rapport à ceux obtenus avec le p-n-octylbenzenesulfonate en tant qu'étalon interne (pour les deux types d'eau).

Tableau 10. Rendements (en %) pour des extractions avec le protocole décrit en Figure 7 d'eau d'Evian® et d'eau de l'Oise dopées en LAS et analyse LC-MSMS (n = 3) et avec l'étalon interne SDS-d25 (après soustraction des blancs)

	<i>Rendement d'extraction (%)</i>	
	<i>Eau d'Evian (n = 3)</i>	<i>Eau de l'Oise (n = 3)</i>
LAS C10	89 ± 6	138 ± 8
LAS C11	74 ± 6	108 ± 7
LAS C12	62 ± 16	87 ± 16
LAS C13	20 ± 28	51 ± 20
LAS C14	20 ± 28	34 ± 18

Figure 7. Protocole utilisé pour l'analyse des LAS dans l'eau brute



5. CONCLUSION

Les alkylbenzène sulfonates linéaires (LAS) ont fréquemment été retrouvés dans les milieux aquatiques lors de l'étude Emergents Nationaux. Ils vont probablement être intégrés dans la liste des substances réglementaires (SPAS) et il existe donc un besoin de développer des méthodes afin de fiabiliser leur mesure. Cette étude visait donc à développer une méthode pour la mesure des LAS dans des eaux de surface brutes.

Une optimisation de la séparation chromatographique, en utilisant une colonne de « décalage », a permis de séparer la contamination provenant du système des LAS réellement présents dans les échantillons. L'analyse des étalons a fait apparaître de nombreuses difficultés et ambiguïtés potentielles sur leur nature et leur nomenclature. Cette question sur les étalons sera développée au travers d'une étude AQUAREF spécifique prévue en 2022.

Un protocole a été développé pour la mesure des LAS dans l'eau brute. Cette méthode présentait un taux de contamination aux alentours de 100 ng/L pour les LAS les plus fréquents (LAS C11 et LAS C12). Différents essais ont été effectués sur les eaux, solvants ou filtres utilisés mais ils n'ont pas permis de déterminer précisément les origines de la contamination observée lors de la mise en œuvre de cette méthode. Les 3 filtres testés pour l'analyse des LAS dans l'eau brute n'ont pas apporté de contaminations supplémentaires.

Les rendements obtenus avec l'étalon interne principalement considéré, le p-n-octylbenzenesulfonate, allaient de 80 % pour le LAS C10 et décroissaient progressivement selon la longueur de la chaîne alkyle pour atteindre 20 % pour le LAS C14. Les pertes pour les composés les plus lourds provenaient possiblement de l'étape de filtration en particulier. Des travaux seront mis en œuvre pour confirmer cette hypothèse et tenter d'y remédier.

Différentes solutions restent envisageables pour améliorer les rendements. Augmenter la prise d'essai permettrait par exemple de diminuer l'influence de la contamination du blanc. De plus, pour l'étude Emergents Nationaux, en l'absence d'étalon interne, un étalonnage en matrice (en utilisant de l'eau de source embouteillée) avait été mis en œuvre. Ce procédé est cependant lourd à mettre en œuvre dans un contexte d'analyse de routine et c'est pourquoi il n'a pas été privilégié lors de cette étude. Les étalons internes testés lors de cette étude présentaient des limites pour les congénères LAS les plus lourds, mais pour l'instant, aucun étalon analytique marqué n'existe pour ces substances. L'utilisation d'un autre étalon interne, plus spécifique pour les LAS les plus lourds pourrait permettre d'améliorer les performances. Une meilleure récupération notamment sur les filtres permettrait peut-être d'améliorer les performances dans cette optique. De plus, pour des composés avec des propriétés physico-chimiques semblables, les composés perfluorés, il est recommandé l'utilisation de conteneur en polyéthylène à la place du verre pour éviter les phénomènes d'adsorption. Des essais sur la nature des contenants pourraient également être menés.

Des travaux ultérieurs vont être mis en œuvre afin de pouvoir améliorer et valider la méthode et déterminer spécifiquement les limites de quantification atteignables avec cette méthode (ou une méthode avec des performances améliorées). La question de la stabilité des LAS dans les échantillons d'eau sera également traitée dans le cadre de ces prochains travaux.

6. ANNEXES

Annexe 1. Certificat d'analyse obtenu pour le mélange de LAS utilisé dans cette étude	25
Annexe 2. Analyse des différents étalons utilisés lors de cette étude	26
Annexe 3. Essais sur l'extraction par l'eau et le méthanol de différents filtres (n = 3).....	28

Certificate of Analysis



675032

Lot: 784568

Sodium Dodecylbenzenesulfonate (soft type) (LAS 10-14)

1. General Information

Formula $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NaO}_3\text{S}$
Mol. Weight $348.48 \text{ g mol}^{-1}$
CAS-No. 69669-44-9

Expiry Date 01.03.2023
Store at 20 °C

2. Batch Analysis

Assay 96.9 %

Uncertainty $\pm 0.5 \%$

Certified on 27.02.2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Dr. Schulze'.

by Dr. Schulze

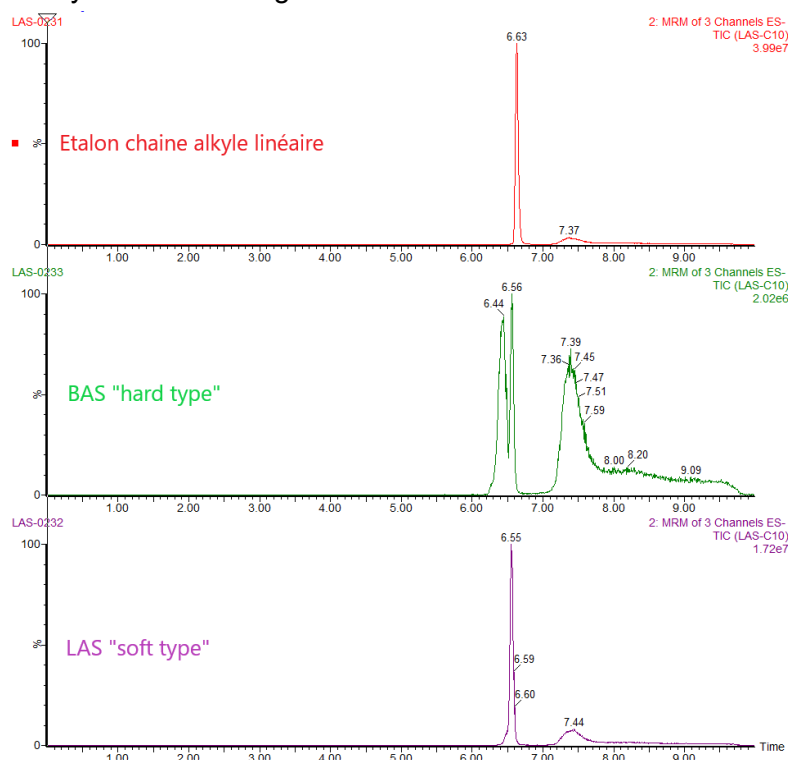
The reported uncertainty U is an expanded uncertainty according to EURACHEM / CITAC guide CG4 – Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement – third edition and calculated $U = k \cdot u_c$ using a coverage factor of $k = 2$, which gives a level of confidence of 95%.

The expiry date is based on the current knowledge and holds only for proper storage conditions in the originally closed flask. The information herein is believed to be correct, but is provided without warranty of any kind. The warranty for this product is limited to the purchasing price of this product.

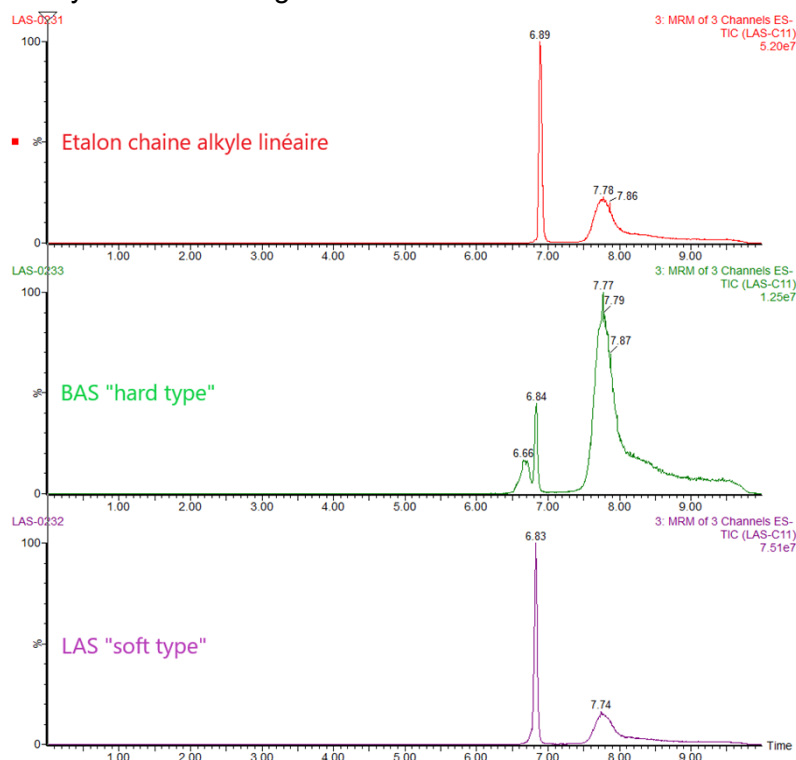
HPC Standards GmbH Am Wieseneck 7 04451 Cunnersdorf Germany
Phone +49-34291-337236 Fax +49-34291-337239 info@hpc-standards.com

Annexe 2. Analyse des différents étalons utilisés lors de cette étude

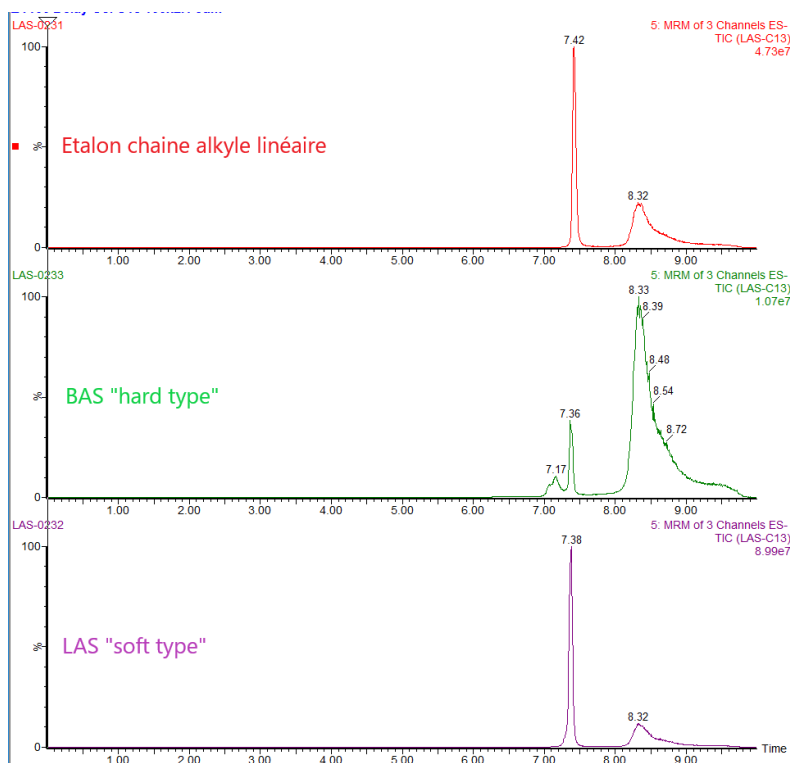
Analyse de l'homologue C10



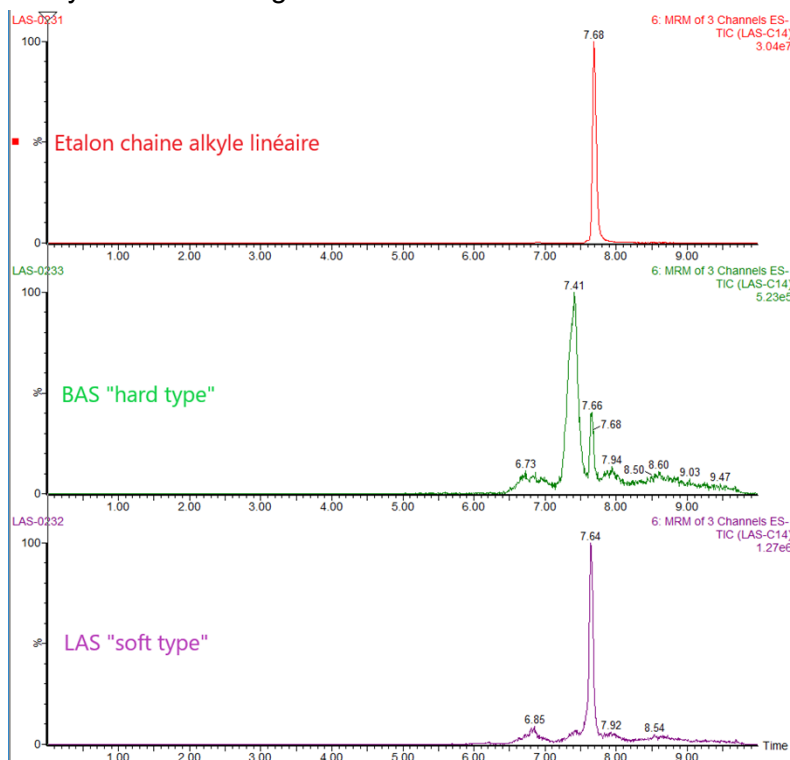
Analyse de l'homologue C11



Analyse de l'homologue C13

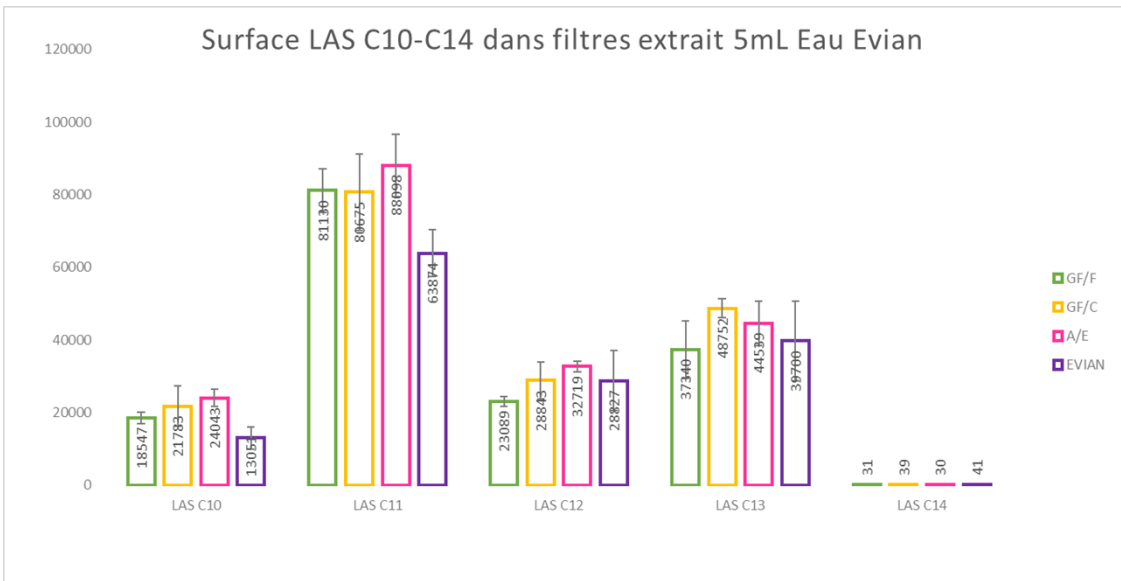


Analyse de l'homologue C14



Annexe 3. Essais sur l'extraction par l'eau et le méthanol de différents filtres (n = 3)

a) Filtres imprégnés dans l'eau d'Evian



b) Filtres imprégnés dans le méthanol

