

Contaminants chimiques dans l'eau (métrologie et effets sur la santé) - tous types d'eau y compris l'eau destinée à la consommation humaine

Occurrence des composés perfluorés dans l'environnement: méthodes d'analyse et exposition humaine

Période: décembre 2008 à mars 2009

Jean-Luc BOUDENNE

Université de Provence / CNRS - Laboratoire Chimie Provence UMR6264 - Chimie de l'Environnement Continental

Mots clés: **Etude épidémiologique, Normalisation méthodes analytiques, PFC, PFOA, PFOS, Sources d'exposition**

Les composés perfluorés (PFC¹) représentent une famille de quelques centaines de composés chimiques, stables thermiquement, la plupart à structure polymérique, peu solubles dans l'eau et les huiles. Ils ont été largement utilisés ces 50 dernières années et sont présents dans de nombreux produits (produits de soins et d'hygiène, composants électroniques, industrie de la photographie, produits phytosanitaires, ciments, détergents...) où ils jouent le rôle d'émulsifiants, de lubrifiants, d'imperméabilisant, d'anti-adhésifs...

Les PFC incluent les perfluorosulfonates (PFSA²) - comme le sulfonate de perfluorooctane (PFOS³)- et les perfluorocarboxylates (PFCA⁴) -comme l'acide perfluorooctane (PFOA⁵)-. Le PFOA et le PFOS sont les PFC les plus couramment rencontrés dans l'environnement (eaux superficielles, eaux usées et eaux météoriques; sols et sédiments; organismes vivants et êtres humains...), d'une part parce qu'ils sont très utilisés dans l'industrie, et d'autre part car ce sont les produits de dégradation de PFC plus complexes (Nania *et al.*, 2009). Ces composés (PFSA et PFCA) sont plus solubles que leurs congénères et ont été proposés comme nouvelles substances prioritaires par le parlement européen en 2007 du fait de cette ubiquité, notamment dans de nombreux systèmes aquatiques européens (Loos *et al.*, 2009). Ils présentent un risque de toxicité chronique, mais également de bioaccumulation dans les organismes aquatiques. Le principal producteur mondial (3MTM) a d'ailleurs engagé dès 2002 un plan de réduction de l'utilisation de ces substances et de recherche d'alternatives (Chateau *et al.*, 2005). De nombreux chercheurs se sont donc intéressés à ces PFSA et PFCA à travers l'identification de sources de pollutions, l'estimation de seuils de contamination dans différents milieux, l'amélioration de méthodes analytiques pour une quantification de ces PFC dans différentes matrices environnementales ou biologiques, et le devenir de ces composés dans l'environnement ou après traitement.

Cette note d'actualité scientifique se focalise sur les techniques analytiques permettant de détecter ces composés dans les matrices aqueuses et sur les effets sur la santé de ces composés.

Méthodes analytiques de détermination des PFC

Jahnke et Berger (2009) ont comparé les différentes techniques d'analyse chromatographique des PFC dans l'environnement ainsi que les modes de préparation des échantillons, suivant la matrice étudiée. La technique la plus sensible et la plus spécifique est la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse utilisant un spectromètre de masse à temps de vol haute résolution (ToF-HRMS) (Martin *et al.*, 2004). Toutefois, cette méthode est encore peu répandue dans les laboratoires d'analyse: la méthode la plus utilisée reste la chromatographie liquide couplée à une détection par spectrométrie de masse en tandem combinant une ionisation par électronébulisateur en mode négatif (LC/(-)ESI-MS/MS)⁶, ou un analyseur à temps de vol (LC-TOF-MS)⁷.

Les concentrations en PFC rencontrées dans l'environnement étant généralement de quelques dizaines de nanogrammes par litre à quelques microgrammes par litre suivant les matrices étudiées, les méthodes analytiques précitées sont souvent précédées d'une étape d'extraction/préconcentration, réalisées soit en mode liquide-liquide (LLE⁸), soit en mode solide-liquide (SPE⁹) (Larsen *et al.*, 2007).

Moody *et al.* (2001) ont déterminé des limites de détection en PFSA et PFCA comprises entre 9 et 17 ng/L, lorsque la SPE était utilisée en combinaison avec une détection LC/(-)ESI-MS/MS, dans des eaux de surface contaminés en détergents perfluorés. La combinaison de la SPE en ligne à la LC/MS fonctionnant en mode APPI¹⁰ a permis à Takino *et al.* (2003) de descendre à une limite de détection de 5,35 ng/L en PFOS. Les sources APPI sont connues pour être plus sensibles que les techniques ESI classiquement employées (diminution des effets de matrices).

Les principaux supports d'extraction utilisés en SPE sont soit totalement hydrophobes (C18 par exemple), mixtes hydrophobes/polaires (Oasis HLB) ou bien encore à échange anionique (WAX).

Parmi les méthodes d'extraction liquide-liquide, on peut notamment citer l'extraction de paires d'ions (IPE) à l'aide du tetrabutylammonium ou du MTBE¹¹. Cependant cette méthode

de séparation présente l'inconvénient de co-extraire des composés lipidiques pouvant interférer durant l'étape d'analyse.

Gonzalez-Barreiro *et al.* (2006) ont montré que les rendements d'extraction des PFC dans des effluents de station d'épuration étaient comparables (0,26-4,4 ng/L pour la LLE; 0,20-0,64 ng/L pour la SPE), et, qu'au final, la SPE ne devenait concurrentielle à la LLE que pour les PFC possédant plus de 10 carbones.

La principale problématique de la quantification des PFC par LC-MS/MS provient de l'ubiquité de ces composés dans le matériel analytique, induisant une contamination des blancs instrumentaux. Différentes études internationales inter-laboratoires depuis 2005 ont permis cependant d'améliorer fortement le contrôle des blancs analytiques et de généraliser l'utilisation d'étalons internes marqués au ¹³C. Tout récemment, une méthode standardisée pour l'analyse des PFOS et des PFCA a été proposée par l'ISO (ISO 25101 : 2009) et validée par des essais inter-laboratoires : cette méthode recommande le couplage LC/(-) ESI-MS-MS avec utilisation d'étalons internes marqués (comme le ¹³C2-PFOA et ¹³C2-PFOS).

Commentaire

Cet article souligne les difficultés (faibles teneurs, difficultés de préconcentration, etc.) posées par l'analyse des PFC dans l'environnement, le besoin de développer des méthodes fiables et robustes ainsi que la mise à disposition de matériaux de référence certifiés, afin d'améliorer le contrôle qualité dans les laboratoires d'analyses. L'arrivée de la norme ISO (ISO 25101 : 2009) pour l'analyse du PFOS et du PFOA permet de combler une lacune, mais de nombreux PFC ne sont toujours pas pris en compte.

Effets sanitaires

De nombreuses études toxicologiques menées principalement sur des rongeurs suggèrent que le PFOS et le PFOA sont des agents potentiellement hépatotoxiques, carcinogènes, immunotoxiques et sont également des perturbateurs endocriniens (Kennedy *et al.*, 2004; Lau *et al.*, 2007; Peden-Adams *et al.*, 2008). Ces composés affectent l'homéostasie des hormones sexuelles et ont été associés à une incidence accrue des résorptions fœtales et de fausses couches chez les animaux (Case *et al.*, 2001; Butenhoff *et al.*, 2004; Lau *et al.*, 2006; Wolf *et al.*, 2007). Des études épidémiologiques récentes ont également montré des effets inhibiteurs sur la croissance du fœtus humain (Apelberg *et al.*, 2007; Fei *et al.*, 2007). Les voies d'exposition au PFC concernent à la fois i) l'inhalation des PFC neutres et volatils (comme les alcools fluorés, les fluorotélomères) et des sulfonamides perfluorés ii) l'inhalation de composés non-volatils mais sorbés sur

des particules ou iii) l'ingestion d'aliments ou d'eaux contaminées. La voie d'exposition par l'alimentation a encore été très peu étudiée : Kannan *et al.* (2005) ont étudié les teneurs en PFOS dans les poissons et fruits de mer dans les grands lacs américains et Gulkowska *et al.* (2006) en mer de Chine. Les ressources en eau potable, à l'écart de toute source de contamination connue, contiennent des concentrations en PFC de l'ordre du ng/L, mais des teneurs jusqu'à 51 ng/L de PFOS et jusqu'à 10 µg/L en PFOA ont été rapportées (Emmett *et al.*, 2006; Harada *et al.*, 2003; Skutlarek *et al.*, 2006)

Kärman *et al.* (2009) ont réalisé une étude épidémiologique au Japon sur la relation entre doses de PFC ingérés (par le biais de l'alimentation et des boissons) et les teneurs retrouvées dans le sérum de

20 femmes au Japon, de 34 à 75 ans. Afin d'éviter les biais liés aux variations sérologiques, 10 femmes ont été choisies à Osaka (8 millions d'habitants) et 10 femmes choisies à Miyagi (8000 habitants). Les repas et les boissons ingérés par ces femmes durant 24 heures ont été homogénéisés puis congelés avant analyse. Les prélèvements sanguins ont été réalisés le lendemain matin, et stockés à -20°C jusqu'à analyse.

Les analyses ont révélé la présence de PFOS et de PFOA dans tous les aliments : en moyenne 0,027 ng PFOS/g (gamme de 0,015 à 0,057 ng/g) et 0,023 ng PFOA/g (gamme de 0,008 à 0,040 ng/g), sans différence significative entre les deux villes. Aucun autre PFC n'a été retrouvé dans les aliments.

Les concentrations moyennes les plus élevées dans les sérums ont été trouvées à Osaka, avec une valeur de 31 ng/mL, à la fois pour le PFOS et le PFOA. A Miyagi, les teneurs moyennes sont plus faibles et se distinguent pour le PFOS et le PFOA, avec 14 ng/mL et 4,6 ng/mL respectivement. Deux sérums se sont distingués à Osaka avec des teneurs très élevées en PFOS à Osaka (161 et 136 ng/mL). A noter également que 7 autres PFC ont été trouvés dans les sérums : le PFNA¹² a été retrouvé à 6,9 ng/mL (moyenne Osaka) et à 2,7 ng/mL (moyenne Miyagi) et le PFDA¹³ à 2,5 ng/mL (moyenne Osaka) et à 0,92 ng/mL (moyenne Miyagi); à l'inverse le PFUnDA¹⁴ a été retrouvé à plus forte teneur à Miyagi (5,1 ng/mL) qu'à Osaka (3,2 ng/mL).

La dose journalière ingérée dans les deux villes d'étude pour les 20 participantes est de 1,1 à 1,5 ng PFOS/kg/pers et de 0,72 à 1,3 ng PFOA/kg/pers, ce qui correspond à une étude du même type qui avait été menée en Allemagne en 2007 (Fromme *et al.*, 2007). L'étude statistique et la modélisation utilisée par les auteurs montrent que la voie principale d'exposition pour les participantes de Miyagi est bien celle liée à la nourriture : 92,5 % des PFC ingérés se retrouvent dans le sérum. Pour les habitantes d'Osaka, cette contribution chute à 22,4 %. D'autres voies d'exposition doivent donc être prises en compte.

Occurrence des composés perfluorés dans l'environnement: méthodes d'analyse et exposition humaine – Jean-Luc BOUIDENNE

Commentaire

Les auteurs ont pris comme hypothèse que la composition d'un repas journalier pouvait refléter une exposition liée à l'alimentation sur plusieurs années, puisque les teneurs dans le sérum reflètent l'exposition historique (puisque les temps de demi-vies du PFOS et du PFOA sont longs). Toutefois, rien n'indique que le régime alimentaire des participantes n'a pas fluctué dans les dernières années, ni comment les teneurs en PFC ont pu varier dans ces régimes alimentaires. De plus, la taille du panel utilisé dans cette étude reste faible pour tirer des conclusions définitives.

Fei et al. (2009) ont corrélé la présence de PFOS et de PFOA dans le sérum avec une baisse de la fécondité. Cette étude menée au Danemark a concerné 1240 femmes enceintes de 4 à 14 semaines, entre 1996 et 2002. Le premier questionnaire a porté sur la planification de leur grossesse: dans cette étude, une grossesse attendue plus de 12 mois a été catégorisée comme une baisse de la fertilité.

Les teneurs en PFOA et PFOS ont été mesurées dans le sérum des femmes enceintes lors de leur première visite médicale prénatale. 50 % des femmes ont été enceintes durant les 2 premiers mois, 30 % (379) au-delà de 6 mois et 188 ont dû attendre plus de 12 mois. La moyenne d'âge des femmes était de 30,6 ans et la moitié des femmes attendaient leur premier enfant.

Les teneurs en PFOA et PFOS dans le sérum de ces femmes enceintes étaient en moyenne de 5,3 ng/mL pour une grossesse attendue de moins de 2 mois (interquartile¹⁵: 4.0 – 7.0 ng/mL) et de 33,7 ng/mL pour une attente supérieure à 12 mois (interquartile 26,6 – 43,5 ng/mL).

Plus les niveaux de PFOA et de PFOS sont élevés dans le sérum des femmes enceintes, plus leur attente a été longue. Inversement, le temps d'attente était beaucoup plus court (<2 mois) pour celles dont les teneurs en PFOA et PFOS étaient faibles.

Les auteurs confirment qu'il peut y avoir des biais dans leur étude: ils n'ont pris en compte ni la fréquence et la durée des rapports sexuels, ni la qualité du sperme. De plus, ils n'ont considéré dans leur étude que les femmes qui ont effectivement été fécondées et ont exclu les femmes qui n'avaient pas planifié leur grossesse.

Commentaire

Cette étude semble la première qui relie directement la teneur en PFOA et PFOS dans le sérum et le retard dans une grossesse. Les mécanismes biologiques induisant ces retards ne sont pas encore connus; toutefois, les auteurs notent que les femmes présentant les plus fort taux de PFOA et PFOS accusaient également des cycles menstruels irréguliers.

Conclusion générale

Les méthodes analytiques des PFC dans l'environnement souffrent encore de biais, notamment lorsque le contrôle qualité n'est pas appliqué dans les laboratoires: les premiers « faux positifs » résultant en effet de l'utilisation de la verrerie courante en laboratoire. La norme ISO 25101-2009 devrait permettre d'homogénéiser les protocoles analytiques pour les composés PFOS et PFOA, facilitant ainsi le suivi de ces composés dans l'environnement. Toutefois, les autres PFC ne sont pas pris en compte dans cette norme, et de nombreux sous-produits pourraient avoir un effet sur l'environnement.

Dans les échantillons biologiques, les auteurs appliquent déjà cette norme en utilisant de façon privilégiée des étalons standards marqués. Dans les études de **Kärrman et al. (2009)** et **Fei et al. (2009)**, le PFOS et le PFOA sont retrouvés dans le sérum à des teneurs comprises entre 2,7 ng/mL et 43,5 ng/mL (le PFOS étant toujours en concentration supérieure par rapport au PFOA). La première étude (**Kärrman et al., 2009**) semble indiquer un lien direct entre l'alimentation et les teneurs retrouvées dans le sérum, tout en indiquant que dans les « grandes villes », d'autres facteurs doivent être pris en compte, comme par exemple la pollution atmosphérique. Dans la seconde étude (**Fei et al., 2009**), ces teneurs retrouvées dans le sérum semblent provoquer une diminution de la fertilité.

Des études épidémiologiques plus poussées seraient nécessaires pour valider ces corrélations entre teneurs en PFOS et PFOA dans l'alimentation (en distinguant eau de boisson et repas), et teneurs dans le sérum, et influence sur la fécondité. Comme indiqué précédemment de nombreux facteurs n'ont pas été pris en compte (comme l'influence paternelle, l'utilisation de traitement contre l'infertilité), et la première étude montre que d'autres sous-produits des PFC que le PFOA et le PFOS sont présents dans le sérum. La baisse de fertilité observée pourrait être due à ces composés.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Perfluorinated Alkyl Substances, Perfluorinated organic compounds/contaminants, PFAS PFOA, PFCA, PFOS, PFSA.

Publications analysées

Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L et al. Maternal levels of perfluorinated chemicals and subfecundity. *Hum. Reprod.* 2009; 24(5):1200-5.

Jahnke A, Berger U. Trace analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in various matrices-how do current methods perform? *J. Chromatogr. A.* 2009; 1216(3):410-21.

Kärman A, Harada KH, Inoue K et al. Relationship between dietary exposure and serum perfluorochemical (PFC) levels-a case study. *Environ. Int.* 2009; 35(4):712-7.

Publications de référence

Apelberg BJ, Witter FR, Herbstman JB et al. Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115(11): 1670-6.

Case MT, York RG, Christian MS. Rat and rabbit oral developmental toxicology studies with two perfluorinated compounds. *Int. J. Toxicol.* 2001; 20(2):101-9.

Chateau G, Chavroche J, Dupouyon B et al. Composés perfluorés: évaluation et gestion des risques liés au PFOS. Rapport de l'Ecole Nationale de Santé Publique. 2005; 80 p. De Voogt P, Sáez M. Analytical chemistry of perfluoroalkylated substances. *TrAC.* 2006; 25(4):326-42.

Fromme H, Schlummer M, Möller A et al. Exposure of an adult population to perfluorinated substances using duplicate diet portions and biomonitoring data. *Environ. Sci. Technol.* 2007; 41: 7928-33.

Emmett EA, Shofer FS, Zhang H et al. Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum concentrations and exposure sources. *J. Occup. Environ. Med.* 2006; 48(8):759-70.

Fei CY, McLaughlin JK, Tarone RE et al. Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115(11):1677-82.

Harada K, Saito N, Sasaki S et al. Perfluorooctane sulfonate contamination of drinking water in the Tama River, Japan: estimated effects on resident serum levels. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2003; 71(1):31-6.

I SO 25101. Water quality--Determination of perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate (PFOA)--Method for unfiltered samples using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry. *Int. Org. Stand.* 2009.

González-Barreiro C, Martínez-Carballo E, Sitka A et al. Method optimization for determination of selected perfluorinated alkylated substances in water samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 2006; 386(7-8):2123-32.

Gulkowska A, Jiang Q, So M et al. Persistent perfluorinated acids in seafood collected from two cities of China. *Environ. Sci. Technol.* 2006; 40(12):3736-41.

Kannan K, Tao L, Sinclair E et al. Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lakes food chain. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2005; 48(4):559-66.

Kennedy GL Jr, Butenhoff JL, Olsen GW et al. The toxicology of perfluorooctanoate. *Crit. Rev. Toxicol.* 2004; 34(4):351-84. Larsen BS, Kaiser MA. Challenges in perfluorocarboxylic acid measurements. *Anal. Chem.* 2007; 79(11):3966-73.

Lau C, Anitole K, Hodes C et al. Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicol. Sci.* 2007; 99:366-94.

Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG. Effects of perfluorooctanoic acid exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicol. Sci.* 2006; 90(2):510-8.

Loos R, Gawlik BM, Locoro G et al. EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters. *Environ. Pollut.* 2009; 157(2):561-8.

Martin JW, Kannan K, Berger U et al. Analytical challenges hamper perfluoroalkyl research. *Environ. Sci. Technol.* 2004; 38(13):248A-55A.

Moody CA, Kwan WC, Martin JW et al. Determination of perfluorinated surfactants in surface water samples by two independent analytical techniques: liquid chromatography/tandem mass spectrometry and ¹⁹F NMR. *Anal. Chem.* 2001; 73(10):2200-6.

Nania V, Pelligrini GE, Fabrizi L et al. Monitoring of perfluorinated compounds in edible fish from the Mediterranean Sea. *Food Chem.* 2009; 115(3):951-57.

Peden-Adams MM, Keller JM, EuDaly JG et al. Suppression of humoral immunity in mice following exposure to perfluorooctane sulfonate. *Toxicol. Sci.* 2008; 104(1):144-54.

Skutlarek D, Exner M, Färber H. Perfluorinated surfactants in surface and drinking waters. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2006; 13(5):299-307.

Takino M, Daishima S, Nakahara T. Determination of perfluorooctane sulfonate in river water by liquid chromatography/atmospheric pressure photoionization mass spectrometry by automated on-line extraction using turbulent flow chromatography. *Rapid. Commun. Mass Spectrom.* 2003; 17(5): 383-90.

Van Leeuwen SPJ, De Boer J. Extraction and clean-up strategies for the analysis of poly- and perfluoroalkyl substances in environmental and human matrices. *J. Chromatogr. A.* 2007; 1153 (1-2):172-85.

Villagrasa M, López de Alda M, Barceló D. Environmental analysis of fluorinated alkyl substances by liquid chromatography- (tandem) mass spectrometry: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* 2006; 386(4): 953-72.

Wolf CJ, Fenton SE, Schmid JE et al. Developmental toxicity of perfluorooctanoic acid in the CD-1 mouse after cross-foster and restricted gestational exposures. *Toxicol. Sci.* 2007; 95(2):462-73.

Occurrence des composés perfluorés dans l'environnement: méthodes d'analyse et exposition humaine – Jean-Luc BOUIDENNE

Publication non sélectionnée

Lin AY, Panchangam SC, Lo CC. The impact of semiconductor, electronics and optoelectronic industries on downstream perfluorinated chemical contamination in Taiwanese rivers. Environ. Pollut. 2009; 157(4):1365-72.

Publication intéressante car les auteurs quantifient et spécifient les rejets de PFC par les industries électroniques. Toutefois, pas d'aspect nouveau ni sur la métrologie, ni sur les effets sur la santé.

Lexique

- ¹ PFC (pour perfluorinated compounds): composés perfluorés.
- ² PFSA: Perfluorosulfonates.
- ³ FOS: Sulfonates de perfluorooctane.
- ⁴ PFCA: Perfluorocarboxylates.
- ⁵ PFOA: Acide perfluorooctanoïque (ou acide perfluorooctane).

- ⁶ LC/(-)ESI-MS/MS: Chromatographie Liquide haute performance couplée à une étape d'ionisation par électro-nébulisation (ESI) en mode négatif (-) et couplée à une détection par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS).
- ⁷ LC-TOF-MS: Chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse fonctionnant sur le principe de l'analyse TOF (Time Of Flight). L'analyseur à temps de vol consiste à mesurer le temps que met un ion, soumis à une tension préalable, à parcourir une distance donnée.
- ⁸ LLE: Extraction Liquide-Liquide.
- ⁹ SPE: Extraction sur Phase Solide.
- ¹⁰ APPI: Atmospheric Pressure Photo-Ionisation = Ionisation à Pression Atmosphérique par des photons.
- ¹¹ MTBE: Méthyl-Tertio-Butyl-Ether.
- ¹² PFNA: Acide perfluorononanoïque.
- ¹³ PFDA: Acide perfluorodécanoïque.
- ¹⁴ PFUnDA: Acide perfluoroundécanoïque.
- ¹⁵ Interquartile: L'intervalle interquartile (IIQ) est la différence entre le premier et le troisième quartile. Les quartiles divisent les données en 4 groupes contenant exactement le même nombre d'observations.