



HAL
open science

Développement des méthodes analytiques pour la détection et la quantification de traces des HAP et de pesticides dans l'eau. Application à l'évaluation de la qualité des eaux libanaises.

Abir Kouzayha

► **To cite this version:**

Abir Kouzayha. Développement des méthodes analytiques pour la détection et la quantification de traces des HAP et de pesticides dans l'eau. Application à l'évaluation de la qualité des eaux libanaises.. Chimie analytique. Université Sciences et Technologies - Bordeaux I, 2011. Français. NNT: . tel-00786974

HAL Id: tel-00786974

<https://theses.hal.science/tel-00786974>

Submitted on 11 Feb 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE

PRÉSENTÉE A



L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par **Abir KOUZAYHA**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : Chimie Analytique et Environnement

DÉVELOPPEMENT DES MÉTHODES ANALYTIQUES POUR LA DÉTECTION ET LA QUANTIFICATION DE TRACES DES HAP ET DE PESTICIDES DANS L'EAU. APPLICATION À L'ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DES EAUX LIBANAISES

Directeur de recherche : **Hélène BUDZINSKI**, EPOC-LPTC, Bordeaux 1
Farouk JABER, CLEA-LAPPO, Beyrouth

Soutenue le : 08 décembre 2011

Devant la Commission d'Examen formée de :

Mme CAMEL, Valérie	Professeur, AgroParisTech, Paris	Rapporteur
Mr LE BIZEC, Bruno	Professeur, Laberca, Nantes	Rapporteur
Mr SERVANT, Laurent	Professeur, Université de Bordeaux 1	Examinateur
Mme BUDZINSKI, Hélène	Directeur de recherche, Bordeaux 1	Directeur de thèse
Mr JABER, Farouk	Professeur, CLEA, Beyrouth	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Ces trois années de thèse ont été l'occasion de rencontres enrichissantes, tant sur le plan personnel que professionnel. Merci à toutes les personnes qui ont croisé mon chemin, et qui ont contribué à faire de moi ce que je suis aujourd'hui.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma très grande reconnaissance à tous les membres de mon jury : madame Valérie CAMEL et monsieur Bruno LE BIZEC qui ont accepté de juger ce travail et d'en être les rapporteurs ainsi que monsieur Laurent SERVANT qui m'a fait l'honneur de participer au jury.

Ce travail de thèse a été réalisé principalement à la Commission Libanaise de l'Energie Atomique (CLEA) à Beyrouth, au sein du Laboratoire d'Analyse de Pesticides et de Polluants Organiques (LAPPO). Une partie des travaux a été menée à l'Université Bordeaux 1, au sein du Laboratoire de physico-toxicologie chimie LPTC.

J'aimerais remercier ma directrice de cette thèse Hélène BUDZINSKI, directrice du LPTC, pour m'avoir guidé et m'accorder une grande confiance pendant les trois années de thèse en me laissant une grande liberté. J'adresse ma profonde gratitude au co-directeur monsieur Farouk JABER, directeur du LAPPO, pour m'avoir encadrée avec rigueur tout au long de ce travail de thèse. Je le remercie très sincèrement pour la confiance et le soutien scientifique et humain qu'il m'a apporté depuis mon arrivée dans l'équipe du LAPPO jusqu'à l'aboutissement de ce travail de thèse.

Mes remerciements vont également au Conseil National de la Recherche Scientifique au Liban, représenté par son secrétaire général professeur Mouïin HAMZE, et à l'Agence Universitaire de la Francophonie AUF pour avoir financé ce travail.

Je remercie également monsieur Bilal NSOULI, directeur de CLEA, pour son accueil au sein de la commission.

Parmi ces remerciements, j'ai une pensée particulière pour mes collègues de l'équipe LAPPO pour leur participation précieuse au travail et pour l'ambiance chaleureux. Merci à docteur Mohamad Al Iskandarani, à Khaled Hawari, à Radwan Sidaoui pour son assistance en calculs statistiques et enfin à Samia Mokh pour les encouragements qu'elle m'a prodigué au cours de ces dernières années. Le travail à leurs côtés a été un réel plaisir !

Je remercie aussi très sincèrement mes collègues et amis de la commission CLEA Maria Aoun, Rana Baydoun, Hamze Jeaid, Moustafa Harb, Bassima Haddad, Najla Kayouf, Najla Kanaan, Rana Abou el Hoda, Adnan et Mohamad Dimashkiye, Salam Bazzi et tout le personnel pour leur présence pendant ces années. Merci aussi à Rola qui m'a beaucoup inspiré pendant la période très prenante de rédaction.

Au cours de cette thèse, j'ai par ailleurs été amené à effectuer plusieurs passages à l'LPCTC. Je remercie donc vivement toutes les personnes pour leur accueil lors de mes venues à Bordeaux. Merci à Ninette, Angel, Nathalie, Patrick, Laurent, Pierre, Carine, Sylvie, Marie-Hélène, Nora, Mayelis, Nadia, Isabelle, Vincent, Yann, Justine, Caroline, Frederic, les autres doctorants ainsi que tous les stagiaires que j'ai eu la chance de les connaître et de passer avec eux de très bons moments.

Je remercie mes collègues et mes amis proches Ahmad Rifai, Wael Hneine, Ahmad Al Masri, Aisha El Ashi, Mohamad el Houssayni, Roumaysa Hazimeh, Hiba Abdallah et Lina Lamaa. Chacun d'eux m'a accompagnée et aidée au cours de mes travaux, avec beaucoup de gentillesse, de patience et de dévouement.

Pour toutes les personnes qui m'ont permis de passer des années agréables. Je pense en particulier à :

- Moustafa, Kinan, Jad, Nabil, Jihad, Hisham, Saba, Edward, Rida, Bilal, Sahar, Charles, Joumana, Dani, et toute l'équipe de la radiographie à l'Hôpital Rafik Hariri pour leur bonne humeur et les agréables soirées qu'on a partagées,
- Ma chère tante et amie Hasna et son mari Cédric pour les jolies balades dans les petites rues de bordeaux et toutes les discussions sociologiques et anthropologiques,
- Abdel Kader Zrein, mes amies tunisiennes Nesrine, Amal et Fida...etc..

Enfin, mes pensées reviennent tout particulièrement à mes parents, papa, maman, mes frères Ayman et l'adorable Chadi, mes petites sœurs Ola et Mariam, ma grande sœur Iman présente malgré les kilomètres, ma grand-mère et grand-père, ma chère tante Samia, tantes Randa et Mona et leurs familles que je remercie tous pour leur soutien et leur encouragement pendant toutes les longues années d'étude. Un merci tout particulier à mes amies de longue date, fidèles et soucieuses qui m'ont beaucoup supporté, Rawa, Mireille, Hiam, Sara, Israa, Iman, Zeina, Houda, Nada, Siham, Mira, et May.

Et pour finir, je voudrais remercier du fond du cœur mon fiancé Mouhamad qui m'a toujours soutenu moralement, qui était très patient et compréhensif pendant les moments de stress, mais avant tout, pour son amour sans limites.

A vous tous....

Abir

RESUMÉ

La pollution des eaux est particulièrement problématique pour les pays industrialisés et les pays en développement. Des suivis environnementaux se sont alors avérés nécessaires afin de progresser dans la compréhension des origines et des conséquences de la présence de ces polluants. Parmi les polluants organiques les plus dangereux, les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) et les pesticides qui peuvent se retrouver à l'état de traces dans les milieux aquatiques. Leur analyse nécessite des méthodes analytiques à la fois spécifiques et sensibles. L'Extraction sur Phase Solide (SPE) suivi d'une analyse par la Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS) est la méthode la plus couramment employée. Les travaux de thèse s'inscrivent ainsi dans l'optique générale visant à développer des nouvelles méthodes analytiques pour l'extraction et l'analyse de ces deux familles de polluants organiques présents dans l'eau. Afin de pallier les contraintes classiques de la SPE, une nouvelle approche a été développée qui consiste à introduire la technique de centrifugation dans certaines étapes de la procédure SPE. La nouvelle méthode élaborée a permis de réduire considérablement le temps de préparation et d'économiser l'utilisation et le rejet des solvants organiques, en réduisant presque 10 fois les volumes nécessaires à l'obtention des rendements de récupération satisfaisants. Une méthode d'analyse par injection à température programmable (PTV) a été optimisée afin d'améliorer les seuils de détection des HAP. Cette étude a permis également d'avoir les informations sur la qualité des eaux de pluie, eaux souterraines et eaux de surface au Liban quant au niveau de leur contamination pour les HAP et les pesticides.

Mots clés: eau; contaminants organiques; hydrocarbures aromatiques polycycliques; pesticides; extraction sur phase solide; GC-MS; Liban.

ABSTRACT

Water pollution presents a very critical problem facing industrial and developing countries. The environmental monitoring of the contaminants seems necessary to understand their sources and impacts. Among a wide variety of organic pollutants present in water, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and pesticides are of particular importance as widespread, persistent, and toxic contaminants. They are usually present at trace levels in the aquatic surfaces; therefore their detection and control require selective and sensitive analytical procedures. The Solid-Phase Extraction (SPE) followed by the Gas-Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) are the most commonly used techniques for their analysis in water. Thesis objectives are focused on the development of new analytical methods for the extraction and analysis of these two families of pollutants present in water. To overcome the constraints of the traditional SPE, a new approach was developed consisting on the introduction of the centrifugation in several steps of the procedure. The new method showed practical environmental and economical advantages in terms of sample preparation time, simplicity, reduction in solvent use, and cost and is particularly suitable for routine applications requiring a high sample throughput. A programmed temperature vaporizing (PTV) injection method was also optimized and validated in order to improve the detection limits for the GC-MS analysis of PAHs. The evaluation of the quality of different water systems in Lebanon including rainwater, groundwater, drinking water and surface water was accomplished in this study.

Keywords: water analysis; organic contaminants; polycyclic aromatic hydrocarbons; pesticides; solid-phase extraction; GC-MS; Lebanon.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

RESUME

ABSTRACT

TABLE DE MATIERES

LISTE DE FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

ACRONYMES ET ABREVIATIONS

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE 1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE5

1. Les contaminants organiques dans l'environnement aquatique.....7

1.1. Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)8

1.1.1. Structure et caractéristiques physico-chimiques.....8

1.1.2. Origines des HAP.....10

a. Origine pyrolytique.....11

b. Origine pétrogénique.....12

c. Origine diagénétique13

1.1.3. Caractérisation des sources de HAP.....14

1.1.4. Les HAP dans les systèmes aquatiques16

a. Distribution des HAP dans l'environnement aquatique16

b. Niveaux des HAP dans les milieux aquatiques18

1.1.5. Toxicité des HAP18

a. Mécanismes de génotoxicité et de cancérogénicité18

b. Classement des HAP en fonction de leur toxicité21

c. Données toxicologiques21

- Toxicité aiguë21

- Toxicité chronique22

1.1.6. Réglementations23

1.2. Les Pesticides25

1.2.1. Définition et classification25

a. Premier système de classification26

b. Deuxième système de classification27

1.2.2. Consommation des pesticides27

1.2.3. Pesticides étudiés et caractéristiques physico-chimique.....31

a. Les organochlorés (OC)32

b. Les organophosphorés (OP)35

c. Les pyréthriinoïdes37

d. Les carbamates38

e. Les pyrimidines39

f. Les azoles40

g. Les triazoles	40
h. Autres pesticides	41
1.2.4. Les pesticides dans les eaux	43
a. Transfert vers les eaux souterraines : le lessivage	44
b. Transfert vers les eaux de surface : le ruissellement.....	44
1.2.5. Toxicologie et écotoxicologie	46
a. Impact sur l'homme.....	46
- Toxicité aiguë et chronique.....	48
b. Impact sur l'écosystème aquatique	49
1.2.6. Réglementations.....	49
2. Méthode d'extraction sur phase solide (SPE).....	51
2.1. Procédure classique de la SPE	51
2.2. Paramètres clés de la SPE	53
2.2.1. Choix de la phase d'extraction	53
2.2.2. Volume de l'échantillon	54
2.3.3. Séchage de l'adsorbant	54
2.3.4. Nature et volume de la phase d'elution	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	57
<u>CHAPITRE 2. DEVELOPPEMENT ANALYTIQUE</u>	69
Introduction	70
3. Optimization of a Solid-Phase Extraction Method Using Centrifugation for the Determination of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water.....	73
Abstract.....	73
3.1. Introduction.....	74
3.2. Materials and Methods.....	75
3.2.1. Chemicals, Standards, Solvents, and Small Apparatus.....	75
3.2.2. SPE Experimental Procedure.....	77
3.2.3 Gas Chromatographic-Mass Spectrometric (GC-MS) Analysis.....	77
3.3. Results and Discussion	78
3.3.1. Selection of Cartridge Type	78
3.3.2. Breakthrough Volume	78
3.3.3. Drying after Sample Loading	79
3.3.4. Elution Conditions	81
a. Nature of the Elution Phase.....	81
b. Elution Phase Volume.....	84
c. Effect of Centrifugation.....	84
3.3.5. Evaporation Step.....	85
a. Temperature Effect.....	85
b. Type and Initial Volume of Solvent: Effect of the Addition of Isooctane.....	88
3.3.6. Surrogate Standard Recoveries.....	89
3.4. Conclusion.....	90
References.....	90

4. Optimization of a programmed temperature vaporization–gas chromatography–mass spectrometry method for the trace analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in waters after a solid phase extraction.....	95
Abstract.....	95
4.1. Introduction.....	96
4.2. Materials and methods.....	98
4.2.1. Reagents and materials.....	98
4.2.2. Water sampling and extraction of PAHs.....	99
4.2.3. Instrumentation.....	99
4.2.4. Chromatographic conditions.....	100
4.2.5. Statistical software.....	100
4.3. Results and discussion.....	101
4.3.1. Optimization of PTV injection parameters.....	102
a. Plackett-Burman screening design.....	102
b. Box-Behnken design.....	104
4.3.2. Method validation	110
a. Linearity.....	110
b. Precision.....	110
c. Recovery.....	110
d. Detection and quantification limits.....	111
4.3.3. Sensitivity of the optimized PTV method	111
4.3.4. Determination of PAHs in real water samples	113
4.4. Conclusion.....	115
References.....	115
5. Multiresidue method for determination of 67 pesticides in water samples using solid-phase extraction with centrifugation and gas chromatography–mass spectrometry.....	117
Abstract.....	117
5.1. Introduction	118
5.2. Experimental.....	119
5.2.1. Reagents, standards and small apparatus.....	119
5.2.2. Solid-phase extraction.....	120
5.2.3. GC-MS analysis.....	120
5.2.4. Quantification	121
5.3. Results and discussion.....	122
5.3.1. Selection of pesticides.....	122
5.3.2. Development of the solid phase extraction procedure	122
a. Sorbent selection (SPE cartridge)	123
b. Solvent selection for analyte elution.....	123
c. Sample loading volume.....	129
d. Addition of organic solvent.....	130
e. Sorbent drying	130
f. Elute evaporation temperature.....	131
5.3.3. Method validation.....	141
a. Linearity.....	141
b. Recovery and Precision.....	141
c. Limit of Quantification	141
5.4. Conclusion	144

References.....	144
Conclusion	147
<u>CHAPITRE 3. ETUDE DE LA QUALITE DES EAUX LIBANAISES</u>	149
Introduction	150
6. Polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater collected in Beirut, Lebanon	151
Abstract	151
6.1. Introduction	152
6.2 Materials and methods	153
6.2.1. Chemicals, materials and small apparatus	153
6.2.2. Sample collection	154
6.2.3. Solid-phase extraction	155
6.2.4. GC-MS analysis and quantification	155
6.3. Results and discussion	158
6.3.1. PAHs Concentrations in Rainwater	158
6.3.2. Temporal variation and influencing factors	160
6.3.3. Relationship between the concentration and the rainfall	162
6.3.4. Sources of PAHs	163
6.4. Conclusion	164
References.....	165
7. Occurrence and determination of pesticide residues in the Lebanese aquatic systems	168
Abstract.....	168
7.1. Introduction.....	169
7.2 Materials and methods	170
7.2.1. Selected pollutants	171
7.2.2. Sampling locations	171
a. Rainwater samples	171
b. Drinking water samples	171
c. Groundwater samples	171
d. Surface water samples	171
7.2.3. Sample preparation and solid-phase extraction.....	172
7.2.4. Gas chromatography-mass spectrometry instrumentation.....	172
7.3. Results and discussion.....	177
7.3.1. Rainwater	177
7.3.2. Drinking water	177
7.3.3. Groundwater.....	178
7.3.4. Surface water	178
7.4. Conclusion.....	179
References.....	194
Conclusion	197

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	199
ANNEXES	203
Annexe 1. Propriétés physico-chimiques des 16 HAP prioritaires définis par l'US EPA.....	204
Annexe 2. Propriétés physico-chimiques des pesticides étudiés	205

LISTE DE FIGURES

Figure 1.1. Les principales sources de pollution dans l'environnement aquatique. (Figure modifiée d'après www.lemonde.fr ; IFEN 2007)	6
Figure 1.2. Structures de 16 HAPs étudiés dans notre travail et classifiés comme substances prioritaires par l'US EPA	9
Figure 1.3. Mécanisme de pyrosynthèse à partir de l'éthane proposé par Ravindra et al. 2008	12
Figure 1.4. Un schéma hypothétique pour l'aromatization des précurseurs naturels: (a) β -amyrine, (b) lupéol, proposé par Laflamme & Hites, 1979	14
Figure 1.5. Structure de benzo[a]pyrène-7,8-dihydrodiol-9,10-époxyde (BPDE)	20
Figure 1.6. Caractéristique structurale des HAP ayant un potentiel cancérigène	20
Figure 1.7. Consommation mondiale de pesticides de 1990 à 2001 (Source : www.acces.inrp.fr)	29
Figure 1.8. Marché mondiale des pesticides en 2009 (UIPP, 2009)	29
Figure 1.9. Evolution des importations des pesticides au Liban (en milliers de dollars) entre 1985 et 2008 (Source : FAOSTAT, www.faostat.fao.org)	30
Figure 1.10. Les importations de substances actives phytosanitaires vendues au Liban entre 1997 et 2006 par grand type de produit (Source FAOSTAT, www.faostat.fao.org)	30
Figure 1.11. Structure générale de deux groupes des pesticides chlorés	33
Figure 1.12. Structures chimiques des pesticides organochlorés étudiés	34
Figure 1.13. Structures des 22 pesticides organophosphorés étudiés	36
Figure 1.14. Structure générale du groupe des pyréthrinoïdes	37
Figure 1.15. Structures des trois pyréthrinoïdes étudiés	38
Figure 1.16. Structures des deux carbamates étudiés	39
Figure 1.17. Structures des trois pyrimidines étudiés	40
Figure 1.18. Structure des deux azoles étudiés	40
Figure 1.19. Structure des triazoles étudiés	41
Figure 1.20. Structures du groupe de 15 pesticides de familles variées étudiés	42
Figure 1.21. Processus de dissipation des pesticides dans l'environnement (Source : Wohlfahrt, 2008)	45
Figure 2.1. Cartouche employée pour l'extraction sur phase solide et le dispositif à vide utilisé pour la préparation d'échantillon	52
Figure 2.2. Protocole d'extraction sur phase solide	52
Figure 3.1. Structures of the 16 U.S. EPA PAHs studied in our work. LMW, low molecular weight; MMW, medium molecular weight; HWW, high molecular weight HMW	76
Figure 3.2. Extraction recovery (%) of the 16 PAHs obtained for a loaded sample volume between 500 and 1500 mL with 0.05 $\mu\text{g/L}$ of analyte	80
Figure 3.3. Recoveries (%) of Nap, AcP, and AcPy for a drying time between 10 and 60 min under vacuum. Sample volume was 500 mL with 0.05 $\mu\text{g/L}$ of analyte	81

Figure 3.4. Influence of elution solvent polarity (DCM/EtOH, DCM, DCM/Hex, and Hex) on the recoveries of the 16 PAHs extracted from 500 mL of sample with 0.05 µg/L of analyte. Cartridges were dried with 2 min of centrifugation followed by 10 min under vacuum	82
Figure 3.5. Effect of the elution volume of DCM (3, 5, 7, and 9 mL) on the recoveries of the 16 PAHs extracted from 500 mL of sample with 0.05 µg/L of analyte. Cartridges were dried with 2 min of centrifugation followed by 10 min under vacuum	86
Figure 3.6. Comparison between recoveries obtained for elution on cartridge (3 and 9 mL of DCM) and elution with centrifugation using only (3 - 1mL) DCM. Sample volume was 500 mL with 0.05 µg/L of analyte. Cartridges were dried with 2 min of centrifugation followed by 10 min under vacuum	87
Figure 3.7. Recoveries of the 16 PAHs in each 1 mL of DCM. Sample volume was 500 mL with 0.05 µg/L of analyte. Cartridges were dried with 2 min of centrifugation followed by 10 min under vacuum	87
Figure 3.8. Effect of evaporation temperature (25, 40, 50, and 60 °C) on recoveries of Nap, AcPy, and AcP for the concentration of 1mL of DCM containing 0.05 µg of each analyte	88
Figure 3.9. LMW PAH recoveries following concentration from 1 mL of DCM (0.05 µg of each analyte), with and without the addition of isooctane (200 µL and 1 mL) at 25 °C	89
Figure 4.1. Response surfaces for naphthalene (Nap), fluoranthene (FL) and benzo[a]pyrene (B[a]P). Fixed conditions (A) Flow _{purge} : 35mL/min; Time _{purge} : 2.5 min; (B) Pressure _{vent} : 35 psi, Time _{vent} : 0.8 min	106
Figure 4.2. The two ions (128 and 129) selected in selected ion monitoring (SIM) mode analysis of Naphthalene (Nap)	108
Figure 4.3. Selected ion monitoring (SIM) chromatograms of fluorene (Flu) (m/z 166), fluoranthene (FL) (m/z 202) and benzo[a]pyrene (B[a]P) (m/z 252) obtained with programmed temperature vaporization (PTV) injection (5 µL) and splitless injection (1 µL) of a standard solution at 10 ng/mL	112
Figure 5.1. Schematic representation of SPE elution procedure using centrifugation	121
Figure 5.2. GC-MS-SIM chromatogram of 67 pesticides in acetonitrile at 50 ng.mL ⁻¹	127
Figure 5.3. Schematic of the developed analytical method for the water sample extraction and analysis	128
Figure 5.4. Effect of different eluents on the recoveries of the 67 analyzed pesticides adsorbed on C ₁₈ cartridge at a concentration of 50 ng/L. Procedure a: (2x) 1 mL of DCM; procedure b: 1 mL of DCM followed by 1 mL of MeOH; procedure c: (2x) 1 mL of DCM/MeOH (1:1, v/v); procedure d: (2x) 1 mL of Hex/Acetone (1:1, v/v)	132
Figure 5.5. Effect of different eluents on the recoveries of the 67 analyzed pesticides adsorbed on HLB cartridge at a concentration of 50 ng/L. Procedure e: (2x) 1 mL of MeOH; Procedure f: 1 mL of MeOH followed by 1 mL of DCM; Procedure c: (2x) 1 mL of DCM/MeOH (1:1, v/v); Procedure d: (2x) 1 mL of Hex/Acetone (1:1, v/v)	133
Figure 5.6. Average recoveries of pesticides for a loaded sample volume between 10 and 1000 mL on C ₁₈ cartridge	134
Figure 5.7. Average recoveries of pesticides for a loaded sample volume between 10 and 1000 mL on HLB cartridge	135

Figure 5.8. Dependence of extraction efficiency on amount of organic solvent added to water sample prior to extraction on C ₁₈ cartridges	136
Figure 5.9. Dependence of extraction efficiency on amount of organic solvent added to water sample prior to extraction on HLB cartridges	137
Figure 5.10. Average recoveries of pesticide classes for a drying time between 15 and 60 min under vacuum for C ₁₈ solid phase	138
Figure 5.11. Average recoveries of pesticide classes for a drying time between 15 and 60 min under vacuum for HLB solid phase	139
Figure 5.12. Average recoveries of pesticide classes for an evaporation temperature between 40 and 70 °C	140
Figure 6.1. View of the Middle East region, Lebanon, and the position of AUB and the sampling site in Beirut	157
Figure 6.2. Relative contribution of PAH groups to the total sum of PAHs	159
Figure 6.3. Mean contribution of each individual PAH to the total PAHs in rainwater analyzed in Beirut between December 2010 and March 2011	160
Figure 6.4. Monthly variation of the sum of PAH concentrations in rainwater in Beirut between December 2010 and March 2011	161
Figure 6.5. Monthly variation of the high molecular weight PAH concentrations in rainwater in Beirut between December 2010 and March 2011	162
Figure 6.6. Variation of PAH concentrations (ng/L) with the amount of Rainfall (mm) for the sampling period	163
Figure 7.1. Map of Lebanon showing major rivers and sampling sites for surface water, rainwater, groundwater and drinking water. Reproduced with modifications from El-Fadel & Zeinati 2000	173
Figure 7.2. Solid-phase extraction method for the analysis of pesticides in water sample	176
Figure 7.3. Concentration (ng.L ⁻¹) of organochlorines in rainwater collected in Beirut between December 2010 and March 2011	180
Figure 7.4. Concentration (ng.L ⁻¹) of organophosphates in rainwater collected in Beirut between December 2010 and March 2011	181
Figure 7.5. Concentration (ng.L ⁻¹) of different families of pesticides including carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles and triazoles in rainwater collected in Beirut between December 2010 and March 2011	182
Figure 7.6. Concentration (ng.L ⁻¹) of other different pesticides (classified in our study as other pesticides group) in rainwater collected in Beirut between December 2010 and March 2011	183
Figure 7.7. Concentration (ng.L ⁻¹) of organochlorines in drinking water samples collected from different regions in Lebanon in the winter season 2011	184
Figure 7.8. Concentration (ng.L ⁻¹) of organophosphates in drinking water samples collected from different regions in Lebanon in the winter season 2011	185
Figure 7.9. Concentration (ng.L ⁻¹) of different families of pesticides including carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles and triazoles in drinking water samples collected from different regions in Lebanon in the winter season 2011	186

Figure 7.10. Concentration (ng.L ⁻¹) of different pesticides (classified in our study as other pesticides group) in drinking water samples collected from different regions in Lebanon in the winter season 2011	187
Figure 7.11. Concentration (ng.L ⁻¹) of organochlorines in three groundwater samples collected in November 2011	188
Figure 7.12. Concentration (ng.L ⁻¹) of organophosphates in three groundwater samples collected in November 2011	188
Figure 7.13. Concentration (ng.L ⁻¹) of different families of pesticides including carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles and triazoles in three groundwater samples collected in November 2011	189
Figure 7.14. Concentration (ng.L ⁻¹) of different pesticides (classified in our study as other pesticides group) in three groundwater samples collected in November 2011	189
Figure 7.15. Concentration (ng.L ⁻¹) of organochlorines in Qaraoun Lake in March and May 2011	190
Figure 7.16. Concentration (ng.L ⁻¹) of organophosphates in Qaraoun Lake in March and May 2011.	190
Figure 7.17. Concentration (ng.L ⁻¹) of different families of pesticides including carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles and triazoles in Qaraoun Lake in March and May 2011.	191
Figure 7.18. Concentration (ng.L ⁻¹) of different pesticides (classified in our study as other pesticides group) in Qaraoun Lake in March and May 2011	191
Figure 7.19. Comparison between concentrations of organochlorines pesticides in Litani River and Qaraoun Lake in May 2011	192
Figure 7.20. Comparison between concentrations of organophosphates pesticides in Litani River and Qaraoun Lake in May 2011	192
Figure 7.21. Comparison between concentrations of different families of pesticides including carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles and triazoles in Litani River and Qaraoun Lake in May 2011	193
Figure 7.22. Comparison between concentrations of different pesticides (classified in our study as other pesticides group) in Litani River and Qaraoun Lake in May 2011	193

LISTE DE TABLEAUX

Tableau 1.1. Comparaison de la composition du pétrole déversé au Liban à la station électrique du Jiyeh avec d'autres déversements (Source : CEDRE, 2006)	13
Tableau 1.2. Valeurs de quelques indices moléculaires caractérisant l'origine des HAP d'après l'étude bibliographique de Yunker et al. (2002)	16
Tableau 1.3. Contamination en HAP dans l'eau de divers environnements aquatiques	19
Tableau 1.4. Classement des HAP en fonction de leur génotoxicité et de leur cancérogénicité	22
Tableau 1.5. Le moyen annuel (AA) et la concentration maximale acceptable (MAC) des normes de qualité environnementale (EQS) pour les HAP dans les eaux de surface (Source : UE, 2008)	24
Tableau 1.6. Application des pesticides en kg/ha par type de culture (Source : MoE, 2001)	31
Table 3.1. Ions Monitored for Each Analyte Studied, Surrogate Standard, and Corresponding Internal Standard	83
Table 3.2. Recoveries and Relative Standard Deviations of Surrogate Standards for the Optimal Conditions	90
Table 4.1. The quantification, confirmation ions and retention time for each analyte, the corresponding surrogate standard and internal standard	101
Table 4.2. Experimental conditions employed for the estimation of the relative influence of all factors of the programmed temperature vaporization (PTV) injection in solvent vent mode by applying a Plackett-Burman experimental design. Fixed parameters were: final temperature of 280 °C and temperature ramp of 600 °C/min	102
Table 4.3. Estimated effects and P-values ($\alpha = 0.1$) of the seven factors of the Plackett-Burman design used for the estimation of the relative influence of factors	105
Table 4.4. Experimental conditions and response (peak area) of the Box-Behnken design used for optimization of programmed temperature vaporization (PTV) injection in GC-MS analysis of PAHs.	109
Table 4.5. Optimized factor settings and the individual and composite desirability for PAHs determination by programmed temperature vaporization (PTV) and GC-MS	107
Table 4.6. Performance characteristics of the optimized programmed temperature vaporization (PTV) injection in solvent vent mode and GC-MS analysis method	114
Table 4.7. Signal-to-noise (S/N) ratios of GC-MS analysis applying the optimized programmed temperature vaporization (PTV) injection and splitless injection for the analysis of both a solution of the 16 EPA PAHs in acetonitrile (10 ng/mL) and an extract of a water samples fortified at the same concentration level	112
Table 4.8. PAHs levels (ng/L) found in ground water samples	113
Table 5.1. Parameters for determination of 67 pesticide residues in waters by GC-MS	124
Table 5.2. Monitoring program of selected ions for 67 pesticides by GC-MS	126
Table 5.3. Validation results: Linear range, recoveries, repeatability and limits of quantitation (LOQs)	142
Table 6.1. Average recoveries of surrogate standards in rainwater samples	156

Table 6.2. Statistical summary of PAHs normalized concentration (ng/L) in precipitation	158
Table 6.3. Monthly ratios of isomeric PAH pairs	164
Table 7.1. Parameters for determination of 67 pesticide residues in waters by GC-MS in single ion monitoring (SIM) mode	174

ACRONYMES ET ABREVIATIONS

AA	Annual Average ou moyen annuel
ACN	Acetonitrile
AcP	Acenaphthene
AcPy	Acénaphtylène
ACTA	Association de Coordination Technique Agricole
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ant	Anthracène
ARN	Acide ribonucléique
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
B[a]A	Benzo[a]anthracène
B[a]P	Benzo[a]Pyrène
B[b]FL	Benzo[b]fluoranthene
B[ghi]P	Benzo[ghi]pérylène
B[k]FL	Benzo[k]fluoranthène
BP	British Petrochemica
BPDE	Benzo[a]pyrène-7,8-dihydrodiol-9,10-époxyde
°C	Degré Celcius
C₈	Octyle
C₁₈	Octadecyle
CEDRE	Centre de Documentation, de Recherche et d'Expérimentations sur les pollutions accidentelles des Eaux
Chr	Chrysène
CL₅₀	Concentration létale
cm³.g⁻¹	Centimètre cube par gramme
CN	Cyano
CO₂	Dioxyde de carbone
Da	Dalton
DBA	Dibenzo[a,h]anthracene
DCE	Directive Cadre Européenne sur l'Eau
DCM	Dichloromethane
DCP	Directive Cadre sur les Pesticides
DDD	Dichlorodiphényldichloroéthane
DDE	Dichlorodiphényldichloroéthylène
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DGPA	Direction Générale de la Production Agricole
DT₅₀	Temps de demi-vie
EFSA	Autorité Européenne de Sécurité des Aliments
EI	Electron Ionisation
EQS	Environmental Quality Standards
EtOH	Ethanol
FAO	Organisation of the United Nations
FLR	Fluorenthène
Flu	Fluorène
GC	Chromatographie en Phase Gazeuse
HAP	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
HCH	Hexachlorocyclohexane
Hex	Hexane
HLB	Hydrophilic lipophylic balance

HMW	High Molecular Weight
IARC	Agence International de Recherche sur le Cancer
IFEN	Institut Français de l'Environnement
IFO	Intermediate Fioul Oil
INERIS	Institut National de l'Environnement industriel et des RISques
InP	Indeno[1,2,3-cd]pyrène
IPCS	Programme International de Sécurité Chimique
JOCE	Journal Officiel des Communautés Européennes
K	Facteur de rétention du soluté
K_c	Coefficient de distribution dans le sol
K_d	Coefficient de partage entre le sédiment et l'eau
Kg.ha	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (Food and Agriculture kg par hectare
K_h	Constante de Henry
K_{oc}	Coefficient de partage entre le carbone organique et l'eau
K_{ow}	Coefficient de partage entre une phase aqueuse et une phase organique
K_p	Coefficient de partage entre la phase particulaire et la phase dissoute
LC	Chromatographie en phase Liquide
LLE	Liquid-Liquid Extraction
LMW	Low Molecular Weight
LOEC	Lowest Observed Effect Concentration
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
LVI	Large Volume Injection
µg.L⁻¹	Microgramme par litre
Mg.L⁻¹	Milligramme par litre
mL.min⁻¹	Millilitre par minute
µm	Micromètre
m².g⁻¹	Mètre carré par gramme
MAC	Maximum Allowable Concentration ou Concentration maximale acceptable
MES	Matières en suspension
MeOH	Methanol
MMI	Multi-Mode Inlet
MMW	Medium Molecular Weight
MoA	Ministère de l'Agriculture libanais
MoE	Ministère de l'Environnement libanais
MS	Spectrométrie de Masse
MS-MS	Tandem Mass Spectrometry
Nap	Naphtalène
ng.L⁻¹	Nanogramme par litre
NOEC	No Observed Effect Concentration
OC	Organochlorés
OMS	L'Organisation Mondiale pour la Santé
OP	Organophosphorés
PAH	Polycyclic Aromatic Hydrocarbons
Pa.m³.mol⁻¹	Pascal par mètre cube par unité de mol
PCB	Polychlorobiphényles
Per	Pérylène
Phe	Phénanthrène
ppm	Concentration en partie par million
PS-DVB	Polystyrène-di vinylbenzène

PTFE	Polytetrafluoroéthylène
PTV	Injecteur à température programmable ou Programmed Temperature Vaporization
Pyr	Pyrène
R²	Coefficient of determination
RPM	Revolutions per minute
RSDi	Intermediate Precision
RSDr	Relative repeatability Standard Deviations
SIM	Selective Ion Monitoring
S/N	Signal to Noise
SPE	Solid-phase extraction
t.an⁻¹	Tonne par an
TD₅₀	Temps de demi vie
UE	Union Européenne
UIPP	Union des Industries de la Protection des Plantes
US-EPA	Agence pour la Protection de l'Environnement des Etats-Unis ou US Environmental Protection Agency
V_f	Volume de fin de fixation
V_m	Volume maximal correspondant à 99 % de l'absorbance
WFD	Water Framework Directive
WHO	World Health Organization

Introduction

Depuis l'explosion de l'industrie chimique au début du XX^{ème} siècle et l'utilisation de produits de synthèse dans la vie quotidienne, des quantités croissantes de substances chimiques d'origines industrielles, agricoles ou domestiques, n'ont cessé d'être émises dans l'environnement. Cet accroissement parfois immodéré de ces activités est à l'origine de pollutions anthropiques de natures très diverses (physiques, chimiques, microbiologique...). Certains contaminants de nature chimique ont un caractère global par leur étendue géographique ; c'est le cas de nombreux composés organiques dont certains sont dorénavant imbriqués dans les cycles biogéochimiques naturels, tels que les HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques), issus prioritairement des rejets des activités urbaines et industrielles ainsi que certains pesticides (organochlorés, organophosphorés...), utilisés dans l'agriculture et d'autres applications de biocides. Des nombreuses études ont révélé les propriétés toxiques de ces deux familles de contaminants et leur capacité d'altérer les fonctions biologiques chez les êtres vivants.

Quelles que soient les sources de pollution et le compartiment de l'environnement dans lequel les contaminants sont émis, une grande partie de ces substances rejetées passent dans les milieux aquatiques. L'enjeu écologique et humain que représente cette ressource, la pollution des eaux est particulièrement problématique pour les pays industrialisés et les pays en développement. Des suivis environnementaux se sont alors avérés nécessaires afin de progresser dans la compréhension des origines et des conséquences de la présence de ces polluants dans l'environnement aquatique. Les HAP et les pesticides, notamment, se retrouvent à l'état de traces dans les milieux aquatiques. Leur analyse nécessite des méthodes analytiques à la fois spécifiques et sensibles. Bien que les techniques de séparation et de détection soient de plus en plus performantes suite aux nombreux développements technologiques, ces outils mis à la disposition des laboratoires de contrôle et de recherche ne permettent pas systématiquement d'identifier et de quantifier les espèces recherchés présents en faibles teneurs dans des matrices très diluées. Une étape de prétraitement s'avère alors nécessaire pour la préconcentration de polluants, et/ou la purification de l'échantillon afin de s'affranchir d'éventuels effets de matrice. Cette étape est souvent laissée en retrait, alors qu'elle représente la deuxième importante source d'erreurs de la méthode analytique après l'échantillonnage et que l'analyste lui consacre approximativement plus de 50% de temps de l'analyse.

Les méthodes de prétraitement utilisées mettent en jeu des principes différents selon les propriétés physico-chimiques des composés à extraire (polarité, volatilité..) et la nature de la matrice de l'échantillon (eaux de surface, eaux usées, eaux de mer...). L'extraction sur phase solide ou Solid-Phase Extraction (SPE) est la méthode la plus couramment employée pour l'analyse des HAP et de pesticides dans l'eau. Elle est basée sur la distribution des composés à extraire entre la phase liquide, l'échantillon, et la phase solide, l'adsorbant. L'évolution de la SPE a été facilitée par la commercialisation de phases de natures très variées et dédiées à des composés et à des échantillons différents. Cependant, même si elle est simple et efficace, la technique SPE présente quelques inconvénients au niveau de la consommation des solvants et du nombre d'étapes d'extraction qui peuvent conduire à des pertes de certains composés. Actuellement, la tendance est plutôt de s'orienter vers des protocoles efficaces, rapides et peu coûteux, mais aussi facilement utilisables pour les analyses de routine. Un point important est également de réduire le volume de solvants utilisés afin de minimiser les risques liés à la santé et à l'environnement.

Nos travaux de thèse s'inscrivent ainsi dans l'optique générale visant à développer des nouvelles méthodes analytiques pour l'extraction et l'analyse des deux familles de polluants organiques présents dans l'eau, les HAP et les pesticides. Afin de pallier les contraintes de la SPE classique, une nouvelle approche a été développée qui consiste à introduire la centrifugation lors de la procédure SPE. La comparaison avec la méthode SPE conventionnelle a été réalisée afin de relever les avantages des méthodes développées. Cette étude a également pour objectif de vérifier la validité des méthodes optimisées au laboratoire et faire l'évaluation de la qualité des eaux libanaises.

Ces travaux de thèse ont été effectués dans le cadre d'un projet commun financé par l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) et le Conseil National de la Recherche Scientifique Libanais (CNRSL). Les travaux ont été menés alternativement dans l'établissement d'accueil, le Laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'environnement (LPTC) à l'Université de Bordeaux 1 et dans l'établissement de l'origine, le Laboratoire d'Analyse de Pesticides et de Polluants Organiques (LAPPO) de la Commission Libanaise de l'Energie Atomique (CLEA-CNRSL) à Beyrouth.

Le mémoire de thèse est organisé en trois chapitres. Dans le **chapitre 1**, une synthèse bibliographique présente l'état des connaissances actuelles sur les deux familles de contaminants organiques étudiés : Les HAP et les pesticides. Les différents aspects abordés

directement ou indirectement au cours de ces travaux, sont traités : Natures, propriétés physico-chimiques, sources d'introduction dans l'environnement, présences et devenir dans les différents compartiments environnementaux surtout aquatique et toxicité. Ce chapitre décrit également les réglementations européennes et internationales sur la présence des contaminants étudiés dans l'environnement aquatique. Ce 1^{er} chapitre sera finalisé par une exposition de la technique SPE pour l'extraction des HAP et des pesticides à partir de l'eau: Principe, formats, différents adsorbants utilisés, en insistant sur les paramètres clés de la méthode.

Le **chapitre 2** est constitué de trois articles exposant les travaux et les résultats du développement analytique réalisé suivant les objectifs de la thèse. Les deux premières publications reprennent les optimisations de la technique d'extraction (SPE combinée avec la centrifugation) et d'analyse (par GC-MS avec injection en mode PTV) appliquées pour la quantification des HAP dans les eaux, ainsi qu'une comparaison avec les techniques conventionnelles. La troisième publication présente l'élaboration et l'optimisation de la technique d'extraction SPE pour l'analyse d'un large groupe de pesticides dans les eaux.

Enfin, le **chapitre 3** s'intéresse aux applications des méthodes analytiques développées dans le cadre de l'évaluation de la qualité des eaux au Liban pour les deux types de contaminants étudiés. Ces applications sont présentées sous la forme de deux articles ; le premier concerne l'analyse, la distribution, et l'évaluation des sources possibles des HAP dans les eaux de pluie, alors que le deuxième porte sur l'évaluation de la présence des pesticides dans les différents systèmes aquatiques au Liban.

Chapitre 1.
Synthèse Bibliographique

Le premier chapitre présente synthétiquement l'état des connaissances actuelles sur les différents contaminants étudiés au cours de ces travaux, leurs caractéristiques, leurs effets sur les organismes ainsi que leurs concentrations dans l'environnement aquatique.

De plus, une attention particulière sera portée sur la méthode de traitement d'échantillons aqueux la plus employée lors de l'analyse de composés à l'état de traces sera détaillée : l'extraction sur phase solide.

1. Les contaminants organiques dans l'environnement aquatique

Les écosystèmes aquatiques représentent d'importants réservoirs de polluants dont certains sont toxiques et leur rejet dans l'environnement peut constituer une menace pour l'équilibre des écosystèmes aquatiques et pour la santé humaine. Les sources de pollution de l'eau sont diverses et touchent de très nombreux pays, y compris le Liban. Parmi ces pollutions, on retrouve les sources industrielles, agricoles, domestiques et naturelles, qui peuvent être directes ou indirectes, ponctuelles ou diffuses. Les principaux types de polluants qui atteignent l'environnement aquatique et leurs origines sont présentés dans la Figure 1.1.

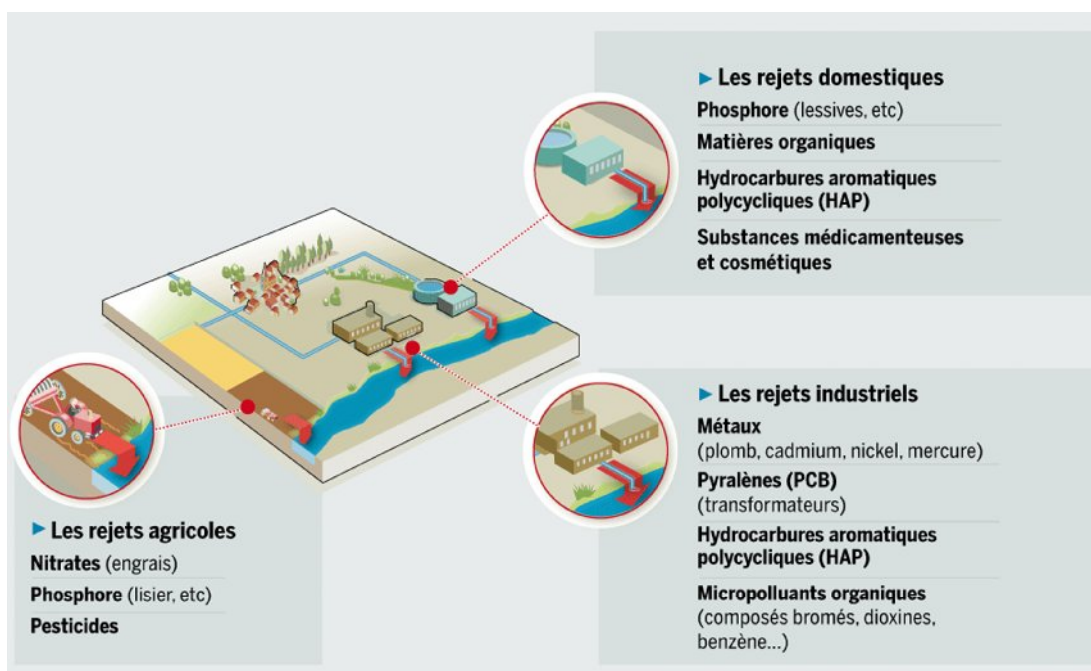


Figure 1.1. Les principales sources de pollution dans l'environnement aquatique. (Figure modifiée d'après www.lemonde.fr ; IFEN, 2007)

Les contaminants peuvent être classés en deux groupes :

- Les composés organiques qui sont représentés par les HAP, les polychlorobiphényles (PCB), les pesticides, les médicaments, les dioxines, les chlorophénols, les phthalates et d'autres composés comme le benzène-toluène-xylène etc...
- Les composés inorganiques qui regroupent les composés métalliques, les matières azotées, le phosphorés, etc...

Dans le cadre de ces travaux de thèse, deux classes de contaminants ont été étudiées, les HAP et les pesticides, sur des critères de concentrations élevées dans les milieux aquatiques, de rémanence, de toxicité élevée et de risque de bioaccumulation/bioconcentration dans le compartiment biologique.

1.1. Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)

1.1.1. Structure et caractéristiques physico-chimiques

Les HAP sont des composés organiques constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène dont la structure des molécules comprend au moins deux noyaux aromatiques condensés. La famille des HAP comprend de nombreuses substances qui diffèrent entre elles par le nombre et la position de cycles benzéniques (Neff, 1979), mais une centaine seulement de ces molécules ont été identifiées dans l'environnement. Seize HAP ont été retenus par l'Agence pour la Protection de l'Environnement des Etats-Unis (US EPA) comme polluants organiques prioritaires et suscitent donc un intérêt particulier dans la surveillance de l'environnement (ATSDR, 1990). Les structures de 16 HAP de l'US EPA étudiés sont représentées dans la Figure 1.2.

Les propriétés physico-chimiques des HAP dépendent de leurs structures et leurs masses moléculaire et conditionnent leur devenir et leur distribution dans l'environnement. Selon leur nombre de cycles benzéniques, ces composés sont classés en HAP "légers" (≤ 3 cycles) et HAP "lourds" (≥ 4 cycles). Leurs propriétés sont résumées dans l'Annexe 1. En général, les HAP sont considérés comme des molécules apolaires, hydrophobes, et peu solubles dans l'eau. Leur caractère hydrophobe augmente avec le nombre de cycles aromatiques, alors que leur solubilité diminue. Les HAP susceptibles d'être présents dans le milieu aquatique ont entre deux et dix noyaux aromatiques. Au-delà, leur solubilité est trop faible pour qu'ils soient détectés dans les environnements aqueux. Les faibles pressions de vapeur des HAP leur confèrent une faible volatilité qui diminue avec le poids moléculaire, à l'exception du HAP di-aromatique, le naphthalène (Nap), qui peut se volatiliser de la surface de l'eau ou du sol (INERIS, 2006).

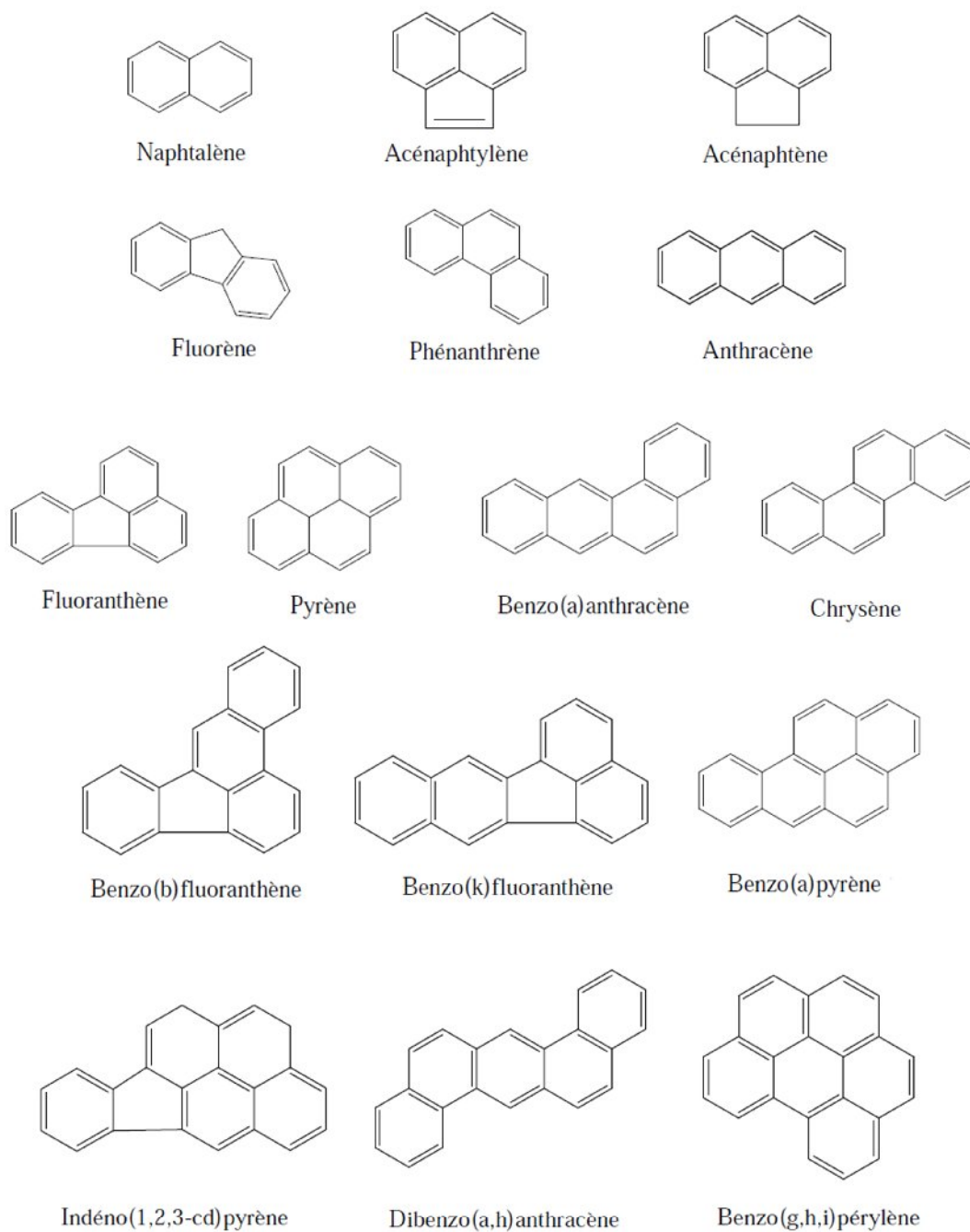


Figure 1.2. Structures de 16 HAPs étudiés dans notre travail et classés comme substances prioritaires par l'US EPA.

En plus de ces paramètres classiques, les coefficients de partage sont utilisés pour décrire la distribution des HAP dans les différents compartiments environnementaux : partage entre une phase aqueuse et une phase organique (K_{ow}), le sédiment et l'eau (K_d), le carbone organique et l'eau (K_{oc}). Les valeurs de ces coefficients de partage, présentées dans l'Annexe 1, augmentent avec la masse moléculaire. En effet, les HAP lourds (penta- à hexa-aromatiques) présentent une lipophilie/hydrophobie, ainsi que des affinités pour la matière organique, les particules et les sédiments, plus importantes que les HAP légers (di- à tétra-aromatiques).

1.1.2. Origines des HAP

La formation des HAP peut résulter de processus naturels, mais l'activité anthropique est généralement considérée comme la source majeure d'introduction des HAP dans l'environnement. Les sources naturelles regroupent les éruptions volcaniques, la combustion de biomasse lors des feux de forêt et les fuites de réservoirs naturels de pétrole (Freeman et al., 1990; Hoyau et al., 1996; Pozzoli et al., 2004). La majorité des émissions en HAP anthropique est issue de la combustion des dérivés du pétrole, du charbon, du gaz naturel ou encore d'ordures ménagères (Besombes et al., 2001). En 2004, l'estimation de l'émission atmosphérique mondiale de 16 HAP était de 520 000 tonnes, avec un pourcentage de 56,7% provenant de la combustion de biocarburants et 17% des incendies de forêts (Zhang et Tao, 2009).

Trois sources principales peuvent être considérées pour les HAP (Neff, 1979; McElroy, 1989). La plus importante, qualifiée de source pyrolytique, provient de la combustion incomplète de la matière organique à haute température. Les HAP peuvent être également générés par la maturation de la matière organique soumise à un gradient géothermique naturel et se trouve donc dans le pétrole et le charbon. Cette source est appelée la source pétrogénique. Une troisième source dite diagénétique, qui est plutôt minoritaire, correspond à la diagenèse précoce. Dans tous les cas, les HAP peuvent pénétrer directement dans le milieu aquatique par de sources ponctuelles, comme les effluents industriels et urbains, ou à travers de sources diffuses, comme les eaux de ruissellement en zones rurales et en zones urbaines et les retombées atmosphériques.

a. Origine pyrolytique

Les HAP d'origine pyrolytiques sont générés lors de la combustion incomplète de la matière organique à haute température ($> 500^{\circ}\text{C}$) et dans une période de temps extrêmement courte (Hase et Hites, 1978). Les mécanismes de formation des HAP générés thermiquement ne sont pas encore totalement connus, mais ils semblent toutefois impliquer deux mécanismes de pyrolyse et pyrosynthèse (Neff, 1979; Glarborg, 2007; Appel et al., 2000; Rockne et al., 2002; Frenklach, 2002; Ledesma et al., 2000; Dobbins et al., 2006). L'importance relative des deux mécanismes dépend de la nature de la matière organique et des processus de combustion (Baek et al., 1991 ; Collier et al., 1995 ; Marr et al., 1999). Sous l'effet de la température, les substances organiques se fragmentent en composés instables (Ledesma et al., 2000). Ces fragments, principalement des radicaux libres très réactifs, ont des temps de vie très courts. Une partie d'entre eux vont réagir avec l'oxygène présent pour former du CO_2 et de l'eau. Mais l'oxygène étant généralement insuffisant pour accomplir une oxydation totale, une partie de ces fragments vont réagir entre eux pour former de l'acétylène qui se condense davantage en formant des structures cycliques aromatiques résistants à la dégradation thermique. La recombinaison de ces fragments va conduire lors du refroidissement à des composés organiques de plus en plus complexes (Mastral et Callén, 2000 ; Richter et Howards, 2000 ; Ravindra et al., 2008). La Figure 1.3 illustre la formation de ces anneaux aromatiques à partir de l'éthane (Ravindra et al., 2008). Plus récemment, une publication de Richter et Howard en 2000 a discuté les mécanismes potentiels de formation des HAP par pyrolyse. Plusieurs démarches cinétiques ont été proposées : 1) l'oxydation, ce qui entraîne la formation du premier cycle aromatique (benzène) et des HAP lourds (500 - 1000 Da), 2) la nucléation ou la création de particules de suie naissante (2000 Da, ϕ 1,5 nm), 3) la croissance de la masse des particules par ajout de molécules en phase gazeuse, y compris les HAP radicaux et 4) la coagulation par collision entre les particules.

Les hautes températures auxquelles les processus pyrolytiques se réalisent favorisent la formation des HAP les plus lourds (tétra- à hexa-aromatiques) et des HAP non substitués. D'autres paramètres tels que la composition du combustible de base (le rendement de formation des HAP augmente avec le pourcentage des composés aromatiques, d'alcènes cycliques, d'alcènes, et d'alcanes), et la proportion d'oxygène influencent également la nature et l'abondance des HAP formés par les processus de combustion (Manahan, 1994 ; Mastral et Callén, 2000 ; Revuelta et al., 1999).

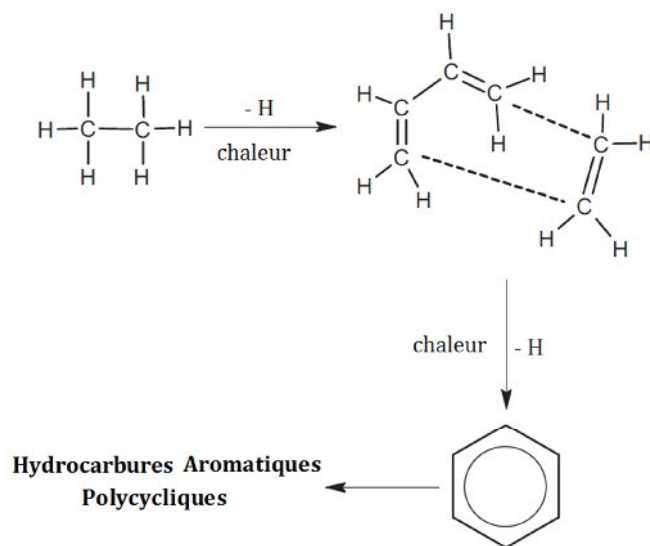


Figure 1.3. Mécanisme de pyrosynthèse à partir de l'éthane proposé par Ravindra et al. 2008.

b. Origine pétrogénique

Un autre mode de formation des HAP provient de la formation géologique des combustibles fossiles tels que le pétrole ou le charbon lors de la dégradation des substances organiques, à pression élevée (300 à 1500 bars) et à température réduite (100 à 150 °C). Ces mécanismes produisent des mélanges complexes de pétroles dont la part massique des composés aromatiques peut dépasser parfois 50%, les HAP (inclus les HAP alkylés et soufrés compris) représentant environ 65% des aromatiques (Neff, 1979).

La fraction aromatique varie entre les différents types de pétrole brut. Neff, 1979 a publié une étude montrant que la teneur en aromatiques des huiles minérales varie de 7% - 34%. Ryder et al. (2002) a rapporté que les valeurs aromatiques variait de 18% à 41% pour les échantillons de pétrole brut de British Petrochemica (BP). Le pétrole lourd transporté par le pétrolier Prestige et déversé sur les côtes de l'Espagne en 2002 était composé de 50% des hydrocarbures aromatiques (Saco-Alvarez et al. 2008). Au Liban, le pétrole de IFO 150 (Intermediate Fioul Oil) déversé sur le littoral en juillet 2006 après le bombardement des réserves pétrolières de la centrale électrique de Jiyeh, à 30 km au sud de Beyrouth, était principalement composé d'acides gras saturés (plus de 50%) avec une teneur en aromatiques relativement faible (< 28%) selon le Centre de Documentation, de Recherche et d'Expérimentations sur les pollutions accidentelles des Eaux CEDRE (CEDRE, 2006) (Tableau 1.1).

En raison de la température relativement basse lors de la formation du pétrole, les HAP sont formés plus lentement et la proportion des HAP alkylés augmente. Le Nap, le phénanthrène (Phe) et leurs dérivés alkylés, sont les principaux HAP présents dans les matériels pétrogéniques du fait de leur grande stabilité thermodynamique (Ho et al., 1974 ; Wakeham et al., 1980a ; Budzinski, 1993 ; Wang et al., 2004). Le soufre est également un élément abondant dans les pétroles (0,05 - 14%) et peut être incorporé à de nombreuses molécules organiques lors des diagénèses précoces, formant notamment des HAP soufrés (dibenzothiophène, benzothiophène) (Wakeham et al., 1995 ; Sripada, 2005).

Tableau 1.1. Comparaison de la composition du pétrole déversé au Liban à la station électrique du Jiyyeh avec d'autres déversements (Source : CEDRE, 2006).

Marée noire	Composés saturés (%)	Composés aromatiques (%)	Résines et asphaltènes (%)
Jiyyeh (IFO 150)	50	28	22
Erika (fioul lourd no. 6)	23	53	24
Prestige (fioul lourd no. 2 M100)	22	56	22

c. Origine diagénétique

Enfin, les HAP peuvent également dériver de la modification chimique lors de la diagénèse précoce des précurseurs biogéniques tels que les di- et tri-terpènes, stéroïdes, pigments, quinones, accumulés dans les sédiments ou sols récents et dans une période géologique relativement courte (Laflamme et Hites, 1979 ; Wakeham et al., 1980b). Ces précurseurs peuvent provenir de tissus biologiques terrestres ou aquatiques (plantes, animaux, bactéries, macro- et micro-algues) (Wang et al., 2004). La source diagénétique est toutefois minoritaire par rapport aux deux autres sources, pyrolytique et pétrogénique (Budzinski et al., 1997).

Ces HAP sont limités à quelques groupes de composés : HAP tétra-et pentacycliques issus de tri-terpènes, rétène et pimanthrène issus de di-terpènes, une série d'homologues de phénanthrène et pérylène (Wakeham et al. 1980b). Ces HAP sont couramment utilisés pour l'identification des ressources naturelles des HAP dans les sédiments (Lipiatou et Saliot,

1991; Silliman et al, 1998). La Figure 1.4 présente un mécanisme proposé par Laflamme et Hites (1979) de la transformation des précurseurs tels que tri-terpénoïdes lupéol et β -amyrine en hydrocarbures pentacycliques par clivage et aromatisation.

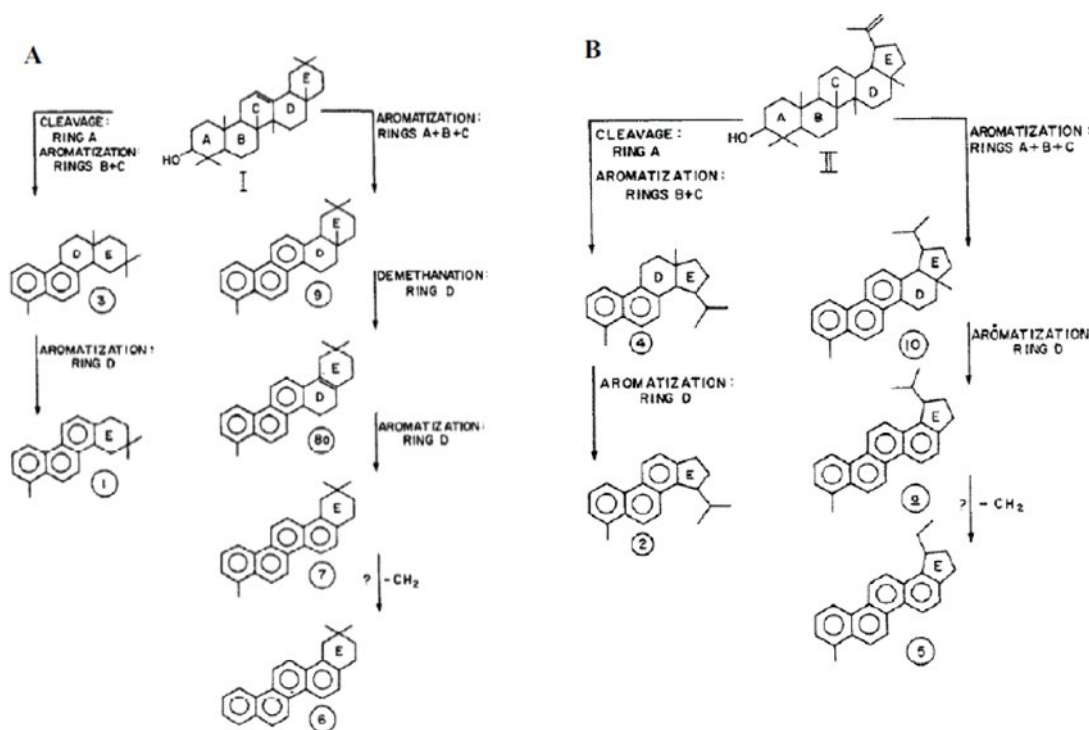


Figure 1.4. Un schéma hypothétique pour l'aromatisation des précurseurs naturels: (a) β -amyrine, (b) lupéol, proposé par Laflamme & Hites, 1979.

1.1.3. Caractérisation des sources de HAP

Chacune de trois sources de HAP génère une empreinte moléculaire caractéristique puisque les températures et les temps de formation lui sont propres. Ainsi, l'étude de la distribution de l'ensemble des HAP ou « profil moléculaire » dans une matrice environnementale peut renseigner quant à la contribution des différentes sources de pollution (Budzinski et al., 1997; Yunker et al., 2002). Dans le cas d'une origine pyrolytique des HAP, les composés parents sont majoritairement formés avec très peu de composés substitués, ainsi qu'une prédominance des HAP lourds de haut poids moléculaire (5 - 6 cycles aromatiques) vis-à-vis des HAP légers. Dans le cas des sources pétrogéniques, des mélanges plus complexes de HAP sont formés. Les composés formés sont essentiellement des HAP légers

(2 - 3 cycles aromatiques) de faible masse moléculaire avec une présence plus forte des HAP alkylés (C_1 - C_4) et/ou soufrés. Le profil d'une contamination par des produits pétrogéniques est caractérisé par une distribution $C_0 < C_1 < C_2 < C_3 < C_4$, C_x étant le nombre de carbones ramifiés.

Afin de caractériser la distribution des HAP en fonction du processus qui les a générés, les indices moléculaires basés sur les concentrations en HAP parents ou en HAP alkylés ont été développés. Pourtant, ces comparaisons simples ne suffisent pas à l'identification des sources des HAP car les matrices environnementales en milieu urbain présentent des contaminations diverses. Il est nécessaire d'utiliser des outils plus élaborés combinant divers rapports caractéristiques. Des indices moléculaires basés sur les caractéristiques de stabilité thermodynamique ont été développés pour mettre en évidence l'origine de ces composés. Le Phe est l'HAP triaromatique le plus stable thermodynamiquement et il est présent à de fortes concentrations dans les HAP pétrogéniques, qui ont mûri pendant des très longues périodes de temps. A haute température, la réaction est rapide et les propriétés cinétiques de synthèse des HAP sont déterminantes et un autre isomère, l'anthracène (Ant) est plus facilement formé. Le rapport Ant/Ant+Phe dépend de la température de formation, et permet de différencier les sources, pyrolytique ou pétrogénique; les valeurs Ant/Ant+Phe < 0,1 sont générées par une source pétrogénique alors que des rapports plus élevés Ant/Ant+Phe > 0,1 caractérisent la source pyrolytique (Soclo, 1986). Les mêmes considérations peuvent être appliquées à de nombreux autres indices décrits dans la littérature (Sicre et al., 1987 ; Colombo et al., 1989 ; Budzinski et al., 1997 ; Yunker et al., 2002). Dans une étude bibliographique publiée en 2002 sur l'utilisation et la fiabilité des indices moléculaires, Yunker et al. (2002) a indiqué que les isomères de masse moléculaire 228 (benzo[a]anthracène/chrysène ou B[a]A/Chr) ne semblent pas avoir des énergies de formation suffisamment distinctes pour pouvoir les utiliser comme des indices discriminants alors que les isomères de masses moléculaires 276 (indéno[1,2,3cd]pyrène/benzo[g,h,i]pérylène ou InP/B[ghi]P) et 202 (fluoranthène/pyrène FL/Pyr) présentent les plus grandes différences en énergie de formation nécessaire et peuvent être de bons indicateurs. Le Tableau 1.2 résume les valeurs seuils de discrimination pour quelques indices moléculaires.

Le pérylène pourrait être un marqueur spécifique de source diagénétique en étant un dérivé de précurseurs biogéniques généré de la matière organique aquatique (Venkatesam et

al., 1988). Néanmoins, l'origine de ce composé est discutable. Des teneurs de pérylène très importantes ont été observés dans des sédiments anoxiques recevant un apport considérable de matière organique d'origine terrestre (Laflamme et Hites 1978 ; Budzinski et al. 1997).

Tableau 1.2. Valeurs de quelques indices moléculaires caractérisant l'origine des HAP d'après l'étude bibliographique de Yunker et al. (2002).

Indices	$\frac{\sum \text{HAP légers}}{\sum \text{HAP lourds}}$	Ant/ (Ant+Phe)	FL/ (FL+Pyr)	BaA/ (B[a]A+Chr)	InP/ (InP+B[ghi]P)
Origine pétrogénique	> 1	< 0,1	< 0,5	< 0,2	< 0,2
Origine pyrolytique	< 1	> 0,1	Pétrole : 0,4 – 0,5 Autre : > 0,5	> 0,35	Pétrole : 0,2 – 0,5 Autre : > 0,5

Dans tous les cas, plusieurs indices relatifs à différents composés aromatiques devraient être utilisés pour prédire les origines des HAP parce que les limites entre les différents rapports ne sont pas faciles à identifier d'une part, et que d'autre part il peut y avoir une surimposition de plusieurs sources de contamination dans les échantillons naturels.

1.1.4. Les HAP dans les systèmes aquatiques

a. Distribution des HAP dans l'environnement aquatique

Les HAP ont été détectés dans tous les compartiments environnementaux (air, eau, sols et sédiments) (Menzie et al. 1992). Les composés formés lors de la combustion de la matière organique sont introduits dans l'atmosphère et peuvent avoir un temps de résidence assez long en s'adsorbant sur des particules fines (< 1-3 μm). Les HAP sont transportés sous forme gazeuse ou sous forme adsorbée sur des particules à des centaines voire des milliers de kilomètres de leur lieu de formation et/ou d'émission (Abrajano et al. 2007). Les HAP sont ensuite introduits dans le milieu aquatique par voie sèche ou humide (Neff, 1979). Les HAP déposés peuvent aussi être entraînés par le ruissellement des eaux pour atteindre le milieu marin (Brummage, 1975; Borneff, 1977; MacKenzie et Hunter, 1979; Brown et al., 1985; Latimer et al., 1990). Après leur introduction dans les milieux aquatiques, les HAP se

distribuent sous forme dissoute, adsorbée sur la matière organique ou adsorbée sur les particules en suspension.

Le partage des HAP entre les différentes phases du milieu aquatique est principalement gouverné par leur caractère hydrophobe évalué par K_{ow} . Les HAP les plus solubles dans l'eau, ayant de faibles masses moléculaires sont généralement les plus concentrés dans la phase dissoute alors que les HAP de plus grande masse moléculaire, plus hydrophobes, ont plus tendance à s'adsorber sur les matières en suspension. Leur concentration dans la phase dissoute est très faible. La fraction dissoute des composés les moins solubles ($K_{ow} > 6$) diminue dramatiquement en présence de particules organiques en suspension dans la colonne d'eau (Gobas et Zhang, 1994). Le coefficient de partage entre la phase particulaire et la phase dissoute (K_p) est calculé par le rapport des concentrations du contaminant dans chaque phase ; les composés les plus hydrophobes sont caractérisés par des coefficients de partage K_p élevés.

En plus de leurs propriétés intrinsèques, la partition des HAP entre l'eau et les phases solides dépend des caractéristiques du milieu. Ainsi, l'affinité des HAP pour les particules en suspension ou les sédiments peut varier en fonction de différents paramètres liés au milieu (Landrum et al., 1992; Harkey et al., 1994). La nature et la concentration en matières organiques dissoutes et en Matières en Suspension (MES), la granulométrie et le temps de contact avec le polluant sont des paramètres déterminants (Harkey et al., 1994). L'affinité des HAP pour les MES augmente avec la teneur en carbone organique et pour les particules de faible granulométrie (Knezovich et al., 1987 ; Gobas et Zhang, 1994).

Les particules et les colloïdes subissent ensuite des processus de sédimentation directe ou indirecte ; la masse sédimentaire constitue ainsi le réservoir majeur des composés hydrophobes (Neff, 1979). En 1997, une étude de Lippiatou et Saliot (1991) concernant la zone ouest de la Méditerranée a estimé que 50% des HAP introduits dans cette zone finissent incorporés dans les sédiments côtiers (0-200 m de profondeur) et près de 13% dans les sédiments compris entre 1000 et 2000 m de profondeur. Les HAP peuvent être libérés de nouveau dans la colonne d'eau par des phénomènes de remise en suspension dus aux courants marins ainsi que par la bioturbation (Windsor et Hites, 1979; Karickhoff et Morris, 1985). Des phénomènes de biodégradation (aérobie ou anaérobie) peuvent avoir lieu dans les sédiments et affectent particulièrement les HAP de faible masse moléculaire (Bailey et al., 1973; Gardner et al., 1979; Bence et al. 1996; Douglas et al. 1996; Venosa et al., 1996;

Sugiura et al., 1997), alors que les HAP de hauts masse moléculaire semblent plus résistants aux processus de dégradation bactérienne et tendent à persister plus longtemps (Abrajano et al. 2007). Les HAP peuvent être également sujets à la photodégradation dans la zone photique de l'eau à cause de leur aromaticité et leurs liaisons chimiques conjuguées (Abrajano et al. 2007), mais la dégradation bactérienne reste le processus le plus dominant pour éliminer les HAP des environnements contaminés. Au cours de ces cycles géochimiques, les HAP peuvent être ingérés puis accumulés ou transformés par les organismes vivants.

b. Niveaux des HAP dans les milieux aquatiques

Les niveaux de contamination par les HAP dans les systèmes aquatiques sont très variés d'un milieu à un autre, que ce soit à une échelle régionale ou à l'échelle mondiale. Le tableau 1.3 présente quelques-unes des données obtenues lors des différentes études à travers le monde pour divers types d'eau : Eau de surface, eau de mer, eau pluviale et eau potable. La gamme de concentrations mesurées varie de quelques ng.L^{-1} à la dizaine de $\mu\text{g.L}^{-1}$ et cette variabilité est liée à la répartition spatiale des activités anthropiques et des sources naturelles, ainsi qu'aux fluctuations temporelles de celles-ci.

1.1.5. Toxicité des HAP

Depuis plusieurs décennies, les HAPs ont été identifiés comme responsables d'effets toxiques chez l'animal et sur la santé humaine (Kennaway et Hieger, 1930, Kennaway, 1955).

Les principaux effets toxiques des HAP sont la cancérogénicité, la génotoxicité, tératogénéicité (Barbieri et al, 1986 ; De Flora et al., 1991), ainsi qu'une immunotoxicité chez le biota (Dean et al., 1983; Blanton et al., 1986 ; Deal, 1995 ; Klaasen, 1997). De plus, certains HAP sont aussi suspectés de modifier l'activité du système endocrinien (Lintelmann et al., 2003).

a. Mécanismes de génotoxicité et de cancérogénicité

Les caractères génotoxiques (mutagènes) et cancérigènes des HAP sont les aspects les plus étudiés à ce jour. Lors de la première phase de biotransformation des HAP, les intermédiaires électrophiles formés peuvent ne pas être pris en charge par la phase de

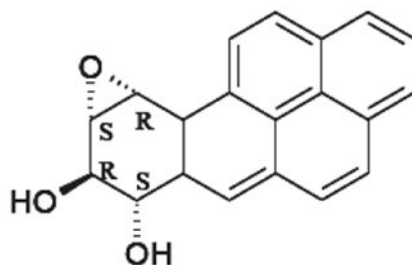
conjugaison. Certains d'entre eux, comme les diols-époxydes, peuvent se lier de manière covalente avec l'ADN (acide désoxyribonucléique), l'ARN (acide ribonucléique) ou des protéines (Brookes et Lawley, 1964; Ahokas et Pelkonen, 1984; Neff, 1985; Harvey, 1991; Harvey et al., 1999) entraînant ainsi des dysfonctionnements cellulaires, des mutations génétiques et la formation de tumeurs cancérogènes (Pahlman et Pelkonen, 1987; Nesnow et al., 2002). Plus précisément, ces métabolites peuvent s'insérer entre les plans de bases de l'ADN et former des adduits stables avec celles-ci. Lors de la réplication de l'ADN, des erreurs de reconnaissance de bases complémentaires peuvent alors avoir lieu conduisant à des mutations de celle-ci.

Tableau 1.3. Contamination en HAP dans l'eau de divers environnements aquatiques.

Type d'eau	Régions	HAP dissous (ng.L ⁻¹)	Référence
Eau de mer	Mer Méditerranée (Ouest)	0,4 – 0,89	Dachs et al., 1997
	Mer Méditerranée (Sud), côte égyptienne	16 - 120	El Nemr et Abd-Allah, 2003
	Mer Méditerranée, Barcelone	1,8	
	Mer Méditerranée, Grèce	113 - 459	Valavanidis et al., 2008
	Mer Egée (Nord)	1,6 - 33	
	Mer Baltique	< 0,4	Broman et al., 1990 ; Source : Olivella, 2006
	Mer Noire	< 0,5	Maldonado et al., 1999
	Chine, port de Macao	700	Luo et al., 2004
Eau de pluie	France, Strasbourg	212,3 - 1981,3	Delhomme et al., 2007
	France, Erstein	103,7 - 2771,6	Delhomme et al., 2007
	Chine (Sud), Guangzho	617 - 3488	Huang et al., 2009
Potable	Pologne	38 - 9815	Kabzinski et al., 2002
Eau de surface	Pologne, Lac Sulejów	22 - 13832	Kabzinski et al., 2002
	Italie, Lac Majeur		Olivella, 2006
	France, rivière Seine	4 - 26	Fernandes et al., 1997
	USA, rivière Mississipi	7 - 70	Mitra et Bianchi, 2003
	USA, Lac Supérieur	5,8	Olivella, 2006

B[a]P est l'un des HAP les plus incriminés en matière de toxicité. En effet, plusieurs travaux ont montré que son pouvoir cancérogène est le plus élevé parmi ses homologues. Sa toxicité est liée en partie au fort pouvoir cancérogène d'un de ses métabolites, le benzo[a]pyrène-7,8-dihydrodiol-9,10-époxyde (BPDE) (Figure 1.5), qui se fixe au niveau de

l'ADN des cellules et entraîne des mutations pouvant à terme aboutir au développement d'un cancer (Yan, 1985; Phillips et Grover, 1994; Peltonen et Dipple, 1995; Harvey et al., 1999).



(+)-BaP (7S,8R) diol-(9S,10R) époxyde (+) syn BPDE

Figure 1.5. Structure de benzo[a]pyrène-7,8-dihydrodiol-9,10-époxyde (BPDE).

La cancérogénicité des HAP dépend de leur structure. En effet, les HAP contenant 4 à 6 cycles et qui possèdent des configurations structurales particulières appelées région baie et région fjord forment des époxydes très réactifs pendant leur métabolisme. La région baie correspond à une zone structurée en anneau complexe formée par un anneau benzo angulaire et saturé fusionné avec un anneau aromatique. La structure angulaire formée par les anneaux constitue une gêne stérique favorisant les réactions d'oxydation et la formation de radicaux. B[a]A, B[a] et dibenzo[a,l]pyrène possèdent les régions baie et fjord dans leurs structures (Figure 1.6).

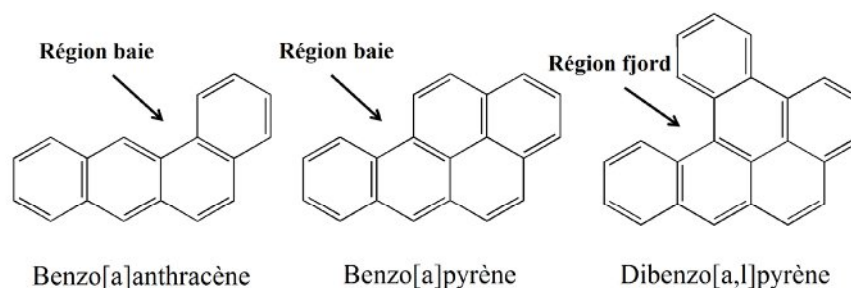


Figure 1.6. Caractéristique structurale des HAP ayant un potentiel cancérogène.

D'autres HAPs présents dans l'environnement, tels que les dibenzo-pyrènes, ont un pouvoir cancérigène jusqu'à cent fois plus puissant que celui du B[a]P (Pääjärvi et al., 2004). Cependant, ces composés de hauts poids moléculaire sont difficiles à être analysés et ne font l'objet que de très peu d'études et leur devenir dans l'environnement est encore faiblement

documenté. Ils ne sont pas encore reconnus parmi les polluants prioritaires à mesurer dans l'environnement mais des études ont montré que, par exemple, le dibenzo[a,l]pyrène est structurellement plus favorable que le B[a]P à l'induction d'effets cancérigènes (Katz et al., 1998; Dreij et al., 2005).

b. Classement des HAP en fonction de leur toxicité

Les HAP ont été classés, selon leur génotoxicité et leur cancérogénicité, par certains organismes internationaux comme le Programme International de Sécurité Chimique (IPCS), l'Agence International de Recherche sur le Cancer (IARC), l'Union Européenne (UE) et l'US-EPA (INERIS, 2005) (Tableau 1.4).

c. Données toxicologiques

Des nombreuses études ont évalué les toxicités aiguë et chronique des HAP sur différents organismes aquatiques. La toxicité dépend de plusieurs facteurs environnementaux (température, lumière) mais aussi de paramètres propres à l'organisme (espèce, stade de développement, voie de contamination). Ainsi, il a été observé une toxicité plus importante des HAP pour les organismes à leurs premiers stades de développement et en présence de lumière (IPCS, 1998).

- Toxicité aiguë

La toxicité aiguë est évaluée par une brève exposition d'un organisme à une substance chimique à forte dose. Ces tests permettent d'établir des valeurs de CL_{50} (concentration létale). La CL_{50} est la concentration d'une substance déduite statistiquement qui devrait provoquer au cours d'une exposition ou, après celle-ci, pendant une période définie, la mort de 50% des animaux exposés pendant une durée déterminée. La toxicité aiguë des HAP est faible à modérée (valeur de CL_{50}). Différentes études réalisées sur des poissons montrent une toxicité plus forte des HAP de haut poids moléculaire (Oris et Giesy, 1987). Ainsi des tests réalisés sur Pimephales promelas (cyprinidé, poisson d'eau douce) ont montré des valeurs de CL_{50} de $7900 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le Nap et de $1,8 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le B[a]A. De plus, il a été observé que la toxicité aiguë des HAP variait peu d'une espèce de poisson à une autre (Fragoso et al., 2006 ; Kennedy et Farrell, 2005 ; Wernersson, 2003).

Tableau 1.4. Classement des HAP en fonction de leur génotoxicité et de leur cancérogénicité.

HAP	Génotoxicité		Cancérogénicité	
	IPCS ^a	IPCS ^a	IARC ^b	US-EPA ^d
Naphtalène	-	(?)	2B	C
Acénaphthylène	(?)			D
Acénaphène	(?)	?	3	D
Fluorène	-	-	3	D
Phénanthrène	?	(?)	3	D
Anthracène	-	-	3	D
Fluoranthène	+	(+)	3	D
Pyrène	(?)	(?)	3	D
Chrysène	+	+	2B	B2
Benzo[a]anthracène	+	+	2B	B2
Benzo[b]fluoranthène	+	+	2B	B2
Benzo[k]fluoranthène	+	+	2B	B2
Benzo[a]pyrène	+	+	1	B2
Indéno[1,2,3cd]pyrène	+	+	2B	B2
Dibenzo[a,h]anthracène	+	+	2A	B2
Benzo[g,h,i]pérylène			3	D

^a IPCS, 1998 ; ^b IARC, 2010; ^d US-EPA, 1993.

Classification IPCS :
 + : effet positif
 - : effet négatif
 ? : incertain
 () : résultats dérivant d'un faible nombre de données

Classification IARC :
 1 : cancérogène
 2A : cancérogène probable
 2B : cancérogène possible
 3 : inclassable
 4 : probablement non cancérogène

Classification US-EPA :
 A : cancérogène
 B1 et B2 : cancérogène probable
 C : cancérogène possible
 D : inclassable
 E : probablement non cancérogène

- Toxicité chronique

La toxicité chronique est évaluée par une exposition faible d'un organisme à une substance chimique sur une longue durée. Ces tests permettent d'établir des valeurs de NOEC (No Observed Effect Concentration) et LOEC (Lowest Observed Effect Concentration). La

NOEC correspond à la plus forte concentration testée n'entraînant pas d'effet statistiquement significatif par rapport au témoin. La LOEC correspond à la plus faible concentration testée entraînant un effet statistiquement significatif par rapport au témoin. Comme pour la toxicité aiguë, les HAP de haut poids moléculaire présentent une toxicité chronique plus forte : valeur de NOEC de $450 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le Nap et de $5,4 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour l'Ant (Oris et Giesy, 1987).

1.1.6. Réglementations

En Europe, le parlement européen et le conseil de l'union européenne ont signé le 23 octobre 2000 le texte de la Directive Cadre Européenne sur l'eau (DCE), établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau (UE, 2000). Le texte de la DCE, qui concerne toutes les eaux (eaux de surface continentales, eaux souterraines et eaux littorales), vise notamment la préservation ou l'amélioration de la qualité de celles-ci dans un but de protection des écosystèmes aquatiques et d'utilisation durable de l'eau. Les objectifs sont la réduction des rejets de substances prioritaires présentant un risque significatif pour l'environnement aquatique premièrement et la suppression des rejets de substances dangereuses prioritaires toxiques, persistantes et bioaccumulables. La liste des substances prioritaires dans le domaine de l'eau a été choisie pour comprendre un total de 41 substances de différents groupes chimiques à prendre en compte dont les HAP font partie. La liste des HAP correspond à 8 substances : benzo[b]fluoranthène (B[b]FL), benzo[k]fluoranthène (B[k]FL), B[a]P, B[ghi]P et InP, plus le Nap, l'Ant et le FL . Ce dernier composé est considéré comme indicateur de la présence d'autres HAP plus dangereux. On peut noter que les composés choisis ne sont pas forcément les plus toxiques pour les milieux aquatiques, comme le sont le Chr ou le B[a]A.

La directive fixe un objectif d'eau à atteindre pour 2015, le bon état chimique et écologique des masses d'eau. L'état chimique sera évalué par rapport à des valeurs-seuils, les normes de qualité environnementale ou Environmental Quality Standards (EQS), fixées pour chaque substance prioritaire. Les EQS sont construites à partir de l'évaluation du risque que la substance concernée fait courir à l'environnement ou à la santé humaine. Ces valeurs doivent permettre d'assurer un bon état des eaux de surface en intégrant la notion des toxicités aiguë et chronique des contaminants. Deux types de EQS sont distingués : Le moyen annuel ou annual average (AA-EQS) et la concentration maximale acceptable ou Maximum Allowable

Concentration (MAC-EQS). Pour ces substances prioritaires de la DCE qui existent à l'état naturel dans le milieu aquatique, comme les HAP, il existe donc une concentration naturelle appelée "bruit de fond" ou "fond géochimique" dont il y a lieu de tenir compte dans le calcul de la norme de qualité (UE, 2008). Les EQS pour les eaux de surface sont détaillées dans le tableau 1.5. Il faut noter que les valeurs des EQS correspondent aux concentrations totales dans l'eau et non seulement celles de la phase dissoute.

Pour les eaux destinées à la consommation humaine (à l'exception des eaux minérales naturelles), l'UE indique que la somme des concentrations en B[b]FL, B[k]FL, B[a]P, B[ghi]P et InP ne doit pas excéder $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$, la concentration en B[a]P ne devant pas dépasser la valeur de $0,01 \mu\text{g.L}^{-1}$ (UE, 1998). L'Organisation Mondiale pour la Santé ou World Health Organization (WHO) définit les limites pour l'eau potable à $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le FL et $0,7 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le B[a]P (WHO, 2011).

Tableau 1.5. Le moyen annuel (AA) et la concentration maximale acceptable (MAC) des normes de qualité environnementale (EQS) pour les HAP dans les eaux de surface (Source : UE, 2008).

Composé	AA-EQS ($\mu\text{g.L}^{-1}$)		MAC- EQS ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	
	eaux de surface intérieures	Autres eaux ^a	eaux de surface intérieures	Autres eaux ^a
Naphtalène	2,4	1,2	NA	NA
Anthracène	0,1	0,01	0,4	0,4
Fluoranthène	0,1	0,1	1	1
Benzo[b]fluoranthène	$\Sigma = 0,03$	$\Sigma = 0,03$	NA	NA
Benzo[k]fluoranthène				
Benzo[a]pyrène	0,05	0,05	0,1	0,1
Indéno[1,2,3cd]pyrène	$\Sigma = 0,002$	$\Sigma = 0,002$	NA	NA
Benzo[g,h,i]pérylène				

^a Les eaux de transition (ou eaux partiellement salines mais influencées par les courants d'eau douce), les eaux côtières, les eaux territoriales et les eaux destinées à l'alimentation en eau potable.

Le Liban, comme presque tous les pays de la région de la Méditerranée Orientale manquent d'une stratégie claire pour le jugement et la révision des normes de qualité de l'eau, comme indique un rapport de WHO (WHO, 2006). Les normes émises concernent l'eau potable seulement et elles ont été adoptées de l'OMS et des autres normes internationales, mais n'ont pas été adaptées aux conditions locales. Les études qui peuvent aider à réaliser une

adaptation plus rationnelle et déterminer les normes convenables sont pratiquement inexistantes. En 1996, le Ministère de l'Environnement libanais (MoE) a adopté un décret (No.52/1) établissant les normes pour la minimisation de la pollution de l'air, l'eau et du sol (MoE, 1996). Les limites sont fixées pour plusieurs substances chimiques définies comme prioritaires et les valeurs seuils ont été adoptées de la directive de l'OMS pour l'eau potable. Pourtant, la norme libanaise a exclu les HAP et même le B[a]P.

1.2. Les pesticides

1.2.1. Définition et Classification

Les pesticides ou produits phytosanitaires, sont définis comme des substances dont les propriétés chimiques contribuent à la protection des plantes cultivées et des produits récoltés des attaques de champignons, parasites, d'insectes, d'acariens, de rongeurs champêtres ou encore à détruire les adventices ou « mauvaises herbes ». Ils révèlent de la directive 91/414/CE (UE, 1991). Ce sont des formulations contenant une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. Les formulations sont en général composées d'une ou de plusieurs substances actives et d'un ou de plusieurs adjuvants. La substance active exerce une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux ; c'est elle qui confère au produit l'effet désiré. L'adjuvant quant à lui est une substance dépourvue d'activité biologique jugée suffisante dans la pratique mais capable de modifier les propriétés physiques, chimiques ou biologiques des produits phytosanitaires. Il renforce l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation (Couteux et Lejeune, 2006).

Avant la mise en œuvre de la Directive 91/414/CE, 800 substances actives d'origine végétale, minérale ou de synthèse pouvaient être utilisées en tant que pesticides en Europe (UE, 1991). La révision des substances actives se traduit par un retrait progressif de nombreux produits et la plupart de celles utilisées aujourd'hui sont de nature organique dont un petit nombre est extrait ou dérivé des plantes. En 2005, 489 substances actives, appartenant à environ 150 familles chimiques différentes, sont encore disponibles et se répartissent en fonction de leurs usages. Ces substances actives sont formulées et

commercialisées sous forme de préparations ou produits commerciaux : 6 000 substances environ sont homologués, mais environ 2 500 sont réellement distribués.

Il faut également souligner l'existence des « biocides », pesticides réservés à des usages domestiques non agricoles tels que l'entretien des espaces publics, des infrastructures de transport et des jardins des particuliers. Au Liban, pour l'année 2000, 5% seulement des pesticides vendus serviraient à des buts non agricoles et se partagent équitablement entre les usages amateurs et les usages collectifs (MoE, 2001). Dans de nombreux domaines, le terme « résidus de pesticides » est largement employé ; il correspond aussi bien à la substance active elle-même qu'à ses produits de dégradation qui peuvent être présents à la fois dans l'environnement mais aussi dans des produits de consommation.

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structures chimiques, de groupes fonctionnels et d'activités que leur classification est complexe. D'une manière générale, les substances actives peuvent être classées soit en fonction de la nature de l'espèce à combattre (1^{er} système de classification), soit en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose (2^{ème} système de classification).

a. Premier système de classification

Le premier système de classification repose sur la cible à contrôler. Il existe principalement trois grandes familles d'activités que sont les herbicides, les fongicides et les insecticides.

Les herbicides représentent les pesticides les plus utilisés dans le monde, toutes cultures confondues. Ils sont destinés à éliminer les végétaux rentrant en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance. Les herbicides possèdent différents modes d'action sur les plantes, ils peuvent être des perturbateurs de la régulation d'une hormone, « l'auxine » (principale hormone agissant sur l'augmentation de la taille des cellules), de la photosynthèse ou encore des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de cellulose ou des acides aminés.

Les fongicides permettent quant à eux de combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons ou encore des bactéries. Ils peuvent agir différemment sur les plantes soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire,

soit en perturbant la biosynthèse des stérols, des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides.

Les insecticides sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes. Ils interviennent en les éliminant ou en empêchant leur reproduction, différents types existent : les neurotoxiques, les régulateurs de croissance et ceux agissant sur la respiration cellulaire.

Outre, ces trois grandes familles mentionnées précédemment, d'autres peuvent être citées en exemple : les acaricides, contre les acariens ; les nématocides, contre les vers du groupe des nématodes ; les rodenticides, contre les rongeurs ; les taupicides, contre les taupes ; les molluscicides, contre les limaces et escargots ou encore les corvicides et corvifuges, respectivement contre les corbeaux et les autres oiseaux ravageurs de culture.

b. Deuxième système de classification

Le deuxième système de classification tient compte de la nature chimique de la substance active qui compose majoritairement les produits phytosanitaires. Compte tenu de la variété des propriétés physico-chimiques des pesticides disponibles sur le marché, il existe un très grand nombre de familles chimiques. Les plus anciens et principaux groupes chimiques sont les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les triazines et les urées substituées. Ce deuxième système de classification ne permet pas de définir de manière systématique un composé. Certains pesticides peuvent, en effet, être composés de plusieurs fonctionnalités chimiques. Ils peuvent alors être classés dans une ou plusieurs familles chimiques.

1.2.2. Consommation des pesticides

La première utilisation des pesticides en agriculture date de l'antiquité. Leur développement a ensuite suivi celui de la chimie minérale et les composés alors employés étaient des dérivés de composés minéraux ou de plantes comme par exemple, ceux à base d'arsenic, de cuivre, de zinc, de manganèse ou de sulfate de nicotine. Puis, à partir de la seconde guerre mondiale, les pesticides ont bénéficié du développement de la chimie organique et les composés synthétiques majoritaires ont d'ailleurs été à l'origine de l'expansion rapide des produits phytosanitaires à partir des années 1940. Une tendance au

ralentissement s'est observée depuis les années 80, liée en partie à la découverte de substances plus actives nécessitant des tonnages plus faibles et aussi à cause des graves problèmes écologiques et toxicologiques, soulevés par certaines de ces substances (Figure 1.7).

Aujourd'hui, le marché mondial des pesticides représentait plus de 37 milliards de dollars en 2009 d'après l'Union des Industries de la Protection des Plantes (UIPP, 2009). En particulier, l'Europe et les États Unis sont respectivement le premier et deuxième consommateur mondial (Figure 1.8). Concernant la nature des pesticides, les herbicides sont les pesticides les plus utilisés sur l'ensemble des cultures du monde ($\approx 46\%$ du marché), suivis par les fongicides (26%) et les insecticides (25%) (Figure 1.8). La disposition géographique joue un rôle important. En effet, les herbicides représentent 70 à 80% des pesticides utilisés en Europe et États-Unis, alors que sous les tropiques, 50% des produits utilisés sont des insecticides. Au niveau de la répartition des traitements sur les cultures, la production de fruits et légumes (en incluant la vigne) représente un quart de la consommation des traitements réalisés (Morin, 2002).

Au Liban, une exploitation des chiffres de la banque de données «FAOSTAT» (www.faostat.fao.org) de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations) sur les importations de pesticides fournit un premier niveau d'appréhension des pratiques d'utilisation des produits phytosanitaires au Liban et de leur évolution. La Figure 1.9 montre l'évolution des ventes de matières actives phytosanitaires au Liban, de 1985 à 2008. Après une augmentation lente et régulière depuis 1985, les importations de substances actives phytosanitaires amorcent une diminution à partir de 1997 : les valeurs totales passent de 29 millions en 1997 à 20 millions de \$ en 2001, soit une baisse globale de 30% sur le total des pesticides. Cette diminution de consommation concerne surtout les insecticides avec une diminution de 24%. Cette tendance à première vue encourageante est cependant à nuancer par l'apparition de nouvelles molécules s'utilisant à de très faibles doses par hectare et la limitation d'usage des substances actives dont la dose d'emploi homologuée est élevée. Les importations ont d'ailleurs remonté depuis 2001 pour se doubler en 2008 avec un creux en 2006, conséquence du conflit israélo-libanais pendant le mois de juillet.

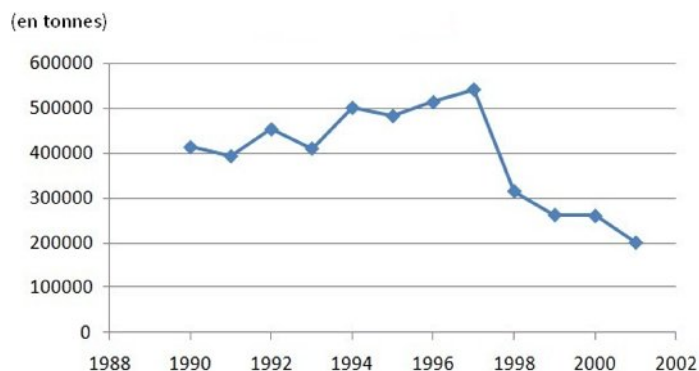


Figure 1.7. Consommation mondiale de pesticides de 1990 à 2001 (Source : www.acces.inrp.fr).

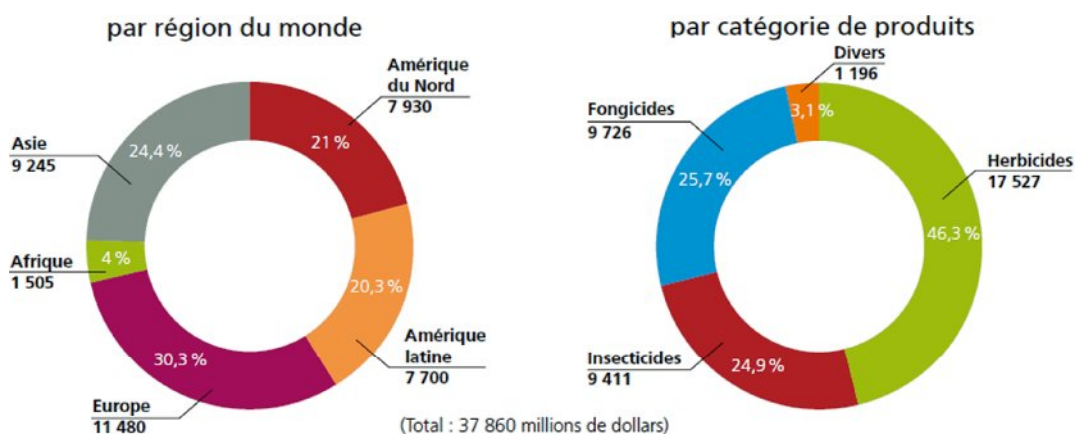


Figure 1.8. Marché mondiale des pesticides en 2009 (UIPP, 2009).

La Figure 1.10 présente également les évolutions des importations des pesticides selon les utilisations (insecticides, herbicides, fongicides et produits divers). Pour les différentes catégories de produits, la plupart de produits phytosanitaires utilisés au Liban sont des insecticides, qui comptaient pour 50-60% de la quantité total des pesticides. Par exemple, sur les tonnes vendues au Liban en 1999, les insecticides représentaient la part la plus importante de près de tonnes. La quantité importée de ces produits reste cependant relativement stable et autour de 50% des tonnages vendus pendant la durée de 1997 jusqu'au 2006.

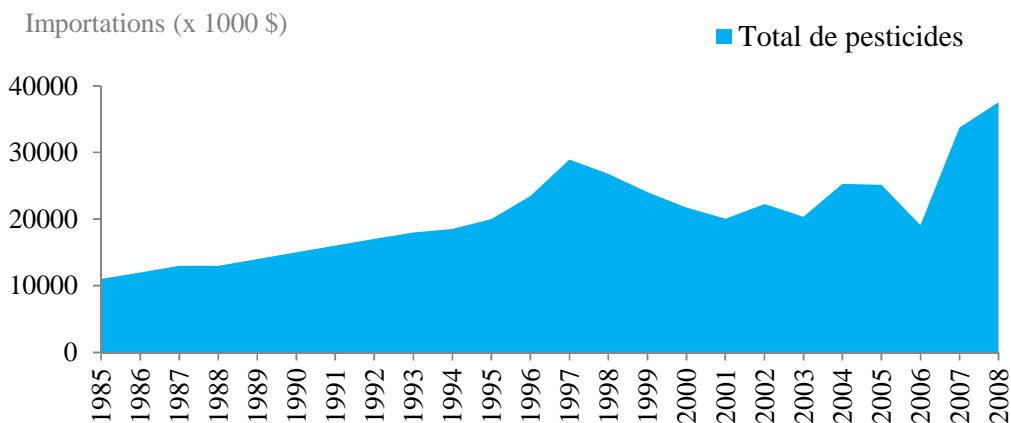


Figure 1.9. Evolution des importations des pesticides au Liban (en milliers de dollars) entre 1985 et 2008 (Source : FAOSTAT, www.faostat.fao.org).

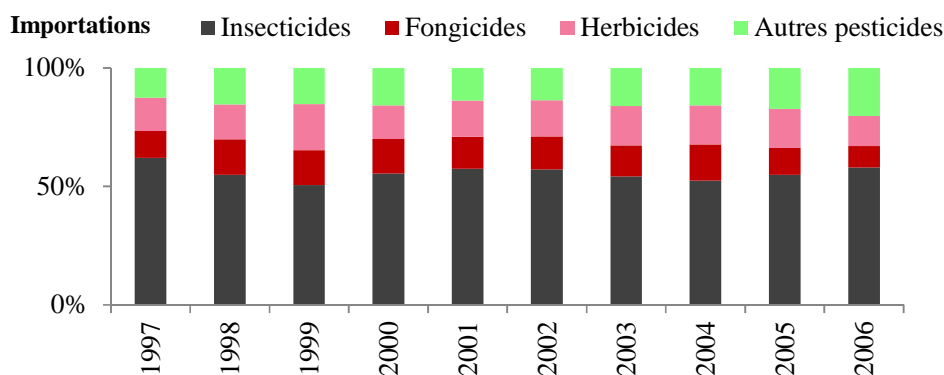


Figure 1.10. Les importations de substances actives phytosanitaires vendues au Liban entre 1997 et 2006 par grand type de produit (Source FAOSTAT, www.faostat.fao.org).

Les valeurs des importations et le tonnage ne sont cependant que des éléments partiels d'évaluation de l'utilisation des pesticides ; en effet, les doses appliquées à l'hectare peuvent aller de quelques grammes à plusieurs dizaines de kilos. Le Tableau 1.6 résume les applications des pesticides estimées en kg par hectare ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) pour les différents types d'agriculture au Liban pendant l'année 2000. La quantité des pesticides appliquée a varié entre 1.1 et $16.7 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ pour les bananes et les légumes respectivement. À titre de comparaison, la quantité utilisée en France s'élève à $110\,000 \text{ t}\cdot\text{an}^{-1}$ pour une surface agricole utile de $295\,000 \text{ km}^2$ (soit $3,7 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ en moyenne). Selon la Direction Générale de la Production Agricole en France (DGPA), l'utilisation de ces quantités se répartie entre la céréaliculture avec une part de 63%, l'arboriculture avec 16% et le maraichage avec 21%,

(www.iupp.org). Par ailleurs, le seul raisonnement sur les quantités commercialisées ne permet pas de prendre en compte le risque présenté par ces substances pour l'environnement.

Tableau 1.6. Application des pesticides en kg/ha par type de culture (Source : MoE, 2001).

Type d'agriculture	Surface cultivée (Ha)	Année 2000 (kg.ha ⁻¹)
Fruits	59 515	7,9
Agrumes		5,9 – 6,2
Olive	52 421	5,0
Tabac	24 730	10,7
Betterave à sucre		8,6
Champs de vigne		1,2
Banane	45 232	1,1
Légumes		16,7

1.2.3. Pesticides étudiés et caractéristiques physico-chimiques

Les composés étudiés ont été choisis parmi les pesticides recommandés à analyser au Liban par les ministères de l'Agriculture, l'environnement et l'économie (service de la protection du consommateur). Les pesticides étudiés et leurs propriétés physico-chimiques seront détaillés dans cette partie.

En général, les caractéristiques essentielles pour étudier le devenir et le transport d'un pesticide dans l'environnement (Himel et al., 1990) sont classés à deux niveaux différents :

- **Au niveau physique :**
 - La solubilité (en mg.L⁻¹ à une température donnée), dans l'eau généralement, qui est un des paramètres de la lessivabilité des pesticides.
 - La pression de vapeur saturante (en unité de pression à une température donnée) renseignant sur la volatilité d'un produit.
 - La constante associée de Henry (en Pa.m³.mol⁻¹ à une température donnée) évaluant la répartition d'un produit entre la solution du sol et l'atmosphère.
 - Le coefficient de distribution dans le sol K_d, normalisé par le pourcentage massique de carbone organique pour les molécules non ionisées (K_{oc} en cm³.g⁻¹), utilisés respectivement, pour prévoir la répartition des pesticides entre la solution et la

fraction organique insoluble du sol (K_{oc}) ou simplement entre la solution et une masse de sol (K_d), globalement il est le paramètre évaluant la capacité d'adsorption.

▪ **Au niveau chimique :**

- Les états ioniques (cationique, anionique, basique ou acide).
- Les caractères hydrophiles/hydrophobes.
- La réactivité chimique, photochimique et biologique (constante de transformation de premier ordre par exemple).

Ces propriétés, combinées avec le taux de pesticide appliqué et entrant dans l'environnement peuvent déterminer la distribution des pesticides dans les différents compartiments environnementaux (sol, solution du sol, air, végétaux...) et donc leur potentialité à être transportés le long de chaque voie de transport (atmosphère, eau superficielle...). La persistance environnementale du pesticide est également reliée aux propriétés de celui-ci (Carsel et Smith, 1987).

Les principales caractéristiques physico-chimiques des différents composés étudiés, appartenant aux différentes familles chimiques, sont résumées dans l'Annexe 2. Ces informations proviennent des diverses bases de données assemblées dans le CRL Datapool des Laboratoires de référence de l'UE pour les résidus de pesticides (www.crl-pesticides-datapool.eu).

a. Les organochlorés (OC)

Les pesticides chlorés, aussi connus sous le nom « organochlorés », se répartissent en trois groupes de composés. Le premier est le groupe des dichlorodiphénylétanes, dont le plus connu est le dichlorodiphényltrichloroéthane ou DDT, et ses produits de dégradation anaérobie DDD (dichlorodiphényldichloroéthane) et aérobie DDE (dichlorodiphényldichloroéthylène). Le deuxième groupe est le groupe des cyclodiènes, alors que le troisième regroupe les autres composés qui ont des structures différentes. Les structures chimiques générales des deux premiers groupes sont données en Figure 1.11.

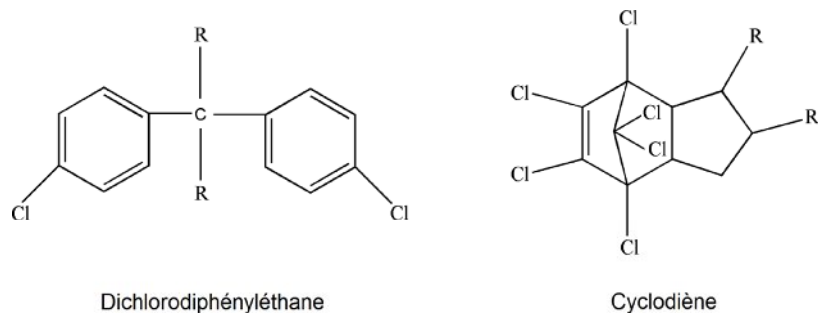


Figure 1.11. Structure générale de deux groupes des pesticides chlorés.

Seize molécules pesticides organochlorés ont été considérées dans cette étude ; quatorze d'entre elles ont été classés par l'US EPA comme polluants à étudier en priorité dans l'environnement (water.epa.gov). Elles ont été choisies pour leur toxicité ainsi que pour leur persistance dans l'environnement. Les structures chimiques de tous les composés organochlorés étudiés sont illustrées dans la Figure 1.12.

Les propriétés physico-chimiques des pesticides organochlorés étudiés sont résumées dans l'Annexe 2. En général, les pesticides chlorés sont stables et persistants dans l'environnement. Ils ont tendance à s'accumuler dans le sol et dans les organismes. La découverte de leur persistance et de la non-spécificité des effets toxiques de ces pesticides a entraîné l'interdiction de la plupart d'entre eux. Le lindane par exemple, constitué à plus de 99% de l'isomère gamma de l'hexachlorocyclohexane (γ -HCH), est très stable et résistant à la dégradation biologique et photolytique, d'où une grande persistance dans tous les milieux. $\text{Log } K_{ow}$ des isomères de HCH qui est environ 3,5 nous indique le grand pouvoir des isomères du HCH à s'accumuler dans les lipides des organismes.

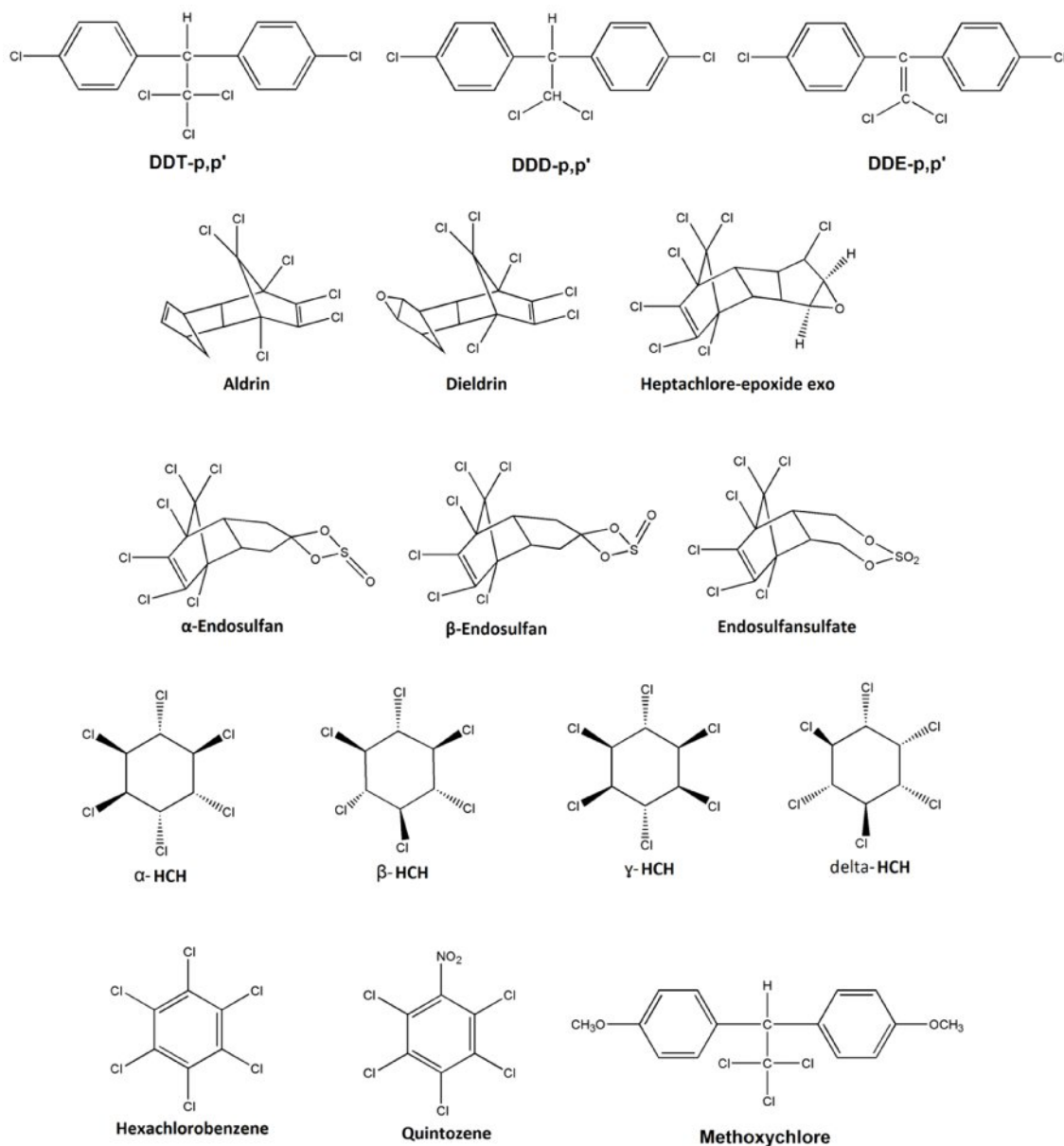


Figure 1.12. Structures chimiques des pesticides organochlorés étudiés.

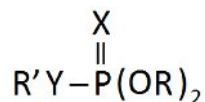
L'une des propriétés importantes des pesticides organochlorés est leur semi-volatilité. Cette propriété leur confère un degré de mobilité suffisant leur permettant d'atteindre des concentrations relativement grandes dans l'atmosphère et d'être transportés sur de longues distances, et puis se condensés et se déposés dans d'autres régions (Chernyak et al., 1996). Les organochlorés sont très peu solubles dans l'eau mais de nombreuses publications ont

confirmé leur présence dans les eaux de surface, les eaux souterraines, l'eau de pluie, et même dans l'eau et la glace de régions polaires et montagneuses (Cairns et Sherma, 1992). Le lindane, par exemple, est modérément soluble dans l'eau avec une valeur de $8,52 \text{ mg.L}^{-1}$. Les autres isomères α - et β -HCH sont moins soluble dans l'eau (Juc, 2007).

Parmi les pesticides organochlorés, seul l'endosulfane, dont les deux isomères α et β , sont encore autorisés. Il agit sur de nombreux insectes pour une grande variété de cultures. La dieldrine et l'heptachlore-époxyde sont des métabolites de l'aldrine et de l'heptachlore formés par plusieurs espèces végétales et animales. Ces métabolites sont également persistants dans le milieu naturel.

b. Les organophosphorés (OP)

Cette famille a été développée à partir de 1944. Les organophosphorés sont des composés organiques du phosphore qui ont des propriétés insecticides. Ayant l'avantage d'être moins persistants et moins stables que les organochlorés et donc plus biodégradables, ils leur ont succédé vers les années 70. Les composés organophosphorés peuvent être décrits par la formule générale suivante :



Avec : R = groupe alkyle, X et Y = atomes d'oxygène ou de soufre et R' = groupe de structure variable. On peut ensuite différencier les insecticides organophosphorés en dithioates (X=Y=S), thionates (X=S, Y=O), thiolates (X=O, Y=S) et phosphates (X=Y=O). Ainsi, les pesticides organophosphorés présentent des structures très diverses, comportant des cycles aromatiques ou des chaînes ramifiées, et des compositions chimiques variables avec présence d'atomes de S, O, N, Cl, Br. Ceci conduit à des propriétés chimiques et toxicologiques très différentes. Les structures des vingt-deux pesticides organophosphorés considérés dans cette étude sont présentées dans la Figure 1.13.

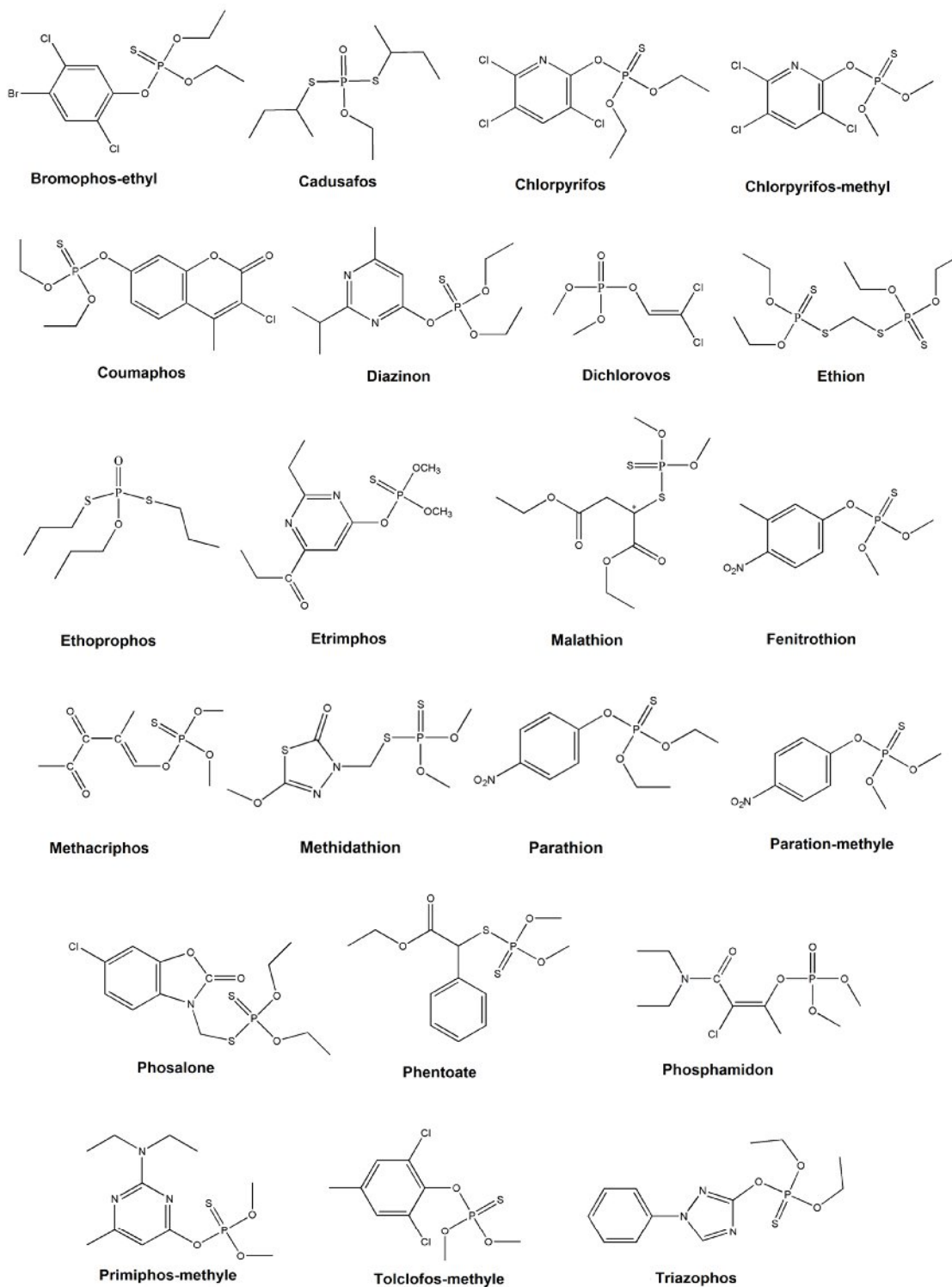


Figure 1.13. Structures des 22 pesticides organophosphorés étudiés.

De nombreuses études ont été menées sur les résidus d'organophosphorés dans l'eau. Elles ont toutes montré que les pesticides organophosphorés étaient détectés moins fréquemment que les autres catégories de pesticides. En fait, les temps de vie calculés dans l'atmosphère sont courts, s'étalant de quelques minutes à quelques heures. Des transports de longues distances ne sont donc pas attendus pour ces composés et les transports locaux et régionaux seront limités. Les propriétés physico-chimiques des organophosphorés étudiés sont présentées dans l'Annexe 2.

Concernant les applications, le chlorpyrifos et le dichlorvos sont des insecticides utilisés dans différents types de cultures : légumières (chou, pomme de terre, betterave), arbres fruitiers (pommier), ainsi qu'en viticulture. Le deuxième a l'avantage d'être peu persistant par comparaison avec d'autres pesticides organophosphorés. Il sert également au traitement des locaux de stockage et des denrées entreposées. La phosalone et le méthylparathion sont des insecticides employés pour la protection de grandes cultures : Betterave, céréales, pomme de terre, mais aussi pour la protection de la vigne et des arbres fruitiers. Ils sont d'ailleurs souvent utilisés en combinaison.

c. Les pyréthrinoïdes

Les pyréthrinoïdes sont des esters de l'acide chrysanthème monocarboxylique. Par extension, les groupes méthyle géminaux rattachés à la liaison double dans le groupe isobutényle peuvent être substitués par des atomes d'halogène (Figure 1.14).

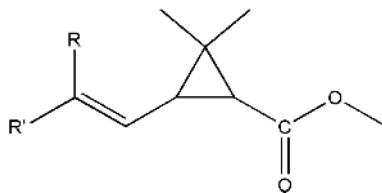


Figure 1.14. Structure générale du groupe des pyréthrinoïdes.

Trois pyréthrinoïdes sont considérés dans notre étude (Structures dans l'Annexe 2 et propriétés physico-chimiques dans l'Annexe 3), dont deux sont des esters de l'acool 3-phénoxyphényle et comportent un groupement cyano CN (fenprothrin et lambda-cyhalothrin) comme montre la Figure 1.15.

Malgré leur utilisation à faible dose, les pyréthrinoïdes ont un spectre d'activité assez large. En effet, ils sont largement utilisés dans le traitement des fruits, d'olive... Très peu volatils et très lipophiles, les pyréthrinoïdes sont quasiment insolubles dans l'eau. Les propriétés physico-chimiques des pyréthrinoïdes étudiés sont résumées dans l'Annexe 2.

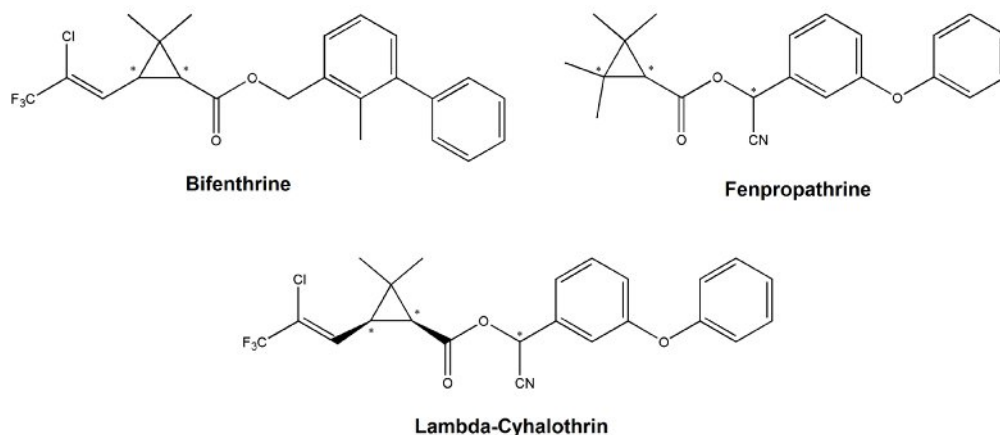
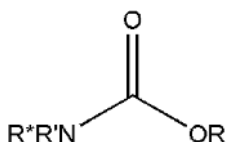


Figure 1.15. Structures des trois pyréthrinoïdes étudiés.

d. Les carbamates

La famille de carbamates regroupe les dérivés de l'acide carbamique, habituellement ses esters, avec la formule générale suivante :



Les carbamates sont utilisés dans le monde entier pour combattre les insectes, les champignons, les mauvaises herbes, et en tant que régulateurs de croissance. Leur mode d'action étant des insecticides se fait par blocage de la transmission de l'influx nerveux en inhibant l'enzyme acétylcholinestérase. Les structures de deux carbamates étudiés, propoxur et chlorprophame, sont présentées dans la Figure 1.16. Leurs propriétés physico-chimiques sont résumées dans l'Annexe 2.

Parmi les carbamates étudiés, le propoxur est très soluble dans l'eau (1900 mg.L⁻¹ à 20°C). Sa faible pression de vapeur (0,0013 Pa à 20°C) nous indique qu'il est modérément volatil et qu'il ne devrait pas s'évaporer à partir d'un sol humide ou de l'eau. Il est

modérément persistant à persistant dans différents types de sol en milieu aérobie (TD_{50} entre 80 et 210 j), et modérément persistant en milieu anaérobie (TD_{50} entre 80 et 108 j). Le propoxur est placé dans la catégorie des substances qui sont fortement mobiles dans le sol (K_{oc} de 3,4 à 102,6). Il ne s'hydrolyse pas à pH neutre ou acide, mais s'hydrolyse rapidement à pH basique. La photolyse peut constituer une voie importante de transformation du propoxur dans l'eau (demi-vie de 13 j), mais pas dans le sol (demi-vie de 77 j). Le $\log K_{ow}$ prend la valeur de 1,56, ce qui indique que le propoxur ne devrait pas être bioaccumulé. Des données de surveillance de l'eau révèlent sa présence dans l'eau souterraine et dans l'eau de surface (Santé Canada, 2011).

Le chlorprophame est faiblement volatilisé lors du traitement (pression de vapeur 0,024 Pa à 20°C) et présente une solubilité dans l'eau de 110 mg.L⁻¹ (à 20°C et pH 7). Sa mobilité est réduite par son absorption sur les particules du sol. Il est stable et présente une faible photolyse en conditions environnementales (demi-vie de 40 jours).

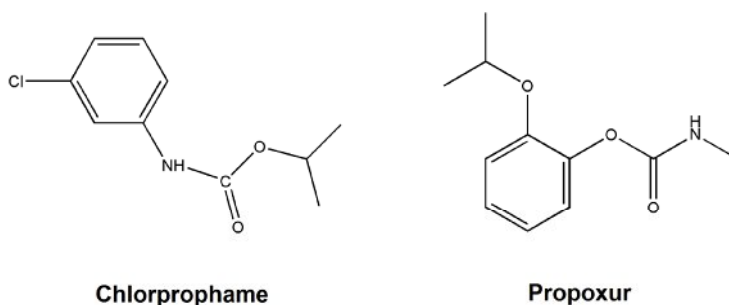


Figure 1.16. Structures des deux carbamates étudiés.

e. Les pyrimidines

La structure générale des composés de la famille des pyrimidines comprend un cycle aromatique azoté avec deux atomes d'azote. Les trois composés étudiés sont : Bupirimate, cyprodinil, et pyrimethanil (Figure 1.17). Les pyrimidines présentent un effet fongicide à action systémique, efficace contre plusieurs champignons et recommandé pour le traitement des semences, des feuilles et pour les applications post-récolte des fruits. Leur solubilité dans l'eau est moyenne entre 13 et 121 mg.L⁻¹ et ils ont été détectés dans les eaux de ruissellement.

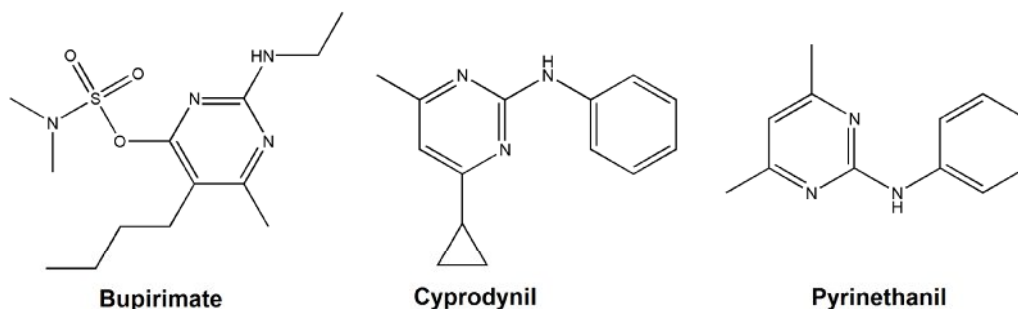


Figure 1.17. Structures des trois pyrimidines étudiés.

f. Les azoles

Les azoles ou pyrroles constituent une classe de composés hétérocycliques à cinq chaînons renfermant un ou deux atomes d'azote et ayant au moins une liaison double. Leur solubilité dans l'eau est faible (0,14-3,78 mg/L), bien que leurs sels sont solubles dans l'eau (Sharma et al., 2008). Les structures de deux azoles étudiés, fipronil et Chlorfenapyr, sont illustrées dans la Figure 1.18 et leurs caractéristiques physico-chimiques sont résumées dans l'Annexe 2. Les deux présentent des effets insecticides, et le fipronil largement employés en traitement des semences, est considéré responsable de mortalités importantes d'abeilles en France (Lefigaro, 2006).

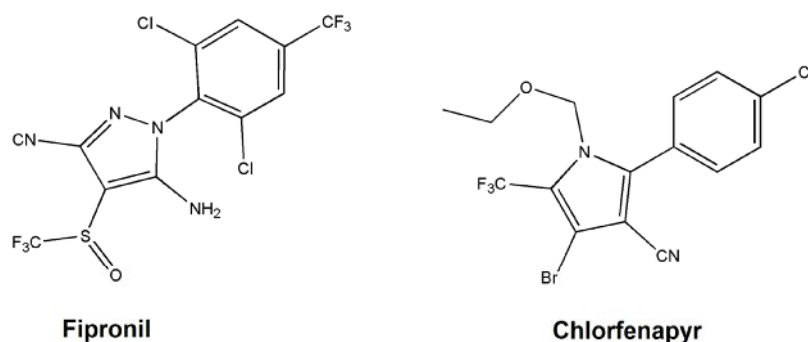


Figure 1.18. Structure des deux azoles étudiés.

g. Les triazoles

Les triazoles comprennent un hétérocycle à cinq chaînons renfermant trois atomes d'azote et ayant au moins deux liaisons doubles. Elles constituent la base des programmes

fongicides depuis longtemps. Les triazoles affectent la biosynthèse en bloquant la synthèse d'un des composés de la paroi des champignons. Les quatre triazoles analysés (Figure 1.19) sont le myclobutanil, le tébuconazole, le propiconazole et le penconazole. Le myclobutanil, par exemple, est un fongicide systémique, préventif et curatif de multiples maladies. Il agit par inhibition de la déméthylation des stérols, entraînant ainsi un blocage de la synthèse de l'ergostérol nécessaire au bon développement des champignons. Alors que le tébuconazole a un mécanisme particulier avec deux sites d'action, ce qui lui permet une grande efficacité sur de nombreuses maladies des céréales. Les triazoles sont peu solubles, peu volatils et peu persistants. Leurs propriétés physico-chimiques sont présentées dans l'Annexe 2.

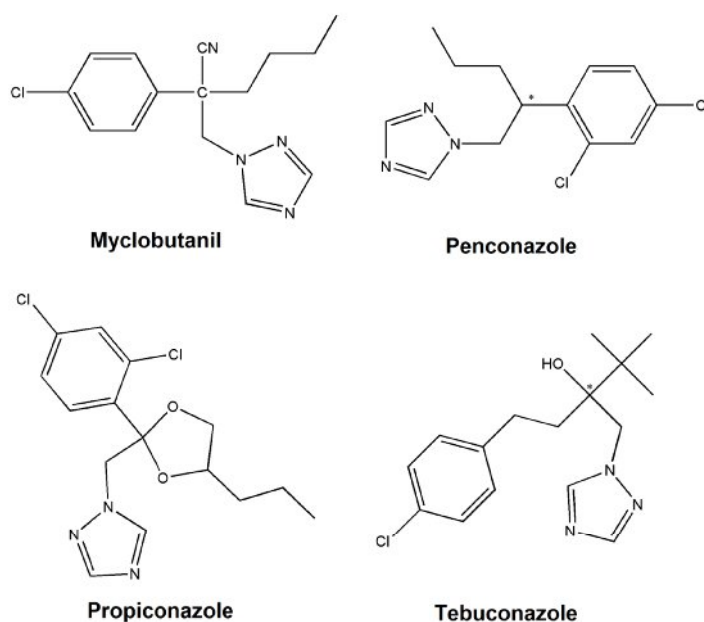


Figure 1.19. Structure des triazoles étudiés.

h. Autres pesticides

Quinze autres pesticides appartenant aux différentes classes chimiques (chloroacétamides, phenylamide, dinitroaniline, dicarboximide, benzamide ...) ont été considérés dans notre étude. Leurs structures sont présentées dans la Figure 1.20 et leurs propriétés physico-chimiques sont détaillées dans l'Annexe 2.

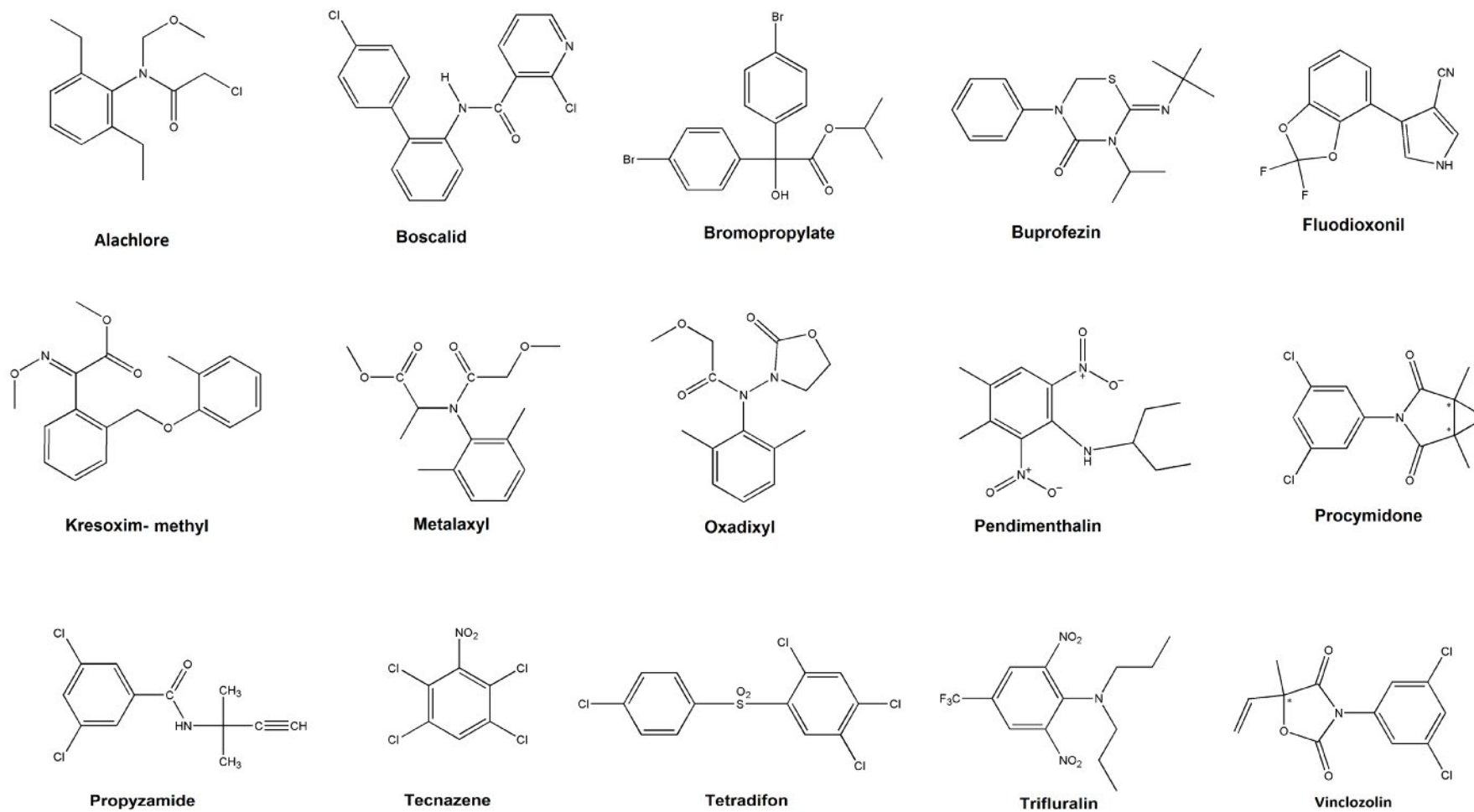


Figure 1.20. Structures du groupe de 15 pesticides de familles variées étudiés.

Parmi les pesticides plus détectés dans les eaux, figurent l'alachlore et l'oxadixyl (IFEN, 2007). L'alachlore est un herbicide de la famille des chloroacétamides, principalement utilisé pour le désherbage du maïs et appliqué en pré-levée ou en post-levée précoce. Il présente un effet inhibiteur de la synthèse des lipides et il est souvent formulé en combinaison avec l'atrazine. Les doses d'alachlore appliquées sont en moyenne de 2,5 kg/ha. Souvent détecté dans les eaux superficielles (IFEN, 2007) du fait de sa forte solubilité (170.3 mg/L) et sa mobilité dans le sol, l'alachlore est inscrit comme substance prioritaire dans la DCE. L'oxadixyl, agissant comme fongicide systémique, appartient à la famille des phénylamides souvent détectés dans les eaux souterraines. En plus, il a été mis en évidence à de faibles teneurs dans les eaux superficielles (IFEN, 2007). Ce composé est fortement soluble, légèrement dégradable et présente une mobilité élevée à travers le sol. L'oxadixyl est utilisé d'habitude en association avec d'autres substances sur les vignes et ponctuellement sur les laitues, les tomates, les pommes de terre.

1.2.4. Les pesticides dans les eaux

Malgré un souci de protection de l'environnement constant et croissant lors de l'utilisation des pesticides, il y a toujours une forte partie qui n'atteint pas sa cible, la plante à protéger et qui se retrouve dans les divers compartiments de l'environnement non cibles. La dose de pesticides appliquée efficacement sur la plante à traiter est comprise entre 0 et 23% de la quantité totale épanchée, et elle peut varier suivant les propriétés physicochimiques de la molécule et d'autres facteurs externes concernant essentiellement les pratiques culturales (mode d'épandage) et les facteurs climatiques (Colin, 2000).

La grande part de la substance active apportée qui n'atteint pas sa cible sera alors susceptible, à plus ou moins long terme, d'être transférée vers les eaux au terme d'un certain nombre de processus (Figure 1.21) : la volatilisation dans l'atmosphère, la dérive, la rétention et l'adsorption dans le sol, le ruissellement à la surface et le lessivage dans la profondeur du sol (Leonard, 1990). Les processus de dégradation (biodégradation et photodégradation) et la décomposition chimique jouent également un rôle dans la contamination environnementale et aquatique.

L'introduction des pesticides dans l'environnement aquatique peut se faire soit de manière directe, soit de façon indirecte. L'introduction directe est en général ponctuelle et

peu fréquente ; elle peut résulter d'un accident mais aussi correspondre à une décontamination du milieu, un traitement de cultures inondées ou situées en bordure d'un cours d'eau. Le cas général reste quand même celui d'une introduction indirecte liée au traitement d'une zone éloignée du milieu aquatique.

a. Transfert vers les eaux souterraines : le lessivage

Le processus de lessivage des pesticides correspond au transfert des molécules de la surface du sol, ou des couches superficielles du sol, vers les eaux de profondeur (nappe phréatique), soit de la zone non saturée à la zone saturée du sol. Ce transfert se fait essentiellement via la dilution des pesticides dans la solution du sol. Deux types de transfert sont à différencier, le transfert matriciel où la percolation de l'eau dans le sol entraîne la lixiviation des molécules. La vitesse de transfert dépend alors des caractéristiques de la molécule, des propriétés du sol, de la vitesse d'infiltration et de l'épaisseur de la zone non saturée, décrite par l'équation de convection dispersion.

Le deuxième type de transfert des pesticides de la surface vers la zone saturée est le transfert préférentiel. Ce dernier peut être décrit comme un transfert vertical rapide de la solution du sol via la macroporosité ce qui peut aggraver la contamination des eaux souterraines, le temps de dissipation des pesticides dans le sol étant alors limité (Delphin et Chapot, 2006). L'écoulement préférentiel engendrerait la présence de molécules difficilement lessivables (p.e., fort K_{oc}) dans les eaux souterraines (Jarvis et Dubus, 2006). La modélisation des transferts préférentiels est encore limitée de par la difficile estimation de la présence et du rôle exacte des macropores dans ce processus.

b. Transfert vers les eaux de surface : le ruissellement

Le transfert de produits phytosanitaires vers les eaux de surface se fait essentiellement par ruissellement. Les produits phytosanitaires vont pouvoir être transportés de plusieurs façons : en solution dans l'eau qui ruisselle, en suspension ou accrochés à des particules de sol qui sont arrachées par l'eau qui ruisselle (Leonard, 1990).

Il existe deux sortes de ruissellement : le ruissellement hortonien qui est le fait d'un dépassement de la capacité d'infiltration du sol et le ruissellement hypodermique ou écoulement de sub-surface, qui se produit lorsque la conductivité latérale est plus importante que la conductivité verticale.

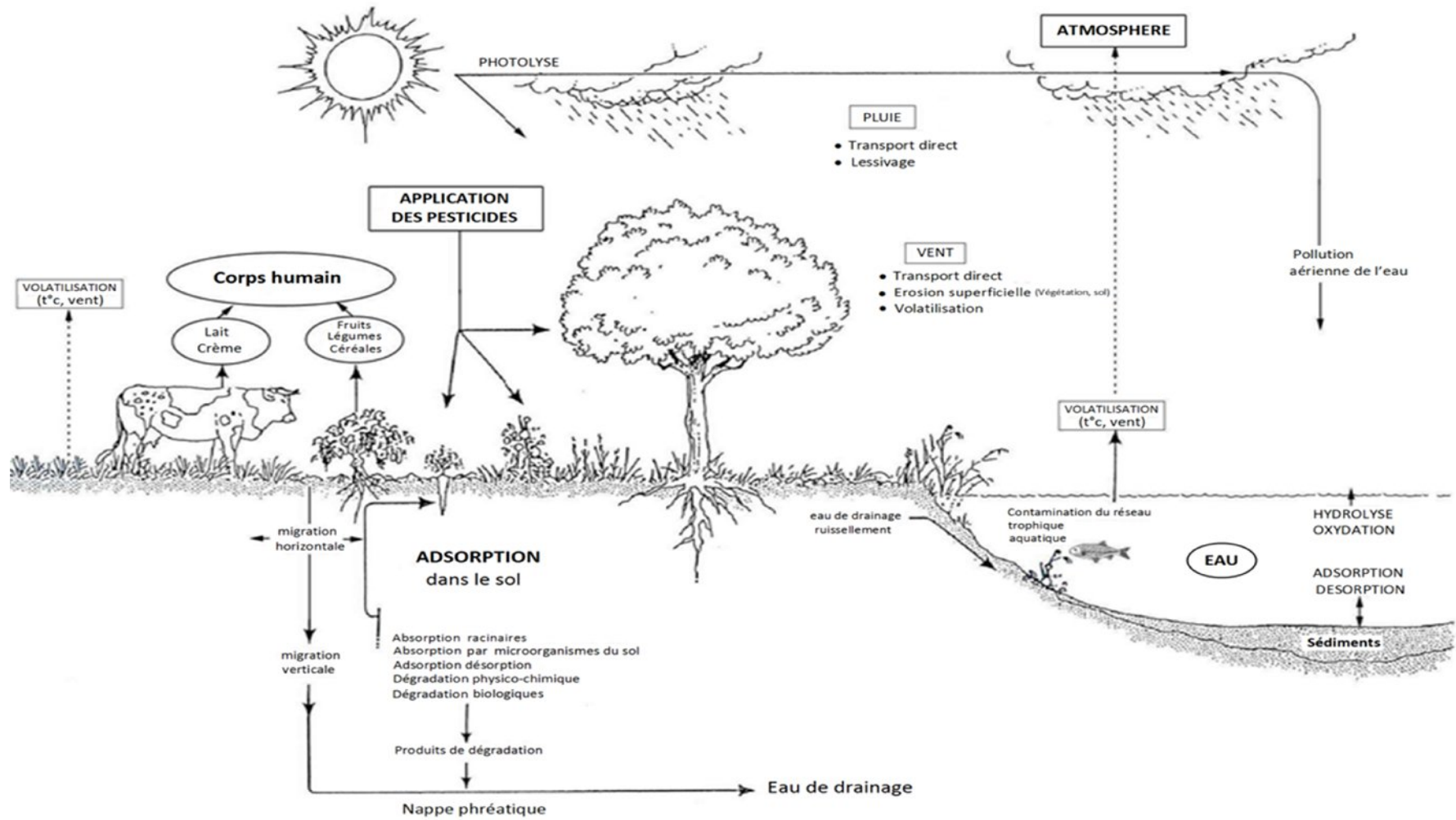


Figure 1.21. Processus de dissipation des pesticides dans l'environnement (Source : Wohlfahrt, 2008).

1.2.5. Toxicologie et écotoxicologie

L'ensemble de la communauté scientifique s'accorde sur le danger et la nocivité des produits phytosanitaires et de leurs métabolites dans l'environnement.

a. Impact sur l'homme

L'homme et les animaux en général, absorbent les pesticides et leurs produits dérivés via la nourriture, l'eau, par contact avec la peau et les cuticules, ou encore par inhalation. Une étude conduite aux Etats Unis a mis en évidence la présence de résidus de pesticides dans différentes matrices tels que l'urine, le sang, les tissus adipeux et même le lait maternel (www.observatoire-pesticides.gouv.fr).

En dépit de leur sélectivité et mode d'action spécifique, les pesticides exercent leur nocivité envers les organismes involontairement exposés, suite à la contamination de l'environnement et de la chaîne alimentaire. Les résultats issus de différentes études indiquent que les pesticides sont cytotoxiques, neurotoxiques, embryotoxiques, mutagènes, tératogènes ou carcinogènes. Ils exercent leur action toxique par génotoxicité directe, ils peuvent donc subir une activation métabolique et former des intermédiaires électrophiles capables d'interagir avec les acides nucléiques ; ou par d'autres moyens indirects tel que le stress oxydatif, l'inhibition de la communication intercellulaire, la formation de récepteurs activés ou autres. Certains pesticides et leurs produits de dégradation ont été identifiés comme des agents susceptibles de nuire à la fertilité masculine en particulier via une toxicité testiculaire (Sánchez-Peña et al., 2004). Il a été effectivement mis en évidence qu'une exposition à certaines substances pouvait entraîner un dérèglement du système immunitaire (Rekha et al., 2006). Certains pesticides sont aussi considérés comme étant des perturbateurs endocriniens, c'est-à-dire qu'ils interfèrent avec les hormones en simulant leur action. Une étude libanaise de Salameh et al. a signalé que l'exposition chronique aux pesticides a été associée avec des symptômes de maladies respiratoires chroniques chez les enfants, surtout l'asthme (Salameh et al., 2003).

Les agriculteurs et les ouvriers qui préparent les mélanges et réalisent les traitements ont plus de risque que le reste de la population d'être atteints. Ainsi, chez les agriculteurs, il a été remarqué que la mortalité et l'incidence de certains types de cancers ont augmentés. Il s'agit en général de cancers peu fréquents voire rares tels que les cancers des lèvres, de l'ovaire, du cerveau, de mélanome cutané et de la plupart des cancers du système

hématopoïétique (leucémies, myélomes, lymphomes). Le cancer de la prostate et de l'estomac, cancers nettement plus fréquents, seraient également concernés (Meyer et al, 2003). Sur le plan local, une étude menée dans 2 centres hospitaliers, étalée sur les années 1979 à 1992 révèle que les dérivés chimiques représentés essentiellement par les produits phytosanitaires sont responsables de 19 % de la totalité des intoxications (Geahchan et Abi Zeid Daou, 1995). Des enquêtes sont souvent menées auprès des personnes considérées comme exposées à un risque relativement direct par leur mode de vie quotidienne et les adduits à l'ADN sont les biomarqueurs adoptés pour la génotoxicité. Dans ce cadre, des adduits à l'ADN ont été détectés dans les cellules sanguines de personnes travaillant dans la floriculture et exposées quotidiennement à des mélanges de pesticides ; 60 % présentent six différents types d'adduits avec une moyenne de 8,5 adduits par 109 nucléotides par rapport aux témoins présentant 2 adduits par 109 nucléotides (Munnia et al, 1999). Aussi, une formation d'adduit à l'ADN ont été mesurées dans des échantillons de placenta de femmes résidant dans des zones côtières de rivières polluées. Ces femmes sont considérées préexposées à des doses faibles et chroniques d'organochlorés par leur alimentation à base de poissons et l'enquête a été réalisée suite à des effets notés chez les nouveaux nés (Lagueux et al, 1999).

En plus, les effets produits par la combinaison de plusieurs matières actives sont supérieurs aux effets individuels additionnés à cause de l'interaction entre les molécules simultanément présentes. Ainsi, le penconazole stimule la toxicité des organophosphorés envers les mammifères, ceci résulterait de la réaction d'activation des organophosphorés en leur métabolite toxique l'oxon (Levine et Oris, 1999). Pareillement, le propiconazole augmente l'action toxique du parathion en activant la formation du paraoxon ; la toxicité des pesticides organophosphorés envers des organismes non ciblés serait donc induite par une exposition antérieure au propiconazole (Levine et Oris, 1999). Aussi, le mélange diméthoate, azinphos-méthyle, diazinon, pyrimiphos-méthyle, et bénomyl exerce une toxicité très élevée par rapport aux substances testées individuellement sur des cellules humaines ; les concentrations habituellement trouvées sur les fruits (0,4 à 100 ppm) entraînent une inhibition de l'acétylcholine estérase et de la synthèse protéique, et l'effet du mélange ne peut pas être estimé à partir des tests réalisés séparément pour chaque matière active (Marinovitch et al, 1996).

Il s'est également avéré que des produits de dégradation des pesticides peuvent être aussi toxiques, ou même plus toxiques, que la molécule d'origine. Par exemple, les dérivés de chlorpyrifos et du malathion ont été 100 fois au moins plus toxiques que les composés parents, et les dérivés de diazinon sont 10 fois plus toxiques (Jokanović, 2001 et 2009 ; Kamel et al., 2009).

- ***Toxicité aiguë et chronique***

L'intoxication aiguë se manifeste à la suite d'une exposition unique ou de courte durée. Les symptômes apparaissent normalement dans un délai de quelques minutes à plusieurs heures après l'exposition. Le délai d'apparition varie en fonction de la toxicité du produit, de la dose reçue, de la voie d'absorption (orale, cutanée ou respiratoire) et de la sensibilité de la personne. En général, les insecticides présentent une plus forte toxicité aiguë pour l'être humain que les herbicides ou les fongicides. Les signes ou symptômes le plus souvent rapportés lors d'une intoxication aiguë aux pesticides sont des maux de tête, des nausées, des vomissements, des étourdissements, une fatigue anormale, une perte d'appétit et des irritations cutanées, oculaires ou respiratoires. Les intoxications aiguës résultent souvent d'une exposition accidentelle à la suite du non-respect des recommandations en matière d'utilisation ou d'entreposage des pesticides.

Outre les effets à court terme qui peuvent se produire lors d'une exposition à des doses de pesticides relativement élevées, des effets à long terme peuvent aussi être appréhendés. L'intoxication chronique survient normalement à la suite de l'absorption répétée de faibles doses de pesticides pendant plusieurs jours, plusieurs mois ou plusieurs années. Les signes d'une intoxication chronique sont souvent difficiles à reconnaître et leur délai d'apparition peut être relativement long. Parfois, ils peuvent même survenir alors que la personne n'est plus exposée aux pesticides depuis de nombreuses années. Par ailleurs, en raison de cette période de latence caractéristique, il est souvent difficile de faire le lien entre l'exposition chronique aux pesticides et les symptômes observés. Même si les signes ou symptômes d'une intoxication chronique peuvent parfois s'apparenter à ceux d'une intoxication aiguë, certaines études indiquent un lien potentiel entre l'exposition aux pesticides et certains effets néfastes tels que le cancer, les effets sur la reproduction, des perturbations du système endocrinien et du système immunitaire ainsi que des effets neurologiques.

b. Impact sur l'écosystème aquatique

Les voies de transfert et les propriétés des substances conditionnent l'état (dissous ou adsorbé à des particules) dans lequel les pesticides arrivent dans les milieux aquatiques. La forme chimique des molécules peut fortement conditionner leur biodisponibilité et donc fréquemment leur toxicité pour les organismes aquatiques. Tous les groupes d'organismes aquatiques ne sont pas exposés de la même façon, en fonction de leurs caractéristiques anatomiques, physiologiques et écologiques (habitat, ressources alimentaires utilisées, etc.).

Quelle que soit la substance, les conséquences de l'exposition sur les organismes aquatiques peuvent découler d'effets directs ou indirects, ou de la combinaison des deux types d'effets. Au sein des écosystèmes, les effets directs des pesticides affectent les quatre compartiments de l'environnement aquatique: producteurs primaires, zooplancton-macrobenthos, poissons et amphibiens (Tissut et al., 2006). Les effets toxiques directs peuvent entraîner des modifications des interactions biologiques et de divers processus qui impliquent des espèces qui sont moins sensibles à ces substances. Ces modifications sont appelées effets secondaires ou indirects (Aubertot, 2005). Ces effets reposent essentiellement sur une modification des relations de compétition au sein d'un même niveau trophique et/ou des relations de consommation entre des niveaux trophiques successifs. Certains de ces effets ont parfois été observés dans des écosystèmes aquatiques naturels, mais les données valides à ce propos sont rares.

Les études des impacts possibles des pesticides sur les organismes vivants nécessitent des mesures fiables des niveaux d'exposition de ces organismes pour faire évaluer le lien entre les effets biologiques mesurés et la contamination des milieux par les pesticides.

1.2.6. Réglementations

A travers les différentes études citées dans le paragraphe 1.2.5, il semble clair que les pesticides constituent un danger sanitaire réel et peuvent avoir des effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement. La protection contre les pesticides constitue donc un enjeu majeur de santé publique, c'est pourquoi, des réglementations portant sur les pesticides ont été mises en place par les différentes autorités gouvernementales.

Depuis le début des années 80, l'Union européenne a progressivement encadré l'utilisation des pesticides par diverses réglementations visant à réduire les impacts avérés

pour l'environnement et les risques plausibles pour la santé humaine. La directive 91/414/CE adoptée en 1991, par le conseil européen, vise à évaluer les risques pour la santé et l'environnement des pesticides utilisés en agriculture afin d'optimiser la protection de l'homme et des milieux (UE, 2001). Parmi les mesures adoptées figurent l'évolution européenne des substances actives, ainsi qu'une revue d'ensemble des substances actives existant sur le marché en 1993. Ce programme a été organisé en phases successives et entraîne la disparition d'un certain nombre de substances actives. La principale cause de non-inscription et de retrait à une substance peuvent être diverses : les propriétés toxicologiques, écotoxicologiques ou environnementales ne correspondent plus aux normes actuelles qui ont beaucoup évolués, surtout sur le plan environnemental. Parmi les exemples les plus marquants, on peut citer le retrait en 1998 du lindane utilisé en traitement de sol contre les ravageurs souterrains, et récemment le retrait des triazines, herbicides les plus utilisés, en raison de la présence de résidus dans les eaux souterraines et superficielles, supérieures aux normes européennes, et enfin la suspension du fipronil et de l'imidaclopride, insecticides utilisés en traitement des semences, pour un éventuel risque pour les abeilles. Plus récemment, une Directive Cadre sur les Pesticides (DCP) est actuellement en cours d'élaboration pour la réduction des risques liés aux pesticides, et elle devrait être rendu public prochainement.

Au Liban, le Ministère de l'Agriculture (MoA) a interdit une liste de 110 pesticides (Décision 94/1, date 20/05/98) dont l'aldrine, le dieldrine, le DDT et d'autres pesticides persistants dans l'environnement (MoA, 1998). En 2001, le gouvernement libanais a signé le protocole de la convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants et par conséquence trois pesticides ont été ajoutés à la liste des pesticides interdits: le lindane, le monocrotophos et le méthyl-parathion (Décision 261/1, date 26/09/2001) (MoA, 2001). Malheureusement, les restrictions et l'interdiction sur l'utilisation de certains pesticides ne sont pas vraiment applicables au Liban à cause de l'absence des inspections régulières.

Pour les milieux aquatiques, la DCE contraint la mise en place de projets de réduction des traitements et/ou des projets de limitation des pertes de pesticides vers les eaux. Pour l'eau destinée à la consommation humaine, la directive 98/83/CE a fixé une valeur de 0,1 µg/L pour chaque pesticide (sauf pour quatre composés : l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore et l'époxyde d'heptachlore, pour lesquelles la limite applicable est de 0.03 µg/L) et 0,5 µg/L pour le total des pesticides quantifiés (UE, 1998).

2. L'extraction sur phase solide (SPE)

L'extraction sur phase solide ou Solid Phase Extraction (SPE), introduite pour la première fois au milieu des années 1970, est la technique la plus répandue actuellement lors de l'analyse de traces dans des échantillons liquides (Sabik et al., 2000). Elle constitue un outil puissant et nécessaire pour le développement de méthodes d'analyse de polluants organiques à très faible concentration dans l'eau. Depuis son introduction dans les protocoles de prétraitement de l'échantillon, cette méthode a subi beaucoup des modifications et d'adaptation en fonction de la nature des analytes à extraire et en fonction des objectifs à atteindre, comme c'est le cas des travaux de cette thèse. Son principe et ses paramètres de fonctionnement seront alors exposés et discutés dans cette partie de ce manuscrit de la thèse.

2.1. Procédure classique de la SPE

Le principe de la SPE repose sur la distribution des composés à extraire entre une phase liquide, l'échantillon, et une phase solide, l'adsorbant. Cette distribution est gouvernée par des mécanismes de rétention basés sur les différences d'interactions moléculaires entre l'analyte, le site actif de l'adsorbant et la phase liquide. Divers formats sont disponibles lors de l'application de la SPE ; le plus couramment employé est le format de la cartouche où l'adsorbant est emprisonné entre deux frittés. Ce type de format est adopté au cours de l'optimisation de notre méthode SPE-centrifugation ; les conditions optimales d'analyse seront élaborées et discutées dans les chapitres suivants (Figure 2.1).

En général, le protocole d'extraction sur une cartouche SPE comporte au moins quatre étapes comme c'est illustré sur la Figure 2.2. La première étape de conditionnement a pour objectif de mouiller et d'activer les groupements fonctionnels présents à la surface de l'adsorbant dans le but de préparer le support au passage de l'échantillon. La seconde étape consiste à percoler l'échantillon contenant les solutés à extraire à travers la cartouche SPE en appliquant par vide en sortie de la cartouche. Durant cette étape, si l'adsorbant greffé est bien sélectionné, les molécules cibles présentant une forte affinité pour le support solide y sont fixées, tandis que les interférents n'ayant aucune affinité pour la phase solide traverseront la colonne avec l'éluant et ne sont pas retenus.

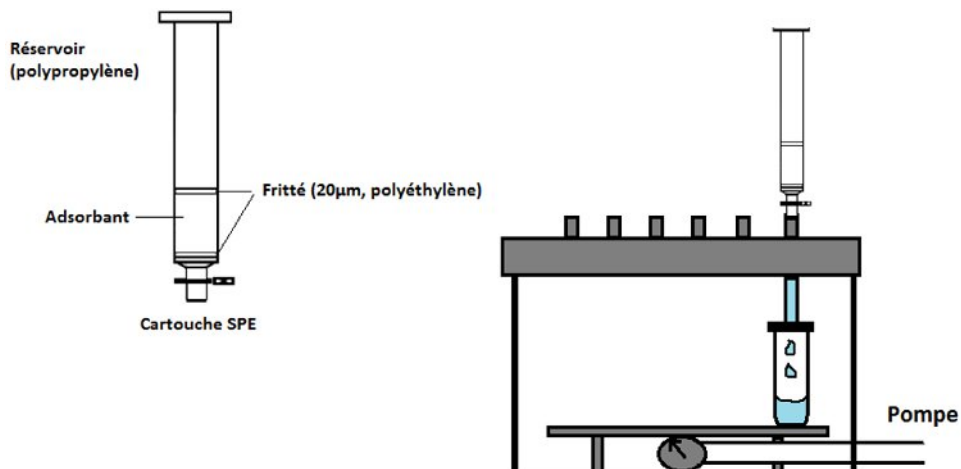


Figure 2.1. Cartouche employée pour l'extraction sur phase solide et le dispositif à vide utilisé pour la préparation d'échantillon.

Suivant la nature de l'échantillon, après sa percolation à travers la cartouche, une étape supplémentaire de lavage peut être effectuée en utilisant un solvant de faible force éluante de manière à éliminer les interférents faiblement retenus par le support tout en gardant fixés les composés d'intérêt. L'étape suivante est celle du séchage de l'adsorbant, soit sous vide soit par passage d'un flux de gas convenable. Enfin, la dernière étape de la SPE est l'élution des composés cibles par percolation d'un ou de mélange de solvants spécifiquement choisis capable de rompre les interactions mises en jeu entre les composés cibles analytes et le support solide. Les analytes extraits de la cartouche SPE sont souvent concentrés soit en réduisant ou en évaporant à sec le solvant de la phase d'élution avant d'être analysés.

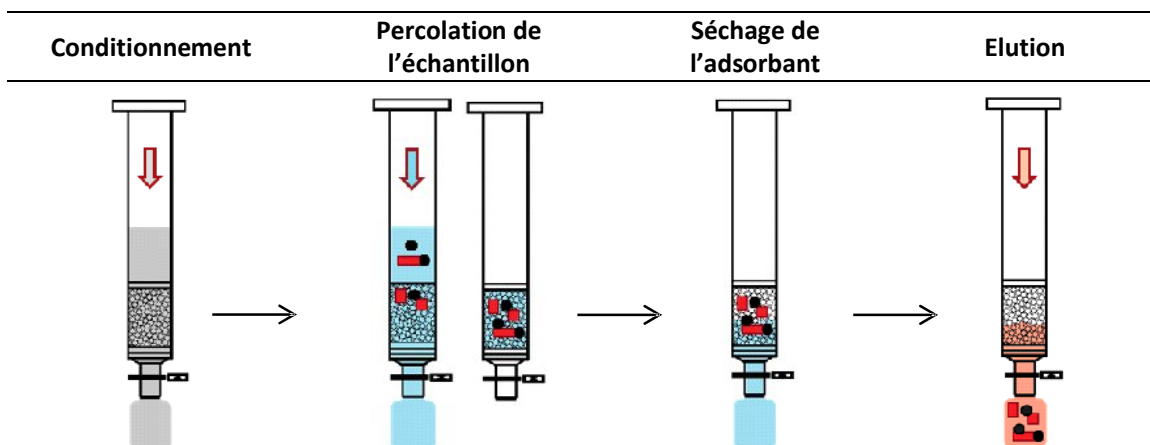


Figure 2.2. Protocole d'extraction sur phase solide.

2.2. Paramètres clés de la SPE

Les paramètres qui guident le développement d'une procédure SPE sont nombreux comme par exemple : Nature de l'adsorbant, volume de l'échantillon, nature de la phase éluant,...; certains de ces paramètres ont une influence directe sur l'efficacité, d'autres sur le temps d'analyse etc... ; l'optimisation de chacun de ses paramètres semble nécessaire dans le but de développer une méthode efficace, rapide et fiable.

2.2.1. Choix de la phase d'extraction

La mise en place d'un protocole SPE débute par le choix de l'adsorbant. Les propriétés physico-chimiques des composés à analyser ainsi que la quantité et la nature de l'échantillon permettent de choisir la nature et la quantité de l'adsorbant. Plusieurs types d'adsorbants ont été utilisés pour l'extraction des polluants organiques de l'eau, mais la silice greffée octadecyle C_{18} reste l'adsorbant le plus couramment employé utilisé pour les échantillons aqueux, car l'eau présente une très faible force éluante sur ce type de support (Reemtsma, 1996 ; Sargenti et McNair, 1998 ; Nirmaier et al., 1996 ; Urbe et Ruana, 1997). La chaîne C_{18} présente de bonnes propriétés de rétention, par interactions hydrophobes, des composés apolaires et moyennement polaires, comme dans c'est le cas des HAP et de plusieurs familles de pesticides : Organochlorés, organophosphorés...etc. Sargenti et McNair (1998) ont comparé trois adsorbants différents de la silice greffée soit avec le groupement octadecyle C_{18} , avec le groupement cyano ou avec le groupement phényl, utilisés pour extraire quinze HAP de l'eau. Les meilleurs résultats ont été observés pour les cartouches contenant la silice - C_{18} . En revanche, des adsorbants plus polaires sont nécessaires pour extraire les composés polaires qui contiennent de groupes fonctionnels renfermant des hétéroatomes tels que les hydroxyles, les carbonyles et les amines, comme certains pesticides et leurs produits de dégradation. Pour cette raison, des polymères fonctionnalisés par des groupements polaires ont été synthétisés de manière à améliorer le contact des analytes polaires avec l'échantillon aqueux pendant la percolation, comme la phase Oasis HLB de marque Waters basée sur une copolymérisation de divinylbenzène avec le monomère polaire de N-vinylpyrrolidone. L'adsorbant HLB, appartenant à la nouvelle génération de polymères, est conçu pour simplifier et améliorer la préparation d'échantillons par extraction d'une large

gamme de composés hydrophiles et hydrophobes en utilisant la même cartouche SPE (Fontanals et al., 2005).

2.2.2. Volume de l'échantillon

Pour la recherche de micropolluants organiques tels que des HAP ou des pesticides dans les eaux, le volume d'échantillon percolé peut varier de quelques millilitres jusqu'à quelques litres selon la nature de l'échantillon, les composés à analyser et selon le facteur d'enrichissement nécessaire pour atteindre une concentration suffisamment détectable par le système analytique. Si l'adsorbant a une bonne capacité de rétention, la quantité d'analytes fixés augmentera proportionnellement avec le volume d'échantillon percolé, améliorant ainsi le facteur d'enrichissement. Cependant, à partir d'un certain volume appelé volume de fin de fixation, les solutés commencent à être élués par le solvant qui constitue l'échantillon ou l'eau (Liska et al., 1990). Lors de la mise en place d'un protocole d'extraction, la détermination de ce volume est donc indispensable, afin d'établir le volume de l'échantillon à percoler pour obtenir un facteur d'enrichissement satisfaisant avec de bons rendements d'extraction. Le volume de fin de fixation peut être déterminé expérimentalement en percolant un volume d'échantillon croissant, tout en maintenant la quantité de composé constante. Le volume de fin de fixation pour un analyte est déterminé quand la réponse des analytes commence à décroître et par conséquent le rendement de récupération.

2.2.3. Séchage de l'adsorbant

Le séchage de la cartouche après la percolation de l'échantillon est une étape importante de la procédure SPE. Une élution immédiate, sans séchage, va conduire à un solvant organique renfermant des traces d'eau gênantes pour le système d'analyse GC-MS. Egalement, l'étape de séchage est un facteur important, à prendre en considération, lors d'une élution ultérieure avec un solvant apolaire. En effet, les pores de l'adsorbant remplis d'eau, empêchent le solvant d'élution d'y pénétrer ; par conséquent, le rendement de récupération et la répétabilité de l'étape d'élution sont influencés négativement (Fladung, 1995).

D'autre part, la durée de séchage est une étape critique dans le cas de l'extraction des composés organiques volatils tels que les HAP légers. Oleszczuk et Baran (2004) ont montré que le séchage complet de la colonne SPE peut entraîner des pertes des HAP volatiles de 10 à 20%. Lorsque la cartouche a été séchée sous vide pendant environ 20 minutes, les travaux de Delhomme et al., (2007) ont montré une perte totale du naphthalène et une récupération de 10% pour l'acénaphthylène

2.2.4. Nature et volume de la phase d'élution

Le choix de la phase d'élution dépend, en premier lieu, de la nature du ou des analytes à extraire, du type d'adsorbant et enfin de la méthode d'analyse (chromatographie en phase liquide ou gazeuse). Une réflexion préalable doit être menée, en effet, afin de définir la nature des interactions impliquées dans le mécanisme de rétention des analytes d'intérêt sur l'adsorbant. Le solvant ou le mélange des solvants adéquats doivent rompre ces interactions et aboutir à une récupération totale des analytes. Pour les composés volatils comme les HAP légers, les rendements de récupération sont plus élevée en utilisant des solvants non volatils, alors qu'un solvant non polaire est nécessaire afin d'éluer les HAP lourds les plus retenus sur un adsorbant de type C₁₈ (Sun et al., 1998). A titre d'exemple, Sargenti et McNair (1998) ont comparé différents solvants pour l'élution des HAP à partir d'une cartouche C₁₈, ils ont obtenu les meilleurs rendements avec le dichlorométhane. Di Corcia et Marchetti (1991) ont montré que des mélanges de solvants sont parfois recommandés, comme dichloromethane-méthanol, 80:20, v/v par exemple, afin d'assurer l'élution complète d'un ensemble de pesticides ayant des propriétés physico-chimiques différentes retenus sur une même cartouche SPE.

Le volume de la phase d'élution est généralement choisi de manière à avoir un volume final 2 à 3 fois le volume de la cartouche (Simpson et Van Home, 1993). Cependant, il peut être augmenté, selon les propriétés des analytes sélectionnés, la nature de l'adsorbant et de la phase éluante (Sabik et Jeannot, 1998). Un volume plus important est toujours nécessaire pour éluer les composés les plus retenus sur la cartouche. Le volume le plus couramment employé pour l'élution des analytes retenus sur des cartouches ayant des capacités variant entre 100 et 500 mg d'adsorbant ne dépassent pas généralement une trentaine de mL. Martinez et al. (2004) ont utilisé un volume total de 25 mL de solvants

organiques pour éluer les HAP adsorbés sur des cartouches, de natures différentes, remplies avec 500 mg d'adsorbant. Alors que Belmonte Vega et al. (2005) ont appliqué un volume de 10 mL lors de l'élution d'un mélange de 32 pesticides à partir d'une cartouche HLB de 200 mg.

En conclusion, la technique SPE est une méthode bien adaptée à l'analyse de polluants organiques dans l'eau, mais elle nécessite une optimisation des différentes étapes et des divers paramètres qui peuvent influencer son efficacité lors de son application dans l'analyse multi résidus. Récemment, les tendances s'orientent vers le développement des nouvelles méthodes analytiques de traitement d'échantillons qui répondent aux demandes actuelles de diminution de volume des solvants organiques utilisés, de temps d'analyses et du coût totale de la procédure. L'optimisation de la méthode traditionnelle SPE semble, alors, nécessaire afin d'avoir une méthode analytique efficace, rapide utilisables dans les analyses de routine.

Références Bibliographiques

- Abrajano Jr.T.A., Yan B., Song J., Bopp R., O'Malley V., Heinrich D.H., Karl K.T., **2007**. High Molecular Weight Petrogenic and Pyrogenic Hydrocarbons in Aquatic Environments. *Treatise on Geochemistry* 9:1-50.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), **1990**. Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service: Washington, DC, p 231.
- Ahokas J.T., Pelkonen O., **1984**. Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons by fish liver cytochrome P-450. *Marine Environmental Research* 14:59-69.
- Appel J., Bockhorn H., Frenklach M., **2000**. Kinetic modelling of soot formation with detailed chemistry and physics: laminar premixed flames of C₂ hydrocarbons. *Combustion and Flame* 121:122-136.
- Couteux A., Lejeune V., **2006**. Index Phytosanitaire ACTA 2006. 41eme edition, ACTA, Paris.
- Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Savini I., Voltz M., **2005**. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. *Rapport d'Expertise scientifique collective, INRA et Cemagref* (France).
- Baek S.O., Field R.A., Goldstone M.E., Kirk P.W., Lester J.N., Perry R., **1991**. A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Sources, fate and behavior. *Water Air Soil Pollut* 60:279-300.
- Bailey N.J.L., Krouse H.H., Evans C.R., Rogers M.A., **1973**. Alteration of crude oil by waters and bacteria - Evidence from geochemical and isotope studies. *AAPG Bulletin* 57:1276-1290.
- Barbieri O., Ognio E., Rossi O., **1986**. Embryotoxicity of benzo(a)pyrene and some of its synthetic derivatives in swiss mice. *Cancer Research* 46(1):94-98.
- Belmonte Vega A., Garrido Frenich A., Martinez Vidal J.L., **2005**. Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 538:117-127.
- Bence A.E., Kvenvolden K.A., Kennicutt M.C., **1996**. Organic geochemistry applied to environmental assessments of Prince William Sound, Alaska, after the Exxon Valdez oil spill- a review. *Organic Geochemistry* 24(1):7-42.
- Besombes J.L., Maitre A., Patissier O., Marchand N., Chevron N., Stoklov M., Masclet P., **2001**. Particulate PAHs observed in the surrounding of a municipal incinerator. *Atmospheric Environment* 35:6093-6104.
- Blanton R.H., Lyte M., Myers M.J., Bick P.H., **1986**. Immunomodulation by polyaromatic hydrocarbons in mice and murine cells. *Cancer Research* 46(6):2735-2739.
- Borneff J, 1977. Fate of carcinogens in aquatic environments. In *Fate of pollutants in the air and water environments, part 2*, Suffet IH (ed), 393-408. Wiley, New York.
- Broman D., Naf C., Lundbergh I., Zebuhr Y., **1990**. An in situ study on the distribution, biotransformation and flux of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in an aquatic food chain (seston-mytilus edulis l.-Somateria mollissima L.) from the Baltic: An ecotoxicological perspective. *Environmental Toxicology and Chemistry* 9(4):429-442.

- Brookes P., Lawley P.D., **1964**. Evidence of the binding of polynuclear aromatic hydrocarbons to the nucleic acids of mouse skin: Relation between carcinogenic power of hydrocarbons and their binding to deoxyribonucleic acid. *Nature* 202:781-784.
- Brown R.C., Pierce R.H., and Rice S.A., **1985**. Hydrocarbon contamination in sediments from urban stormwater runoff. *Marine Pollution Bulletin* 16:236-240.
- Brummage K.G., **1975**. The sources of oil entering the sea. In *Background papers for a workshop on inputs, fate and effects of petroleum in the environment*, 1-6. National academy of science, Washington, DC.
- Budzinski H., **1993**. Les composés aromatiques alkylés dans les échantillons pétroliers : aspect physico chimiques et thermodynamiques. Thèse : Université Bordeaux 1, Bordeaux, France.
- Budzinski H., Jones I., Bellocq J., Pierard C. and Garrigues P., **1997**. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry* 58: 85-97.
- Cairns T., Sherma J.,**1992** (ed). *Emerging Strategies for Pesticide Analysis*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Carsel R.F., Smith C. N., **1987**. Impact of pesticides on ground water contamination. In G.J. Marco et al (ed), *Silent spring revisited*. *American Chemical Society*, Washington, DC: 71-83.
- Centre de Documentation, de Recherche et d'Expérimentations sur les pollutions accidentelles des Eaux (CEDRE), **August 2006**. Analysis of oil samples collected on the lebanese and syrian shorelines. Report GC.06-19 KD/JG.
- Chernyak S.M., Rice C.P., McConnell L.L., **1996**. Evidence of currently-used pesticides in air, ice, fog, seawater and surface microlayer in the Bering and Chukchi Seas. *Marine Pollution Bulletin* 32:410-419.
- Colin F., **2000**. Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires: cas de l'atrazine dans le bassin versant du Sousson (Gers, France). Thèse : Sciences de l'Eau, ENGREF, Montpellier.
- Collier A.R., Rhead M.M., Trier C.J., Bell M.A., **1995**. Polycyclic aromatic compound profiles from a light-duty direct-injection diesel engine. *Fuel* 74: 362-367.
- Colombo J. C., Pelletier E., Brochu C., Khalil M., Catoggio J.A., **1989**. Determination of hydrocarbon sources using n-alkane and polyaromatic hydrocarbon distribution indexes. Case study: Rio de La Plata estuary, Argentina. *Environmental Science & Technology* 23(7):888-894.
- Dachs J., Bayona J.M., Raoux C., Albaihes J., **1997**. Spatial, Vertical Distribution and Budget of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Western Mediterranean Seawater. *Environmental Science and Technology* 31:682-688.
- Deal C.L., **1995**. The role of metabolic activation in BaP-induced suppression of the humoral immune response. Thèse: Université Virginia Commonwealth University, Richmond, Virginia.
- Dean J.H., Luster M.I., Boorman G.A., **1983**. Selective immunosuppression resulting from exposure to the carcinogenic congener of benzopyrene in B6C3F1 mice. *Clinical and Experimental Immunology* 52(1):199-206.

- De Flora S., Bagnasco M., Zanacchi P., **1991**. Genotoxic, carcinogenic, and teratogenic hazards in the marine environment, with special reference to the Mediterranean Sea. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* 258(3):285-320.
- Delhomme O., Rieb E., Millet M., **2007**. Solid-phase extraction and LC with fluorescence detection for analysis of PAHs in rainwater. *Chromatographia* 65:163-171.
- Delphin J.E., Chapot J.Y., **2006**. Leaching of atrazine, metolachlor and diuron in the field in relation to their injection depth into a silt loam soil. *Chemosphere* 64:1862-1869.
- Di Corcia A., Marchetti M., **1991**. Multiresidue method for pesticides in drinking water using a graphitized carbon black cartridge extraction and liquid chromatographic analysis. *Analytical Chemistry* 63:580-585.
- Dobbins R.A., Fletcher R.A., Benner Jr.B.A., Hoeft S., **2006**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in flames, in diesel fuels, and in diesel emissions. *Combustion and Flame* 144:773-781.
- Douglas G.S., Bence A.E., Prince R.C., Mcmillen S., Butler E.L., **1996**. Environmental stability of selected hydrocarbon source and weathering ratios. *Environmental Science and Technology* 30:2332-2339.
- Dreij K., Seidel A., Jernstrom B., **2005**. Differential removal of DNA adducts derived from anti-diol epoxides of dibenzo[a,l]pyrene and benzo[a]pyrene in human cells. *Chemical Research in Toxicology* 18:655-664.
- El Nemr A., Abd-Allah A. M. A., **2003**. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in microlayer and subsurface waters along Alexandria coast, Egypt. *Chemosphere* 52(10):1711-1716.
- Fernandes M.B., Sicre M.A., Boireau A., Tronczynski J., **1997**. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) distributions in the Seine River and its estuary. *Marine Pollution Bulletin* 34(11):857-867.
- Fladung N.C., **1995**. Optimization of automated solid-phase extraction for quantitation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous media by high-performance liquid chromatography_UV detection. *Journal of Chromatography A* 692:21-26.
- Fontanals N., Marcé R.M., Borrull F., **2005**. New hydrophilic materials for solid-phase extraction. *Trends in Analytical Chemistry* 24:394-406.
- FAOSTAT (Food and agriculture organization). www.faostat.fao.org.
- Fragoso N.M., Hodson P.V., Zambon S., **2006**. Evaluation of an Exposure Assay to Measure Uptake of Sediment Pah by Fish. *Environmental Monitoring and Assessment* 116:481-511.
- Freeman D.J., Cattell F.C.R., **1990**. Woodburning as a source of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science and Technology* 24: 1581-1585.
- Frenklach M., **2002**. Reaction mechanism of soot formation in flames. *Physical Chemistry Chemical Physics* 4:2028-2037.
- Gardner W.S., Lee R.F., Tenore K.R., Smith L.W., **1979**. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in coastal sediments: importance of microbes and polychaete worms. *Water Air and Soil Pollution* 11:339-347.

- Geahchan A., Abi Zeid Daou A., **1995**. Répertoire des produits phytosanitaires, Beyrouth, Liban : 244.
- Glarborg P., **2007**. Hidden interactions - trace species governing combustion and emissions. *Proceedings of the Combustion Institute* 31:77-98.
- Gobas F.A.P.C., Zhang X., **1994**. Interactions of Organic Chemicals with Organic Matter in the Aquatic Environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Special Publication on "Bioavailability: Physical, Chemical and Biological Interactions" 83-91. Lewis Publishers(ed). Chelsea, MI.
- Harkey G.A., Landrum P.F., Klaine S.J., **1994**. Comparison of whole-sediment, elutriate, and pore-water exposures for use in assessing sediment-associated organic contaminants in bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13(8):1315-1329.
- Harvey R.G., **1991**. Polycyclic aromatic hydrocarbons: Chemistry and carcinogenicity. *Cambridge University Press*. Cambridge.
- Harvey R.G., Penning T.M., Jarabak J., Zhang F-J., **1999**. Role of quinone metabolites in PAH carcinogenesis. *Polycyclic Aromatic Compounds* 16:13-20.
- Hase A., Hites R.A., **1978**. On the origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aqueous environment. In Identification and analysis of organic pollutants in water (Keith LH ed). *Ann Arbor Science, MI*: 205-214.
- Himel C.M., Loats H., Bailey G.W., **1990**. Pesticide sources to the soil and principles of sprays physics. *Pesticides in the soil environment: Processes, impacts and modeling SSSA Book series* 2:7-50.
- Ho T.Y., Rogers M.A., Drushel H.V., Kroons C.B., **1974**. Evolution of sulfur compounds in crude oils. *American Association of Petroleum Geologists* 58: 2238-2248.
- Hoyau V., Laffrezo J.L., Garrigues P.H., Clain M.P., Masclat P., **1996**. Deposition of aerosols in polar regions-contamination of the ice sheet by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Polycyclic Aromatic Compounds* 8: 35-44.
- Huang D., Peng P.A., Xu Y., Deng Y., Deng H., **2009**. Distribution and deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation in Guangzhou, South China. *Journal of Environmental Sciences* 21:654-660.
- IARC (Agence International de Recherche sur le Cancer), **2010**. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, vol. 92, Lyon, 2010.
- IFEN (Institut Français de l'Environnement), **Décembre 2007**. Les pesticides dans les eaux.
- INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques), **2005**. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Rapport technique.
- INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques), **2006**. Fiche de données toxicologiques et environnementales de substances chimiques : Naphtalene. *Document INERIS –DRC-02-25590-02DR49.doc. Version N°1-3*.
- IPCS (International Program on Chemical Safety), **1998**. Selected Non-Heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. World Health Organization, Geneva, Switzerland. (<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc202.htm>), consulté le septembre 2011.

- Jarvis N., Dubus I.G., **2006**. State-of-the-art review on preferential flow. *Report DL6 of the FP6 EU-funded FOOTPRINT project [www.eu-footprint.org] p:60.*
- Juc L., **22 novembre 2007**. Etude des risques liés à l'utilisation des pesticides organochlorés et impact sur l'environnement et la santé humaine. Thèse : L'Université Claude Bernard Lyon1.
- Jokanović M., **2001**. Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology* 166:139-160.
- Jokanović M., **2009**. Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides. *Toxicology Letters* 190(2):107-115.
- Kabzinski A.K.M., Cyran J., Juszczak R., **2002**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water (including drinking water) of Łódź. *Polish journal of environmental studies* 11(6):695-706.
- Kamel A., Byrne C., Vigo C., Ferrario J., Stafford C., Verdin G., Siegelman F., Knizner S., Hetrick J., **2009**. Oxidation of selected organophosphate pesticides during chlorination of simulated drinking water. *Water Research* 43(2):522-34.
- Karickhoff S.W., Morris K.R., **1985**. Sorption dynamics of hydrophobic pollutants in sediment suspensions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 4:469-479.
- Katz, A.K., Carrell, H.L., Glusker, J.P., **1998**. Dibenzo[a,l]pyrene (dibenzo[def,p]chrysene): Fjordregion distortions. *Carcinogenesis* 19:1641-1648.
- Kennaway E.L., Hieger I., **1930**. Carcinogenic substances and their fluorescence spectra. *British Medicine Journal* 1044-1046.
- Kennaway E.L., **1955**. The identification of a carcinogenic compound in coal-tar. *British Medicine Journal* 749-752.
- Kennedy, C.J. and Farrell, A. P., **2005**. Ion homeostasis and interrenal stress responses in juvenile Pacific herring, *Clupea pallasii*, exposed to the water-soluble fraction of crude oil. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 323(1):43-56.
- Klaasen C.D., **1997**. Cassarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons, 5th ed. McGraw-Hill(ed).
- Knezovich J.P., Harrison F.L., Wilhelm R.G., **1987**. The bioavailability of sediment-sorbed organic chemicals: a review. *Water Air and Soil Pollution* 32:233-245.
- Laflamme R.E., Hites R.A., **1978**. The global distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42: 289-303.
- Laflamme R.E., Hites R.A., **1979**. Tetra- and pentacyclic, naturally-occurring, aromatic hydrocarbons in recent sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43: 1687-1691.
- Lagueux J., Pereg D., Ayotte P., Dewailly E., Poirier G. G., **1999**. Cytochrome P450 CYP1A1 Enzyme Activity and DNA Adducts in Placenta of Women Environmentally Exposed to Organochlorines. *Environmental Research Section A* 80:369-382.
- Landrum P.F., Lee H., Lydy M.J., **1992**. Toxicokinetics in aquatic systems: Model comparisons and use in hazard assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 11:1709-1725

- Latimer J.S., Hoffman E.J., Hoffman G., Fasching J.L., Quinn J.G., **1990**. Sources of petroleum hydrocarbons in urban runoff. *Water air soil pollution* 52:1-21.
- Ledesma E.B., Kalish M.A., Nelson P.F., Wornat M.J., Mackie J.C., **2000**. Formation and fate of PAH during the pyrolysis and fuel-rich combustion of coal primary tar. *Fuel* 79: 1801-1814.
- Lefigaro, **2006**. http://www.lefigaro.fr/sciences/2006/05/11/01008-20060511ARTFIG90194-mortalite_des_abeilles_pas_de_verite_etablie.php.
- Leonard R.A., **1990**. Pesticide movement into surface waters. Pesticides in the soil environment : Processes, impacts and modeling. In CHENG H.H.(ed). SSSA Bookseries: 9 :303-349. *Soil Science Society of America: Madison, USA*.
- Levine S.L., Oris J.T., **1999**. Enhancement of Acute Parathion Toxicity to Fathead Minnows Following Pre-exposure to Propiconazole. *Pesticide biochemistry and Physiology* 65:102-109.
- Lintelmann J., Katayama A., Kurihara N., Shore L., Wenzel A., **2003**. Endocrine disruptors in the environment, IUPAC technical report. *Pure and Applied Chemistry* 75: 631-681.
- Lipiatou E., Saliot A., **1991**. Fluxes and transport of anthropogenic and natural polycyclic aromatic hydrocarbons in the western Mediterranean Sea. *Marine Chemistry* 32: 51-71.
- Liska I., Kuhan A., Krupcik J., **1990**. Comparison of sorbents for solid-phase extraction of polar compounds from water. *Journal of Chromatography, A* 509:123-134.
- Luo X., Mai B., Yang Q., Fu J., Sheng G., Wang Z., **2004**. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organochlorine pesticides in water columns from the Pearl River and the Macao harbor in the Pearl River Delta in South China. *Marine Pollution Bulletin* 48:1102-1115.
- MacKenzie M.J., Hunter J.V., **1979**. Sources and fates of aromatic compounds in urban storm water runoff. *Environmental Science Technology* 13:179-183.
- Maldonado C., Bayona J. M., Bodineau L., **1999**. Sources, distribution, and water column processes of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in the Northwestern Black Sea Water. *Environmental Science & Technology* 33(16): 2693-2702.
- Manahan S.E., **1994**. Environmental chemistry. 6th edition. *Lewis publishers (ed). Boca Raton, Fl.*
- Marinovich M., Ghilardi F., Galli C.L., **1996**. Effect of pesticide mixtures on in vitro nervous cells: Comparison with single pesticides. *Toxicology* 108:201-206.
- Marr L.C., Kirchstetter T.W., Harley R.A., Miguel A., Hering S.V., Hammond S.K., **1999**. Characterization of PAH's in motor vehicle fuels and exhaust emissions. *Environmental Science Technology* 33: 3091-3099.
- Martinez E., Gros M., Lacorte S., Barcelo D., **2004**. Simplified procedures for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, sediments and mussels. *Journal of Chromatography A* 1047:181-188.
- Mastral A.M., Callén S., **2000**. A review on polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) emissions from energy generation. *Environmental Science Technology* 34: 3051-3057.

- McElroy, A.E., Farrington, J.W., Teal, J.M., **1989**. Bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. In: *Varanasi U (ed). CRC, Boca Raton, FL, USA*: 1-40.
- Menzie C.A., Potocki B.B., Santodonato J., **1992**. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environmental Science and Technology* 26(7): 1278-1284.
- Meyer A., Chrisman J., Moreira J.C., Koifman S., **2003**. Cancer mortality among agricultural workers from Serrana Region, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Research* 93:264-271.
- MoA (Ministry of Agriculture in Lebanon), **1998**. Decision No. 94/1, date 20/05/98 : www.agriculture.gov.lb
- MoA (Ministry of Agriculture in Lebanon), **2001**. Decision No. 261/1, date 26/09/2001 : www.agriculture.gov.lb
- MoE (Ministry of Environment in Lebanon), **1996**. Standards for the minimization of pollution of air, water and soil. Ministère de l'environnement. Decret No. 52/1.
- MoE (Ministry of Environment in Lebanon), **2001**. State of the Environment Report, MoE-UNDP-ECODIT, chapitre 2.
- Mitra S., Bianchi T.S., **2003**. A preliminary assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon distributions in the lower Mississippi River and Gulf of Mexico. *Marine Chemistry* 82(3-4):273-288.
- Morin C., **2002**. Marché et distribution des produits phytosanitaires. In pesticide et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement, ACTA (ed). PARIS:413-149.
- Munnia A., Puntoni R., Merlo F., Parodi S., Peluso M., **1999**. Exposure to Agrochemicals and DNA Adducts in Western Liguria, Italy. *Environmental and molecular mutagenesis* 34:52-56.
- Neff J. M., **1979**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment - Sources, Fates and Biological Effects. *Applied Science Publishers LTD (ed)*.
- Neff J.M., **1985**. Polycyclic aromatic hydrocarbons. In Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications. Rand G.M., and Petrocelli S.R.(eds). *Hemisphere Publishing Corporation*. New York, USA: 416-454.
- Nesnow S., Davis C., Nelson G.B., Lambert G., Padgett W., Pimentel M., Tennant A.H., Kligerman A.D., and Ross J.A., **2002**. Comparison of the genotoxic activities of the K-region dihydrodiol of benzo[a]pyrene with benzo[a]pyrene in mammalian cells: morphological cell transformation, DNA damage, and stable covalent DNA adducts. *Mutation Research* 521:91-102.
- Nirmaier H.P., Fischer E., Meyer A., Henze G., **1996**. Determination of PAHs in water samples using HPLC with amperometric detection. *Journal of Chromatography A* 730:169-175.
- Oleszczuk P., Baran S., **2004**. Application of solid-phase extraction to determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge extracts. *Journal of Hazardous Materials B* 113:237-245.
- Olivella M.A., **2006**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater and surface waters of Lake Maggiore, a subalpine lake in Northern Italy. *Chemosphere* 63(1):116-131.

- Oris J.T., Giesy J.P., **1987**. The photo-induced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to larvae of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Chemosphere* 16(7):1395-1404.
- Pääjärvi G., Jernström B., Stenius U., Seidel A., **2004**. Exposure of mammalian cells to diol epoxides from benzo[a]pyrene and dibenzo[a,l]pyrene and effects on Mdm2 and P53. *Polycyclic Aromatic Compounds* 24:537-5348.
- Pahlman R., Pelkonen O., **1987**. Mutagenicity studies of different polycyclic aromatic hydrocarbons: The significance of enzymatic factors and molecular structure. *Carcinogenesis* 8:773-778.
- Peltonen K., Dipple A., **1995**. Polycyclic aromatic hydrocarbons chemistry of DNA adduct formation. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 37:52-58.
- Phillips D.H., Grover P.L., **1994**. Polycyclic hydrocarbon activation: bay regions and beyond. *Drug Metabolism Reviews* 26:443-467.
- Pozzoli L., Gilardoni S., Perrone M.G., De Gennaro G., De Rienzo M., Vione D., **2004**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere: Monitoring, sources, sinks and fate. I: Monitoring and sources. *Annali di Chimica* 94: 17-32.
- Ravindra K., Sokhi R., Van Grieken R., **2008**. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment* 42: 2895-2921.
- Reemtsma T., **1996**. Methods of analysis of polar aromatic sulfonates from aquatic environments. *Journal of Chromatography A* 733:473-489.
- Rekha, Naik S.N., Prasad R., **2006**. Pesticide residue in organic and conventional food-risk analysis. *Journal of Chemical Health and Safety* 13(6):12-19.
- Revuelta C.C., De la Fuente S.E., Rodriguez Vasquez J.A., **1999**. Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in emissions from coal-fired power plants: the influence of operation parameters. *Environmental technology* 20: 61-68.
- Richter H., Howard J.B., **2000**. Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons and their growth to soot - a review of chemical reaction pathways. *Progress in Energy and Combustion Science* 26: 565-608.
- Rockne K.J., Shor L.M., Young L.Y., Taghon G.L., Kosson D.S., **2002**. Distribution sequestration and release of PAHs in weathered sediment: the role of sediment structure and organic carbon properties. *Environmental Science and Technology* 36: 2636-2644.
- Ryder A.G., Glynn T.J., Feely M., Barwise A.J.G., **2002**. Characterization of crude oils using fluorescence lifetime data. *Spectrochimica Acta Part A* 58:1025-1037.
- Sabik H., Jeannot R., **1998**. Determination of organonitrogen pesticides in large volumes of surface water by liquid-liquid and solid-phase extraction using gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection and liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 818:197-207.
- Sabik H., Jeannot R., Rondeau B., **2000**. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *Journal of Chromatography A* 885:217-236.

- Saco-Alvarez, Bellas J., Nieto O., Bayona J.M., Albaiges J., Beiras R., **2008**. Toxicity and phototoxicity of water-accomodated fraction from Prestige fuel oil and marine fuel oil evaluated by marine bioassays. *Science of the Total Environment* 394: 275-282.
- Salameh P.R., Baldi I., Brochard P., Raheison C., Abi Saleh B., Salamon R., **2003**. Respiratory symptoms in children and exposure to pesticides. *European Respiratory Journal* 22:507-512.
- Sanchez-Pena L.C., Reyes B.E., Lopez-Carillo L., Recio R., Moran-Martinez J., Cebrian M. E., Quintanilla-Vega B., **2004**. Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. *Toxicology and Applied Pharmacology* 196:108-113.
- Santé Canada, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, **03 MARS 2011**. Propoxur PRVD2011-09, ISSN : Numéro de catalogue : H113-27/2011-9F-PDF (version PDF).
- Sargenti S.R., McNair H.M., **1998**. Comparison of solid-phase extraction and supercritical fluid extraction for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking water. *Journal of Microcolumn Separations* 10:125-131.
- Sharma K., Kalpana, Sharma V., Gupta P., Jaya M., Kumar A., and Singh B., **2008**. Persistence and vertical distribution of termiticide fipronil in modified ground board test. *Environmental Monitoring and Assessment* 137:179-184.
- Sicre M.A., Marty J.C., Saliot A., Aparicio X., Grimalt J., Albaigés J., **1987**. Aliphatic and Aromatic hydrocarbons in different sized aerosols over the Mediterranean Sea: occurrence and origin. *Atmospheric Environment* 21: 2247-2259.
- Silliman J.E., Meyers P.A., Eadie B.J., **1998**. Perylene: an indicator of alteration processes or precursor materials?. *Organic Geochemistry* 29(5-7): 1737-1744.
- Simpson N., Van Home K.C., 1993. Sorbent Extraction Technology Handbook, 2nd ed, *Varian Sample Preparation Products*, Harbor City, CA.
- Soclo, H., **1986**. Etude de la distribution des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sédiments marins récents, identification des sources. Thèse N° 50: Université de Bordeaux1, Bordeaux, France, page 158.
- Sripada K., **2005**. Metal ion containing liquid chromatographic stationary phases for the analysis of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in fossil fuels. Thèse: Université Münster, Allemagne.
- Sugiura K., Ishihara M., Shimauchi T., Harayama S., **1997**. Physicochemical properties and biodegradability of crude oil. *Environmental Science and Technology* 31:45-51.
- Sun F., Littlejohn D., Gibson M.D., **1998**. Ultrasonication extraction and solid phase extraction clean-up for determination of US EPA 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet absorption detection. *Analytica Chimica Acta* 364:1-11.
- Tissut M., Delval P., Mamarot J., Ravanel P., **2006**. Plantes, herbicides et désherbage. *Acta*, p : 635.
- UE (Union Européenne), **1991**. Directive 91/414/CEE concernant la mise sur le marché de produits phytopharmaceutiques.

- UE (Union Européenne), **1998**. Directive n°98/83/CE, relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.
- UE (Union Européenne), **2000**. Directive n°2000/60/CE, établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
- UE (Union Européenne), **2001**. Décision n°2455/2001/CE du Parlement européen et du Conseil du 20 novembre 2001 établissant la liste des substances prioritaires dans le domaine de l'eau et modifiant la directive 2000/60/CE
- UE (Union Européenne), **2008**. Directive n°2008/105/EC, on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council.
- UIPP (Union des Industries de la Protection des Plantes), 2009. http://www.uipp.org/var/uipp/storage/images/uipp.org/accueil/chiffres-cles/reperes-monde-et-europe/marche-mondial-2009/118102-9-fre-FR/Marche-mondial-2009_chiffres_cles.gif.
- US-EPA (United States Environmental Protection Agency), **1993**. Provisional Guidance for Quantitative Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Office of Research and Development, Office of Health and Environmental Assessment*, Washington, DC, EPA/600/R-93/089 (NTIS PB94116571).
- Urbe I., Ruana J., **1997**. Application of solid-phase extraction discs with a glass fiber matrix to fast determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Journal of Chromatography A* 778:337-345.
- Valavanidis A., Vlachogianni Th., Triantafillaki S., Dassenakis M., Androutsos F., Scoullou M., **2008**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface seawater and in indigenous mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from coastal areas of the Saronikos Gulf (Greece) Estuarine. *Coastal and Shelf Science* 79:733–739.
- Venkatesam M.I., **1988**. Occurrence and possible sources of pérylène in marine sediments—a review. *Marine Chemistry* 25:1-27.
- Venosa A.D., Suidan M.T., Wrenn B.A., Strohmeier K.L., Haines J.R., Eberhart B.L., King D., Holder E., **1996**. Bioremediation of an Experimental Oil Spill on the Shoreline of Delaware Bay. *Environmental Science and Technology* 30:1764-1775.
- Wakeham S. G., Schaffner C., Giger W., **1980a**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Recent lake sediments I. Compounds having anthropogenic origins. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44(3):403-413.
- Wakeham SG, Schaffner C and Giger W, **1980b**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent lake sediments. II- Compounds derived from biogenic precursors during early diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44:415-429.
- Wakeham S. G., Sinninghe Damsté J. S., Kohnen M. E. L., De Leeuw J. W., **1995**. Organic sulfur compounds formed during early diagenesis in Black Sea sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59(3):521-533.

- Wang Z., Fingas M., Lambert P., Zeng G., Yang C., Hollebone B., **2004**. Characterization and identification of the Detroit River mystery oil spill (2002). *Journal of Chromatography A* 1038(1-2):201-214.
- water.epa.gov/scitech/methods/cwa/pollutants.cfm.
- Wernersson A.S., **2003**. Predicting petroleum phototoxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54(3):355-365.
- Windsor J.G., Hites R.A., **1979**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Gulf of Maine sediments and Nova Scotia soils. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43:27-33.
- Wohlfahrt J., **9 décembre 2008**. Développement d'un indicateur d'exposition des eaux de surface aux pertes de pesticides à l'échelle du bassin versant. These: Institut National Polytechnique de Lorraine.
- WHO (World Health Organization), **2006**. A compendium of drinking-water quality standards in the Eastern Mediterranean region. Document WHO-EM/CEH/143/E.
- WHO (World Health Organization), **2011**. Region Guidelines for Drinking-water Quality, 4ème édition. ISBN 9789241548151.
- www.acces.inrp.fr
- www.crl-pesticides-datapool.eu
- www.lemonde.fr/planete/infographie/2008/03/19/les-differentes-sources-de-pollution-de-l-eau_1025229_3244.html.
- www.observatoire-pesticides.gouv.fr.
- www.uipp.org
- Yan L-S, **1985**. Study of the carcinogenic mechanism for polycyclic aromatic hydrocarbons-extended bay region theory and its quantitative model. *Carcinogenesis* 6:1-6.
- Yunker M., Macdonald R., Vingarzan R., Mitchell R., Goyette D., Sylvestre S., **2002**. PAHs in the Fraser River basin : a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry* 33(4):489-515.
- Zhang Y., Tao S., **2009**. Global atmospheric emission inventory of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) for 2004. *Atmospheric Environment* 43: 812-819.

Chapitre 2.
Développement Analytique

Introduction

La reproductibilité, la sélectivité et l'adaptation à l'analyse de traces font de la SPE la méthode la plus adéquate pour l'analyse des contaminants organiques, comme les HAP et les pesticides, dans les milieux aqueux. Cependant, les études relatives à son développement et à son optimisation sont peu nombreuses. Souvent, les développements des méthodes d'analyses par SPE se fixent sur le taux de récupération de la totalité des analytes cibles, sans tenir compte, des consommations importantes de solvants organiques et du temps de préparation et de concentration.

Le chapitre suivant développement analytique expose une nouvelle approche pour la technique SPE, qui consiste à introduire la technique de centrifugation dans certaines étapes de la procédure SPE afin de développer une méthode efficace et économique pour l'extraction de polluants organiques de l'eau. Cette nouvelle méthode prendra en considération, les demandes de diminution de la consommation des solvants organiques et du temps d'analyse. Les différents étapes et paramètres influençant le taux de récupération seront étudiés et optimisés: Sélection du type de cartouche, volume de l'échantillon, séchage de l'adsorbant après la percolation de l'échantillon et les conditions d'élution et d'évaporation de solvant avant analyse.

D'autre part, du fait de leurs faibles concentrations dans les eaux, les traces de HAP et des pesticides, présents dans les systèmes aquatiques, nécessitent des méthodes d'analyse suffisamment sensibles. L'association de la SPE avec l'analyse par GC-MS en mode d'injection splitless est souvent précédée par une étape de concentration de l'éluat afin d'atteindre les limites de quantification demandés, ce qui augmente les erreurs associées au processus analytique et prolonge le temps d'analyse. Donc, afin de réduire la durée du prétraitement de l'échantillon l'étape de la concentration de l'échantillon avant l'analyse par GC-MS est supprimée alors que, la sensibilité de la méthode sera améliorée par l'injection

d'un grand volume d'échantillon par l'intermédiaire de l'injecteur à température programmée (PTV). Les paramètres de fonctionnement seront explorés et optimisés.

Ce chapitre, constitué de trois articles, expose les travaux et les résultats des développements analytiques réalisés durant les travaux de cette thèse. La première publication présente les diverses étapes de l'optimisation de la technique d'extraction SPE combinée avec la centrifugation et la discussion associée à l'élaboration d'une nouvelle méthode rapide, économique et peu consommatrice de solvants organiques.

La deuxième publication détaille l'utilisation de l'injecteur PTV sur GC-MS lors de la quantification des HAP dans les eaux. Les différentes conditions d'optimisation sont évoquées et les améliorations considérables apportées par rapport à la GC-MS en mode splitless sont clairement identifiées et indiquées.

La troisième publication présente l'élaboration et l'optimisation de la technique d'extraction SPE – centrifugation pour l'analyse d'un large groupe de pesticides appartenant à différentes familles chimiques dans les eaux.

JOURNAL OF
AGRICULTURAL AND
FOOD CHEMISTRY

J. Agric. Food Chem. 2011, 59, 7592-7600

**Optimization of a Solid-Phase Extraction Method Using
Centrifugation for the Determination of 16 Polycyclic
Aromatic Hydrocarbons in Water**

Abir Kouzayha,[†] Mohamad Al Iskandarani,[†] Samia Mokh,[†] Abdul Rahman Rabaa,[§] Helene Budzinski,[#] and Farouk Jaber^{*,†,§}

[†]*National Council for Scientific Research CNRS, Lebanese Atomic Energy Commission LAEC, Analysis of Pesticides and Organic Pollutants Laboratory LAPPO, Beirut, Lebanon*

[§]*Laboratory of Analysis of Organic Compounds (509), Faculty of Sciences I, Lebanese University, Hadath, Beirut, Lebanon*

[#]*ISM-LPTC-UMR 5255 (Laboratory of Physico- and Toxicology), CNRS, Université Bordeaux 1, 351 Cours de la Libération, 33405 Talence, France*

Special Issue: Florida Residue Workshop 2010

Received: October 1, 2010

Revised: April 6, 2011

Accepted: April 8, 2011

Published: April 08, 2011



ACS Publications

© 2011 American Chemical Society

3. Optimization of a Solid-Phase Extraction Method Using Centrifugation for the Determination of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water

Abir Kouzayha,[†] Mohamad Al Iskandarani,[†] Samia Mokh,[†] Abdul Rahman Rabaa,[§] Helene Budzinski,[#] and Farouk Jaber^{*,†,§}

[†]*National Council for Scientific Research CNRS, Lebanese Atomic Energy Commission LAEC, Analysis of Pesticides and Organic Pollutants Laboratory LAPPO, Beirut, Lebanon*

[§]*Laboratory of Analysis of Organic Compounds (509), Faculty of Sciences I, Lebanese University, Hadath, Beirut, Lebanon*

[#]*ISM-LPTC-UMR 5255 (Laboratory of Physico- and Toxicology), CNRS, Université Bordeaux I, 351 Cours de la Liberation, 33405 Talence, France*

Abstract

A fast and reliable method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in water samples by solid-phase extraction (SPE) using centrifugation has been developed and optimized. A silica-based C18 cartridge was used; parameters affecting the extraction procedure such as type and volume of the elution solvent, breakthrough volume of the percolated water sample, drying of the sorbent, and evaporation of the elute have been studied. The innovation of this work was the examination of the use of a centrifugation technique in both the drying and elution steps. When combined with centrifugation, the volume of the elution solvent was reduced to 1 mL and the time for sorbent drying decreased also to 10 min under vacuum. Under optimal conditions, recoveries for the 16 U.S. EPA PAHs were between 70 and 85% and the relative standard deviation varied between 1 and 14%. Surrogate standard recoveries were similarly between 61 and 94% with a relative standard deviation between 2 and 15%. The simplicity of the described method, use of less of organic solvent, short procedure time, and good recoveries demonstrate the advantages of this environmentally friendly approach for routine analysis of numerous samples.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), solid-phase extraction (SPE), centrifugation, organic contaminants, water, gas chromatographic-mass spectrometric analysis (GC/MS)

3.1. Introduction

Water pollution by organic compounds has caused considerable concern worldwide. The evaluation and monitoring of trace levels of the contaminants in environmental samples are important objectives. Among a wide variety of organic pollutants present in water, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are of particular importance as widespread, persistent, and toxic contaminants.^{1,2} Due to their mutagenic and carcinogenic characteristics,³ PAHs have been listed as priority pollutants by the U.S. Environmental Protection Agency (EPA) and the European Union (EU).^{4,5} These organic compounds, which mainly contain two or more fused aromatic rings of carbon and hydrogen atoms, originate from a wide variety of natural and anthropogenic sources.⁶ They are generally formed during incomplete combustion or pyrolysis of organic matter. Their sources in the aquatic environment include various routes, such as fossil fuel, oil spills, and domestic and industrial wastewater discharges, as well as atmospheric fallout deposition. Due to their low water solubility and high hydrophobicity, PAHs are usually present in water samples at nanogram per liter levels and lower. As a result, selective and sensitive analytical procedures are required for their detection and control. One of the high performance methods in sample preparation is solid-phase extraction (SPE), which has been increasingly used for extracting and concentrating different target components from liquid samples including PAHs.^{7,8} For instance, two U.S. EPA methods, 525.2 and 3535, describe the use of a SPE method for the determination of the low microgram per liter levels of organic compounds such as PAHs from aqueous samples.^{9,10} Other analytical protocols based on the SPE technique are proposed and described in the literature for PAH extraction at trace level from environmental water samples.¹¹⁻¹³

Although SPE has been extensively used for the analysis of PAHs in aqueous media, relatively few studies were reported for its development and optimization.^{14,15} Low recoveries of the low molecular weight (LMW) PAHs are obtained especially for the two-ring PAH naphthalene (Nap) (16% for Kicinski et al.¹⁶ and 28% for Kabzinski et al.¹⁷). For these reasons, there is an interest in developing a more efficient SPE method that achieves higher recoveries for the extraction of these pollutants from water, decreasing the analysis time and reducing the excessive amounts of organic solvents used. Rather than using traditional vacuum flow based SPE, centrifugation is an alternate format to overcome the inconveniences in the typical SPE techniques. Although investigation of the use of centrifugation with SPE has not

been carried out widely, it has been reported that centrifugation in SPE was utilized to force the sample through the cartridge for the analysis of peptides, proteins, and DNA.¹⁸

In the present work, a new approach for an economical, fast, and efficient SPE method using centrifugation was proposed and developed for the analysis of the 16 U.S. EPA PAHs in aqueous samples. Parameters affecting the recovery, extraction time, and solvent consumption were studied and optimized: Selection of the Cartridge Type (section 3.1), Breakthrough Volume (section 3.2), Drying after Sample Loading (section 3.3), Elution Solvent (section 3.4), and Evaporation Step (section 3.5).

3.2. Materials and methods

3.2.1. Chemicals, Standards, Solvents, and Small Apparatus.

All chemicals were of analytical reagent grade and were used without further purification. The 16 U.S. EPA PAHs (Figure 3.1) were purchased from ChemService as mix Standard Reference Solution of 100 mg/L in methanol (PPH-10 rpm), Chem Service, West Chester, PA): naphthalene (Nap), acenaphthylene (AcPy), acenaphthene (AcP), fluorene (Flu), phenanthrene (Phe), anthracene (Ant), fluoranthene (FL), pyrene (Pyr), benzo[*a*]anthracene (B[*a*]A), chrysene (Chr), benzo[*b*]fluoranthene (B[*b*]FL), benzo[*k*]fluoranthene (B[*k*]FL), benzo[*a*]pyrene (B[*a*]P), indeno[1,2,3-*cd*]pyrene (InP), dibenzo[*a,h*]anthracene (DBA), and benzo[*ghi*]perylene (B[*ghi*]P). Intermediary solutions (containing 10 mg/L of each analyte) were prepared by diluting the standard reference solution of PAHs with an appropriate solvent (ethanol, acetone, or isooctane). From the intermediary solutions, PAH working solutions at a level of 1 mg/L were prepared. The pure solid surrogate standards, naphthalene-*d*₈ (Nap-*d*₈), phenanthrene-*d*₁₀ (Phe-*d*₁₀), anthracene-*d*₁₀ (Ant-*d*₁₀), fluoranthene-*d*₁₀ (FL-*d*₁₀), chrysene-*d*₁₂ (Chr-*d*₁₂), benzo[*e*]pyrene-*d*₁₂ (B[*e*]P-*d*₁₂), benzo[*a*]pyrene-*d*₁₂ (B[*a*]P-*d*₁₂), and benzo[*ghi*]perylene-*d*₁₂ (B[*ghi*]P-*d*₁₂), were purchased from Supelco (Bellefonte, PA) with two additional deuterated PAHs, pyrene-*d*₁₀ (Pyr-*d*₁₀) and benzo[*b*]fluoranthene-*d*₁₂ (B[*b*]FL-*d*₁₂), used as internal standard at the end of the protocol. Separate 1000 mg/L stock solutions of each deuterated standard were prepared by dissolving about 0.01000 g of the corresponding compound in isooctane or ethanol. Intermediary 50 mg/L deuterated mix solutions of surrogate and internal standards were prepared in different solvents (ethanol, acetone, or

isooctane), and working solutions at a level of 2 mg/L were prepared by appropriate dilution. All standard solutions were stored at -20 °C.

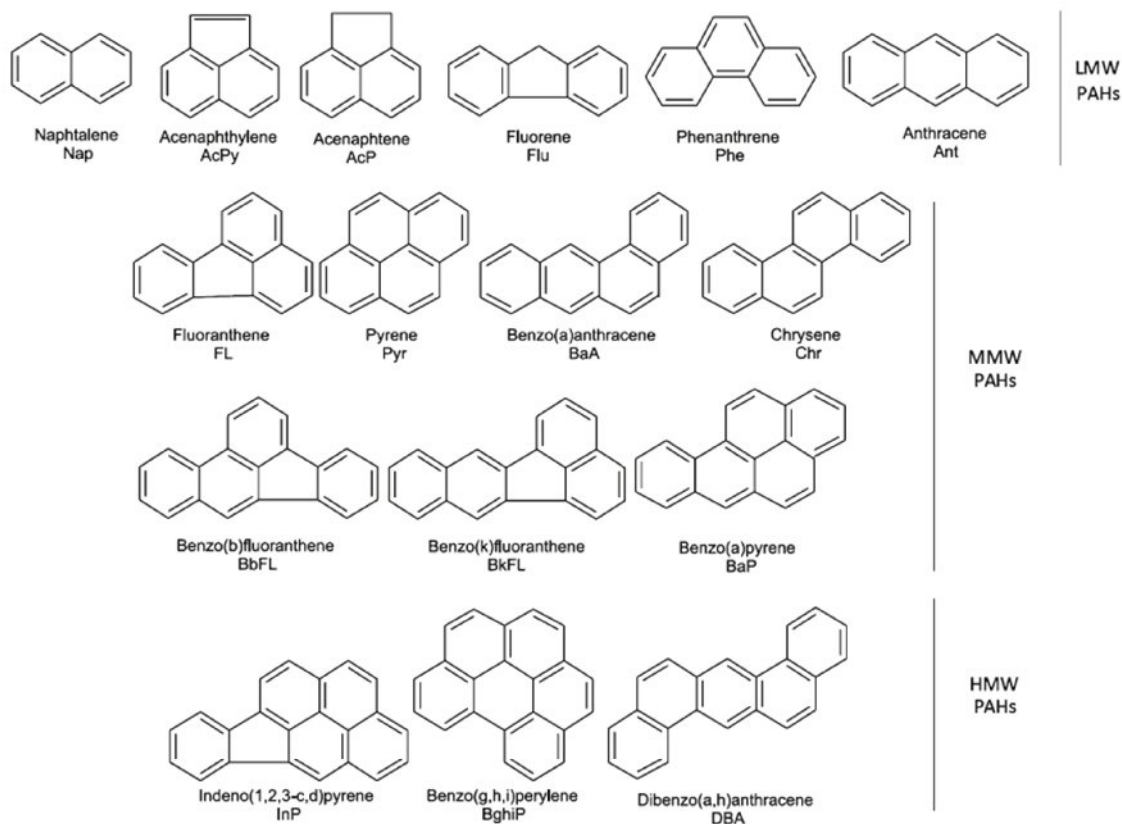


Figure 3.1. Structures of the 16 U.S. EPA PAHs studied in our work. LMW, low molecular weight; MMW, medium molecular weight; HMW, high molecular weight HMW.

Solvents (methanol (MeOH), ethanol (EtOH), acetone, dichloromethane (DCM), hexane (Hex), and isooctane) of HPLC grade were obtained from Merck (Darmstadt, Germany), BDH (VWR, USA), Lab-Scan (POCH, Gliwice), Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), and Romil (Waterbeach, Cambridge). Two salts (NaCl and Na₂SO₄) were purchased from Sigma-Aldrich. SPE Chromabond C₁₈ ec polypropylene 3 mL cartridges packed with 200 mg of adsorbent were purchased from Machery-Nagel (Duren, Germany). A Vac Elut SPE vacuum manifold from Varian (Santa Clara, CA) with a Visiprep large-volume sampler from Supelco (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) was used to simultaneously process up to 20 cartridges. An analytical balance from Sartorius (0.01 mg; Goettingen, Germany) was used. A Boeco centrifuge (model U-320R, Boeco, Germany) was employed in different steps of the

preparation method. A sample concentrator from Techne (Staffordshire, U.K.) was used for sample concentration under nitrogen. Other small apparatus such as an ultrasonic bath and a vortex shaker were used.

3.2.2. SPE Experimental Procedure

During a regular SPE process a sequence of operations must be reproduced carefully to avoid additional changes; this was taken into account in the optimization carried in our study. The sum of the 16 PAHs analyzed in this study was evaluated in a high-quality Lebanese drinking water (mineral spring water), and its low value was considered to be negligible, so it was used as a blank during the experiments. Samples were prepared by spiking blank water with target analytes at a known concentration (0.05 µg/L). The eight deuterated PAHs used as surrogate standards were added at this stage at the same concentration. For the preconcentration step, the Chromabond C₁₈ cartridges were preconditioned and activated at the beginning with 3 mL of methanol and then 3 mL of water. Each water sample was percolated using a regulated vacuum through the SPE cartridge with a flow rate of 5 – 10 mL/min, and then the cartridge was dried. The analytes were eluted by percolating the elution solvent on the SPE cartridge at atmospheric pressure. When the centrifugation was used for sample elution, the solvent was added to the cartridge with the valve closed, then the cartridge was centrifuged, and finally the elute was recovered. The extract, if necessary, was stored at about -20 °C until analysis or was evaporated directly to about 100 µL with a weak nitrogen stream. The obtained extract was reconstituted in 200 µL of isooctane, and the solution of recovery internal standards (Pyr-d₁₀ and B[b]FL-d₁₂) was added. Samples were stored in the dark at about -20 °C until measurement.

3.2.3. Gas Chromatographic_Mass Spectrometric (GC-MS) Analysis

The analysis of PAHs was carried out on an Agilent 6890N gas chromatograph coupled to an Agilent 5975 mass spectrometer system (GC-MS) with an Agilent 7683B autosampler (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). Chromatographic separation was performed on a HP-5MS fused silica capillary column (30 m, 0.25 mm, 0.25 µm, Agilent J&W GC columns). Helium (purity > 99.999%) was used as the carrier gas at a flow rate of 1.5 mL/min. The split-splitless injector temperature was set at 240 °C. The GC oven was initially held at 50 °C for 2 min and then programmed to 155 °C at a rate of 5 °C/min. After

being kept at 155 °C for 2 min, the oven was programmed to 280 °C at a rate of 3 °C/min. Finally, it was held for 2 min to achieve a running time of 69 min. The mass spectrometer was operated in the electron ionization mode (EI, 70 eV). Transfer line, ion source, and quadrupole analyzer temperatures were maintained at 280, 230, and 150 °C, respectively, and a solvent delay of 10 min was selected. The injection volume was 1 µL, and all injections were in splitless mode. Selective ion monitoring (SIM) mode was adopted for quantitative determination of the analytes using two or three ions for each compound. The ions monitored for each analyte, the surrogate standards, and the corresponding internal standards are summarized in Table 3.1. The first ion, which in all cases corresponded to the molecular mass, was used as quantifier, and the second and the third ions were used as qualifiers.

3.3. Results and Discussion

The purpose of this study was to develop and optimize a new SPE method using centrifugation for the analysis and ultratrace quantification of the 16 PAHs identified by the U.S. EPA as priority pollutants in water samples. Experiments were performed to evaluate the different SPE parameters and carried out in triplicates. The purpose was to determine the recoveries of the compounds in each individual step to evaluate the optimal conditions.

3.3.1. Selection of Cartridge Type

PAHs belong to the class of weak polarity organic compounds. According to the rule of like dissolves like, a SPE sorbent with similar polarity will facilitate enrichment. At present, the preferred SPE sorbent for the extraction of PAHs from water is reversed-phase carbon 18 bonded-silica (C₁₈) as it gives the best performance among the different SPE polymeric and carbon-based sorbents.^{19,20} On the basis of the theoretical principle as well as literature account, SiO₂-C₁₈ was selected as the SPE sorbent in this study.

3.3.2. Breakthrough Volume

Breakthrough of the analyte occurs either when the analyte is no longer retained by the sorbent or when the capacity of the sorbent has been overloaded.²¹ In practical environmental analysis, the need to determine trace amounts of organic compounds has led to an increase of

the sample volume from a few milliliters to hundreds of milliliters and even liters,^{18,22} and consequently breakthrough becomes more of a concern. Some authors have shown experimentally that the retention and recovery of analytes depend on the sample volume that flows through the SPE cartridge.²³ For PAH analysis, the sample volume ranged between 50 mL¹⁷ and 2 L²⁴ depending on the concentration of analytes in water, the quantity of adsorbent in the SPE cartridge, and the detector sensitivity in the analytical method.

Predicting the breakthrough volume based on the analogy between liquid chromatography (LC) and SPE has largely been described by Hennion et al.²⁵ Among the various tools for predicting recoveries according to the percolated sample volume, the most important factor is the retention factor of the analyte in water, K_w . Another mathematical approach was developed by Ferrer et al.²⁶ and successfully applied to calculate the breakthrough volume of 15 PAHs. The calculated values of the breakthrough volume were compared to those obtained experimentally with no significant differences.

In our study, we varied the loaded volume on the cartridge between 500 and 1500 mL to determine the possible loss of PAHs. The chosen volumes took into consideration the concentration factor of analytes needed and the period required for the percolation of the whole volume on cartridge. As seen in Figure 3.2, there was no apparent decrease in recoveries with water volume between 500 and 1000 mL except for the four LMW PAHs (Nap, AcPy, AcP, and Flu), for which the recovery fell by only 10 - 20%. For a volume of 1500 mL, the recoveries of the LMW PAHs decreased significantly to about 40%. The medium molecular weight (MMW) and high molecular weight (HMW) PAHs did not show any recovery change with volume up to 1500 mL. The relative standard deviations varied between 1 and 9% for all of the compounds and by up to 17% for Nap. Consequently, a volume between 500 and 1000 mL can be safely selected as the sample volume.

3.3.3. Drying after Sample Loading

After sample loading, the concentrated analytes should be removed from the cartridge with an appropriate organic solvent. It must be kept in mind that the SPE column will usually be filled with water at this point. Thus, immediate elution will produce an effluent containing some water, which is not compatible with the analytical instrument to be used (GC-MS). On the other hand, the drying step is an important aspect to be taken into account when an apolar solvent is used to elute the PAHs. If the drying process is ignored and the pores are still filled

with water, the eluting solvent cannot penetrate the pores or can penetrate them only slowly because of immiscibility and/or reasons of viscosity. As a result, lower recovery and lower repeatability may be obtained.¹³

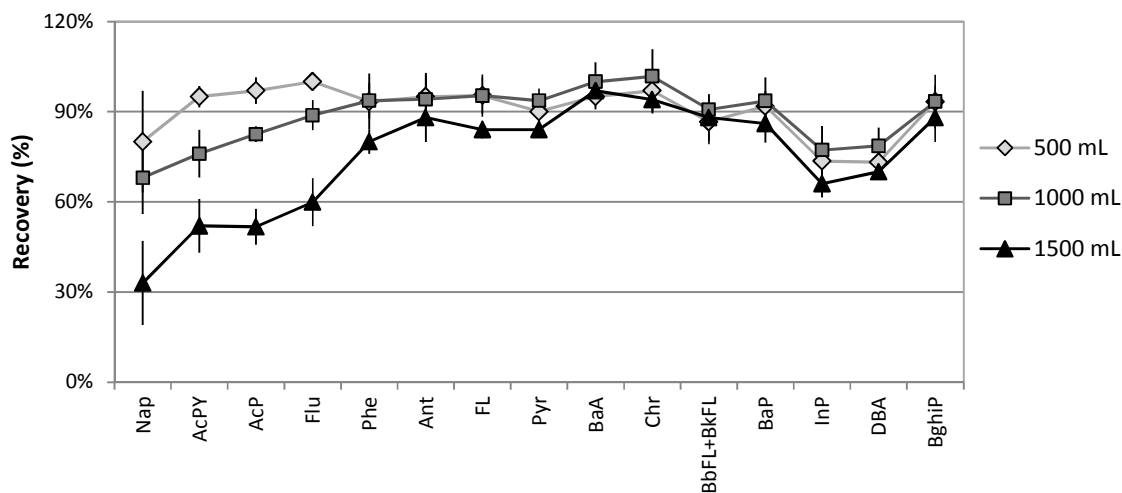


Figure 3.2. Extraction recovery (%) of the 16 PAHs obtained for a loaded sample volume between 500 and 1500 mL with 0.05 $\mu\text{g/L}$ of analyte.

The step of drying is critical due to the high volatility of the LMW PAHs. Oleszczuk and Baran²⁰ found that the complete drying of the SPE column resulted in losses of volatile PAHs of 10 - 20%. In the work of Delhomme et al.,¹⁷ recoveries of 0 and 10% were observed for Nap and AcPy when the cartridge was dried under vacuum for approximately 20 min. For these reasons, we decided to evaluate the losses of volatile PAHs during the drying step of the cartridge under vacuum at different specific durations (10, 20, 30, 45, and 60 min) for a 3 mL SPE tube with 200 mg of sorbent. Results of recoveries obtained for the three more volatiles PAHs (Nap, AcPy, and AcP) are presented in Figure 3.3.

Some previous observations were confirmed in our experiments. Drying for more than 20 min under vacuum decreased significantly the recovery of volatile PAHs, especially Nap, for which a loss of 70% was observed (Figure 3.3). Lower decreases were noted for the less volatile PAHs (approximately 25% for AcPy and AcP). Besides, the Nap contamination from laboratory atmosphere increased with drying time as a blank cartridge showed. However, a duration of 30 min was necessary to achieve the complete drying of 200 mg of sorbent after the percolation of the water volume (1000 mL) in the 3 mL SPE cartridge. That is why we

tested the centrifugation technique (2500 rpm for 2 min) immediately after sample application to eliminate the residual water from the cartridge and try to accelerate the vacuum drying. A successful decrease in the time required to dry the SPE sorbent to about 10 min was reached with recoveries between 77 and 82% for the three volatile PAHs. The relative standard deviations of the three triplicates were between 0.12 and 9%.

As a result, decreasing the drying time by centrifugation to about 10 min presented many benefits. It restricted the losses of the volatile PAHs, especially the Nap, reduced the time needed for the analysis, and limited the possible contamination.

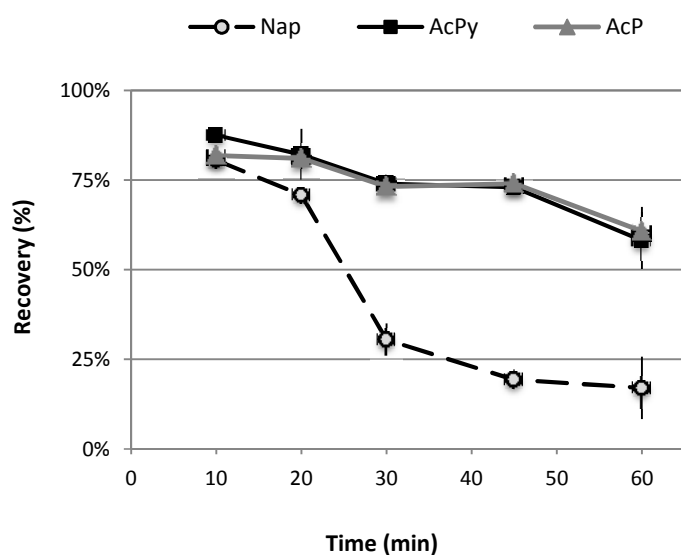


Figure 3.3. Recoveries (%) of Nap, AcP, and AcPy for a drying time between 10 and 60 min under vacuum. Sample volume was 500 mL with 0.05 $\mu\text{g/L}$ of analyte.

3.3.4. Elution Conditions

The next step after drying the cartridge was to evaluate the elution parameters. Three elution conditions were studied, and recoveries were evaluated: the nature of the elution phase, the elution phase volume, and the investigation of the centrifugation.

a. Nature of the Elution Phase

The ideal elution solvent should be strong enough to elute all of the target compounds. The elution strength of the organic solvent depends on the type of sorbent used. For the

reversed phase sorbent, an organic solvent with lower polarity will exhibit stronger elution. In the surveyed scientific literature, a considerable number of single organic solvents and mixtures with low polarities have been used for the elution of PAHs from a C₁₈ cartridge. DCM,²⁷ Hex,²⁸ and their mixture (50:50 (v/v))²⁹ have been used extensively for this purpose with acceptable recoveries. These elution phases with a sufficient volume of 9 mL were tested in our study for the elution of the 16 analyzed PAHs. A more polar mixture of DCM/EtOH (50:50, (v/v)) was also tested to study the influence of the polarity.

According to the results shown in Figure 3.4, recoveries of all PAHs increased when the polarity of the elution phase was decreased, especially for the HMW PAHs. Recoveries of 61, 70, and 83% were obtained for InP, DBA, and BghiP with DCM/EtOH; 79, 92, and 99% with DCM, 82, 88, and 96% with DCM/ Hex; and 82, 76, and 90% with Hex. The relative standard deviations were below 10% for the HMW compounds. Therefore, to ensure higher recoveries of PAHs, DCM, DCM/Hex, or Hex is recommended as elution solvent. In addition to the elution strength, DCM presents another advantage, which is the high vapor pressure necessary to achieve quick and effective solvent evaporation. Therefore, remaining experiments were conducted with DCM.

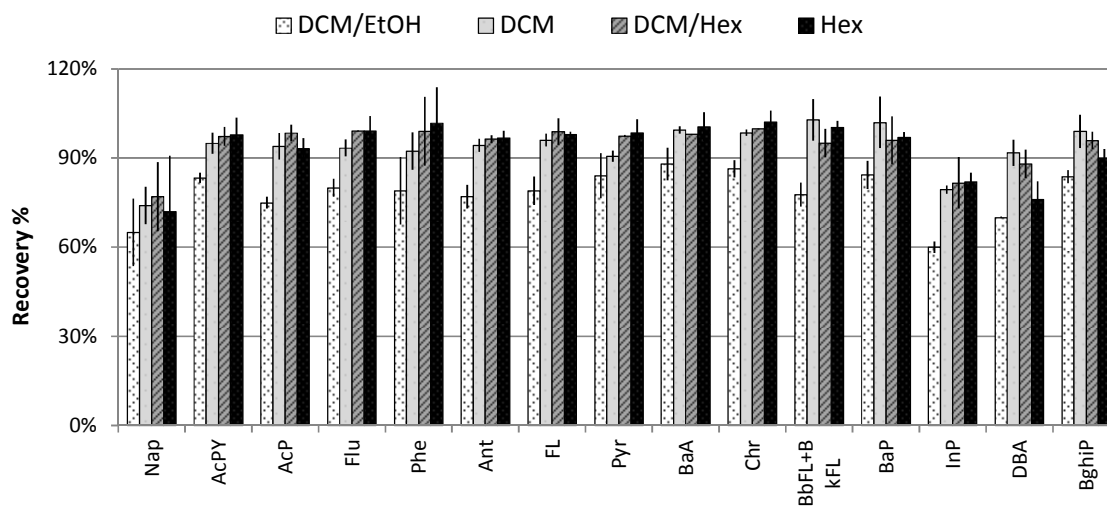


Figure 3.4. Influence of elution solvent polarity (DCM/EtOH, DCM, DCM/Hex, and Hex) on the recoveries of the 16 PAHs extracted from 500 mL of sample with 0.05 µg/L of analyte.

Cartridges were dried with 2 min of centrifugation followed by 10 min under vacuum.

Table 3.1. Ions Monitored for Each Analyte Studied, Surrogate Standard, and Corresponding Internal Standard.

Compound	<i>m/z</i>	Surrogate Standard	<i>m/z</i>	Internal Standard	<i>m/z</i>
Nap	128, 129	Nap- <i>d</i> ₈	136, 137, 135		
AcPy	152, 151, 153				
AcP	154, 153, 152				
Flu	166, 165, 167	Phe- <i>d</i> ₁₀	188, 189, 184		
Phe	178, 176, 179				
Ant	178, 176, 179	Ant- <i>d</i> ₁₀	188, 189, 184	Pyr- <i>d</i> ₁₀	212, 211, 213
FL	202, 200, 203				
Pyr	202, 200, 203	FL- <i>d</i> ₁₀	212, 213		
B[<i>a</i>]A	228, 226, 229				
Chr	228, 226, 229	Chr- <i>d</i> ₁₂	240, 236		
B[<i>b</i>]FL	252, 250				
B[<i>k</i>]FL	252, 250	B[<i>e</i>]P- <i>d</i> ₁₂	264, 263		
B[<i>a</i>]P	252, 250	B[<i>a</i>]P- <i>d</i> ₁₂	264, 263		
InP	276, 277, 274			B[<i>b</i>]FL- <i>d</i> ₁₂	264, 263
DBA	278, 276				
B[<i>ghi</i>]P	276, 277, 274	B[<i>ghi</i>]P- <i>d</i> ₁₂	288		

b. Elution Phase Volume

After the nature of the elution phase has been chosen, it is important to find the appropriate volume needed for a complete elution of the 16 analyzed PAHs. Different volumes of DCM, 3, 5, 7, and 9 mL, were evaluated, and recoveries are presented in Figure 3.5.

Using only 3 mL of DCM, the less hydrophobic PAHs or LMW PAHs were completely eluted (77% for Nap, 72% for AcPy, 69% for AcP, 81% for Flu, and 86% for Phe), but the volume of 3 mL was not sufficient for the elution of the HMW PAHs (48% for BghiP as for DBA and 51% for InP). When the amount of DCM was increased from 3 to 5 mL, recoveries increased slightly (11% for BghiP, 5% for DBA, and no significant difference for InP). Further increases to 7 and 9 mL resulted in remarkable additional increases in the recoveries of HMW PAHs (by as much as 17% for BghiP, 23% for DBA, and 35% for InP). As a result, 9 mL of DCM was required to ensure a maximum elution of the 16 PAHs, especially the HMW PAHs. The relative standard deviations of the three repetitions at each elution volume were between 0.23 and 16.19%.

c. Effect of Centrifugation

Previous experiments proved that 9 mL of DCM per sample is required for the quantitative elution of all 16 PAHs from the SPE cartridge. The 9 mL per sample is not an enormous quantity of solvent when only a few samples are being analyzed, but during monitoring programs and routine analyses of PAHs, thousands of samples are analyzed annually, which greatly increases the consumption of DCM and the costs of the analysis. Moreover, the evaporation of 9 mL of DCM under a weak stream of nitrogen may take up to an hour, which is a waste of time. Therefore, reducing the elution volume is a necessity to decrease the need for a long evaporation step and consequently the risk of loss of high vapor pressure compounds.

For this purpose, centrifugation was investigated as an alternate technique for elution. In the first experiment, we applied a centrifugation technique for 1 min at 2300 rpm using 1 mL of DCM three times. The total volume of elution solvent of 3 mL was analyzed and compared to the regular elution directly on cartridge using 3 and 9 mL of DCM. It is clear in the results illustrated in Figure 3.6 that the recoveries obtained using only 3 mL of DCM with

centrifugation were comparable to those with 9 mL of DCM for the HMW PAHs and better for the LMW PAHs. In fact, the rapid rotation of the centrifuge with the valve closed ensures that the adsorbent is well impregnated with the elution solvent, enabling a complete desorption of the analytes into the solvent; thus, when the valve was open, a complete elution of analytes, even the strongly adsorbed HMW PAHs, was done using a small volume of solvent. The relative standard deviations of the 16 PAHs were all below 5%.

During elution using centrifugation, each 1 mL of DCM was recovered and analyzed separately by GC-MS (Figure 3.7). For all 16 PAHs analyzed, a recovery of >70% was achieved with only 1mL of DCM, and the relative standard deviations were below 10%. In the second and third elution volumes, an insignificant amount of analytes was found. Centrifugation speed and time are not critical factors in the elution as long as they are sufficient to ensure that the stationary phase is well impregnated with the elution solvent.

3.3.5. Evaporation Step

Evaporation is an important step in sample preparation to be considered and discussed, because it affects directly the recoveries and the time needed for sample analysis. The 16 PAHs selected in our study are a group of compounds with different physicochemical properties; the LMW PAHs present a high vapor pressure that could lead to loss during the evaporation, contrary to the HMW PAHs. Several factors influence the evaporation rate and losses of compounds: type of solvent, initial solvent volume, applied temperature, and nitrogen flow.

a. Temperature Effect

Heating should be supplied to the sample to obtain a rapid and efficient evaporation. In the absence of any external heating source, the sample under nitrogen flow evaporates and cools until the vapor pressure is very low and the evaporation slows dramatically. The applied temperature is a critical factor during the evaporation step because overheating can lead to high losses of the more volatile two and three ring PAHs.

For reasons of simplicity the three more volatile PAHs (Nap, AcPY, and AcP) were selected to determine the optimal operating conditions. Triplicate samples of 1 mL of DCM containing 0.05 µg of each analyte were concentrated at 25, 40, 50, and 60 °C, and the results are illustrated in Figure 3.8.

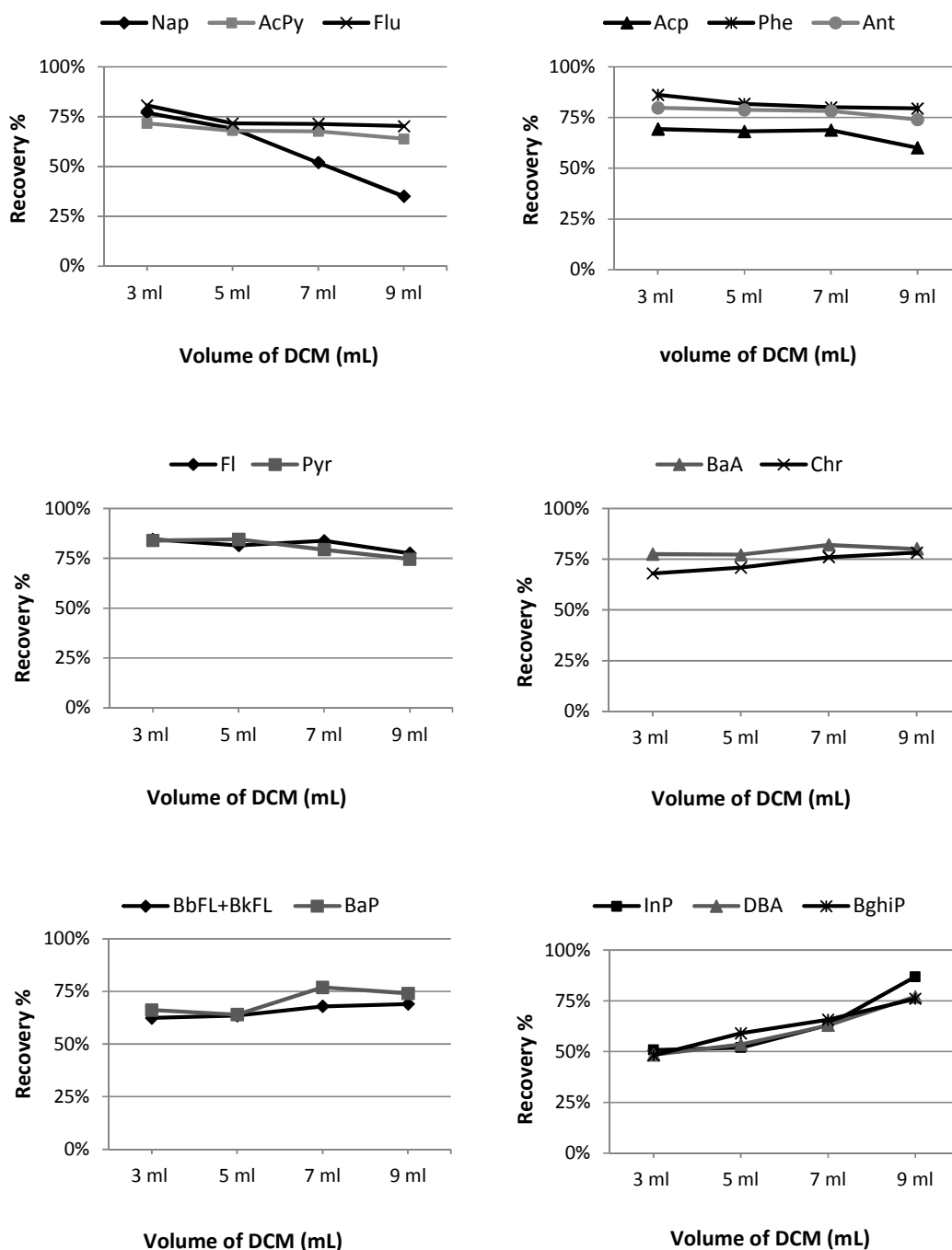


Figure 3.5. Effect of the elution volume of DCM (3, 5, 7, and 9 mL) on the recoveries of the 16 PAHs extracted from 500 mL of sample with 0.05 µg/L of analyte. Cartridges were dried with 2 min of centrifugation followed by 10 min under vacuum.

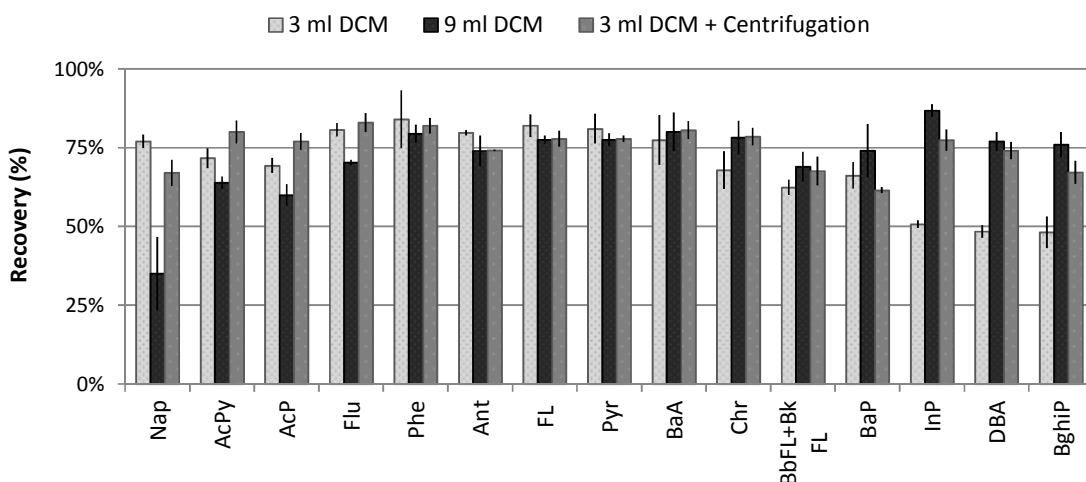


Figure 3.6. Comparison between recoveries obtained for elution on cartridge (3 and 9 mL of DCM) and elution with centrifugation using only (3 - 1mL) DCM. Sample volume was 500 mL with 0.05 µg/L of analyte. Cartridges were dried with 2 min of centrifugation followed by 10 min under vacuum.

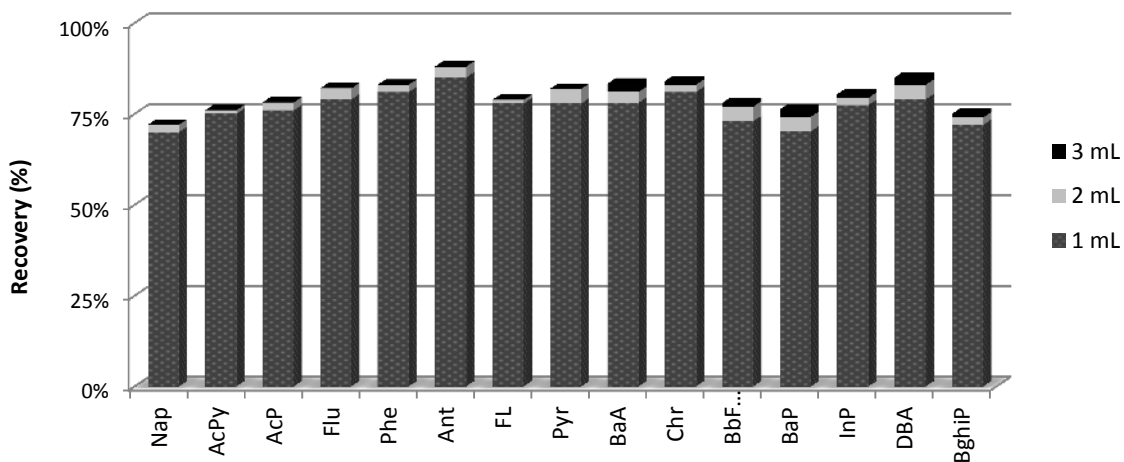


Figure 3.7. Recoveries of the 16 PAHs in each 1 mL of DCM. Sample volume was 500 mL with 0.05 µg/L of analyte. Cartridges were dried with 2 min of centrifugation followed by 10 min under vacuum.

A decrease in recoveries was observed with temperature. Recoveries of Nap, AcPy, and AcP were by 11 - 14% lower for a temperature above 40 °C. Therefore, to avoid losses of the LMW PAHs during the evaporation step, a temperature lower than 40 °C is

recommended. A temperature of 35 °C was chosen as optimal for the elimination of DCM during the optimization of concentration conditions by Fladung.¹⁶

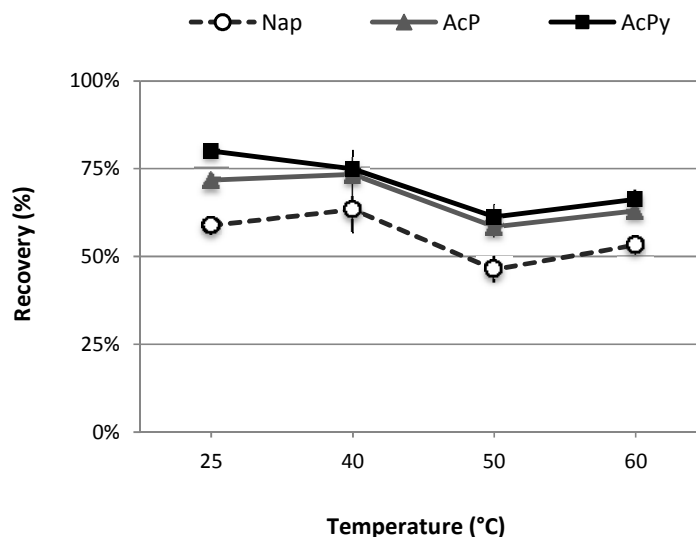


Figure 3.8. Effect of evaporation temperature (25, 40, 50, and 60 °C) on recoveries of Nap, AcPy, and AcP for the concentration of 1 mL of DCM containing 0.05 µg of each analyte.

b. Type and Initial Volume of Solvent : Effect of the Addition of Isooctane

The type and initial volume of solvent are directed by the previous elution step. A low initial volume can reduce 9 - 10 times the evaporation period, from 45 min for 9 mL to <5 min for 1 mL of DCM.

Even when the chosen evaporation conditions were used, relatively low recoveries of LMW PAHs were observed (between 59 and 77%). To try to ameliorate these results, a “solvent keeping” approach was tested, wherein a volume of isooctane was added to each sample of DCM. Isooctane (boiling point = 99.2 °C) is less volatile than DCM (boiling point = 40 °C), in which the samples were dissolved. The object was to verify if LMW PAHs could be successfully concentrated into the residual isooctane and retained during the elimination of the DCM. A mix containing the LMW PAHs (0.05 µg) was spiked into 1 mL of DCM with and without the isooctane addition (200 µL and 1 mL). The samples were evaporated at 25 °C.

The results presented in Figure 3.9 show a beneficial effect for the recoveries of the LMW PAHs. When an initial volume of 1 mL of DCM was used, the experiments carried out with the addition of 200 μ L of isooctane showed a more pronounced improvement on recoveries than the addition of 1 mL of isooctane.

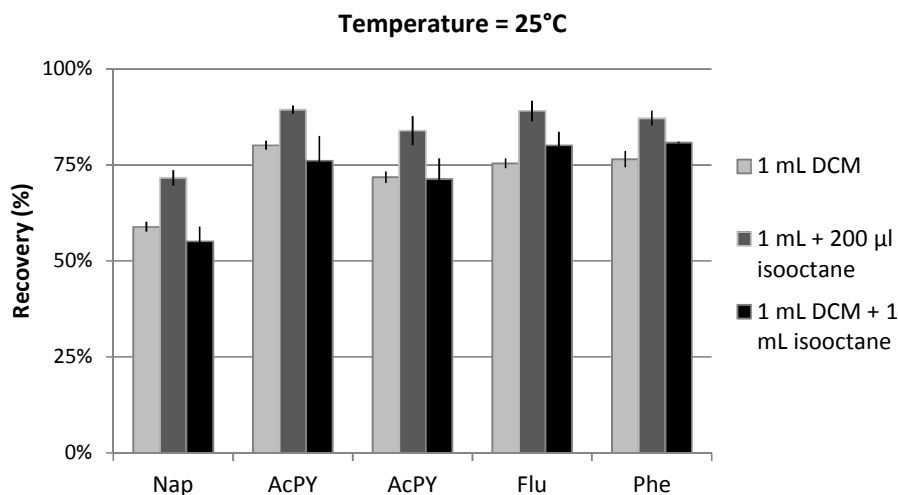


Figure 3.9. LMW PAH recoveries following concentration from 1 mL of DCM (0.05 μ g of each analyte), with and without the addition of isooctane (200 μ L and 1 mL) at 25 °C.

Isooctane was selected not only for its possibility to capture LMW PAHs during DCM evaporation but also for its low expansion volume after vaporization inside the GC-MS liner. This allows an injection of a higher volume of sample than DCM with an expanded vapor volume not exceeding the capacity limit of the liner.

3.3.6. Surrogate Standard Recoveries

Recoveries of surrogate standards added to water samples prior to extraction were evaluated as well using the optimal SPE conditions described above. The test was carried out in triplicate. The results, presented in Table 3.2, indicate average recoveries of 61 - 94% for the eight deuterated PAHs. The surrogate standards with the lowest and highest molecular weights, Nap- d_8 and B[ghi]P- d_{12} , had lower recoveries. The precision (relative standard deviation) of the recovery was generally better than 10% except for the Nap- d_8 (15%) due to its high volatility.

Table 3.2. Recoveries and Relative Standard Deviations of Surrogate Standards for the Optimal Conditions.

Surrogate Standard	Recovery (%)	Relative Standard Deviation (%)
Nap- <i>d</i> ₈	65.6%	14.7%
Phe- <i>d</i> ₁₀	93.8%	6.6%
Ant- <i>d</i> ₁₀	92.2%	3.9%
FL- <i>d</i> ₁₀	92.9%	2.2%
Chr- <i>d</i> ₁₂	87.5%	4.0%
B[e]P- <i>d</i> ₁₂	81.2%	8.1%
B[a]P- <i>d</i> ₁₂	85.5%	8.8%
B[ghi]P- <i>d</i> ₁₂	60.6%	9.5%

3.4. Conclusion

This work presents for the first time an SPE method using the centrifugation technique for the extraction of PAHs from water samples. The proposed method shows practical environmental and economical advantages in terms of sample preparation time, simplicity, reduction in solvent use, and cost and is particularly suitable for routine applications requiring a high sample throughput. Optimized conditions include the percolation of a sample volume between 500 and 1000 mL on a C₁₈ cartridge and a drying step using centrifugation followed by 10 min under vacuum. The evaluation of the elution parameters demonstrated that 1 mL of DCM with centrifugation was successfully used for the elution of analytes. The concentration was performed at a temperature below 40 °C after the addition of 200 µL of isooctane. Under the optimized conditions, this method showed good recoveries for the 16 U.S. EPA PAHs between 70 and 85% with relative standard deviations between 1 and 14%. Surrogate standard recoveries were similarly between 61 and 94% with relative standard deviations between 2 and 15%.

References

- (1) Means, J. C.; Wood, S. G.; Hasset, J. J.; Banwart, W. L. Sorption of polynuclear aromatic hydrocarbons by sediments and soils. *Environ. Sci. Technol.* **1980**, 14, 1524–1528.

- (2) Edwards, N. T. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) in the terrestrial environment: a review. *J. Environ. Qual.* **1983**, 12, 427–441.
- (3) U.S. Public Health Service. *Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*; Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services: Washington, DC, 1990; p 231.
- (4) U.S. Environmental Protection Agency. Guidelines establishing test procedures for the analysis of pollutants. *Fed. Regist.* **2000**, 49, 209.
- (5) Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy Official J. L 327, 22 December. *Off. J. Eur Communities* **2000**, 0001_0073.
- (6) Manoli, E.; Samara, C. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. *Trends. Anal. Chem.* **1999**, 18, 417–428.
- (7) Urbe, I.; Ruana, J. Application of solid-phase extraction discs with a glass fiber matrix to fast determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *J. Chromatogr., A* **1997**, 778, 337–345.
- (8) Burkhardt, M. R.; Zaugg, S. D.; Burbank, T. L.; Olson, M. C.; Iverson, J. L. Pressurized liquid extraction using water/isopropanol coupled with solid-phase extraction cleanup for semivolatile organic compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), and alkylated PAH homolog groups in sediment. *Anal. Chim. Acta* **2005**, 549, 104–116.
- (9) U.S. Environmental Protection Agency. Determination of Organic Compounds in Drinking Water by Liquid_Solid Extraction and GC_MS Method. Method 525-2, 1995.
- (10) U.S. Environmental Protection Agency. Solid-Phase Extraction (SPE). Method 3535, 1996.
- (11) Kiss, G.; Varga-Puchony, Z.; Hlavay, J. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation using solid phase extraction and column liquid chromatography. *J. Chromatogr., A* **1996**, 725, 261–272.

- (12) Chee, K. K.; Wong, M. K.; Lee, H. K. Microwave-assisted solvent elution technique for the extraction of organic pollutants in water. *Anal. Chim. Acta* **1996**, 330, 217–227.
- (13) Crozier, P. W.; Plomley, J. B.; Matchuk, L. Trace level analysis of PAHs in surface waters by SPE and gas chromatography ion trap mass spectrometry (GC-ITMS). *Analyst* **2001**, 126, 1974–1979.
- (14) Fladung, N. C. Optimization of automated solid-phase extraction for quantitation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous media by high-performance liquid chromatography_UV detection. *J. Chromatogr., A* **1995**, 692, 21–26.
- (15) Delhomme, O.; Rieb, E.; Millet, M. Solid-phase extraction and LC with fluorescence detection for analysis of PAHs in rainwater. *Chromatographia* **2007**, 65, 163–171.
- (16) Kicinski, H. G.; Adamek, S.; Kettrup, A. Trace enrichment and HPLC analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples using solid phase extraction in connection with UV/VIS diodearray and fluorescence detection. *Chromatographia* **1989**, 28, 203–208.
- (17) Kabzinski, A. K. M.; Cyran, J.; Juszczak, R. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water (including drinking water) of Lodz. *Polish J. Environ. Stud.* **2002**, 11 (6), 695–706.
- (18) Gilar, M.; Belenky, A.; Wang, B. H. High-throughput biopolymer desalting by solid-phase extraction prior to mass spectrometric analysis. *J. Chromatogr., A* **2001**, 921, 3–13.
- (19) Martinez, E.; Gros, M.; Lacorte, S.; Barcelo, D. Simplified procedures for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, sediments and mussels. *J. Chromatogr., A* **2004**, 1047, 181–188.
- (20) Oleszczuk, P.; Baran, S. Application of solid-phase extraction to determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge extracts. *J. Hazard. Mater. B* **2004**, 113, 237–245.
- (21) Pichon, V.; Charpak, M.; Hennion, M. C. Multiresidue analysis of pesticides using new laminar extraction disks and liquid chromatography and application to the French priority list. *J. Chromatogr., A* **1998**, 795, 83–92.

- (22) Wan, H. B.; Lan, W. G.; Wong, M. K.; Mok, C. Y.; Poh, Y. H. Orthogonal array designs for the optimization of solid-phase extraction. *J. Chromatogr., A* **1994**, 77, 255–263.
- (23) Liska, I.; Kuhan, A.; Krupcik, J. Comparison of sorbents for solid-phase extraction of polar compounds from water. *J. Chromatogr., A* **1990**, 509, 123–134.
- (24) Law, R. J.; Dawes, V. J.; Woodhead, R. J.; Matthiessen, P. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in seawater around England and Wales. *Mar. Pollut. Bull.* **1997**, 34 (5), 306–322.
- (25) Hennion, M. C.; Cau-Dit-Coumes, C.; Pichon, V. Trace analysis of polar organic pollutants in aqueous samples. Tools for the rapid prediction and optimization of the solid-phase extraction parameters. *J. Chromatogr. A* **1998**, 823, 147–161.
- (26) Ferrer, R.; Beltran, J. L.; Guiteras, J. Mathematical procedure for the determination of the breakthrough volumes of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Anal. Chim. Acta* **1997**, 346, 253–258.
- (27) Nirmaier, H. P.; Fischer, E.; Meyer, A.; Henze, G. Determination of PAHs in water samples using HPLC with amperometric detection. *J. Chromatogr., A.* **1996**, 730, 169–175.
- (28) Garcia-Falcon, M. S.; Perez-Lamela, M.; Simal-Gandara, J. Comparison of strategies for extraction of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking waters. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 6897–6903.
- (29) Valavanidis, A.; Vlachogianni, Th.; Triantafillaki, S.; Dassenakis, M.; Androustos, F.; Scoullou, M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface seawater and in indigenous mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from coastal areas of the Saronikos Gulf (Greece). *Estuarine, Coastal Shelf Sci.* **2008**, 79, 733–739.



Contents lists available at ScienceDirect

Talanta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/talanta

Optimization of a programmed temperature vaporization–gas chromatography–mass spectrometry method for the trace analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in waters after a solid phase extraction

Abir Kouzayha¹, Aisha Al Ashi², Mohamad AL Iskandarani¹, Abdul Rahman Rabaa², Haifa Abdul Rahim², Hélène Budzinski³ and Farouk Jaber^{1&2*}

¹ National Council for Scientific Research CNRS - Lebanese Atomic Energy Commission LAEC - Analysis of Pesticides and Organic Pollutants Laboratory LAPPO - Beirut, Lebanon.

² Lebanese University - Faculty of Sciences I - Laboratory of Analysis of Organic Compounds (509) - Hadath, Beirut, Lebanon.

³ Université Bordeaux I, CNRS, ISM–LPTC–UMR 5255 (Laboratory of Physico- and Toxicology), 351 Cours de la Libération, 33405 Talence, France.

(Accepted for publication in TALANTA)

4. Optimization of a programmed temperature vaporization–gas chromatography–mass spectrometry method for the trace analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in waters after a solid phase extraction

Abir Kouzayha¹, Aisha Al Ashi², Mohamad AL Iskandarani¹, Abdul Rahman Rabaa², Haifa Abdul Rahim², Hélène Budzinski³ and Farouk Jaber^{1&2*}

¹ National Council for Scientific Research CNRS - Lebanese Atomic Energy Commission LAEC - Analysis of Pesticides and Organic Pollutants Laboratory LAPPO - Beirut, Lebanon.

² Lebanese University - Faculty of Sciences I - Laboratory of Analysis of Organic Compounds (509) - Hadath, Beirut, Lebanon.

³ Université Bordeaux 1, CNRS, ISM–LPTC–UMR 5255 (Laboratory of Physico- and Toxicology), 351 Cours de la Lib  ration, 33405 Talence, France.

Abstract

This paper presents the optimization of a programmed temperature vaporization (PTV) injection-gas chromatographic mass spectrometric (GC–MS) method for the analysis of the 16 EPA priority polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at trace levels in water samples. The extraction was accomplished using the solid phase extraction (SPE) method with centrifugation. The injection parameters (injection speed, inlet temperature, vent flow, vent pressure, vent time, purge flow, and purge time) were optimized using two statistical designs of experiments. A Plackett-Burman design showed that among factors, only four have a significant effect on the analytical response of the target PAHs, and a Box-Behnken design was applied to determine the optimum values of the significant factors. Analytical characteristics expressed in terms of linearity, precision, recovery, detection and quantification limits have been determined. Recoveries between 82 and 106% were obtained for all PAHs tested with a good precision (4.7 - 8.9%). Detection and quantification limits ranged from 0.01 to 0.91 ng/mL. Compared to the conventional 1  L splitless injection, the PTV injection of 5   L provided an enhancement of sensitivity in the S/N ratios from 2 to 100 times for all target PAHs. Finally, the developed method was successfully applied to the ultratrace analysis of PAHs in Lebanese groundwater samples.

Keywords: Programmed temperature vaporization (PTV) – Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) – Gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) – Solid phase extraction (SPE) – Water analysis – Organic pollutants.

4.1. Introduction

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are semi volatile organic pollutants widely spread in the environment and mainly arise from the incomplete combustion of organic matter, from industrial process and from other human activities [1]. PAHs have received increased attention in the last years because some of them are potentially carcinogenic or mutagenic, such as benzo[a]pyrene [2]. Sixteen of these compounds are included in the U.S. Environmental Protection Agency (EPA) list as priority contaminants which should be monitored in the environment [3].

Increased public concern over potential health hazards associated with exposure to PAHs has led to the development of highly sensitive and selective analytical procedures to determine these compounds in a variety of environmental and food matrices. Though, papers concerning the analysis of PAHs in water samples are scarce due to their very low concentrations in comparison with the concentrations in wastes, sewage, soils and marine sediments [4]. The PAHs concentrations in relatively unpolluted rivers are usually from 10 to 250 ng/L and lower levels are found in seawaters 0.01–10 ng/L [5, 6]. Such low concentration levels often make in-depth investigation of PAHs in water samples difficult or even impossible sometimes. Therefore, ensuring the needed sensitivities for detection and quantitation is often the key to the success of many studies dealing with trace amounts of PAHs.

Solid-phase extraction (SPE) technique followed by gas chromatographic with mass spectrometric detection methods (GC-MS) have used successfully for a long time in analytical laboratories for the extraction and analysis of PAHs in water [7, 8]. Thus, many laborious steps are required such as conditioning, enrichment, washing, drying, elution and concentration [9]. Because PAHs are present at low concentrations in aqueous media, a concentration step up to 10-20 times is frequently required prior to analysis to achieve the limits of quantification (LOQ) of the GC-MS. These routine steps prolong analysis time and increase the errors associated with the analytical process [10, 11]. On the other hand, high discrimination of the signal intensities of low and high molecular weight (LMW and HMW) compounds is a problem in the analysis of PAHs by GC-MS using splitless injection mode [12, 13]. The lower abundance of the heavier compounds causes also smaller signal-to-noise (S/N) ratios which result in the increase of the limits of detections (LOD). Therefore, the very high sensitivity that is required for the trace or

ultratrace analysis of PAHs in water samples makes it necessary to improve the detection limits reached by GC-MS with traditional splitless injection mode.

Recently, large-volume injection (LVI) technique such as programmed temperature vaporization (PTV) injection was explored to improve method sensitivity in the GC determination of trace analytes. PTV injection allows us to introduce larger volumes of the final extract up to 100 μL in some cases [14]. Several studies have been recently published using PTV methods for the determination of organic trace pollutants, such as phenols [15], pesticides [16], polychlorinated biphenyls [17] and some of them tackled the study of PTV injection for PAHs analysis [18, 19, 20, 21]. They reported a significant increase in sensitivity by the use of PTV injection if compared to splitless injection. Furthermore, PTV injection has also been used to reduce discrimination of the signal intensities between the LMW and HMW PAHs compared to classical splitless injection [12, 13]. PTV offers more operating parameters than splitless injection that affect the solvent elimination efficiency and the transfer of the analytes during the injection. Some authors studied the optimization of the PTV parameters by univariate procedures [16], whereas others applied multivariate statistical experimental designs for that purpose [22]. The use of statistically based experimental designs can simplify the optimization of PTV injection of PAHs through the use of a selected number of experiments that randomly combines the desired variables. This approach provides a method for the simultaneous investigation of multiple variables, estimating any interaction among them, and requires fewer experiments to complete the optimization [22].

In our previous paper [23], we described a simple and fast SPE method using centrifugation technique for the determination of PAHs in water samples. The described SPE-centrifugation method used less of organic solvent and showed good recoveries in a short procedure time. In this paper, we will investigate the application of the PTV injection as an alternative tool to splitless injection for GC-MS analysis of water samples extracted by the SPE-centrifugation method described by Kouzayha et al., 2011[23]. It must be stressed that none of the cited studies covered the combination of the SPE method and PTV injection for the analysis of the 16 EPA PAHs at trace level in water samples. This combination could lead to a practical and quick method, where the concentration step is discarded, to be used in studies where many samples have to be analyzed in routine.

The aim of the present study is the optimization of a PTV-GC-MS analysis method for the determination of the 16 EPA priority PAHs at trace levels in water samples. The extraction is accomplished using the SPE with centrifugation technique [23]. The optimization of different operating parameters of the PTV injection is carried out by application of statistically based experimental designs. Firstly and in order to reduce the number of variables that require optimization, a Plackett-Burman factorial design is applied to determine which factors affect the injection efficiency. Then, the optimum values of the significant factors are found by a Box-Behnken design. Different performance parameters of the analytical procedure such as linearity, precision, recovery, LOD and LOQ were evaluated. The sensitivity of the developed method was also compared with the traditional splitless injection. Finally the optimized method was successfully applied to the analysis of groundwater samples.

4.2. Materials and methods

4.2.1. Reagents and materials

All solvents were purchased in chromatographic grade from Sigma-Aldrich (GmbH, Taufkirchen, Germany). The 16 EPA PAHs were purchased from Restek as mix Standard Reference Solution of 1000 $\mu\text{g/mL}$ in dichloromethane (Cat. 31458, Restek, Bellefonte, PA): naphthalene (Nap), acenaphthylene (AcPy), acenaphthene (AcP), fluorene (Flu), phenanthrene (Phe), anthracene (Ant), fluoranthene (FL), pyrene (Pyr), benzo[a]anthracene (B[a]A), chrysene (Chr), benzo[b]fluoranthene (B[b]FL), benzo[k]fluoranthene (B[k]FL), benzo[a]pyrene (B[a]P), indeno[1,2,3-cd]pyrene (InP), dibenzo[a,h]anthracene (DBA), and benzo-[ghi]perylene (B[ghi]P). Intermediary solutions (containing 25 $\mu\text{g/mL}$ of each analyte) were prepared by diluting the standard reference solution of PAHs with an appropriate solvent.

The pure solid surrogate standards, naphthalene- d_8 (Nap- d_8), phenanthrene- d_{10} (Phe- d_{10}), anthracene- d_{10} (Ant- d_{10}), fluoranthene- d_{10} (FL- d_{10}), chrysene- d_{12} (Chr- d_{12}), and perylene- d_{12} (Per- d_{12}), were purchased from Supelco (Bellefonte, PA) with an additional deuterated PAH, pyrene- d_{10} (Pyr- d_{10}), used as internal standard at the end of the protocol. Separate 1000 $\mu\text{g/mL}$ stock solutions of each deuterated standard were prepared gravimetrically in dichloromethane. Intermediary 25 $\mu\text{g/mL}$ deuterated mix solutions of surrogate and internal standards were prepared in appropriate solvents. The different working solutions were prepared in acetonitrile at

different concentrations (between 1 µg/mL and 5 ng/mL). All standard solutions were stored in amber vials at -20 °C.

4.2.2. Water sampling and extraction of PAHs

For method validation, the sum of the 16 PAHs analyzed in this study was evaluated in a high-quality Lebanese drinking water (mineral spring water), and its low value was considered to be negligible, so it was used as a blank during the experiments. Spiked water samples were prepared by spiking blank water with target analytes at a known concentration. The surrogate deuterated PAHs were added at this stage at a fixed concentration of 50 ng/L.

The similar procedure described in our previous paper [23] was used for extraction of PAHs in water samples. In brief, water samples (1000 mL) were concentrated on SPE Chromabond C₁₈ cartridge, then the cartridge was dried immediately using the centrifugation technique (2500 rpm for 2 min) followed by a vacuum drying for 10 min. The centrifugation was also used for sample elution, where 1 mL of dichloromethane was added to the cartridge with the valve closed, then the cartridge was centrifuged (2300 rpm for 1 min), and finally the elute was recuperated directly in the GC-MS injection vial. All sample extracts were transferred to acetonitrile before analysis.

Groundwater samples were collected in 2.5 L dark glass bottles from three different geographic points located in North Lebanon (Denniyeh), East Bekaa (Terbol) and in South Lebanon (Abbassieh). Sampling was performed in November 2010 and samples were filtered immediately through a Whatman GF/F filter (0.7 µm porosity), extracted and analyzed.

4.2.3. Instrumentation

A GC Agilent 7890A (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) with a multi-mode inlet (MMI), PTV and split/splitless injectors, was used for the analysis of the target PAHs. The GC was coupled to an Agilent 5975C single quadrupole mass spectrometer operated in electron ionization (EI) mode at 70 eV. Injection was carried out using an Agilent 7693A autosampler system. ChemStation was the data processor. A single taper glass wool liner (Part number 5062-3587), with a volume of 900 µL, was purchased from Agilent. The separation was achieved with

an HP-5MS Ultra Inert fused silica capillary column (30 m×0.25 mm internal diameter, 0.25 µm film thickness) from Agilent Technologies.

An analytical balance from Sartorius (0.01 mg; Goettingen, Germany) was used. A Boeco centrifuge (model U-320R, Boeco, Germany) was employed in different steps of the preparation method. A sample concentrator from Techne (Staffordshire, U.K.) was used for sample concentration under nitrogen. Other small apparatus such as an ultrasonic bath and a vortex shaker were used.

4.2.4. Chromatographic conditions

The GC oven temperature program was 40 °C (hold 2min), increased to 200 °C at 15°C/min (hold 2 min), and finally increased to 280 °C at 5 °C/min (hold 5 min). The total run time was about 35 min. Helium (purity > 99.999%) was used as carrier gas at 1.5 mL/min flow rate.

The analyses were performed in selected ion monitoring (SIM) mode. Transfer line temperature and ion source temperature were maintained at 280 °C and 250 °C, respectively. The selected conditions for GC-MS in SIM mode are showed in (Table 4.1). Confirmation criteria for the detection of PAHs should include the following: (a) retention time for two monitored ions for a given analyte should maximize simultaneously ± 0.1 s; (b) the ratio between the two monitored ions should be within 15% of the theoretical value. Quantitation was performed by internal standard calibration using a six-point regression line ranging from 1 to 100 ng/mL.

MMI splitless injection was performed to set reference values on which basis the performance characteristics of the MMI PTV injection method were evaluated. The experimental conditions for splitless injection were: injection volume 1 µL, injection speed of 6000 µL/min and injector temperature of 280 °C. The purge valve was opened after 2 min and the split vent flow was 30 ml/min. The parameters of the PTV injection were subject of the optimization process and are discussed later in this paper.

4.2.5. Statistical software

Dedicated statistical software for the design of experiments and optimization, DOE++ version 1.0.7 from ReliaSoft (Warsaw, Poland), was used for building up the parameter matrix and further evaluation of the results.

Table 4.1. The quantification, confirmation ions and retention time for each analyte, the corresponding surrogate standard and internal standard.

Compound	Quantification ion (m/z)	Confirmation ion (m/z)	Retention time (min)
Pyr- <i>d</i> ₁₀	212	211	17.26
Nap- <i>d</i> ₈	136	137	8.15
Nap	128	129	8.18
AcPy	152	151	10.70
AcP	154	153	10.99
Flu	166	165	11.80
Phe- <i>d</i> ₁₀	188	189	13.35
Phe	178	176	13.38
Ant- <i>d</i> ₁₀	188	189	13.43
Ant	178	176	13.38
FL- <i>d</i> ₁₀	212	213	16.58
FL	202	200	16.60
Pyr	202	200	17.31
Chr- <i>d</i> ₁₂	240	236	22.13
B[<i>a</i>]A	228	226	22.10
Chr	228	226	22.38
Per- <i>d</i> ₁₂	264	263	27.93
B[<i>b</i>]FL	252	250	26.51
B[<i>k</i>]FL	252	250	26.65
B[<i>a</i>]P	252	250	27.72
InP	276	277	31.77
DBA	278	276	32.14
B[<i>ghi</i>]P	276	277	32.80

4.3. Results and discussion

The focus of this work was to develop and validate a sensitive PTV-GC-MS method for the trace analysis of PAHs extracted from water samples using a SPE method with centrifugation.

4.3.1. Optimization of PTV injection parameters

The PTV injection involves four consecutive phases: the injection, the solvent vaporization, the transfer of analytes and the cleaning phase. During the injection, a fixed volume of 5 μL of the sample was introduced with at a regulated speed (Injection speed) into the injection port set at a fixed temperature (T_{inlet}) below the boiling point of the carrier solvent. The following step, the solvent vaporization, where solvent is eliminated via split exit under fixed flow ($\text{Flow}_{\text{vent}}$) and pressure ($\text{Pressure}_{\text{vent}}$) parameters for a specific time ($\text{Time}_{\text{vent}}$). Then the PTV injector was rapidly heated and the retained analytes are transferred to the analytical column with a fixed flow ($\text{Flow}_{\text{purge}}$) for a specific duration ($\text{Time}_{\text{purge}}$). After the transfer, the split exit is reopened to remove residual solvent vapor and clean the inlet [14]. The seven cited parameters were considered in the optimization process.

a. Plackett-Burman screening design

The seven experimental factors considered as potentially affecting the injection efficiency were: injection speed, injection temperature (T_{inlet}), vent flow ($\text{Flow}_{\text{vent}}$), vent time ($\text{Time}_{\text{vent}}$), vent pressure ($\text{Pressure}_{\text{vent}}$), purge flow ($\text{Flow}_{\text{purge}}$) and purge time ($\text{Time}_{\text{purge}}$), and. A Plackett-Burman 2^7 design was carried out as a screening method to establish which factors are statistically significant. Low and high values were selected for each factor according to previous studies about PTV systems [24, 25, 26]. Table 4.2 shows the parameter settings employed for each variable in the Plackett-Burman experimental design.

Table 4.2. Experimental conditions employed for the estimation of the relative influence of all factors of the programmed temperature vaporization (PTV) injection in solvent vent mode by applying a Plackett-Burman experimental design. Fixed parameters were: final temperature of 280 °C and temperature ramp of 600 °C/min.

Factor	Level	
	Low	High
$T_{\text{inlet}}(^{\circ}\text{C})$	40	70
$\text{Flow}_{\text{vent}} (\text{mL}/\text{min})$	25	200
$\text{Time}_{\text{vent}}(\text{min})$	0.1	3
$\text{Pressure}_{\text{vent}}(\text{psi})$	0	50
$\text{Flow}_{\text{purge}} (\text{mL}/\text{min})$	10	100
$\text{Time}_{\text{purge}} (\text{min})$	0.1	3
Injection speed ($\mu\text{L}/\text{min}$)	10	6000

Previous reported studies and own investigations revealed that a high final temperature of the injection port enhanced the transfer of the analytes especially with high molecular mass onto the column, while the slope of the temperature increase in the PTV injection port did not have any significant influence [27]. Therefore, the final temperature of the injection port was maintained throughout the study at 280 °C and the temperature ramp at the maximum value of 600 °C/min. For the cleaning step, the injector temperature was kept at 280 °C.

The experimental run order was randomized to reduce the effect of extraneous or “nuisance” variables. A standard solution of 16 EPA PAHs of 10 ng/mL in acetonitrile was used for these experiments. In order to simplify this study, we selected six PAHs (Nap, Phe, FL, B[a]A, B[a]P and InP) representatives of a whole range of volatilities and molecular weights of the 16 EPA PAHs. The results were studied by analysis of variance (ANOVA) to assess the significance of the model. The estimated effect of the seven PTV injection factors examined in the present study and their statistical significance P values at 90% confidence level ($\alpha = 0.1$), are shown in Table 4.3.

- The T_{inlet} has a positive effect because the change of this variable from the low (40 °C) to the high level (70 °C) produced an increase of the response for the six studied PAHs (Table 4.3). However, this increase was not statistically significant (P values > 0.1) and the temperature of the injection port was set at 70 °C in the followed experiments. This temperature can also be reached in a reasonable period of time during the cooling process of the PTV injector. Consequently, less than 5 min were necessary after each run to reach the initial inlet temperature.
- Two different behaviors were observed for $\text{Flow}_{\text{vent}}$ effect. For the volatile compounds (Nap and Phe), the effect of $\text{Flow}_{\text{vent}}$ was negative, whereas for medium molecular weight MMW PAHs (FL and B[a]A) it was positive as seen in table 4.3. That means that an increase in flow during solvent vent will decrease the responses of the volatiles PAHs and increase those of the MMW PAHs. The effect of this factor on the heavy PAHs (B[a]P and InP) was negligible. As $\text{Flow}_{\text{vent}}$ was not a significant factor (P > 0.1), its value was fixed at a medium level of 60 mL/min.

- The effect of $\text{Time}_{\text{vent}}$ was negative (the increase in vent time produces a decrease in the response) and it was statistically significant for most of the studied compounds ($P < 0.1$). However, Nap and InP, the most volatile and the heaviest of PAHs tested, were not affected significantly by this factor.
- The effect of $\text{Pressure}_{\text{vent}}$ was always positive (the change from low to high level produces an increase in the response) and it was statistically significant only for the most volatile compounds, Nap and Phe ($P < 0.1$). This means that a low pressure during injection can produce losses of the aforementioned compounds.
- The $\text{Flow}_{\text{purge}}$ has a negative effect because the change of this variable from the low (10 mL/min) to the high level (100 mL/min) produces a decrease of the response for the six PAHs. However, only for the heaviest compounds, InP, it was statistically significant ($P < 0.1$). This means that a high purging flow of injection can produce a lower response for InP.
- The $\text{Time}_{\text{purge}}$ was found to be the most relevant of factors, as it is statistically significant for the six PAHs. The positive effect of $\text{Time}_{\text{purge}}$ indicated that increasing the time of purging the analytes into column will increase the response of all PAHs studied.
- The injection speed has a negative effect on the six PAHs but considered statistically as not significant. Therefore, the speed of injection was fixed at 300 μL per minute.
- It can be concluded that four variables, $\text{Time}_{\text{vent}}$, $\text{Pressure}_{\text{vent}}$, $\text{Flow}_{\text{purge}}$ and $\text{Time}_{\text{purge}}$ affect significantly PTV injection performance of PAHs analyzed by GC-MS. These results of screening design led the four variables to be considered for further optimization processing order to maximize the analytical response (peak area) of the different PAHs.

b. Box-Behnken Design

The study and optimization of the four factors having significant effects on the PTV injection are appropriately performed through a Box-Behnken design based on three-level

incomplete factorial designs [28]. This type of experimental design permits the response surface for each compound to be built, and the factor settings or operating conditions that maximize the analyte response exposed on arbitrary units of peak area to be found. The type of experimental design was selected taking into consideration the number of experiments to be performed and hence time needed for measurements and the information level gained, which is expressed by the efficiency of the design. The Box-Behnken design consists of number of experiments out of all runs of the full factorial design, select in a way that maximum information can be gained with a minimum number of analyses [28]. In the current work, the Box-Behnken design applied comprised a total of 27 randomized chromatographic runs.

Table 4.3. Estimated effects and P-values ($\alpha = 0.1$) of the seven factors of the Plackett-Burman design used for the estimation of the relative influence of factors.

Factor	Effect					
	Nap	Phe	FL	B[a]A	B[a]P	InP
T _{inlet}	1814.33	4406.50	5178.33	1613.33	901.50	678.17
Flow _{vent}	-1442.67	-437.17	879.33	434.67	104.50	-62.83
Time _{vent}	-3150.33	-7261.83	-8586.33	-3170.33	-1462.50	-757.50
Pressure _{vent}	4568.00	6518.83	4989.33	1530.00	626.50	377.17
Flow _{purge}	-991.00	-3557.17	-4860.00	-1761.67	-1096.17	-778.83
Time _{purge}	4022.00	9373.83	10550.67	3658.33	1789.50	1041.17
Injection speed	-647.33	-2243.50	-3198.00	-1125.33	-573.83	-396.50

Factor	P-value					
	Nap	Phe	FL	B[a]A	B[a]P	InP
T _{inlet}	0.3580	0.1377	0.1216	0.1888	0.1766	0.1338
Flow _{vent}	0.4556	0.8632	0.7560	0.6919	0.8586	0.8704
Time _{vent}	0.1459	0.0380	0.0314	0.0359	0.0565	0.1041
Pressure _{vent}	0.0592	0.0519	0.1320	0.2079	0.3183	0.3556
Flow _{purge}	0.6011	0.2093	0.1397	0.1592	0.1171	0.0974
Time _{purge}	0.0829	0.0170	0.0162	0.0230	0.0313	0.04450
Injection speed	0.7300	0.3992	0.2927	0.3318	0.3558	0.3342

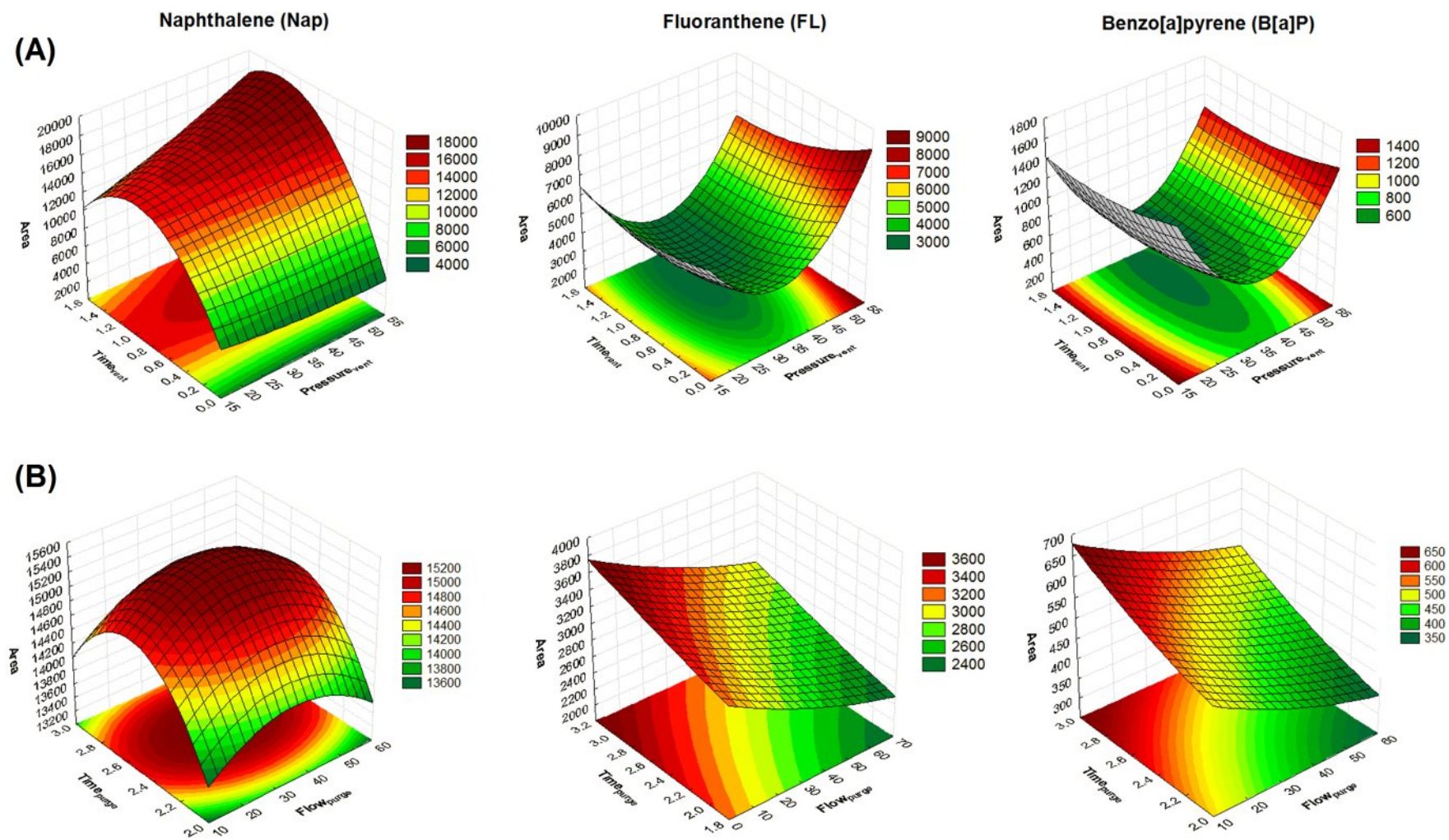


Figure 4.1. Response surfaces for naphthalene (Nap), fluoranthene (FL) and benzo[a]pyrene (B[a]P). Fixed conditions (A) $Flow_{purge}$: 35mL/min; $Time_{purge}$: 2.5 min; (B) $Pressure_{vent}$: 35 psi, $Time_{vent}$: 0.8 min.

The parameter settings employed for the four factors in the Box-Behnken design were selected according to the positive or negative sign of the estimated effect in the Plackett-Burman design and new limits were defined for each variable. The values corresponding to every factor in each experiment and the responses for the six PAHs are shown in Table 4.4.

The results of the experiments were analyzed by the three-dimensional response surface plots. These plots show the effect of two independent variables on a given response, at a constant value of the other two independent variables. In each plot, two factors are varied from their low level to their high level, while the two other factors are held constant at their central values. The contour surface plots are not only used to visualize the modeled region, but also to assist in finding the optimal experimental conditions. Figure 4.1 shows, as an example, some response surfaces obtained by using the model above-mentioned for 3 analytes Nap, FL and B[a]P.

The optimization of the response for the individual analytes is not the way to success if the target is performance at the best for the whole set of analytes, because parameter settings to maximize performance for the volatile target analytes might be improper for the six-ring PAHs, which show low volatility. Therefore, the optimizer from the DOE++ program from ReliaSoft was used to predict the best experimental conditions considering that the response variables for all the 16 EPA PAHs have the same importance. This is done by optimizing an overall desirability function that is combining the individual desirability for each response. The optimized factors settings (see Table 4.5) provide a global desirability of 0.92.

Table 4.5. Optimized factor settings and the individual and composite desirability for PAHs determination by programmed temperature vaporization (PTV) and GC-MS.

Factor	Optimum
Pressure _{vent}	50
Time _{vent}	1.3
Flow _{purge}	10
Time _{purge}	3
Compound	Desirability
Nap	0.91
Phe	0.93
FL	0.91
B[a]A	0.97
B[a]P	0.92
InP	0.92
Global desirability	0.92

However, a finding that is not reflected in the models was that two chromatographic peaks were obtained for Nap and Nap- d_8 when a $\text{Time}_{\text{vent}}$ of 1.3 min was combined with a $\text{Pressure}_{\text{vent}}$ of 50 psi (Figure 4.2). Therefore it was decided to set for the optimization of the model the $\text{Time}_{\text{vent}}$ to the highest value for adequate solvent elimination and without generating two peaks for Nap and Nap- d_8 . Few tests were made and the chosen value was 0.55 min.

In short, in the injection step the split valve was open and 5 μL of the sample was introduced into the liner at a temperature of 70 °C. During the evaporation step, the PTV was maintained at 70 °C under a 50 psi pressure for 0.55 min, and the solvent was vented through the split valve at a flow of 60 mL/min. In the transfer phase, the split valve was closed and the temperature quickly rose to 280 °C at 600 °C/min in splitless mode and the analytes were purged for 3 min at a flow of 10 mL/min. Finally, split valve was opened and the injector was maintained at 280 °C for all the running.

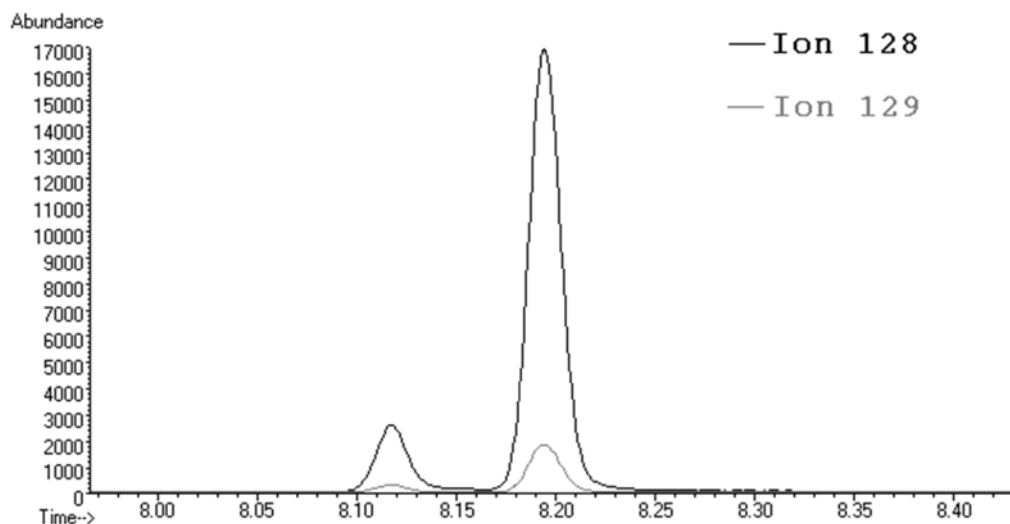


Figure 4.2. The two ions (128 and 129) selected in selected ion monitoring (SIM) mode analysis of Naphthalene (Nap).

Table 4.4. Experimental conditions and response (peak area) of the Box-Behnken design used for optimization of programmed temperature vaporization (PTV) injection in GC–MS analysis of PAHs.

Standard order	Pressure _{vent}	Time _{vent}	Flow _{purge}	Time _{purge}	Nap	Phe	FL	B[a]A	B[a]P	InP
1	20	0.1	35	2.5	11111	7657	5334	1874	1265	939
2	50	0.1	35	2.5	5596	6850	7367	2340	1266	762
3	20	1.5	35	2.5	12499	6804	3983	1252	851	647
4	50	1.5	35	2.5	12677	7006	4704	1497	852	515
5	35	0.8	10	2	13176	5221	2948	961	551	463
6	35	0.8	60	2	13707	5429	3105	901	487	312
7	35	0.8	10	3	14534	5225	2880	971	625	478
8	35	0.8	60	3	13078	4818	2450	816	481	319
9	20	0.8	10	2.5	12196	6802	4772	1572	1111	967
10	50	0.8	10	2.5	16185	8071	5812	1780	1027	739
11	20	0.8	60	2.5	12401	6974	4824	1581	1086	880
12	50	0.8	60	2.5	16448	6838	3920	1291	656	384
13	35	0.1	35	2	3725	3960	3582	1121	526	302
14	35	1.5	35	2	11882	4672	2657	837	452	294
15	35	0.1	35	3	5041	4800	3699	1208	639	382
16	35	1.5	35	3	13681	5036	3040	969	612	439
17	20	0.8	35	2	12426	6149	3632	1227	820	613
18	50	0.8	35	2	18897	8757	5565	1552	793	487
19	20	0.8	35	3	13166	7710	5490	1696	1184	962
20	50	0.8	35	3	17201	10598	6510	1928	1057	633
21	35	0.1	10	2.5	5070	5626	4285	1264	650	457
22	35	1.5	10	2.5	16076	7388	4036	1182	677	528
23	35	0.1	60	2.5	4701	4751	3743	1073	476	247
24	35	1.5	60	2.5	17112	6707	3038	839	432	273
25	35	0.8	35	2.5	14573	5621	3138	949	512	341
26	35	0.8	35	2.5	16597	5867	2846	850	448	286
27	35	0.8	35	2.5	14950	5323	2768	881	478	303

4.3.2. Method validation

The optimized PTV-GC-MS method following the SPE with centrifugation extraction was validated to assess its applicability for the analysis of the 16 EPA PAHs in water samples. Different parameters such as linearity, precision (repeatability and intermediate precision), recovery, detection and quantification limits of the whole analytical method (SPE-PTV-GC-MS) were evaluated.

a. Linearity

The linearity of the optimized PTV-GC-MS method was assayed by injecting three series of standard solutions in the range from 1 ng/mL to 100 ng/mL with the surrogate and internal standards at 50 ng/mL. All calibration functions were found linear in the range of concentrations studied with determination coefficients (R^2) ≥ 0.9910 for all the compounds. Table 4.6 summarizes the calibration data for the studied 16 EPA PAHS.

b. Precision

The repeatability of the PTV-GC-MS measurements was established performing the analysis of three consecutive injections, on the same day, of one PAHs standard solution in acetonitrile at 10 ng/mL of each analyte. The repeatability of the SPE method followed by PTV-GC-MS analysis method was determined as well performing replicate extraction of a fortified water sample on the same day. The relative repeatability standard deviations (RSD_r) of the PTV-GC-MS measurements were satisfactory and ranged between 0.03% for Phe and 3.21% for B[a]A for the PAHs solution in acetonitrile. The repeatability estimates for SPE-PTV-GC-MS method were somewhat higher than the respective estimates for the solvent solution, which was to be expected, and they ranged between 1.18% for Ant and 7.36% for B[k]FL (Table 4.6).

Regarding intermediate precision (RSD_i), the relative standard deviations ranged between 0.35 % and 6.58 % for all the studied compounds and they were evaluated performing replicate standard solution injection and analysis of a fortified water sample during different days. Hence the calculated precisions (RSD_r and RSD_i) reflect the overall precision of the complete analytical method.

c. Recovery

The recoveries of the SPE with centrifugation method followed by the PTV-GC-MS analysis method for the studied PAHs were determined in triplicate in spiked water samples at 10 ng/mL. The average recoveries achieved following the proposed method are shown in Table 4.6. Extraction recoveries for all analyzed PAHs ranging from 82.1 to 106.3 % showed the good efficiency of the developed method in terms of extraction recovery.

d. Detection and quantification limits

The instrumental limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) are defined as the lowest concentrations of each PAH that provide a S/N for every target ion (m/z) equal or higher than 3 and 10 respectively. LOD and LOQ were determined using six standard solutions with low concentration ranging from 0.01 to 0.8 ng/mL for each of the 16 PAHs. Each of the standard solutions was analyzed six times in the SIM mode. LOD and LOQ were calculated as $X_b + 3 S_b$ and $X_b + 10 S_b$ respectively, where X_b is the average value and S_b the standard deviation of the six replicates with the lowest detectable and quantified concentration. LOD and LOQ ranged from 0.01 to 0.51 ng/mL for the LOD and from 0.02 to 0.91 for the LOQ. Values in the low ng/mL range (Table 4.6) were obtained, this proving the potentiality of the method for the determination of PAHs at trace levels in water samples.

4.3.3. Sensitivity of the optimized PTV method

The performance of the optimized PTV-GC-MS method in solvent vent mode was compared to the splitless injection in terms of S/N ratios (Table 4.7). The aim of the current experiment was to identify potential improvements of sensitivity of the PTV injection method in solvent vent mode (5 μ L) compared to the traditional splitless injection method (1 μ L).

The gain of sensitivity with the PTV injection was noticeable for all the 16 EPA PAHs when analyzing a standard solution or the extract of a fortified water sample. An increase in S/N ratios ranging between 2.6 and 79.6 times was observed for the injection of a standard solution and between 2.22 and 135.27 times for the analysis of a fortified water sample. Figure 4.3 shows selected SIM chromatograms of both PTV injection and splitless injection of a standard solution containing the 16 EPA PAHs at 10 ng/mL. The ions with m/z 166, 202 and 252 correspond to the base peak ions of Flu, FL and B[a]P, respectively.

Table 4.7. Signal-to-noise (S/N) ratios of GC–MS analysis applying the optimized programmed temperature vaporization (PTV) injection and splitless injection for the analysis of both a solution of the 16 EPA PAHs in acetonitrile (10 ng/mL) and an extract of a water samples fortified at the same concentration level.

Signal to noise ratios (S/N)			
Compound	<i>Standard solution</i>		<i>Water Sample</i>
	splitless	PTV	PTV
Nap	267.2	1143	1322.4
AcPy	16.8	1287.2	2272.6
AcP	85.4	4184.4	831.8
Flu	124.1	1385.1	2059
Phe	128.6	440.8	885.7
Ant	20.6	357.2	791.4
FL	62.2	317.3	528.9
Pyr	84	930.8	460
B[a]A	126.6	8281	589.5
Chr	81.5	2252.9	1043
B[b]FL	56.9	236.8	604.5
B[k]FL	72	189.9	159.5
B[a]P	34	159.9	274.9
InP	39.7	199.1	147.6
DBA	14.5	109.9	240.8
B[ghi]P	47.7	236.8	191.9

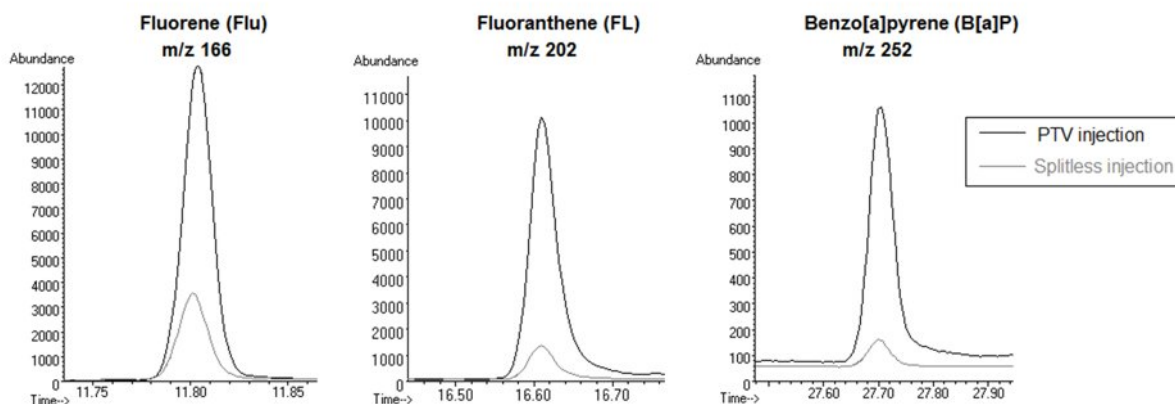


Figure 4.3. Selected ion monitoring (SIM) chromatograms of fluorene (Flu) (m/z 166), floranthene (FL) (m/z 202) and benzo[a]pyrene (B[a]P) (m/z 252) obtained with programmed temperature vaporization (PTV) injection (5 µL) and splitless injection (1 µL) of a standard solution at 10 ng/mL.

4.3.4. Determination of PAHs in real water samples.

The developed method with PTV injection of 5 μ L and GC-MS analysis was applied to the analysis of the 16 EPA PAHs in real groundwater samples collected from three different places in Lebanon in November 2010. Water samples were extracted by the developed SPE method according to the conditions described in paragraph 2.2. Table 4.8 summarizes the PAHs levels found. The majority of the 16 EPA PAHs were detected and quantified in all samples and their sum ranged between 36.86 and 63.34 ng/L. However, the levels found are lower than the limits established for the quality of water for human consumption. The Maximum values for contaminant levels are set by the European Union, in directive 98/83/EC, at 10 ng/L for the highly toxic B[a]P and 100 ng/L for the sum of remaining PAHs (FL, B[b]F, B[k]F, InP and B[ghi]P) [29].

Table 4.8. PAHs levels (ng/L) found in ground water samples.

Compound	Groundwater samples		
	<i>Abbasieh, South</i>	<i>Denniyeh, North</i>	<i>Terbol, Bekaa East</i>
Nap	10.80	6.63	11.17
AcPy	1.38	1.36	1.46
AcP	< LOQ	1.10	1.17
Flu	2.99	3.23	2.53
Phe	6.08	7.32	3.63
Ant	1.11	1.61	2.01
FL	1.60	1.95	2.40
Pyr	1.96	2.27	2.93
B[a]A	1.68	3.69	4.34
Chr	1.44	2.48	2.92
B[b]FL	3.53	7.11	10.76
B[k]FL	2.23	4.52	6.11
B[a]P	2.05	6.56	8.27
InP	< LOQ	2.51	3.65
DBA	< LOQ	< LOQ	< LOQ
B[ghi]P	< LOQ	< LOQ	< LOQ
SUM	36.86	52.36	63.34

Table 4.6. Performance characteristics of the optimized programmed temperature vaporization (PTV) injection in solvent vent mode and GC–MS analysis method.

PTV injection in solvent vent mode								
Compound	Standard solution					Water sample		
	Calibration Function R ²	Repeatability RSDr (%)	Intermediate Precision RSDi (%)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Repeatability RSDr (%)	Intermediate Precision RSDi (%)	Recovery (%)
Nap	0.9999	0.66	1.63	0.01	0.02	1.77	6.61	101.5
AcPy	0.9910	2.34	6.58	0.02	0.03	5.80	8.80	103.5
AcP	0.9988	1.41	2.82	0.01	0.03	4.60	7.84	106.3
Flu	0.9977	1.05	4.04	0.01	0.02	5.55	6.56	103.2
Phe	0.9999	0.03	0.84	0.01	0.02	1.43	5.92	96.7
Ant	0.9999	0.12	2.67	0.06	0.26	1.18	5.78	84.6
FL	1.0000	0.06	0.35	0.07	0.16	1.20	5.57	96.2
Pyr	0.9996	0.31	2.15	0.07	0.13	3.37	4.71	99.4
B[a]A	0.9989	3.21	4.35	0.18	0.36	6.47	7.54	97.7
Chr	0.9998	0.62	3.18	0.13	0.35	2.87	5.62	96.8
B[b]FL	0.9985	1.84	4.09	0.31	0.78	5.50	7.70	91.7
B[k]FL	0.9989	1.95	4.22	0.36	0.83	7.36	8.92	91.7
B[a]P	0.9981	1.32	3.20	0.42	0.87	3.86	6.92	94.7
InP	0.9929	1.57	1.61	0.49	0.70	3.57	5.12	82.1
DBA	0.9965	2.79	3.79	0.51	0.91	3.28	6.49	87.2
B[ghi]P	0.9973	0.65	3.28	0.47	0.84	4.10	6.73	86.7

4.4. Conclusion

A PTV injection method was optimized and validated for the GC-MS analysis of the 16 EPA PAHs in water samples after SPE extraction. The PTV injection parameters were optimized using two multivariate designs, Plackett-Burman and Box-Behnken designs. For the injection of 5 μ L, a temperature of 70°C with a split flow of 60 mL/min for 0.55 min under a pressure of 50 psi were the conditions chosen for the solvent vent. The analytes purge was accomplished in splitless mode with a flow of 10 mL/min for 3 min at a temperature of 280°C. The reliability and performance of the technique were evaluated considering the parameters of linearity, precision, recovery and limits of detection and quantification. As compared to the splitless injection, the optimized PTV method provided higher sensitivity for all studied analytes when injecting a standard solution or extracting analytes from water sample. An improvement of 2 to more than 100 fold in the S/N ratios was achieved with the proposed PTV-GC-MS method. Finally, the proposed method was successfully applied to analyze ground water samples collected from different places in Lebanon.

References

- [1] K. Ravindra, R. Sokhi, R. Van Grieken, *Atmos. Environ.* 42 (2008) 2895.
- [2] IARC, *Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans*, vol. 43–53. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1991.
- [3] U.S. Environmental Protection Agency. Guidelines establishing test procedures for the analysis of pollutants. *Fed. Regist.* 2000, 49, 209.
- [4] G. Kiss, Z. Varga-Puchony, J. Hlavay, *J. of Chromatogr. A* 725 (1996)
- [5] G. Witt, *Mar. Pollut. Bull.* 31 (1995) 237.
- [6] G. Witt, *Mar. Chem.* 79 (2002) 49.
- [7] D. L. Poster, M. M. Schantz, L. C. Sander, S. A. Wise, *Anal. Bioanal. Chem.* (2006) 386:859–881
- [8] R.M. Marce´ and F. Borrull, *J. of Chromatogr. A*, 885 (2000) 273–290
- [9] N. C. Fladung, *J. of Chromatogr. A*, 692 (1995) 21-26
- [10] F.E. Ahmed, *Trends in Anal. Chem.*, 20 (2001) 649-661

- [11] Namies'nik J., Gorecki T., Polish J. of Environ. Studies, 10 (2001) 77-84
- [12] E. Martinez, M. Gros, S. Lacorte, D. Barceló, J. of Chromatogr. A 1047 (2004) 181.
- [13] A. Filipkowska, L. Lubecki, G. Kowalewska, Anal. Chim. Act. 547 (2005) 243.
- [14] E. Hoh, K. Mastovska, J. of Chromatogr. A, 1186 (2008) 2–15
- [15] A. Vermeulen, K. Welvaert, J. Vercammen, J. of Chromatogr. A 1071 (2005) 41.
- [16] D. Štajnbaher, L. Zupan čič-Krajl, J. of Chromatogr. A 1190 (2008) 316.
- [17] A. Esteve-Turrillas, E. Caupos, I. Llorca, A. Pastor, M. de la Guardia, J. Agric. Food Chem. 56 (2008) 1797.
- [18] F.M. Norlock, J.-K. Jang, Q. Zou, T.M. Schoonover, A. Li, J. Air Waste Manage. Assoc. 52 (2002) 19.
- [19] V. Yusà, G. Quintas, O. Pardo, A. Pastor, M. de la Guardia, Talanta 69 (2006) 807.
- [20] V. Fernández-González, E. Concha-Graña, S. Muniategui-Lorenzo, P. López-Mahía, D. Prada-Rodríguez, Talanta 74 (2008) 1096.
- [21] J. Á. Gómez-Ruiz, F. Cordeiro, P. López, T. Wenzl, Talanta 80 (2009) 643–650.
- [22] N. León, V. Yusá, O. Pardo, A. Pastor, Talanta 75 (2008) 824.
- [23] A. Kouzayha, M. Al Iskandarani, S. Mokh, A. R. Rabaa, H. Budzinski, F. Jaber, J. Agric. Food Chem. (2011) 59, 7592–7600
- [24] E. Concha Graña, M.I. Turnes Carou, S. Muniategui Lorenzo, P. López Mahía, E. Fernández Fernández, D. Prada Rodríguez, J. of Chromatogr. A 958 (2002) 17.
- [25] E. Concha-Graña, I. Turnes-Carou, S. Muniategui-Lorenzo, P. López-Mahía, E. Fernández-Fernández, D. Prada-Rodríguez, Anal. Bioanal. Chem. 379 (2004) 1120.
- [26] M. Miñones-Vázquez, M.E. Vázquez-Blanco, S. Muniategui-Lorenzo, P. López-Mahía, E. Fernández-Fernández, D. Prada-Rodríguez, J. of Chromatogr. A 919 (2001) 363.
- [27] B. Veyrand, A. Brosseaud, L. Sarcher, V. Varlet, F. Monteau, P. Marchand, F. Andre, B. Le Bizec, J. of Chromatogr. A 1149 (2007) 333.
- [28] S.L.C. Ferreira, R.E. Bruns, H.S. Ferreira, G.D. Matos, J.M. David, G.C. Brandão, E.G.P. da Silva, L.A. Portugal, P.S. dos Reis, A.S. Souza, W.N.L. dos Santos, Ana. Chim. Act. 597 (2007) 179–186
- [29] European Commission, Council Directive n°98/83/CE on the quality of water intended for human consumption, 3 November 1998.

5. Multiresidue method for determination of 67 pesticides in water samples using solid-phase extraction with centrifugation and gas chromatography–mass spectrometry

Abir Kouzayha¹, Hélène Budzinski³ and Farouk Jaber^{1&2*}

¹ National Council for Scientific Research CNRS - Lebanese Atomic Energy Commission LAEC - Analysis of Pesticides and Organic Pollutants Laboratory LAPPO - Beirut, Lebanon.

² Lebanese University - Faculty of Sciences I - Laboratory of Analysis of Organic Compounds (509) - Hadath, Beirut, Lebanon.

³ Université Bordeaux 1, CNRS, ISM–LPTC–UMR 5255 (Laboratory of Physico- and Toxicology-Chemistry), 351 Cours de la Lib  ration, 33405 Talence, France.

(Article prepared for submission)

Abstract

A new multi-residue method based on solid-phase extraction (SPE) with centrifugation was developed for determination and quantitation of 67 pesticides in surface water by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). Two SPE cartridges were tested : Chromabond C₁₈ and Oasis HLB. Parameters that influence the extraction efficiency such as the eluent volume, the sample loading volume, the addition of organic solvent to water sample, sorbent drying and elute concentration were optimized. Under the optimized conditions, this method showed good recoveries higher than 65-68 % for the 67 analyzed pesticides using the C₁₈ and HLB cartridges with relative standard deviations lower than 9.7-12.3%. Limits of quantification were between 2 and 20 ng.L⁻¹.

Keywords: Multi-residue; Pesticides; Solid-phase extraction; Centrifugation; Gas chromatography–mass spectrometry.

5.1. Introduction

Organic contaminants present in the environment are a result of different sources of pollution from anthropogenic activities (Reemtsma and Jekel, 2006). The pesticides, generated by the intensification of agriculture, are regarded as some of the most dangerous contaminants of the environment, despite their numerous merits. Not only are they toxic; they are also mobile and capable of bioaccumulation. On top of this, they can take part in various physical, chemical and biological processes. Many of these pesticides are characterized by a strong persistence which explains their wide presence in the different compartments of the environment (Barth et al., 2007; Reemtsma and Jekel, 2006). Due to these physicochemical characteristics and their extensive use, many of these pesticides end-up in surface and ground water. They are found nowadays in all surface waters and in a growing number of aquifers. Their presence in water is considered as a potential risk not only for drinking water quality and human health, but also for ecosystems (Bailey et al., 2000).

In this context, strict regulations for the control of pesticide residues concentration levels in environment have been established. According to the European Union Directive on drinking water quality (98/83/EC), the admissible concentration for pesticides is $0.1 \mu\text{g.L}^{-1}$ for each individual substance and $0.5 \mu\text{g.L}^{-1}$ for the sum of pesticides (including their metabolites) (EU, 1998). In the field of environmental water policy, the European Union adopted the Water Framework Directive (WFD) (2000/60/EC), whose objectives are to improve, protect and prevent further deterioration of water quality. The maximal concentrations authorized can vary from the ng.L^{-1} order to few $\mu\text{g.L}^{-1}$ (EU, 2000). Such imposed regulations have driven the development of novel analytical techniques and improvement of existing ones, so that the largest possible number of compounds at low levels can be determined in one sensitive method.

For instrumental analysis, gas chromatography (GC) or liquid chromatography (LC) followed by mass spectrometry detection (MS) or tandem mass spectrometry (MS-MS) are the most commonly used techniques for the quantification of pesticides in water. However, in spite of the recent technical progress, the pesticide quantification in water requires a first step of extraction and preconcentration (Vreuls et al., 1999). This sample preparation step is, in fact, the critical step of the whole analysis. The most common method is solid- phase extraction (SPE) (Baez et al., 1997; Sabik et al., 2000; Wells & Yu, 2000), which can be used to determine a

broad range of pesticides in one analysis. While liquid-liquid extractions (LLE) are time-consuming, expensive and hazardous to health due to high volume of potentially toxic solvents used, SPE methods are rapid, present good recoveries and low detection limits.

Modern trends in sample preparation are towards the simplification of the process and minimizing the organic solvent used. In our previous paper (Kouzayha et al., 2011), we have reported a rapid and reliable method based on SPE with centrifugation for the extraction and followed by GC/MS detection for the determination of the 16 PAH identified by the US environmental protection agency (US-EPA) as priority pollutants in water samples. The focus of the present research is the development of a similar rapid multi-residue method for the analysis and ultra-trace quantification of 67 pesticides from different classes in waters. The potential factors affecting SPE extraction of the analytes were optimized and discussed in details. Then, the whole procedure was validated.

5.2. Experimental

5.2.1. Reagents, standards and small apparatus

Acetonitrile (ACN), acetone, dichloromethane (DCM), hexane (Hex) and methanol (MeOH) (HPLC grade $\geq 99.9\%$) were purchased from Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA). Pesticide standards of high purity level (98-99.8%) were purchased from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany) and ChemService (West Chester, PA, USA). Individual standard pesticide solutions were prepared in acetonitrile with a concentration of about 1000 mg.L^{-1} . Three standard mixture pesticide solutions were prepared by diluting each individual standard solution with acetonitrile, in order to get a concentration of about 35 mg.L^{-1} for each compound. Working standards solutions were prepared by diluting the three standard mixture pesticide solutions with acetonitrile at a concentration of 1.0 mg.L^{-1} . All standard solutions should be stored in dark below $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

An analytical balance (0.01 mg, Sartorius, Germany), an ultrasonic bath (Type T 760 DH, Prolabo, VWR International, France), a vortex shaker (Model VM-300P, Gemmy industrial corporation, Taiwan), a centrifuge (model U-320R, Boeco, Germany) and a nitrogen sample concentrator (Techne, U.K.) were used during experiments.

5.2.2. Solid-phase extraction

Two different SPE cartridges were evaluated: Chromabond C₁₈ ec, 200 mg, 3 mL, 45 µm from Machery-Nagel (Düren, Germany) and Oasis® HLB (hydrophilic-lipophilic balance) 60 mg, 3 mL, 50 µm from Waters (Milford, MA, USA). The SPE procedure was performed using a Vac Elut vacuum manifold from Varian (Santa Clara, CA, USA) with a Visiprep large-volume sampler from Supelco (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

For SPE optimization, blank water samples were spiked with the working standard mixed solution and with the surrogate standard (PCB 52) prepared in MeOH, and then they were shaken manually and with ultrasonic bath to enhance homogenization. The outlines of the SPE procedure used for the extraction of pesticides in water samples were described in our previous paper (Kouzayha et al., 2011). The Chromabond C₁₈ and Oasis HLB cartridges were preconditioned and activated at the beginning with 3 mL of methanol and then 3 mL of water. Each water sample was percolated using a regulated vacuum through the SPE cartridge with a flow rate of 5-10 mL.min⁻¹, and then the cartridge was dried immediately either under vacuum or using centrifugation technique (2500 rpm for 2 min) followed by 10 min under vacuum. The analytes were eluted using the centrifugation technique, where 1 mL of the elution solvent was added to the cartridge with the valve closed, then the cartridge was centrifuged (2300 rpm for 1 min), and finally the elute was recovered (Figure 5.1). This step was repeated if necessary. The extract was collected and evaporated to about 100 µL with a weak nitrogen stream. The obtained extract was reconstituted in 200 µL of acetonitrile, and the solution of recovery internal standards (PCB 153) was added. Samples were stored in the dark at about - 20 °C until GC-MS analysis.

5.2.3. GC-MS analysis

An Agilent 6890N GC connected to an Agilent 5975 MS was used (Agilent technologies, USA). The GC-MS was equipped with Agilent 7683B autosampler and split/splitless injector with electronic pressure control. The column used was a capillary column (HP-5MS, 30 m, 0.25 mm i.d., 0.25 µm, Agilent J&W GC columns). The temperature program was the following: initial temperature 70 °C, held for 1 min, 10 °C.min⁻¹ ramp to 160 °C then held for 5 min, finally by 3 °C.min⁻¹ to 240 °C and held for 18.5 min. The total analysis time was 60.17 min and the equilibration time 0.5 min. The temperature of the injection port was 250 °C and a 1 µL volume

was injected in splitless mode. Helium was used as carrier gas at a constant flow of $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The mass spectrometer was operated in electron ionization mode with an ionizing energy of 70 eV, ion source temperature $230 \text{ }^\circ\text{C}$, MS quadrupole temperature $150 \text{ }^\circ\text{C}$, and solvent delay 5.5 min.

Analysis was performed in the selected ion monitoring mode (SIM) based on the use of one target and two or three qualifier ions. Target and qualifier abundances were determined by injection of individual pesticide standards under the same chromatographic conditions in full-scan mode with the mass/charge ratio ranging from m/z 50 to 550. Pesticides were identified according to the retention times, the target and qualifier ions, and the qualifier to target abundance ratios. Table 5.1 summarizes the pesticides studied with their retention times, the target and qualifier ions. Table 5.2 indicates the SIM program used to analyze the 67 pesticides, and Figure 5.2 shows GC-MS chromatogram of the 67 analyzed pesticides in acetonitrile.

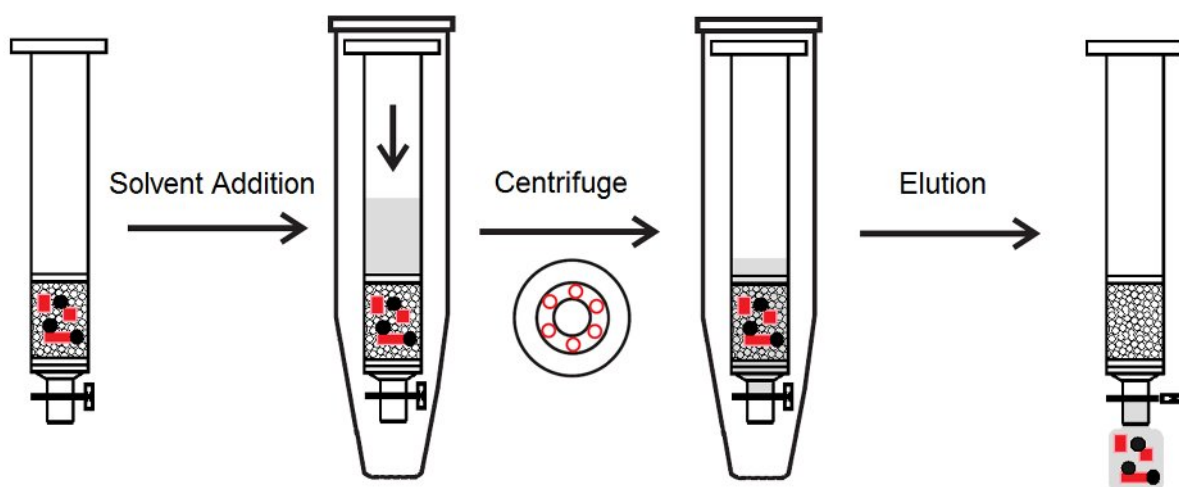


Figure 5.1. Schematic representation of SPE elution procedure using centrifugation.

5.2.4. Quantification

When using GC-MS analysis, samples were confirmed to contain a pesticide if the observed retention times of peaks of sample solutions were the same as the peaks for the standards in solvent and the observed abundance ratio of ions was identical to that of the standard ions. Instrumental and procedural blanks were analyzed to avoid laboratory

contamination and analytical interferences, and the blank value must be deducted from the results. For the SPE optimization, the quantification was based on peak area ratio of the target ion divided by the internal standard (PCB 153) in order to evaluate the recoveries of the analyzed pesticides. For the method validation, the quantification was done according to the surrogate standard (PCB 52) added from the beginning of the analytical procedure.

5.3. Results and discussion

5.3.1. Selection of pesticides

After the study of the pesticides most commonly used in Lebanon, a total of 104 pesticides were initially considered for this study. Under the instrumental conditions given above, efforts were undertaken to optimize the tuning parameters of all the pesticides in the GC-MS in flow injection mode and then their analytical performances were tested in different scan modes. Out of the total pesticides selected, only 67 pesticides were finally found to be suitable for GC-MS analysis. The others were eliminated because either no peaks were observed or their sensitivity was extremely low and did not meet the requirements. Some pesticides were removed due to poor stability; they either decomposed rapidly after preparation of the mixed standard solutions or failed a series of experiments, for example recovery after fortification. Eventually, 67 pesticides from different chemical families including organochlorines, organophosphates, carbamates, pyrethroids, pyrimidine, azoles, triazoles and others, were chosen to be applicable to GC-MS determination. The analyzed pesticides cover a wide range of compounds employed in agriculture, like insecticides, herbicides, fungicides and acaricides. The studied pesticides are listed in Table 5.1.

5.3.2. Development of the solid phase extraction procedure

For the optimization of the SPE, several parameters were studied including sorbent selection (a), elution solvent (b), sample volume (c), addition of organic solvent to water sample (d), sorbent drying (e), and elute concentration (f). The complete extraction protocol is outlined in figure 5.3.

a. Sorbent selection (SPE cartridge)

The pesticide compounds exhibit a wide range of polarities; they fall into the highly polar, medium polar and non-polar category with octanol-water partition coefficient ($\log K_{ow}$) between 0.7 and 7.3 for oxadixyl and bifenthrin respectively. With this in mind, two solid phase sorbents were chosen, Chromabond C₁₈ and Oasis HLB. Both sorbents have been applied widely in the research of environmental pollutant chemistry (Asi et al., 2008; Concha-Grana et al., 2006), and they proved to be suitable for pesticides extraction from water samples (Baez et al., 1997; de la Colina et al., 1993; EPA 525; Forcada et al., 2000; Waters, 2002). Preliminary extraction experiments were first conducted with both sorbents to evaluate the efficiency of each cartridge in the analysis of the target pesticides. Three independent recovery assays were performed for each studied cartridge. The elution was done with solvents described in literature: DCM for C₁₈ cartridges (Tahara et al., 2006) and MeOH for HLB cartridges (Rodrigues et al., 2007). The volume used for elution was (x3) 3 mL. Recoveries showed that both cartridges allow good recovery percentage (higher than 50%) for most of the target compounds, except for tebuconazole, metalaxyl and oxadixyl which showed lower recoveries on C₁₈ cartridges (< 10%). The poor recovery for the three polar pesticides ($\log K_{ow}$ between 0.7 and 3.7) is rather due to the elution step than an adsorption process. Therefore both cartridges, C₁₈ and HLB, were found suitable for the extraction of the selected pesticides from water and so considered for further optimization in this study.

b. Solvent selection for analyte elution

The elution strength of the organic solvent depends on the type of sorbent used, so different elution solvents and procedure were evaluated for Chromabond C₁₈ and Oasis HLB cartridges. The organic solvents considered in elution procedures were from different polarities including acetone, DCM, Hex, and MeOH.

For traditional elution, a large volume of the elution phase is percolated slowly on SPE cartridge to ensure desorption of analytes from the stationary phase. In our work, the centrifugation technique was applied as an alternate to traditional elution, in order to reduce the volume of the elution phase required. The efficiency of this technique was proved in our previous paper (Kouzayha et al., 2011), where recoveries obtained using a small volume of

elution phase with centrifugation were comparable to those obtained with large volume of elution phase in the traditional elution. The rapid rotation of the centrifuge ensures that the adsorbent is well impregnated with the elution solvent, enabling a complete desorption of the analytes, even the strongly adsorbed, into the solvent. In this new procedure, a small volume (1 mL) of the elution phase was added to the cartridge with the valve closed, then the cartridge was centrifuged (2300 rpm for 1 min), and the elute was recovered. This step was repeated and the total volume of elute was concentrated and analyzed by GC-MS.

Table 5.1. Parameters for determination of 67 pesticide residues in waters by GC-MS.

Pesticide	Retention Time	Quantitation ion	Qualifying ion 1	Qualifying ion 2
Organochlorines				
Aldrin	26.97	263	265	261
p,p'-DDT	38.69	235	237	165
p,p'-DDE	33.74	246	318	316
p,p'-DDD	36.37	235	237	165
Dieldrin	33.56	263	277	261
α -Endosulfan	31.89	241	239	237
β -Endosulfan	35.52	241	239	237
Endosulfan sulfate	38.27	272	387	237
α -HCH	18.20	181	219	217
β -HCH	19.89	181	219	217
γ -HCH (lindane)	20.24	181	219	217
Delta-HCH	21.80	181	219	217
Heptachlor exo-epoxide	29.63	353	355	351
Hexachlorobezene	18.63	284	286	282
Methoxychlor	42.45	227	228	
Quintozen	20.57	237	249	295
Organophosphates				
Bromophos-ethyl	31.70	359	303	357
Cadusafos	17.83	159	158	270
Chlorpyrifos	27.82	197	199	314
Chlorpyrifos-methyl	24.54	286	289	125
Coumaphos	51.24	362	226	364
Diazinon	21.727	179	304	276
Dichlorovos	8.54	109	185	220
Ethion	36.90	231	153	384
Ethoprophos	16.16	158	200	242
Etrimphos	22.66	292	181	153
Fenitrothion	26.40	125	277	260
Malathion	27.29	173	127	158
Methacriphos	12.69	208	180	240
Methidathion	31.44	145	125	

Parathion	27.86	291	261	235
Parathion-methyl	24.53	236	233	246
Phenthoate	30.73	274	125	246
Phosalone	44.38	182	184	367
Phosphamidon	21.73-24.10	227	127	264
Pirimiphos-methyl	26.68	290	276	305
Tolclofos-methyl	24.81	265	267	250
Triazophos	37.71	161	257	285
Carbamate pesticides				
Chlorpropham	16.66	213	154	171
Propoxur	7.40-15.50	110	152	
Pyrethroid pesticides				
Bifenthrin	42.44	181	165	166
Fenpropathrin	42.76	181	265	208
Lambda-cyhalothrin	45.76-46.68	181	197	199
Pyrimidine pesticides				
Bupirimate	34.88	273	208	316
Cyprodinil	29.39	224	225	226
Pyrimethanil	21.24	198	199	200
Azole pesticides				
Chlorfenapyr	35.66	408	406	326
Fipronil	30.79	367	369	351
Triazole pesticides				
Myclobutanil	34.34	179	245	288
Penconazole	29.94	248	159	250
Propiconazole	38.57-38.96	173	259	261
Tebuconazole	39.55	125	250	252
Other pesticides				
Alachlor	25.09	160	188	146
Boscalid	56.21	140	342	344
Bromopropylate	41.92	341	339	183
Buprofezin	34.51	172	175	305
Fludioxonil	33.76			
Kresoxim-methyl	35.02	206	131	313
Metalaxyl	25.49	206	249	220
Oxadixyl	36.71	163	132	233
Pendimethalin	29.91	252	191	162
Procymidone	31.01	283	285	255
Propyzamide	20.98	173	175	254
Tecnazen	15.30	215	261	259
Tetradifon	43.61	159	229	356
Trifluarin	17.62	306	264	290
Vinclozolin	24.58	212	285	198

Table 5.2. Monitoring program of selected ions for 67 pesticides by GC-MS.

Segment Time (min)	Monitored ions (m/z)	Dwell time (ms)
5.50	110, 152	100
8.48	109, 185, 220	100
11.00	180, 208, 240	100
14.00	110, 152, 154, 158, 171, 200, 213, 215, 242, 259, 261	30
17.50	158, 159, 181, 217, 219, 264, 270, 282, 284, 286, 290, 306	30
19.70	173, 181, 217, 219, 237, 249, 295	30
20.90	127, 173, 175, 179, 181, 198, 199, 200, 217, 219, 227, 254, 264, 266, 268, 276, 304	30
22.50	127, 153, 181, 227, 264, 266, 292	50
23.31	125, 127, 146, 160, 188, 198, 212, 227, 233, 246, 250, 263, 264, 265, 267, 285, 286, 288	30
25.34	160, 206, 220, 249	100
26.00	125, 220, 260, 261, 263, 265, 276, 277, 290, 292, 305	30
27.17	127, 158, 173, 197, 199, 235, 261, 291, 314	30
29.00	159, 126, 191, 224, 225, 226, 248, 250, 251, 252, 253, 255	30
30.60	125, 131, 159, 246, 251, 255, 274, 283, 285, 329, 351, 367, 369	30
31.30	125, 145, 237, 239, 241, 357, 359, 303	30
32.50	154, 173, 182, 208, 215, 217, 246, 248, 261, 263, 277, 316, 318, 337, 339	30
34.20	154, 172, 175, 179, 182, 245, 288, 305	30
34.74	131, 206, 208, 273, 313, 316	50
35.35	237, 239, 241, 326, 406, 408	50
36.10	132, 153, 163, 165, 220, 231, 233, 235, 237, 290, 292, 384	30
37.53	161, 173, 237, 257, 259, 261, 272, 285, 387	30
38.50	125, 165, 173, 235, 237, 250, 252, 259, 261	30
41.30	165, 166, 181, 183, 208, 227, 228, 265, 339, 341	30
43.30	159, 182, 184, 229, 356, 367	50
45.00	181, 197, 199	100
48.30	140, 163, 181, 209, 226, 342, 344, 362	30

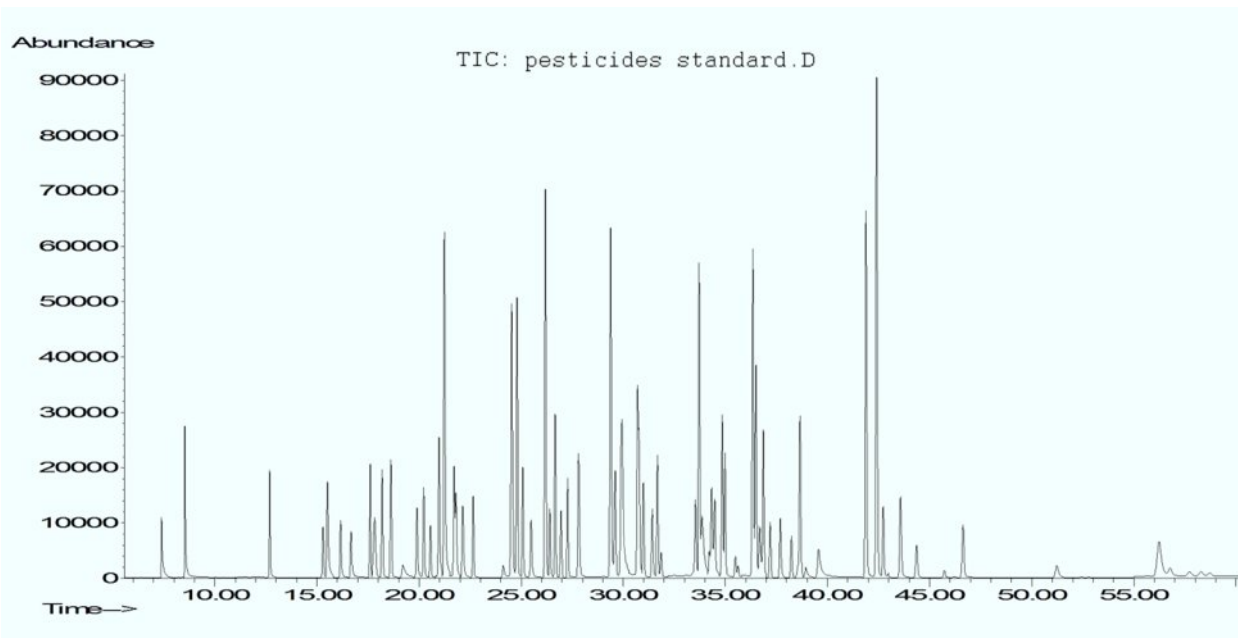


Figure 5.2. GC-MS-SIM chromatogram of 67 pesticides in acetonitrile at 50 ng.mL⁻¹.

For C₁₈, the elution procedures were: (2x) 1 mL of DCM (procedure a), 1 mL of DCM followed by 1 mL of MeOH (procedure b), (2x) 1 mL of DCM/MeOH (1:1, v/v) (procedure c), (2x) 1 mL of Hex/Acetone (1:1, v/v) (procedure d). For HLB, the elution procedures were: (2x) 1 mL of MeOH (procedure e), 1 mL of MeOH followed by 1 mL of DCM (procedure f), (2x) 1 mL of DCM/MeOH (1:1, v/v) (procedure c), (2x) 1 mL of Hex/Acetone (1:1, v/v) (procedure d). The extracts from each procedure were concentrated, exchanged into 200 μ L of acetonitrile and analyzed by GC-MS to determine the recoveries for 50 ng of each pesticide.

As shown in figure 5.4 the procedure b (DCM followed by MeOH) provided higher recoveries on average for elution of analytes adsorbed on C₁₈ cartridges (92% vs. 83-84% for procedure a, c, and d; DCM, DCM/MeOH and Hex/Acetone respectively). For the elution of analytes adsorbed on HLB cartridges illustrated in figure 5.5, similar recoveries of 80-83% were obtained for elution using MeOH only and using MeOH followed by DCM (procedures e and f). The procedure f was more preferable as it provides higher recoveries for non-polar analytes, Lambda-cyhalothrin for example. The recoveries for other procedures were lower with averages of 78% for procedure c (DCM/MeOH) and 62% for procedure d (Hex/Acetone).

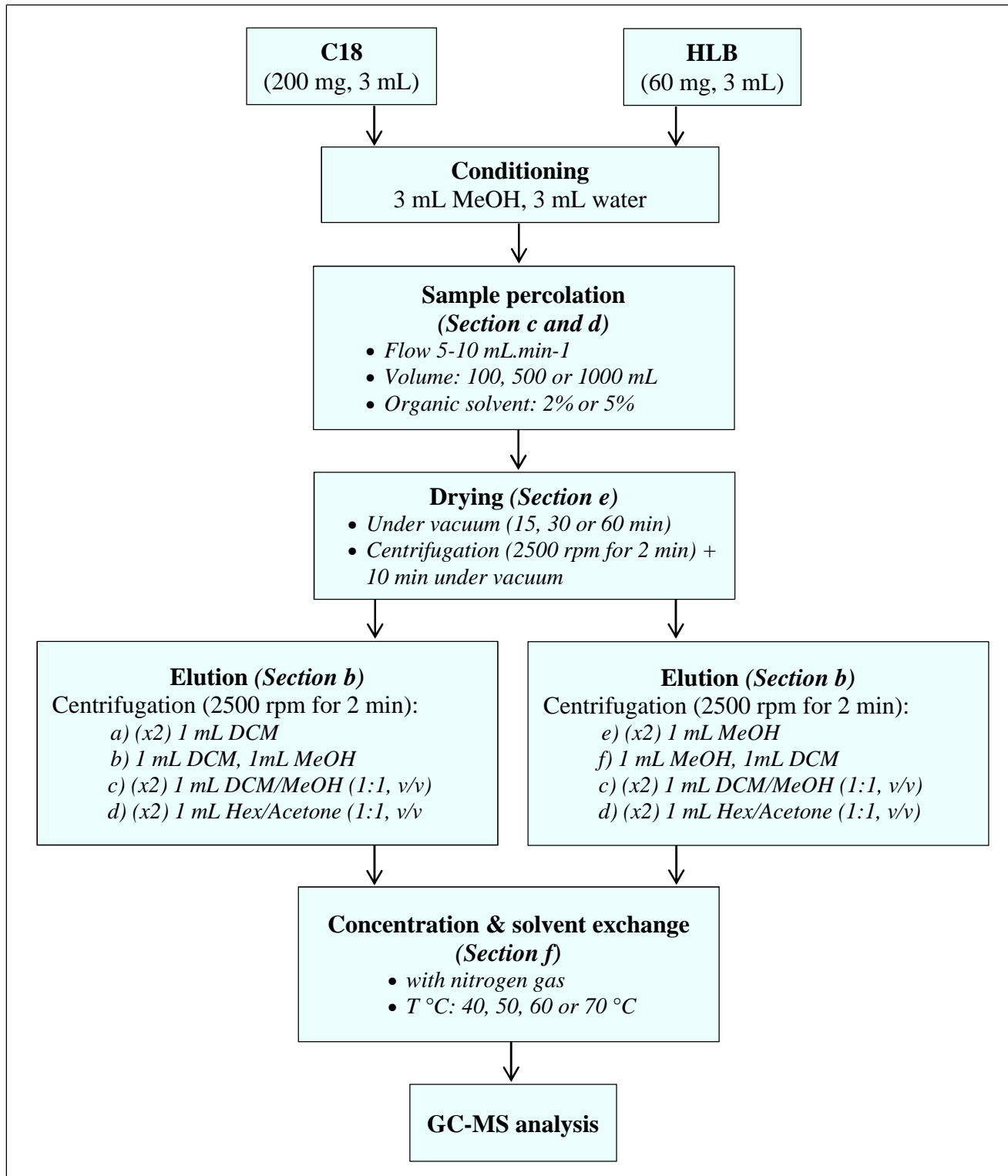


Figure 5.3. Schematic of the developed analytical method for the water sample extraction and analysis.

c. Sample loading volume

In addition to the selectivity, a higher preconcentration factor is usually expected in the trace level sample analysis. Generally, two main approaches are tried to increase the preconcentration factor: one is the adsorption ability of materials to the analytes which is the intrinsic nature that can be exploited for better extraction of the analytes, and the other is changing the volume of water sample to reach the analytical goal. However, large volume of sample will not lead to the maximum extraction factor sometimes because of breakthrough problems, when the analyte is no longer retained by the sorbent due to elution by sample loading volume. Predicting the breakthrough volume based on the analogy between LC and SPE has largely been described (Hennion et al., 1998; Hennion 1999; Pichon 2000). The breakthrough volume can vary with the concentration of the target compounds, which is more likely to breakthrough at higher concentration. So the breakthrough volume should be evaluated at the conservatively highest predictive concentration of the target compound in the research area.

In our work, the influence of the sample loading volume was investigated for both cartridges, Chromabond C₁₈ and Oasis HLB, where loading volume was varied from 10 to 1000 mL of water fortified with 200 ng.L⁻¹. The results, illustrated in Figure 5.6 (for C₁₈ cartridges) and Figure 5.7 (for HLB cartridges) indicated that no apparent differences were found among the enrichment efficiencies for most of the pesticides analyzed over the range of sample volume loaded on C₁₈ and HLB cartridges, except for the two highly polar pesticides with high solubility in water, dichlorovos and propoxur (log K_{ow} between 1.54 and 1.9, solubility between 18000 and 1900 mg.L⁻¹ respectively). The recovery of dichlorovos decreased significantly by 34-45%, and the recovery of propoxur fell by 4-31% for sample volumes of 500 and 1000 mL loaded on C₁₈ cartridges. This meant the breakthrough volumes of these two compounds were very low on this type of cartridge. By contrast, the breakthrough volumes of these two compounds and other pesticides in this study exceeded 1000 mL for HLB cartridges based on the change of recovery with volume observed. Due to comprehensive consideration of enhancing the enrichment factor and avoid excessive sample-handling times and applicability for routine analysis, 500 mL was adopted as the water sample volume for C₁₈ and HLB cartridges.

However, low recoveries (lower than 60%) were observed for some target compounds, organochlorines and pyrethroids (p,p'-DDT, p,p'-DDE and p,p'-DDD; bifenthrin, fenpropathrin and lambda-cyhalothrin) for water volumes exceeding 10 mL, which probably resulted from the

losses of these hydrophobic compounds induced by the adsorption on the inside wall of the glass sample bottle. This problem is discussed in the next Section.

d. Addition of organic solvent

As explained in the last section (5.3.2.c), the addition of organic solvent to water sample was considered in our study to enhance the extraction efficiencies of the high hydrophobic pesticides. Generally, organic solvent addition can increase the solubility of analytes adsorbed on glass bottles in the aqueous phase. MeOH was the organic solvent added to a volume of 500 mL of spiked water sample in different percentages (5, 10 and 20%) and tests were performed on C₁₈ and HLB cartridges.

When adding MeOH to water sample, recoveries for most of the analyzed pesticides on C₁₈ and HLB cartridges decreased significantly, especially with a percentage of 10 and 20% of MeOH. This decrease in recoveries was less pronounced for HLB cartridges than for C₁₈ cartridges. On the other hand, whatever the percentage of MeOH added, recoveries of the hydrophobic organochlorines and pyrethroids were not strongly impacted. Therefore, we decided not to add MeOH to the water samples to prevent losses of analytes due to breakthrough (Figure 5.8 & 5.9). Low recoveries of the most hydrophobic analytes could be improved by adding the surrogate standard to water sample simultaneously with pesticide standards before SPE extraction. The quantification of pesticides recoveries using the surrogate standard and not the internal standard can improve the recoveries of these analytes, and therefore used for the method validation.

e. Sorbent drying

Initial sorbent drying after the sample loading was performed on extraction sorbents that had been dried under high vacuum. The influence of the drying time was investigated for cartridges Chromabond C₁₈ and Oasis HLB, after the percolation of 500 mL of blank water fortified with the suite of pesticide compounds (50 ng each) and before solvent elution. Different drying times ranging from 10 to 60 min were tested. In our previous paper (Kouzayha et al., 2011), we have shown that the use of the centrifugation technique before vacuum drying ensures the complete remove of residual water from SPE cartridge and reduce the necessary drying time.

Therefore, removing water from SPE cartridge using centrifugation technique (2500 rpm for 2 min) followed by a short time vacuum (10 min) was evaluated as well.

As shown in figure 5.10 and 5.11, a drying time of 15 or 30 min was clearly not sufficient for C₁₈ and HLB cartridges and recoveries of most of analytes improved with drying time to 60 min. Even small amounts of residual water can apparently affect the elution of most of analytes adsorbed on SPE sorbent. When comparing recoveries for cartridges dried for 60 min under vacuum and those dried using centrifugation followed by 10 min under vacuum, we noticed that there was little difference between recoveries. However, it was advantageous to use the centrifugation before vacuum drying in order to reduce the total sample preparation time.

f. Elute evaporation temperature

The effect of elute evaporation temperature was studied to determine the optimum temperature for the organic solvents to vaporize quickly but with smaller amounts of target compounds being lost during the process. Duplicate samples of the elution phase (1 mL DCM + 1 mL MeOH) containing 50 ng of each analyte were concentrated under gentle flow of nitrogen at four temperature levels, including 40, 50, 60 and 70 °C. Figure 5.12 shows the recoveries obtained for the evaporation temperatures.

For temperatures above 40 °C, significant losses occurred for two compounds (fenpropathrin, lambda-cyhalothrin), and there was tend for rest of the analytes among the increasing temperature. Therefore, a temperature of 40 °C was used in the final method. For the most volatile analyte, dichlorovos, recoveries were around 36% for all the evaporation temperature tested.

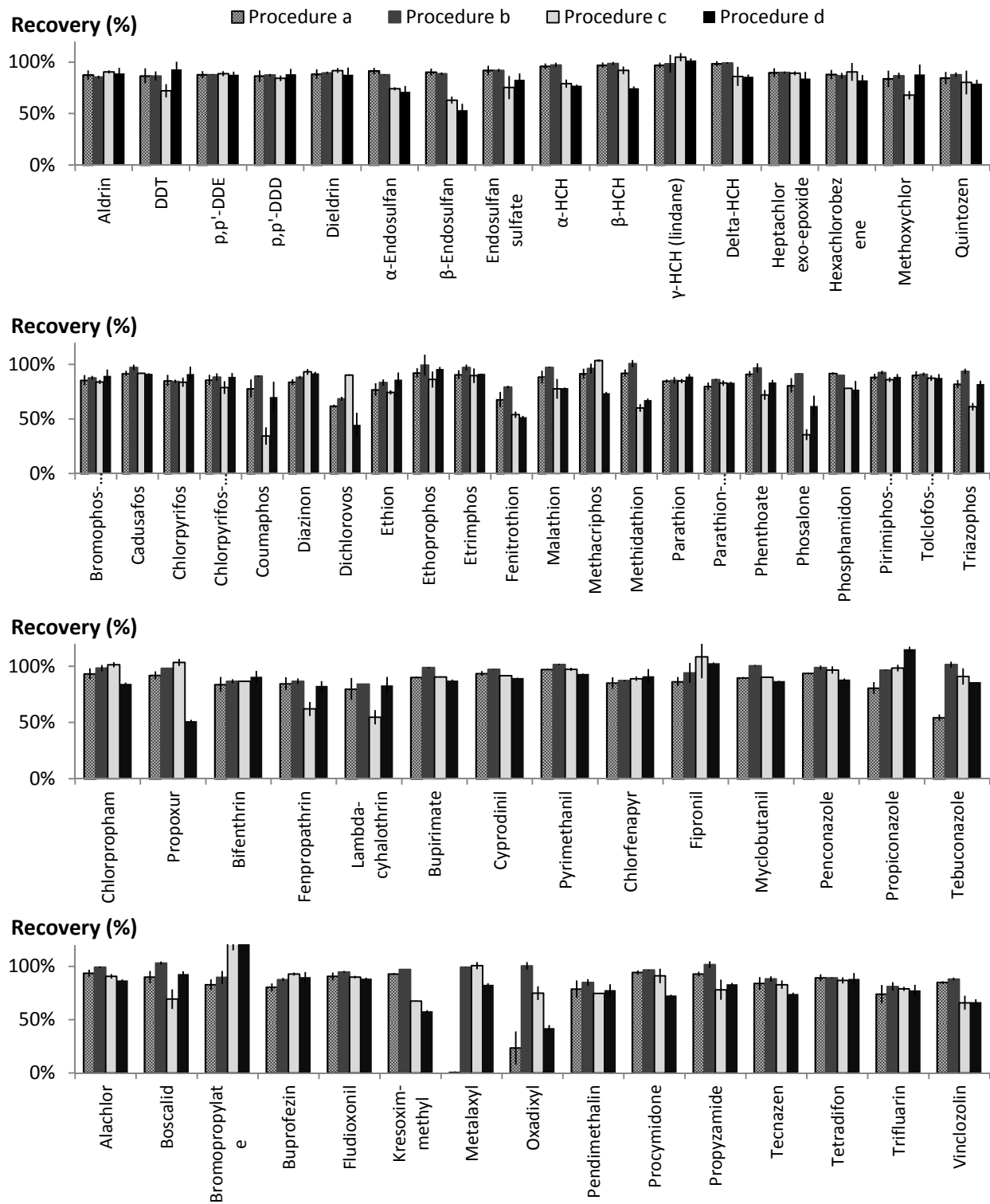


Figure 5.4. Effect of different eluents on the recoveries of the 67 analyzed pesticides adsorbed on C₁₈ cartridge at a concentration of 50 ng/L. Procedure a: (2x) 1 mL of DCM; procedure b: 1 mL of DCM followed by 1 mL of MeOH; procedure c: (2x) 1 mL of DCM/MeOH (1:1, v/v); procedure d: (2x) 1 mL of Hex/Acetone (1:1, v/v).

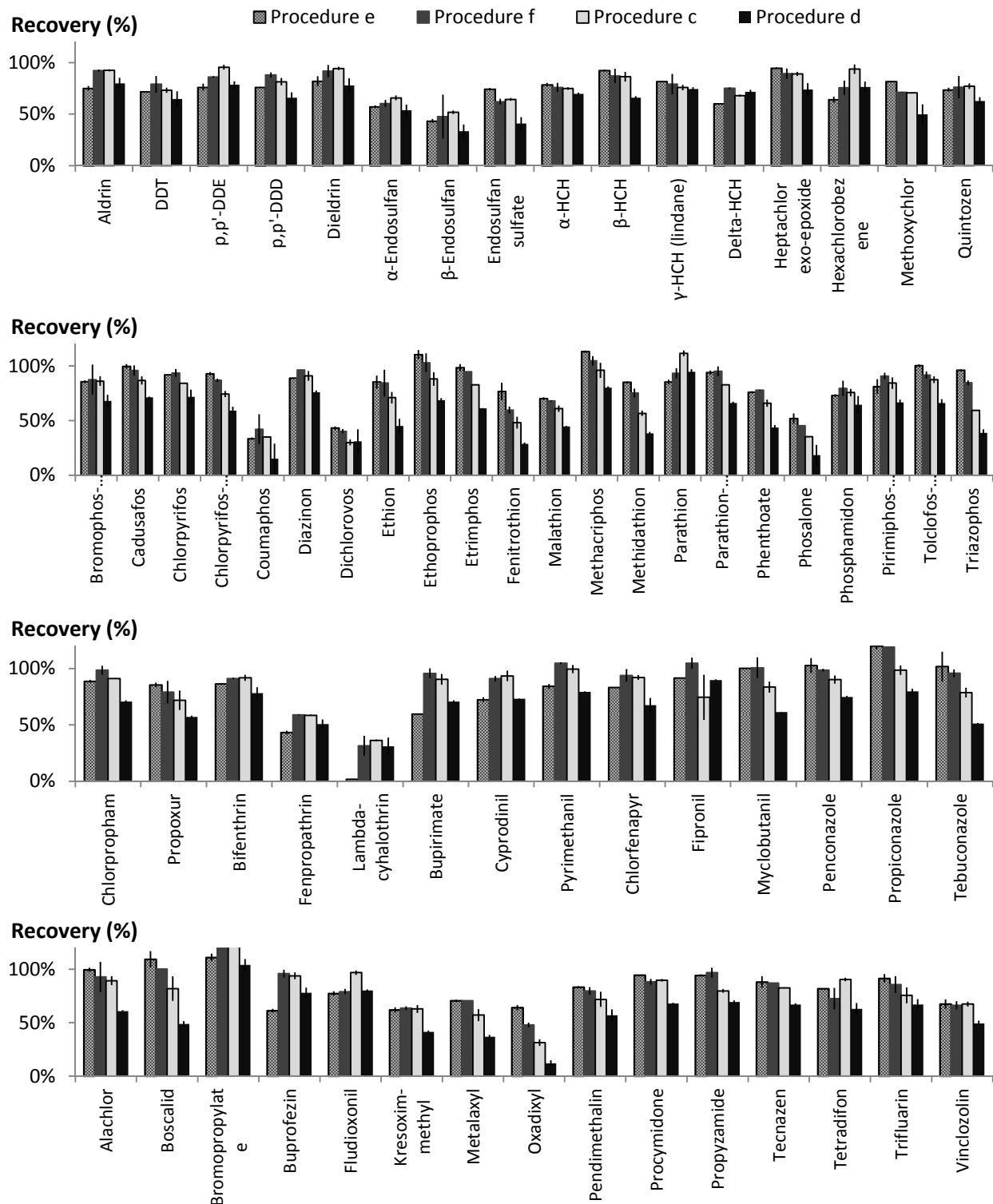


Figure 5.5. Effect of different eluents on the recoveries of the 67 analyzed pesticides adsorbed on HLB cartridge at a concentration of 50 ng/L. Procedure e: (2x) 1 mL of MeOH; Procedure f: 1 mL of MeOH followed by 1 mL of DCM; Procedure c: (2x) 1 mL of DCM/MeOH (1:1, v/v); Procedure d: (2x) 1 mL of Hex/Acetone (1:1, v/v).

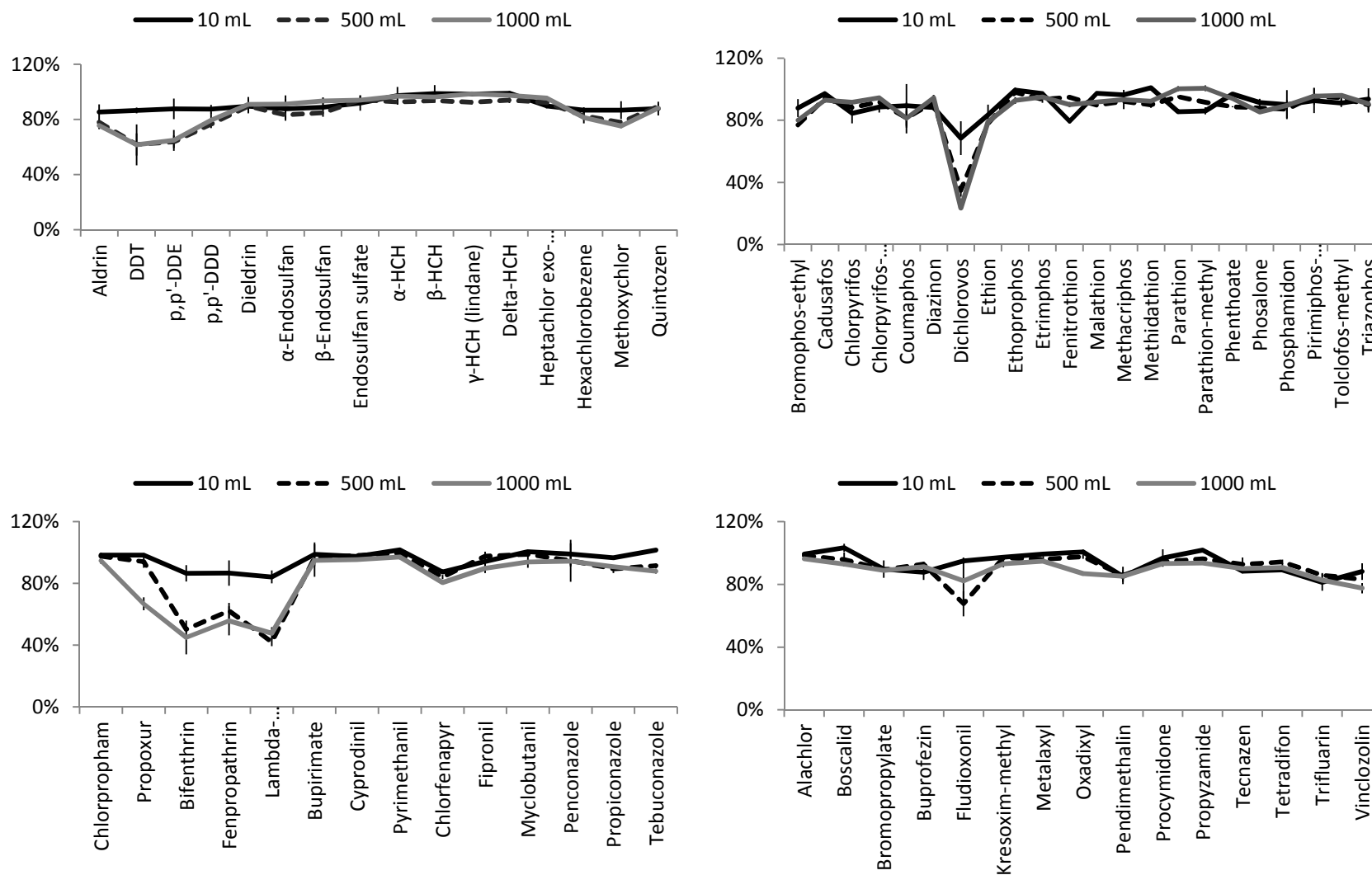


Figure 5.6. Average recoveries of pesticides for a loaded sample volume between 10 and 1000 mL on C₁₈ cartridge.

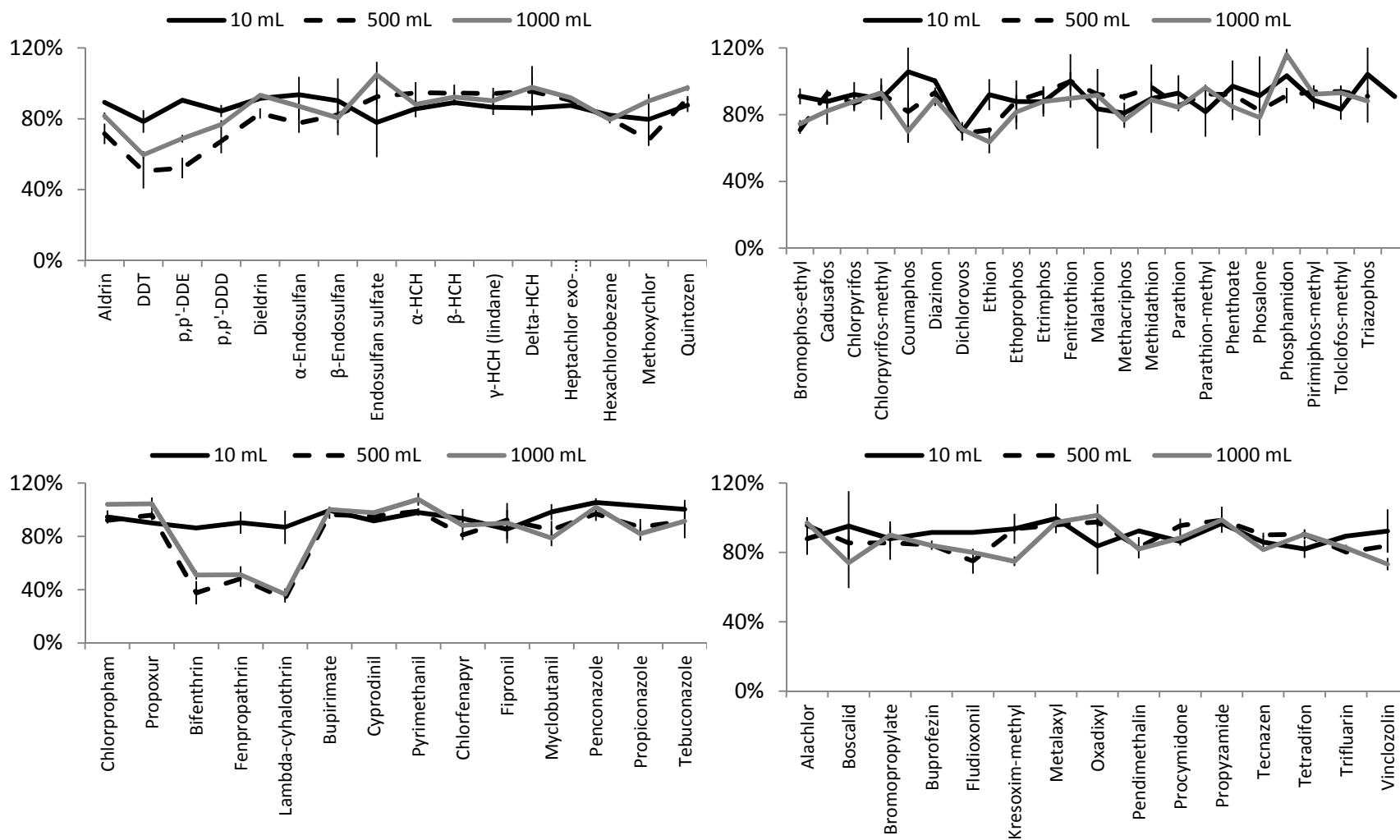


Figure 5.7. Average recoveries of pesticides for a loaded sample volume between 10 and 1000 mL on HLB cartridge.

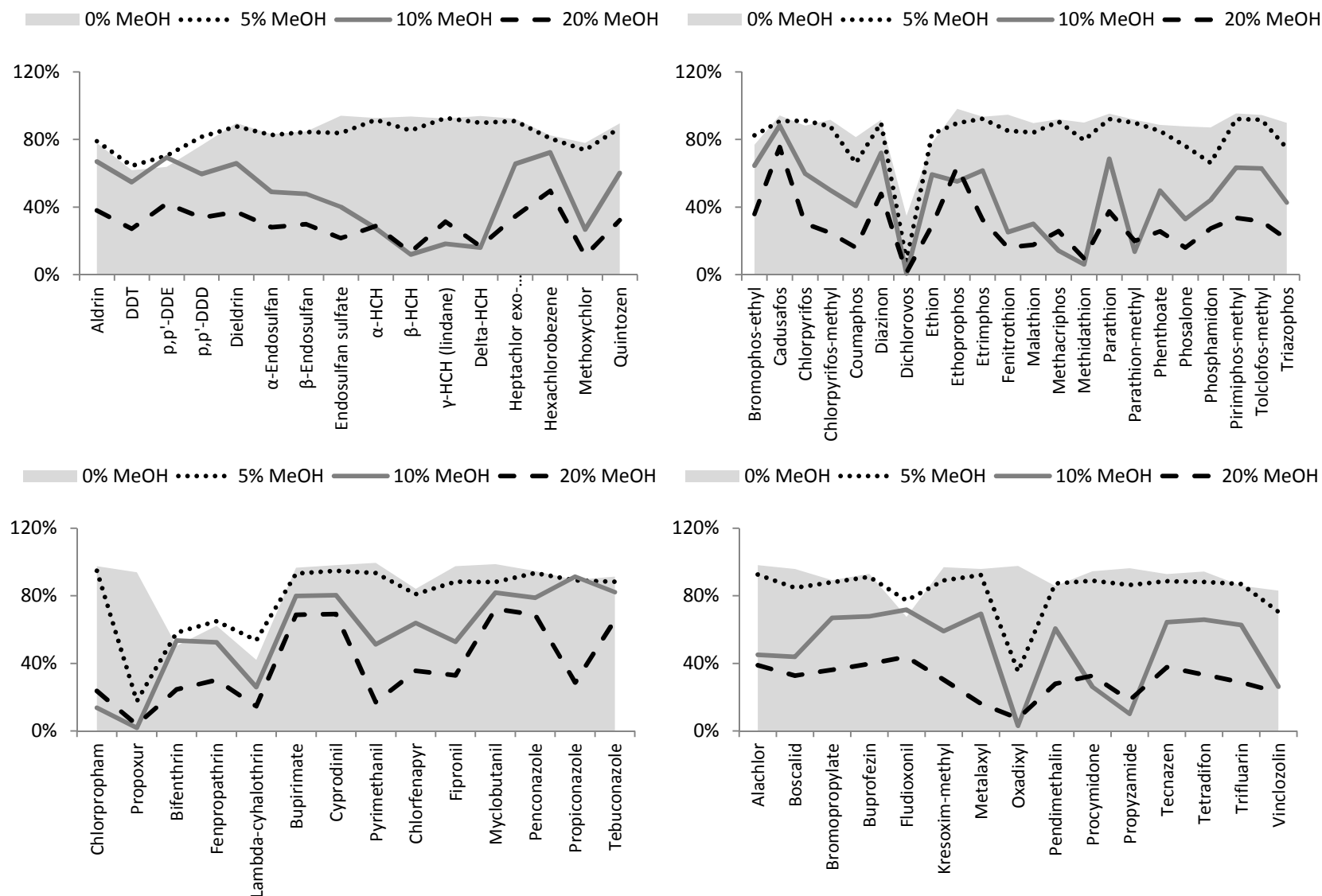


Figure 5.8. Dependence of extraction efficiency on amount of organic solvent added to water sample prior to extraction on C₁₈ cartridges.

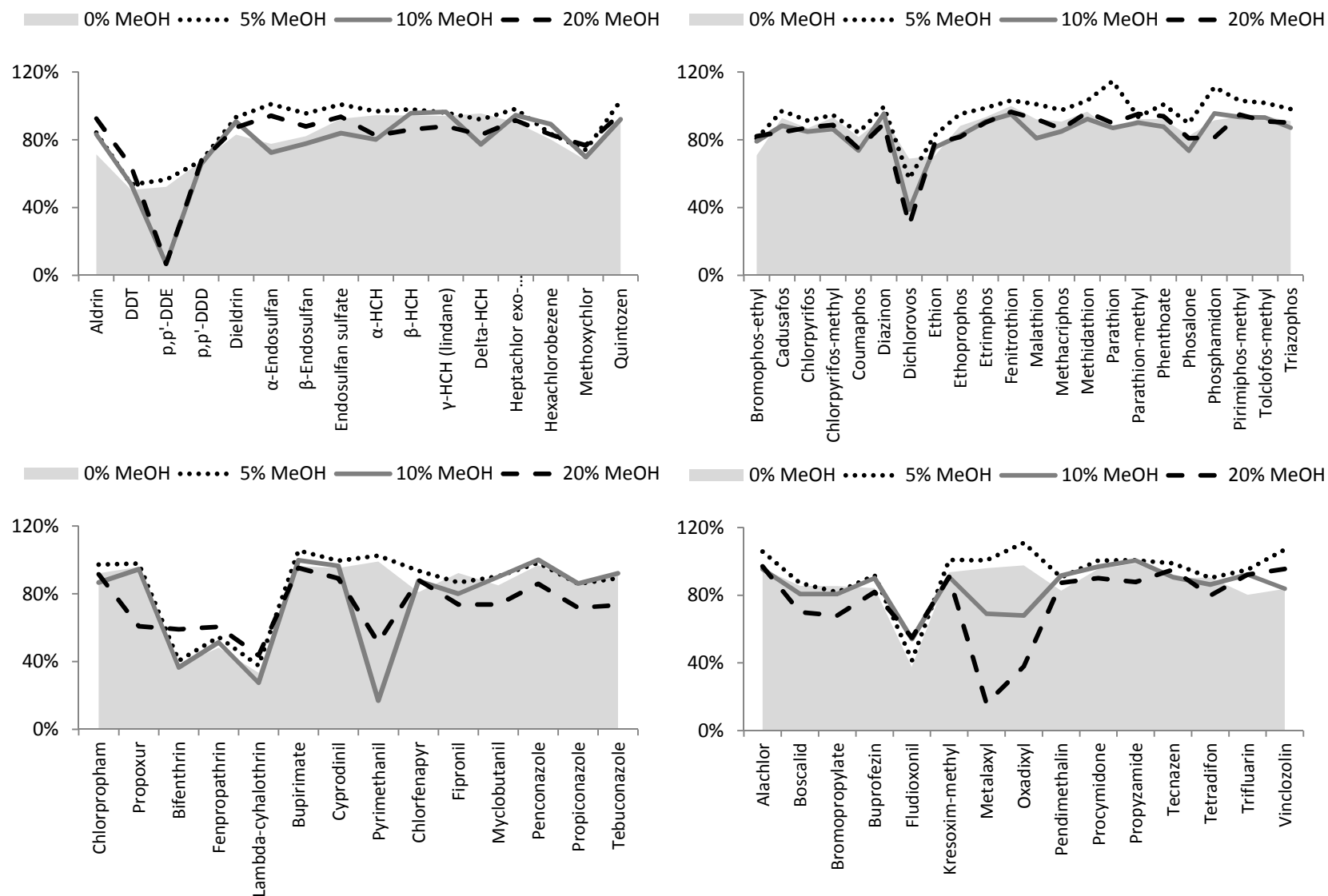


Figure 5.9. Dependence of extraction efficiency on amount of organic solvent added to water sample prior to extraction on HLB cartridges.

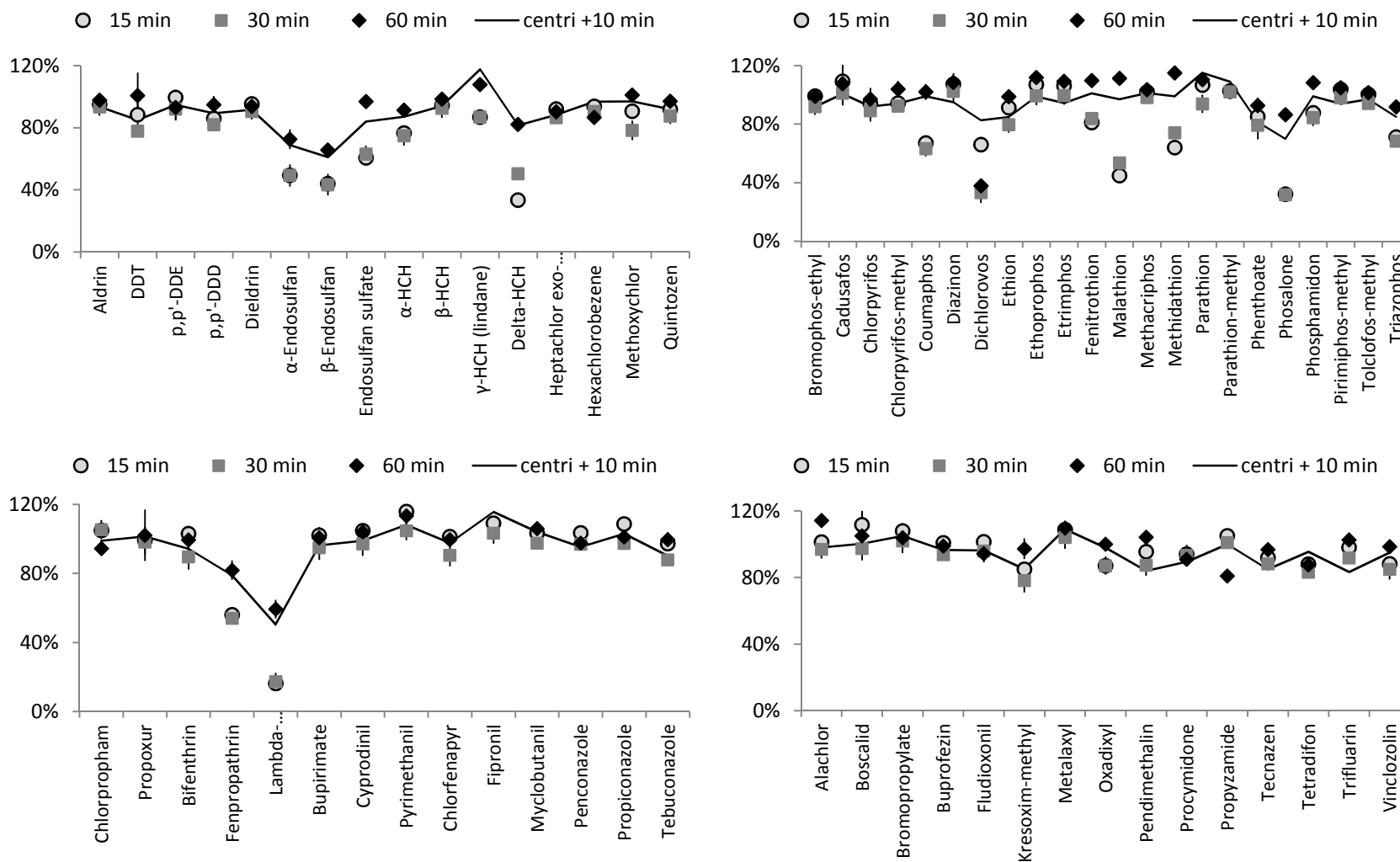


Figure 5.10. Average recoveries of pesticide classes for a drying time between 15 and 60 min under vacuum for C₁₈ solid phase.

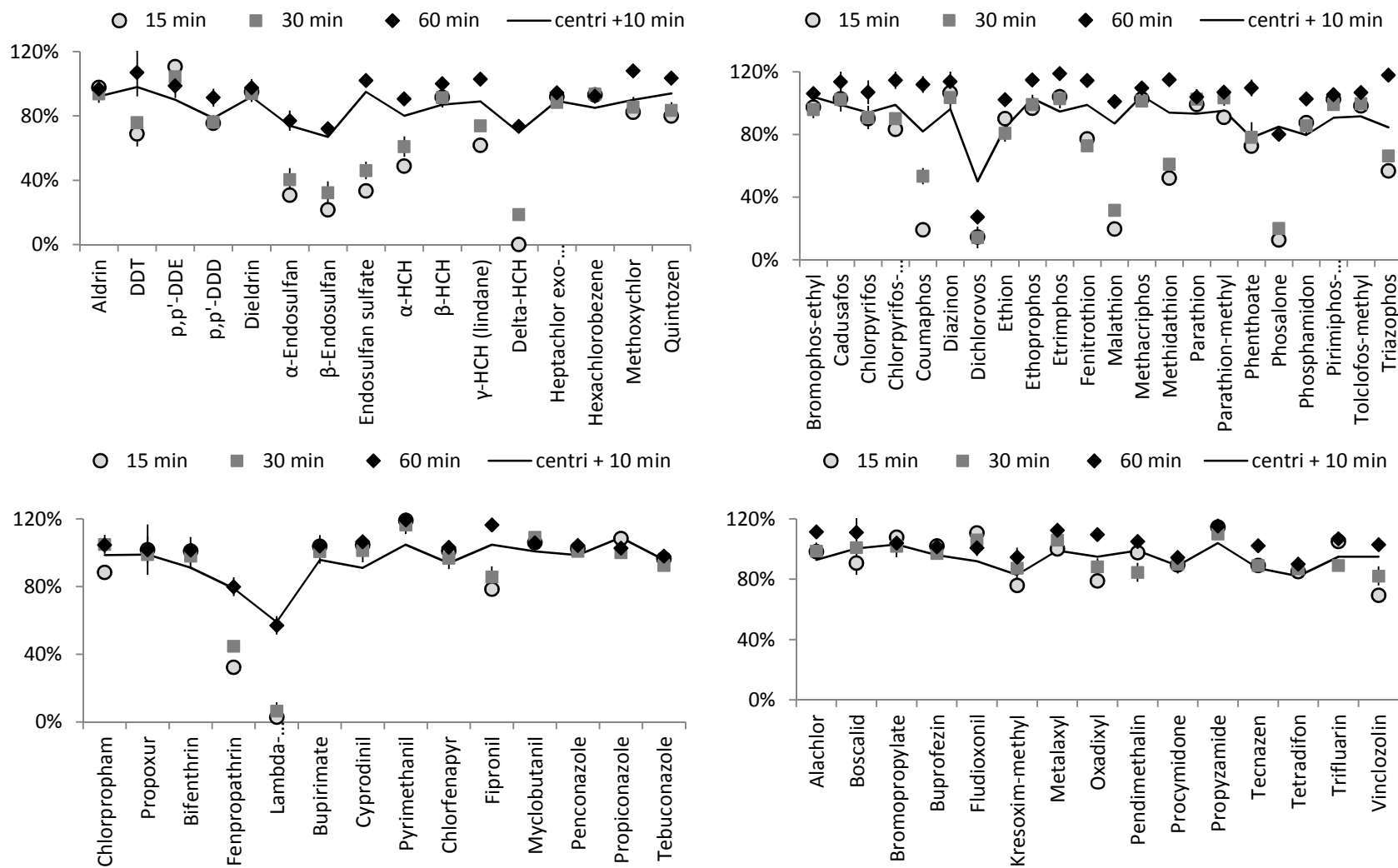


Figure 5.11. Average recoveries of pesticide classes for a drying time between 15 and 60 min under vacuum for HLB solid phase.

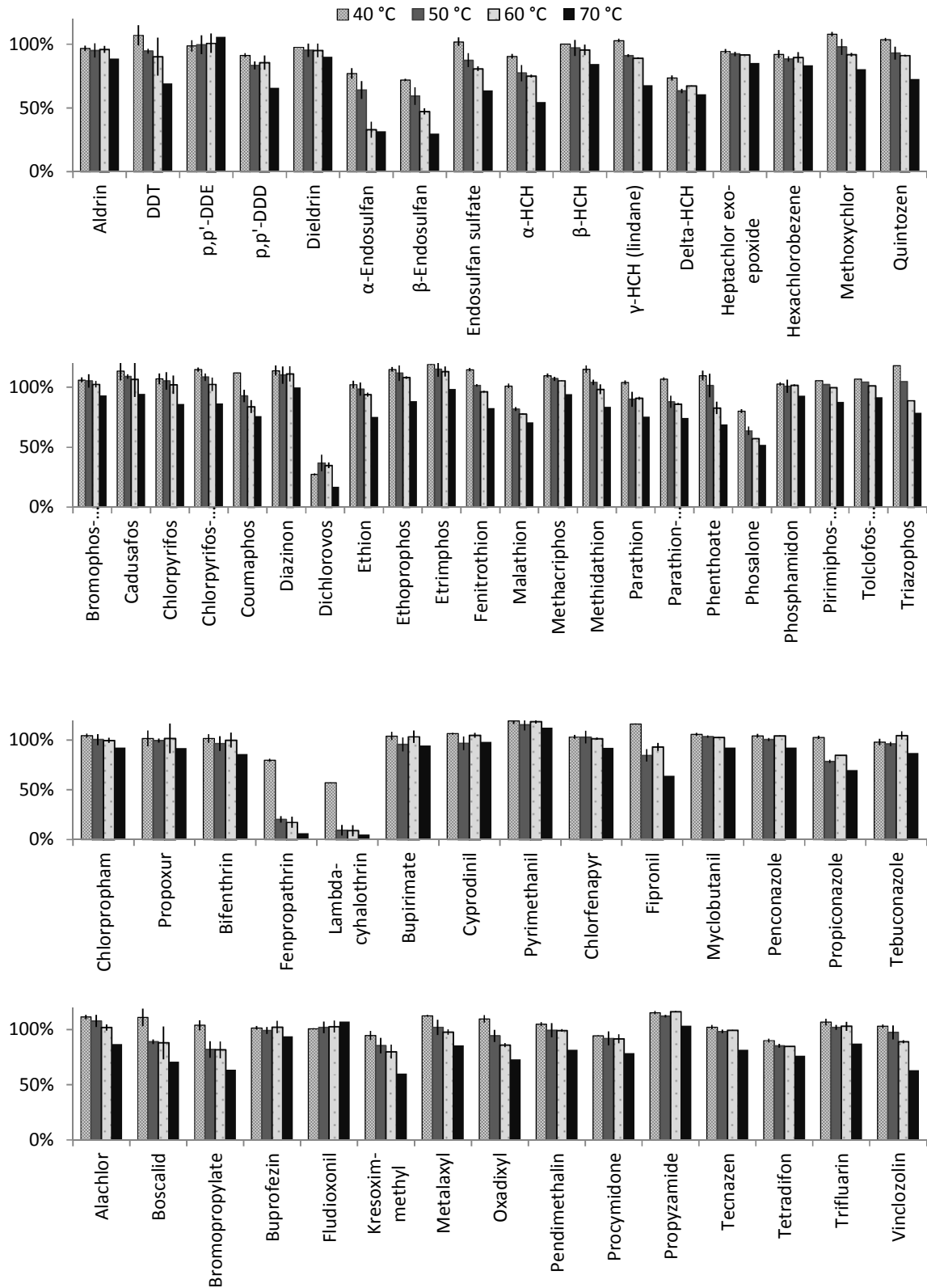


Figure 5.12. Average recoveries of pesticide classes for an evaporation temperature between 40 and 70 °C.

5.3.3. Method validation

The performance of the optimized SPE-GC-MS analysis method was validated evaluating the linearity, recoveries, precision and limits of quantification (LOQs). The results are listed in Table 5.3.

a. Linearity

Linearity was determined for the instrumental response. The range of concentration studied was 5-500 $\mu\text{g.L}^{-1}$ analyzing reference standard solution at seven concentration levels (5, 25, 50, 100, 250 and 500 $\mu\text{g.L}^{-1}$) for the instrumental response. The calibration curves were plotted using a least-square regression analysis. Linearity was evaluated and results are detailed in table 5.3. Each compound showed good linearity for the GC-MS analysis in the studied working range, with correlation coefficient (R^2) greater than 0.993.

b. Recovery and Precision

The recovery and precision of the developed analytical method were evaluated for C_{18} and HLB cartridges. Recovery studies of all pesticide were performed at 100 ng.L^{-1} , which is the maximal admissible concentration set in the EU directive for individual pesticides in drinking water (EU, 1998). Precision was described as the value of relative standard deviation (RSDs) of the areas obtained for each analyte after the replicate ($n = 6$) analyses of spiked water samples. Recovery data and RSDs values obtained are shown in Table 5.3.

Recoveries were calculated with the surrogate standard (PCB 52) and values were above 65-68 % for all the analytes using the C_{18} and HLB cartridges (Table 5.3). The overall method repeatability for all pesticides expressed as RSDs was satisfactory and in the range of 0.2–12.3% for C_{18} and 0.2-9.7 % for HLB (Table 5.3).

c. Limit of quantification

The LOQs were experimentally determined at a signal-to-noise ratio (S/N) of 6, by the spiking of blank water sample at four levels (2, 4, 10 and 20 ng L^{-1} , $n = 6$). As Table 5.3 shows, the LODs obtained were in the low ng.L^{-1} level for all analyzed pesticides (2-10 ng L^{-1}), except for few compounds where a value of 20 ng L^{-1} was necessary to achieve the LOQ.

As a result, this analytical method can be applied in routine for the trace analysis of pesticides in water.

Table 5.3. Validation results: Linear range, recoveries, repeatability and limits of quantitation (LOQs).

Pesticide	Linearity (ng.mL ⁻¹)	R ²	C18		HLB		LOQ (ng.L ⁻¹)
			Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	
OC pesticides							
Aldrin	5-500	1.000	89.6	0.6	98.5	1.3	2
p,p'-DDT	10-500	0.995	73.3	1.6	75.7	3.1	4
p,p'-DDE	5-500	1.000	87.1	2.3	85.3	0.9	2
p,p'-DDD	5-500	0.993	87.2	0.2	89.0	2.4	2
Dieldrin	50-500	0.999	87.9	1.2	114.3	0.7	20
α-Endosulfan	50-500	0.995	95.6	4.6	107.1	1.2	20
β-Endosulfan	50-500	0.994	90.9	5.9	101.2	4.6	20
Endosulfan sulfate	50-500	0.993	80.5	1.6	83.1	5.2	20
α-HCH	10-500	0.999	90.9	2.5	105.9	2.7	4
β-HCH	25-500	0.999	92.4	1.3	102.9	1.1	10
γ-HCH (lindane)	25-500	0.999	91.0	2.3	114.7	1.4	10
Delta-HCH	50-500	0.999	87.4	12.3	89.2	9.7	20
Heptachlor epoxide	25-500	1.000	83.5	3.1	112.8	1.1	10
Hexachlorobezene	5-500	0.999	84.1	2.0	91.0	2.4	2
Methoxychlor	50-500	0.993	91.3	4.0	81.1	2.9	20
Quintozen	25-500	0.999	91.6	2.6	92.8	3.0	10
OP pesticides							
Bromophos-ethyl	5-500	0.999	84.3	1.6	92.7	1.8	2
Cadusafos	10-500	0.999	96.5	2.4	110.7	1.0	4
Chlorpyrifos	25-500	0.999	81.7	0.9	100.2	1.7	10
Chlorpyrifos-methyl	5-500	0.998	86.9	3.4	96.7	2.3	2
Coumaphos	50-500	0.993		11.6	76.4	9.0	20
Diazinon	10-500	0.999	90.3	5.1	116.7	2.1	4
Dichlorovos	10-500	0.997	103.4	7.9	83.2	5.9	4
Ethion	5-500	0.999	103.3	1.6	93.9	1.2	2
Ethoprophos	25-500	0.998	96.6	4.2	113.6	1.6	10
Etrimphos	10-500	0.998	91.3	3.1	107.1	1.4	4
Fenitrothion	50-500	0.995	64.7	1.2	76.8	2.2	20
Malathion	25-500	0.995	74.6	6.4	82.0	5.6	10
Methacriphos	10-500	0.999	87.6	2.1	115.0	1.1	4
Methidathion	50-500	0.995	70.9	7.2	77.6	4.2	20
Parathion	25-500	0.996	85.8	5.7	103.9	2.3	10
Parathion-methyl	50-500	0.998	82.6	4.6	102.4	3.6	20
Phenthoate	5-500	0.998	74.9	1.9	94.5	2.0	2
Phosalone	50-500	0.993	83.4	2.5	76.4	6.2	20
Phosphamidon	50-500	0.997	83.6	1.3	98.0	2.1	20
Pirimiphos-methyl	25-500	0.999	93.6	4.6	109.3	0.9	10

Tolclofos-methyl	5-500	0.999	89.7	0.3	105.7	1.2	2
Triazophos	50-500	0.996	84.1	5.1	83.4	4.7	20
Carbamates							
Chlorpropham	50-500	0.999	81.2	4.6	119.1	2.9	20
Propoxur	5-500	0.999	87.8	2.6	114.4	2.0	2
Pyrethroids							
Bifenthrin	5-500	1.000	83.2	4.6	82.7	2.5	2
Fenpropathrin	5-500	0.999	84.0	6.4	68.0	6.5	2
Lambda-cyhalothrin	50-500	0.997	67.5	7.3	68.7	5.8	20
Pyrimidines							
Bupirimate	5-500	1.000	93.7	5.6	102.2	3.2	2
Cyprodinil	5-500	1.000	103.6	4.5	112.4	1.7	2
Pyrimethanil	5-500	1.000	91.9	3.2	117.5	2.1	2
Azole pesticides							
Chlorfenapyr	50-500	0.995	86.1	4.2	107.3	3.1	20
Fipronil	25-500	0.998	105.8	1.3	114.1	0.2	10
Triazole pesticides							
Myclobutanil	25-500	0.999	80.6	1.2	113.2	3.9	10
Penconazole	25-500	0.999	90.4	4.6	113.3	3.8	10
Propiconazole	50-500	0.999	87.7	1.6	112.7	3.7	20
Tebuconazole	50-500	0.998	94.1	4.3	111.2	5.4	20
Other pesticides							
Alachlor	5-500	0.999	89.2	2.1	106.3	0.6	2
Boscalid	50-500	0.999	84.0	0.6	113.8	2.7	20
Bromopropylate	10-500	0.998	82.2	2.4	102.7	3.1	4
Buprofezin	10-500	0.999	90.2	1.7	115.5	2.1	4
Fludioxonil	5-500	1.000	72.6	2.6	105.4	5.1	2
Kresoxim-methyl	5-500	1.000	83.7	1.5	108.2	1.6	2
Metalaxyl	25-500	0.999	104.4	3.2	105.8	3.3	10
Oxadixyl	5-500	0.998	97.0	4.3	107.7	1.0	2
Pendimethalin	25-500	0.998	97.7	4.6	92.1	0.9	10
Procymidone	25-500	0.999	92.0	2.0	115.8	2.5	10
Propyzamide	10-500	0.999	99.4	4.5	115.6	2.5	4
Tecnazen	10-500	0.999	92.7	6.1	110.8	0.6	4
Tetradifon	25-500	0.998	85.7	6.4	98.1	1.7	10
Trifluarin	5-500	0.997	95.9	2.6	96.0	0.9	2
Vinclozolin	25-500	0.999	91.2	3.5	97.9	2.2	10

5.4. Conclusions

This work presents a new SPE method using the centrifugation technique for the extraction of 67 pesticides from water samples. The proposed method shows practical environmental and economical advantages in terms of sample preparation time, simplicity, reduction in solvent use, and cost and is particularly suitable for routine applications requiring a high sample throughput. Optimized conditions include the percolation of a sample volume of 500 on either C₁₈ or HLB cartridges and a drying step using centrifugation followed by 10 min under vacuum. The evaluation of the elution parameters demonstrated that 1 mL of DCM with centrifugation followed by 1 mL of MeOH was successfully used for the elution of analytes on both cartridges. The concentration was performed at a temperature of 40 °C. Under the optimized conditions, this method showed good recoveries higher than 65-68 % for the 67 analyzed pesticides using the C₁₈ and HLB cartridges with relative standard deviations lower than 9.7-12.3%. Limits of quantification were between 2 and 20 ng.L⁻¹.

References

- Asi M., Hussain A., Muhmood S., **2008**. Solid phase extraction of pesticide residues in water samples: DDT and its metabolites. *International Journal of Environmental Research* 2:43-48.
- Baez, M. E., Rodriguez, M., Lastra, O., and Contreras, P., **1997**. Solid-phase extraction of organophosphorus, triazine, and triazole-derived pesticides from water samples. A critical study, *Journal of High Resolution Chromatography* 20:591-596.
- Bailey H., Deanovic L., Reyes E., Kimball T., Larson K., Cortright K., Conner V., Hinton D.E., **2000**. Diazinon and chlorpyrifos in urban waterways in Northern California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19:82.
- Barth J.A.C., Grathwohl P., Jones K.C., **2007**. Introduction to special Issue "AquaTerra: Pollutant Behavior in the soil, sediment, ground, and surface water system. *Environmental Pollution* 148:693.
- Concha-Grana E., Turnes-Carou M., Muniategui-Lorenzo S., Lopez-Mahia P., Prada-Rodriguez D., Fernandez-Fernandez E., **2006**. Evaluation of HCH isomers and

- metabolites in soils, leachates, river water and sediments of a highly contaminated area. *Chemosphere* 64 :588.
- de la Colina C., Pena Heras A., Dios Cancela G., and Sanchez Rasero F., **1993**. Determination of organophosphorus and nitrogen-containing pesticides in water by solid-phase extraction with gas chromatography with nitrogen - phosphorus detection. *Journal of Chromatography A* 655:127-132.
- EPA 525. Determination of Organic Compounds in Drinking-Water by Liquid - Solid Extraction and GC-MS.
- European Union (EU), **2000**. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the Community action in the field of water policy.
- European Union (EU), **1998**. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption.
- Forcada M., Beltran J., Lopez F. J., and Hernandez F., **2000**. Multiresidue procedures for determination of triazine and organophosphorus pesticides in water by use of large-volume PTV injection in gas chromatography. *Chromatographia* 51:362- 368.
- Hennion M. C., **1999**. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 856:3-54
- Hennion M. C., Cau-Dit-Coumes C., Pichon V., **1998**. Trace analysis of polar organic pollutants in aqueous samples. Tools for the rapid prediction and optimization of the solid-phase extraction parameters. *Journal of Chromatography. A* 823:147-161.
- Kouzayha A., Al Iskandarani M., Mokh S., Rabaa A. R., Budzinski H., Jaber F., **2011**. Optimization of a Solid-Phase Extraction Method Using Centrifugation for the Determination of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:7592–7600.
- Pichon V., **2000**. Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. *Journal of Chromatography A* 885:195-215.
- Reemtsma T., Jekel M., **2006**. Organic Pollutants in the Water Cycle, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. *Journal of Chromatography A* 1150:267-278.

Rodrigues A.M., Ferreira V., Cardoso V.V., Ferreira E., Benoliel M.J., **2007**. Determination of several pesticides in water by solid-phase extraction, liquid chromatography and electrospray tandem mass spectrometry

Sabik H., Jeannot R., Rondeau B., **2000**. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *Journal of Chromatography A* 885:217-236.

Tahara M., Kubota R., Nakazawa H., Tokunaga H., Nishimura T., **2006**. Analysis of active oxon forms of nine organophosphorus pesticides in water samples using gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Health Science* 52(3):313-319.

Vreuls J.J., Louter A.J.H., Brinkman U.A.Th., **1999**. On-line combination of aqueous-sample preparation and capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A* 856:279-314.

Waters Corporation, **2002**. Organophosphorus Pesticides in Drinking Water and Fruit. Environmental and Agrochemical Applications Notebook, p. 9.

Wells M.J.M., Yu L.Z., **2000**. Solid-phase extraction of acidic herbicides. *Journal of Chromatography A* 885:237-250.

Conclusion

Les travaux présentés dans le chapitre 2 décrit la méthode SPE – centrifugation élaborée et optimisée, pour la première fois, pour l’analyse de deux familles de contaminants organiques, les HAP et les pesticides dans l’eau. La nouvelle méthode proposée montre des avantages environnementaux et économiques en termes de la simplicité d’opération, de la réduction du temps de préparation et du volume solvants organique et sur le coût total de l’opération.

Les conditions optimales de la méthode élaborée pour l’analyse des HAP dans l’eau, indiquent que le volume de percolation d’échantillon devrait être compris entre 500 et 1000 mL en opérant sur une cartouche de C₁₈, de volume de 3 mL et renfermant 200 mg d’adsorbant. La percolation est suivie par une étape de séchage par centrifugation de 10 minutes sous vide. D’autre part, l’évaluation des paramètres d’élution a montré qu’un volume de 1 mL de DCM avec centrifugation est suffisant pour une élution efficace et convenable des analytes. Enfin, la concentration ultérieure de l’extrait organique doit a été effectuée à une température inférieure à 40 °C en présence de 200 µL d’isooctane. Ces conditions, précédemment citées, ont abouti à des de bons rendements de récupération compris entre 70 et 85% pour les 16 HAP avec des écarts types relatifs situé entre 1 et 14%.

Les résultats présentés dans ce chapitre montrent, également, l’application de la méthode SPE avec centrifugation pour l’extraction de 67 pesticides de l’eau. Les mêmes conditions optimales appliquées lors de l’extraction de HAP sont convenables pour l’extraction de pesticides. Deux types d’adsorbant le C₁₈ (200 mg, 3 mL) ou le HLB (60 mg, 3 mL) peuvent être utilisés avec les mêmes conditions de percolation d’échantillon et de séchage. L’étape d’élution a été réalisée par centrifugation avec 1 mL de DCM suivi par 1 ml de MeOH. Cette méthode a montré, également, de bons rendements de récupération supérieurs à 65 % pour les 67 pesticides analysés avec des écarts-types relatifs situés entre

9,7 et 12,3%. Les limites de quantification ont été évaluées et sont comprises entre 2 et 20 ng. L⁻¹.

A côté de la méthode SPE avec centrifugation, une méthode d'injection en mode PTV a été optimisée et validée pour l'analyse par GC-MS des 16 HAP. L'introduction de l'injecteur PTV à la place de l'injecteur splitless a permis d'augmenter la sensibilité de la méthode en éliminant l'étape de concentration par évaporation de solvant. Les paramètres d'injection PTV ont été optimisés grâce deux modèles multivariés, Plackett-burman et Box-Behnken. Pour l'injection d'un volume de 5 µL, les conditions optimales sont : Une température initiale d'injecteur de 70 °C, un débit de 60 mL/min pour 0,55 min et sous une pression de 50 psi pour l'évaporation du solvant et finalement un débit de 10 mL/min pendant 3 min à une température de 280 °C pour le transfert des analytes vers la colonne.

La fiabilité et les performances de la méthode d'injection PTV après l'extraction SPE des HAP ont été évaluées en considérant les paramètres de linéarité, la précision, le rendement de récupération et les limites de détection et de quantification. La nouvelle méthode complète optimisée SPE-centrifugation-PTV-GC-MS a fourni une meilleure sensibilité par rapport à l'injection traditionnelle en mode splitless avec une réduction considérable du temps de préparation ; elle serait, sans doute, très bien adaptée pour des applications de routine.

Chapitre 3.
Etude de la qualité des eaux libanaise

Introduction

Au Liban, comme ailleurs, le développement industriel, agricole et urbain est accompagné inévitablement par des problèmes de pollution de l'environnement aquatique, où plusieurs milliers de substances chimiques seraient déversées dans les eaux libanaises. Parmi celles-ci, sont les contaminants organiques d'origine anthropique majeure, comme les HAP et les pesticides. L'impact de ces substances sur l'environnement est complexe, tant leurs actions toxiques peuvent être directes ou indirectes sur les individus, les populations ou les écosystèmes. L'estimation du niveau de contamination peut être atteinte par la mesure des concentrations de ces contaminants et l'évaluation de leurs variations dans divers systèmes aquatiques.

Dans cet objectif, le chapitre 3 présente les diverses campagnes d'échantillonnage permettant d'évaluer l'état de la qualité des eaux libanaises, du nord au sud, en passant par la capitale du Liban la ville de Beyrouth. Les analyses effectuées ont permis d'évaluer les niveaux de concentrations des deux familles de contaminants organiques, les HAP et les pesticides. La détection et la quantification des ces contaminants ont été réalisées avec les méthodes analytiques développées précédemment SPE-Centrifugation. Ce chapitre est présenté sous la forme de deux articles ; le premier concerne l'analyse, la distribution, et l'évaluation des sources possibles des HAP dans les eaux de pluie, alors que le deuxième porte sur l'évaluation de la présence des pesticides dans les différents systèmes aquatiques au Liban.

6. Polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater collected in Beirut, Lebanon

Abir Kouzayha¹, Hélène Budzinski³ and Farouk Jaber^{1&2*}

1 National Council for Scientific Research CNRS - Lebanese Atomic Energy Commission LAEC - Analysis of Pesticides and Organic Pollutants Laboratory LAPPO - Beirut, Lebanon.

2 Lebanese University - Faculty of Sciences I - Laboratory of Analysis of Organic Compounds (509) - Hadath, Beirut, Lebanon.

3 Université Bordeaux I, CNRS, ISM-LPTC-UMR 5255 (Laboratory of Physico- and Toxicology), 351 Cours de la Libération, 33405 Talence, France.

(Article prepared for submission)

Abstract

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were measured in rainwater from December 2010 to March 2011 in Beirut, capital of Lebanon. The total PAHs concentrations varied from 180.7 to 644.5 ng/L, with higher abundance in colder months. Results obtained in Beirut are of the same magnitude as those proposed in the literature. The 3- and 4-ring PAHs were the most abundant compounds among other PAHs for all rainwater samples collected during the monitoring period. For the heavy 5- and 6-ring PAHs, their concentration was higher in first month of the rain season and decreased in the following months. Finally, the distribution patterns of some isomeric PAHs ratios showed that the possible source of the PAHs contamination in the city of Beirut was mainly pyrolytic input derived from fuels combustion.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons; rainwater; temporal variations; Beirut.

6.1. Introduction

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are identified as one of the persistent organic pollutants (POPs) in the environment, and some of them are classified as priority pollutants by both the US Environmental Protection Agency (US-EPA) and the European Community (EC). They are introduced into the environment mainly via incomplete combustion of organic matter in nature and anthropogenic processes. In general, vehicle exhaust emissions, wood, fossil fuel and coal combustion, coke production and some stationary point source are regarded as the principal sources for PAHs (Simcik et al., 1999, Wild and Jones 1995). Besides, an important natural source is the biomass burning that occurs in forest fires (Masclet et al., 2000; Cecinato et al., 1997; Oros and Simoneit, 2001). As for other pollutants, after they enter through the atmosphere, PAHs are redistributed between gas and particle phases (Park et al., 2002; Ribes et al., 2003) and can be degraded by direct and/or indirect photolysis (Behymer and Hites, 1985; Sasaki et al., 1997), and deposited on land or in water via wet and dry deposition mechanisms (Manoli et al., 2000; Ollivon et al., 2002). When deposited, PAHs may be re-volatilized and transported over long distances and deposited again in soils and water surfaces far from their emission sources (Masclet et al., 2000; Carrera et al., 2001). Due to their well-known carcinogenic and mutagenic properties, the distribution and sources of PAHs were widely studied in different media. Understanding the contributions of the various sources is critical to the appropriate management of PAHs concentrations in the environment. For the aquatic environment, most of the available data concern surface and groundwaters. However, data on PAH in rainwater are scarce and have not been gathered in a systematic manner.

In Lebanon, the urbanization and economy growth in the past decades resulted in the rapid deterioration of air and water quality due to the lack of rigorous and effective environmental regulations (Moussa et al., 2006; Saliba et al., 2007; Shaka et al., 2004). But recently, increased public concern over potential health hazards associated with air pollution has led to few recent studies. Available data indicated that the emissions of carbonyl compounds (Moussa et al., 2006), nitrogen oxide, and aerosol particles (Shaka et al., 2004) in the vicinity of some main roads during rush hour traffic are likely to approach and exceed World Health Organization (WHO) guidelines for health. The average annual concentration of nitrogen dioxide, for example, reached $58 \mu\text{m}^3$ in 2010, whereas the maximum allowable concentration according to WHO is $40 \mu\text{m}^3$ (Shaka et al., 2004). The researchers warned that

not only are air pollution levels higher than the acceptable WHO standards, but they are increasing throughout the years. However, the measurement of PAHs and other organic pollutants in the air and the report on their deposition are absent to date. The only research regarding PAHs in Lebanon was mainly focused on the distribution and concentrations in the marine environment, such as sediments, oysters and fish after the oil spill of July 2006 (Linden and Rust, 2008).

Beirut, the capital of Lebanon, is the largest city with a population of more than 2 million, about one-third of the total population, and an area of 67 Km². It is located at the midpoint of Lebanon's coastline with the Mediterranean, and serves as the country's largest and main seaport. The city is subject to typical Mediterranean climate, characterized with heavy rains in the winter season and dry and arid conditions in the remaining months of the year. The average annual rainfall is 860 millimeters (34.1 inches) but the amount of rainfall varies greatly from one year to another. Much of the rain falls after December and on a limited number of days in heavy downpours. However, the influence of the Mediterranean Sea, the topographic features, and the Syrian desert in the north creates a variety of microclimates within the country with contrasting temperatures and rainfall distribution.

The aim of this study was to obtain information about the occurrence of 16 PAHs in precipitation collected in Beirut to understand one of the most pressing public health issues facing urban areas in Lebanon. Our objectives were: (1) obtain information about the occurrence of PAHs in precipitation and assess their concentrations in the dissolved phase, (2) examine monthly variation of PAH concentrations and (3) evaluate possible sources.

6.2. Materials and methods

6.2.1. Chemicals, materials and small apparatus

All solvents were purchased in chromatographic grade from Sigma-Aldrich (GmbH, Taufkirchen, Germany). The 16 PAHs were purchased from Restek as mix Standard Reference Solution of 1000 µg/mL in dichloromethane (Cat. 31458, Restek, Bellefonte, PA): naphthalene (Nap), acenaphthylene (AcPy), acenaphthene (AcP), fluorene (Flu), phenanthrene (Phe), anthracene (Ant), fluoranthene (FL), pyrene (Pyr), benzo[a]anthracene (B[a]A), chrysene (Chr), benzo[b]fluoranthene (B[b]FL), benzo[k]fluoranthene (B[k]FL),

benzo[a]pyrene (B[a]P), indeno[1,2,3-cd]pyrene (InP), dibenzo[a,h]anthracene (DBA), and benzo-[ghi]perylene (B[ghi]P). Intermediary solutions (containing 25 µg/mL of each analyte) were prepared by diluting the standard reference solution of PAHs with an appropriate solvent.

The pure solid surrogate standards, naphthalene-*d*₈ (Nap-*d*₈), phenanthrene-*d*₁₀ (Phe-*d*₁₀), anthracene-*d*₁₀ (Ant-*d*₁₀), fluoranthene-*d*₁₀ (FL-*d*₁₀), chrysene-*d*₁₂ (Chr-*d*₁₂), and perylene-*d*₁₂ (Per-*d*₁₂), were purchased from Supelco (Bellefonte, PA) with an additional deuterated PAH, pyrene-*d*₁₀ (Pyr-*d*₁₀), used as internal standard at the end of the protocol. Separate 1000 µg/mL stock solutions of each deuterated standard were prepared gravimetrically in dichloromethane. Intermediary 25 µg/mL deuterated mix solutions of surrogate and internal standards were prepared in appropriate solvents. The different working solutions were prepared in acetonitrile at different concentrations. All standard solutions were stored in amber vials at -20 °C.

An analytical balance from Sartorius (0.01 mg; Goettingen, Germany) was used. A Boeco centrifuge (model U-320R, Boeco, Germany) was employed in different steps of the preparation method. A sample concentrator from Techne (Staffordshire, U.K.) was used for sample concentration under nitrogen. Other small apparatus such as an ultrasonic bath and a vortex shaker were used.

6.2.2. Sample collection

In order to survey the levels of PAHs in rainwater, rain samples were collected at one monitoring site on the rooftop of the Lebanese Atomic Energy Commission Building in South Beirut (Figure 6.1). The site is about 20 m above the ground, and there were no higher buildings around the sampling site. Two glass beakers (5 liters) were used to collect the rain sample and the amount of rainfall was provided by the meteorological station situated at Beirut International Airport, close to the sampling site.

The rainwater was accumulated when the interval between the precipitation event and the next one was less than three days, and the volume of rainwater sample from each sampling event was not less than 500 mL. We collected 9 rainwater samples ranged from 500 to 3000 mL from December 2010 to March 2011.

After sampling, the rainwater samples were filtered through a glass fiber filter (GF/F, 47 mm diameter, 0.7 μm pore size; Waterman International Ltd., Maidstone, England) which was pre-combusted at 450°C for 5 h before use, and the filtered samples were stored in darkness at 4°C to be analyzed in 24 h maximum. The surrogate deuterated PAHs were added at this stage to the rainwater sample at a fixed concentration of 50 ng/L. For quality control and quality assurance (QC/QA), the deionized and contaminant-free water was sampled and analyzed as a blank with every rainwater sample following the same method.

6.2.3. Solid-phase extraction

The similar procedure described in our previous paper (Kouzayha et al., 2011) was used for extraction and concentration of PAHs in rainwater samples. In brief, water samples (500-1000 mL) were concentrated on SPE Chromabond C₁₈ cartridge (from Machery-Nagel, Germany), then the cartridge was dried immediately using the centrifugation technique (2500 rpm for 2 min) followed by a vacuum drying for 10 min. The centrifugation was also used for sample elution, where 1 mL of dichloromethane was added to the cartridge with the valve closed, then the cartridge was centrifuged (2300 rpm for 1 min), and finally the elute was recuperated. The extracts were concentrated using a gentle N₂ flow at 40°C, and the solvent was exchanged to isooctane and reduced to approximately 200 μL . The internal recovery standards were added to the samples (concentration of 50 ng/L) directly before analysis.

6.2.4. GC-MS analysis and quantification

The analysis of PAHs was carried out on an Agilent 6890N gas chromatograph coupled to an Agilent 5975 mass spectrometer system (GC-MS) with an Agilent 7683B autosampler (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). Chromatographic separation was performed on a HP-5MS fused silica capillary column (30 m, 0.25 mm, 0.25 μm , Agilent J&W GC columns). Helium (purity > 99.999%) was used as the carrier gas at a flow rate of 1.5 mL/min. The split/splitless injector temperature was set at 280 °C. The GC oven was initially held at 40 °C for 2 min and then programmed to 200 °C at a rate of 15 °C/min. After being kept at 200 °C for 2 min, the oven was programmed to 280 °C at a rate of 5 °C/min. Finally, it was held for 5 min to achieve a running time of 35 min. The mass spectrometer was operated in the electron ionization mode (EI, 70 eV). Transfer line, ion source, and quadrupole analyzer temperatures were maintained at 280, 230, and 150 °C, respectively, and

a solvent delay of 10 min was selected. The injection volume was 1 μL , and all injections were in splitless mode. Selective ion monitoring (SIM) mode was adopted for quantitative determination of the analytes using two or three ions for each compound. The first ion, which in all cases corresponded to the molecular mass, was used as quantifier, and the second and the third ions were used as qualifiers. The detection limits of the method ranged from 0.01 to 1.0 ng/L for PAHs. The average recoveries of surrogate standards are listed in Table 6.1. The final concentrations were corrected with the appropriate recovery efficiencies.

Table 6.1. Average recoveries of surrogate standards in rainwater samples.

Surrogate	Average (%)	SD (%)
Nap- d_8	65.6%	14.7%
Phe- d_{10}	93.8%	6.6%
Ant- d_{10}	92.2%	3.9%
FL- d_{10}	92.9%	2.2%
Chr- d_{12}	87.5%	4.0%
B[e]P- d_{12}	81.2%	8.1%
B[a]P- d_{12}	85.5%	8.8%
B[ghi]P- d_{12}	60.6%	9.5%

In order to eliminate the variations in concentrations inherent to the fluctuation of the precipitation level between sampling events, the normalized PAHs concentrations (C) of the each sampling events were calculated with the following equation:

$$\bar{C} = \frac{\sum_{i=1}^n C_i R_i}{\sum_{i=1}^n R_i}$$

where, R_i (mm) was the rainfall amount, C_i (ng/L) was the measured concentration. The monthly and entirely normalized concentrations of PAHs were calculated according to the data present in a month and over the entire monitoring period, respectively.

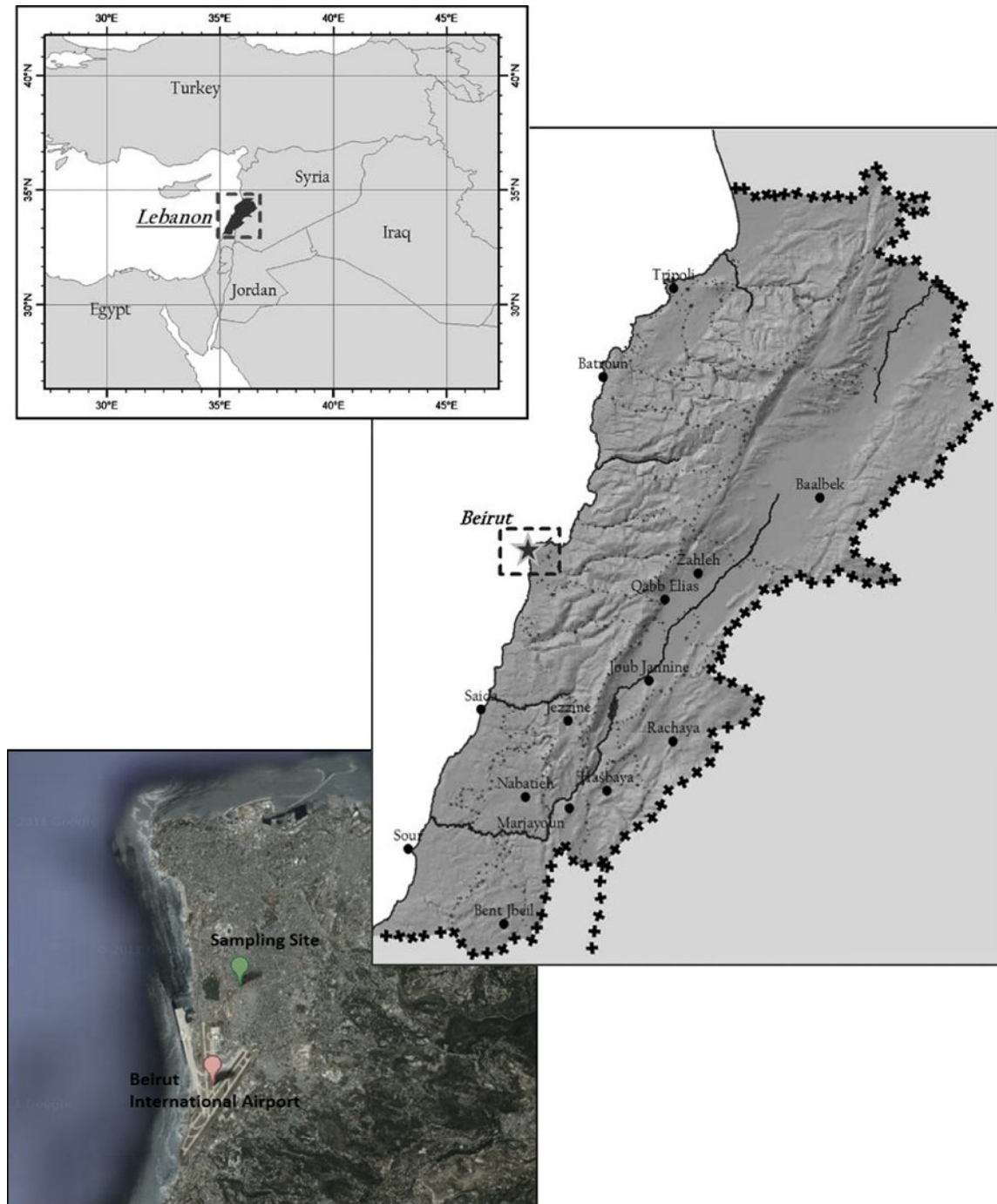


Figure 6.1. View of the Middle East region, Lebanon, and the position of AUB and the sampling site in Beirut.

6.3. Results and discussion

6.3.1. PAHs Concentrations in Rainwater

The results of the 16 PAH compounds analyzed in rainwater in Beirut are summarized in Table 6.2. Naphthalene was analyzed and reported in all samples but was not considered in the sum of PAHs due to the potential contamination problems in the laboratory.

The normalized average of the total amount of PAHs in precipitation varied from 180.7 to 644.5 ng/L during monitoring period with an average of 354 ng/L. The concentrations of PAHs ranked in the following order: 3-ring > 4-ring > 5-ring > 6-ring. The predominant 3-ring compounds accounted for 58.4% of the total PAHs, ranging from 70 to 373.4 ng/L, including AcPy, AcP, Flu, Phe and Ant. The following was 4-ring PAHs (34.3%), ranging from 73.4 to 157.8 ng/L, including FL, Pyr, B[a]A and Chr. The 5-ring (B[b]FL, B[k]FL and B[a]P) and the most hydrophobic 6-ring PAHs (InP, DBA, and B[ghi]P) accounted for 4.4 % and 2.8 % respectively, as shown in Figure 6.2.

Table 6.2. Statistical summary of PAHs normalized concentration (ng/L) in precipitation.

Compound	Minimum concentration (ng/L)	Maximum concentration (ng/L)	Mean concentration (ng/L)
Nap	26.0	454.4	212.3
AcPy	9.2	27.9	20.2
AcP	0.3	5.4	4.0
Flu	10.8	44.5	21.9
Phe	36.0	407.3	324.0
Ant	2.3	24.4	3.3
FL	20.0	115.7	36.6
Pyr	20.9	122.5	40.3
B[a]A	2.9	13.1	6.0
Chr	7.7	30.9	12.3
B[b]FL+ B[k]FL	1.9	19.5	7.9
B[a]P	0.7	13.8	2.0
InP	N.D.	9.7	2.7
DBA	N.D.	9.2	0.9
B[ghi]P	N.D.	6.2	1.2
15 PAHs	180.7	644.5	354.0

N.D. = not detected.

The relative contribution of each individual PAH to the total PAH concentration has been determined and is presented in Figure 6.3. The predominant PAHs were the most volatile PAHs, Phe, Pyr and FL, which accounted for 45%, 15.2% and 12.5% of the total PAHs, respectively, while the other individual PAHs were less than 5%. This is in accordance with other studies where the most volatile compounds were also the most frequently detected PAHs (Ollivon et al., 2002; Motelay-Massei et al., 2003; Pokolwsha et al., 2000; Blanchard et al., 2007; Olivella et al., 2006). The dominance of these PAHs can be explained firstly by their high rate of emission in ambient air, and secondly by their higher solubility in water and their weak reactivity in the atmosphere. The carcinogenic PAHs, B[a]A, B[b]FL, B[k]FL, B[a]P, InP and DBA according to the International Agency for Research on Cancer (IARC), represent on average, 8% only of the total concentration.

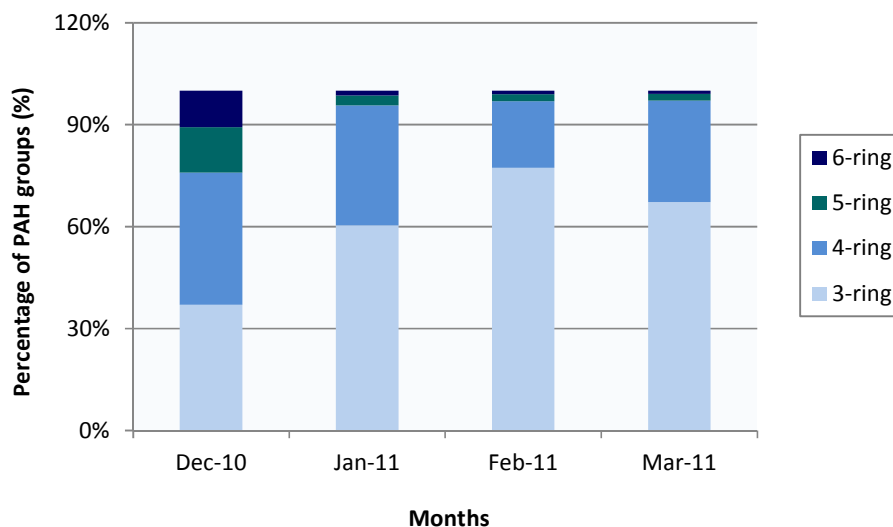


Figure 6.2. Relative contribution of PAH groups to the total sum of PAHs.

Although it is difficult to compare values obtained with studies in other regions, especially since the analyzed PAHs may differ and the deposition analyzed concerns PAHs in bulk deposition (wet and dry) instead of wet deposition only, results obtained in Beirut are of the same magnitude as those proposed in the literature. Concentrations for 12 PAHs in bulk depositions in Hungary were between 164 and 324 ng/L (Kiss et al., 1997), and between 130 and 210 ng/L in Switzerland (Leuenberger et al., 1988). Recently, Delhomme et al. (2011) showed relatively higher concentrations in the city of Strasbourg: mean values for 17 PAHs in the dissolved phase were between 1532 and 5519 ng/L.

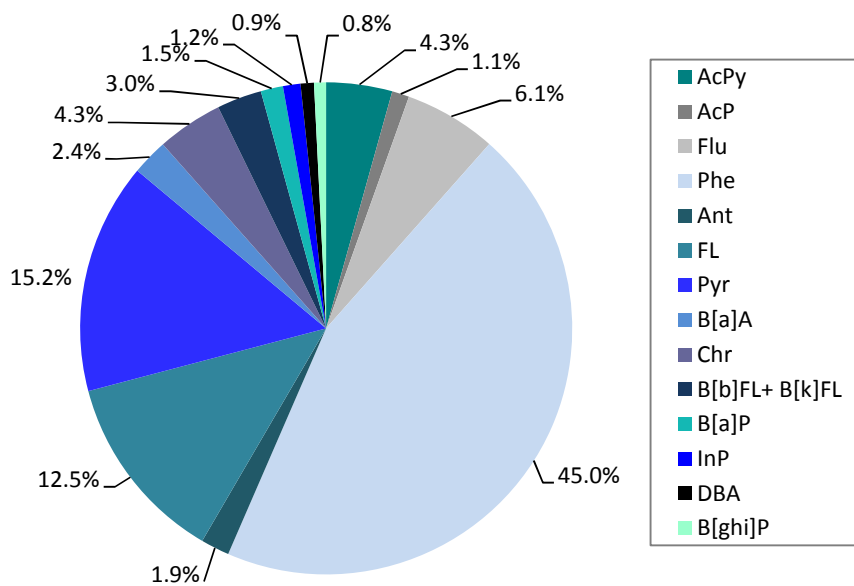


Figure 6.3. Mean contribution of each individual PAH to the total PAHs in rainwater analyzed in Beirut between December 2010 and March 2011.

6.3.2. Temporal variation and influencing factors

The temporal variation is apparent from monthly total concentrations in precipitation in Beirut. As can be seen in Figure 6.4, the highest concentrations of most PAHs were measured in the colder months, January and February, and lower concentrations were observed in December and March with accordance to higher ambient air temperature and photo-degradation possibilities. The concentrations of Phe, Pyr and FL remain higher than others during the sampling period from December 2010 to March 2011. But the pattern was different for high molecular weight PAHs (5 and 6-ring) in dissolved phase and their concentrations were higher in rainwater collected in December, first month of the rain season (Figure 6.5). This could be explained by the fact that the heavy PAHs were accumulated in atmosphere during long-term dryness in summer because of high abundance of aerosol in this season and then they were washed out with the first rain in December. The concentration of the heavy PAHs decreased in the following months due to the continuous washing by rainfall that efficiently lowered their presence in the air. The statistical evaluation of results showed that there is a strong correlation between heavy PAHs concentrations in the rainwater ($R^2 > 0.91$).

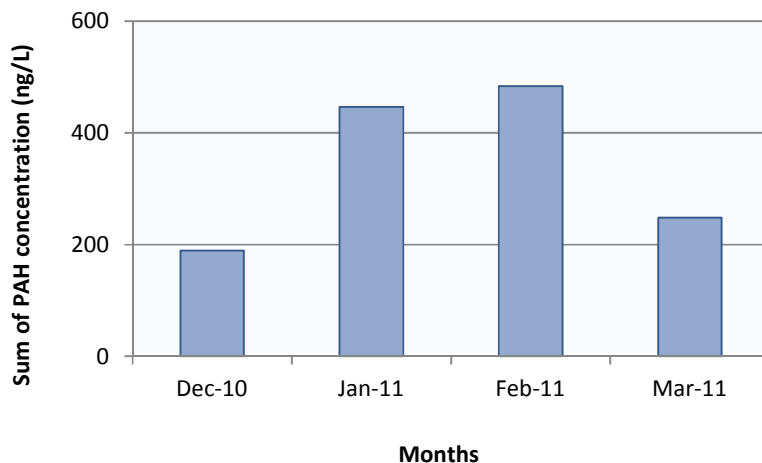


Figure 6.4. Monthly variation of the sum of PAH concentrations in rainwater in Beirut between December 2010 and March 2011.

The variation of concentrations in precipitation must be affected by the seasonal variation, the meteorological and geographical conditions. In Europe and North America, wood/coal combustion for space heating in winter was one of the major seasonally dependent sources for PAHs (Wild and Jones, 1995; Simcik et al., 1999). However, in the case of Lebanon, different sources are considered as the most important sources for PAHs such as fuel combustion in power plants, vehicle exhaust and emissions from private diesel power generators. Statistic data from government showed that about 77% of energy in Lebanon was generated in power plants from petroleum products, mainly residual fuel oil and gas/diesel (www.almee.org.lb). Therefore, the fuel combustion has been acting as a relatively stable contribution for PAHs in Lebanon atmosphere, rather than a seasonally dependent source. Modes of transport were identified also as the biggest contributors to air pollution intensified by all-day traffic. In fact, Lebanon has more cars per capita than Turkey and almost the same number as Japan, although both countries are significantly bigger and more populous. The emissions from vehicles from private diesel power generators can be considered two other major sources for PAHs, especially in winter, when more PAHs are produced by enhancing vehicle exhaust under cold weather. It was obvious that the temperature in January and February (10-16°C) was lower than other months in the rainy season (12-18°C for December and March) in the capital Beirut.

Wind speed might also play a pivotal role in the fluctuation of the PAHs in precipitation. The wind is usually very variable between different days during winter season, and this will help the contents in atmosphere diffuse easily in rainwater.

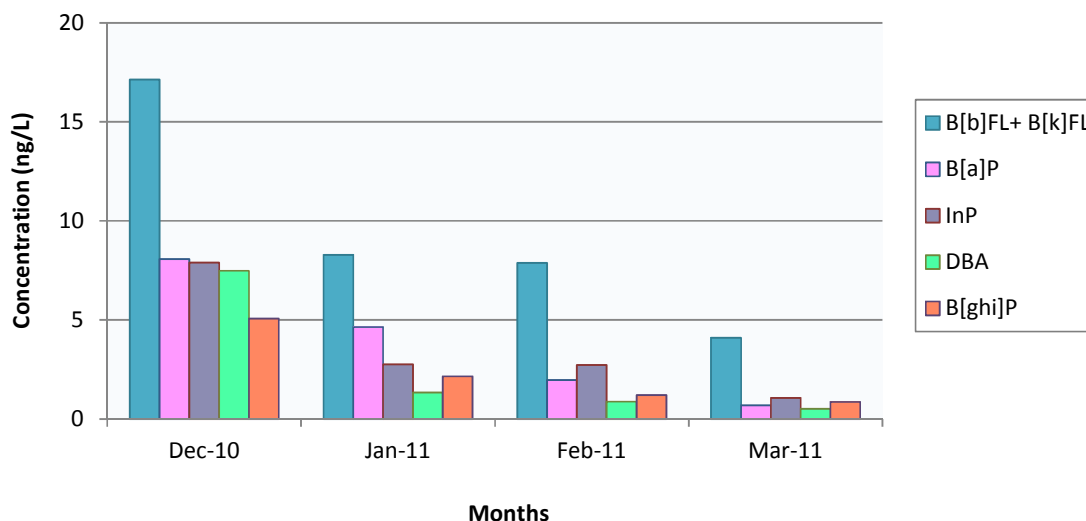


Figure 6.5. Monthly variation of the high molecular weight PAH concentrations in rainwater in Beirut between December 2010 and March 2011.

6.3.3. Relationship between the concentration and the rainfall

There was no significant correlation between the concentration of PAHs in dissolved phase and the rainfall during the monitoring period, which implied that the dissolved PAHs in precipitation were not markedly diluted by the increasing rainfall (Figure 6.5). Many previous researches have demonstrated that PAHs were mainly from the human being activities, especially the contribution of the combustion of fuel (Fernandes et al., 1997; Budzinski et al., 1997; Simcik et al., 1999; Yunker et al., 2002), producing much vapor PAHs into the atmospheric environment. The vapor PAHs could diffuse faster than in particulate phase, leading to quick replenishment. Furthermore, vapor PAHs are also not easily scavenged from air by rainwater due to their hydrophobic property. Therefore, the concentration of the dissolved PAH in precipitation would not decrease rapidly with the rainfall as seen in figure 6.6.

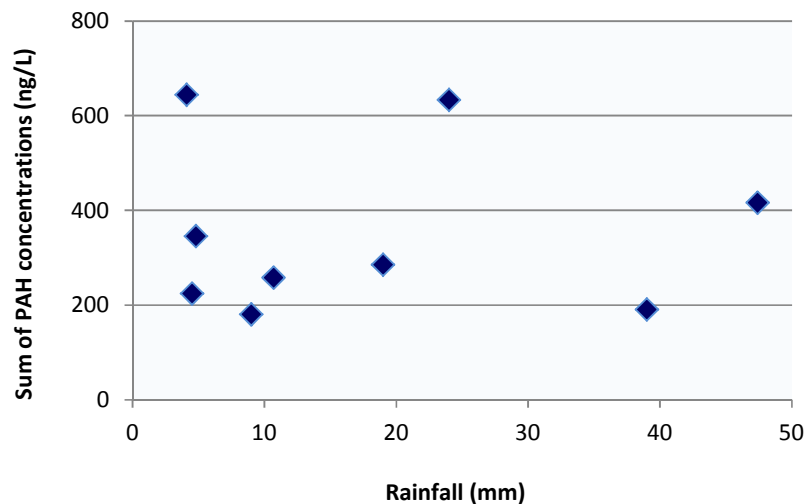


Figure 6.6. Variation of PAH concentrations (ng/L) with the amount of Rainfall (mm) for the sampling period.

6.3.4. Sources of PAHs

To date, there are many methods to identify the sources of the PAHs, such as the receptor modeling using both chemical mass balance (CMB) model and principal component analysis (PCA) in environment (Harrison et al., 1996; Simcik et al., 1999; Larsen and Baker, 2003). In this study, the distribution patterns of the isomeric PAHs were applied to identify the source of PAHs in precipitation, because it was simple and applied widely in various environments (Gogou et al., 1996; Budzinski et al., 1997; Yunker et al., 2002). It was reported that the concentration ratios of FL to the combined FL + Pyr (FL/202), B[a]A to the combined B[a]A + Chr (B[a]A/228), and InP to the combined InP + B[ghi]P (InP/276) were distinctly different for PAHs with petrogenic vs. pyrolytic and combustion vs. petroleum origins (Budzinski et al., 1997; Yunker et al., 2002). For example, an FL/202 ratio < 0.4 is often considered as an indicator of petroleum source, whereas an FL/202 ratio > 0.5 indicates combustion is a dominant source of PAHs (Budzinski et al., 1997). A varied FL/202 ratio between 0.4 and 0.5 is more characteristic of liquid fossil fuel (vehicle and crude oil) combustion. For B[a]A/228 ratio, < 0.2 usually implies the petroleum source, from 0.2 to 0.35 indicates either petroleum or combustion, and combustion source is most likely if the ratio > 0.35 (Yunker et al., 2002). For InP/276, the petroleum boundary ratio is closer to 0.2, whereas ratio between 0.2 and 0.5 is more characteristic of fossil fuel combustion, and ratios

> 0.5 are characteristic of grass, wood or coal combustion (Yunker et al., 2002). Alternatively, other PAH isomer ratios have also been used to assign PAHs sources (Simcik et al., 1999), such as Phe/Ant and FL/Pyr and others. They are approximately equivalent to those described above.

Table 6.3. Monthly ratios of isomeric PAH pairs.

Ratio	Dec. 2010	Jan. 2011	Feb. 2011	Mar. 2011
FL/202	0.48	0.44	0.48	0.52
B[a]A /228	0.50	0.31	0.33	0.27
InP/276	0.61	0.56	0.69	0.55

FL/202: FL/(FL + Pyr); B[a]A /228: B[a]A / (B[a]A + Chr); InP/276: InP/(InP+ B[ghi]P).

The data of the distribution patterns of the isomeric PAHs were compiled in Table 6.3. The FL/202 > 0.4, B[a]A /228 > 0.2 and InP/276 > 0.5 were obvious in precipitation for all monitoring months indicating a pyrolytic major source of PAHs in precipitation. But it should be noticed that FL/202 ratios varied between 0.4 and 0.5 and those for B[a]A /228 varied between 0.2 and 0.35 for almost all the rainwater samples. These values indicate that the combustion of fossil fuels, mainly from vehicle exhaust and power generators, has an important contribution on PAHs release in atmosphere and consequently in rainwater.

6.4. Conclusion

Rainwater samples collected between December 2010 and March 2011 in Beirut, capital of Lebanon, have been analyzed for determination of the 16 PAHs identified as priority pollutants by the US-EPA. Analysis shows that the PAHs were more abundant in the rainwater collected in colder months, January and February 2011. The 3- and 4-ring PAHs were the most abundant compounds among other PAHs for all rainwater samples collected during the monitoring period. In contrast, the concentration of the heavy 5- and 6-ring PAHs were higher in December and decreased in the following months. No significant correlation was observed between the rainfall amount and the PAHs concentration. The evaluation of

some PAH ratios shows that the possible source of the PAHs contamination in the city of Beirut was mainly pyrolytic input derived from the combustion of fossil fuels.

References

- Behymer T. D., Hites R. A., **1985**. Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on simulated atmospheric particulates. *Environmental Science & Technology* 19:1004-1006.
- Blanchard M., Teil M.-J., Guigon E., Larcher-Tiphagne K., Ollivon D., Garban B., Chevreuil M., **2007**. Persistent toxic substance inputs to the river Seine basin (France) via atmospheric deposition and urban sludge application. *Science of the Total Environment* 375:232-243.
- Budzinski H., Jones I., Bellocq J., Pierard C, Garrigues P, **1997**. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry* 58: 85–97.
- Carrera G., Fernandez P., Vilanova R. M., Grimalt J. O., **2001**. Persistent organic pollutants in snow from European high mountain areas. *Atmospheric Environment* 35:245–254.
- Cecinato A., Ciccioli P., Brancaleoni E., Brachetti A., Vasconcellos P. C., **1997**. PAH as candidate markers for biomass combustion in the Amazonian forest area. *Annali di Chimica* 87:555–569.
- Dachs J., Bayona J.M., Raoux C., Albaihes J., **1997**. Spatial, Vertical Distribution and Budget of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Western Mediterranean Seawater. *Environmental Science and Technology* 31:682-688.
- Delhomme O., Rieb E., Millet M., 2011. Polycyclic aromatic hydrocarbons analyzed in rainwater collected on two sites in east of France (Strasbourg and Erstein). *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* 28(4):472-485.
- Fernandes M. B., Sicre M. A., Boireau A., Tronszynski J., **1997**. Polyaromatic hydrocarbon (PAH) distributions in the Seine River and its estuary. *Marine Pollution Bulletin* 34:857– 867.
- Gogou A., Stratigakis N., Kanakidou M., Stephanou E. G., **1996**. Organic aerosols in Eastern Mediterranean: components source reconciliation by using molecular markers and atmospheric back trajectories. *Organic Geochemistry* 25:79–96.
- Harrison R. M., Smith D. J. T., Luhana L., **1996**. Source apportionment of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons collected from an urban location in Birmingham, UK. *Environmental Science and Technology* 30:825-832

- Kiss G., Gelencser A., Krivacsy Z., Hlavay J., **1997**. Occurrence and determination of organic pollutants in aerosol, precipitation, and sediment samples collected at Lake Balaton. *Journal of Chromatography A* 774 (1–2):349–361.
- Kouzayha A., Al Iskandarani M., Mokh S., Rabaa A. R., Budzinski H., Jaber F., **2011**. Optimization of a Solid-Phase Extraction Method Using Centrifugation for the Determination of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water. *J. Agric. Food Chem.* 59:7592–7600.
- Larsen R. K., Baker J. E., **2003**. Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmosphere: a comparison of three methods. *Environmental Science and Technology* 37:1873-1881.
- Leuenberger C., Czuczwa J., Heyerdahl E., Giger W., **1988**. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in urban rain, snow and fog. *Atmospheric Environment* 22 (4):695-705.
- Linden O. and Rust M., **2008**. The Oil Spill in Lebanon 2006: a study of the distribution of petroleum hydrocarbons and PAHs in the coastal ecosystem, World Maritime University. International Oil Spill Conference.
- Manoli E., Samara C., Konstantinou I., Albanis T., **2000**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the bulk precipitation and surface waters of Northern Greece. *Chemosphere* 41:1845–1855.
- Masclat P., Hoyau V., Jaffrezo J. L., Cachier H., **2000**. Polycyclic aromatic hydrocarbon deposition on the ice sheet of Greenland. Part I: superficial snow. *Atmospheric Environment* 34:3195-3207.
- Motelay-Massei A., Ollivion D., Garban B., Chevreuril B., **2003**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in bulk deposition at a suburban site: Assessment by principal component analysis of the influence of meteorological parameters. *Atmospheric Environment* 37:3135-3146.
- Moussa A. G., El-Fadel M., Saliba N. A., **2006**. Seasonal, diurnal and nocturnal behaviors of lower carbonyl compounds in the urban environment of Beirut, Lebanon. *Atmospheric Environment* 40:2459–2468.
- Olivella M. A., **2006**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater and surface water of lake Maggiore, a subalpine lake in northern Italy. *Chemosphere* 63:116-131.
- Ollivon D., Blanchoud H., Motelay-Massei A., Garban B., **2002**. Atmospheric deposition of PAHs to an urban site, Paris, France. *Atmospheric Environment* 36:2891-2900.
- Oros D. R. and Simoneit B. R. T., **2001**. Identification and emission factors of molecular tracers in organic aerosols from biomass burning Part 2. Deciduous trees. *Applied Geochemistry* 16:1545-1565.
- Park J.-S., Wade T. L., Sweet S. T., **2002**. Atmospheric deposition of PAHs, PCBs, and organochlorine pesticides to Corpus Christi Bay, Texas. *Atmospheric Environment* 36:1707-1720.

- Pokolwsha Z., Kot A., Wiergowski M., Wolska L., Wolowska K., Namienik J., **2000**. Organic pollutants in precipitation: determination of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in Gdansk. Poland. *Atmospheric Environment* 34:1233-1245.
- Ribes S., Vand Drooge B., Dachs J., Gustafsson O., Grimalt J., **2003**. Influence of soot carbon on the soil-air partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science & Technology* 37:2675-2680.
- Saliba N. A., Kouyoumdjiana H., Roumie M., **2007**. Effect of local and long-range transport emissions on the elemental composition of PM_{10-2.5} and PM_{2.5} in Beirut. *Atmospheric Environment* 41:6497-6509.
- Sasaki J., Aschmann S. M., Kwok E. S. C., Atkinson R., Arey J., **1997**. Products of the gas-phase OH and NO₃ radical-initiated reactions of naphthalene. *Environmental Science & Technology* 31:3173-3179.
- Shaka H. and Saliba N. A., **2004**. Concentration measurements and chemical composition of PM_{10-2.5} and PM_{2.5} at a coastal site in Beirut, Lebanon. *Atmospheric Environment* 38:523-531.
- Simcik M. F., Eisenreich S. J., Liroy P. J., **1999**. Source apportionment and source/sink relationships of PAHs in the coastal atmosphere of Chicago and Lake Michigan. *Atmospheric Environment* 33:5071-5079.
- Yunker M. B., Macdonald R.W., Vingarzan R., Mitchell R.H., Goyette D., Sylvestre S., **2002**. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry* 33:489- 515.
- Wild S. R., Jones K. C., **1995**. Polynuclear aromatic hydrocarbons in the United Kingdom environment: a preliminary source inventory and budget. *Environmental Pollution* 88:91-108.

www.almee.org.lb

7. Occurrence and determination of pesticide residues in the Lebanese aquatic systems

Abir Kouzayha¹, Hélène Budzinski³ and Farouk Jaber^{1&2*}

¹ National Council for Scientific Research CNRS - Lebanese Atomic Energy Commission LAEC - Analysis of Pesticides and Organic Pollutants Laboratory LAPPO - Beirut, Lebanon.

² Lebanese University - Faculty of Sciences I - Laboratory of Analysis of Organic Compounds (509) - Hadath, Beirut, Lebanon.

³ Université Bordeaux I, CNRS, ISM-LPTC-UMR 5255 (Laboratory of Physico- and Toxic-Chemistry), 351 Cours de la Lib  ration, 33405 Talence, France.

(Article prepared for submission)

Abstract

In Lebanon, water pollution is one of the most critical environmental problems. Pesticides occupy a unique position among organic pollutants in water, since they are deliberately used to control pests in agriculture and public health. In this study, a total of 67 pesticides most commonly used in agriculture and indoors were determined in different water systems: rainwater, drinking water, ground water and surface water. Chlorpropham and fenpropathrin were detected in high concentrations (30-200 ng.L⁻¹) in two of the biggest surface water systems: the Qaraoun Lake and the Litani River. Beside, few pesticides like DDE, DDD, dieldrin, hexachlorobenzene, and diazinon were detected at low levels in most of the groundwater and drinking water samples indicating a possible chronic contamination of our drinking water systems.

Keywords: pesticide residues; rainwater; drinking water; surface water; groundwater; Lebanon.

7.1. Introduction

Water, the substance so vital to humans and their well-being, the source and basis of life on earth, can become a serious hazard to our health, as well as to the life of the flora and fauna. The intensive industrialization of the world results in an increased input of toxic inorganic and organic compounds to waters, drastically reducing the quality of surface waters and groundwaters which are a source of drinking water for a large part of the world population. Approximately one-third of all organic compounds produced ends up in the environment, including water, and over 700 chemical compounds, including more than 600 organic compounds, have been detected in some water samples (Biziuk et al., 1996).

Pesticides are particularly important pollutants among organic compounds as a result of their common use, persistence in the environment and toxicity. They increase crop yields by reducing the amount of a crop that is lost to pests and control diseases transmitted by insects. Pesticides are necessarily toxic, as they are used in agriculture, industry and households to kill weeds (herbicides), insects (insecticides), fungi (fungicides) and rodents (rodenticides). They are also used as fumigants, attractants or repellents. Chemical structures of pesticides are diversified, including for example organochlorines, organophosphates, carbamates, triazines, phenol derivatives, etc. Pesticides are widely used through the world and the present global annual production of pesticides is estimated at several hundred thousand tons (www.uipp.org).

The majority of pesticides are sown directly to soil or sprayed over crop fields, plantations or forests, and hence released directly to the environment. Pesticides enter water either directly in applications such as mosquito and water plant control, or indirectly from drainage of agricultural lands, permeation through soil, in wastewater from pesticide production, municipal waste (fungicides and bactericides), wastewater from washing devices spraying pesticides or wastewater from plants using pesticides (e.g., textile plants), etc. The amount of pesticides in water depends largely on the intensity of agriculture production in a given region which in turn determines the amount of pesticides applied, on the kind of crops, precipitation, and water flow rate. Atmospheric precipitation is an important route of transport of pesticides, resulting in contamination of water reservoirs remote from agricultural areas. Consequently, a number of papers have been published confirming the presence of pesticides not only in surface waters, but also in seawater, potable water, particularly in water from wells existing in agricultural areas (Chapman et al., 1987),

rainwater (Lode et al., 1995), as well as in water and ice from Polar Regions (Bidleman et al., 1993).

In Lebanon, pesticide organization started in 1982, when the government issued a decree regarding the creation of a scientific committee for the regulation of these products; this committee was to define and study pesticide use in Lebanon and to set conditions for authorization for their importation, sale, preparation, labeling, and use (Lebanese Government, 1982). Despite the existence of a list promoted in 1992 by the Ministry of Agriculture on officially forbidden pesticides, government control and law enforcement are still weak. Even banned products are available by illegal means and used by the untrained public, in addition to the misuse of several agents, regardless of any health and ecological toxicity risks (Trabulsi, 1991; Abou Fakhr et al., 1995). Pesticides most commonly used in Lebanon for agriculture, house and yard treatments include organophosphates, pyrethroids, biperidyl derivatives and dithiocarbamates (Geahchan and Abi Zeid Daou, 1995).

The overuse of pesticides in Lebanon is increasing the risk of environmental contamination, especially regarding water pollution. Within the context of assessing water quality in Lebanon, some studies have addressed the microbiological water quality in spring water (Jurdi, 1992) and others have addressed the Litani River water quality due to its strategic importance (Jurdi et al., 200 and 2001). In addition, some studies have addressed the heavy metals present in river sediments (Korfali and Davies, 2003). Most of these studies have indicated varying levels of chemical and microbiological pollution leading to a gradual deterioration of water quality. Some of the toxic materials found were related to chemical fertilizers as well as pesticides. However, these studies didn't provide any detailed information about the presence and the quantification of different pesticides in surface waters, or any other water system in Lebanon.

The main objective of the present work is to evaluate the impact of the use of pesticides on the quality of different water systems in Lebanon. In this context, 67 pesticides belonging to different chemical classes were determined in wide spectra of water samples including rainwater, groundwater, drinking water and surface water collected from different regions.

7.2. Materials and Methods

7.2.1. Selected pollutants

The investigated pesticides were divided into different groups: organochlorines, organophosphates, carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles, triazoles and other various chemical families (Table 7.1).

7.2.2. Sampling locations

a. Rainwater samples

Rain samples were collected at one monitoring site on the rooftop of the Lebanese Atomic Energy Commission Building in South Beirut, capital of Lebanon (Figure 7.1). The rainwater was accumulated when the interval between the precipitation event and the next one was less than three days, and the volume of rainwater sample from each sampling event was not less than 500 mL. We collected 13 rainwater samples ranged from 500 to 3000 mL from December 2010 to March 2011.

b. Drinking water samples

Drinking water samples were collected from different regions in Lebanon including the major as shown in Figure 7.1. The water samples included water provided by regional Water Authorities and filtered water.

c. Groundwater samples

Groundwater samples were collected in November 2010 from three different geographic points located in north Lebanon (Denniyeh), East Bekaa (Terbol) and in South Lebanon (Abbassieh) (Figure 7.1).

d. Surface water samples

Surface water samples were collected in the period between March and May 2011 from three different locations: Litani and Orontes rivers and Qaraoun Lake (Figure 7.1) in the period between March and May 2011.

The Litani is the largest river in Lebanon and it flows fully inside Lebanese territory. The river rises in the northern Bekaa valley and runs southward to Beaufort Castle, where it turns westward to empty in the Mediterranean Sea. The Litani River is characterized with an average annual flow estimated at 920 million cubic meters, of which Lebanon utilizes inefficiently 125 million cubic meters for irrigation purposes in the Kasmieh irrigation project, and around 236 million cubic meters are diverted through the Markaba tunnel to fuel hydroelectricity, supply Jebel Amel project with drinking water, and augment the wasteful water supply network of Beirut. The upper water of Litani's river is stored in Qaraoun lake, which is used for irrigation in South Bekaa and south Lebanon. The Orontes, also one of the largest rivers in Lebanon, is the only river which flows for about 400 kilometer in a generally northern direction crossing over to Syria.

7.2.3. Sample preparation and solid-phase extraction

All water samples were collected in duplicates in 2.5 L dark glass bottles. Samples were filtered immediately through a Whatman GF/F filter (0.7 μm porosity) previously heated at 450 $^{\circ}\text{C}$, and then stored at 4 $^{\circ}\text{C}$ before analysis. The surrogate standard (PCB 52) was added in water samples before extraction at a fixed concentration of 50 ng/L.

Pesticides were preconcentrated from all water samples using solid phase extraction on Chromabond C₁₈ cartridges (Machery Nagel, Germany) according to the procedure presented in Figure 7.2. The recoveries of organic compounds studied were better than 60% and analytical errors were within 30%.

7.2.4. Gas chromatography-mass spectrometry instrumentation

The analysis of pesticides after their preconcentration was done using gas chromatography (GC) with mass spectrometry detector (MS). The system consisted of:

- An Agilent 6890N GC equipped with an Agilent 7683B autosampler and split/splitless injector with electronic pressure control, capillary column HP-5MS (30 m, 0.25 mm i.d., 0.25 μm , Agilent J&W GC columns). The temperature program was the following: initial temperature 70 $^{\circ}\text{C}$, held for 1 min, 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ramp to 160 $^{\circ}\text{C}$ then held for 5 min, finally by 3 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ to 240 $^{\circ}\text{C}$ and held for 18.5 min. The total analysis time was 60.17 min and the equilibration time 0.5 min. The temperature of the injection port was 250 $^{\circ}\text{C}$ and a 1

μL volume was injected in splitless mode. Helium was used as carrier gas at a constant flow of $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

- An Agilent 5975 MS operating in electron ionization mode with an ionizing energy of 70 eV, ion source temperature $230 \text{ }^\circ\text{C}$, MS quadruple temperature $150 \text{ }^\circ\text{C}$, and solvent delay 5.5 min. Analysis was performed in the selected ion monitoring mode (SIM) based on the use of one target and two or three qualifier ions (Table 7.1).

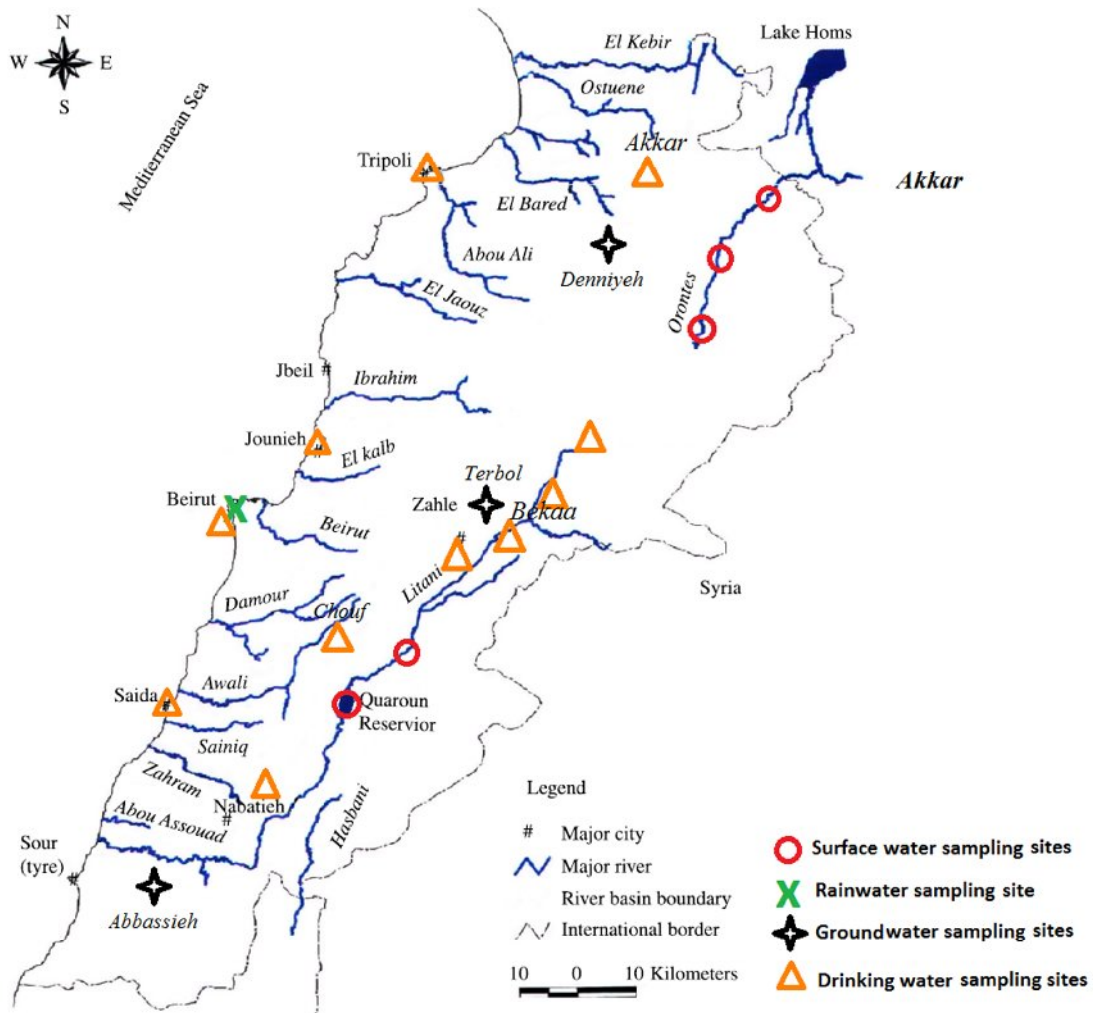


Figure 7.1. Map of Lebanon showing major rivers and sampling sites for surface water, rainwater, groundwater and drinking water. Reproduced with modifications from El-Fadel & Zeinati 2000.

Table 7.1. Parameters for determination of 67 pesticide residues in waters by GC–MS in single ion monitoring (SIM) mode.

Pesticide	Retention Time	Quantitation ion	Qualifying ion 1	Qualifying ion 2
Organochlorines				
Aldrin	26.97	263	265	261
p,p'-DDT	38.69	235	237	165
p,p'-DDE	33.74	246	318	316
p,p'-DDD	36.37	235	237	165
Dieldrin	33.56	263	277	261
α -Endosulfan	31.89	241	239	237
β -Endosulfan	35.52	241	239	237
Endosulfan sulfate	38.27	272	387	237
α -HCH	18.20	181	219	217
β -HCH	19.89	181	219	217
γ -HCH (lindane)	20.24	181	219	217
Delta-HCH	21.80	181	219	217
Heptachlor exo-epoxide	29.63	353	355	351
Hexachlorobezene	18.63	284	286	282
Methoxychlor	42.45	227	228	
Quintozen	20.57	237	249	295
Organophosphates				
Bromophos-ethyl	31.70	359	303	357
Cadusafos	17.83	159	158	270
Chlorpyrifos	27.82	197	199	314
Chlorpyrifos-methyl	24.54	286	289	125
Coumaphos	51.24	362	226	364
Diazinon	21.727	179	304	276
Dichlorovos	8.54	109	185	220
Ethion	36.90	231	153	384
Ethoprophos	16.16	158	200	242
Etrimphos	22.66	292	181	153
Fenitrothion	26.40	125	277	260
Malathion	27.29	173	127	158
Methacriphos	12.69	208	180	240
Methidathion	31.44	145	125	
Parathion	27.86	291	261	235
Parathion-methyl	24.53	236	233	246
Phenthoate	30.73	274	125	246
Phosalone	44.38	182	184	367
Phosphamidon	21.73-24.10	227	127	264
Pirimiphos-methyl	26.68	290	276	305
Tolclofos-methyl	24.81	265	267	250
Triazophos	37.71	161	257	285
Carbamate pesticides				
Chlorpropham	16.66	213	154	171
Propoxur	7.40-15.50	110	152	

Pyrethroid pesticides				
Bifenthrin	42.44	181	165	166
Fenpropathrin	42.76	181	265	208
Lambda-cyhalothrin	45.76-46.68	181	197	199
Pyrimidine pesticides				
Bupirimate	34.88	273	208	316
Cyprodinil	29.39	224	225	226
Pyrimethanil	21.24	198	199	200
Azole pesticides				
Chlorfenapyr	35.66	408	406	326
Fipronil	30.79	367	369	351
Triazole pesticides				
Myclobutanil	34.34	179	245	288
Penconazole	29.94	248	159	250
Propiconazole	38.57-38.96	173	259	261
Tebuconazole	39.55	125	250	252
Other pesticides				
Alachlor	25.09	160	188	146
Boscalid	56.21	140	342	344
Bromopropylate	41.92	341	339	183
Buprofezin	34.51	172	175	305
Fludioxonil	33.76			
Kresoxim-methyl	35.02	206	131	313
Metalaxyl	25.49	206	249	220
Oxadixyl	36.71	163	132	233
Pendimethalin	29.91	252	191	162
Procymidone	31.01	283	285	255
Propyzamide	20.98	173	175	254
Tecnazen	15.30	215	261	259
Tetradifon	43.61	159	229	356
Trifluarin	17.62	306	264	290
Vinclozolin	24.58	212	285	198

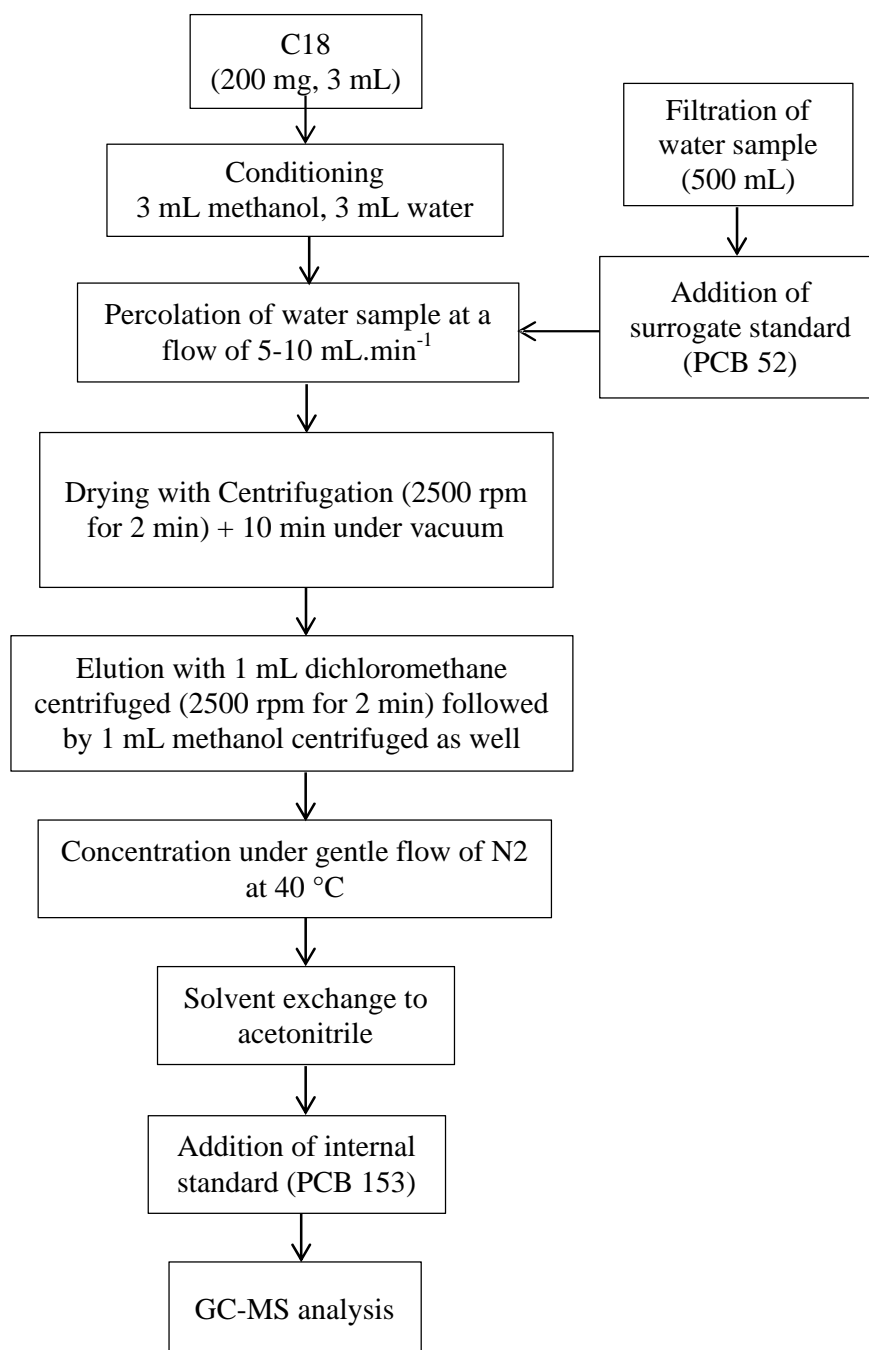


Figure 7.2. Solid-phase extraction method for the analysis of pesticides in water sample.

7.3. Results and discussion

7.3.1. Rainwater

Results of the determination of pesticides in rainwater sampled in Beirut city between December 2010 and March 2011 are shown in Figures 7.3, 7.4, 7.5 and 7.6. Generally, pesticides occurred in the atmospheric precipitation very rarely and if so at low ppb level. During our studies, the most frequently detected pesticide was the diazinon, which was present in most of the analyzed samples and at the highest concentration, but never exceeded the 50 ng.L⁻¹ level. The second pesticide that was detected frequently in 75% of rainwater samples was the hexachlorobezene, but in a very low level < 5 ng.L⁻¹. Few other pesticides were detected occasionally in rainwater samples, such as methoxychlor, chlorpyrifos, dichlorovos, fenpropathrin, cyprodinil, pyrimethanil, bromopropylate, procymidone and tetradifon, but were all at a low level < 10 ng.L⁻¹.

In comparison with other countries, pesticide concentrations in rainwater of Norway, Italy, Germany, France, Poland and Switzerland were higher and reached few µg.L⁻¹ sometimes (Lode et al., 1995; Trevisan et al., 1993; Huskes et al., 1997; Bester et al., 1995; Millet et al., 1997; Chevreuil et al., 1996; Buser, 1990).

Some eventual traces of pesticides which were found could be as a result of atmospheric transport of pollutants over a long distance from their source to the place of the destination. This is because some agricultural areas are situated along the coastline and not far from the city. Long-range transport as a result of volatility and persistence of some pesticides was already observed by several authors. Thus a variety of pesticides was found in precipitation throughout the world, even in Antarctica (Bidleman et al., 1993) or the Arctic environment (Chernyak et al., 1996). Another source of pesticide in the city of Beirut is related to the intensity of insecticides used on a large scale by the municipality. The occurrence of analyzed pesticides in rainfall is rather seasonal but our results are unfortunately too few for further comments on the atmospheric deposition estimation.

7.3.2. Drinking water

The results of pesticide levels in the 18 drinking water samples analyzed in our study are illustrated in Figures 7.7, 7.8, 7.9 and 7.10. The pesticides detected frequently in drinking

water samples were: Diazinon, DDE, DDD, HCB, and tetradifon, with levels up to 15.3 ng.L^{-1} for diazinon and not exceeding 5 ng.L^{-1} for each other individual compound. The sum of the detected pesticides in half of the analyzed water samples was below 10 ng.L^{-1} . The average sum of pesticides for all the samples was 11.3 ng.L^{-1} with a maximum value of 31.8 ng.L^{-1} . In fact, the pesticide levels obtained are lower than the maximum admissible concentrations stated by the European community in drinking water for each individual pesticide (100 ng.L^{-1}) and for the sum of pesticides (500 ng.L^{-1}) (EU, 1998).

7.3.3. Groundwater

For the three ground water samples analyzed in November 2010 (Figures 7.11, 7.12, 7.13 and 7.14), no high pesticide concentration was found. Only few compounds were detected in one or more groundwater samples, such as aldrin, DDD, DDE, hexachlorobenzene and diazinon. This means that the presence of these persistent compounds, mainly used in the past, is not critical nowadays and only few traces are still detected in the groundwater system. On pesticide, metalaxyl was detected in the Terbol groundwater sample at a level of 14.5 ng.L^{-1} . This compound, mainly used as systemic fungicide used to control plant diseases or water-mold fungi. It is used on many food and feed crops, and on non-food, residential and greenhouse crops such as tobacco, ornamental plants, trees, shrubs and vines, and lawns and turf. Metalaxyl, moderately stable under normal environmental conditions (with a half-life of 400 days), is persistent and mobile at the same time. Monitoring data demonstrated his tendency to leach in many soils with a potential to reach groundwater. Metalaxyl has been detected in ground water in five states in the US at levels typically reaching up to $3 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$. Concentrations as high as $236 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ have been found, but are not likely the result of normal field use (US-EPA, 1994).

7.3.4. Surface water

Results obtained for the analyzed surface water samples are illustrated in Figures 7.15, 7.16, 7.17 and 7.18 for comparison of pesticides concentrations in Qaraoun Lake between March and May 2011, and in Figures 7.19, 7.20, 7.21 and 7.22 for the comparison of pesticides levels between Litani river and Qaraoun lake in May 2011.

In Orontes River samples, only diazinon was detected and quantified at a level up to 8.9 ng.L⁻¹. Other pesticides like hexachlorobenzene, methoxychlor, DDE, fenprothrin, bifenthrin, bromopropylate, arocyimidone and tetradifon were detected but a very low level.

In the Litani River and the lake of Qaraoun, pesticides with highest concentration were fenprothrin (220.1 ng.L⁻¹), bifenthrin (33.7 ng.L⁻¹) and chlorpropham (34.6 ng.L⁻¹). Lindane, endosulfanesulfate, chlorpyrifos, diazinon, alachlor, bromopropylate, procymidone, pendimenthalin, and tetradifon were also detected during the period between March and May 2011 with an individual concentration up to 10 ng.L⁻¹. Some of the detected pesticides are included in the EPA and the European priority pollutant lists (EU, 2001; water.epa.gov), and the levels found are not far from the acceptable limits for surface waters or the environmental quality standards adopted by the European commission (EU, 2008).

The analysis of water samples from Qaraoun lake, Litani and Orontes rivers shows that pollution of these water systems is episodic for some pesticides and strongly dependent on agricultural activities (fenprothrin detected in Qaraoun lake in May but not in March 2011). Besides, more analysis should be run before considering the pesticides frequently detected at low level (DDE, DDD, lindane, methoxychlor, diazinon, and bromopropylate) as a chronic pollutant of these surface waters.

7.4. Conclusion

This study reported new results for one of Lebanon's most critical environmental problems, the water pollution. A total of 67 pesticides most commonly used in agriculture and indoors were determined in different water systems: rainwater, drinking water, ground water and surface water. Some compounds like chlorpropham and fenprothrin were detected in high concentrations (30-200 ng.L⁻¹) in two of the biggest surface water systems: the Qaraoun Lake and the Litani River. Beside, few pesticides like DDE, DDD, dieldrin, hexachlorobenzene, and diazinon were detected at low levels in most of the groundwater and drinking water samples indicating a possible chronic contamination of our drinking water systems with these stable and persistent pesticides. Finally, the pesticide occurrence in waters is indeed related to seasonal and agricultural trends, therefore monitoring plans should be conducted in order to better understand the presence and the evolution of the pesticides in our aquatic systems.

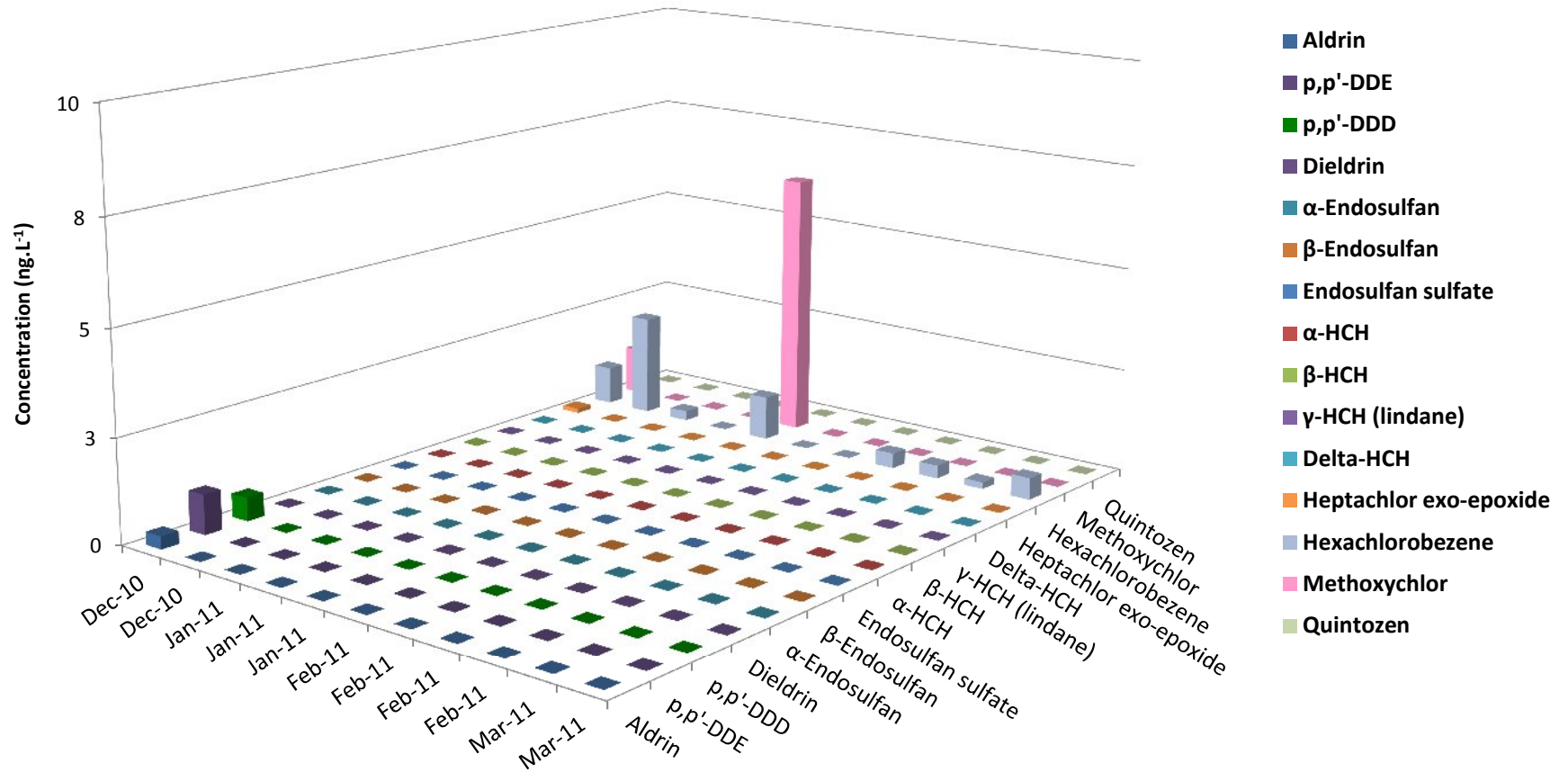


Figure 7.3. Concentration (ng.L^{-1}) of organochlorines in rainwater collected in Beirut between December 2010 and March 2011.

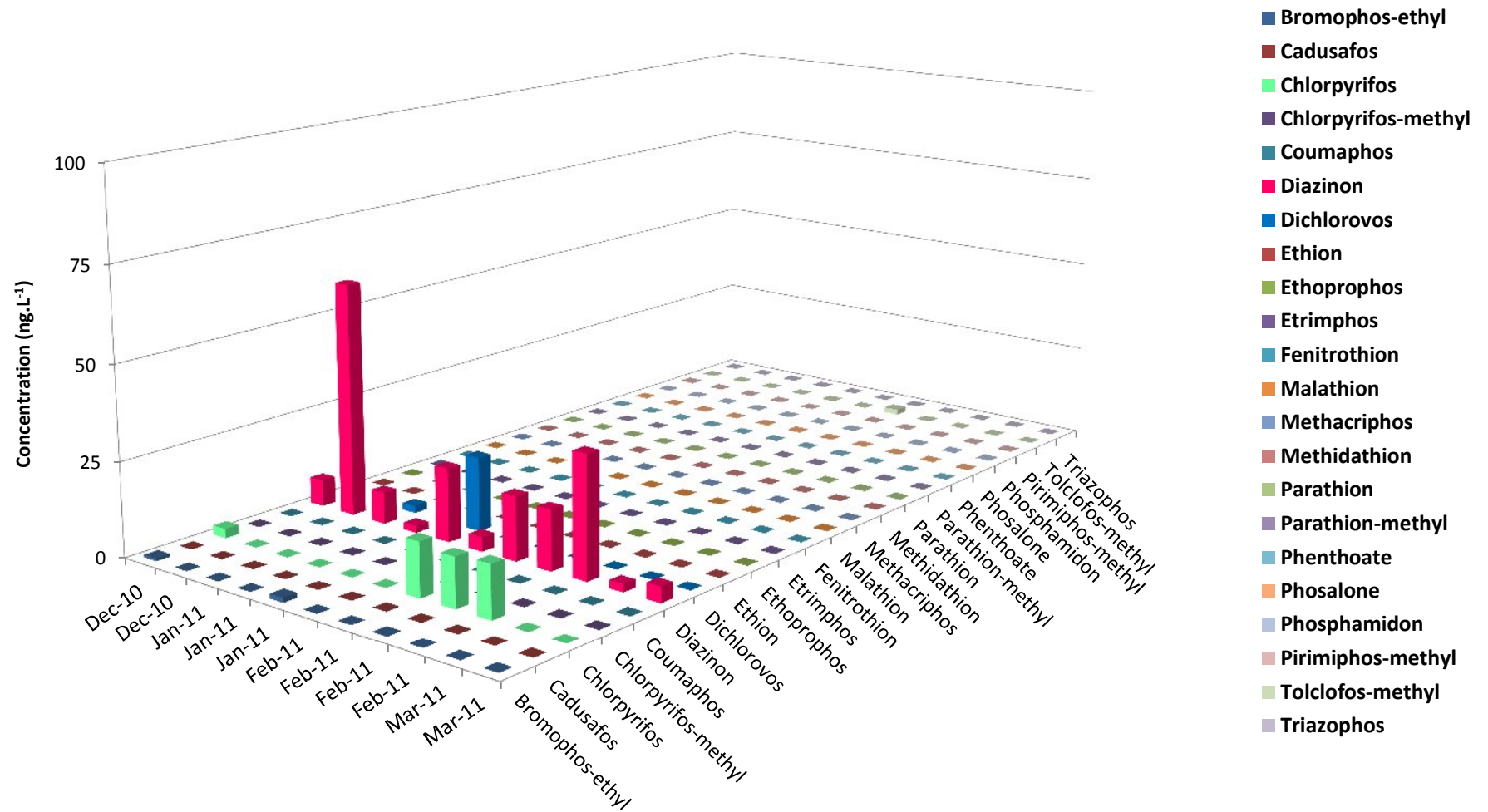


Figure 7.4. Concentration (ng.L⁻¹) of organophosphates in rainwater collected in Beirut between December 2010 and March 2011.

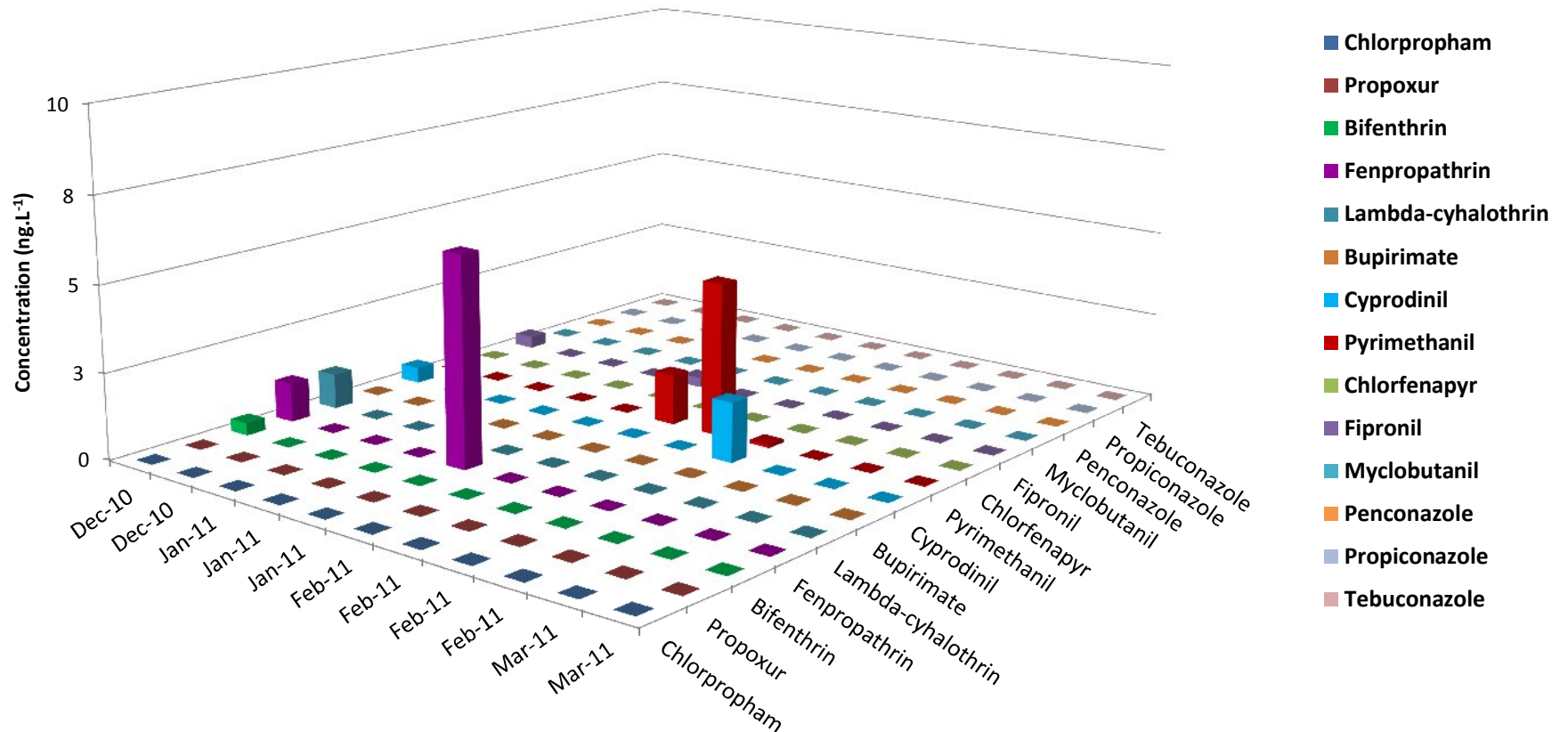


Figure 7.5. Concentration (ng.L^{-1}) of different families of pesticides including carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles and triazoles in rainwater collected in Beirut between December 2010 and March 2011.

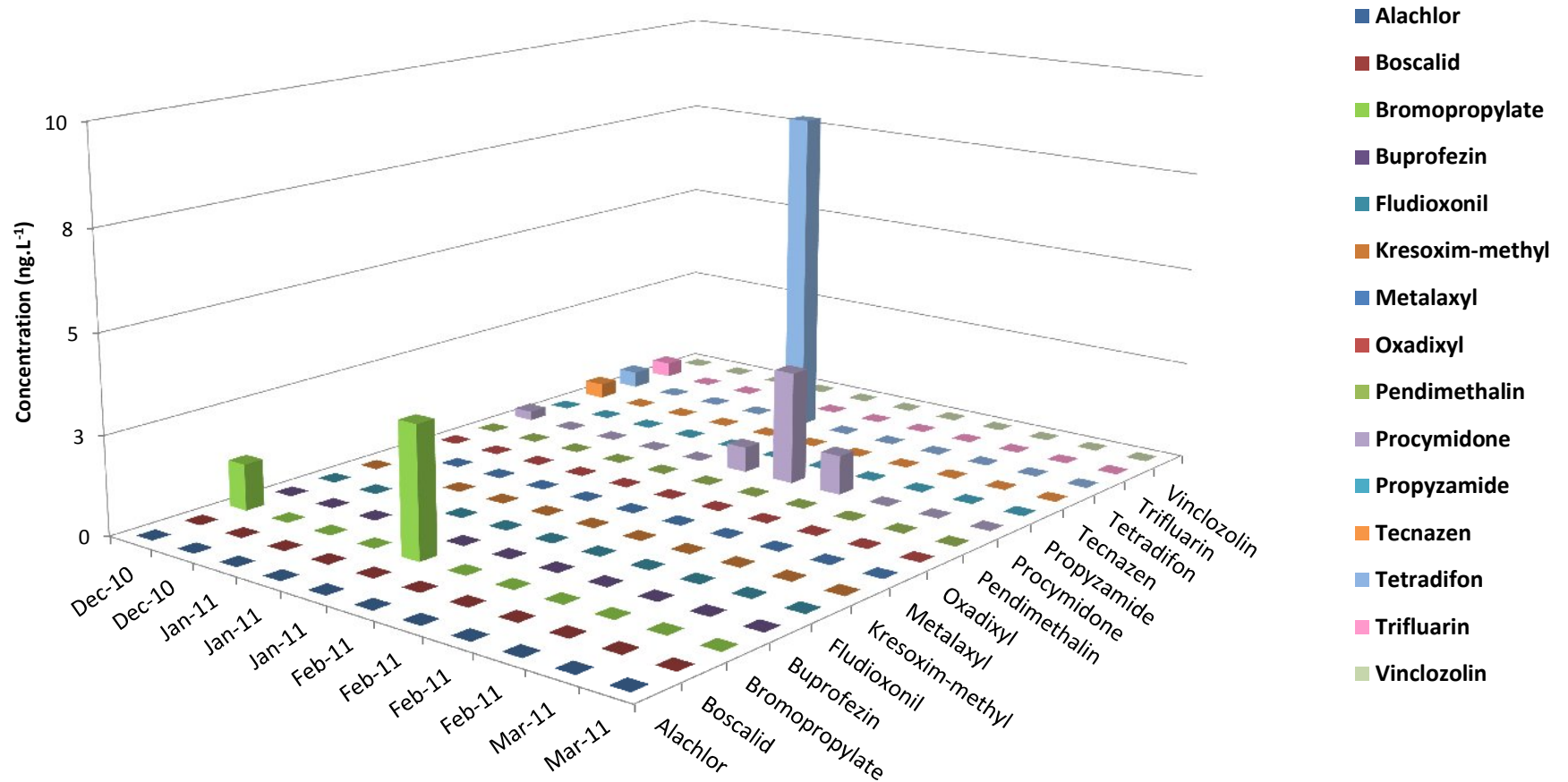


Figure 7.6. Concentration (ng.L^{-1}) of other different pesticides (classified in our study as other pesticides group) in rainwater collected in Beirut between December 2010 and March 2011.

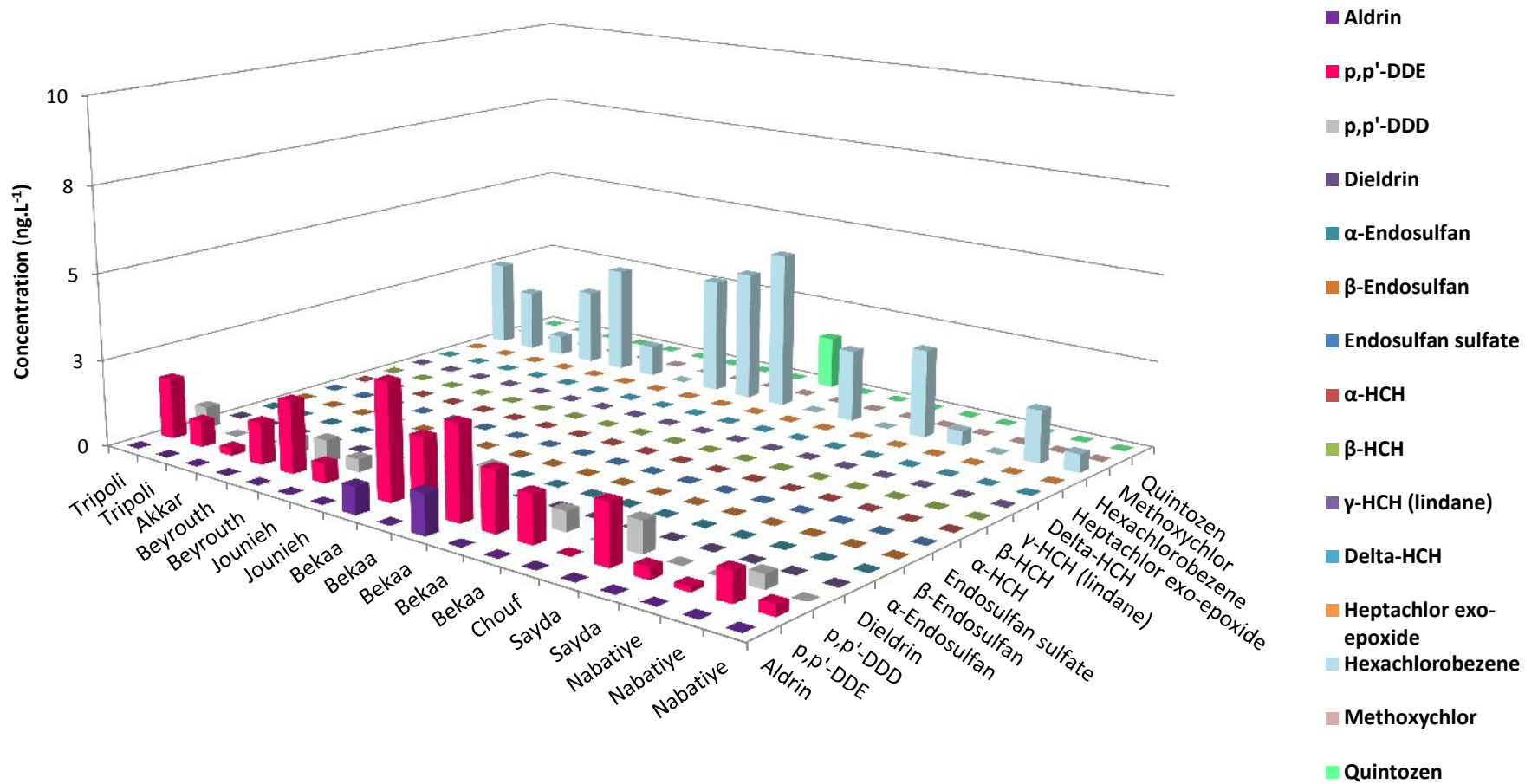


Figure 7.7. Concentration (ng.L⁻¹) of organochlorines in drinking water samples collected from different regions in Lebanon in the winter season 2011.

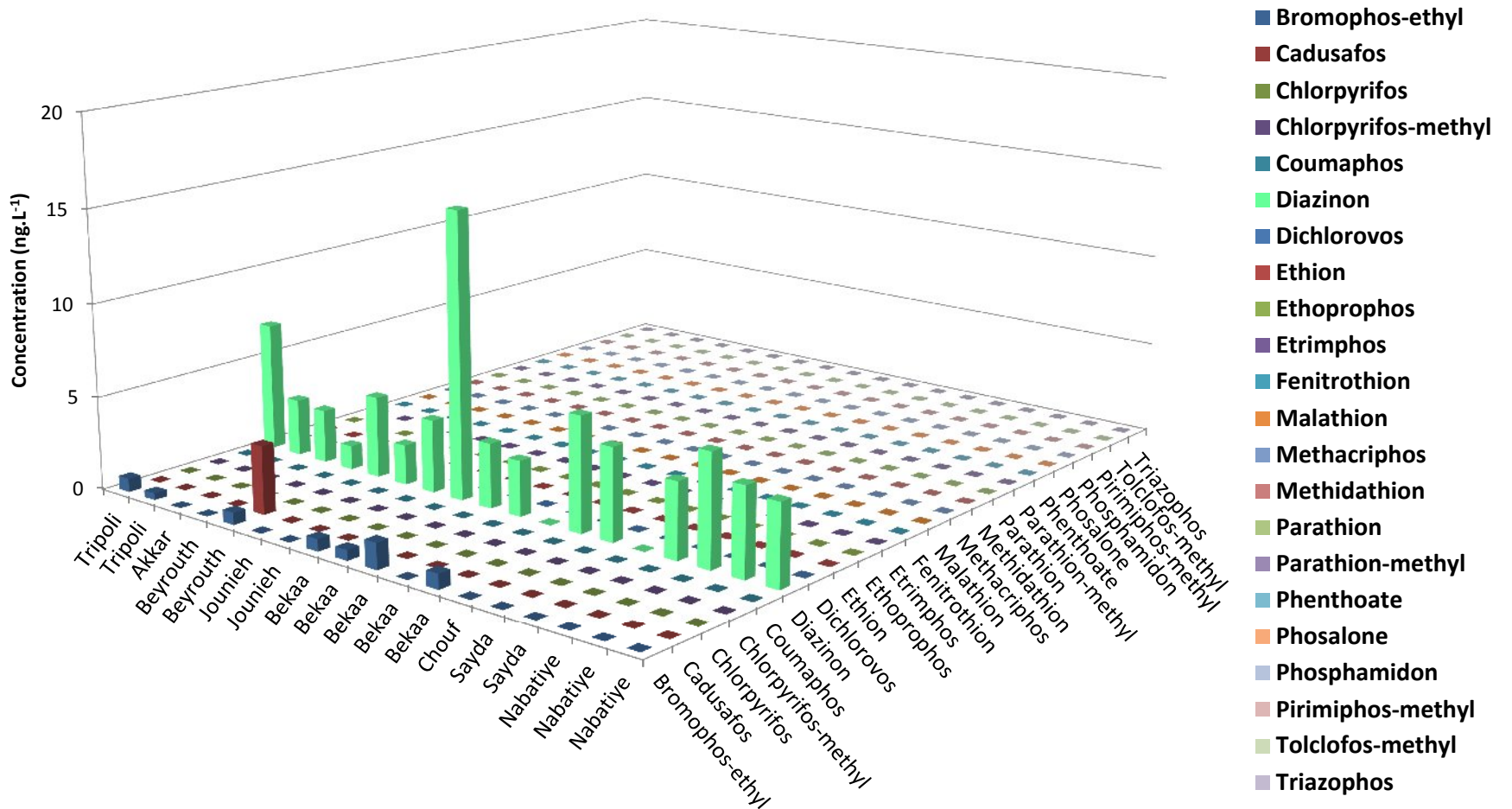


Figure 7.8. Concentration (ng.L^{-1}) of organophosphates in drinking water samples collected from different regions in Lebanon in the winter season 2011.

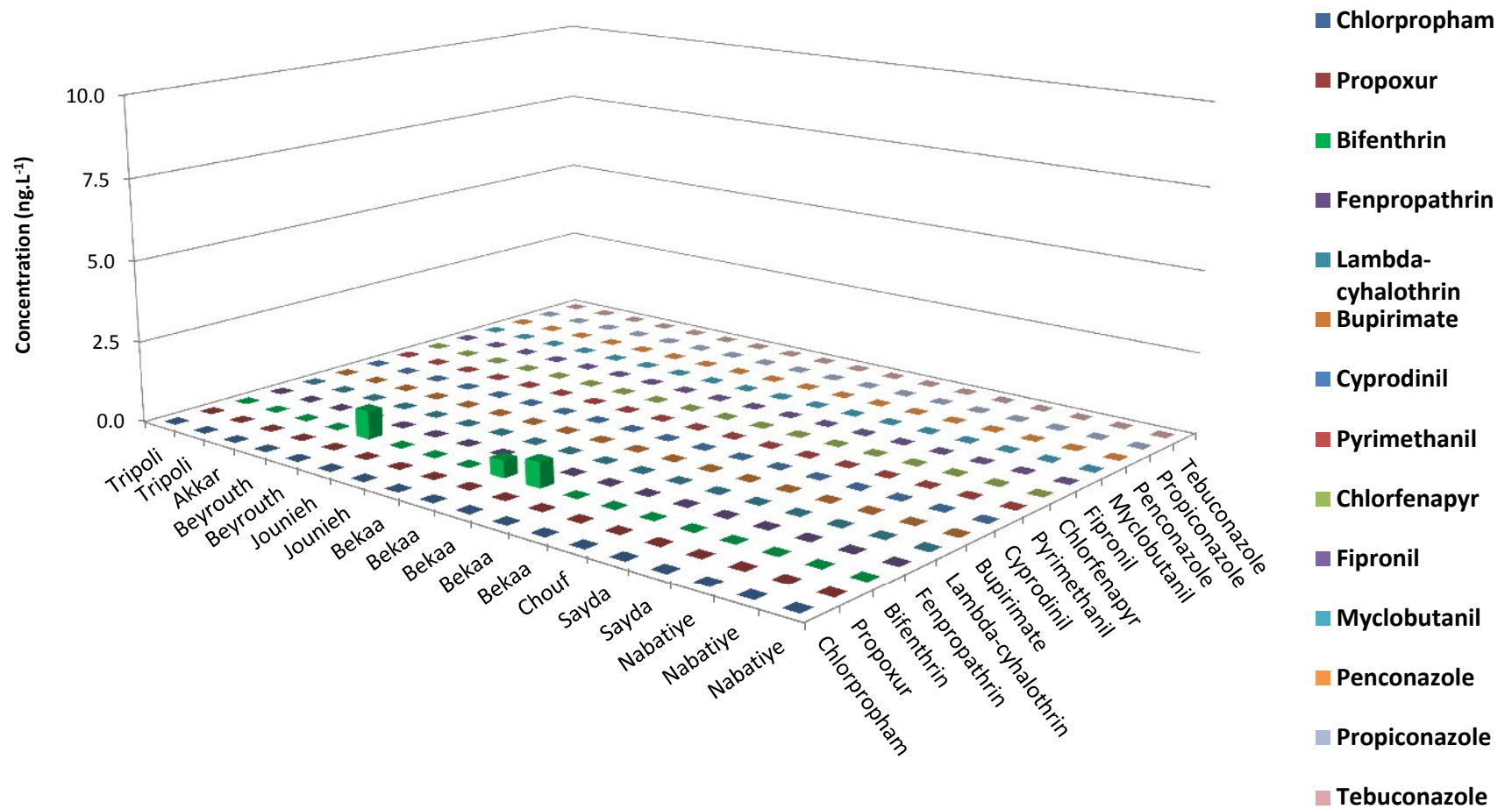


Figure 7.9. Concentration (ng.L^{-1}) of different families of pesticides including carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles and triazoles in drinking water samples collected from different regions in Lebanon in the winter season 2011.

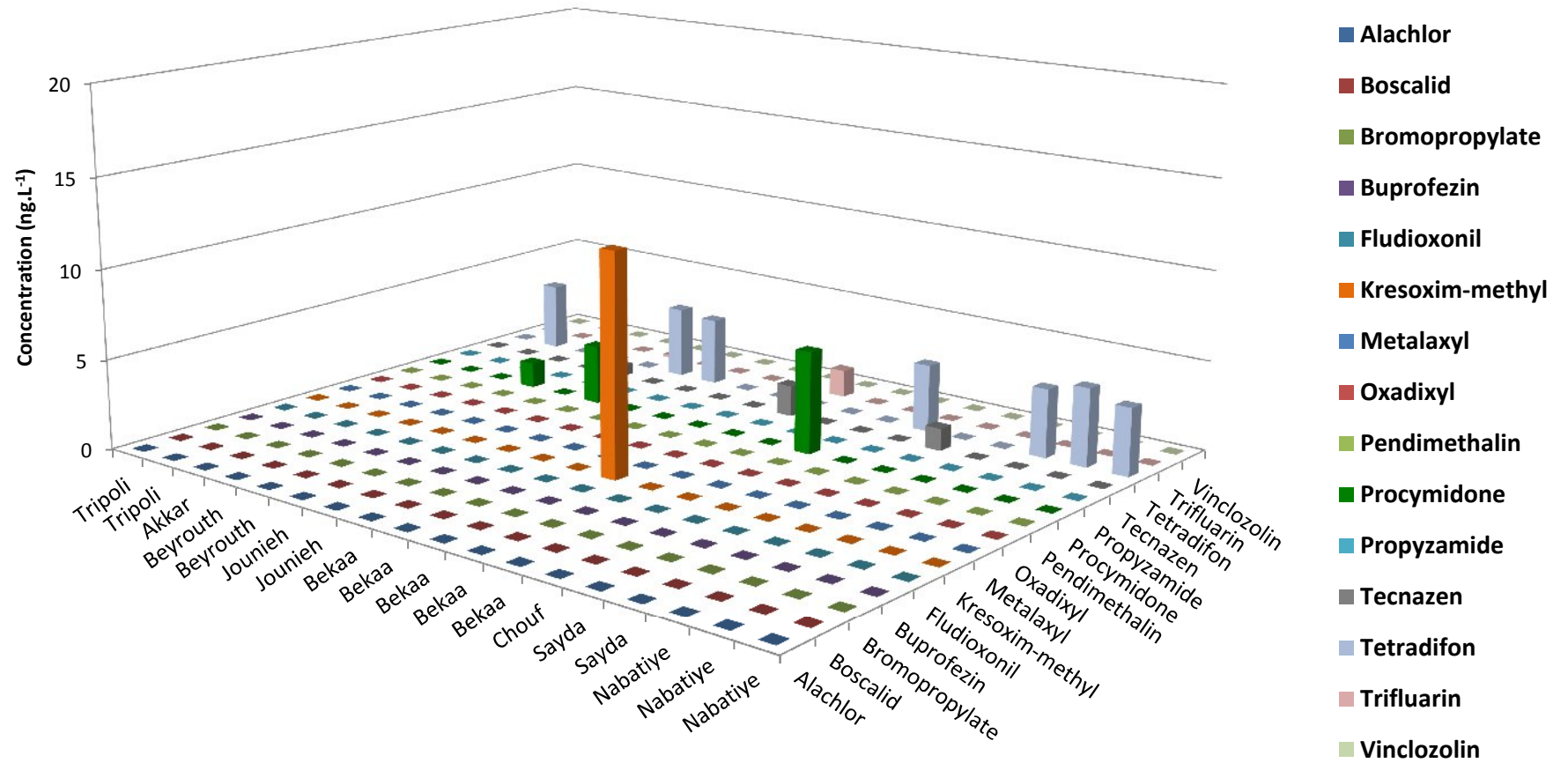


Figure 7.10. Concentration (ng.L^{-1}) of different pesticides (classified in our study as other pesticides group) in drinking water samples collected from different regions in Lebanon in the winter season 2011.

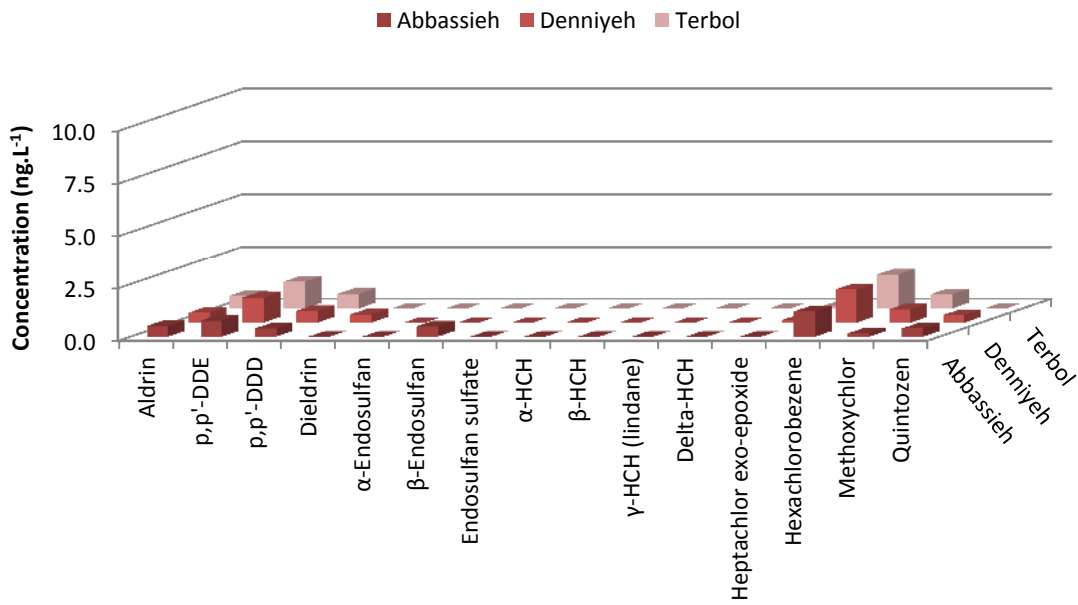


Figure 7.11. Concentration (ng.L⁻¹) of organochlorines in three groundwater samples collected in November 2011.

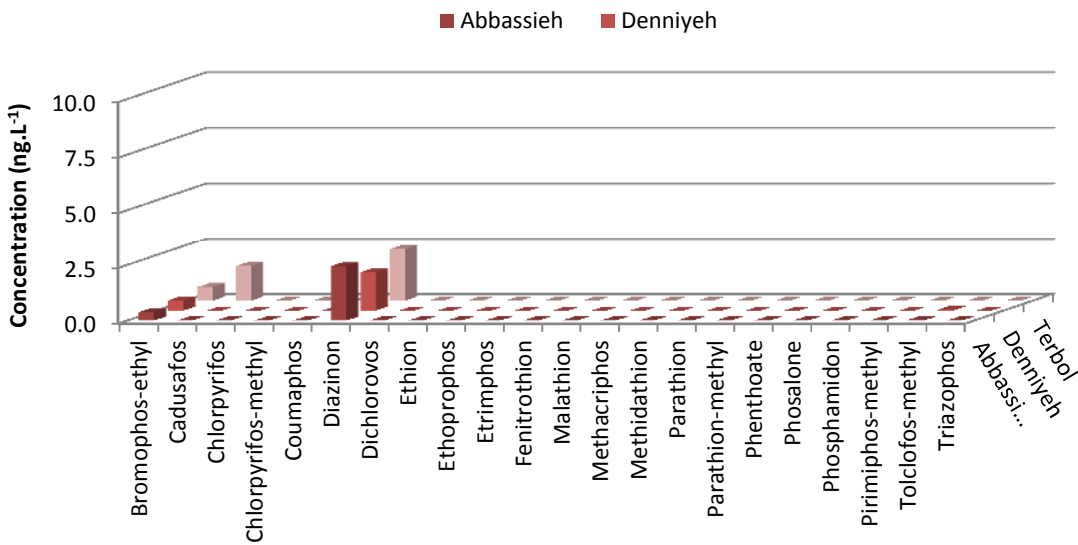


Figure 7.12. Concentration (ng.L⁻¹) of organophosphates in three groundwater samples collected in November 2011.

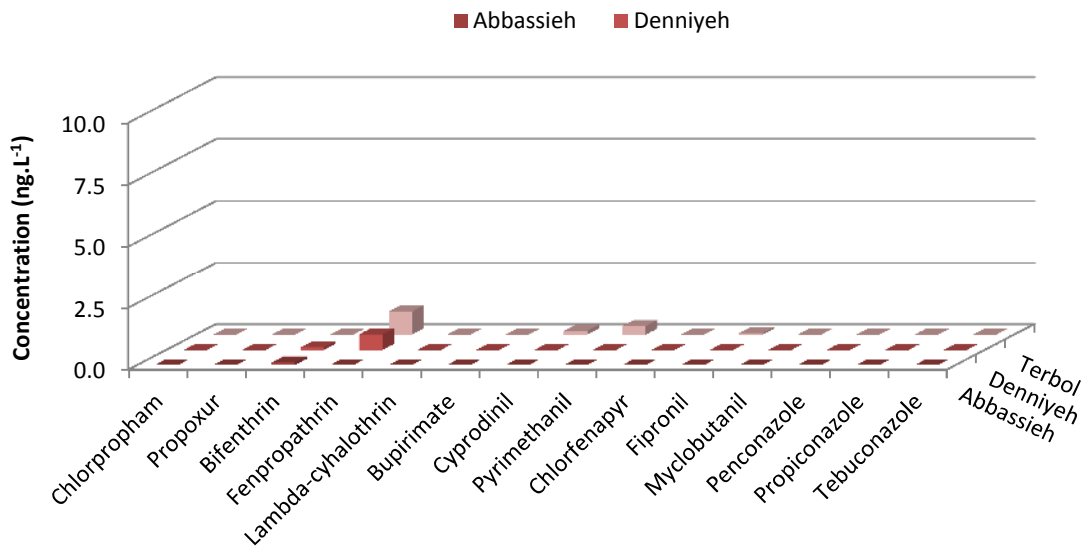


Figure 7.13. Concentration (ng.L⁻¹) of different families of pesticides including carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles and triazoles in three groundwater samples collected in November 2011.

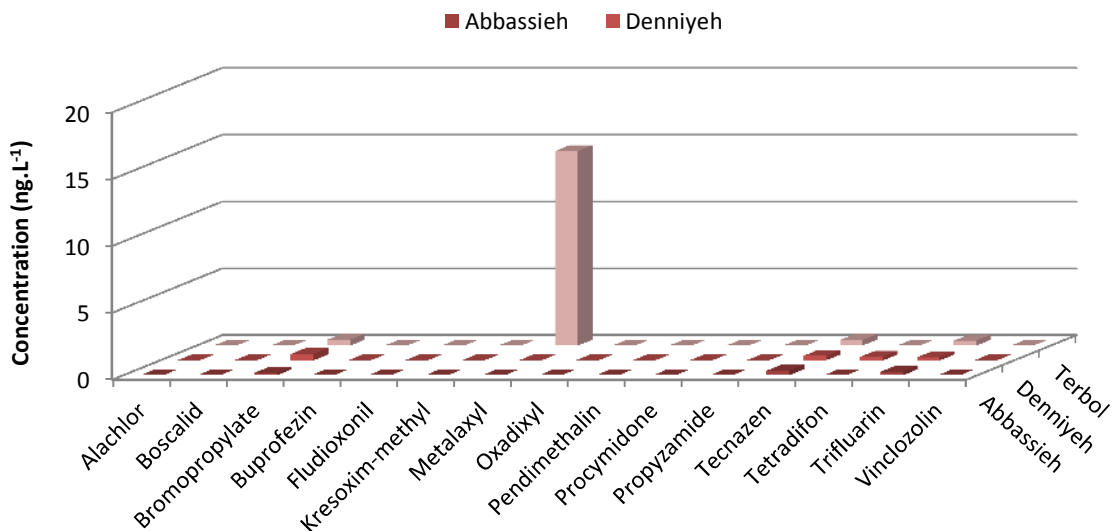


Figure 7.14. Concentration (ng.L⁻¹) of different pesticides (classified in our study as other pesticides group) in three groundwater samples collected in November 2011.

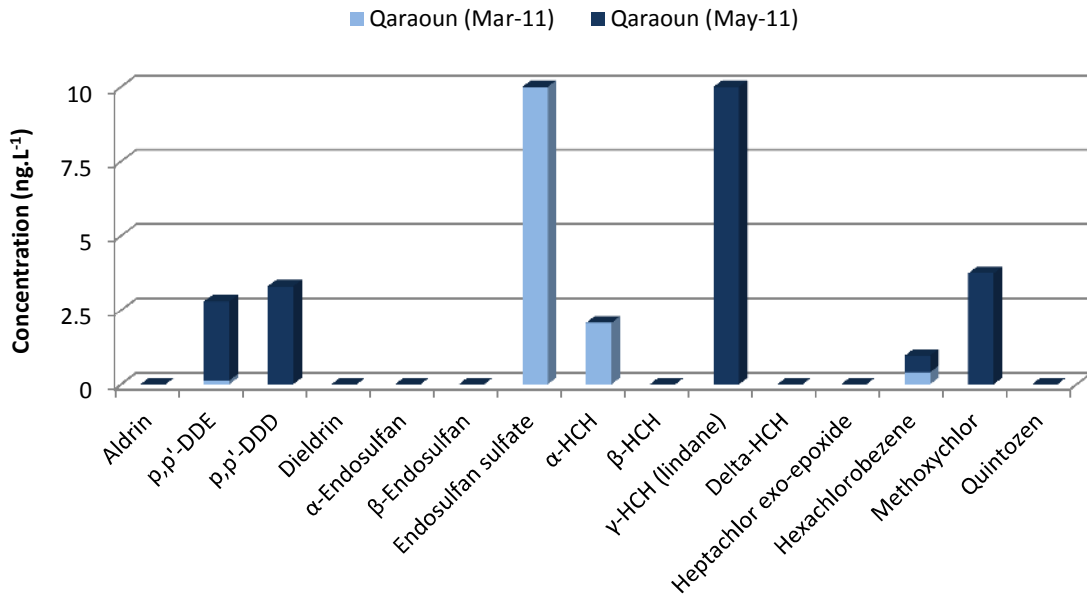


Figure 7.15. Concentration (ng.L⁻¹) of organochlorines in Qaraoun Lake in March and May 2011.

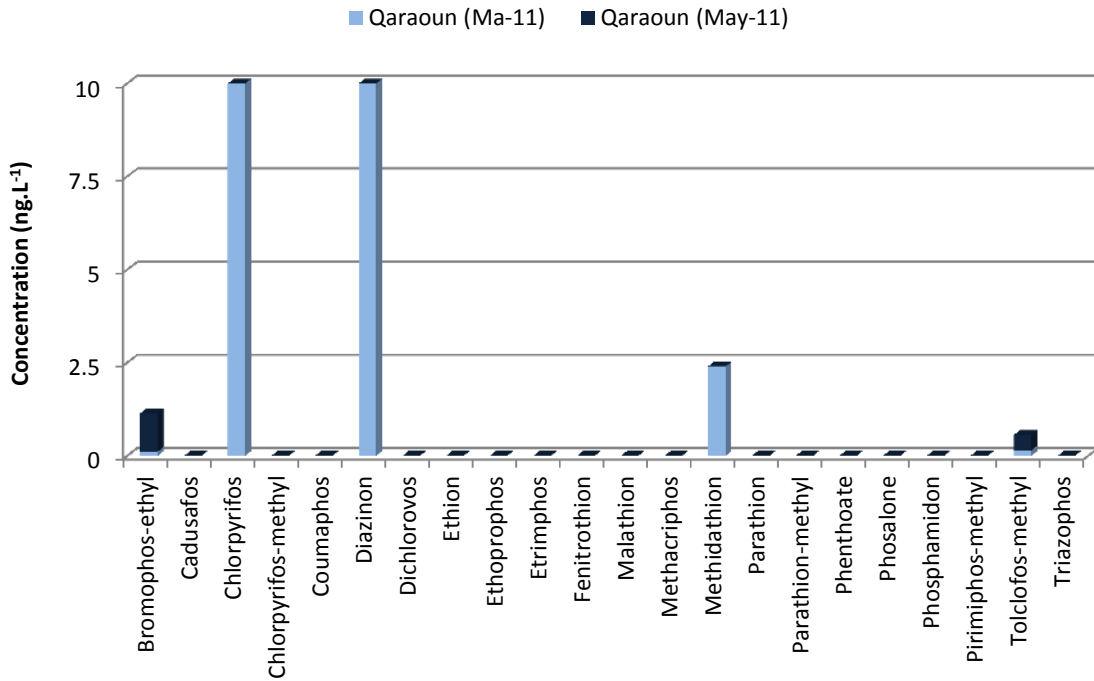


Figure 7.16. Concentration (ng.L⁻¹) of organophosphates in Qaraoun Lake in March and May 2011.

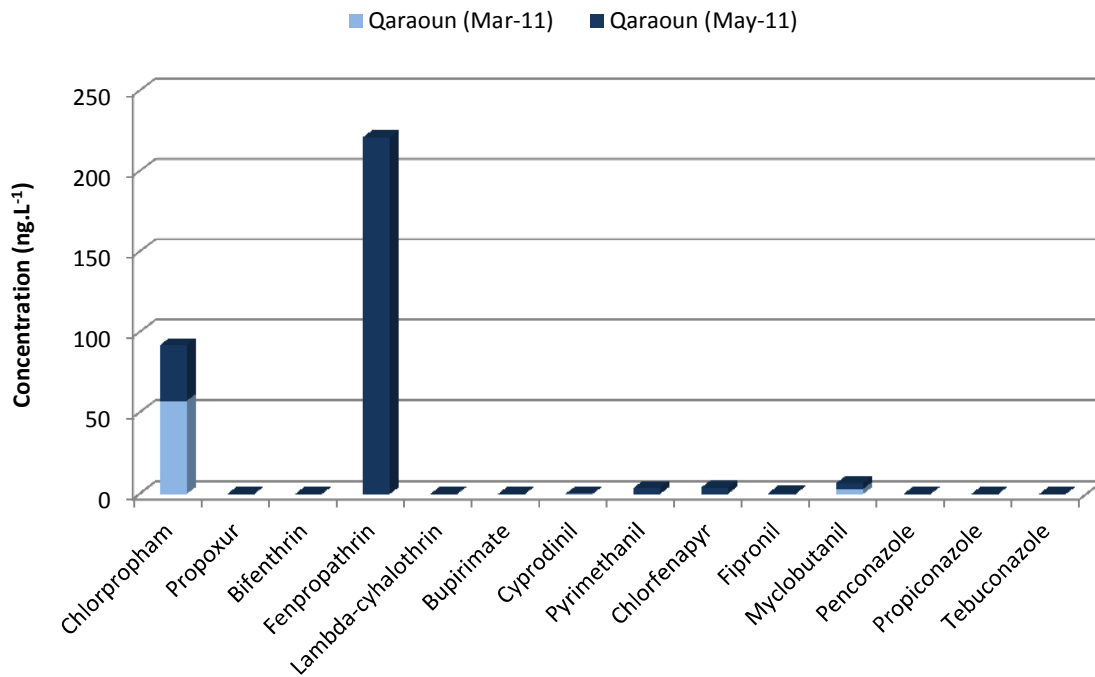


Figure 7.17. Concentration (ng.L⁻¹) of different families of pesticides including carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles and triazoles in Qaraoun Lake in March and May 2011.

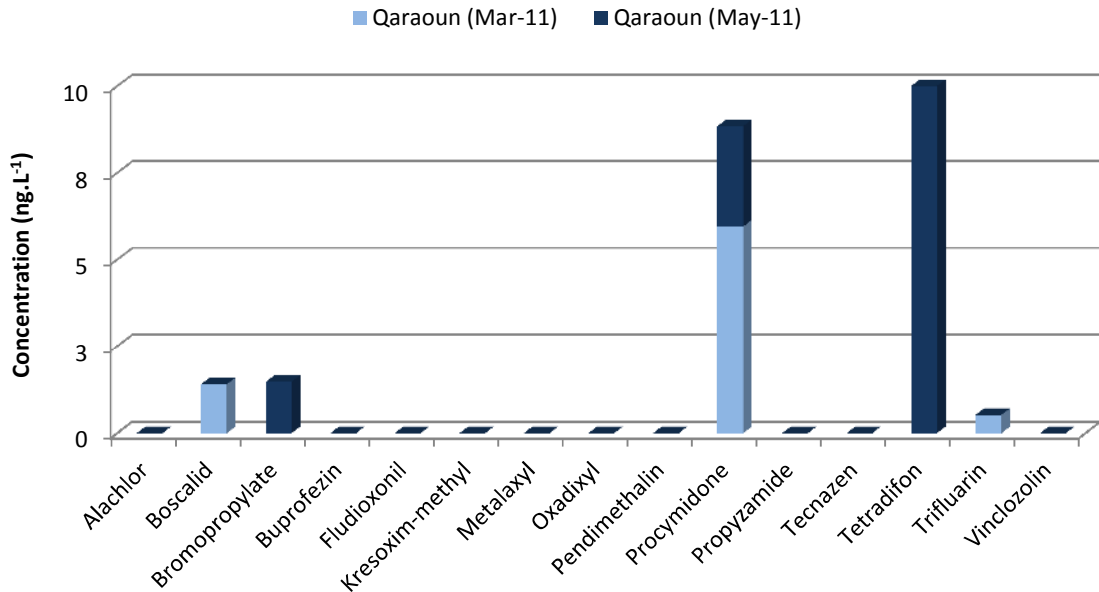


Figure 7.18. Concentration (ng.L⁻¹) of different pesticides (classified in our study as other pesticides group) in Qaraoun Lake in March and May 2011.

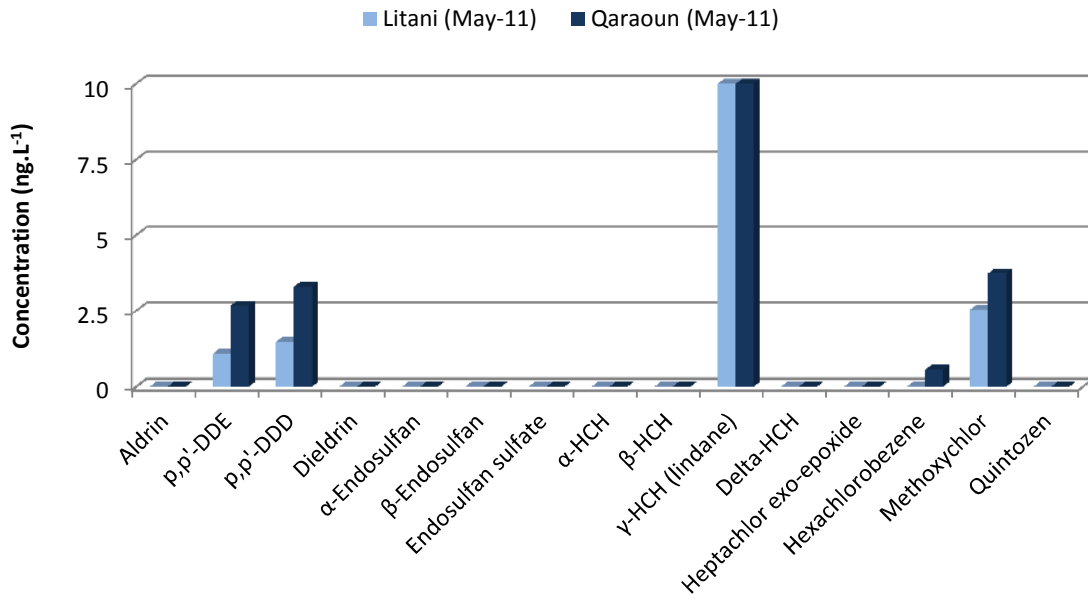


Figure 7.19. Comparison between concentrations of organochlorines pesticides in Litani River and Qaraoun Lake in May 2011.

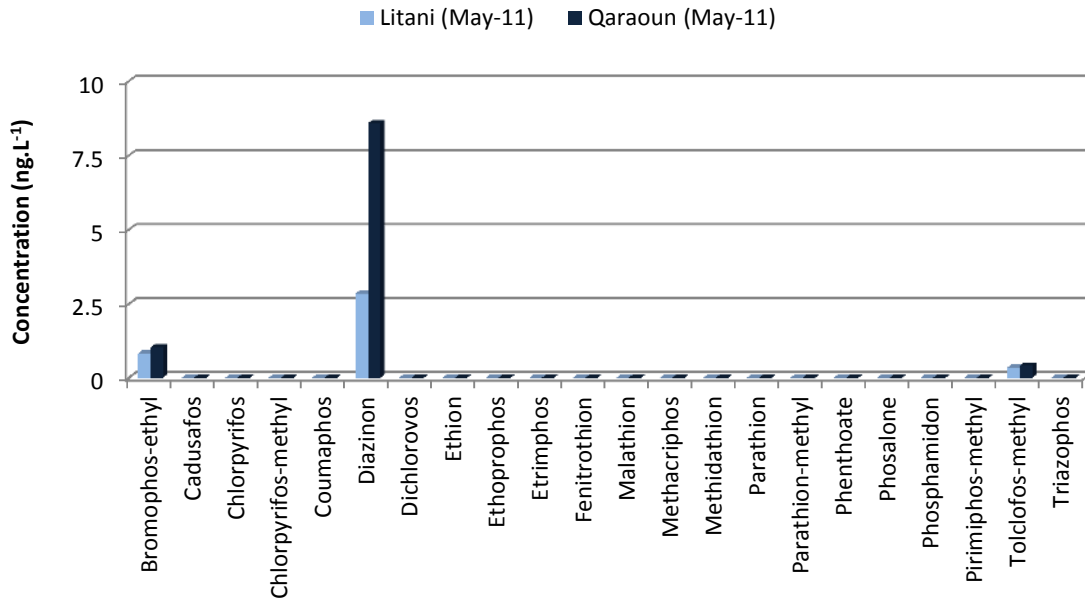


Figure 7.20. Comparison between concentrations of organophosphates pesticides in Litani River and Qaraoun Lake in May 2011.

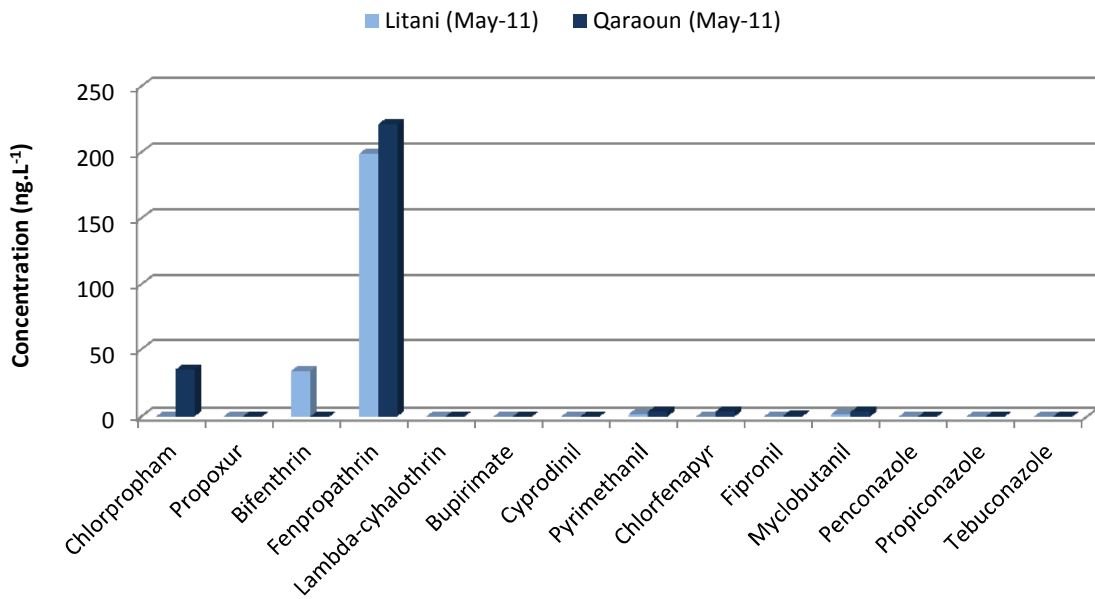


Figure 7.21. Comparison between concentrations of different families of pesticides including carbamates, pyrethroids, pyrimidines, azoles and triazoles in Litani River and Qaraoun Lake in May 2011.

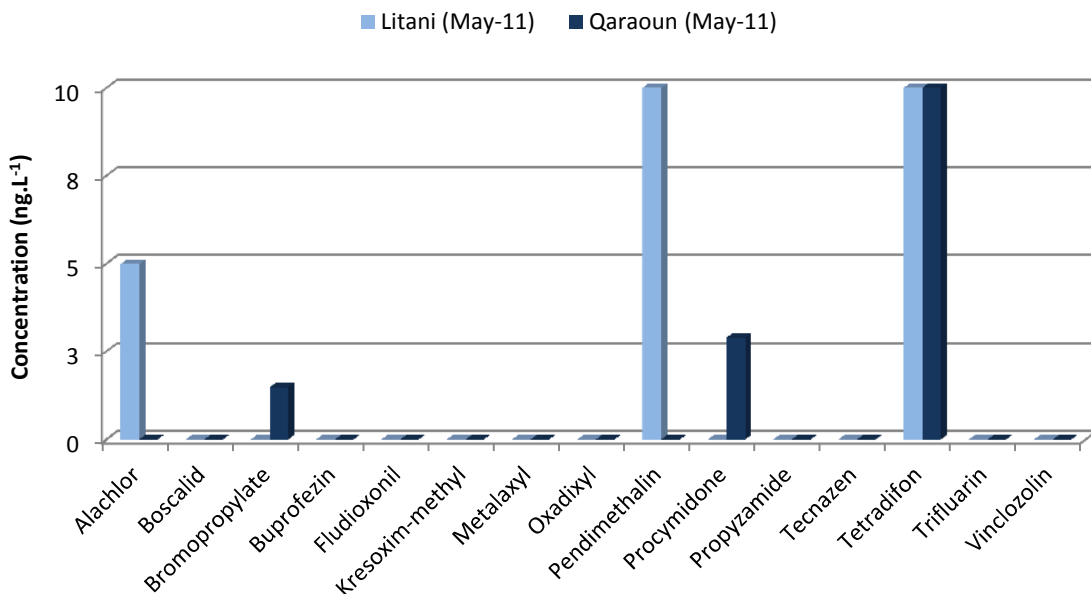


Figure 7.22. Comparison between concentrations of different pesticides (classified in our study as other pesticides group) in Litani River and Qaraoun Lake in May 2011.

References

- Abou Fakhr I., Abou Jaoudeh Y., Asta J., **1995**. Usage des pesticides au Liban. Ministry of Agriculture Report, Beirut.
- Bester K., Huhnerfuss H., Neudorf B., Thiemann W., **1995**. Atmospheric deposition of triazine herbicides in Northern Germany and The German Bight (North Sea). *Chemosphere* 30: 1639-1653.
- Bidleman T., Walla, M.D., Roura R., Carr E., Schmidt S., **1993**. Organochlorine pesticides in the atmosphere of the Southern Ocean and Antarctica. *Marine Pollution Bulletin* 26:258-262.
- Biziuk M., Przyjazny A., Czerwmski J., Wiergowski M., **1996**. Occurrence and determination of pesticides in natural and treated waters. *Journal of Chromatography A* 754:103-123.
- Buser H.R., **1990**. Atrazine and others triazine herbicides in lakes and in rain in Switzerland. *Environmental Science and Technology* 24:1049-1058.
- Chapman D.V., **1987**. Pesticides in the Aquatic Environment. A global assessment of use and effects, Monitoring and Assessment Research Center, Report No. 39, King's College London, University of London, London.
- Chernyak S.M., Rice C.P., McConnell L.L., **1996**. Evidence of currently-used pesticides in air, ice, fog, seawater and surface microlayer in the Bering and Chukchi Seas. *Marine Pollution Bulletin* 32:410-419.
- Chevreuil M., Garmouma M., Teil M.J., Chesteriko A., **1996**. Occurrence of organochlorines (PCBs, pesticides) and herbicides (triazines, phenylureas) in the atmosphere and in the fallout from urban}rural stations of the Paris area. *Science of the Total Environment* 182, 25-37.
- El-Fadel M., Zeinati M., Jamali D., **2000**. Water resources in Lebanon: characterization, water balance, and constraints. *Water Resources Development* 16(4):619-642.
- European Union (EU), **1998**. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption.

- European Union (EU), **2001**. Decision 2455/2001/EC establishing a list of priority substances in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities*. L 331, 15.12.2001.
- European Union (EU), **2008**. Directive 2008/105/EC of European Parliament and Council on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/419/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC”, OJ L348, p.84-97, 24.12.2008.
- Geahchan A., Abi Zeid Daou A.. Photosanitary Products Repertory. Beirut, APL, 1995.
- Huskes R., Levsen K., **1997**. Pesticides in rain. *Chemosphere* 35:3013-3024.
- Jurdi M., **1992**. A national study of the quality of potable water in Lebanon. In Proceedings of the National Workshop of the Status of Water in Lebanon. United Nations International Children’s Emergency Fund (UNICEF), Beirut, Lebanon, pp. 145–173 (in Arabic).
- Jurdi M., Korfali S. I., Karahagopian Y., Davies B., **2001**. A prototype study for the management of surface water resources. *Water Policy* 3:41–46.
- Jurdi M., Korfali, S. Karahagopian, Y., Davies B., **2002**. Evaluation of water quality of the Qaraaoun Reservoir, Lebanon: suitability for multipurpose usage. *Environmental Monitoring and Assessment* 77:11–30.
- Korfali S. I. and Davies B. E., **2003**. A Comparison of metals in sediments and water in the River Nahr-Ibrahim, Lebanon:1996 and 1999. *Environmental Geochemistry and Health* 25(1):41-50.
- Lebanese Government, **1982**. Conditions for the authorization of pesticides’ importation, selling, preparation, and use in Lebanon. Decree 5029, Beirut.
- Lode O., Eklo O.M., Holen B., Svensen A., Johnsen A.M., **1995**. Pesticides in precipitation in Norway. *Science of the Total Environment* 160/161:421-431.
- Millet M., Wortham H., Sanusi A., Mirabel P., **1997**. Atmospheric contamination by pesticides: Determination in the liquid, gaseous and particulate phases. *Environmental Science and Pollution Research* 3:172-180.

Trabulsi A., **1991**. Pollution des aliments et cultures traitées par les pesticides. In: Conference de L'homme et de l'Environnement, Beirut.

Trevisan M., Montepiani C., Ragozza L., Bartoletti C., Ioannili E., Del Re A.A.M., **1993**. Pesticides in rainfall and air in Italy. *Environmental Pollution* 80:31-39.

United States Environmental Protection Agency (US-EPA), **1994**. Metalaxyl. *Prevention, Pesticides And Toxic Substances* (7508W). EPA-738-F-94-013.

water.epa.gov/scitech/methods/cwa/pollutants.cfm

Conclusion

Ce chapitre expose les résultats des analyses des HAP et des pesticides dans l'eau en utilisant les diverses méthodes d'analyses appliquées ou élaborées au laboratoire. Ces deux familles de polluants sont parmi les polluants organiques les plus surveillés dans l'eau et sont responsables des divers problèmes de la pollution de l'environnement au Liban.

Les niveaux de présence des HAP et de pesticides ont été déterminés sur des échantillons d'origines diverses au Liban, comme les eaux de pluie, les eaux de surface, les eaux souterraines et les eaux potables. Ces résultats constituent un premier pas pour l'établissement d'un programme de suivi de la contamination organique dans les eaux libanaises.

Concernant les eaux de pluie, les résultats des analyses réalisés à Beyrouth ont montré que les HAP légers, les plus volatils et les plus solubles sont abondants durant les mois les plus froids de l'hiver, janvier et février. En revanche, les niveaux des HAP lourds cancérigènes étaient plus faibles et diminuaient au cours des mois pluvieux. Une évaluation de la distribution de certains composés isomères a permis de relever que la présence des HAP dans l'atmosphère de la ville de Beyrouth est d'origine, essentiellement, pyrolytique provenant de la combustion de combustibles fossiles.

Pour les analyses de pesticides, une grande partie des produits recherchés n'a pas été détectée dans les eaux analysées du fait que ces produits sont très peu utilisés ou leur utilisation est spatio-temporelle. Le chloroprotham et le fenprothrin ont été détectés avec des concentrations importantes ($30-200 \text{ ng.L}^{-1}$) dans les deux plus grands systèmes d'eau de surface libanais: Le lac Qaraoun et la rivière Litani. Une 2ème catégorie de pesticides a été détectée à des niveaux faibles dans les échantillons d'eau ($5 - 10 \text{ ng.L}^{-1}$); ces sont les composés rémanents qui peuvent être transportés sur de longues distances et ont tendance de persister dans les différents compartiments de l'environnement, comme le DDD, le DDE, le dieldrin, l'hexachlorobenzene et le diazinon. La présence de ces composés dans la plupart des

échantillons analysés indiquent une possible contamination chronique de nos systèmes d'eau, surtout les eaux potables.

Conclusion et Perspectives

Les milieux aquatiques naturels subissent une pression anthropique croissante et reçoivent des quantités remarquables des micropolluants organiques issus de l'activité humaine, industrielle et agricole. Des suivis environnementaux permanents se sont alors avérés nécessaires afin de se progresser dans la compréhension des origines et des conséquences de la présence de ces polluants.

Du fait de leurs faibles teneurs dans l'eau, leur analyse nécessite des méthodes de préparation qui sont relativement longues et fastidieuses et des techniques analytiques à la fois spécifiques et sensibles. Les méthodes de prétraitement et d'analyse appliquées pour l'analyse des HAPs dans l'eau sont relativement longues et consommatrices des quantités importantes des solvants organiques.

Ces travaux de thèse réalisés en collaboration étroite entre le LAPPO et le LPTC ont permis d'abord le développement d'une nouvelle méthode rapide et environnementale de prétraitement de l'échantillon aqueux. La nouvelle méthode élaborée qui est basée sur la centrifugation couplée à la SPE pour l'analyse des 16 HAP identifiés comme polluants prioritaires par l'US-EPA, a permis de réduire considérablement le temps de préparation par rapport à la méthode classique et d'économiser l'utilisation et le rejet des solvants organiques, en réduisant presque 10 fois les volumes nécessaires à l'obtention des rendements de récupération variant entre 61 et 94% pour l'ensemble des 16 HAP analysés.

Après une validation complète de la méthode centrifugation-SPE et l'obtention des valeurs optimales pour les divers paramètres affectant le transfert des HAP vers le solvant organique à analyser, nous avons ciblé nos efforts sur le développement de la méthode d'analyse souvent appliquée la GC-MS. Afin d'améliorer les seuils de détection et de limiter les discriminations entre les HAP de masses moléculaires variées, nous avons remplacé l'injection splitless utilisée dans la méthode classique par l'injection à température programmable (PTV). L'optimisation des paramètres de l'injection a été faite par une démarche basée sur l'utilisation des plans d'expériences; dans un premier temps, l'utilisation du plan de type Plackett-Burman a permis de classer les paramètres par ordre d'importance; dans un second temps, seuls les paramètres influents ont été investigués grâce au plan de type Box-Behnken pour les surfaces de réponse qui a abouti à la modélisation des phénomènes étudiés.

La validation du processus analytique global a mis en évidence les précisions analytiques des mesures, les domaines de linéarité et les limites de détection et de quantification suffisamment satisfaisants pour des mesures fiables de ces espèces dans l'eau. Cette nouvelle méthode développée apparaît donc comme assez sensible pour analyser les ultra-traces des HAP dans l'eau; une amélioration de 2 à plus de 100 fois dans les rapports Signal/Bruit a été atteinte par rapport au système d'injection par splitless.

La réussite de la stratégie analytique mise en place pour l'analyse des HAP dans l'eau a été transférée à une autre famille de polluants organiques qui présente un problème majeur pour la pollution de l'eau: les pesticides. La méthodologie allant de l'extraction SPE combinée avec la centrifugation en passant par l'analyse par GC-MS a été développée pour la quantification de 67 produits phytosanitaires dans l'eau. Les principaux paramètres susceptibles d'influer sur l'efficacité de la méthode SPE à extraire les différentes familles de pesticides étudiées (organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes, pyrimidines, azoles, triazoles, etc..) à partir de l'eau ont été optimisés. En particulier, l'influence de l'utilisation de la centrifugation dans les deux étapes de l'élution et du séchage a été évaluée. Ainsi, les conditions analytiques définies ont été validées pour l'extraction des pesticides recherchés avec des rendements satisfaisants (> 60%).

Le deuxième volet de ces travaux a été consacré à l'application des méthodes développées aux laboratoires pour déterminer les niveaux de présence des HAP et de pesticides dans des échantillons d'origines diverses au Liban, comme les eaux de pluie, les eaux de surface, les eaux souterraines et les eaux potables.

Les résultats des analyses réalisés à Beyrouth ont montré que les HAP légers, les plus volatils et les plus solubles sont abondants dans les eaux de pluie durant les mois les plus froids de l'hiver, janvier et février. En revanche, les niveaux des HAP lourds cancérigènes étaient plus faibles et diminuaient au cours des mois pluvieux. Une évaluation de la distribution de certains composés isomères a permis de relever que la présence des HAP dans l'atmosphère de la ville de Beyrouth est d'origine, essentiellement, pyrolytique provenant de la combustion de combustibles fossiles.

Pour les analyses de pesticides, une grande partie des produits sélectionnés n'a pas été détectée dans les eaux analysées du fait que ces produits sont très peu utilisés ou leur utilisation est spatio-temporelle. Par exemple, le chloroprotham et le fenprothrin ont été

détectés avec des niveaux plus élevés que les autres (30-200 ng.L⁻¹) pendant le mois de Mai 2011 dans deux des plus grands systèmes d'eau de surface libanais : Le lac Qaraoun et la rivière Litani. Une 2^{ème} catégorie de pesticides a été détectée à des niveaux faibles dans les échantillons d'eau (5-10 ng.L⁻¹); ces sont les composés rémanents qui peuvent être transportés sur de longues distances et ont tendance de persister dans les différents compartiments de l'environnement, comme le DDD, le DDE, le dieldrin, l'hexachlorobenzene et le diazinon. La présence de ces composés dans la plupart des échantillons analysés indiquent une possible contamination chronique de nos systèmes d'eau, surtout les eaux potables.

Ces travaux de thèse réalisés pour la première fois au Liban ont permis la rédaction de plusieurs articles scientifiques ; le 1^{er} article est paru dans le Journal of Agricultural and Food Chemistry, le 2^{ème} est accepté dans le journal Talanta et les quatre restants sont rédigés pour être envoyés vers des journaux spécialisés. Egalement, les travaux de cette thèse ont été présentés dans plusieurs congrès scientifiques nationaux et internationaux sous forme de 2 communications orales et 3 communications par affiche.

Il est important de signaler que les méthodes optimisées sont utilisées actuellement en analyse de routine dans notre laboratoire, bien entendu, l'application de la nouvelle démarche centrifugation-SPE-PTV-GC-MS est promettante. D'autres familles de contaminants organiques dans l'eau (produits pharmaceutiques, PCB, etc) peuvent être l'objet du développement des nouvelles méthodes d'analyse dont les objectifs d'avoir des méthodes multiresidus rapides, sensibles et environnementales.

Ces travaux offrent par ailleurs une première estimation de la qualité des eaux libanaises quant au niveau de leur contamination pour les HAP et les pesticides. Le nombre limité des échantillons analysés durant la période de la thèse donne une idée des concentrations sur les sites étudiés et sur les sources de contamination. Des mesures supplémentaires sur une longue période et sur l'ensemble du territoire libanais donneront des informations complètes sur l'état de la qualité des eaux libanaises au niveau de la contamination par les pesticides et par les HAP.

Annexes

Annexe 1. Propriétés physico-chimiques des 16 HAP prioritaires définis par l'US EPA.

HAP	Nb noyaux	Abrév.	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	Solubilité (mgL ⁻¹)	Constante de Henry	Pression de vapeur (Pa à 25°C)	Log K _{ow}	Log K _{oc}	Log K _d
Naphtalène	2	Nap	128	31,7	48,9	10,4	3,4	3,11	1,7
Acénaphthylène	3	AcPy	152	3,93 ^a	114	8,9 x 10 ⁻¹	4,07	3,83	-
Acénaphthène	3	AcP	154	3,93	14,8	2,9 x 10 ⁻¹	3,92	3,79	-
Fluorène	3	Flu	166	1,98	10,1	8,0 x 10 ⁻²	4,18	4,15	-
Phénanthrène	3	Phe	178	1,29	3,98	1,6 x 10 ⁻²	4,6	4,22	2,73
Anthracène	3	Ant	178	0,073	73	8,0 x 10 ⁻⁴	4,5	4,41	2,73
Fluoranthène	4	FL	202	0,26	0,65	1,2 x 10 ⁻³	5,22	4,74	3,7
Pyrène	4	Pyr	202	0,135	1,1	6,0 x 10 ⁻⁴	5,18	4,82	3,7
Chrysène	4	Chr	228	0,002	5,86 x 10 ⁻¹	8,4 x 10 ⁻⁵	5,61	5,37	4,19
Benzo[a]anthracène	4	B[a]A	228	0,014	5,8 x 10 ⁻¹	2,8 x 10 ⁻⁵	5,91	5,25	4,19
Benzo[b]fluoranthène	5	B[b]FL	252	0,001	5,1 x 10 ⁻²	6,7 x 10 ⁻⁵	6,12	5,89	5
Benzo[k]fluoranthène	5	B[k]FL	252	0,0008	4,4 x 10 ⁻²	1,3 x 10 ⁻⁸	6,84	5,89	4,88
Benzo[a]pyrène	5	B[a]P	252	0,0038	3,4 x 10 ⁻²	7,3 x 10 ⁻⁷	6,5	5,71	4,7
Indéno[1,2,3cd]pyrène	6	InP	276	0,0062	2,9 x 10 ⁻²	1,3 x 10 ⁻⁸	6,58	6,14	5,57
Dibenzo[a,h]pyrène	5	DBA	278	0,0005	7 x 10 ⁻³	1,3 x 10 ⁻⁸ (20°C)	6,5	5,97	5,6
Benzo[g,h,i]pérylène	6	B[ghi]P	276	0,00026	7,5 x 10 ⁻²	1,4 x 10 ⁻⁸	7,1	-	5,57

International Program on Chemical Safety (IPCS). 1998. Selected Non-Heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. World Health Organization, Geneva, Switzerland. (<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc202.htm>), consulté le septembre 2011

Annexe 2. Propriétés physico-chimiques des pesticides étudiés.

a. Les organochlorés

Pesticide	Classe	Mode d'action	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	Solubilité ^{a,b,c} (mg.L ⁻¹)	LogK _{ow} ^{a,b,d,e}	Pression de vapeur (Pa) ^{a,b,c}	pKa/ Propriété Acide-Base ^f
Aldrin	Organochlorés (cyclodiènes)	Insecticide	364,9	0,027 (27°C)	5,319 (calculé)	0,0086 (20°C)	
DDT-p,p'	Organochlorés	Insecticide	354,5	Prat. insoluble	5,923 (calculé)	2,5 x 10 ⁻⁵ (25°C)	
DDE-p,p'	Organochlorés		318,03		6,369 (calculé)		
DDD-p,p'	Organochlorés		320,05	0,05 (20°C)	5,389 (calculé)		
Dieldrin	Organochlorés (cyclodiènes)	Insecticide	380,9	0,186 (20°C)	4,879 (calculé)	0,0004 (20°C)	
α-Endosulfan	Organochlorés	Acaricide Insecticide	406,9	0,32 (22 °C)	4,74 (pH 5)		
β-Endosulfan	Organochlorés	Acaricide Insecticide	406,9	0,33 (22 °C)	4,79 (pH 5)		
Endosulfansulfate	Organochlorés		422,95				
α-HCH*	Organochlorés	Insecticide	290,8		3,99 (calculé)		Non-ionisé
β-HCH*	Organochlorés	Insecticide	290,8		3,99 (calculé)		Non-ionisé
γ-HCH* (lindane)	Organochlorés	Insecticide	290,8	8,52 (25°C)	3,5	0,0044 (24°C)	Non-ionisé
Delta-HCH*	Organochlorés	Insecticide	290,8		3,99 (calculé)		Non-ionisé
Heptachlore époxyde			389,3				
HCB**	Organochlorés	Fongicide	284,8	Prat. insoluble	5,66	0,00145 (20°C)	

Methoxychlore	Organochlorés	Insecticide	345,7	0,1 (25°C)	4,83	
Quintozene	Organochlorés	Fongicide	295,3	0,1 (20°C)	5,1	0,0127 (25°C)

*HCH : Hexachlorohexane ; ** HCB : Hexachlorobenzène

b. Les organophosphorés

Pesticide	Classe	Mode d'action	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	Solubilité ^{a,b,c,g} (mg.L ⁻¹)	LogK _{ow} ^{a,b,c,d,g}	Pression de vapeur (Pa) ^{a,b,c,g}	pKa/ Propriété Acide-Base ^{b,g,f}
Bromophos-éthyle	Organophosphorés	Insecticide	394,1	0,14 (20°C)	6,13 (calculé)	0,0061 (30°C)	Non-ionisé
Cadusafos	Organophosphorés	Insecticide Nématicide	270,4	245 (25°C)	3,85 (20,5°C ; pH 5,5)	0,1196 (25°C)	
Chlorpyrifos	Organophosphorés	Insecticide	350,6	1,05 (20°C, indépendant de pH)	4,7 (20°C ; pH neutre)	0,00143 (20°C)	Non-ionisé
Chlorpyrifos-méthyle	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	322,6	2,74 (20°C)	4 (20°C)	0,003 (25°C)	Non-ionisé
Coumaphos	Organophosphorés	Insecticide	362,8	1,5 (20°C)	4,13	1,3 x 10 ⁻⁰⁵ (20°C)	
Diazinon	Organophosphorés	Acaricide Insecticide Nématicide	304,3	60 (22°C, indépendant de pH)	3,69 (24°C ; indépendant de pH)	0,01197 (25°C)	2,6
Dichlorvos	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	221	18000 (25°C, indépendant de pH)	1,9 (25°C)	2,1 (25°C)	Non-ionisé
Ethion	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	384,5	2 (25°C)	4,28	0,0002 (25°C)	Non-ionisé

Ethoprophos	Organophosphorés	Insecticide Nématicide	242,3	700 (20°C)	3,59 (21°C)	0,123 (25°C)	Non-ionisé
Etrimphos	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	292,3	40 (23-24°C)	3,3 >	0,0065 (20°C)	
Fenitrothion	Organophosphorés	Insecticide	277,2	19 (20°C)	3,3 (25°C)	0,00068 (20°C)	Non-ionisé
Malathion	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	330,4	148 (25°C, indépendant de pH)	2,75 (25°C, indépendant de pH)	0,00045 (25°C)	Non-ionisé
Methacrifos	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	240,2	400 (20°C)	≥ 3	0,16 (20°C)	
Methidathion	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	302,3	200 (25°C)	2,2	0,00025 (20°C)	
Parathion	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	291,3	11 (20°C)	3,83	0,00089 (20°C)	Non-ionisé
Parathion-méthyle	Organophosphorés	Insecticide	263,2	55 (20°C)	3	0,0002 (20°C)	
Phentoate	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	320,4	10 (25°C)	3,69	0,0053 (40°C)	
Phosalone	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	367,8	1,4 (20°C ; pH 5,6)	4,01	1,56 x 10 ⁻⁰⁸ (25°C)	Non-ionisé
Phosphamidon	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	299,7	miscible	0,79	0,0022 (25°C)	
Primiphos-méthyle	Organophosphorés	Acaricide Insecticide	305,4	10 (20°C ; pH 7)	4,2 (20°C ; pH 7)	0,002 (20°C)	4,3
Tolclofos-méthyle	Hydrocarbure aromatique	Fongicide	301,1	0,708 (20°C)	4,56	0,000877 (20°C)	Non-ionisé
Triazophos	Organophosphorés	Acaricide Insecticide Nématicide	313,3	39 (20°C ; pH 7)	3,34	0,00039 (30°C)	

c. Les pyréthrinoïdes

Pesticide	Classe	Mode d'action	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	Solubilité ^{a,b,c,g} (mg.L ⁻¹)	LogK _{ow} ^{a,b,c,g}	Pression de vapeur (Pa) ^{a,b,g}	pKa/ Propriété Acide-Base ^{b,g,f}
Bifenthrin	Pyréthrinoïdes	Acaricide Insecticide	422,9	0,001 (20°C ; pH 7)	7,3 (20°C ; pH 5)	1,78 x 10 ⁻⁰⁵ (20°C)	Non-ionisé
Fenprothrin	Pyréthrinoïdes	Acaricide Insecticide	349,4	0,014 (25°C)	6 (20°C)	0,00073 (20°C)	Non-ionisé
Lambda-Cyhalothrin	Pyréthrinoïdes	Insecticide	449,9	0,005 (20°C ; pH 6,5)	7 (20°C)	2 x 10 ⁻⁰⁷ (20°C)	Non-ionisé

d. Les carbamates

Pesticide	Classe	Mode d'action	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	Solubilité ^{a,b} (mg.L ⁻¹)	LogK _{ow} ^{a,b}	Pression de vapeur (Pa) ^{a,b,c}	pKa/ Propriété Acide-Base ^b
Chlorpropham	Carbamates		213,7	110 (20°C ; pH 7)	3,76 (20°C ; pH 7)	0,024 (20°C)	Non-ionisé
Propoxur	Carbamates		209,2	1900 (20°C)	1,56	0,0013 (20°C)	

e. Les pyrimidines

Pesticide	Classe	Mode d'action	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	Solubilité ^{a,c,g} (mg.L ⁻¹)	LogK _{ow} ^{a,c,g}	Pression de vapeur (Pa) ^{c,g}	pKa/ Propriété Acide-Base ^{c,g}
Bupirimate	Pyrimidinol	Fongicide	316,4	22 (25°C ; pH 5,2)	3,9	0,0001 (25°C)	5
Cyprodinil	Anilinopyrimidine	Fongicide	225,3	13 (25°C ; pH 7)	4 (25°C ; pH 5 - 9)	0,00051 (25°C)	4,44 / Basique
Pyrimethanil	Anilinopyrimidine	Fongicide	199,3	121 (25°C ; pH 6,1)	3 (indépendant de pH)	0,0011 (20°C)	3,52

f. Les azoles

Pesticide	Classe	Mode d'action	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	Solubilité ^{c,g,h} (mg.L ⁻¹)	LogK _{ow} ^{c,g,h}	Pression de vapeur (Pa) ^{c,g,h}	pKa/ Propriété Acide-Base ^h
Fipronil	Phenyl-pyrazole	Insecticide	437,2	3,78 (20°C ; pH 6,58)	4 (20°C)	2 x 10 ⁻⁰⁶ (25°C)	Non-ionisé
Chlorfenapyr	Pyrazole	Acaricide Insecticide	407,6	0,14 (25°C; pH 7)	4,83	< 1,2 x 10 ⁻⁰⁵ (20°C)	

g. Les triazoles

Pesticide	Classe	Mode d'action	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	Solubilité ^{a,b,c,g} (mg.L ⁻¹)	LogK _{ow} ^{a,b,c,g}	Pression de vapeur (Pa) ^{a,b,g}	pKa/ Propriété Acide-Base ^{b,c,f,g}
Myclobutanil	Triazole	Fongicide	288,8	142 (25°C)	2,94 (25°C ; pH 7-8)	0,000213 (25°C)	
Propiconazole	Triazole	Fongicide	342,2	50 (20°C ; pH 5,2)	3,72 (25°C ; pH 6,6)	5,6 x 10 ⁻⁰⁵ (25°C)	1,09
Penconazole	Triazole	Fongicide	284,2	73 (20°C ; pH 6,7)	3,72 (25°C ; pH 5,7)	0,00037 (25°C)	1,51 / Basique
Tebuconazole	Triazole	Fongicide	307,8	36 (20°C ; pH 7 - 9)	3,7 (20°C ; pH 7)	1,3 x 10 ⁻⁰⁶ (20°C)	Non-ionisé

h. Autres pesticides

Pesticide	Classe	Mode d'action	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	Solubilité ^{a,b,c,g,i,j} (mg.L ⁻¹)	LogK _{ow} ^{a,b,c,g,i,j,k}	Pression de vapeur (Pa) ^{a,b,c,g,i,j}	pKa/ Propriété Acide-Base ^{b,f,g,i,j}
Alachlor	Chloroacetamide	Herbicide	269,8	170,31 (pH 7 ; 20°C)	3,09	0,002 (25°C)	Non-ionisé
Boscalid	Pyridinecarboxamide	Fongicide	343,21	6 (20 °C)	2,96 (21°C ; pH 7)	7 x 10 ⁻⁰⁷ (20°C)	Non-ionisé
Bromopropylate	Benzilate	Acaricide	428,1	0,5 (20°C)	5,4	6,8 x 10 ⁻⁰⁵ (20°C)	
Buprofezin		Acaricide Insecticide	305,4	0,46 (25°C ; pH 7)	4,93 (pH 7)	4,2 x 10 ⁻⁰⁵ (20°C)	
Fluodioxonil	Phenylpyrrole	Fongicide	248,2	1,8 (25°C ; indépendant de pH)	4,12 (25°C ; indépendant de pH)	3,9 x 10 ⁻⁰⁷ (25°C)	Non-ionisé
Kresoxim-methyle	Strobilurin	Fongicide	313,3	2 (20°C)	3,4 (25°C)	2,3 x 10 ⁻⁰⁶ (20°C)	Non-ionisé
Metalaxyl	Acylalanine	Fongicide	279,3	8400 (22°C)	1,75 (25°C)	0,00075 (25°C)	
Oxadixyl	Phenylamide	Fongicide	278,3	3400 (25°C)	0,7 (22-24°C)	3,3 x 10 ⁻⁰⁶ (20°C)	
Pendimethalin	Dinitroaniline	Herbicide	281,3	0,33 (20°C)	5,2 (pH 7)	0,00194 (25°C)	2,8 / Acide
Procymidone	Dicarboximide	Fongicide	284,1	3,07 (25°C)	3,3 (25°C ; pH 6)	2,3 x 10 ⁻⁰⁵ (25°C)	Non-ionisé
Propyzamide	Benzamide	Herbicide	256,1	9 (pH 7)	3	2,67 x 10 ⁻⁰⁵	Non-ionisé
Tecnazene	Hydrocarbure aromatique	Fongicide	260,9	1,9 (22°C)	4 (25°C)	0,027 (20°C)	Non-ionisé
Tetradifon	Sulfonate	Acaricide	356	0,078 (20°C)	4,61	3,2 x 10 ⁻⁸ (20°C)	

Trifluralin	Dinitroaniline	Herbicide	335,3	0,221 (20°C ; pH 7)	5,27 (20°C)	0,0095 (25°C)	Non-ionisé
Vinclozolin	Dicarboximide	Fongicide	286,1	2,6 (20°C)	3 (pH 7)	0,00013 (20°C)	Non-ionisé

^a C. D. S. Tomlin, The e-Pesticide Manual, 2002, <http://www.bcp.org>, 12th Edition, Version 2.2, The British Crop Protection Council

^b European Commission - SANCO E3, EU Pesticides Database (17.03.2009), 2008,
http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm

^c C. D. S. Tomlin, e-Pesticide Manual V5.0, 2009, 15th Edition, Version 5.0, The British Crop Protection Council, ISBN 978 1 901 396 19 5

^d eMolecules, <http://www.emolecules.com/>

^e ChemSpider, ChemSpider - Building Community for Chemists, 2007, <http://www.chemspider.com/>, Royal Society of Chemistry

^f Terry R. Roberts, Metabolic Pathways of Agrochemicals - Part 2: Insecticides and Fungicides, 1999, The Royal Society of Chemistry

^g EFSA – PRAPeR, Conclusions of Pesticide Risk Assessment Peer Review Unit (PRAPeR) on active substances which have undergone the peer review process at EU level,

http://www.efsa.europa.eu/EFSA/ScientificOpinionPublicationReport/efsa_locale1178620753812_Conclusions.htm

^h EFSA Provision of documents, Draft assessment reports, <http://dar.efsa.europa.eu/dar-web/provision>

ⁱ U. S. Environmental Protection Agency, Pesticides: Regulating Pesticides - Fact Sheets on New Active Ingredients, 2009,
<http://www.epa.gov/opprd001/factsheets/>

^j JMPR / JMPS, List of Pesticides evaluated by JMPR and JMPS, 2008, Journal/Book/Website:
<http://www.fao.org/agriculture/crops/core-themes/theme/pests/pm/lpe/en/>

^k Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) – Pflanzenschutzmittel, Rückstandsanalytik für neue Wirkstoffe (ab 02/2002), 2005,

http://www.bvl.bund.de/cln_027/nn_492020/DE/04__Pflanzenschutzmittel/06__RueckstaendeHoechstmenge/03__Rueckstandsanalytik/psm_rueckstAnalytik_node.html__nn=true