



HAL
open science

Présence et distribution des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques Carbonylés (CO-HAPs) dans les fruits et légumes : mises au point méthodologiques et applications à des jardins potagers urbains

Chaimaa Nassamer

► To cite this version:

Chaimaa Nassamer. Présence et distribution des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques Carbonylés (CO-HAPs) dans les fruits et légumes : mises au point méthodologiques et applications à des jardins potagers urbains. Chimie organique. Normandie Université, 2020. Français. NNT : 2020NORMC203 . tel-03270897

HAL Id: tel-03270897

<https://theses.hal.science/tel-03270897>

Submitted on 25 Jun 2021

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.



Normandie Université

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité CHIMIE

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

Présence et distribution des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques Carbonylés (CO-HAPs) dans les fruits et légumes : mises au point méthodologiques et applications à des jardins potagers urbains

**Présentée et soutenue par
Chaimaa NASSAMER**

**Thèse soutenue publiquement le 15/06/2020
devant le jury composé de**

Mme PAULINE POINOT	Maître de conférences HDR, Université de Poitiers	Rapporteur du jury
M. GUIDO RYCHEN	Professeur des universités, Université de Lorraine	Rapporteur du jury
M. PASCAL CARDINAEL	Professeur des universités, Université Rouen Normandie	Membre du jury
M. MAURICE MILLET	Professeur des universités, Université de Strasbourg	Président du jury
Mme CLAIRE PIFFET	Maître de conférences, Université Caen Normandie	Membre du jury
M. JEROME LEDAUPHIN	Maître de conférences HDR, Université Caen Normandie	Directeur de thèse

Thèse dirigée par JEROME LEDAUPHIN, Aliments bioprocédés toxicologie environnements



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE



Normande de Chimie



Aliments Bioprocédés
Toxicologie Environnements

THESE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité Chimie analytique

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

Présence et distribution des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques Carbonylés (CO-HAPs) dans les fruits et légumes : mises au point méthodologiques et applications à des jardins

Présentée et soutenue par
Chaimaa Nassamer

Thèse soutenue publiquement le 8 Avril 2020 devant le jury composé de		
M. Guido RYCHEN	Professeur des Universités, Université de Lorraine - ENSAIA	Rapporteur
Mme Pauline POINOT	Maître de Conférences, HDR, Université de Poitiers	Rapporteur
M. Maurice MILLET	Professeur des Universités, Université de Strasbourg	Examineur
M. Pascal CARDINAËL	Professeur des Universités, Université de Rouen Normandie	Examineur
Mme Claire LOPEZ	Maître de Conférences, Université de Caen Normandie	Examineur
M. Jérôme LEDAUPHIN	Maître de Conférences, HDR, Université de Caen Normandie	Directeur de thèse

Thèse dirigée par Jérôme LEDAUPHIN, Unité de Recherche « Aliments Bioprocédés Toxicologie Environnements »

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Madame Pauline Poinot et Monsieur Guido Rychen pour le temps consacré à la relecture de ma thèse ainsi que pour leurs remarques et suggestions. Je remercie également Monsieur Maurice Millet, Monsieur Pascal Cardinaël et Madame Claire Lopez d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie également la région Normandie pour m'avoir financée au cours de mes trois années de thèse et sans qui ce projet de recherche n'aurait pas pu voir le jour.

Mes remerciements vont ensuite à Monsieur Alexandre Albinet, de l'INERIS, qui nous a fourni la solution de standards ce qui m'a permise d'avoir une très bonne base de travail pour cette thèse.

Je voudrai aussi remercier infiniment tous les gens qui nous ont ouvert la porte de leur jardin avec beaucoup de générosité et beaucoup d'intérêt pour ce sujet de recherche.

Ma reconnaissance concerne spécialement mon directeur de thèse Jérôme Ledauphin. Un grand merci pour m'avoir fait confiance pour cette thèse. Merci pour ton encadrement, toutes les discussions fructueuses surtout celles dans le couloir du labo, pour ton enthousiasme, ton engagement et surtout ton regard critique envers mon travail de thèse. Merci pour ta patience mise à l'épreuve pendant la rédaction. Mais pas que, je voudrais remercier mon « papa scientifique Jérôme » pour ton écoute, ta compréhension, tes conseils et ton encouragement dans les moments les plus compliqués et tout cela accompagné de la bonne humeur. Sur le plan personnel j'ai été vraiment inspirée par ton côté humain qui restera à tout jamais gravé dans ma mémoire.

Mes remerciements vont ensuite à tous les membres de l'équipe du laboratoire ABTE, ce fut un réel plaisir de travailler à vos côtés. Vous constituez ensemble une petite famille et j'ai eu la chance d'en faire partie. Vous avez tous été présents à un moment ou à un autre durant cette thèse. Merci pour tous les moments et les échanges durant les pauses déjeuner ou café, qui me laissent d'excellents souvenirs.

Dans le désordre : Lydia, Fabienne, Claire, Florence, David et Ridha, pour votre gentillesse et pour tous les bons moments de complicité et de bonne humeur.

A Marielle « ma marraine » pour tes qualités humaines, pour ton soutien, pour ta bienveillance, pour ton humour, pour tes conseils, sans oublier les sorties à la macédoine.

A Benoit « le grand frère » pour ton assistance tant au point scientifique qu'humain, pour tes encouragements, ton immense savoir (toujours une solution ou un conseil), et surtout pour les moments « réparation GC » qui rendaient notre quotidien au labo un peu plus pimenté.

A Mélanie pour ta gentillesse, pour tous les moments conviviaux que tu organisais, pour les sorties variées et les repas partagés qui avaient un impact immense sur mon état d'esprit.

A Vanessa pour ton « bonjour avec sourire chaque matin », ton coup de main très précieux lorsqu'il faut tout finir en une seule journée « mission impossible ».

Je tiens aussi à remercier mes anciens collègues de bureau : Alice « docteur » pour tes conseils, ton soutien et de m'avoir défendu dans les moments critiques, Cosméline pour ton sourire quotidien, ton énergie et ton optimisme.

Et un grand merci à mes deux partenaires de bureau, de galère et d'éclats de rire. Merci à ma petite sœur Ilham pour ton grand cœur, ta tendresse et ton soutien, tes câlins lorsque j'en avais le plus besoin, pour ta bonne humeur et toutes les couleurs d'été que tu dégages même dans les journées les plus grises. Merci pour tous les moments de joie et de frustration qu'on a partagé et surmonté ensemble. Merci à Jean le super collègue au grand cœur, tes réactions impulsives, ton sourire diabolique mais aussi pour ta gentillesse, tes corrections de français et les bons moments de folie intense et tellement drôles. Merci à vous deux pour la bonne ambiance de travail, pour toutes les photos et tous les bons moments partagés dans et hors du bureau.

A mes amis « hors labo » Najlaa, Abdo et Lina pour votre amitié, votre grand soutien pendant cette période, votre encouragement et votre écoute quand j'en ai eu besoin.

Enfin à mes parents, je ne pourrai jamais vous remercier assez pour tous les sacrifices que vous avez fait pour mon instruction et mon bien-être. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer mon immense amour et gratitude pour vous. J'espère avoir réalisé l'un de vos rêves et être à la hauteur de vos espoirs.

A mes sœurs, spécialement Asmaa et Hind, bien qu'elles savaient que j'étais la plus intelligente, elles m'ont toujours encouragée et soutenue pour atteindre mes objectifs. Merci pour votre amour inconditionnel, pour les longues conversations téléphoniques pour m'encourager et me changer les idées chacune à sa manière. A mes petits choux, Diyaa, Yasmine, Sabrina et Adam pour leur gaieté et leur innocence, j'espère que ma thèse sera pour vous source de fierté et que mon parcours vous inspirera.

Un merci tout particulier à mon ami, mon âme sœur et mon compagnon de toujours, Oussama, d'avoir toujours été là à mes côtés, de toujours m'encourager et me pousser vers le haut, d'avoir fait de moi une meilleure personne, de m'accepter dans les bons et les mauvais moments de ces années de travail. Merci pour ton amour et ton sens du sacrifice.

Enfin, j'ai terminé cette aventure, mais pas seule. Je vous remercie tous !

A mes très chers parents, Fatima et Mohammed

Table des matières

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	vi
Liste des abréviations	viii
Introduction générale.....	1
Chapitre 1. Synthèse Bibliographique	5
1.1. Introduction générale.....	7
1.2. Les composés aromatiques polycycliques	9
1.2.1. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs).....	11
1.2.2. Les HAPs carbonylés (CO-HAPs)	12
1.2.2.1. Structure et propriétés physico-chimiques des CO-HAPs	13
1.2.2.2. Origine des CO-HAPs	18
1.2.2.3. Présence et distribution des CO-HAPs dans l'environnement	25
1.2.2.4. Présence et distribution des CO-HAPs dans les aliments.....	34
1.2.2.5. Etudes sur la toxicité des CO-HAPs.....	37
1.3. Méthodes d'analyse (extraction, séparation et détection) des CO-HAPs.....	42
1.3.1. Méthodes d'extraction des CO-HAPs	42
1.3.1.1. Extraction par Soxhlet	43
1.3.1.2. Extraction par liquide pressurisé (PLE).....	45
1.3.1.3. Extraction assistée par les ultra-sons (UAE)	48
1.3.1.4. Extraction assistée par les micro-ondes (MAE).....	51
1.3.1.5. Extraction par méthode QuEChERS « Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe »	52
1.3.1.6. Micro-extraction en phase solide (SPME)	54
1.3.1.7. Micro-extraction en phase liquide (LPME).....	55
1.3.2. Purification	57
1.3.2.1. Extraction en phase solide (SPE)	58
1.3.2.2. Chromatographie d'exclusion stérique (SEC).....	59
1.3.3. Procédures de concentration de l'extrait liquide.....	60
1.3.3.1. Concentration sous flux gazeux.....	60
1.3.3.2. Concentration par évaporateur.....	61
1.3.4. Analyse séparative.....	62
1.3.4.1. Chromatographie en phase gazeuse	62
1.3.4.2. Chromatographie en phase liquide	66
1.3.5. Bilan sur les méthodes d'extraction et d'analyse des CO-HAPs.....	68

Chapitre 2. Matériel et Méthodes.....	71
2.1. <i>Echantillons</i>	73
2.1.1. Fruits et légumes provenant du supermarché	73
2.1.2. Échantillons végétaux récoltés en zone urbaine ou périurbaine	74
2.1.2.1. Échantillons végétaux récoltés en zone urbaine et périurbaine au cours de l'année 2018	74
2.1.2.2. Échantillons végétaux récoltés en zone urbaine et périurbaine au cours de l'année 2019	76
2.2. <i>Exposition des échantillons végétaux à diverses sources de pollution</i>	82
2.2.1. Exposition des échantillons végétaux aux fumées de combustion de biomasse.....	82
2.2.2. Exposition des échantillons végétaux aux émissions de moteur diesel.....	83
2.2.3. Exposition des échantillons végétaux aux émissions d'une chaudière au fioul.....	84
2.3. <i>Solvants et standards</i>	86
2.3.1. Solvants	86
2.3.2. CO-HAPs sélectionnés pour la quantification.....	86
2.3.3. Solution de 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés utilisée pour l'optimisation de la séparation et de la détection des CO-HAPs par GC-MS	87
2.3.4. Solutions préparées à partir de CO-HAPs purs.....	90
2.3.4.1. Solutions de six CO-HAPs.....	90
2.3.4.2. Solutions d'étalon interne	91
2.3.4.3. Solutions de treize CO-HAPs.....	92
2.4. <i>Préparation des échantillons végétaux</i>	94
2.4.1. Préparation et stockage des échantillons végétaux avant extraction	94
2.4.2. Procédure de nettoyage du matériel de préparation d'échantillons.....	94
2.4.3. Mise au point et optimisation de la procédure d'extraction des CO-HAPs par méthodologie QuEChERS	94
2.4.3.1. Choix du solvant d'extraction des CO-HAPs par méthodologie QuEChERS	95
2.4.3.2. Choix du mélange de sels pour l'extraction des CO-HAPs par méthodologie QuEChERS	96
2.4.4. Procédures de concentration des extraits contenant des CO-HAPs	96
2.4.4.1. Concentration sous flux d'azote	97
2.4.4.2. Concentration au moyen d'un évaporateur de type SpeedVacTM.....	97
2.4.5. Choix et optimisation de la méthode de purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs.....	99
2.4.5.1. Purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par dSPE.....	99
2.4.5.2. Purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par MEPS	100
2.4.5.3. Purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par SPE.....	102

2.4.5.4.	Purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par Extraction en Phase Solide de type Polymère à Empreinte Moléculaire (SPE MIP)	105
2.5.	<i>Procédure finale d'extraction et de purification des CO-HAPs : application aux échantillons végétaux issus de jardins potagers urbains ou exposés à plusieurs sources de combustion</i>	107
2.6.	<i>Techniques et méthodes analytiques</i>	108
2.6.1.	Matériel d'analyse (GC-MS).....	108
2.6.1.1.	GC-MS de type « Trappe Ionique »	108
2.6.1.2.	GC-MS de type « quadrupôle »	109
2.6.2.	Méthode optimisée de séparation des CO-HAPs et Nitro-HAPs par GC-MS.....	110
2.6.3.	Méthode réduite de séparation des CO-HAPs par GC-MS.....	113
2.6.4.	Programme complémentaire entre chaque analyse par GC-MS	115
2.7.	<i>Evaluation des performances analytiques de la méthode d'analyse</i>	116
2.7.1.	Taux de recouvrement	116
2.7.2.	Etude du domaine de linéarité	117
2.7.3.	Etude de la fidélité (répétabilité et reproductibilité)	118
2.7.4.	Détermination des limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ).....	119
2.7.5.	Effet potentiel de la « matrice échantillon » sur l'étalonnage.....	119
2.7.6.	Quantification des CO-HAPs dans les échantillons végétaux.....	121
Chapitre 3.	Développement de la stratégie analytique	123
3.1.	<i>Stratégie de quantification des CO-HAPs dans les végétaux</i>	125
3.2.	<i>Séparation et détection des CO-HAPs par GC-MS</i>	126
3.2.1.	Développement de la méthode de séparation des CO-HAPs en GC-MS.....	127
3.2.1.1.	Choix de la phase stationnaire	127
3.2.1.2.	Optimisation du programme de température	128
3.2.1.3.	Débit du gaz vecteur.....	131
3.2.1.4.	Température d'injection.....	131
3.2.2.	Identification des CO-HAPs par GC-MS	133
3.2.2.1.	Analyse en mode ionisation électronique	134
3.2.2.2.	Analyse en mode ionisation chimique	135
3.2.2.3.	Quantification et identification des CO-HAPs	139
3.3.	<i>Extraction des CO-HAPs issus d'échantillons végétaux par méthodologie QuEChERS</i>	140
3.3.1.	Choix des 6 CO-HAPs	141
3.3.2.	Choix du solvant d'extraction.....	142
3.3.3.	Choix du mélange de sels	144
3.3.4.	Comparaison entre l'acétonitrile et l'acétate d'éthyle	146
3.3.5.	Procédure de concentration.....	148

3.4.	<i>Purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs issus d'échantillons végétaux</i>	150
3.4.1.	Purification par dSPE	150
3.4.2.	Purification par MEPS.....	154
3.4.3.	Purification par SPE	157
3.4.3.1.	Purification par SPE au moyen de phases solides « conventionnelles » de type PS-DVB et HLB	157
3.4.3.2.	Purification par SPE au moyen de phases polymériques à empreinte moléculaire (MIP)	160
3.4.3.3.	Comparaison des phases SPE « conventionnelles » et MIP les mieux adaptées à la récupération des CO-HAPs	162
3.5.	<i>Validation de la stratégie globale d'analyse des CO-HAPs dans les végétaux</i>	165
3.5.1.	Taux de recouvrement pour la stratégie globale d'analyse des CO-HAPs à 10 µg/kg	165
3.5.2.	Effet matrice	166
3.5.3.	Fidélité de la stratégie d'analyse à 4 µg/kg (répétabilité et fidélité intermédiaire) ...	168
3.5.4.	Linéarité des gammes d'étalonnage en CO-HAPs pour des concentrations comprises entre 0 et 10 µg/kg.....	169
3.5.5.	Limites de détection et de quantification	172
3.5.6.	Spécificité de la stratégie globale d'analyse vis-à-vis de la récupération d'hydrocarbures aromatiques oxygénés	173
3.6.	<i>Conclusion</i>	175

Chapitre 4. Applications à des végétaux issus de jardins potagers urbains	177
4.1. <i>Présence des CO-HAPs dans les végétaux situés dans des jardins potagers urbains</i>	179
4.1.1. Présence des CO-HAPs dans des salades, tomates et feuilles de tomates issues de jardins potagers urbains normands	180
4.1.2. Différence de composition en CO-HAPs dans des salades, tomates et feuilles de tomates issues de jardins potagers urbains normands.....	185
4.1.2.1. Comparaison globale du contenu en CO-HAPs dans les végétaux.....	185
4.1.2.2. Présence spécifique de CO-HAPs dans les échantillons végétaux.....	187
4.1.2.3. Différence de composition en CO-HAPs selon les sites de production	191
4.1.2.4. Différence de composition en CO-HAPs selon le facteur « Année ».....	195
4.2. <i>Présence des CO-HAPs dans les végétaux exposés à des sources de combustion.....</i>	198
4.2.1. Comparaison de la présence globale en CO-HAPs à partir de sources de combustion	198
4.2.2. Comparaison de la présence globale en CO-HAPs dans différents végétaux suite à des expositions	200
4.2.3. Identification des marqueurs de chaque source de combustion.....	202
4.2.4. Lien entre les sources d'exposition et la présence en CO-HAPs dans les jardins potagers urbains	205
4.3. <i>Conclusion.....</i>	206
Conclusions et perspectives	209
Valorisation	213
Références bibliographiques.....	217
Résumé	249

Liste des figures

Figure 1 : Evolution du nombre d'articles publiés sur les dix dernières années sur les termes OHAPs, Nitro-HAPs et HAPs (https://www.sciencedirect.com).....	7
Figure 2 : Structures chimiques de quelques composés aromatiques polycycliques	9
Figure 3 : Structure de quelques dérivés carbonylés du naphthalène (deux cycles aromatiques).....	13
Figure 4 : Classement du naphthalène et de certains de ses dérivés CO-HAPs en fonction des log Kow croissants.....	15
Figure 5 : Produits de photodégradation du phénanthrène en présence d'oxygène à 254 nm (Barbas et al., 1996).....	20
Figure 6 : Produits de photodégradation du benzo[a]pyrène en présence d'oxygène (Calvert et al. 2002)	20
Figure 7 : Mécanisme de photooxydation de l'antracène en solution aqueuse sous rayonnement solaire simulé (Mallakin et al. 2000)	21
Figure 8 : Mécanismes de réaction pour l'acénaphthylène et l'acénaphthène en phase gazeuse avec les radicaux OH* (Atkinson et al. 1989; Atkinson et Arey 1994).....	22
Figure 9 : Mécanismes proposés pour la réaction de l'adduit naphthalène-OH avec les espèces atmosphériques O ₂ , NO et HO ₂ selon Qu et al. (Qu et al. 2006).....	23
Figure 10 : Produit de dégradation de l'acénaphthylène par l'action de <i>Acinetobacter</i> sp. souche AGAT-W selon Ghosal et al. (Ghosal et al. 2013)	25
Figure 11 : Répartition des CO-HAPs entre la phase gazeuse et la phase particulaire de l'atmosphère selon leur concentration moyenne (en pg/m ³) sur l'année 2013 à Grenoble - France (Tomaz et al. 2016)	26
Figure 12 : Concentrations moyennes en OHAPs totaux (en ng/m ³) selon la saison dans l'atmosphère de certaines villes européennes.....	29
Figure 13 : Concentrations maximales en CO-HAPs déterminées dans des sols agricoles et témoins situés sur la côte Atlantique de l'Argentine selon Wilcke et al. (Wilcke et al. 2014a).....	32
Figure 14 : Histogramme empilé comparant le pourcentage de contribution de la concentration de chaque CO-HAPs à la somme totale des concentrations en CO-HAPs pour 5 sites d'échantillonnage de la rivière Willamette aux Etats-Unis, résultats selon Tidwell et al. (Tidwell et al. 2017)	34
Figure 15 : Dommages causés à l'ADN d'embryons d' <i>Oryzias latipes</i> après 7 jours d'exposition à 2 CO-HAPs et 3 HAPs (à 10 µg/L).....	39

Figure 16 : Formules chimiques des adsorbants ou phases rétentives les plus utilisés en dSPE après méthodologie QuEChERS	53
Figure 17 : Formules chimiques des supports de type aminopropyl et florisil® utilisés en SPE	59
Figure 18 : Principe de fonctionnement de l'analyseur quadripolaire.....	65
Figure 19 : Localisation des sites de prélèvement de la première campagne (Année 2018) à Caen et sa proche banlieue (IGN 2019 geoportail).....	75
Figure 20 : Photographies de différents sites prises au cours de la première campagne de prélèvement à Caen (Année 2018)	76
Figure 21 : Localisation des sites de prélèvement de la deuxième campagne (Année 2019) à Rouen	79
Figure 22 : Localisation des sites de prélèvement de la deuxième campagne (Année 2019) au Havre	80
Figure 23 : Photographies de différents sites (jardins potagers) prises au cours de la deuxième campagne de prélèvement à Rouen et au Havre (Année 2019)	81
Figure 24 : Illustrations du montage utilisé pour l'exposition intentionnelle des échantillons végétaux aux fumées de combustion de biomasse (3 h).....	83
Figure 25 : Illustrations du montage utilisé pour l'exposition intentionnelle des échantillons végétaux (3 h) aux gaz d'échappement d'un moteur diesel.....	84
Figure 26 : Illustrations du montage utilisé pour l'exposition intentionnelle des échantillons végétaux (3 h) aux émissions d'une chaudière au fioul.....	85
Figure 27 : Structure chimique des six CO-HAPs sélectionnés pour mener à l'optimisation des phases d'extraction et de purification.....	91
Figure 28 : Structure chimique des deux étalons internes utilisés pour la quantification.....	92
Figure 29 : Structure chimique des sept CO-HAPs supplémentaires contenus dans la solution de treize CO-HAPs	93
Figure 30 : Illustrations de l'évaporateur sous vide « SpeedVac™ » utilisé pour la concentration des extraits.....	98
Figure 31 : Schéma de la procédure de purification d'extraits QuEChERS de carotte par micro-extraction par solide compacté (MEPS).....	102
Figure 32 : Photographie du montage Visiprep utilisé pour la purification d'extraits QuEChERS par SPE	103
Figure 33 : Illustration de la procédure de purification par extraction en phase solide (SPE) au moyen des supports solides HLB et PS-DVB.....	104
Figure 34 : Chromatographe en phase gazeuse (GC-Varian™) et spectromètre de masse à piège d'ions (MS-Saturn™).....	109

Figure 35 : Chromatographe en phase gazeuse (GC) et spectromètre de masse quadripolaire (MS) Shimadzu	110
Figure 36 : Programme de température du four de la GC pour la méthode optimisée de séparation des CO-HAPs et Nitro-HAPs par GC-MS	111
Figure 37 : Programme de température du four de la GC pour la méthode réduite de séparation des CO-HAPs en GC-MS	114
Figure 38 : Schéma d'évaluation de l'effet lié à la « matrice échantillon » présentant les limites d'acceptabilité des pentes obtenues	121
Figure 39 : Chromatogramme obtenu en GC-MS pour l'analyse de la solution contenant 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés à 1 mg/L dans l'acétonitrile au moyen du programme de température optimisé	130
Figure 40 : Chromatogrammes obtenus par GC-MS pour la solution contenant 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés au moyen de débits du gaz vecteur de 1,5 mL/min (a) et de 1 mL/min (b)	131
Figure 41 : Effet de la température d'injection sur la réponse chromatographique des Nitro-HAPs et CO-HAPs sélectionnés. Figure issue des travaux d'Albinet et al. (Albinet, 2014)	132
Figure 42 : Chromatogrammes GC-MS superposés du mélange contenant 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés pour des températures d'injection de 140°C (en noir) et 180°C (en rose)	133
Figure 43 : Spectre de masse de la 9-fluorénone en mode ionisation électronique	134
Figure 44 : Spectre de masse de la 9-fluorénone en mode ionisation chimique (liquide réactant : acétonitrile)	135
Figure 45 : Schéma synthétisant le protocole d'optimisation de la méthode QuEChERS pour l'extraction des CO-HAPs dans les fruits et légumes	141
Figure 46 : Comparaison de la réponse obtenue pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction du solvant d'extraction utilisé.....	143
Figure 47 : Comparaison de la réponse obtenue pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de l'utilisation ou non d'un mélange de sels	145
Figure 48 : Comparaison du rapport signal/bruit obtenu pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de l'utilisation ou non d'un mélange de sels	146
Figure 49 : Comparaison de la réponse obtenue pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de l'utilisation de l'acétonitrile ou de l'acétate d'éthyle	147
Figure 50 : Comparaison des rapports signal/bruit obtenus pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone par utilisation d'acétonitrile ou d'acétate d'éthyle avec ajout du mélange de sels 1	148

Figure 51 : Comparaison de la réponse obtenue pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de la procédure de concentration	149
Figure 52 : Comparaison des réponses obtenues pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de l'utilisation ou non de la dSPE.....	152
Figure 53 : Comparaison des rapports signal/bruit obtenus pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de l'utilisation ou non de la dSPE	153
Figure 54 : Comparaison des réponses obtenues pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de la phase stationnaire utilisée en MEPS.....	155
Figure 55 : Structures chimiques des phases solides utilisées pour la purification par SPE « conventionnelle » ((a) phase polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB) ; (b) phase polymérique de type HLB)	158
Figure 56 : Comparaison des aires relatives obtenues pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone après purification par SPE au moyen de phases solides de type HLB et PS-DVB	158
Figure 57 : Comparaison des rapports signal/bruit obtenus pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de la phase solide utilisée par SPE « conventionnelle »	159
Figure 58 : Schéma représentant une cartouche d'Extraction en Phase Solide (SPE) contenant une phase solide de type « polymère à empreinte moléculaire (MIP) »	160
Figure 59 : Comparaison des aires relatives obtenues pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone après purification par SPE au moyen de phases solides de type MIP Phénoliques et MIP HAP	161
Figure 60 : Rendements en CO-HAPs ciblés par SPE pour un extrait QuEChERS de broyat de carotte après purification par SPE au moyen de phases de type HLB et MIP Phénoliques (n=3)	162
Figure 61 : Comparaison des rapports signal/bruit obtenus pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone après purification par SPE au moyen de phases solides de type MIP Phénoliques et MIP HAP.....	163
Figure 62 : Carte de contrôle pour l'évaluation d'un potentiel effet matrice pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone pour 11 échantillons végétaux différents	167
Figure 63 : Droites d'étalonnage pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone pour des ajouts compris entre 0 et 10 µg/kg à un broyat de salade	170
Figure 64 : Chromatogramme en mode full scan (ionisation électronique) d'un échantillon de peau de courgette exposé à une combustion de biomasse.....	174
Figure 65 : Boîte à moustaches des teneurs totales en 9 CO-HAPs (µg/kg) dans les échantillons de salade tomate et feuilles de tomates issus des jardins potagers urbains (Année 2019, n=7)	186

Figure 66 : Analyse en composantes principales (graphique d'observation et de variables) basée sur la concentration de 6 CO-HAPs dans les échantillons végétaux des jardins potagers urbains.....	187
Figure 67 : Comparaison de la concentration totale des CO-HAPs quantifiés dans les échantillons de tomates et de feuilles de tomates (année 2019)	189
Figure 68 : Corrélation pour la concentration en 9-fluorénone dans les feuilles de tomates et dans les tomates	190
Figure 69 : Boîte à moustaches des teneurs totales en CO-HAPs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) dans les trois échantillons végétaux (tomates, salade, feuilles de tomates) issus des jardins potagers urbains	191
Figure 70 : Localisation des sites de prélèvement de la deuxième campagne (Année 2019) à Caen, Rouen et Le Havre	192
Figure 71 : Analyse en composantes principales (graphique d'observation) basée sur la concentration de 6 CO-HAPs (dont LOQ < 0,16 $\mu\text{g}/\text{kg}$) selon le lieu de prélèvement dans les échantillons végétaux des jardins potagers urbains.....	194
Figure 72 : Concentrations totales en CO-HAPs quantifiés dans les végétaux issus du jardin potager urbain « Caen 3 » pour les années 2018 et 2019.....	195
Figure 73 : Analyse en composantes principales (graphique d'observation) basée sur la concentration de 6 CO-HAPs dans les échantillons végétaux issu du jardin Caen 3 (année 2018 et 2019).....	196
Figure 74 : Teneurs totales en 11 CO-HAPs quantifiés (\sum 11 CO-HAPs) dans les échantillons de tomate et de salade exposés à des fumées de combustion de biomasse, à des émissions de moteur diesel et à des émissions de chaudière au fioul	199
Figure 75 : Pourcentages en concentration totale des CO-HAPs quantifiés dans 9 végétaux exposés aux émissions de combustion de biomasse et de chaudière au fioul	201

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste des 16 HAPs déclarés prioritaires par l'US-EPA et l'AEE.....	11
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du naphthalène et de ses dérivés carbonylés.....	14
Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques de CO-HAPs possédant une seule fonction cétone.....	17
Tableau 4 : Concentrations pour 5 CO-HAPs majoritaires déterminées dans l'atmosphère de plusieurs villes dans le monde (en ng/m ³).....	28
Tableau 5 : Concentrations pour 6 CO-HAPs majoritaires déterminées dans plusieurs types de sols (industriels, urbains, agricoles ou témoin) (en µg/kg)	31
Tableau 6 : Concentrations en CO-HAPs dans plusieurs aliments (en µg/kg).....	36
Tableau 7 : Applications de l'extraction par Soxhlet pour l'analyse de CO-HAPs.....	44
Tableau 8 : Applications de l'extraction par liquide pressurisé (PLE) à l'extraction des CO-HAPs.....	46
Tableau 9 : Applications de l'Extraction assistée par les ultra-sons (UAE) à l'extraction des CO-HAPs	50
Tableau 10 : Applications de l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) à l'extraction des CO-HAPs	52
Tableau 11 : Applications de la méthodologie QuEChERS à l'extraction des CO-HAPs	54
Tableau 12 : Applications de la SPE pour l'extraction des CO-HAPs issus d'échantillons liquides.....	59
Tableau 13 : Caractéristiques des fruits et légumes, provenant du supermarché, utilisés pour la mise au point de la stratégie de détermination des CO-HAPs	73
Tableau 14 : Caractéristiques des échantillons et des lieux de prélèvement (Année 2018)	74
Tableau 15 : Caractéristiques des échantillons et des lieux de prélèvement (Année 2019)	77
Tableau 16 : Liste des 13 CO-HAPs sélectionnés pour être quantifiés.....	87
Tableau 17 : Liste des 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés présents dans la solution utilisée pour l'optimisation de la séparation et de la détection des CO-HAPs par GC-MS.....	88
Tableau 18 : Paramètres optimisés de la procédure de purification par extraction en phase solide (SPE) au moyen des supports solides HLB et PS-DVB.....	105
Tableau 19 : Paramètres optimisés de la procédure de purification par extraction en phase solide (SPE) au moyen des supports solides MIP HAP et MIP Phénoliques.....	106

Tableau 20 : Segments de temps et rapports m/z ciblés en GC-MS pour la méthode de séparation optimisée des CO-HAPs et Nitro-HAPs.....	111
Tableau 21 : Segments de temps et rapports m/z ciblés en GC-MS pour la méthode de séparation réduite des CO-HAPs	114
Tableau 22 : Programme de température du four de la GC développé par Albinet et al.....	128
Tableau 23 : Programme de température optimisé pour la séparation des 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés.....	129
Tableau 24 : Temps de rétention (t_R) et rapports m/z caractéristiques obtenus en modes ionisation électronique (EI) et ionisation chimique (CI) pour la solution contenant 64 composés aromatiques oxygénés et nitrés	136
Tableau 25 : Constante diélectrique des cinq solvants d'extraction testés.....	142
Tableau 26 : Estimation du pourcentage de récupération des CO-HAPs pour la procédure d'extraction et de purification QuEChERS-dSPE	151
Tableau 27 : Taux de recouvrement estimés en CO-HAPs après purification d'un extrait de carotte par MEPS utilisant une phase stationnaire C18.....	156
Tableau 28 : Taux de recouvrement déterminés pour la stratégie globale d'analyse pour une concentration ajoutée de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (broyat de carotte)	166
Tableau 29 : Coefficients de variation (CV) des essais de répétabilité et de fidélité intermédiaire pour la détermination des CO-HAPs dans la pomme pour l'ensemble de la stratégie d'analyse	168
Tableau 30 : Équations des droites d'étalonnage pour chacun des 12 CO-HAPs sélectionné pour la quantification	171
Tableau 31 : Limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) pour 12 CO-HAPs dans la salade par méthodologie QuEChERS – SPE.....	172
Tableau 32 : Liste des 29 CO-HAPs évalués ; concentrations médiane et maximale trouvées dans les échantillons végétaux situés dans des jardins potagers urbains	183
Tableau 33 : Médiane des concentrations déterminées (ou aire relative) pour chaque CO-HAP dans les échantillons végétaux exposés aux trois sources de combustion (combustion de biomasse, émissions de moteur diesel et émissions de chaudière au fioul)	203

Liste des abréviations

ACN	Acétonitrile
AEE	Agence Européenne pour l'Environnement
APCI	Ionisation Chimique à Pression Atmosphérique/ Atmospheric Pressure Chemical Ionization
API	Ionisation à Pression Atmosphérique / Atmospheric Pressure Ionization
CAP	Composés Aromatiques Polycycliques
CI	Ionisation Chimique / Chemical Ionization
CO-HAMs	Hydrocarbures Aromatiques Monocycliques carbonylés
CO-HAPs	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques Carbonylés
DCM	Dichlorométhane
DHS	Hydrogénocitrate Disodique Sesquihydraté / Disodium Hydrogen citrate Sesquihydrate
DI-SPME	Immersion Directe par Microextraction en Phase Solide / Direct Immersion Solid Phase Micro-Extraction
DLLME	Microextraction Liquide-Liquide Dispersive / Dispersive Liquid-Liquid Microextraction
dSPE	Extraction en Phase Solide Dispersive / Dispersive Solid-Phase Extraction
DVB	Polystyrène-Divinylbenzène
EI	Ionisation Electronique / Electron Ionization
US-EPA	Agence de Protection de l'Environnement des États-Unis / Unites States Environmental Protection Agency
GC	Chromatographie en Phase Gazeuse / Gas Chromatography
GCB	Noir de Carbone Graphite / Graphitized Carbon Black
GFC	Chromatographie par Filtration sur Gel/ Gel Filtration Chromatography

HAPs	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
HRMS	Spectrométrie de Masse à Haute Résolution / High Resolution Mass Spectrometry
HS-SMPE	Microextraction en Phase Solide par Espace de Tête / Headspace Solid-Phase Microextraction
IARC	Centre International de Recherche sur le Cancer / International Agency for Research on Cancer
id	Diamètre interne / internal diameter
IT	Trappe à Ions / Ion Trap
Koa	Rapport de distribution (coefficient de partage) entre l'octanol et l'air
Koc	Rapport de distribution (coefficient de partage) entre le carbone organique et l'eau
Kow	Rapport de distribution (coefficient de partage) entre l'octanol et l'eau
LC	Chromatographie Liquide / Liquid Chromatography
LLE	Extraction Liquide-Liquide / Liquid-Liquid Extraction
LOD	Limite de Détection
LOQ	Limite de Quantification
LPME	Micro-Extraction en Phase Liquide / Liquid-Phase MicroExtraction
<i>m/z</i>	masse/charge
MAE	Extraction Assistée par Micro-Ondes / Microwave-Assisted Extraction
MeOH	Méthanol
MM	Masse Molaire
MRM	Mode d'isolement d'ions à partir de plusieurs ions précurseurs / Multiple Reaction Monitoring
MS	Spectrométrie de Masse / Mass Spectrometry
Nitro-HAPs	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques Nitrés
OHAPs	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques Oxygénés

OH-HAPs	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques Hydroxylés
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OTM	Moment Caudal / Olive Tail Moment
PA	Polyacrylate
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PLE	Extraction par Solvant Pressurisé / Pressurized Liquid Extraction
PM	Particules en Suspension / Particulate Matter
PSA	Amine Primaire et Secondaire / Primary Secondary Amine
PTV	Injecteur à Température Programmée / Programmed Temperature Vaporization Injector
Q	Quadripôle
QqQ	Triple quadripôle
QuEChERS	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe
Rapport S/N	Rapport Signal/Bruit / Signal to Noise Ratio
rpm	Nombre de Tours par Minute
ROS	Espèces Réactives de l'Oxygène / Reactive Oxygen Species
RSD	Coefficient de Variation / Relative Standard Deviation
SDME	Micro-Extraction sur une Goutte / Single Drop Micro-Extraction
SEC	Chromatographie d'Exclusion Stérique / Size Exclusion Chromatography
SFO	Solidification de Gouttelettes Organiques Flottantes / Solidification of Floating Organic Droplets
SIM	Mode de détection par Sélection d'Ions / Single Ion Monitoring
SIS	Mode de détection par Sélection d'Ions (pour Trappe à Ions) / Selected Ion Storage
SPE	Extraction en Phase Solide / Solide Phase Extraction
SPME	Micro-extraction en Phase Solide / Solid Phase Micro-Extraction

TEF	Facteur d'Equivalence Toxique / Toxic Equivalency Factor
TSCD	Citrate Trisodique Dihydraté / TriSodium Citrate Dihydrate
UAE	Extraction Assistée par les Ultra-Sons / Ultrasound-Assisted-Extraction
UHPLC	Chromatographie Liquide à Ultra Hautes Performances / Ultra High Performance Liquid Chromatography

Introduction générale

La pollution de l'environnement correspond à un enjeu majeur de santé publique. La forte croissance de l'industrialisation et de l'urbanisation en sont les responsables majeurs. Cependant, la pollution atmosphérique semble diminuer (de 10 à 70 % selon le type de polluant) dans toute l'Europe au cours des dernières décennies, en conséquence de la législation européenne sur la qualité de l'air (directives de 2004 et de 2008). Néanmoins, dans son dernier rapport publié en novembre 2019, la commission européenne concluait que la pollution de l'air est à l'origine de plus de 400 000 décès prématurés (avant l'âge de l'espérance de vie) chaque année dans l'ensemble des pays de l'Union Européenne. Un nombre largement sous-estimé selon une étude publiée dans « l'European Heart Journal », qui, selon ses auteurs, la pollution atmosphérique serait à l'origine d'environ 800 000 morts prématurées en Europe chaque année et environ 8,8 millions dans le monde.

La pollution atmosphérique est due à la présence de polluants d'origine naturelle ou anthropique. Les principaux polluants atmosphériques sont groupés en plusieurs grandes familles :

- les oxydes (de carbone, de soufre, d'azote, ...),
- les métaux (plomb, mercure, cadmium, ...),
- les particules (PM10 et PM2.5, ...),
- les composés organiques volatils (aldéhydes, hydrocarbures possédant un ou plusieurs cycles aromatiques, ...),
- etc, ...

Parmi les différentes familles de polluants atmosphériques, les composés aromatiques polycycliques ont présenté un intérêt croissant au cours des dernières décennies. Ces polluants incluent les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les hydrocarbures aromatiques polycycliques substitués nitrés (Nitro-HAPs) et oxygénés (OHAPs) (dont les HAPs hydroxylés (OH-HAP) et carbonylés (CO-HAPs)). Les HAPs constituent le groupe de polluants le plus étudié. Compte tenu de la toxicité élevée des HAPs et de leur caractère cancérigène et mutagène, leur concentration dans l'air est surveillée et suivie régulièrement dans de nombreux pays. De plus, des réglementations françaises (à

partir des directives européennes) sont appliquées pour les HAPs considérés comme prioritaires par les agences de santé internationales. Cependant, d'autres composés aromatiques polycycliques, comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés (CO-HAPs), sont largement moins étudiés et ne sont pas encore réglementés. Néanmoins depuis quelques années, les CO-HAPs attirent de plus en plus l'attention de la communauté scientifique. Ces composés sont organiques et semi-volatils et plusieurs d'entre eux sont reconnus comme toxiques, mutagènes direct, et soupçonnés d'être cancérigènes (classés dans le groupe 2B par l'IARC comme possiblement cancérigène pour l'humain). Les CO-HAPs sont formés majoritairement lors de processus de combustion incomplète de la matière organique suite à des activités anthropiques telles que le chauffage, les industries, le transport, etc. Ils sont aussi formés de façon secondaire à travers l'oxydation des hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Une fois émis dans l'atmosphère, les CO-HAPs (à l'état gazeux ou associés aux particules) peuvent se déposer par dépôt sec ou humide et contaminer les sols, les eaux et les végétaux. Plusieurs études ont porté sur la présence des CO-HAPs dans l'atmosphère, dans les sols ou dans les milieux aquatiques. Cependant, leur présence dans les aliments a été beaucoup moins évaluée et à notre connaissance, il n'existe pas d'étude sur leur présence dans les fruits et les légumes. La conséquence la plus inquiétante de la contamination des végétaux comestibles est l'augmentation des voies d'exposition humaine à travers l'ingestion d'éventuels produits alimentaires contaminés. La contamination des végétaux par les CO-HAPs dépend du niveau de pollution du site de croissance. Les végétaux cultivés dans les zones urbaines sont plus susceptibles d'être contaminés et donc de contenir des CO-HAPs.

Depuis la fin du XIX^e siècle, l'agriculture urbaine est apparue avec des jardins potagers familiaux, appelés aussi jardins collectifs ou jardins ouvriers, mis à la disposition des habitants par les municipalités. Cette nouvelle forme d'agriculture s'est développée progressivement suite à la prise de conscience de la population des risques sanitaires liés aux produits chimiques utilisés pour l'agriculture intensive. L'agriculture urbaine, selon l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), permettrait d'améliorer la qualité des aliments et de diminuer les problèmes de sécurité alimentaire. Cependant, l'impact de l'environnement urbain sur les végétaux est à ce jour encore peu étudié et nécessite des investigations permettant d'écarter de potentielles contaminations issues de l'air ou de sols pollués.

Dans ce contexte, ce travail de thèse vise à vérifier la présence des CO-HAPs dans les végétaux issus de l'agriculture urbaine en développant une méthodologie d'analyse permettant de les détecter et de les quantifier à l'état de traces et voire même d'ultra-traces.

Le premier chapitre (synthèse bibliographique) est consacré à une description générale des hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés et à leurs propriétés physico-chimiques. Leur présence et distribution dans l'environnement et dans les aliments ainsi que leur toxicité associée seront discutées. Ce chapitre sera orienté dans une deuxième partie sur les différentes méthodes d'extraction, de purification et d'analyse disponibles dans la littérature pour la détermination de ces composés.

Le deuxième chapitre (matériel et méthodes) décrit les lieux des échantillonnage (jardins potagers urbains), les procédures d'exposition des végétaux aux sources de pollution, ainsi que les méthodologies et l'instrumentation permettant la détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés dans les fruits et légumes. Une dernière partie est consacrée aux procédures mises en place pour l'évaluation des performances de la stratégie globale d'analyse.

Le troisième chapitre fait état des résultats obtenus dans le cadre du développement de la stratégie d'analyse des CO-HAPs. Les choix expérimentaux seront argumentés dans le cadre de ce développement et les résultats obtenus en termes de taux de recouvrement, d'effet de matrice, de fidélité, de linéarité, de sensibilité et de spécificité seront présentés et discutés.

Le quatrième chapitre est consacré dans un premier temps à la présentation et à l'interprétation des résultats d'application de la stratégie globale d'analyse aux fruits et légumes prélevés dans des jardins potagers urbains situés en région Normandie. Une discussion du patrimoine en CO-HAPs dans les échantillons sera réalisée en fonction du type de végétal étudié, du lieu de récolte et de l'année de prélèvement. La dernière partie de ce chapitre concernera des expositions des fruits et légumes à des sources de combustion (fumées de combustion de biomasse, émissions de moteur diesel et émissions de chaudière au fioul).

Enfin, nous aborderons les conclusions de ce travail de thèse ainsi que les perspectives associées.

Chapitre 1. Synthèse Bibliographique

1.1. Introduction générale

Une grande quantité de produits volatils et semi-volatils toxiques est libérée quotidiennement dans l'atmosphère en raison de l'activité humaine (circulation routière, combustion de biomasse, ...). L'exposition à ces composés par inhalation implique des risques sérieux pour la santé humaine. Ils sont, de plus, susceptibles de s'adsorber sur les végétaux proches des sources de pollution. Un des groupes de polluants le plus étudié est celui des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs). Ces produits semi-volatils peuvent être émis lors de la combustion incomplète de la matière organique. Une fois libérés dans l'atmosphère, ils peuvent subir des réactions photochimiques ou radicalaires (Walgraeve et al., 2010) formant des produits substitués secondaires.

Plusieurs hydrocarbures aromatiques polycycliques substitués ont été identifiés ces dernières années dans la composition physico-chimique de l'atmosphère tels que des HAPs nitrés et oxygénés. La communauté scientifique porte un intérêt croissant pour ces composés comme en témoigne la Figure 1 qui précise le nombre d'articles publiés ces dix dernières années sur les HAPs et les HAPs substitués tels que les Nitro-HAPs et les OHAPs.

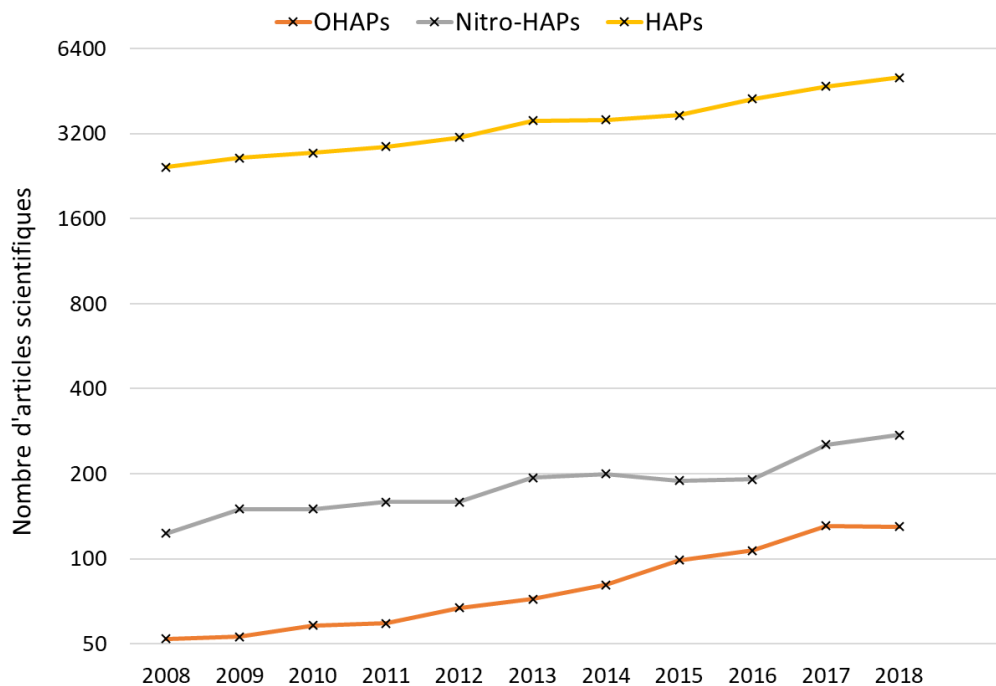


Figure 1 : Evolution du nombre d'articles publiés sur les dix dernières années sur les termes OHAPs, Nitro-HAPs et HAPs (<https://www.sciencedirect.com>)

Là où les recherches existent depuis de très nombreuses années sur les HAPs (environ 3200 articles publiés chaque année sur le sujet), les recherches spécifiques aux Nitro-HAPs (2 fois plus d'articles publiés entre 2008 et 2018) et celles aux OHAPs (2 fois plus d'articles publiés entre 2008 et 2018) sont en très forte émergence.

Dans cette introduction bibliographique, une présentation de la famille des composés aromatiques polycycliques (CAP) sera réalisée dans un premier temps. Ensuite, l'attention sera portée particulièrement sur les hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés (CO-HAPs), leurs principales caractéristiques (structure et propriétés physico-chimiques) et leur origine. Dans un second temps, la présence et la distribution des hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés dans les différents compartiments de l'environnement seront évoquées. Ensuite leur présence et distribution dans les aliments ainsi que leur toxicité seront abordées. Enfin, la dernière partie de cette introduction bibliographique présentera les différentes méthodes d'extraction, de purification et d'analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés.

1.2. Les composés aromatiques polycycliques

Les composés aromatiques polycycliques (CAP) appartiennent à une famille de composés chimiques comprenant au moins deux noyaux aromatiques accolés. Il existe une grande variété de CAP parmi lesquels on peut citer : les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les hydrocarbures aromatiques hétérocycliques, ou encore les hydrocarbures aromatiques polycycliques substitués (nitrés (Nitro-HAPs), oxygénés (OHAPs) dont les HAPs hydroxylés (OH-HAP) et carbonylés (CO-HAPs), ...) (Figure 2).

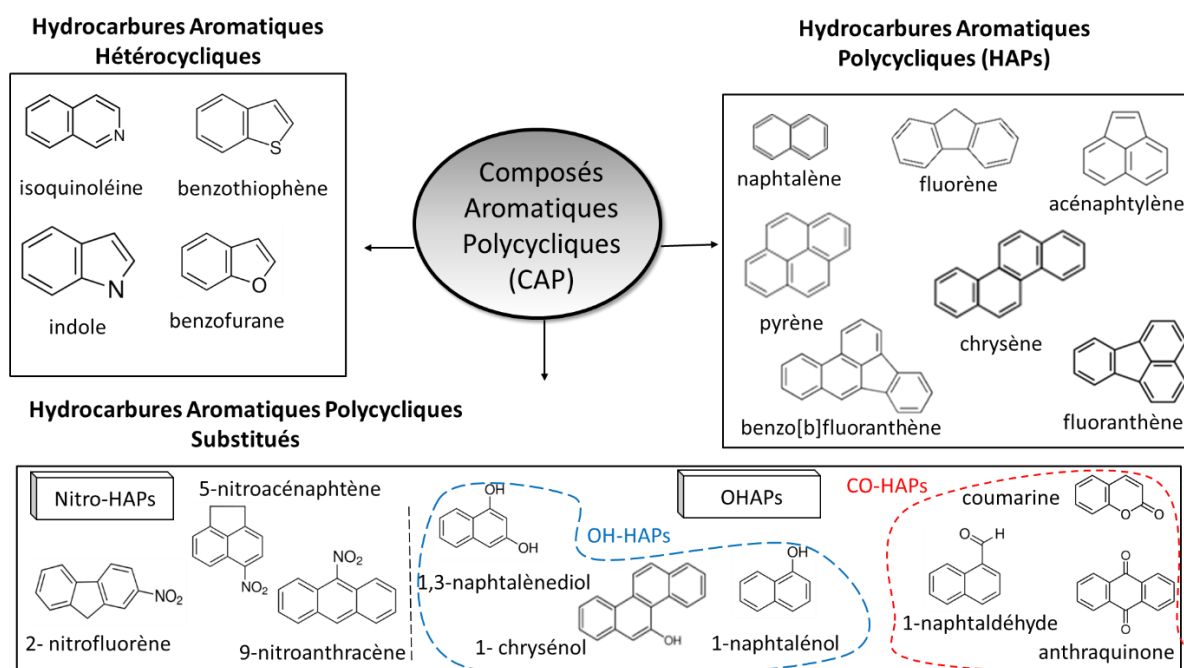


Figure 2 : Structures chimiques de quelques composés aromatiques polycycliques

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)

Les HAPs constituent une famille de composés chimiques contenant au moins deux noyaux aromatiques accolés ; ils sont exclusivement constitués de carbone et d'hydrogène. Une description plus précise des HAPs est reportée ultérieurement dans ce manuscrit (partie 1.2.1).

Les hydrocarbures aromatiques hétérocycliques

Les composés aromatiques hétérocycliques sont des composés pour lesquels le squelette d'un des cycles aromatiques est constitué d'au moins deux atomes différents. L'hétérocycle est généralement constitué de 5 ou 6 éléments et l'hétéroatome peut être l'azote, l'oxygène, le soufre ... Parmi les hydrocarbures aromatiques hétérocycliques, on retrouve notamment :

- La quinoléine (hétérocycle aromatique de type « pyridine » à 6 éléments contenant un atome d'azote)
- Le benzofurane (hétérocycle aromatique de type « furane » à 5 éléments contenant un atome d'oxygène)
- L'indole (hétérocycle aromatique de type « pyrrole » à 5 éléments contenant un atome d'azote)
- Le benzothiophène (hétérocycle aromatique de type « thiophène » à 5 éléments contenant un atome de soufre)

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques substitués

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques substitués sont de nature très diverse. Dans l'environnement, plusieurs d'entre-eux sont susceptibles de provenir de la transformation de HAPs. On peut citer parmi ces composés :

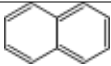


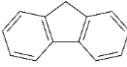
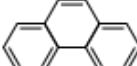
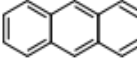
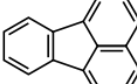
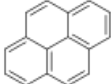
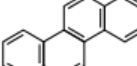
- Les hydrocarbures aromatiques polycycliques nitrés (Nitro-HAPs), qui font partie de la famille « large » des hydrocarbures aromatiques polycycliques azotés (NHAPs)
- Les hydrocarbures aromatiques polycycliques hydroxylés (OH-HAPs) ou possédant une fonction carbonyle (CO-HAPs), qui font partie de la famille « large » des hydrocarbures aromatiques polycycliques oxygénés (OHAPs)

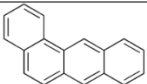
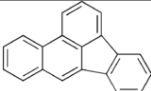
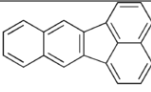
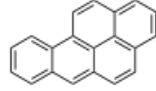
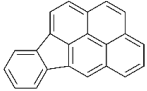
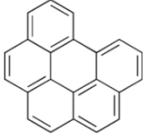
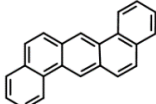
Dans ce travail l'attention sera portée plus particulièrement sur les hydrocarbures aromatiques polycycliques possédant une ou plusieurs fonction(s) carbonyle (CO-HAPs) ; ils feront l'objet d'une description plus précise en partie 1.2.2.

1.2.1. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)

Les HAPs, constitués exclusivement de carbone et d'hydrogène, sont considérés comme des molécules apolaires avec un caractère hydrophobe croissant avec le nombre de cycles aromatiques. Ces composés chimiques sont les plus étudiés en raison de leurs caractères cancérigène et mutagène avérés. L'impact des HAPs sur la santé humaine dépend de leur concentration, de la voie d'exposition et de leur toxicité relative. Ils sont cancérigènes et provoquent des mutations cellulaires (Abdel-Shafy et Mansour 2016). Seize HAPs (Tableau 1) ont été placés sur la liste des polluants prioritaires par l'agence de protection de l'environnement des États-Unis (US-EPA), par l'Union Européenne (Agence Européenne pour l'Environnement, AEE) et par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) (IARC, 2010, 2012).

Tableau 1 : Liste des 16 HAPs déclarés prioritaires par l'US-EPA et l'AEE

HAPs		Classe IARC ^a	Masse molaire (g/mol)	CAS
Naphtalène		2B	128,19	91-20-3
Acénaphène		3	154,21	83-32-9
Acénaphthylène		-	152,20	208-96-8
Fluorène		3	166,22	86-73-7
Phénanthrène		3	178,23	85-01-8
Anthracène		3	178,23	120-12-7
Fluoranthène		3	202,26	206-44-0
Pyrène		3	202,26	129-00-0
Chrysène		2B	228,29	218-01-9

Benzo[a]anthracène		2B	228,29	56-55-3
Benzo[b]fluoranthène		2B	252,31	205-99-2
Benzo[k]fluoranthène		2B	252,31	207-08-9
Benzo[a]pyrène		1	252,31	50-32-8
Indéno[1,2,3-cd]pyrène		2B	276,34	193-39-5
Benzo[ghi]pérylène		3	276,34	191-24-2
Dibenzo[ah]anthracène		2A	278,35	53-70-3

^a Classe IARC : classe proposée par le Centre International de Recherche sur le Cancer (IARC) avec :

Classe 1 : agent cancérigène pour l'homme

Classe 2A : agent est probablement cancérigène pour l'homme

Classe 2B : agent pouvant être cancérigène pour l'homme

Classe 3 : agent inclassable quant à sa cancérogénicité pour l'Homme

1.2.2. Les HAPs carbonylés (CO-HAPs)

Les HAPs carbonylés (CO-HAPs) sont susceptibles d'être des composés de substitution des HAPs, ils contiennent une fonction carbonyle (C=O) liée à la structure aromatique des HAPs et appartiennent à la famille plus large des HAPs oxygénés (OHAPs) (Lundstedt et al. 2007 ; Walgraeve et al. 2010) (Figure 3).

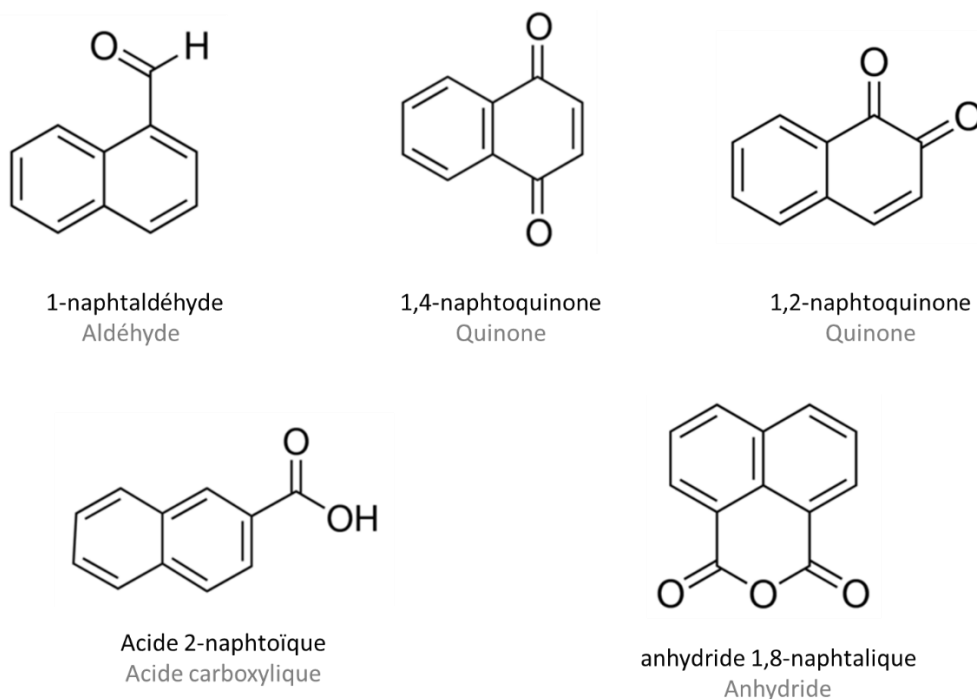


Figure 3 : Structure de quelques dérivés carbonylés du naphtalène (deux cycles aromatiques)

Les CO-HAPs sont très nombreux et différents et possèdent des fonctionnalités de type cétone, quinone, anhydride, aldéhyde ou encore acide carboxylique. Certaines études ont montré que les OHAPs sont éventuellement plus toxiques que leurs HAPs parent (Walgraeve et al. 2010). Les CO-HAPs les plus souvent rencontrés dans l'environnement sont majoritairement des cétones et des quinones (Layshock et al. 2010; Delgado-Saborit et al. 2013).

1.2.2.1. Structure et propriétés physico-chimiques des CO-HAPs

Les CO-HAPs sont généralement moins volatils que les HAPs possédant un même nombre de cycles aromatiques. Leur tension de vapeur saturante (Tableau 2), paramètre affectant leur répartition entre la phase gazeuse et la phase particulaire dans l'atmosphère, est inversement proportionnelle à la masse molaire et bien inférieure à 1 Pa dans les conditions normales de température (25°C).

La plupart des CO-HAPs sont plus hydrophiles que leur HAPs correspondants. Leur solubilité dans l'eau dépend quant à elle de la complexité de la structure moléculaire et en particulier par les fonctionnalités chimiques mises en jeu (Tableau 2). A titre de comparaison, la solubilité dans l'eau du naphtalène est

10 fois moins importante que celle du 1-naphtaldéhyde et 10 à 100 fois moins importante que celles des quinones correspondantes (1,2- et 1,4-naphtoquinone). La présence d'une fonction acide carboxylique (acide 2-naphtoïque) sur un des cycles aromatiques du naphtalène ne modifie pas particulièrement la solubilité dans l'eau. L'anhydride 1,8-naphtalique est un peu moins soluble dans l'eau que le naphtalène mais sa masse molaire (198 g/mol) est beaucoup plus élevée que celle du naphtalène (128 g/mol).

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du naphtalène et de ses dérivés carbonyles

	Numéro CAS	Masse molaire (g/mol)	Formule chimique	Tension de vapeur (Pa, 25°C)	Solubilité dans l'eau à 25°C (mg/L)	log Koa*	log Kow*	log Koc*
naphtalène	91-20-3	128	C ₁₀ H ₈	10,4	31,7	5,19	3,40	2,97
1-naphtaldéhyde	66-77-3	156	C ₁₁ H ₈ O	3,34×10 ⁻¹	244	7,16	2,89	2,29
1,2-naphtoquinone	524-42-5	158	C ₁₀ H ₆ O ₂	1,2×10 ⁻²	181	8,87	2,11	1,63
1,4-naphtoquinone	130-15-4	158	C ₁₀ H ₆ O ₂	2,25×10 ⁻²	2,42×10 ³	8,80	1,71	2,77
acide 2-naphtoïque	93-09-4	172	C ₁₁ H ₈ O ₂	8,84×10 ⁻⁴	47	9,46	3,10	2,21
anhydride 1,8-naphtalique	81-84-5	198	C ₁₂ H ₆ O ₃	5,5×10 ⁻⁵	5,87	7,83	3,24	2,25

* Kow, Koa et Koc sont reportées d'après plusieurs études expérimentales (Eagar et al. 2017) ou estimées au moyen du logiciel KOWWIN v1.67 EPI Suite™ version 4.0 (US-EPA : <http://www.epa.gov/oppt/exposure/pubs/episuitedi.htm>).

Les constantes de distribution Kow, Koa et Koc permettent d'estimer les solubilités relatives entre différentes phases qu'elles soient gazeuse, aqueuse ou organique. Ces constantes aussi appelées « constantes de partage » donnent une idée du possible transfert de composés entre différents compartiments de l'environnement. Le coefficient de distribution octanol/eau (Kow) appelé aussi coefficient de partage Kp exprime la solubilité relative entre deux phases liquides l'octanol et l'eau. Il est considéré comme une mesure d'hydrophobicité. Des valeurs de log Kow supérieures à 1 tendent à exprimer un caractère très hydrophobe (solubilité au moins 10 fois plus importante dans l'octanol que dans l'eau) et des valeurs négatives tendant à démontrer un caractère hydrophile (solubilité plus importante dans l'eau que dans l'octanol). Le naphtalène et ses dérivés CO-HAPs, avec des valeurs de

log Kow toutes supérieures à 1,70, sont très hydrophobes (Figure 4). Le naphthalène, en raison de la présence exclusive de carbone et d'hydrogène, est plus hydrophobe (log Kow = 3,40) que les CO-HAPs. Les naphtoquinones (log Kow = 1,71 et 2,11) sont pour leur part 20 à 50 fois moins hydrophobes que le naphthalène.

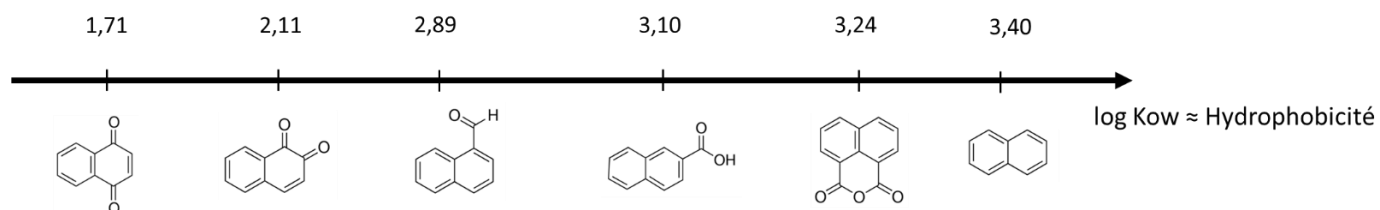


Figure 4 : Classement du naphthalène et de certains de ses dérivés CO-HAPs en fonction des log Kow croissants









La constante de distribution octanol/air (Koa) exprime pour sa part la répartition d'une substance entre une phase organique liquide et une phase gazeuse. Elle permet notamment d'estimer l'aptitude des composés présents dans l'atmosphère (phase gazeuse) à s'adsorber sur les sols (carbone organique du sol ou films organiques des aérosols) ou encore sur les parties aériennes des végétaux (peaux cireuses ou parties lipidiques de la végétation). Dreyer *et al.* (Dreyer et al. 2009) ont démontré que les OHAPs ont globalement une Koa plus élevée que les HAPs. Les CO-HAPs possédant 2 cycles aromatiques auront une tendance extrêmement forte ($7 < \log Koa < 10$) à pouvoir se déposer sur la matière organique à partir de l'atmosphère (Tableau 2). Cette tendance pour ces CO-HAPs est bien plus forte que pour le naphthalène pour lequel $\log Koa \approx 5$.

Le coefficient de distribution carbone organique/eau (Koc) exprime la tendance d'un composé à s'adsorber sur la fraction organique d'un sol. Cette constante Koc correspond au rapport (Kd) de concentrations pour un composé dans un support (sol ou sédiment) et dans l'eau ; la constante Kd est normalisée au moyen de la fraction organique du support (f_{oc}) – la fraction organique est le rapport entre la masse de carbone organique présent dans le support et la masse de support elle-même. Des valeurs élevées pour Koc expriment un fort attachement à la matière organique d'un sol ou sédiment alors que des valeurs plus faibles indiquent une mobilité (présence dans l'eau) plus importante dans le sol ou sédiment. La constante Koc (Tableau 2) pour un HAP tel que le naphthalène ($\log Koc = 2,97$) est systématiquement plus élevée que celle de ses dérivés carbonylés ($1,63 < \log Koc < 2,77$). Tout comme

les HAPs, les CO-HAPs seront fortement liés à la matière organique d'un sol mais ces derniers auront néanmoins une tendance un peu plus importante à être mobile dans ce type de milieu.

Pour des CO-HAPs possédant une même fonctionnalité chimique (Tableau 3), une masse molaire plus importante induira globalement une température d'ébullition plus élevée et une tension de vapeur plus faible. La 11H-benzo[a]fluorén-11-one (benzo[a]fluorénone) est environ 10 fois moins volatile (tension de vapeur) et 10 fois moins soluble dans l'eau que la 9-fluorénone qui possède un cycle aromatique à 6 carbones de moins. La présence de cycles aromatiques supplémentaires (cas de la 1H-phénalén-1-one, de la 7H-benzo[de]anthracén-7-one (benzanthrone) et de la 6H-benzo[cd]pyrén-6-one possédant respectivement 3, 4 et 5 cycles aromatiques) induit approximativement une augmentation d'une unité logarithmique des constantes K_{oa} , K_{ow} et K_{oc} traduisant une hydrophobicité (K_{ow}) environ 10 fois plus importante et une capacité environ 10 fois plus importante à se lier à la matière organique à la fois à partir de l'atmosphère (K_{oa}) ou dans le sol (K_{oc}).

Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques de CO-HAPs possédant une seule fonction cétone

CO-HAPs		Numéro CAS	Masse molaire (g/mol)	Température de fusion (°C)	Température d'ébullition (°C)	Tension de vapeur (Pa, 25°C)	Solubilité dans l'eau à 25°C (mg/L)	log Koa*	log Kow*	log Koc*
1(2H)-acénaphthylénone		2235-15-6	168	121	337	$1,20 \times 10^{-2}$	20,0	7,63	2,79	2,66
9-fluorénone		486-25-9	180	83	342	$6,67 \times 10^{-3}$	$37,4 \times 10^{-1}$	8,14	3,58	3,10
1H-phénalén-1-one		548-39-0	180	154	355	$8,00 \times 10^{-4}$	$54,7 \times 10^{-1}$	8,77	3,39	2,99
9(10H)-anthracénone		90-44-8	194	155	330	$1,33 \times 10^{-3}$	$27,2 \times 10^{-1}$	8,15	3,66	3,14
4H-cyclopenta[def]phénanthrén-4-one		5737-13-3	204	132	375	$2,67 \times 10^{-4}$	$94,4 \times 10^{-2}$	9,60	4,14	3,41
7H-benzo[de]anthracén-7-one		82-05-3	230	170	436	$2,67 \times 10^{-5}$	$18,4 \times 10^{-2}$	10,4	4,81	3,78
11H-benzo[a]fluorén-11-one		479-79-8	230	135	403	$9,28 \times 10^{-4}$	$21,6 \times 10^{-2}$	10,3	4,73	4,08
6H-benzo[cd]pyrén-6-one		3074-00-8	254	178	446	$2,01 \times 10^{-6}$	$50,3 \times 10^{-3}$	11,8	5,31	4,61

* Kow, Koa et Koc sont obtenues d'après plusieurs études expérimentales (Eagar et al. 2017) ou estimées au moyen du logiciel KOWWIN v1.67 EPI Suite™ version 4.0 (US-EPA : <http://www.epa.gov/oppt/exposure/pubs/episuitedl.htm>).

1.2.2.2. Origine des CO-HAPs

Les CO-HAPs et plus largement les OHAPs sont susceptibles d'être formés soit directement (émission primaire) ou indirectement (émission secondaire) au cours d'une combustion incomplète (Keyte et al. 2013). Leur présence peut dépendre de l'environnement, de la saison, ou du moment de la journée au cours de laquelle l'échantillonnage est effectué (Kojima et al. 2010a; Li et al. 2015).

1.2.2.2.1. Emission primaire en CO-HAPs lors d'une combustion incomplète

Les CO-HAPs, comme les HAPs, peuvent être formés directement au cours de processus de combustion. Les sources d'émissions peuvent être naturelles comme les feux de forêts et les éruptions volcaniques ou anthropiques comme le chauffage domestique, la combustion du bois, les émissions industrielles, et le transport routier (Jakober et al. 2007; Nocun et Schantz 2013; Sidhu et al. 2005; Shen et al. 2013, 2012).

Nalin *et al.* (Nalin et al. 2016) ont étudié l'émission des CO-HAPs issus de la combustion du bois dans des conditions réelles de cheminée domestique. 29 CO-HAPs (entre 156 et 258 g/mol) ont été identifiées à partir des émissions primaires provenant de la combustion de biomasse. Les CO-HAPs les plus abondants sont le 1-naphtaldéhyde (15 à 60 %), la 1-acénaphténone, (15 à 20 %), la 9-fluorénone (8 à 25 %), la 9,10-anthraquinone (2 %), la benzanthrone (3 à 30 %), la 1,4-naphtoquinone (2 à 10 %) et l'anhydride 1,8-naphthalique. Ces résultats sont en accord avec les études précédentes réalisées par Shen *et al.* (Shen et al. 2012), Bruns *et al.* (Bruns et al., 2015), et Fine *et al.* (Fine et al., 2004).

Dans des sols industriels situés à Angren en Oubékistan, Bandowe *et al.* (Bandowe et al. 2010b) ont identifié cinq CO-HAPs (le 1-naphtaldéhyde, la 1,4-naphtoquinone, la 9-fluorénone, 1,2-acénaphtoquinone, et la 9,10-anthraquinone). La 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone constituaient environ 40 % de l'ensemble des CO-HAPs quantifiés dans tous les échantillons des sites industriels. Les concentrations les plus élevées en CO-HAPs ont été observées dans les zones proches des sites industriels (mine de charbon, centrale électrique, usine de caoutchouc).

Dans des émissions de moteur diesel, les CO-HAPs les plus abondants sont la 9,10-anthraquinone et la 9-fluorénone qui représentent respectivement 50 à 60 % de la fraction totale en CO-HAPs suivies de la benzanthrone, la 1,2-benzanthraquinone, la 1,4-naphtoquinone et le 1-naphtaldéhyde (Li et al. 2018).

La 9,10-anthraquinone et la 9-fluorénone sont également les CO-HAPs les plus abondants dans les matériaux de référence de particules d'échappement des moteurs diesel (Nocun et Schantz 2013). La 9-fluorénone et la 1,2-benzanthraquinone ont été quantifiées à des concentrations élevées dans des échantillons de particules dans les tunnels routiers, le long des routes et en milieu urbain (Wang et al. 2011 ; Keyte et al. 2016). Les concentrations des CO-HAPs ont tendance à diminuer avec l'augmentation de la distance par rapport à la route, ce qui suggère une émission primaire des CO-HAPs à partir des gaz d'échappement des véhicules (Kojima et al. 2010b). Les niveaux relativement élevés de la 9,10-anthraquinone, la 9-fluorénone et la 1,2-benzanthraquinone indiquent que ces composés pourraient être des marqueurs d'émission de CO-HAPs à partir des gaz d'échappement des véhicules (Keyte et al. 2016).

1.2.2.2. Emission secondaire

Les CO-HAPs peuvent être formés à partir des HAPs par photo-oxydation, par réaction chimique avec les oxydants atmosphériques (OH^\cdot , NO_3 , N_2O_5 et O_3), ou *in situ* par des transformations microbiologiques (Atkinson et Arey 2007; Jariyasopit et al. 2015, 2014; Keyte et al. 2013; Reisen et Arey 2005).

Formation des CO-HAPs à partir de HAPs par photo-oxydation

La photo-oxydation des HAPs en OHAPs a été étudiée pour différentes conditions (en phase gazeuse et particulaire et en solution liquide). Plusieurs paramètres conduisent à la formation de OHAPs différents comme la structure des HAPs mis en jeu, l'échantillon dans lequel sont contenus les HAPs (en solution liquide, en phase gazeuse et sur support solide), la source d'irradiation utilisée (type de lampe, exposition au soleil), l'intensité et la longueur d'onde de l'irradiation.

La photo-dégradation des HAPs dans un environnement oxygéné peut se produire après une forte absorption de rayonnement lumineux situé dans le domaine de l'UV (300-420 nm) entraînant une photolyse rapide et la formation de nombreux OHAPs. Les OHAPs formés sont principalement des CO-HAPs et peuvent posséder des fonctions cétones, quinones, aldéhydes ou encore acides carboxyliques (Barbas et al. 1993, 1996). Le phtaldialdéhyde (hydrocarbure aromatique monocyclique possédant 2 fonctions aldéhyde) est connu pour être un produit de deuxième génération de la photooxydation du naphthalène (à partir de l'oxydation du (*E*)-2-formylcinnamaldéhyde) (Kautzman et al. 2010; Lee et Lane 2009; Wang et al. 2007b; Chan et al. 2009). Un autre exemple est la photodégradation du phénanthrène qui, adsorbé sur du gel de silice en présence d'oxygène, entraîne la formation de

nombreux composés de dégradation (Figure 5) tels que des dérivés du biphenyl, des OHAPs de type diol ou encore des CO-HAPs (quinone, coumarine, diacide).

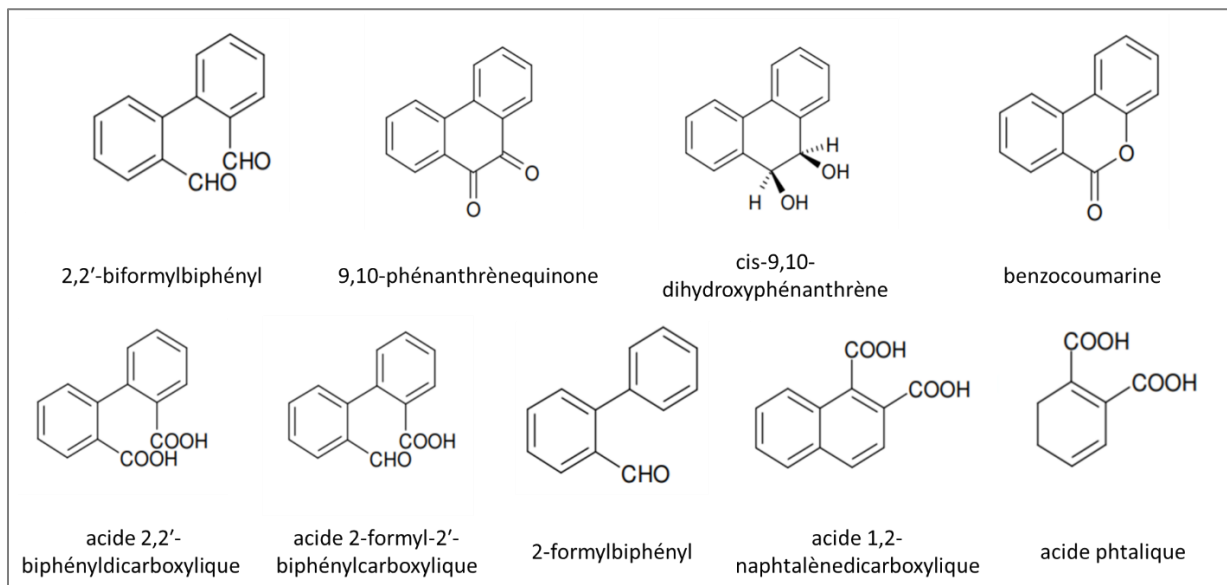


Figure 5 : Produits de photodégradation du phénanthrène en présence d'oxygène à 254 nm (Barbas et al., 1996)

Dans des conditions relativement similaires, Calvert *et al.* ont démontré l'apparition de benzo[a]pyrérones (Figure 6) à partir du benzo[a]pyrène adsorbé sur du gel de silice en présence d'oxygène (Calvert et al. 2002).

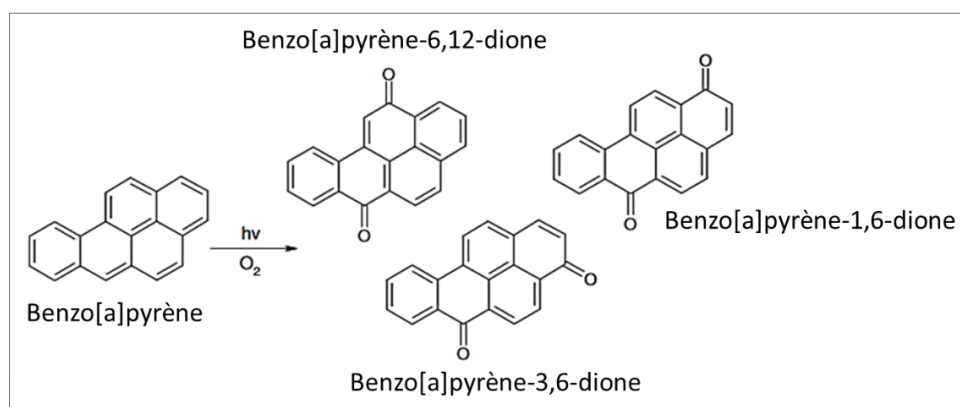


Figure 6 : Produits de photodégradation du benzo[a]pyrène en présence d'oxygène (Calvert et al. 2002)

Les réactions de photooxydation des HAPs peuvent se produire dans différents compartiments de l'environnement : dans l'atmosphère, où l'intensité lumineuse est la plus forte, mais aussi dans les milieux aquatiques et dans les sols. La majorité des études réalisées sur la photodégradation des HAPs tendent à prouver une formation prédominante dans l'atmosphère de CO-HAPs sous forme de quinones comme démontré par Nikolaou *et al.* dès 1984 (Nikolaou *et al.* 1984).

Mallakin *et al.* (Mallakin *et al.*, 2000) ont démontré qu'en milieu aqueux sous rayonnement solaire simulé de $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (pendant 10h), l'anthracène est transformé en 9,10-anthraquinone par un intermédiaire endopéroxyde. Le mécanisme de photodégradation de l'anthracène est présenté en Figure 7.

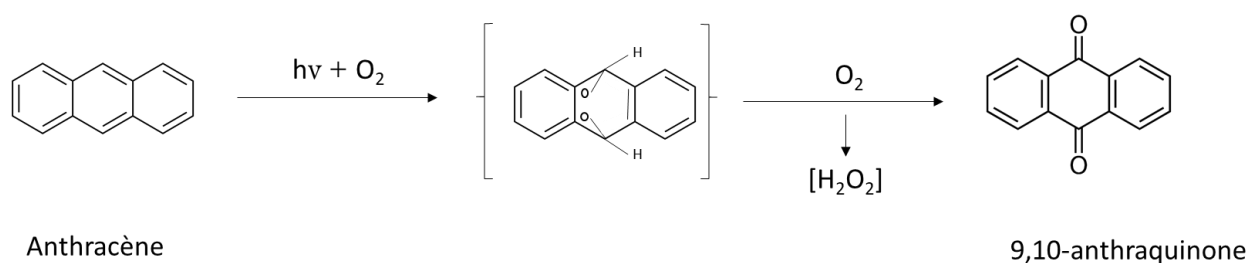


Figure 7 : Mécanisme de photooxydation de l'anthracène en solution aqueuse sous rayonnement solaire simulé (Mallakin *et al.* 2000)

Plusieurs autres études réalisées en milieu aqueux (Clark *et al.* 2007; Lehto *et al.* 2003; Mallakin *et al.* 2000; Rivas *et al.* 2000) ont également permis de démontrer une formation majoritaire de benzo[a]pyrénédiones (quinones) par photodégradation du benzo[a]pyrène.

Formation des CO-HAPs à partir de HAPs par réaction chimique avec les oxydants atmosphériques

Plusieurs expérimentations ont été menées sur la formation des OHAPs par réaction chimique des HAPs avec des oxydants atmosphériques tels que le radical OH^\bullet , les NO_x , ou encore l'ozone O_3 (Lee *et al.* 2009, 2010; Perraudin *et al.* 2007; Wang *et al.* 2011; Zhou *et al.* 2012). Les réactions chimiques sont opérées soit en milieu homogène dans la phase gazeuse ou soit en milieu hétérogène entre la phase gazeuse et la phase solide (particules de l'air et les sols).

Atkinson et ses collaborateurs ont étudié la cinétique de réaction des HAPs de 2 à 4 cycles avec les oxydants atmosphériques OH^\bullet , NO_3 et O_3 ainsi que les mécanismes de formation des dérivés produits (OHAPs et Nitro-HAPs) (Atkinson et Arey 2007, 2003; Wang et al. 2007a). La réaction principale d'oxydation des HAPs dans l'atmosphère est celle avec le radical OH^\bullet , avec une constante de vitesse jusqu'à sept fois plus élevée qu'avec les autres oxydants (NO_x et O_3). La réaction des HAPs avec les radicaux OH^\bullet peut être déclenchée par plusieurs voies possibles.

Les trois voies de réaction avec le radical OH^\bullet pour l'acénaphtène et l'acénaphtylène proposées par Alkinson *et al.* (Figure 8) impliquent :

- Dans le cas de l'acénaphtylène, une addition du radical OH^\bullet sur la double liaison C=C du cycle à 5 carbones (Figure 8-1)
- Dans le cas de l'acénaphtène, soit une élimination d'un radical H^\bullet de la simple liaison C-C du cycle à 5 carbones (Figure 8-2), ou soit une addition du radical OH^\bullet sur un cycle à 6 carbones en position α par rapport au cycle à 5 carbones, formant un intermédiaire radicalaire de type hydroxycyclohexadiényle riche en énergie (Figure 8-3).

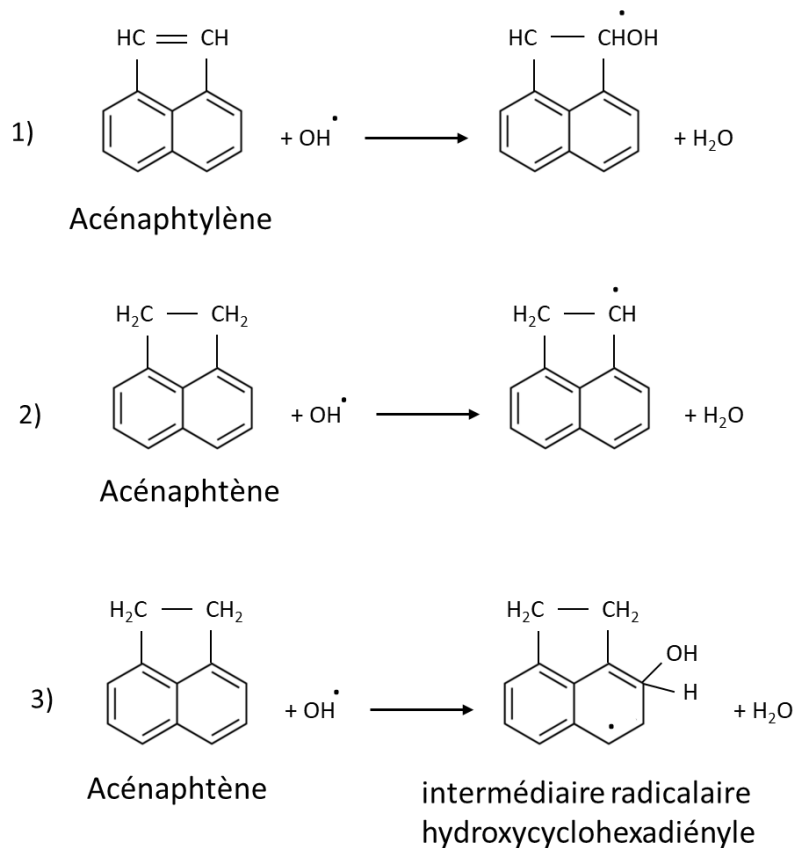


Figure 8 : Mécanismes de réaction pour l'acénaphtylène et l'acénaphtène en phase gazeuse avec les radicaux OH^\bullet (Atkinson et al. 1989; Atkinson et Arey 1994)

Les adduits hydroxylés des HAPs (Figure 8-1 et Figure 8-3) peuvent réagir avec les NOx, O₂ et HO₂ (radical hydroperoxy) pour former des CO-HAPs de type quinones, ou possédant un cycle aromatique ouvert comme des dialdéhydes. Le mécanisme de réaction de l'intermédiaire hydroxycyclohexadiényle du naphthalène avec O₂, NO et HO₂, suggéré par Qu *et al.* (Qu *et al.* 2006), et conduisant à la formation de 2-formylcinnamaldéhyde et de 1,4-naphtoquinone, est présenté en Figure 9.

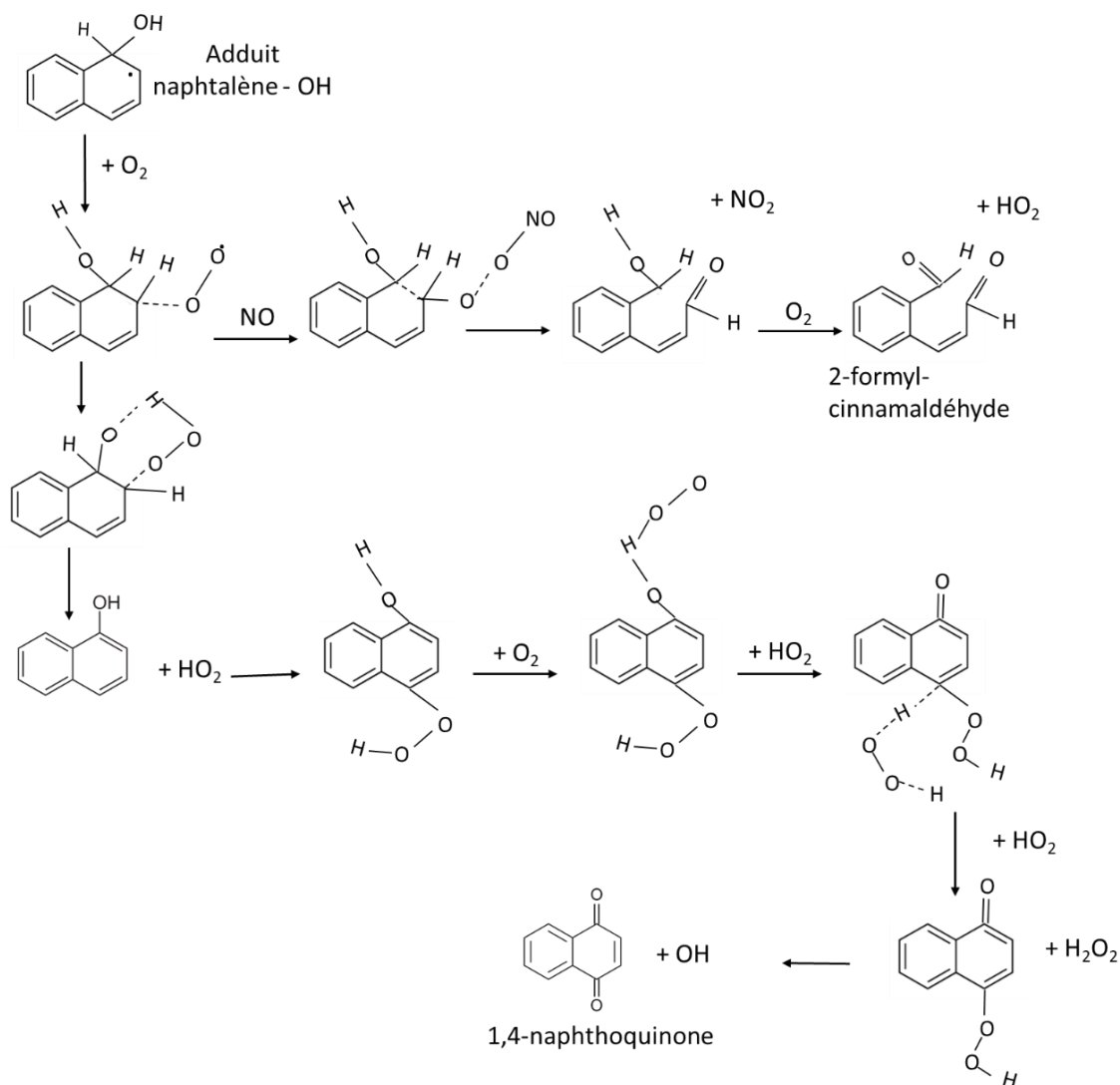


Figure 9 : Mécanismes proposés pour la réaction de l'adduit naphthalène-OH avec les espèces atmosphériques O₂, NO et HO₂ selon Qu *et al.* (Qu *et al.* 2006)

La 6H-dibenzo[bd]pyran-6-one est un des sous-produits formé par oxydation du phénanthrène avec les espèces OH[•] et NO₃⁻ (Lee *et al.* 2012; Sasaki *et al.* 1997). Parmi les CO-HAPs identifiés, à partir de HAPs de 2 à 4 cycles par réaction chimique avec les oxydants atmosphériques, on retrouve aussi

l'indèn-1-one, la 1,3-indènedione, les 1,2- et 1,4-naphtoquinone, des benzopyrones, la 9-fluorénone, le 1,2-naphthalènedicarboxaldéhyde, l'anhydride 1,2-naphthalique, ainsi que les 1,4- et 9,10-phénanthrènequinone (Arey et al. 1989; Lee et Lane 2010; Wang et al. 2007a).

Formation des CO-HAPs à partir de HAPs par réaction biologique

Les OHAPs, dont certains CO-HAPs, sont aussi potentiellement produits dans l'environnement par des réactions biologiques (microbiennes, enzymatiques) des HAPs au moyen de bactéries ou de champignons (Cerniglia 1992; Lundstedt et al. 2007; Meckenstock et al. 2004; Wilcke et al. 2014b). La transformation microbienne des HAPs en OHAPs dans les sols est liée à l'activité biologique qui dépend du climat et de la fertilité du sol (principalement la disponibilité des éléments nutritifs et la concentration en matière organique). Plus l'activité biologique est élevée, plus les rapports de concentration OHAPs/HAPs dans les sols sont élevés (Okere 2011). Dans une expérience d'incubation à court terme d'un sol fertile, il a été démontré que le renouvellement microbien produit une transformation de HAPs en OHAPs ce qui entraîne une augmentation des rapports de concentration OHAPs/HAPs (Wilcke et al. 2014b; Biache et al. 2017).

Les HAPs peuvent être transformés en OHAPs par des champignons présents sous forme de pourriture blanche (*Phanerochaete chrysosporiu*, *Pleurotus ostreatus*, *Coriolopsis polyzona* et *Trametes versicolor*), qui produisent des enzymes de type laccase, manganèse peroxydase et ligninase (Lundstedt et al. 2007; Vyas et al. 1994; Qiao et al. 2016). Le fluorène est susceptible de se transformer en 9-hydroxyfluorène et en 9-fluorénone (produit principal) par la manganèse peroxydase et les ligninases (Bogan et al. 1996). L'anthracène et le phénanthrène sont susceptibles de se transformer en 9,10-anthraquinone et en 9,10-phénanthraquinone respectivement (Hammel et al. 1991; Vyas et al. 1994).

Certaines bactéries peuvent aussi permettre la transformation de HAPs en CO-HAPs et plus largement en OHAPs (Cerniglia 1992; Ghosal et al. 2016; Mallick et al. 2007; Peng et al. 2008; Seo et al. 2009). L'acénaphthylène peut être dégradé en anhydride 1,8-naphtalique, en acide 1-naphtoïque ainsi qu'en acide 1,8-naphthalènedicarboxylique par l'action de *Acinetobacter* sp. souche AGAT-W (Figure 10) (Ghosal et al. 2013).

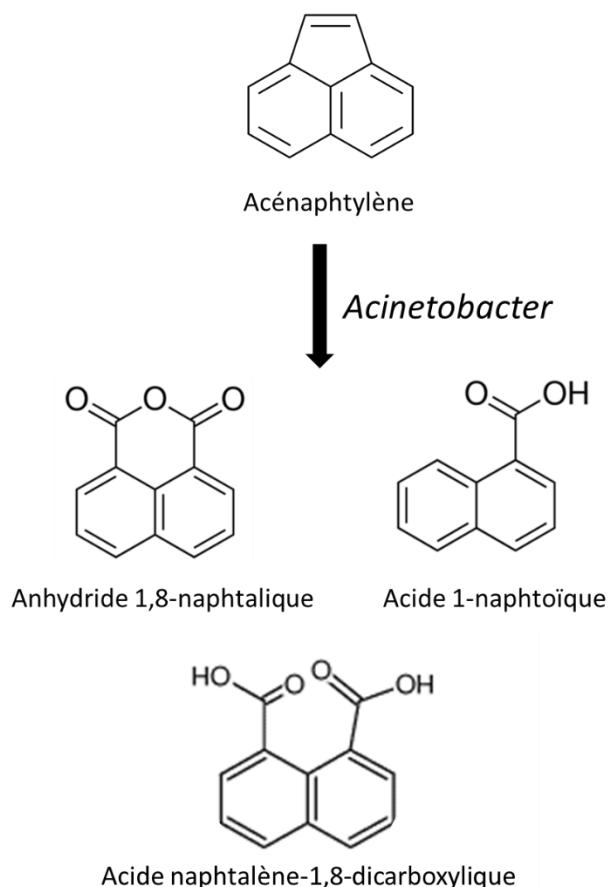


Figure 10 : Produit de dégradation de l'acénaphtylène par l'action de *Acinetobacter sp.* souche AGAT-W selon Ghosal *et al.* (Ghosal *et al.* 2013)

1.2.2.3. Présence et distribution des CO-HAPs dans l'environnement

Plusieurs CO-HAPs ont été identifiés dans de très nombreux compartiments de l'environnement tels que dans l'atmosphère (air et particules d'air), le charbon, la fumée de bois et de charbon, les émissions de moteur diesel, les eaux souterraines, les sédiments et les sols (Bjorseth et Ramdahl 1985; Hellou *et al.* 2009; Jakober *et al.* 2007; Lundstedt *et al.* 2007; Oda *et al.* 1998; Schlanges *et al.* 2008; Simoneit *et al.* 2007).

1.2.2.3.1. *Présence et distribution des CO-HAPs dans l'atmosphère*

Les CO-HAPs sont présents à la fois dans la phase gazeuse et la phase particulaire de l'atmosphère (Walgraeve *et al.* 2010; Albinet *et al.* 2008; Tomaz *et al.* 2017). Ils sont répartis entre ces deux phases

selon la constante de partage gaz/particules qui dépend de la masse molaire, la pression de vapeur et la structure moléculaire des composés mis en jeu (Alam et al. 2014; Albinet et al. 2008; Delgado-Saborit et al. 2013; Tomaz et al. 2016; Walgraeve et al. 2015). Tomaz *et al.* ont étudié la répartition des OHAPs entre la phase gazeuse et la phase particulaire de l'atmosphère chaque trois jours pendant 24h sur une année (Janvier 2013 à Janvier 2014) à Grenoble en France. La Figure 11 présente la concentration moyenne en pg/m^3 pour plusieurs CO-HAPs en phase gazeuse (en orange) et en phase particulaire (en gris), classés par ordre croissant de leur masse molaire. Les CO-HAPs légers (masse molaire ≤ 180 g/mol) sont principalement présent en phase gazeuse (ex : 1-naphtaldéhyde, 1-acénaphténone) et les CO-HAPs les plus lourds (masse molaire ≥ 222 g/mol) sont principalement présent en phase particulaire (ex : benzanthrone, 1,2-benzanthraquinone). Les CO-HAPs possédant des masses molaires intermédiaires (masse molaire comprise entre 180 et à 222 g/mol) présentent des proportions respectives non négligeables en phase gazeuse et en phase particulaire (ex : acénaphtènequinone, dibenzopyrène-6-one, anhydride-1,8-naphtalique, 9-phénanthrène-carboxaldéhyde) (Tomaz et al. 2016).

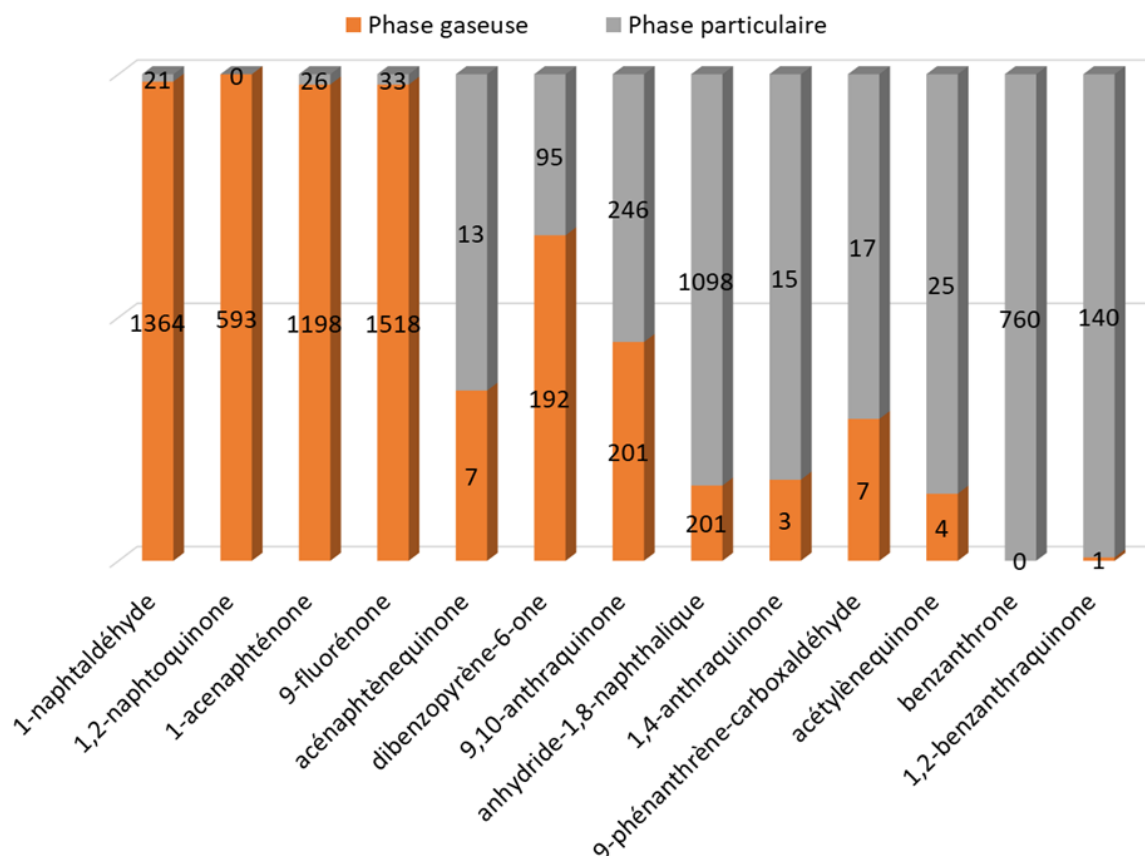


Figure 11 : Répartition des CO-HAPs entre la phase gazeuse et la phase particulaire de l'atmosphère selon leur concentration moyenne (en pg/m^3) sur l'année 2013 à Grenoble - France (Tomaz et al. 2016)

Récemment, des concentrations significatives en CO-HAPs liés aux particules ont été signalées dans des grandes villes chinoises (Bandowe et al. 2014b; Wei et al. 2015), à Birmingham au Royaume-Uni (Alam et al. 2015; Delgado-Saborit et al. 2013; Keyte et al. 2016), à Paris (Ringuet et al. 2012a), à Singapour et à Budapest en Hongrie (Nyiri et al. 2016). Le Tableau 4 présente les concentrations atmosphériques urbaines des CO-HAPs généralement les plus abondants en ng/m^3 .

La concentration pour un CO-HAP peut être de l'ordre du pg/m^3 voire du ng/m^3 dans l'atmosphère de certaines villes importantes du monde (Tableau 4). Une concentration résiduelle en 9-fluorénone supérieure à $0,1 \text{ ng}/\text{m}^3$ est généralement déterminée dans ces milieux ce qui fait de ce CO-HAP l'un des plus abondants. Dans certaines métropoles chinoises très densément peuplées comme Xi'an, des teneurs supérieures à $10 \text{ ng}/\text{m}^3$ ont pu être observées pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone ainsi que la benzanthrone.

Tableau 4 : Concentrations pour 5 CO-HAPs majoritaires déterminées dans l'atmosphère de plusieurs villes dans le monde (en ng/m³)

Lieux et date prélèvements	1-naphtaldéhyde	1,4-naphtoquinone	9-fluorénone	benzanthrone	1,2-benzanthraquinone	Référence
Paris (France, 2013)	0,3	-	7,1	0,3	-	(Keyte et al. 2016)
Birmingham (UK, 2015)	-	0,0052	-	-	0,2015	(Alam et al. 2015)
Birmingham (UK, 2012)	-	-	0,1	-	-	(Keyte et al. 2016)
Budapest (Hongrie, 2010-13)	-	0,5	1,35	-	-	(Nyiri et al. 2016)
Clementi (Singapour, 2015)	-	-	0,113	0,169	-	(Zhang et al. 2017)
Nanjing (Chine, 2014-15)	-	-	3,06	-	-	(Zhuo et al. 2017b)
Xi'an (Chine, 2012)	11,56	2,62	19,84	-	0,2	(Wei et al. 2015)
Xi'an (Chine, 2009)	0,044	1,41	7,82	12,71	5,39	(Bandowe et al. 2014b)

« - » : non déterminé

La quantité en CO-HAPs dans l'atmosphère dépend néanmoins des saisons. Tomaz *et al.* ainsi que Alves *et al.* ont étudié les concentrations en CO-HAPs liés aux particules en hiver et en été (Alves *et al.* 2017; Tomaz *et al.* 2016). La plupart des CO-HAPs peuvent présenter des concentrations 2 à 7 fois plus élevées en hiver qu'en été. Des concentrations moyennes comparatives (ng/m³) en OHAPs totaux ont été reportées en Figure 12 pour les villes de Porto (Alves *et al.* 2017), Grenoble (France) (Tomaz *et al.* 2016), Douai (France) (Mirivel *et al.* 2010), Augsburg (Allemagne) et Marseille (France) (Albinet *et al.* 2007); elles témoignent d'une forte disparité entre ces deux saisons. Les variations saisonnières peuvent s'expliquer par des émissions primaires plus élevées provenant du chauffage domestique, en particulier de la combustion de biomasse pendant la période hivernale (Alves *et al.* 2017; Bandowe *et al.* 2014b; Tomaz *et al.* 2017). Une autre source importante d'OHAPs dans les zones urbaines, est la circulation automobile (Jakober *et al.* 2007; Sidhu *et al.* 2005) avec la combustion de matières fossiles notamment le diesel et l'essence.

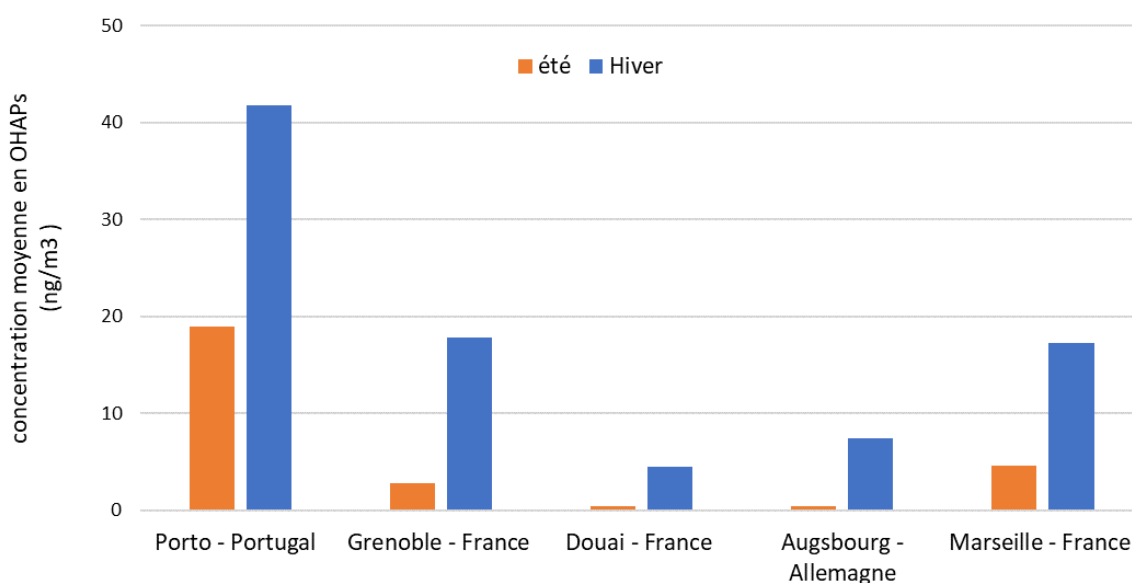


Figure 12 : Concentrations moyennes en OHAPs totaux (en ng/m³) selon la saison dans l'atmosphère de certaines villes européennes

1.2.2.3.2. *Présence et distribution des CO-HAPs dans les sols*

La plupart des études visant à déterminer la présence de CO-HAPs dans le sol ont été réalisées pour des zones susceptibles d'être polluées, situées à proximité de sites industriels et urbains (Arp *et al.*

2014; Bandowe et Wilcke 2010a; Bandowe et al. 2011; Bandowe et al. 2010b). Certaines teneurs obtenues pour 6 CO-HAPs sont reportées dans le Tableau 5 ; elles peuvent être individuellement bien supérieures au ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) voire au ppm (mg/kg) du fait de la nature des sols mis en jeu. Ces valeurs peuvent être comparées à celles obtenues pour des sols témoins ou agricoles éloignés d'activités urbaines ou industrielles (Wilcke et al. 2014a; Sun et al. 2017).

Selon le type de sol étudié, une variété très importante de CO-HAPs peut être obtenue. Néanmoins, deux composés semblent être retrouvés systématiquement à savoir la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone (voir Tableau 5). Ces deux composés possèdent généralement dans les sols des concentrations qui sont du même ordre de grandeur. Il est cependant à noter qu'une présence de 9,10-anthraquinone dans un sol peut être due à une activité industrielle spécifique car ce composé est utilisé pour la fabrication de teintures et pigments ou encore lors de la fabrication industrielle de pâte à papier. De plus, il peut être utilisé en agriculture comme produit phytosanitaire car il présente un effet répulsif vis-à-vis des oiseaux.

Dans des sols industriels très pollués situés en Suède (sites d'usine à gaz, d'usine de cokeries ou de préservation du bois, ...), Lundstedt *et al.* (Lundstedt et al. 2007) ont déterminé des concentrations très élevées pouvant dépasser la dizaine de ppm (mg/kg) pour la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone. Plusieurs CO-HAPs ont été de plus identifiés par ces auteurs tels que : la 1-acénaphthénone, la méthyl-9-fluorénone, la 4H-cyclopenta-4-phénanthrénone, la 2-méthyl-9,10-anthraquinone, la 4-oxapyrène-5-one, la benzo[a]fluorénone, la 7H-benzanthracène-7-one, la 1,2-benzanthraquinone, la 5,12-naphtacènequinone et la 6H-benzo[cd]pyrén-6-one. Les concentrations pour certains CO-HAPs sont parfois supérieures à celles de leur HAP correspondant. Par exemple, la teneur en 9-fluorénone (83 mg/kg) est plus de 2 fois supérieure à celle du fluorène (38 mg/kg) dans un sol industriel situé à Husarviken en Suède. Bandowe *et al.* ont comparé les teneurs en 5 CO-HAPs (Tableau 5) dans les sols d'un ancien site d'usine à gaz (Berlin, Allemagne), un sol urbain (Mayence, Allemagne) et un sol forestier (Manaus, Brésil). Cette étude a permis de démontrer une prédominance parmi les CO-HAPs de 9-fluorénone et de 9,10-anthraquinone même si les teneurs trouvées sont bien inférieures (globalement entre le ppb et le ppm) à celles trouvées par Lundstedt *et al.*. Les sols urbains et industriels ont révélé des teneurs plus importantes en CO-HAPs que les sols forestiers ; de plus des quantités résiduelles de l'ordre du ppb ont été déterminées, pour ces sols, en 1-naphtaldéhyde, 1,2-acénaphthylènequinone et 1,4-naphthoquinone (Bandowe et Wilcke 2010a) (Tableau 5).

Tableau 5 : Concentrations pour 6 CO-HAPs majoritaires déterminées dans plusieurs types de sols (industriels, urbains, agricoles ou témoin) (en µg/kg)

Lieux et date de prélèvements	Type de sols	1-naphtaldéhyde	1,4-naphthoquinone	9-fluorénone	1,2-acénaphthènequinone	9,10-anthraquinone	1,2-benzanthraquinone	Référence
26 provinces de l'est de la Chine, 2013	Agricoles	-	-	0,3 - 10	-	0,9 - 26	0,2 - 8,4	(Sun et al. 2017)
Bahia Blanca (Argentine, 2010)	Témoins	n.d	-	2,82	n.d	8,6	20	(Wilcke et al. 2014a)
Angren (Ouzbékistan, 2010)	Industriels	14	2	316	9,1	376	-	(Bandowe et al. 2010b)
Manaus (Brésil, 2010)	Forêts	1,1	n.d	1,7	n.d	2,1	-	(Bandowe et al. 2010a)
Mayence (Allemagne, 2010)	Urbains	6	n.d	47,2	4,9	80	-	(Bandowe et al. 2010a)
Husarviken (Suède, 2007)	Industriels	-	-	83000	-	51000	6300	(Lundstedt et al. 2007)
Boden (Suède, 2007)	Industriels	-	-	700	-	2100	640	(Lundstedt et al. 2007)

« n.d » non détecté

« - » non analysé dans cette étude

Dans des sols agricoles ou éloignés de toute activité humaine, Wilcke *et al.* ont quantifié treize CO-HAPs pour 20 lieux situés sur la côte Atlantique de l'Argentine. Parmi ces treize CO-HAPs, les teneurs maximales déterminées pour la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone (respectivement 2,82 et 8,9 µg/kg) sont nettement inférieures à celles trouvées pour l'anhydride 1,8-naphtalique (42 µg/kg), la benzopyrène-6-one (37 µg/kg) et la 1,2-benzanthraquinone (20 µg/kg) (voir Figure 13).

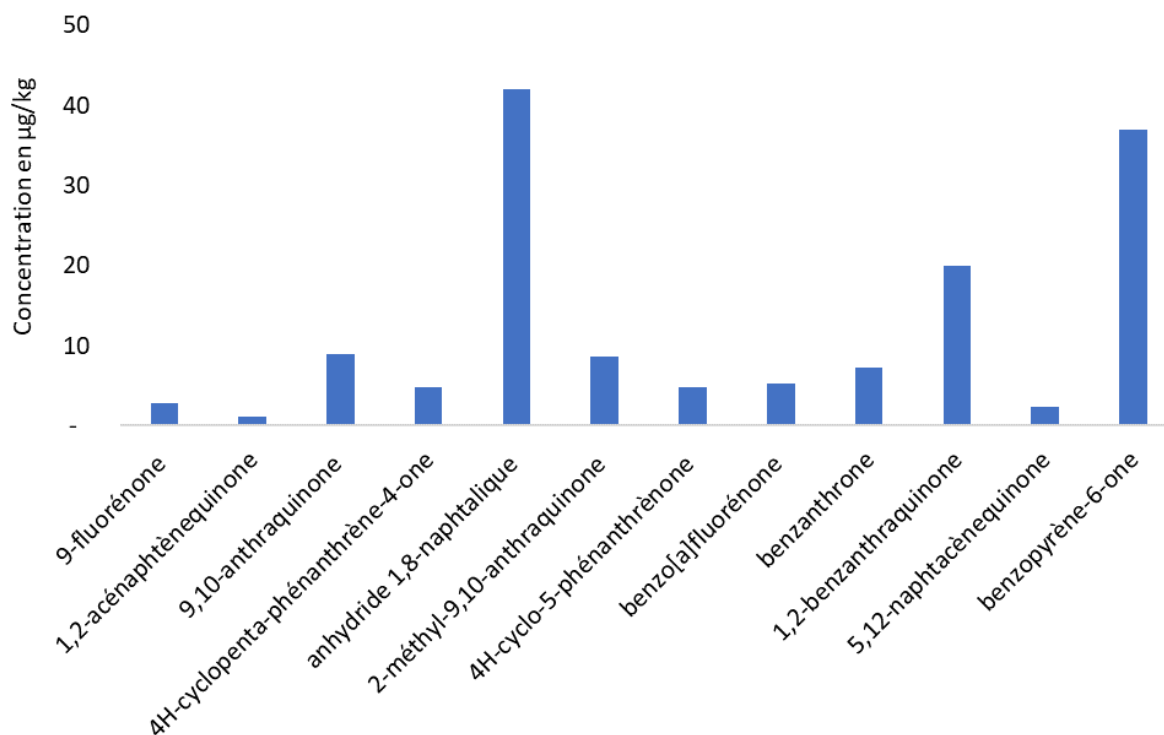


Figure 13 : Concentrations maximales en CO-HAPs déterminées dans des sols agricoles et témoins situés sur la côte Atlantique de l'Argentine selon Wilcke et al. (Wilcke et al. 2014a)

Des sols agricoles de 26 provinces de l'est de la Chine ont été étudiés par Sun *et al.* (Sun et al. 2017) notamment pour leur composition en 4 CO-HAPs. Des quantités relativement similaires à celles déterminées par Wilcke *et al.* ont été trouvées pour la 9-fluorénone (entre 0,3 et 10 µg/kg), la 9,10-anthraquinone (entre 0,9 et 26 µg/kg), la benzanthrone (entre 0,9 et 26 µg/kg), et la 1,2-benzanthraquinone (compris entre 0,2 et 8,4 µg/kg).

La présence de CO-HAPs dans les sols peut éventuellement trouver son origine dans des processus de combustion. Liés aux particules atmosphériques ou présents en phase gazeuse, les HAPs et CO-HAPs

peuvent alors se déposer sur le sol par dépôt sec/humide ou par échange air-sol direct à partir de l'air contaminé (Lundstedt et al. 2007; Bandowe et al. 2010a; Obrist et al. 2015; Wilcke et al. 2014a). Les CO-HAPs et HAPs une fois déposés sur les sols peuvent subir des processus de biodégradation, d'adsorption par les plantes, de bioaccumulation, de volatilisation et de lessivage, ce qui détermine leur durée de vie et leur devenir global (Bandowe et al. 2019; Semple et al. 2003; Wilcke et al. 2014a). Les CO-HAPs, du fait d'une plus faible constante de distribution carbone organique/eau (Koc) (Wilcke et al. 2014a), peuvent migrer par lessivage vertical dans les sols plus facilement que les HAPs correspondants (Lundstedt et al. 2007; Bandowe et al. 2011; Weigand et al. 2002). La présence dans les CO-HAPs de groupements fonctionnels polaires peut néanmoins ralentir leur transport dans les sols (Huang et al. 2004). La mobilité plus élevée des CO-HAPs par rapport aux HAPs dans les sols a été confirmée par Obrist *et al.* (Obrist et al. 2015) au cours d'une étude sur des sols prélevés dans différents lieux des Etats-Unis (Floride, Maine, Californie et Washington). Les rapports CO-HAPs/carbone organique augmentent plus fortement en fonction de la profondeur dans le sol que les rapports HAPs/carbone organique notamment pour des composés tels que l'antrone, l'antraquinone, la fluorénone et l'acénaphthènequinone (Obrist et al. 2015).

1.2.2.3.3. Présence et distribution des CO-HAPs dans l'eau

Les CO-HAPs sont aussi possiblement présents dans les milieux aquatiques. Ils peuvent atteindre ces derniers par des dépôts atmosphériques, des ruissellements de surface ou encore par des déversements pétroliers (O'Connell et al. 2014; Qiao et al. 2014b; Tidwell et al. 2016). Cependant, peu d'études existent sur la présence des CO-HAPs dans les milieux aquatiques.

Dans les Rivières Wenyu et Yongdingxin en Chine (Qiao et al. 2014b), des niveaux globaux en 4 CO-HAPs (9-fluorénone, 9,10-antraquinone, 2-méthylantraquinone, et 1,2-benzantraquinone) varient entre 0,10 et 0,23 µg/L. De même que dans la plupart des autres compartiments de l'environnement, les deux CO-HAPs les plus abondants détectés dans cette étude sont le 9-fluorénone et la 9,10-antraquinone. Dans ces rivières, la concentration de ces derniers est plus élevée que celle de leurs HAP correspondant avec des rapports 9-fluorénone / fluorène et 9,10-antraquinone / anthracène respectivement de 1,57 et 9,68. Dans la rivière la Willamette aux Etats-Unis (Etat de l'Orégon), la somme des concentrations de 22 CO-HAPs (au maximum 279 ng/L selon le lieu) est supérieure à celle de 60 HAPs (Tidwell et al. 2017). Pour chaque site d'échantillonnage, la somme des concentrations en acénaphthènequinone et en 9-fluorénone dépasse 80% de la proportion relative en CO-HAPs (Figure 14). La proportion en 9,10-antraquinone est relativement faible pour cette rivière.

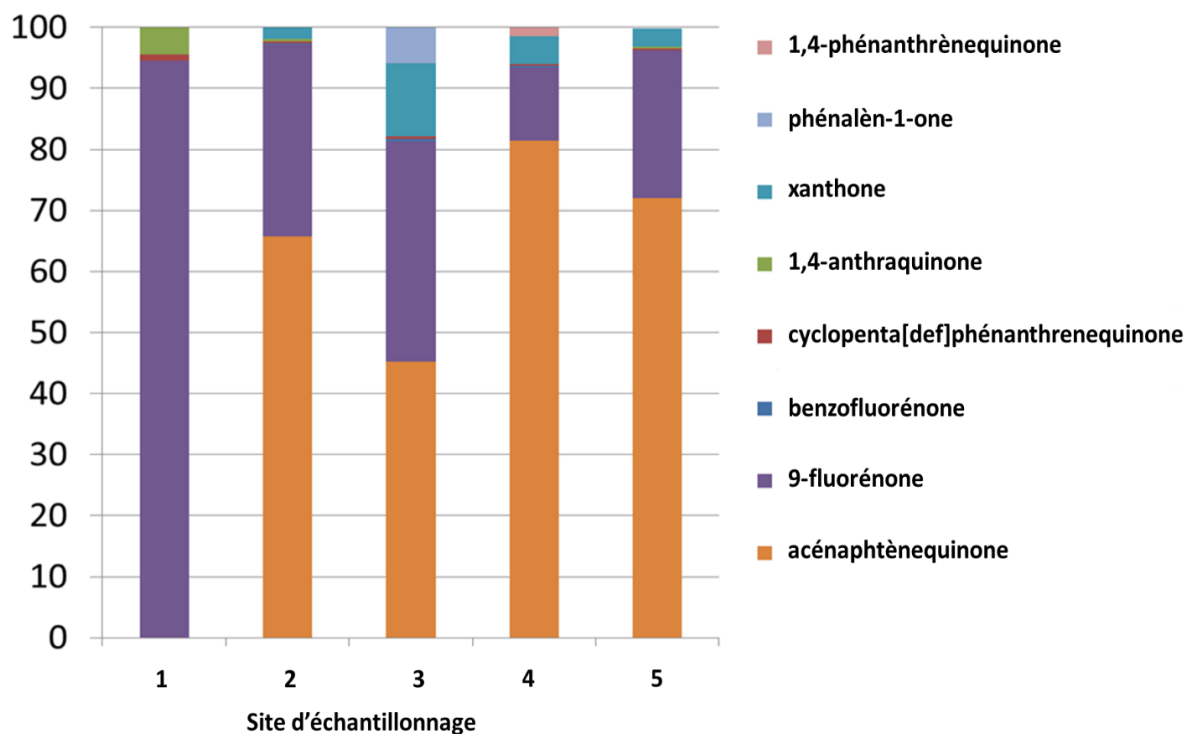


Figure 14 : Histogramme empilé comparant le pourcentage de contribution de la concentration de chaque CO-HAPs à la somme totale des concentrations en CO-HAPs pour 5 sites d'échantillonnage de la rivière Willamette aux Etats-Unis, résultats selon Tidwell *et al.* (Tidwell et al. 2017)

Dans des eaux côtières du Japon, les niveaux détectés en 9,10-anthraquinone (entre 3,9 et 200 ng/L) sont beaucoup plus élevés que ceux de l'antracène (inférieurs à 4,7 ng/L) (Kurihara et al. 2005). Les CO-HAPs semblent avoir des teneurs globalement plus importantes que leur HAPs correspondants dans les milieux aquatiques (eaux côtières ou de rivière) ; des facteurs tels que la plus faible solubilité dans l'eau des HAPs ainsi que de possibles transformations chimiques de ces derniers pourraient expliquer cette différence.

1.2.2.4. Présence et distribution des CO-HAPs dans les aliments

La présence de CO-HAPs et plus globalement de OHAPs dans différents compartiments de l'environnement (air et sols notamment) a fait l'objet de nombreuses études, mais leur présence et

distribution dans les aliments restent encore mal connues. Les aliments primaires peuvent être potentiellement contaminés par exposition à un environnement pollué (air, eau et sol) contenant des HAPs. Un autre mode de contamination est la cuisson, mais aussi éventuellement certaines étapes de transformation industrielle (Paris et al. 2018; Purcaro et al. 2013; Singh et al. 2016). Les CO-HAPs pouvant être produits de façon concomitante ou à partir des HAPs, tous ces processus peuvent entraîner une présence de ces composés dans les aliments (Hua et al. 2016; Li et al. 2016). Par conséquent, selon Bansal et Kim (Bansal et Kim 2015) et Dos Santos *et al.* (Dos Santos et al. 2019) l'alimentation est devenue possiblement la principale source d'exposition humaine aux OHAPs, en particulier chez les non-fumeurs et/ou les personnes non exposées professionnellement.

La plupart des études réalisées sur les CO-HAPs dans les aliments l'ont été sur des produits issus du règne animal (viandes, poissons) ; cependant, Dos Santos *et al.* (Dos Santos et al. 2019) ainsi que Wang *et al.* (Wang et al. 2018) ont détecté respectivement la présence de 5,12-naphtacènequinone et de 9,10-anthraquinone dans des échantillons de café du commerce et de thé.

Des concentrations élevées en CO-HAPs ont été signalées chez certaines espèces de poisson. Ces derniers peuvent absorber des OHAPs à la suite d'une exposition à de l'eau polluée ou par l'ingestion d'aliments (Jafarabadi et al. 2019). Bandowe *et al.* (Bandowe et al. 2014a) ont quantifié 13 OHAPs (1,4-naphtoquinone, 1-naphtaldéhyde, 9-fluorénone, 1,2-acénaphthènequinone, 9,10-anthraquinone, anhydride 1,8-naphtalique, 4H-cyclopenta[def]phénanthrène, 2-méthyl-9,10-anthraquinone, benzo[a]fluorénone, benzanthrone, 1,2-benzanthraquinone, 5,12-naphtènequinone et 6H-benzo[cd]pyrène-6-one) dans des poissons au Ghana (Bandowe et al. 2014a). La concentration moyenne en CO-HAPs (inclus la 1-indanone et le 2-biphénylcarboxaldéhyde) dans les muscles des poissons est de 422 µg/kg de poids sec ; cette concentration est comprise entre 28 et 1715 µg/kg selon les espèces. Ces valeurs sont similaires aux concentrations en CO-HAPs déterminées dans les muscles des poissons pêchés en Suède ; valeurs comprises entre 26 et 946 µg/kg (Brorström-Lundén et al. 2010) (Tableau 6).

Des concentrations en CO-HAPs relativement plus faibles que celles trouvées dans le poisson ont été détectées dans des échantillons de viandes de porc fumées. Pour la viande fumée au charbon, la concentration médiane en CO-HAPs est de 20,5 µg/kg, alors qu'elle est de 9,26 µg/kg pour la viande fumée au bois (Chen et al. 2014). Les niveaux en CO-HAPs dans de l'huile et des aliments frits différents des poissons et des viandes sont aussi relativement faibles avec des teneurs globales inférieures à 20 µg/kg (Tableau 6). La 9,10-anthraquinone et la 9-fluorénone sont généralement les CO-HAPs les plus abondants dans les huiles végétales (Hua et al. 2016), les pâtes frites (Li et al. 2016) ou encore les cacahuètes (Zhao et al. 2017) (Tableau 6).

Tableau 6 : Concentrations en CO-HAPs dans plusieurs aliments (en µg/kg)

Nature d'aliment	9-fluorénone	9,10-anthraquinone	benzanthrone	1,2-benzanthraquinone	9,10-Dihydrobenzo[a]pyrénone	Référence
Café	0,3*	1,1*	-	-	-	(Dos Santos et al. 2019)
Cacahuètes	0,25	0,29	0,02	0,07	0,02	(Zhao et al. 2017)
Huile de soja	1,96	13,1	3,57	0,98	0,46	(Hua et al. 2016)
Huile de colza	3,42	2,28	0,18	0,08	0,6	(Hua et al. 2016)
Pâtes frites 2h	1,75	6,41	0,86	0,29	0,11	(Li et al. 2016)
Poisson	8,7	170	1	0,74	0,46	(Brorström-Lundén et al. 2010)
Tissu de moule^a	22,6	180	-	< LOD	-	(Layshock et al. 2010)

« * » valeur maximale

« - » non analysé dans cette étude

^a : SRM 2977 matériaux de référence de l'Institut national des normes et de la technologie (NIST)

L'analyse des hydrocarbures aromatiques réalisée par Chen *et al.* (Chen et al. 2014) sur de la viande de porc fumée au charbon permet de comparer la localisation préférentielle des HAPs et CO-HAPs dans des échantillons de viande. Les concentrations les plus faibles en CO-HAPs se trouvent dans la peau (16 µg/kg) et augmentent avec la profondeur (60 µg/kg dans le gras, 80 µg/kg dans le maigre). Comme pour les CO-HAPs, les concentrations en HAPs dans la peau sont inférieures à celles observées dans le gras et le maigre. Cependant les OHAPs peuvent pénétrer plus profondément que les HAPs et atteindre jusqu'à 17 mm de profondeur de la couche maigre, alors que la majorité des HAPs ne dépassent pas 8 mm de profondeur. En effet, les groupes hydrophiles des CO-HAPs pourraient les aider à migrer plus profondément.

Les quelques études réalisées sur la présence des CO-HAPs dans les aliments ont permis de mettre en évidence des concentrations potentiellement supérieures au ppb ou à la dizaine de ppb pour quelques composés. Dépendant de la toxicité des CO-HAPs, l'exposition de l'Homme *via* son alimentation ne peut être négligée ; il paraît ainsi nécessaire de surveiller et contrôler les concentrations en CO-HAPs dans les aliments.

1.2.2.5. Etudes sur la toxicité des CO-HAPs

La toxicité des CO-HAPs est très peu documentée comparativement à celle des HAPs alors qu'il apparaît que la contamination de l'environnement par ces composés ne peut être négligée. Les voies d'exposition aux CO-HAPs semblent être peu différentes de celles des HAPs (Pulleyblank et al. 2019). L'exposition aux CO-HAPs peut provenir de l'eau, de l'air, du sol et des sources alimentaires. Les voies d'exposition humaine aux CO-HAPs peuvent ainsi être l'ingestion, l'inhalation et l'absorption cutanée et oculaire. Selon plusieurs auteurs, l'exposition aux CO-HAPs présente un risque important pour la santé humaine en raison de leurs potentielles propriétés mutagènes et cancérigènes (Idowu et al. 2019; Chibwe et al. 2015; IARC 2010; Lundstedt et al. 2014).

Quelques études *in vivo* et *in vitro* ont été menées pour évaluer la toxicité des CO-HAPs et plus globalement celle des OHAPs. Les études *in vitro* sont effectuées dans un tube à essai (ou autre contenant en verre) en l'absence d'un organisme vivant et les études *in vivo* sont réalisées par exposition d'un organisme vivant.

1.2.2.5.1. Etudes *in vitro* sur la toxicité des CO-HAPs

Des études *in vitro* ont montré que certains CO-HAPs possèdent des effets génotoxiques au niveau cellulaire. La 1,2-benzanthraquinone a été identifiée comme inductrice de l'activité oestrogénique dans les cellules d'hépatomes de rats (Machala et al. 2001). Des essais *in vitro* sur des cellules pulmonaires humaines ont montré une induction du stress oxydatif en présence d'acénaphthènequinone (Chung et al. 2008). Gurbani *et al.* (Gurbani et al. 2013) ont effectué une évaluation de l'endommagement de l'ADN en présence de CO-HAPs à l'aide (i) du test d'Ames vis-à-vis de bactéries et (ii) du test du micronoyau pour des cellules alvéolaires pulmonaires humaines. Ces essais ont dévoilé une modulation métabolique et des dommages conséquents à l'ADN en présence de 1,4-benzoquinone, 1,2-naphtoquinone, 1,4-naphtoquinone et 9,10-phénanthrènequinone. De même, des échantillons de particules urbaines, contenant des CO-HAPs et HAPs, issues de la ville de São Paulo au Brésil, ont fait l'objet de tests de mutagenicité en utilisant le test d'Ames sur des souches TA98 et YG1041 de *Salmonella*. Les fractions contenant des CO-HAPs ont produit une activité mutagène presque quatre fois supérieure à celle des fractions contenant des HAPs (Umbuzeiro et al. 2008). Dans des extraits de sédiments, la 1,4-antracènequinone a été identifiée comme une substance génotoxique très puissante au moyen du test umuC (Brack et al. 2003). De plus, Lundstedt *et al.* ont signalé que les fractions contenant des CO-HAPs issus d'extraits de sédiments recueillis dans une usine de préservation du bois étaient presque aussi mutagènes que les fractions contenant des HAPs (Lundstedt et al. 2007).

1.2.2.5.2. Etudes *in vivo* sur la toxicité des CO-HAPs

Knecht *et al.* (Knecht et al. 2013) ont étudié l'exposition d'embryons de poisson zèbre vis-à-vis de 38 OHAPs dont 29 CO-HAPs pour évaluer l'apparition de malformations, les changements d'expression génétique et la fonction mitochondriale. L'exposition de ces embryons à la 9,10-phénanthrènequinone, à la benzanthrone, à la xanthone et à la 1,2-benzanthraquinone a révélé une augmentation de l'expression de plusieurs gènes liés au stress oxydatif ainsi qu'une diminution du taux de consommation d'oxygène (Knecht et al. 2013).

Le potentiel mutagène des CO-HAPs a été démontré *in vivo* sur un modèle d'embryon de poisson de medaka japonais (*Oryzias latipes*) (Dasgupta et al. 2014). Le potentiel génotoxique de l'acénaphthènequinone et de la 1,2-benzanthraquinone a été évalué au moyen du test des comètes qui mesure l'étendue de l'ADN brisé dans le noyau en utilisant l'électrophorèse sur microgel combinée à la microscopie par fluorescence (Olive, Banáth, et Durand 1990). Les deux CO-HAPs testés ont causé

des augmentations significatives des dommages à l'ADN après seulement 48 h d'exposition aux plus faibles concentrations testées (5 µg/L). Des comparaisons du potentiel génotoxique de ces deux CO-HAPs et de 3 HAPs (acénaphtène, benzo[a]anthracène et benzo[a]pyrène) ont révélé des pouvoirs similaires dans l'ensemble après une exposition prolongée de 7 jours (Figure 15).

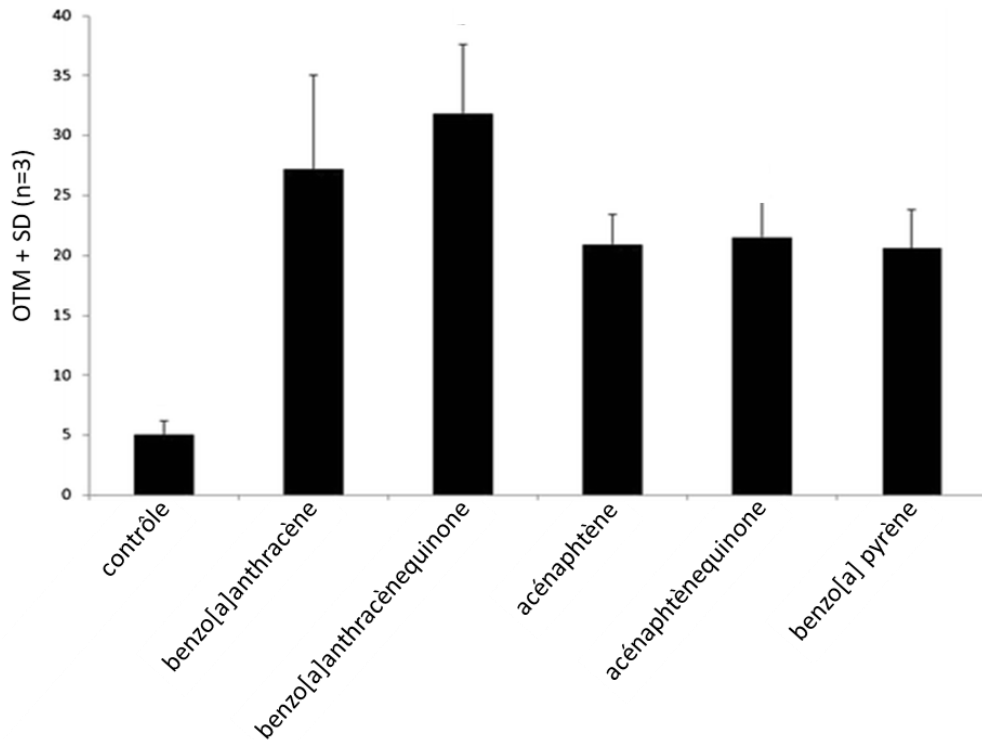


Figure 15 : Dommages causés à l'ADN d'embryons d'*Oryzias latipes* après 7 jours d'exposition à 2 CO-HAPs et 3 HAPs (à 10 µg/L)

OTM : moment de la queue de la comète, mesure permettant d'apprécier le dommage causé à l'ADN avec le test des comètes

Parmi les CO-HAPs qui ont démontré *in vivo* un potentiel mutagène, mentionnons la benzanthrone, l'acénaphtènequinone, la 1,2-benzanthraquinone et la 6H-benzo[cd]pyrén-6-one (Dasgupta et al. 2014; Durant et al. 1996).

1.2.2.5.3. Stress oxydatif lié à la présence de CO-HAPs

Les CO-HAPs peuvent être des sources de stress oxydatif résultant en une surproduction des espèces réactives de l'oxygène (ROS) au détriment des défenses antioxydantes. La génération d'un stress oxydatif important peut entraîner un changement de l'état d'oxydo-réduction cellulaire qui peut endommager les cellules et entraîner la formation de macromolécules cellulaires oxydées. Ces dommages induisent et activent des réponses biologiques telles que l'inflammation et l'apoptose (Dieme et al. 2012; Walgraeve et al. 2010; Zhang et al. 2018a). De nombreuses études confirment la toxicité élevée des CO-HAPs en raison du stress oxydatif (Benigni et Bossa 2011). La toxicité reconnue de certains CO-HAPs tel que la 1,2-benzanthraquinone et la benzo[a]fluorénone entraîne une augmentation de la présence d'espèces réactives de l'oxygène et la formation de gènes antioxydants chez les poissons zèbres (Knecht et al. 2013). Certains CO-HAPs (phénalénone, benzanthrone, 3-nitro-6H-dibenzo[bd]pyran-6-one, cyclopenta[cd]pyrène-3(4H)-one, 6H-benzo[cd]pyrène-6-one et anthanthrone) sont considérés comme extrêmement toxiques et produisent des superoxydes nocifs qui tuent la majorité des cellules humaines lors d'essais de mutagénicité (Durant et al. 1996). Les espèces réactives de l'oxygène affectent également les voies de transduction du signal et la régulation de l'expression des gènes, jouant ainsi un rôle important dans le stade de la cancérogénèse qui favorise la formation de tumeurs (Benigni et Bossa 2011).

1.2.2.5.4. Etudes sur la cancérogénicité des CO-HAPs

Les effets cancérogènes de nombreux CO-HAPs sont susceptibles d'être à action directe (EHC 2003; Huang et al. 2014). Les agents cancérogènes à action directe exercent un effet direct et ne nécessitent aucune activation enzymatique (Kielhorn 2003; Lundstedt et al. 2007; Motorykin et al. 2015; Pedersen et al. 2005). Par exemple, il a été démontré que la 9,10-antraquinone peut être cancérogène et que les concentrations retrouvées pour ce composé peuvent être corrélées à l'apparition de cas de cancer (Wei et al. 2010).

L'évaluation des risques d'excès de cancer (ECR) induits par l'inhalation des composés aromatiques polycycliques (HAPs, OHAPs, Nitro-HAPs) est généralement menée à l'aide de facteurs d'équivalence toxique (toxicity equivalency factor, TEF), avec le benzo[a]pyrène (BaP) comme composé de référence (TEF = 1), en utilisant les équations (1 et 2, présentées ci-dessous) recommandées par le Bureau Californien d'Évaluation des Risques pour la Santé liés à l'Environnement (OEHHA) et l'Agence Américaine de Protection Environnementale (US-EPA) (Malig 2015 ; OEHHA, 2011).

$$[BaP]_{\acute{e}q} = \sum_{i=1}^{n-1} (C_i \times TEF_i) \text{ (ng/m}^3\text{)} \quad (1)$$

$$ECR = \sum [BaP]_{\acute{e}q} \times UR_{BaP} \quad (2)$$

UR (Unité de risque) avec le benzo[a]pyrène (BaP) pris comme référence à $1,1 \times 10^{-6}$ ng/m³ (OEHHA, 2011)

Contrairement aux HAPs et aux Nitro-HAPs (10 valeurs de TEF disponibles pour ces derniers), Il n'existe qu'une seule valeur de TEF disponible pour les CO-HAPs à savoir celle de la 9,10-anthraquinone (TEF = 0,018) (Durant et al. 1996; Tomaz et al. 2016). Cette valeur de TEF est susceptible de conférer à la 9,10-anthraquinone une toxicité moins importante que le benzo[a]pyrène mais correspond à une valeur bien plus importante que celles déterminées pour de nombreux HAPs.

En conclusion, plusieurs OHAPs sont potentiellement toxiques (écotoxiques, génotoxiques, mutagènes, oestrogéniques), bioaccumulables, persistants, mobiles, et sont susceptibles de causer de graves dommages aux écosystèmes, à la santé animale et à la santé humaine (Arp et al. 2014; Boll et al. 2015; Machala et al. 2001; Pulleyblank et al. 2019). Certains chercheurs ont commencé à réclamer la révision de la liste réglementaire des 16 HAPs de l'US-EPA afin d'y inclure certains OHAPs et CO-HAPs (Andersson et Achten 2015; Lundstedt et al. 2014), d'où l'importance de développer des méthodologies de dosage efficaces et fiables afin de pouvoir les déterminer dans les différents compartiments de l'environnement et les aliments.

1.3. Méthodes d'analyse (extraction, séparation et détection) des CO-HAPs

Dans cette partie seront présentées les méthodes d'extraction usuelles des CO-HAPs (Soxhlet, UAE, MAE et PLE, SPE, SPME, ...), ainsi que les techniques de séparation (GC, HPLC) et de détection pour analyser les extraits obtenus. Comparés aux HAPs, les CO-HAPs sont plus réactifs, labiles, polaires et instables. Ils peuvent être sujets à de nombreuses interférences dues aux échantillons (environnementaux, alimentaires, ...) dans lesquels ils sont contenus (Cho et al., 2004 ; Lintelmann et al., 2005). Lorsqu'ils sont recherchés à l'état de traces (de l'ordre du $\mu\text{g}/\text{kg}$ ou pg/m^3), les méthodologies utilisées nécessitent souvent plusieurs étapes de purification et de pré-concentration. La préparation de l'échantillon est l'étape-clé d'une méthode d'analyse dans son ensemble. Pour l'analyse des CO-HAPs, le défi pour les analystes est de les extraire avec une grande sélectivité, en éliminant les composés de la matrice (environnementale ou alimentaire) par une purification appropriée pour obtenir à la fois d'excellentes résolutions et sensibilités chromatographiques pour leur détermination. La préparation d'échantillon peut être effectuée en trois étapes : extraction (partie 1.3.1), purification (partie 1.3.2) et pré-concentration (partie 1.3.3).

1.3.1. Méthodes d'extraction des CO-HAPs

L'étape d'extraction vise à récupérer de façon optimale les analytes présents dans l'échantillon. L'extrait obtenu doit être compatible avec la technique séparative (GC, HPLC) envisagée par la suite. Pour un échantillon solide, un transfert des composés d'intérêt dans un milieu liquide ou gazeux doit être ainsi opéré. En ce qui concerne les CO-HAPs, pour leur extraction à partir d'échantillons environnementaux ou alimentaires, les méthodes les plus utilisées sont :

- L'extraction par soxhlet
- L'extraction par liquide pressurisé (PLE)
- L'extraction assistée par les ultra-sons (UAE)
- L'extraction assistée par micro-ondes (MAE)
- L'extraction en phase solide (SPE) pour les échantillons liquides

- La microextraction en phase solide (SPME)
- L'extraction par la méthode QuEChERS
- La microextraction en phase liquide (LPME)

Mise à part l'extraction en phase solide (SPE), utilisée majoritairement comme moyen de purification, le principe et l'application aux CO-HAPs de ces différentes méthodes seront vus dans les prochaines sous-parties.

1.3.1.1. Extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une extraction solide-liquide (SLE, Solid-Liquid extraction) qui consiste en une mise en contact de l'échantillon solide avec un solvant ou des mélanges de solvants de polarités différentes pour libérer tous les composés cibles de la matrice. Cette technique a été utilisée pour la première fois pour l'extraction de lipides à partir d'une matrice solide par Franz von Soxhlet (von Soxhlet, 1879). L'extraction par Soxhlet est une méthode classique d'extraction d'échantillons solides et souvent considérée comme une référence. Cette technique utilise un extracteur de Soxhlet (montage en verre) permettant le chauffage du solvant à reflux et l'extraction en continu des composés ciblés.

Compte tenu de sa simplicité à extraire à partir d'une matrice solide, l'extraction par Soxhlet a été beaucoup utilisée pour l'extraction des CO-HAPs dans les particules de l'air et les sols (Zhang et al. 2018a) (Tableau 7). Le solvant le plus courant pour l'extraction des CO-HAPs est le dichlorométhane ; cependant, le méthanol (Cochran et al. 2012) ou un mélange hexane/ acétone (Lundstedt et al. 2006) ont pu être aussi utilisés. Par exemple, pour des échantillons de particules de l'air, l'extracteur de Soxhlet a été utilisé pour l'extraction de quatorze CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol) à partir de filtres en quartz avec le dichlorométhane pendant 24h (Andreou et Rapsomanikis 2009).

Tableau 7 : Applications de l'extraction par Soxhlet pour l'analyse de CO-HAPs

Echantillon	CO-HAPs	Solvant d'extraction	Méthode de purification	Références
Air et particules d'air	4 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	Hexane / acétone	SPE silice et alumine	(Lin et al. 2015; Li et al. 2014, 2015; Li et al. 2016; Zhuo et al. 2017b; Ding et al. 2012; S. Wei et al. 2014, 201; Chen et al. 2016, 2017)
Air et particules d'air	5 CO-HAPs (MM 156 - 258 g/mol)	DCM	SPE silice et alumine	(Souza et al. 2014; Shen et al. 2011, 2012, 2013, 2016; Zhang et al. 2018a, 2018b, 2019; Li et al. 2018; Li et al. 2019; Kamiya et al. 2017; Jiang et al. 2018)
Particules d'air	14 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	DCM	SPE silice	(Andreou et Rapsomanikis 2009)
Particules de diesel et fumée de bois	13 CO-HAPs (MM 146 - 384 g/mol)	DCM et MeOH	SPE aminopropyle	(Cochran et al. 2012)
Sol	8 CO-HAPs (MM 132 - 258 g/mol)	Hexane / acétone	SPE silice et Na ₂ SO ₄	(Lundstedt et al. 2006, 2014)

En dépit de son efficacité, le grand inconvénient de l'extraction par Soxhlet reste le grand volume de solvant consommé (pouvant varier entre 40 et 100 mL par échantillon), et le temps d'extraction pouvant être relativement long (de 8 à 24 heures). Des techniques d'extraction plus rapides et nécessitant des quantités de solvant plus faibles, telle que l'extraction par solvant pressurisé, sont de plus en plus utilisées (Walgraeve et al. 2010).

1.3.1.2. Extraction par liquide pressurisé (PLE)

L'extraction par solvant pressurisé (PLE, Pressurized Liquid Extraction) implique l'utilisation de solvants à température et pression élevées, ce qui améliore les performances d'extraction par rapport aux techniques réalisées à température ambiante et à pression atmosphérique (Mustafa et Turner 2011). L'utilisation d'une température et d'une pression élevée permet d'augmenter la cinétique d'extraction tout en maintenant le solvant à l'état liquide. Cette technique a été introduite pour la première fois par la société Dionex (Dionex, Voisins-le Bretonneux, France) en 1995 à la conférence « pittcon » sous le nom d'extraction accélérée par solvant (Accelerated Solvent Extraction, ASE®).

La PLE est actuellement la technique la plus utilisée pour l'analyse des CO-HAPs dans les échantillons solides (sols, matières végétales, sédiments) et ceux enrichis en phase solide (filtres et mousses en polyuréthane) (Bandowe et Wilcke 2010a; Bandowe et al. 2014b; Tomaz et al. 2016; Keyte et al. 2016; Manzano et al. 2013) (Tableau 8). La PLE est devenue une meilleure alternative aux méthodes d'extraction par Soxhlet (Lundstedt et al. 2006). Les solvants d'extraction sont le dichlorométhane, le toluène, l'acétone ainsi que des mélanges de solvants (dichlorométhane/acetone, cyclohexane/dichlorométhane, n-hexane/acétone) pour des températures situées entre 50 et 200 °C et des pressions variant de 0,3 à 21 MPa.

Tableau 8 : Applications de l'extraction par liquide pressurisé (PLE) à l'extraction des CO-HAPs

Echantillon	CO-HAPs*	Solvant d'extraction	Méthode de purification	Référence
Air et particules d'air	8 CO-HAPs (MM 132 - 208 g/mol)	DCM	SPE silice	(Bandowe et Wilcke 2010a)
	32 CO-HAPs (MM 132 - 258 g/mol)	DCM	SPE silice puis alumine	(Albinet et al. 2006, 2007, 2008; Ringuet et al. 2012b, 2012a; Tomaz et al. 2016, 2017; Keyte et al. 2016; Nalin et al. 2016)
Particules d'air	12 CO-HAPs (MM 156 - 258 g/mol)	DCM	Sans purification	(Walgraeve et al. 2015)
Poussières urbaines, extraits de diesel	24 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	DCM	SPE silice	(Layshock et al. 2010; O'Connell et al. 2013)
Particules de diesel	13 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	DCM	SPE alumine	(Layshock et al. 2010; O'Connell et al. 2013)
Air et particules d'air	11 CO-HAPs (MM 132 - 258 g/mol)	DCM et acétone	SPE silice	(Alves et al. 2017)
Poussières urbaines, particules de diesel	4 CO-HAPs (MM 204 - 258 g/mol)	Toluène	SPE silice	(Ahmed et al. 2015a, 2015b)
Particules d'air	3 CO-HAPs (MM 204 - 258 g/mol)	DCM et acétone	SPE Alumine	(Di Filippo et al. 2015)
Air et particules d'air	15 CO-HAPs (MM 132 - 258 g/mol)	DCM	Sans purification	(Bandowe et al. 2014b; Wei et al. 2015)
Particules d'air	11 CO-HAPs (MM 156 - 258 g/mol)	Acétate d'éthyle	Filtration	(Walgraeve et al. 2012)
Particules de diesel	4 CO-HAPs (MM 180 - 208 g/mol)	DCM	SPE aminopropyle	(Cochran et Kubátová 2015)
Sol	9 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	DCM / acétone	SPE silice	(Obrist et al. 2015)

	15 CO-HAPs (MM 132 - 258 g/mol)	DCM puis acétone/DCM	SPE silice	(Bandowe et al. 2010a, 2010b, 2011, 2018, 2019; Lundstedt et al. 2014)
Sédiments	13 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	DCM	**SEC puis SPE alumine	(Layshock et al. 2010; O'Connell et al. 2013)
	8 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	DCM	SPE Silice	(Witter et Nguyen 2016)
	4 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	DCM / acétone	SPE silice puis alumine	(Qiao et al. 2013, 2014b)
	Plante (<i>Taxus baccata</i>)	12 CO-HAPs (MM 156 - 258 g/mol)	DCM	SPE Florisil
Poissons ghanéens	15 CO-HAPs (MM 132 - 258 g/mol)	DCM	Sans purification	(Bandowe et al. 2014a)
Poissons	9 CO-HAPs (MM 132 - 208 g/mol)	DCM	SPE silice	(Jafarabadi et al. 2019)
Tissus de moules	5 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	Hexane/ acétone	SPE silice	(De Witte et al. 2019)
Tissus de moules	13 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	DCM	**SEC puis SPE silice	(Layshock et al. 2010)

*nombre incluant des Hydrocarbures Aromatiques carbonylés possédant un seul cycle aromatique

**SEC: Chromatographie d'exclusion stérique

Walgaeve *et al.* ont utilisé la PLE pour extraire un ensemble de douze CO-HAPs dans les particules d'air (dont 4 quinones, 3 cétones, 4 aldéhydes et une anhydride) en utilisant le dichlorométhane comme solvant d'extraction. Des conditions optimales d'extraction ont été obtenues pour une température de 150°C et une pression de 14 MPa. Les taux de récupération étaient pour la plupart supérieurs à 74 % excepté pour l'anhydride 1,8-naphtalique (14%) (Walgraeve et al. 2015).

Lundstedt *et al.* ont développé une méthode PLE concernant huit CO-HAPs (1-indanone, 9-fluorénone, anthracène-9,10-dione, naphtacène-5,12-dione, ...) dans des échantillons de sols. Cinq solvants sont évalués (n-pentane, n-hexane, n-hexane/dichlorométhane, dichlorométhane et cyclohexane/dichlorométhane) à deux températures, 100 et 150°C et à une pression de 14 MPa. La méthode optimale repose sur l'utilisation d'un mélange cyclohexane/dichlorométhane (1/3, v/v) à 150°C. Les taux de récupération des CO-HAPs étaient pour la plupart supérieurs à 90 % excepté pour la 1-indanone (47%) (Lundstedt et al. 2006, 2014).

Bandowe *et al.* ont utilisé la PLE pour extraire un ensemble de quinze CO-HAPs (dont 6 quinones, 6 cétones, 2 aldéhydes et une anhydride). La méthode a été appliquée à l'extraction de particules de l'air (Bandowe, et al. 2014b), de différents types de sol (Bandowe et Wilcke 2010a) et pour des poissons (Bandowe et al. 2014a) en utilisant le dichlorométhane comme solvant d'extraction à 14 MPa et 120 °C.

Du fait des températures et pressions élevées, la PLE nécessite d'investir dans un système hermétique spécifique. Les possibilités de dégradation chimique des CO-HAPs ne sont pas totalement à exclure du fait notamment de l'utilisation de températures assez élevées. Lintelmann *et al.* (Lintelmann et al. 2005) ont notamment signalé une dégradation chimique ou un réarrangement des CO-HAPs de type quinones lors d'une PLE réalisée à 100°C et 10,7 MPa pour des échantillons de particules de l'air.

1.3.1.3. Extraction assistée par les ultra-sons (UAE)

L'extraction assistée par les ultra-sons (UAE, Ultrasound Assisted Extraction) est une technique basée sur l'utilisation de l'énergie produite par des ondes ultra-sonores (des fréquences généralement autour de 20 kHz). Une agitation moléculaire est produite en créant des cycles de compression et d'expansion du liquide (solvant) utilisé (Luque-Garcia 2003). L'utilisation des ondes ultra-sonores aboutit à une augmentation ponctuelle de la pression et de la température dans le milieu ce qui

améliore le contact entre le solvant et la matrice et facilite le transfert des composés ciblés depuis la matrice vers le solvant d'extraction (Zuloaga et al. 2012).

Plusieurs matrices environnementales (air, particules d'air, sédiments, ...) ont été soumises à des UAE afin d'y extraire des CO-HAPs. Le solvant le plus utilisé est le dichlorométhane (Tableau 9). Fujiwara *et al.* (Fujiwara et al. 2014) ont réalisé l'extraction de 3 CO-HAPs (2-fluorèncarboxaldéhyde, 5,12-naphtacènequinone, 9,10-anthracènequinone) dans les particules de l'air par UAE en utilisant une température de 40°C pendant 30 min. Six solvants et mélanges de solvants ont été évalués (méthanol ; dichlorométhane ; méthanol/acétone (v/v, 1/1) ; méthanol/ toluène (v/v, 4/6) ; méthanol/toluène/acétone (v/v/v, 1/1/1) ; méthanol/chloroforme (v/v, 1/1)) ; les meilleurs rendements d'extraction ont été obtenus par utilisation du dichlorométhane. Treize CO-HAPs (MM 146 – 384 g/mol) ont été, pour leur part, déterminés par Totlandsdal *et al.* (Totlandsdal et al. 2014) dans des particules issues d'émissions de moteur diesel et de fumée de bois par UAE avec du méthanol pendant 30 min à température ambiante.

De même, l'UAE a été utilisée pour extraire les CO-HAPs issus de matrices alimentaires. L'extraction par UAE de cinq CO-HAPs (MM 180 – 270 g/mol) à partir de youtiao (pain frit traditionnel chinois) est réalisée au moyen de n-hexane pendant une heure (Li et al. 2016) tandis que celle de la 9,10-anthraquinone à partir d'échantillons de thé est réalisée avec un mélange n-hexane/acétone (v/v, 8/2) pendant 10 minutes (Wang et al. 2018).

Les auteurs ayant utilisé l'UAE afin d'y extraire les CO-HAPs (Keyte et al. 2016; Santos et al. 2018) justifient leur choix par le fait que cette méthodologie permet d'optimiser la durée d'extraction et d'obtenir de très bons rendements de récupération en fonction du choix de solvant réalisé. De plus, elle nécessite une verrerie abordable pour tout laboratoire sans pour autant employer une très haute température ce qui est convenable pour les CO-HAPs qui sont thermolabiles.

Tableau 9 : Applications de l'Extraction assistée par les ultra-sons (UAE) à l'extraction des CO-HAPs

Echantillon	CO-HAPs	Solvant d'extraction	Méthode de purification	Référence
Particules d'air et sédiments	4 CO-HAPs (MM 158 - 208 g/mol) + 1,4-Benzoquinone	ACN / DCM	Sans purification	(Santos et al. 2016; Santos et al. 2018)
Air et particules d'air	29 CO-HAPs (MM 158 - 282 g/mol) et 2,6-Di- <i>tert</i> -butyl-1,4-benzoquinone, phtaldialdéhydes	DCM	1/SPE Na ₂ SO ₄ 2/SPE Na ₂ SO ₄ puis SPE-aminopropyl	(Keyte, Albinet, et Harrison 2016; Delgado-Saborit et al. 2013; Alam et al. 2015)
Particules d'air	3 CO-HAPs (MM 194 - 258 g/mol)	DCM	Sans purification	(Fujiwara et al. 2014)
Particules d'air	5 CO-HAPs (MM 156 - 258 g/mol)	DCM	SPE silice alumine	(Huang et al. 2014; Wei et al. 2012; Karavalakis et al. 2010)
Particules d'air	28 CO-HAPs (MM 158 - 308 g/mol)	DCM	SPE silice	(Kojima et al. 2010b; Kamiya et al. 2017)
Particules d'air	6 CO-HAPs (MM 156 - 258 g/mol)	DCM / n-hexane	SPE florisil	(Li et al. 2018; Guan et al. 2017)
Particules d'air	9,10-phénanthrènequinone	MeOH	Sans purification	(Kishikawa et al. 2011, 2004)
Particules de diesel et fumée de bois	13 CO-HAPs (MM 146 – 384 g/mol)	MeOH	SPE aminopropyl	(Totlandsdal et al. 2014)
	12 CO-HAPs (MM 208 – 282 g/mol)	MeOH / toluène	Sans purification	(Lintelmann et al. 2005)
Particules d'air	7 CO-HAPs (MM 158 – 232 g/mol) et 4-benzoquinone, méthyl-1,4-benzoquinone	Hexane / DCM et MeOH	Sans purification	(Jakober et al. 2007)
Particules d'air	3 CO-HAPs (MM 158 – 254 g/mol)	n-hexane	LLE eau	(Nyiri et al. 2016)
Pain frit (youtiao)	5 CO-HAPs (MM 180 – 270 g/mol)	n-hexane	LLE ACN / acétone	(Li et al. 2016)
Thé	9,10-antraquinone	n-hexane/acétone	SPE florisil	(Wang et al. 2018)

1.3.1.4. Extraction assistée par les micro-ondes (MAE)

L'extraction assistée par les micro-ondes (MAE, Microwave Assisted Extraction) est une méthode d'extraction solide-liquide, qui consiste à extraire des molécules cibles au moyen d'un rayonnement électromagnétique (dont les fréquences varient de 300 MHz à 300 GHz) provoquant un effet chauffant du solvant. L'échantillon, placé dans le solvant d'extraction, est soumis à l'énergie des micro-ondes comme source de chauffage. L'utilisation des micro-ondes induit une augmentation rapide de la température du solvant d'extraction et garantit une diffusion de la chaleur de façon homogène dans le milieu (solvant-matrice), ce qui favorise le transfert des analytes dans le solvant.

LA MAE a été appliquée à l'extraction de 4 CO-HAPs (9-fluorénone, 9,10-anthraquinone, benzanthrone et 1,2-benzanthraquinone) dans l'air, les particules d'air et le sol en utilisant un mélange d'hexane/acétone (1/1, v/v) pour l'extraction (Tableau 10). La combinaison d'un solvant avec une faible constante diélectrique ($\epsilon_{\text{hexane}} = 1,88$) et un co-solvant polaire ($\epsilon_{\text{acétone}} = 20,7$) est fréquemment utilisée en MAE (Serrano et Gallego 2006).

Une étude comparative entre deux méthodologies UAE et MAE a été réalisée par Fujiwara *et al.* (Fujiwara et al. 2014) dans le cadre de l'analyse de trois CO-HAPs (2-fluorèncarboxaldéhyde, 5,12-naphtacènequinone, 9,10-anthraquinone) dans des écorces d'arbres. Différents solvants et mélanges de solvants ont été évalués afin de déterminer le solvant(s) proposant les meilleurs rendements d'extraction. Cette étude a mis en évidence que la meilleure technique d'extraction pour les écorces d'arbres est la MAE en utilisant un mélange méthanol/toluène (2/3, v/v).

L'application de la MAE avec des mélanges de solvants permet d'améliorer et d'accélérer l'extraction et la libération des CO-HAPs de la matrice solide. Un des inconvénients de cette technique c'est qu'elle est limitée à l'utilisation de solvants qui absorbent les rayonnements électromagnétiques dans le domaine des micro-ondes (solvants polaires). De plus, l'utilisation de températures élevées (ex : 110°C) peut être une source de dégradation thermique des composés thermolabiles tels que les CO-HAPs.

Tableau 10 : Applications de l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) à l'extraction des CO-HAPs

Echantillons	CO-HAPs	Solvant d'extraction	Méthode de purification	Référence
Air et particules d'air	4 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	Hexane / acétone	SPE silice et alumine	(Shen et al. 2012, 2013, 2011; Chen et al. 2016, 2017; Sun et al. 2017; Li et al. 2014, 2015; Li et al. 2016; Wei et al. 2014; Zhuo et al. 2017b; Ding et al. 2012)
Sols	5 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	Hexane / acétone	SPE silice et alumine	(Cai et al. 2017)
Ecorces d'arbres	3 CO-HAPs (MM 194 - 258 g/mol)	MeOH / toluène	Sans purification	(Fujiwara et al. 2014)
Sédiments	4 CO-HAPs (MM 158 - 208 g/mol)	ACN / DCM	Filtration	(Berger-Brito et al. 2018)

1.3.1.5. Extraction par méthode QuEChERS « Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe »

Le terme QuEChERS est un acronyme pour « Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe ». La méthode se veut donc rapide, facile, bon marché, efficace, robuste et fiable (Poncelet et al. 2016). Ce type d'extraction a été initialement développé pour la détermination de pesticides à l'état de traces dans les fruits et légumes par Anastassiades *et al.* (Anastassiades et al. 2003). Le procédé d'extraction mis en jeu comporte deux étapes :

- Une première étape d'extraction consiste en l'ajout à l'échantillon d'un solvant organique (souvent l'acétonitrile ou l'acétate d'éthyle) et d'un mélange de sels. Le mélange de sels sert à capter toute l'eau issue de l'échantillon. Les composés d'intérêt sont susceptibles d'être transférés favorablement dans le solvant organique (asséché par l'ajout des sels). Les sels les plus utilisés sont le sulfate de magnésium (MgSO₄), le chlorure de sodium (NaCl), le citrate trisodique dihydraté

(TSCD, trisodium citrate dihydrate), l'hydrogénocitrate disodique sesquihydraté (DHS, disodium hydrogen citrate sesquihydrate) et l'acétate de sodium (NaOAc).

- Une deuxième étape de purification de la phase organique est nécessaire après extraction. Elle est souvent menée par Extraction en Phase Solide dispersive (dSPE, dispersive Solid-Phase Extraction) qui consiste en l'élimination d'impuretés présentes dans la phase organique. Cette élimination est réalisée par ajouts soit (i) d'adsorbants contenant des fonctions amines primaires et secondaires (Primary Secondary Amine, PSA) ou du carbone sous forme de graphite (Graphitized Carbon Black, GCB) ou (ii) des particules rétentes de type C18 (Figure 16).
- Les amines primaires et secondaires (PSA) peuvent interagir par liaison hydrogène avec certains composés chimiques comme les acides gras, les acides organiques, les sucres et pigments et provoquer ainsi leur élimination.
 - Le carbone sous forme de graphite utilisé par dSPE (GCB) est une phase macroporeuse composée de feuillets de carbone qui ont une forte affinité pour de nombreuses molécules planaires. Elle peut éliminer efficacement certains pigments (ex : chlorophylle, caroténoïdes) ainsi que des stérols couramment présents dans des aliments (Diehl 2007). Cependant, cette phase est susceptible de retenir les CO-HAPs (Albinet et al. 2014).
 - Les particules de phase inverse (C18), utilisées dans de très nombreuses applications chromatographiques, peuvent permettre l'élimination par partage de substances interférentes apolaires comme les lipides.

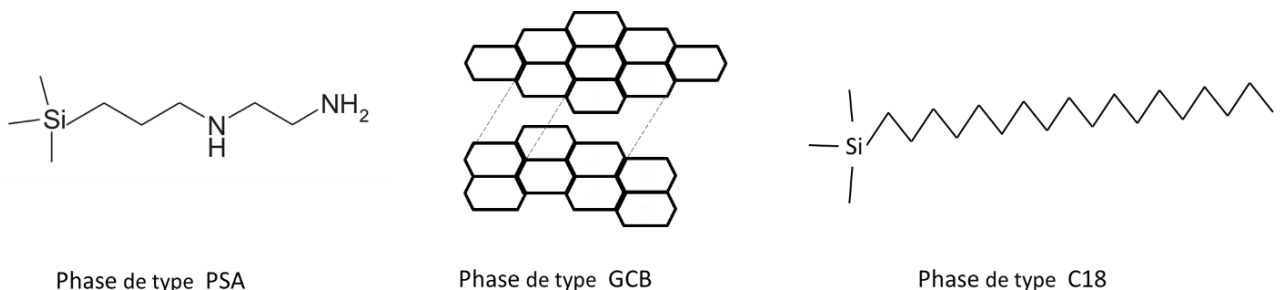


Figure 16 : Formules chimiques des adsorbants ou phases rétentes les plus utilisés en dSPE après méthodologie QuEChERS

L'étape de purification qui suit une méthodologie d'extraction QuEChERS n'est pas obligatoirement effectuée par dSPE, d'autres techniques de purifications (ex : SPE) peuvent être utilisées et seront vues en partie 1.3.2. de ce manuscrit.

La méthodologie d'extraction QuEChERS a été récemment employée pour la détermination de CO-HAPs dans des échantillons atmosphériques (air et particules d'air) (Tableau 11). Ces travaux initialement menés par Albinet *et al.* y ont permis l'identification et la quantification de 32 CO-HAPs. L'extrait contenant les CO-HAPs est obtenu par ajout d'acétonitrile puis purifié par SPE contenant du gel de silice (Albinet et al. 2013, 2014; Tomaz et al. 2016, 2017; Keyte et al. 2016; Nalin et al. 2016).

La méthodologie d'extraction QuEChERS est assez simple et rapide à mettre en œuvre (environ 10 minutes pour extraire un échantillon). Elle nécessite une quantité relativement réduite de solvant (entre 2,5 et 20 mL selon les échantillons testés) et est actuellement de plus en plus utilisée pour l'extraction de composés volatils ou semi-volatils dans les fruits et légumes.

Tableau 11 : Applications de la méthodologie QuEChERS à l'extraction des CO-HAPs

Echantillon	CO-HAPs	Solvant d'extraction	Méthode de purification	Référence
Particules d'air	32 CO-HAPs (MM 132 - 258 g/mol)	ACN	SPE silice	(Albinet et al. 2013, 2014; Tomaz et al. 2016; Keyte et al. 2016; Nalin et al. 2016; Srivastava et al. 2018a, 2018b; Shahpoury et al. 2018)

1.3.1.6. Micro-extraction en phase solide (SPME)

La micro-extraction en phase solide (SPME) est une technique d'extraction spécifique à l'analyse de composés volatils. Développée par Arthur et Pawliszyn (Arthur et Pawliszyn, 1990) au début des années 1990, elle consiste en l'extraction de composés volatils au moyen d'une fibre recouverte d'un support adsorbant. La fibre est placée soit en immersion dans l'échantillon (DI-SPME, Direct Immersion-Solid Phase Microextraction) ou par exposition dans l'espace libre ou espace de tête au-

dessus de l'échantillon (HS-SPME, Headspace-Solid Phase Microextraction). La récupération des composés retenus sur la fibre est opérée par désorption thermique (augmentation de température) ou mécanique (flux du gaz vecteur) dans l'injecteur du système d'analyse qui est la plupart du temps un Chromatographe en Phase Gazeuse.

La DI-SPME a été utilisée par Dos Santos *et al.* (Dos Santos et al. 2019) pour extraire quatre CO-HAPs (9,10-anthraquinone, 2-méthylanthraquinone, 5,12-naphthacènequinone, et 9-fluorénone) issus d'échantillons de mouture de café. Les CO-HAPs ont été extraits par immersion directe pendant 45 min à 70 °C en utilisant une fibre recouverte d'un film de type Polydiméthylsiloxane/Divinylbenzène (PDMS/DVB) de 85 µm d'épaisseur. Après extraction, la fibre est placée dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse à 270 °C pour y réaliser la désorption des analytes (Dos Santos et al. 2019). De plus, la présence de deux CO-HAPs (9,10-anthraquinone et 9-fluorénone) a été aussi recherchée par Tillner *et al.* (Tillner et al. 2013) dans des échantillons d'eau. Ces deux CO-HAPs ont été extraits par immersion directe dans l'eau (DI-SPME) pendant 20 min à 60 °C en utilisant, dans ce cas de figure, une fibre recouverte d'un film de polyacrylate (PA) de 85 µm d'épaisseur. Après extraction, 7 minutes de désorption de la fibre ont été nécessaires pour libérer le contenu adsorbé dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse au moyen d'une augmentation de température de 140 à 290 °C (600 °C/min) puis d'une température de 290 °C maintenue pendant 13 minutes.

1.3.1.7. Micro-extraction en phase liquide (LPME)

L'extraction liquide-liquide classique utilise de grandes quantités de solvants organiques et peut être longue et laborieuse à réaliser. Pour remédier à ces inconvénients, des techniques de microextraction en phase liquide (LPME, Liquid-Phase MicroExtraction) ont été développées. La microextraction en phase liquide consiste en l'utilisation d'un volume réduit de solvant d'extraction (quelques µL) par rapport au volume de l'échantillon liquide. Les techniques de LPME ont évoluées au fil des ans ; la microextraction peut notamment être menée au moyen d'une goutte de solvant (SDME) ou de façon dispersive en phase liquide-liquide (DLLME).

1.3.1.7.1. Microextraction sur une goutte (SDME)

La micro-extraction sur une goutte (SDME, Single Drop Micro-Extraction) a été la première application d'un procédé d'extraction liquide-liquide miniaturisé à base de solvant pour les analytes issus d'échantillons aqueux et gazeux. La SDME est basée sur le transfert des analytes vers une goutte (de l'ordre de 1 à 8 μL) de solvant organique maintenue à l'extrémité de l'aiguille d'une seringue immergée dans l'échantillon (généralement une solution aqueuse) (Tang et al. 2018).

La SDME est utilisée pour extraire la 1,4-benzoquinone et quatre CO-HAPs (1,2-naphtoquinone, 1,4-naphtoquinone, 9,10-phénanthraquinone et 9,10-anthraquinone) à partir d'échantillons d'eaux de surface et d'eaux souterraines. L'extraction est effectuée au moyen d'une goutte de toluène (1 μL) dans 10 mL d'échantillon d'eau avec une agitation de 200 rpm pendant 30 minutes. La goutte est, par la suite, directement injectée en GC-MS (Santos et al. 2017).

La SDME est une technique d'extraction peu onéreuse car elle ne nécessite qu'une microseringue. Cependant, elle possède quelques inconvénients, dont les plus importants sont l'instabilité de la goutte d'extraction et le possible manque de reproductibilité.

1.3.1.7.2. Microextraction dispersive liquide-liquide (DLLME)

La microextraction dispersive liquide-liquide (DLLME, dispersive liquid - liquid microextraction) est une méthode relativement récente d'extraction liquide-liquide et de pré-concentration basée sur l'utilisation d'un mélange de solvant : un solvant d'extraction et un solvant dispersant polaire (principalement l'acétone, l'éthanol, le méthanol et l'acétonitrile). Un volume de quelques millilitres d'échantillon aqueux est extrait au moyen de quelques dizaines de microlitres d'un solvant organique non miscible à l'eau et possédant une plus faible ou plus forte densité. L'ajout concomitant de quelques centaines de microlitres d'un solvant dispersant polaire miscible à l'eau provoque la formation de fines gouttelettes de solvant d'extraction dispersées entièrement dans l'échantillon aqueux. Par agitation, la grande surface entre les fines gouttelettes et la phase aqueuse facilite le transfert rapide des analytes de la solution de l'échantillon dans les gouttelettes de solvant organique non miscible. Après centrifugation, la goutte d'extrait située au-dessus ou en-dessous de la phase aqueuse peut être récupérée au moyen d'une seringue pour injection directe dans un chromatographe. Afin d'améliorer le rendement de récupération, la goutte d'extrait peut aussi être solidifiée par refroidissement dans un bain de glace. Cette dernière façon d'opérer nommée « SFO » (SFO, solidification of a floating organic drop) initiée par Leong et Huang (Leong et Huang 2008) conduit à la récupération de la goutte

solidifiée dans un tube à essai ; après fusion, cette goutte est soit injectée directement dans un système d'analyse ou diluée avec un solvant avant analyse (Leong et Huang 2008; Viñas et al. 2015).

La DLLME en utilisant le procédé SFO a été utilisée par Guíñez *et al.* (Guíñez et al. 2018a, 2018b) pour extraire trois CO-HAPs (5,12-naphtacènedione, 9,10-anthraquinone et 2-fluorénecarboxaldéhyde) dans l'eau potable et l'eau issue d'un lac. Un volume de 10 mL d'eau a été extrait en utilisant 50 µL de dodécanol (solvant non miscible) et 125 µL de méthanol (solvant miscible dispersant). Après centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min, la goutte organique flottante (faible densité du solvant d'extraction) est récupérée et transférée dans l'acétonitrile pour une analyse en chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS).

Les avantages de la DLLME sont la simplicité de fonctionnement, la rapidité, le faible volume d'échantillon, le faible coût et le facteur d'enrichissement élevé. Toutefois, les principales limites de cette technique sont liées au choix du solvant approprié, car il doit avoir un point de fusion proche de la température ambiante (de l'ordre de 10 à 30°C), une faible solubilité dans l'eau et la capacité de solidification dans un bain de glace (Hashemi et al. 2017). Cette technique n'est aussi adaptée qu'aux échantillons liquides et totalement aqueux.

1.3.2. Purification

Lors d'une détermination de composés chimiques à l'état de traces dans des échantillons alimentaires ou issus de l'environnement, l'étape de purification joue un rôle très important dans le processus analytique. En effet, l'extraction peut induire une récupération de centaines de composés non désirés et provenant de la matrice qui peuvent interférer lors de l'analyse avec les composés d'intérêt. Les CO-HAPs, visés dans ce travail, sont présents à des concentrations bien inférieures à celle de possibles interférents matriciels. Une étape de purification est, par conséquent, souvent nécessaire avant l'analyse instrumentale. Trois méthodologies principales de purification ont été utilisées pour des extraits contenant des CO-HAPs : l'extraction en phase solide (SPE), l'extraction en phase solide dispersive (dSPE) et la chromatographie d'exclusion stérique (SEC).

1.3.2.1. Extraction en phase solide (SPE)

L'extraction en phase solide (SPE, Solide Phase Extraction) est utilisée pour l'extraction d'échantillons liquides ou la purification d'extraits liquides ; selon le support solide utilisé, elle peut être basée sur le principe d'une chromatographie d'adsorption, de partage ou encore d'échange d'ions. Le processus de séparation par SPE repose sur les interactions entre une phase solide contenue dans une cartouche et l'échantillon liquide contenant les composés à extraire. Cette technique consiste à faire percoler l'échantillon à travers la cartouche. Selon l'affinité des composés pour la phase stationnaire solide, cette dernière retiendra soit les composés d'intérêt soit les interférents de l'échantillon introduit. Dans le cas d'une rétention par la phase solide des composés d'intérêt, les interférents sont éliminés après une première élution ; un solvant sera alors choisi pour récupérer un extrait purifié après une deuxième élution.

La SPE a été très largement utilisée pour la purification de CO-HAPs après une extraction par solvant organique. Cinq types de supports solides sont majoritairement utilisés pour la purification des CO-HAPs par SPE : la silice, l'alumine, ou des mélanges silice/alumine, ou encore des supports de type aminopropyl ou Florisil® (Tableau 12).

- Les supports à base de silice ou d'alumine permettent d'éliminer par adsorption tous les composés polaires co-extraits avec les CO-HAPs, alors que ces derniers sont récupérés par élution.
- Le support Florisil® est une phase polaire constituée d'oxydes de silicium (silice, 85 %) et de magnésium (15 %) (Figure 17). Il permet l'extraction des CO-HAPs à partir de matrices organiques (ou solvant apolaire) en utilisant un solvant polaire (ex : méthanol) (Guan et al. 2017).
- Le support aminopropyl est une phase polaire constituée de silice modifiée au moyen de groupements fonctionnels aminopropyl (Figure 17). Il permet de retenir par adsorption les CO-HAPs, et ils sont récupérés par élution avec un solvant polaire (ex : méthanol) (Cochran et al. 2012).

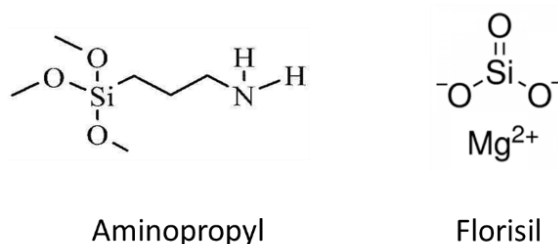


Figure 17 : Formules chimiques des supports de type aminopropyl et florisil® utilisés en SPE

La SPE peut être utilisée directement comme technique d'extraction dans le cas d'échantillons liquides. Qiao *et al.* (Qiao et al. 2013, 2014b, 2014a) ont utilisé la SPE pour rechercher 4 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol) dans des échantillons d'eaux usées à l'aide d'un support solide de type « silice greffée en C18 ». Sur ce type de support C18, les CO-HAPs, plutôt hydrophobes, sont retenus par partage alors que les substances les plus hydrophiles sont éliminées par élution. Les CO-HAPs sont récupérés par élution au moyen de dichlorométhane et d'hexane.

Tableau 12 : Applications de la SPE pour l'extraction des CO-HAPs issus d'échantillons liquides

Echantillon	CO-HAPs	Solvant d'extraction	Support d'extraction	Référence
Eaux usées	4 CO-HAPs (MM 180 - 258 g/mol)	DCM, Hexane	C18	(Qiao et al. 2014b, 2013, 2014a, 2016, 2017, 2018, 2019; Cao et al. 2018)
Eau de mer	9,10- anthraquinone	Acétone et DCM	C18	(Kurihara et al. 2005)

1.3.2.2. Chromatographie d'exclusion stérique (SEC)

La chromatographie d'exclusion stérique (SEC) permet la séparation des molécules en fonction de leur taille ou plus exactement en fonction du volume qu'elles occupent. Elle est largement employée comme moyen de purification suite à une procédure d'extraction par solvant. La SEC utilise une phase mobile liquide et une phase stationnaire qui correspond à un matériau poreux. Les composés de l'échantillon liquide sont séparés en fonction de leur volume hydrodynamique et de la taille des pores de la phase stationnaire. Les molécules dont le diamètre est supérieur au diamètre des pores de la

phase stationnaire ne circulent que dans l'espace extra-granulaire et sont éluées en premier. Les molécules dont le diamètre est plus petit que les pores de la phase stationnaires circulent dans l'espace inter- et intra-granulaire et leur trajet dans la colonne est plus long.

En ce qui concerne les CO-HAPs, la SEC a été notamment appliquée pour la purification d'extraits obtenus par PLE et issus d'échantillons de sédiments et de tissus de moules (Layshock et al. 2010). Les CO-HAPs sont récupérés par élution au moyen de dichlorométhane sur deux colonnes Environgel™ en séquence. La SEC est particulièrement utilisée pour éliminer les macromolécules (masses moléculaires entre 600 et 1500 g/mol) comme les lipides contenus dans les tissus de moules (Ballesteros, 2006).

1.3.3. Procédures de concentration de l'extrait liquide

Les étapes d'extraction et/ou de purification conduisent à l'obtention d'un extrait liquide où les composés recherchés sont dilués. Afin de rechercher par la suite ces composés à l'état de traces, tels que les CO-HAPs, il est nécessaire de mener une procédure de concentration de l'extrait pour accéder à la sensibilité souhaitée lors de l'analyse instrumentale (GC-MS ou LC-MS). Les techniques de concentration couramment utilisées pour l'analyse de polluants à l'état de traces sont généralement : la concentration sous flux gazeux ou la concentration au moyen d'un évaporateur utilisant une pression réduite, un système de chauffe et/ou un système de centrifugation.

1.3.3.1. Concentration sous flux gazeux

La concentration sous flux gazeux utilise un gaz inerte tel que l'azote ou l'argon. Un flux de gaz est pulsé sur la surface de l'échantillon à travers une ou plusieurs aiguilles. Ce processus modifie l'équilibre entre les phases gazeuse et liquide pour favoriser la phase gazeuse. Cette technique est particulièrement intéressante du fait de la simplicité de l'équipement nécessaire. Elle est particulièrement adaptée à l'évaporation de petits volumes de solvants volatils. Cependant, l'évaporation peut prendre beaucoup de temps pour les solvants dont le point d'ébullition est élevé. Des pertes en composés les plus volatils peuvent éventuellement avoir lieu. La concentration s'effectue généralement avec un flux léger et régulier pour éviter des pertes par projections (Chang et al. 2001).

La concentration sous flux d'azote a été utilisée pour la détermination de CO-HAPs suite à une étape de purification par SPE, pour évaporer un volume (9 mL) de solvant organique tel que le dichlorométhane et le pentane (évaporation à sec) (Ringuet et al. 2012b; Albinet et al. 2014). Cette technique a été aussi utilisée pour réduire le volume d'extrait dans le dichlorométhane (40 mL) d'un facteur 40 (un volume final de 1 mL) avant de procéder à l'étape de purification (Guan et al. 2017).

1.3.3.2. Concentration par évaporateur

Les évaporateurs utilisés pour la réduction d'extraits liquides sont des appareils constitués d'une enceinte fermée dans laquelle deux compartiments vont exister : un compartiment où l'extrait liquide est placé et un autre compartiment où le solvant évaporé est recueilli. L'évaporation est réalisée par action sur la pression en la réduisant pour augmenter la volatilité du solvant ou encore sur la température en l'augmentant pour accélérer l'évaporation du solvant. Un mouvement de rotation plus ou moins important est généralement appliqué pour augmenter la surface d'évaporation.

L'évaporateur le plus classique est « l'évaporateur rotatif de laboratoire » équipé d'un réfrigérant, d'un premier ballon pouvant être mis en rotation contenant l'extrait, d'un deuxième ballon susceptible d'accueillir le condensat, d'un raccordement à une pompe à vide et d'un bain-marie pour éventuellement réaliser un chauffage. Ce type d'évaporateur a été notamment utilisé pour réduire des extraits contenant des CO-HAPs obtenus à partir de MAE (Zhuo et al. 2017a; Li et al. 2015) ou d'extraction par Soxhlet (Zhang et al. 2018b). L'évaporateur rotatif a été utilisé suite à une étape de purification pour réduire le volume de solvants volatils tels que le dichlorométhane (concentration jusqu'à 1 mL) à 30 °C (Zhang et al. 2018b; Jiang et al. 2018). L'évaporateur rotatif devient peu pertinent lorsque des volumes inférieurs au millilitre doivent être atteints ; les extraits au dichlorométhane sont les plus souvent concentrés grâce à cette technique du fait que la pression de vapeur de ce solvant est très élevée (Cheng 2003). Une utilisation combinée d'un évaporateur rotatif et d'une concentration sous flux d'azote peut être employée pour la concentration d'extraits d'OHAPs (Witter et Nguyen 2016; Zhang et al. 2018b; Lintelmann et al. 2005) .

1.3.4. Analyse séparative

Compte tenu de la complexité des matrices environnementales et alimentaires et des faibles quantités recherchées en CO-HAPs, des techniques analytiques performantes sont nécessaires pour la séparation, l'identification et la quantification des composés d'intérêt présents dans les extraits. Seules les techniques instrumentales que sont la chromatographie en phase gazeuse (GC) ou la chromatographie en phase liquide (LC) proposent des résolutions suffisantes pour séparer les CO-HAPs issus d'échantillons environnementaux ou alimentaires. Ces systèmes chromatographiques sont généralement couplés avec la spectrométrie de masse (MS) afin de profiter de la sélectivité et de la sensibilité de ce détecteur.

1.3.4.1. Chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (GC, Gas Chromatography) est une technique de séparation des composés volatils ou semi-volatils issus d'un extrait liquide ou gazeux. Selon leur volatilité et leur affinité avec la phase stationnaire, ces composés sont plus ou moins entraînés par la phase mobile qui est constituée d'un gaz inerte de faible viscosité (azote, hydrogène ou hélium). En sortie de colonne contenant la phase stationnaire les composés sont acheminés vers un détecteur. Un appareil de GC est globalement constitué de trois éléments : un injecteur, une colonne installée dans un four et un détecteur.

1.3.4.1.1. Injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse

L'injecteur permet d'évaporer ou de transférer l'extrait et de l'introduire en tête de colonne *via* le flux du gaz vecteur utilisé comme phase mobile. Les principaux modes d'injection en GC sont l'injection avec/sans division (split/splitless), l'injection à température programmée (PTV) et l'injection « on-column » :

- **L'injection avec/sans division** (split/splitless) ; elle permet de diviser le mélange échantillon/gaz vecteur en deux fractions, une fraction de l'échantillon est introduite dans la colonne. L'autre fraction est évacuée de l'appareil. Ce mode d'injection est appliqué pour les échantillons concentrés pour éviter une saturation de la colonne.
L'injection « splitless » permet d'introduire la totalité de l'échantillon injecté dans la colonne. Ce mode d'injection est souvent appliqué pour l'analyse de traces.

- **L'injection à température programmée** (Programmed Temperature Vaporizing, PTV) ; elle permet de réaliser un gradient de température au niveau de la chambre d'injection. Ce mode d'injection est adapté pour l'analyse de composés thermolabiles qui risquent de se dégrader à haute température.
- **L'injection directe dans la colonne** (on-column) : l'échantillon est injecté à froid directement en tête de colonne sans étape de vaporisation. Ce mode d'injection est appliqué pour les composés thermolabiles, mais ce mode d'injection est rarement utilisé pour les échantillons environnementaux et les aliments pour éviter la saturation de la colonne.

Les CO-HAPs sont généralement présents en très faibles quantités dans les échantillons environnementaux et alimentaires. Les injections sont, par conséquent, quasi-systématiquement réalisées sans division en mode « splitless ». Les volumes d'extrait liquide injectés sont de l'ordre du microlitre (Qiao et al. 2017; Tomaz et al. 2017; Santos et al. 2018; Wang et al. 2018). L'injection à température programmée (PTV) a également été appliquée pour l'analyse d'extraits issus de particules d'air (Souza et al. 2014).

1.3.4.1.2. Colonnes et phases stationnaires d'un chromatographe en phase gazeuse

Il existe deux types de colonnes en GC, les colonnes remplies et les colonnes capillaires. Les colonnes capillaires, proposant des longueurs entre 15 et 100 mètres, sont quasiment tout le temps utilisées pour la séparation des analytes compte tenu des résolutions obtenues. Leur diamètre interne peut être entre 0,10 à 1 mm et la phase stationnaire (greffée sur les parois de la colonne) est d'épaisseur entre 0,05 et 5 μm .

La GC est la technique chromatographique la plus souvent utilisée pour séparer les CO-HAPs du fait de leur importante volatilité (Cho et al. 2004). Les phases stationnaires utilisées sont généralement peu polaires afin de permettre l'élution des CO-HAPs les plus lourds. Parmi les phases stationnaires peu polaires celles le plus couramment rencontrées sont fabriquées à base de 5%-phényl/95%-méthylpolysiloxane (vendues sous les dénominations DB-5ms, HP-5ms, ...). Les phases stationnaires composées de polysiloxane offrent un faible bruit de fond même lors de l'utilisation de températures élevées (> 300 °C) pour séparer les CO-HAPs ayant des masses moléculaires élevées. La séparation de certains isomères de CO-HAPs peut s'avérer difficile avec une phase stationnaire de type DB-5ms ou HP-5ms. Une colonne Rxi-PAH, dont la phase stationnaire est de polarité moyenne et contient de fortes

teneurs en groupements phényle, a permis de résoudre quelques co-élutions entre isomères de CO-HAPs (Harrison et al. 2016; Alam et al. 2015; Keyte et al. 2016; Wang et al. 2011).

1.3.4.1.3. Spectromètres de masse couplés à un chromatographe en phase gazeuse

L'étude de polluants à l'état de traces dans des matrices complexes (environnementales et alimentaires) est la plupart du temps réalisée en utilisant une détection au moyen d'un spectromètre de masse (MS). Ce dernier est quasi-universel pour les composés organiques, permet d'obtenir une bonne sensibilité, spécificité et une information structurale pour les composés recherchés. La spectrométrie de masse est une technique de détection et d'identification d'analytes par la mesure de leur rapport masse/charge (m/z) après ionisation. Cette technique peut être couplée avec les méthodes séparatives de chromatographie en phase gazeuse ou liquide et permet de réaliser des analyses qualitatives et quantitatives.

Suite à la séparation en GC, les composés élués sont tout d'abord ionisés dans une **source** sous vide en utilisant principalement les modes d'ionisation électronique (Electron Ionization, EI) ou d'ionisation chimique (Chemical Ionization, CI).

Ionisation électronique (EI) : Pour l'ionisation électronique, les molécules sont ionisées au moyen d'un faisceau d'électrons d'énergie fixée à 70 eV. Selon la structure chimique des composés, le faisceau peut provoquer une fragmentation importante et riche en information structurale.

L'ionisation électronique est le mode d'ionisation le plus couramment utilisé pour la détection et la quantification de CO-HAPs. Il a notamment été employé pour leur recherche dans des échantillons d'air et de particules d'air (Santos et al. 2016; Delgado-Saborit et al. 2013; O'Connell et al. 2014; Kojima et al. 2010b), des échantillons de sols (Obrist et al. 2015; Zhang et al. 2018a; Bandowe et al. 2010a, 2011), des échantillons d'eau (Qiao et al. 2014b; Tidwell et al. 2016) et dans les aliments (Jafarabadi et al. 2019; Dos Santos et al. 2019; Wang et al. 2018; Hua et al. 2016).

Ionisation chimique (CI) : L'ionisation chimique est basée sur la réaction entre les analytes et un gaz réactif (ex : méthane, isobutane, ammoniac) ou un liquide réactif (ex : méthanol, acétonitrile, dichlorométhane) préalablement ionisé. La CI permet d'avoir une ionisation assez douce, ce qui conduit à la formation d'un nombre restreint d'ions qui sont la plupart du temps caractéristiques de la masse molaire de l'analyte mis en jeu. L'ionisation chimique peut être effectuée en mode positif ou négatif. Le mode positif est le plus utilisé et mène généralement à la formation d'adduits protonés

$[M-H]^+$ des molécules cibles. Dans le cas des CO-HAPs, le mode négatif a été appliqué en utilisant le méthane comme gaz réactif ; les ions moléculaires très stables obtenus par capture d'électrons ($M^{\cdot-}$) ont permis d'atteindre de bonnes sensibilités (Wang et al. 2011; Albinet et al. 2014; Tomaz et al. 2017). Le mode négatif en ionisation chimique a permis la caractérisation de CO-HAPs issus d'échantillons d'air et de particules d'air (Albinet et al. 2014; Ding et al. 2012; Tomaz et al. 2017; Shen et al. 2012) et dans des aliments (Chen et al. 2014).

Les ions formés dans la source sont par la suite séparés en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z) dans l'**analyseur de masse** du spectromètre. Les analyseurs les plus utilisés en couplage avec la GC sont le quadripôle (Q), le triple quadripôle (QqQ) et la trappe d'ions (IT, Ion trap). La détection peut s'effectuer en mode « full scan », ce qui correspond à la détection de l'ensemble des ions formés. Un autre mode de détection est le mode par sélection d'ions (SIM : single ion monitoring) ; la détection est alors limitée à certains ions dont les rapports m/z ont été préalablement sélectionnés. L'utilisation du mode SIM permet d'améliorer la sensibilité de détection.

L'analyseur de masse quadripolaire (Figure 18), aussi appelé « quadripôle », est constitué de quatre électrodes (barres cylindriques) parallèles soumises à un même potentiel en valeur absolue. Les électrodes adjacentes possèdent une tension de signe opposé et sont soumises à une différence de potentiel. Les ions ayant une trajectoire instable s'écartent rapidement de l'axe central du quadripôle et ne peuvent pas être détectés. Les ions ayant une trajectoire stable dans le champ électrostatique oscillent autour de l'axe central et arrivent sur le détecteur pour produire un courant électrique qui constituera le signal du spectromètre de masse.

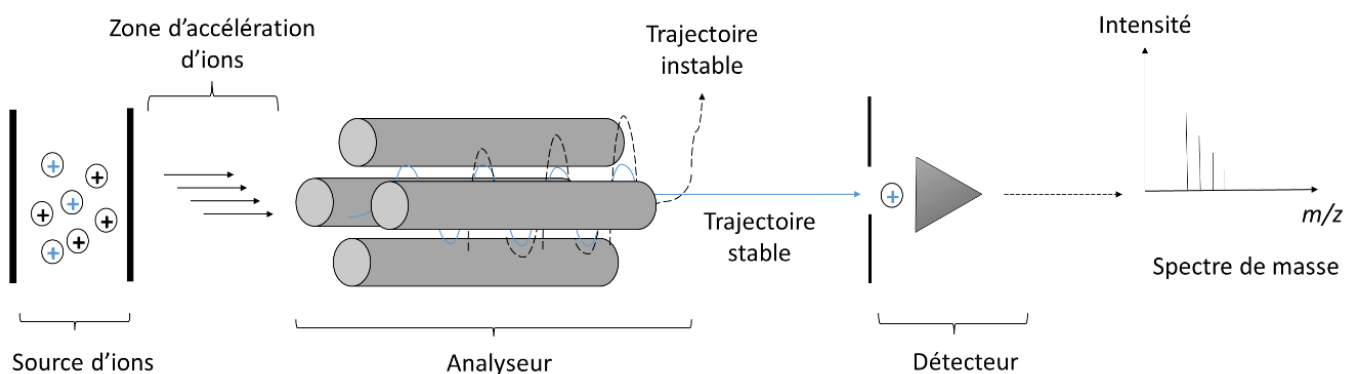


Figure 18 : Principe de fonctionnement de l'analyseur quadripolaire

Le quadripôle est l'analyseur de masse le plus utilisé pour la détermination d'extraits contenant des CO-HAPs après séparation en GC. Le mode SIM au moyen de l'analyseur de masse quadripolaire a permis notamment la détermination de plus de 32 CO-HAPs dans divers échantillons de particules d'air (Albinet et al. 2014; O'Connell et al. 2013; Alves et al. 2017).

L'analyseur de masse de type « Trappe à ions » utilise les caractéristiques d'un piège de Paul. Il est de géométrie relativement similaire à celle d'un analyseur de masse quadripolaire mais cumule dans un même lieu l'ionisation (source) et la séparation des ions formés (analyseur). Le système de stockage des ions repose sur l'application de potentiels situés dans le domaine des radiofréquences entre une électrode circulaire et des électrodes dites « chapeaux » pour contrôler le mouvement des ions. La trappe à ions en mode sélection d'ion (selective ion storage, SIS) a été utilisée par Obrist *et al.* (Obrist et al. 2015) pour la caractérisation et la détection de 11 CO-HAPs dans des particules d'air.

L'analyseur de masse de type « triple quadripôle » (QqQ) permet une acquisition en mode spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). Les ions séparés au moyen d'un premier quadripôle (Q1) peuvent être stockés dans une cellule de collision (q) pour y être refragmentés. Un dernier quadripôle (Q2) permet la séparation des ions fils formés par collision. Teng *et al.* (Teng et al. 2019) ainsi que Wang *et al.* (Wang et al. 2018) ont utilisé le triple quadripôle en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring) pour la détection de CO-HAPs dans l'huile de cuisson et le thé respectivement.

Le **détecteur** permet le comptage des ions séparés dans l'analyseur de masse. Les spectromètres de masse couplés à un chromatographe en phase gazeuse utilisent généralement des détecteurs de type « cylindre de Faraday » ou « Multiplicateur d'électrons ».

1.3.4.2. Chromatographie en phase liquide

La chromatographie en phase liquide (Liquid Chromatography, LC) est une méthode instrumentale de séparation mettant en œuvre différents types de séparation soit par adsorption, partage, échange d'ions ou exclusion stérique. En LC, la séparation est fondée sur la différence de distribution des analytes entre deux phases, l'une stationnaire (silice vierge ou greffée, polymère moléculaire, échangeur d'ions, ...), et l'autre mobile sous forme de liquide (solvant ou mélange de solvants). Du fait de l'utilisation de colonnes remplies, les résolutions sont nettement moins bonnes qu'en GC pour la séparation des composés. Néanmoins, elle est incontournable lors de l'analyse de composés peu volatils et thermosensibles. Elle se distingue de la GC par l'utilisation de températures moins élevées,

par une grande variété des phases stationnaires, et par la possibilité d'introduire des extraits sous forme liquide demandant moins de préparation d'échantillon. Par conséquent, la LC est assez peu répandue pour l'analyse de CO-HAPs mais reste une alternative lorsqu'il s'agit de séparer les CO-HAPs les moins volatils et/ou les plus thermosensibles.

L'analyse par chromatographie liquide (LC) a été appliquée à des échantillons de particules d'air (Walgraeve et al. 2012; Mirivel et al. 2010; Lintelmann et al. 2005) et des échantillons d'émissions de moteur diesel (Jakober et al. 2006). Elle a été notamment utilisée pour la séparation de CO-HAPs dans des extraits au dichlorométhane obtenus à partir d'UAE (Delhomme et al. 2006) ou de PLE (Mirivel et al. 2010; Walgraeve et al. 2012; Lintelmann et al. 2005). La séparation des CO-HAPs par chromatographie liquide est souvent effectuée au moyen d'une phase stationnaire en phase inverse. Les colonnes alkyles de type C18 sont les plus souvent utilisées (Mirivel et al. 2010; Fujiwara et al., 2014; Walgraeve et al. 2012), cependant des colonnes avec une phase stationnaire contenant des groupements phényle sont aussi employées (O'Connell et al. 2013). L'élution des CO-HAPs est achevée avec un gradient eau-méthanol (Delhomme et al. 2006; Walgraeve et al. 2012) ou eau-acétonitrile (Lintelmann et al. 2005). Par exemple, pour une phase mobile constituée d'eau et de méthanol, l'augmentation de la concentration en méthanol au cours de l'élution permet d'accroître la solubilité des CO-HAPs dans la phase éluante et donc de pouvoir entraîner les CO-HAPs plus hydrophobes.

La détection des CO-HAPs après séparation en LC est la plupart du temps réalisée par spectrométrie de masse. Les sources d'ionisation des spectromètres de masse utilisés en LC-MS diffèrent de celles utilisées en GC-MS car elles doivent conduire à la transformation des analytes présents en phase liquide (sortie de la LC) en ions. Grosse *et al.* (Grosse et al. 2007) ont évalué trois différentes techniques d'ionisation (photo-ionisation à pression atmosphérique (APPI), ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) et ionisation par électrospray (ESI)) en utilisant une solution de standards contenant 30 OHAPs dont 15 CO-HAPs. Ces techniques d'ionisation ont été testées dans des modes d'ionisation positive et négative. L'ionisation par ESI dans les deux modes ne permettait pas la formation d'ions et s'est avérée non adaptée pour les OHAPs. Cependant, l'APCI a donné les meilleurs résultats et a été sélectionnée pour leur analyse. Ces résultats obtenus par ESI et par APCI ont été confirmés par Delhomme *et al.* (Delhomme et al. 2008). Dans des études plus récentes, l'APCI a été la source d'ions de choix utilisée pour l'analyse des CO-HAPs en LC-MS (Fujiwara et al. 2014; O'Connell et al. 2013). Par la suite, les ions formés sont séparés en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z) au moyen d'un analyseur de masse. En raison de la complexité des extraits environnementaux, des techniques très sélectives de séparation des ions sont nécessaires afin de détecter par la suite les CO-HAPs. Les techniques d'analyse les plus employées dans la littérature sont la spectrométrie de

masse à haute résolution (High Resolution Mass Spectrometry, HRMS) (Walgraeve et al. 2012 ; Mirivel et al. 2010) et la spectrométrie de masse en tandem (MS-MS) (Delhomme et al. 2008). Lintelmann *et al.* (Lintelmann et al. 2005, 2006) ainsi que Fujiara *et al.* (Fujiwara et al. 2014) ont utilisé un triple quadripôle (QqQ) en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring, MRM) pour la quantification des CO-HAPs à partir d'extraits de particules d'air. Ces technologies sont très coûteuses mais permettent d'obtenir une sensibilité très élevée. Outre ces technologies très sélectives, des analyseurs de masse comme le quadripôle (Q) (O'Connell et al. 2013) et le piège à ions (IT) (Jakober et al. 2006) sont aussi utilisés pour l'analyse des CO-HAPs.

La détection de CO-HAPs après séparation en LC a également été réalisée au moyen de spectroscopes UV/Visible (Valavanidis et al. 2006) et à fluorescence (Kameda et al. 2009). Ces deux détecteurs sont généralement peu adaptés au regard des sélectivités et des limites de détection à atteindre. Kishikawa *et al.* (Kishikawa et al. 2011) ont, par conséquent, converti la 9,10-phénanthrènequinone en dérivé fluorescent au moyen de 2-aminothiophénol, afin de déterminer ce CO-HAP dans des échantillons de particules d'air par LC couplée à un spectroscope à fluorescence.

1.3.5. Bilan sur les méthodes d'extraction et d'analyse des CO-HAPs

Plusieurs stratégies existent pour extraire les CO-HAPs à partir d'échantillons environnementaux ou alimentaires. La plus commune est l'utilisation de l'extraction par liquide pressurisé (PLE). Cette technique est adaptée particulièrement aux échantillons solides (filtres, particules d'air, sol, ...). Cependant, les techniques d'extraction par Soxhlet et d'extraction assistée par les ultra-sons (UAE) ou par micro-ondes (MAE) sont également utilisées. Toutes ces méthodes d'extraction sont très efficaces et permettent la quantification des CO-HAPs dans les échantillons. Toutefois, elles peuvent être laborieuses, nécessitent un temps d'extraction relativement long et un grand volume de solvant organique. Elles sont pour certaines onéreuses avec des coûts élevés pour l'investissement en matériel et en entretien. Elles peuvent aussi mener à des risques potentiels de dégradation de certains CO-HAPs en raison des températures élevées utilisées.

Une étape de purification est souvent nécessaire suite à ces techniques d'extraction. L'extraction en phase solide (SPE) ou par chromatographie d'exclusion stérique sont les techniques les plus appliquées. L'étape de purification permet d'extraire sélectivement les CO-HAPs et d'éliminer les composés non souhaités issus de l'échantillon. Avant injection dans un système d'analyse, les extraits sont souvent préconcentrés avec un flux d'azote ou un évaporateur rotatif. Cette étape permet

d'accéder à la sensibilité souhaitée lors de l'analyse instrumentale (GC-MS ou LC-MS). Afin de rechercher par la suite les CO-HAPs présents à l'état de traces dans des matrices complexes (échantillons environnementaux ou alimentaires), des techniques analytiques performantes sont nécessaires. La technique d'analyse des CO-HAPs la plus souvent employée est la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, à la spectroscopie UV/Visible ou par fluorescence est aussi utilisée mais reste assez peu répandue.

Chapitre 2. Matériel et Méthodes

2.1. Echantillons

2.1.1. Fruits et légumes provenant du supermarché

Divers fruits et légumes proviennent de supermarchés de la région de Caen en Normandie (Carrefour, Caen Côte de Nacre ; Cora, Rots ; Intermarché, Caumont-L'Eventé) ; ils sont sélectionnés régulièrement (période d'Octobre 2016 à Septembre 2019) sur la base de l'uniformité et l'absence de dommages ou d'imperfection de leur peau afin de réaliser l'optimisation et la validation de la stratégie d'extraction, de purification et d'analyse des CO-HAPs. Plus précisément, des pommes Elstar et Belle de Boskoop sont utilisées pour l'optimisation et la validation de la stratégie d'extraction et de purification. L'adaptabilité de la méthode est vérifiée sur neuf autres matrices végétales différentes issues du commerce dont quatre fruits et six légumes (Tableau 13). Les dimensions (longueur et diamètre) ainsi que leur poids moyen sont donnés à titre indicatif dans le tableau suivant.

Tableau 13 : Caractéristiques des fruits et légumes, provenant du supermarché, utilisés pour la mise au point de la stratégie de détermination des CO-HAPs

	Type	Dimension*	Poids moyen (g)
Carotte	Légume	17×3	100
Concombre	Légume	28×4,5	340
Courgette	Légume	23×4	360
Haricot vert	Légume	9×0,5	3
Mûre	Fruit	2×1,5	2
Poire	Fruit	9×6	190
Pomme de terre	Légume	9×4	60
Pomme	Fruit	7×5	170
Salade de type « laitue »	Légume	30×30	200
Tomate	Fruit	5×5	50

* longueur (cm) × largeur (cm)

De l'herbe, prélevée en zone rurale dans un champ, ainsi que tous ces échantillons végétaux provenant du commerce (Tableau 13) sont exposés intentionnellement aux fumées de combustion de biomasse, à des émissions de moteur diesel et à des émissions de chaudière au fioul.

2.1.2. Échantillons végétaux récoltés en zone urbaine ou périurbaine

Deux campagnes de récolte de fruits et légumes sont réalisées au cours des années 2018 et 2019.

2.1.2.1. Échantillons végétaux récoltés en zone urbaine et périurbaine au cours de l'année 2018

La première campagne de prélèvement est réalisée exclusivement au cours du mois de Septembre 2018 et concerne uniquement la ville de Caen et sa proche banlieue. Ces échantillons sont prélevés dans des zones industrielles ou à proximité de routes possédant un fort trafic routier quotidien (périphérique de Caen) (Figure 19). Les caractéristiques des lieux de prélèvements sont présentés en Tableau 14.

Tableau 14 : Caractéristiques des échantillons et des lieux de prélèvement (Année 2018)

Caen – 2018							
Echantillon	Lieu ^a	Caractéristique	Point GPS	Date ^b	T (°C) ^c	Météo	Précip ^d
Mûres, Feuilles de mûrier	Caen	En bordure de route ;	49.2199	12-	17 -	Temps	06-
	1	proche d'un établissement	25, -	sept-	20	nuageux	sept-
		de recyclage de déchets	0.29225	18			18
			1				
Mûres, Feuilles de mûrier	Caen	Végétation située sous le	49.1822	12-	17 -	Temps	06-
	2	viaduc de Calix (très fort	10, -	sept-	20	nuageux	sept-
		trafic routier) ; à proximité	0.32527	18			18
		immédiate d'une station de	5				
		raffinage pétrolier					

Tomates,	Caen	Jardin familial situé sous le	49.1880	13-	17 -	Temps	06-
Feuilles de	3	viaduc de Calix (très fort	36, -	sept-	20	clair	sept-
tomate,		trafic routier)	0.33151	18			18
Courgettes,			0				
Feuilles de							
courgette							
Carottes,	Caen	Lieu de cueillette exposé aux	49.1609	12-	17 -	Temps	06-
Poires,	4	vents dominants issus de	42, -	sept-	20	nuageux	sept-
Pommes,		l'agglomération de Caen	0.27565	18			18
Salade			9				

^a : lieux de prélèvement (voir Figure 19)

^b : date du prélèvement

^c : température moyenne du jour de prélèvement

^d : date de la dernière précipitation avant prélèvement

La localisation des lieux de prélèvement (Caen 1, Caen 2, Caen 3 et Caen 4, voir Tableau 14) pour la première campagne est présentée en Figure 19.



Figure 19 : Localisation des sites de prélèvement de la première campagne (Année 2018) à Caen et sa proche banlieue (IGN 2019 geoportail)

Afin de mieux apprécier la localisation de quelques sites de prélèvements présentés en Tableau 14 et en Figure 19, des photographies de 3 sites (Caen 2, vue depuis le lieu de prélèvement ; Caen 3, vue sur les plants de tomate récoltés ; Caen 4, vue sur le pommier prélevé) sont données en Figure 20.

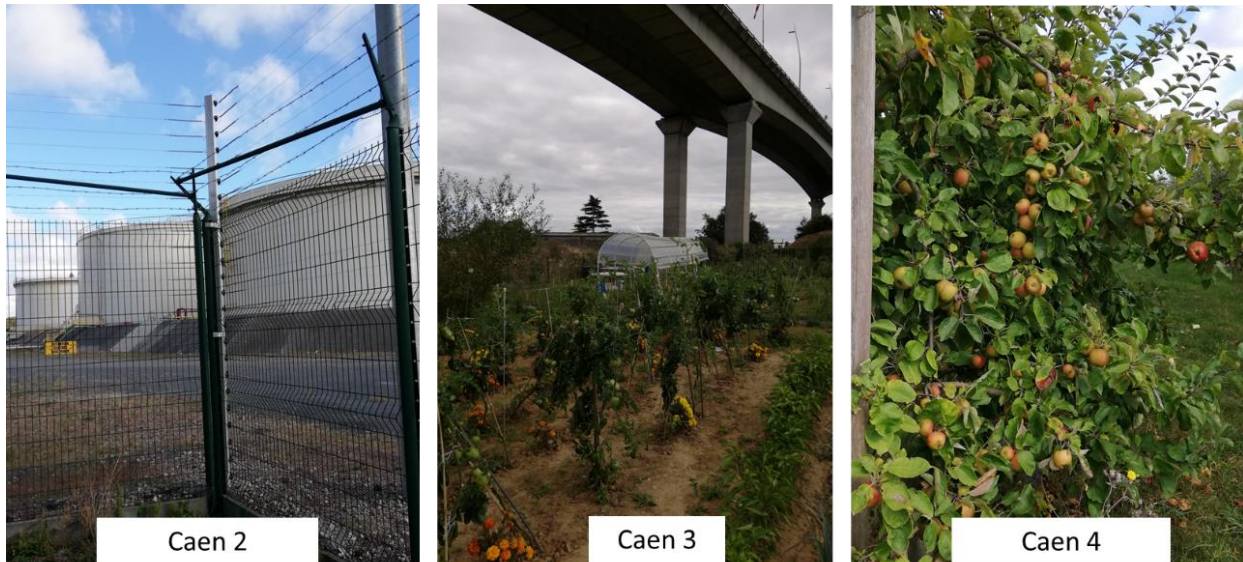


Figure 20 : Photographies de différents sites prises au cours de la première campagne de prélèvement à Caen (Année 2018)

2.1.2.2. Echantillons végétaux récoltés en zone urbaine et périurbaine au cours de l'année 2019

La deuxième campagne est réalisée au cours du mois de Juillet 2019 et concerne les trois plus grandes villes de Normandie : Caen, Rouen et le Havre. A titre de comparaison, des prélèvements sont aussi réalisés au cours du même mois à Nice, autre grande ville, située pour sa part dans le sud de la France. Au cours de cette campagne, les échantillons sont récoltés dans des jardins potagers urbains ou péri-urbains. Les caractéristiques des lieux de prélèvement sont présentées en Tableau 15.

Tableau 15 : Caractéristiques des échantillons et des lieux de prélèvement (Année 2019)

Échantillon	Lieu ^a	Caractéristique	Point GPS	Date ^b	T (°C) ^c	Météo	Précip ^d
Caen - 2019							
Salade, Tomates, Feuilles de tomate, Courgettes, Feuilles de courgette	Caen 3	Jardin familial situé sous le viaduc de Calix (très fort trafic routier)	49.188036, -0.331510	03-juil- 19	11 - 20	Temps clair	24-juin- 19
Rouen - 2019							
Salade, Tomates, Feuilles de tomate	Rouen 1	Jardin potager familial ; situé à proximité immédiate du centre-ville de Rouen	49.445095, 1.124132	10-juil- 19	12 - 21	Temps clair	19-juin- 19
Salade, Tomates, Feuilles de tomate	Rouen 2	Jardin potager familial ; situé en bordure de la ville de Rouen ; exposé aux vents dominants de la ville ; relief en forme de vallée	49.435483, 1.139533	17-juil- 19	11 - 26	Temps clair	19-juin- 19
Salade, Tomates, Feuilles de tomate	Rouen 3	Jardin potager familial ; situé sur les hauteurs de la ville de Rouen ; exposé aux vents dominants de la ville ; à proximité immédiate d'une chaufferie	49.462658, 1.138145	17-juil- 19	11 - 26	Temps clair	19-juin- 19
Le Havre - 2019							
Salade, Tomates, Feuilles de tomate	Le Havre 1	Jardin potager familial ; situé à proximité de sites industriels (cheminées d'usines) ; exposé aux vents dominants de la ville du Havre	49.504659, 0.172308	17-juil- 19	12 - 21	Temps clair	24-juin- 19

Chapitre 2. Matériel et Méthodes

Salade, Tomates, Feuilles de tomate	Le Havre	Jardin potager familial ; situé sur les hauteurs de la ville	49.513182,	17-juil-	12 - 21	Temps clair	25-juin-
	2	du Havre ; exposé aux vents dominants de la ville	0.179570	19			19
Salade, Tomates, Feuilles de tomate	Le Havre	Jardin potager familial ; situé en centre-ville du Havre	49.521933,	17-juil-	12 - 21	Temps clair	26-juin-
	3	au cœur d'une zone résidentielle densément peuplée	0.093160	19			19
Nice - 2019							
Tomates, Courgettes, et Feuilles de tomate	Nice 1	Jardin potager test ; situé dans l'hyper-centre de la ville	43.701988,	22-juil-	23 - 29	Temps ensoleillé	16-juil-
		de Nice ; installé à environ 3 mètres de hauteur sur une plate-forme	7.286429	19			19
Tomates et salade	Nice 2	Jardin potager familial ; situé dans l'arrière-pays niçois à	43.786369,	24-juil-	25- 31	Temps ensoleillé	16-juil-
		1000 mètres d'altitude	7.016008	19			19

^a : lieux de prélèvement (voir Figure 21 et Figure 22)

^b : date du prélèvement

^c : température moyenne du jour de prélèvement

^d : date de la dernière précipitation avant prélèvement

La localisation des lieux de prélèvement pour la ville de Rouen (Rouen 1, Rouen 2, Rouen 3) est présentée en Figure 21.

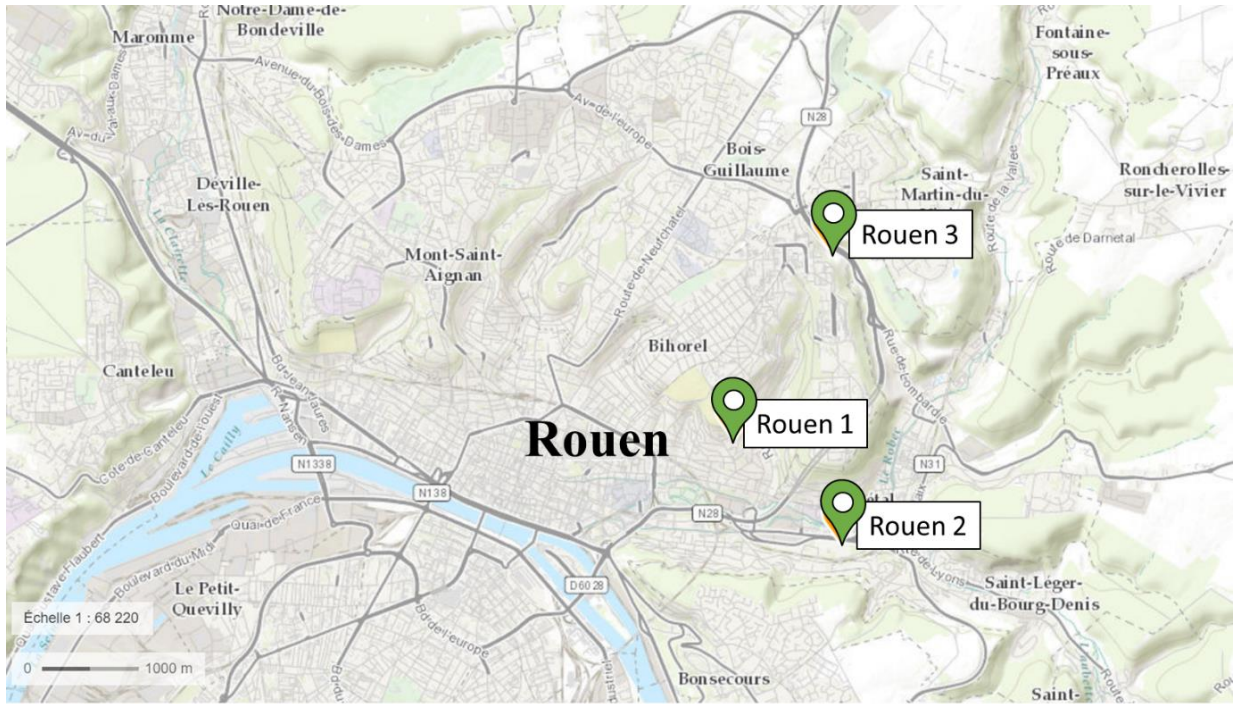


Figure 21 : Localisation des sites de prélèvement de la deuxième campagne (Année 2019) à Rouen

La localisation des lieux de prélèvement pour la ville du Havre (Le Havre 1, Le Havre 2, Le Havre 3) est présentée en Figure 22.



Figure 22 : Localisation des sites de prélèvement de la deuxième campagne (Année 2019) au Havre

Des photographies de chacun des sites de prélèvement situés dans les villes de Rouen et du Havre sont reportés en Figure 23. Elles permettent notamment d’apprécier la localisation des jardins potagers dans lesquels les échantillons ont été prélevés au cours de l’année 2019 à savoir en centre-ville de Rouen (Rouen 1), en bordure de la commune de Rouen mais dans une vallée (Rouen 2), sur les hauteurs de la ville de Rouen (Rouen 3), à proximité d’une zone industrielle dense au Havre (Le Havre 1), sur les hauteurs de la ville du Havre (Le Havre 2) et au cœur d’une zone résidentielle (Le Havre 3).



Figure 23 : Photographies de différents sites (jardins potagers) prises au cours de la deuxième campagne de prélèvement à Rouen et au Havre (Année 2019)

2.2. Exposition des échantillons végétaux à diverses sources de pollution

De l'herbe ainsi que les échantillons végétaux provenant du commerce (listés en Tableau 13) sont intentionnellement exposés à des fumées de combustion de biomasse (partie 2.2.1), à des émissions de moteur diesel (partie 2.2.2) et à des émissions de chaudière au fioul (partie 2.2.3).

2.2.1. Exposition des échantillons végétaux aux fumées de combustion de biomasse

Les neuf échantillons de végétaux sont intentionnellement exposés à des fumées issues de la combustion de bois. Un fumoir en acier inoxydable est utilisé pour fumer (à une température maximale de 40 °C) les échantillons végétaux. Ce fumoir de longueur 40 cm, de profondeur 27,5 cm et de hauteur 80 cm est composé d'un tiroir pour les braises de fumage et d'une chambre de fumage contenant trois grilles sur lesquelles sont placés les échantillons végétaux (Figure 24). Les deux compartiments sont séparés par un plateau en acier avec des petites fenêtres à l'extrémité pour laisser sortir les fumées du tiroir vers la chambre de fumage. Cette dernière est équipée d'un thermomètre en façade permettant de contrôler la température dans le fumoir. Un orifice d'un diamètre de 4 cm placé sur la partie supérieure du fumoir est ouvert pendant toute la durée de l'expérimentation pour permettre l'échappement des fumées en excès.

Deux tomates, deux pommes, trois pommes de terre et deux poires sont placées sur la première grille. Une salade, une courgette et un concombre sont placés sur la 2^{ème} grille. De l'herbe et des haricots verts sont placés sur la 3^{ème} grille dans le fumoir. Des braises sont tout d'abord préparées à partir de bois très sec d'origines diverses. Ces braises sont placées dans le tiroir du fumoir et additionnées de brindilles de tilleul humides. Tous les échantillons de fruits et légumes sont exposés en même temps aux fumées pendant une durée de 3 h à une température maximale de 40 °C.

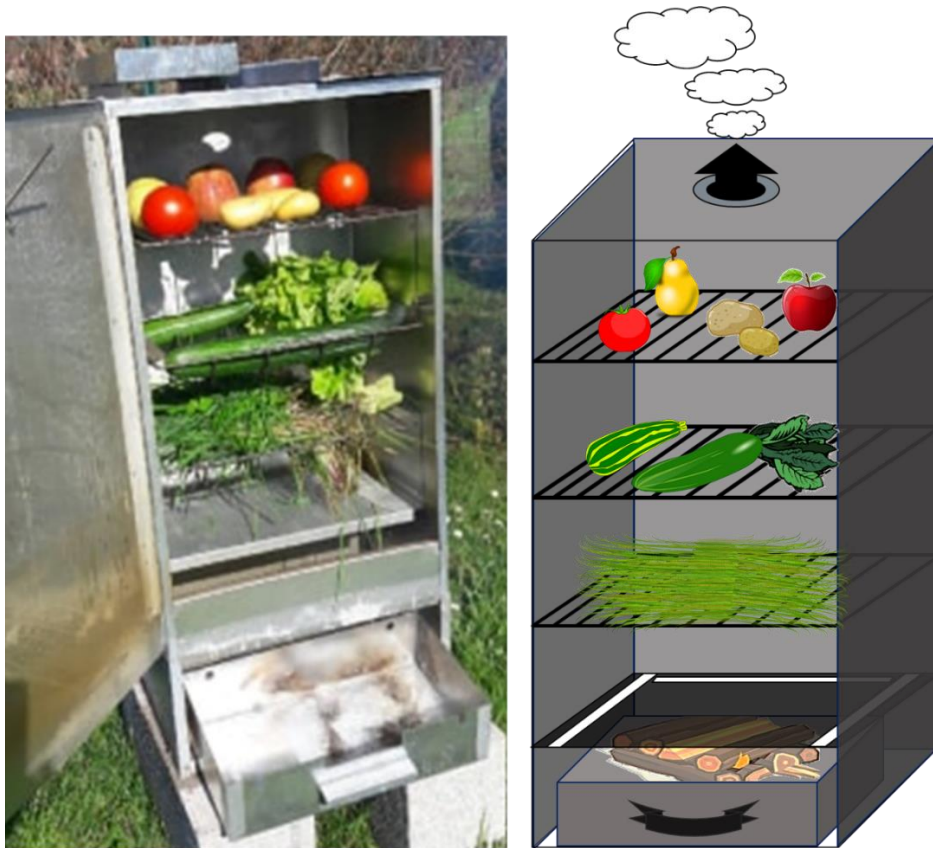


Figure 24 : Illustrations du montage utilisé pour l'exposition intentionnelle des échantillons végétaux aux fumées de combustion de biomasse (3 h)

Les échantillons sont placés aussitôt après fumage dans des bocaux hermétiques différenciés. Ils sont stockés à température ambiante à l'abri de la lumière pendant un maximum d'une journée avant préparation des échantillons.

2.2.2. Exposition des échantillons végétaux aux émissions de moteur diesel

Des échantillons végétaux sont exposés intentionnellement aux gaz d'échappement d'un moteur diesel. Pour cette expérimentation, le fumoir décrit en partie 2.2.1 est utilisé. Une extrémité d'un conduit souple en aluminium de diamètre 8 cm est intégrée au fumoir en lieu et place du tiroir situé dans sa partie basse (Figure 25). L'autre extrémité du conduit est reliée et fixée au moyen d'un collier de serrage au pot d'échappement d'un véhicule possédant une motorisation diesel. Le véhicule est de marque Peugeot, de modèle 307 SW, a été mis en circulation en 2005 et possède une consommation moyenne de gazole de 6,0 L pour 100 km. Il est équipé d'un filtre à particules.

Les fruits, légumes et l'herbe sont disposés dans le fumoir rigoureusement de la même façon (Figure 24) que lors de l'exposition aux fumées de combustion de biomasse (partie 2.2.1). Ils sont exposés pendant une durée de 3 heures aux émissions de moteur diesel ; cela correspond approximativement à une consommation de 2L de gazole (lecture de la consommation au compteur du véhicule). Des accélérations (montée en régime du moteur) sont opérées toutes les 10 minutes afin de s'approcher des conditions réelles de conduite.



Figure 25 : Illustrations du montage utilisé pour l'exposition intentionnelle des échantillons végétaux (3 h) aux gaz d'échappement d'un moteur diesel

2.2.3. Exposition des échantillons végétaux aux émissions d'une chaudière au fioul

Pour cette expérimentation, le fumoir décrit en partie 2.2.1 est à nouveau utilisé. L'extrémité d'un conduit souple en aluminium de diamètre 14 cm est intégrée au fumoir en lieu et place du tiroir situé dans sa partie basse (Figure 26). L'autre extrémité du conduit est reliée et fixée au moyen d'un collier de serrage au conduit de sortie des fumées d'une chaudière au fioul. La chaudière au fioul est de marque « Franco-Belge » et correspond au modèle « Optima 4000 ». Elle a été mise en place dans la maison d'un particulier en 2004.

Les fruits, légumes et l'herbe sont disposés dans le fumoir rigoureusement de la même façon (Figure 24) que lors des expositions précédentes (partie 2.2.1). Ils sont exposés pendant une durée de 3 heures aux fumées d'évacuation de la chaudière au fioul ; cela correspond approximativement à une

consommation de 2L de fioul (calcul approximatif d'après une consommation annuelle). La porte en façade du fumoir est ouverte pendant 5 minutes toutes les 10 minutes afin d'éviter une montée en température trop importante pendant la durée de l'exposition.

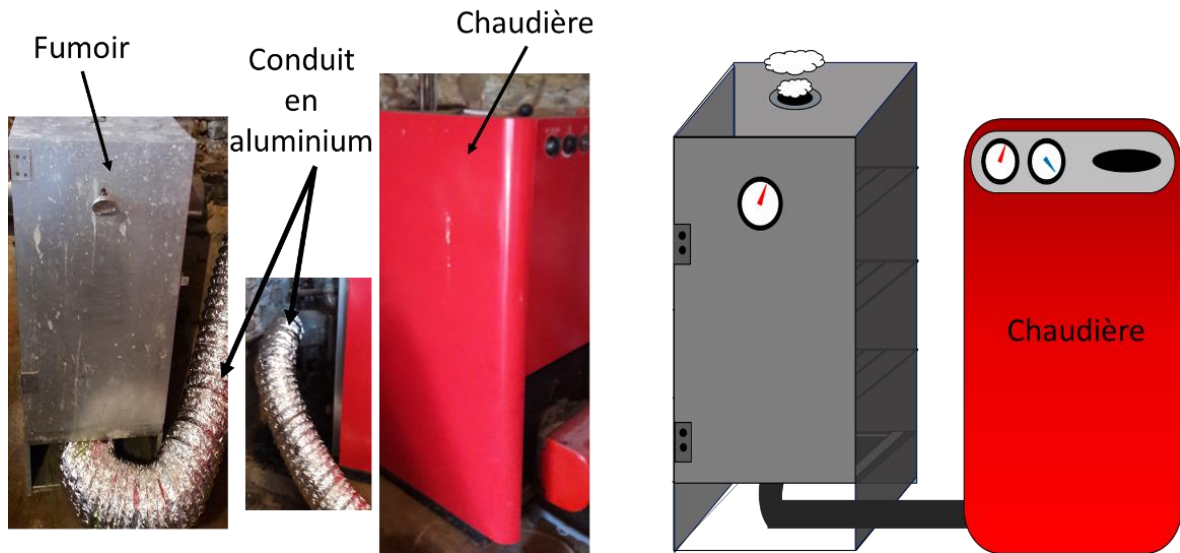


Figure 26 : Illustrations du montage utilisé pour l'exposition intentionnelle des échantillons végétaux (3 h) aux émissions d'une chaudière au fioul

Pour tous les échantillons intentionnellement exposés aux sources de pollution, la peau d'une épaisseur inférieure à 2 mm du fruit/légume est récupérée, et broyée séparément pour permettre des analyses indépendantes.

2.3. Solvants et standards

2.3.1. Solvants

Les solvants de haute pureté (>99 %) utilisés sont adaptés à l'analyse de traces : Acétonitrile (Suprasolv, ≥ 99.8 %, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), dichlorométhane (Pestnorm, $\geq 99.9\%$, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), cyclohexane (Pestnorm, 99,9%, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), acétate d'éthyle (Suprasolv, ≥ 99.8 %, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), toluène (Suprasolv, ≥ 99.8 %, Fischer scientifique, Pennsylvanie, États-Unis) et hexane (Pestnorm, ≥ 99.9 %, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne). L'Extran[®] MA 01, nettoyant alcalin universel (VWR Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France) est utilisé comme produit de nettoyage pour l'ensemble de la verrerie qui est ensuite rincée avec de l'eau ultrapure produite par le système de purification Milli-Q[®] Reference A+.

2.3.2. CO-HAPs sélectionnés pour la quantification

Dans un premier temps six CO-HAPs sont sélectionnés pour le développement analytique ; dans un second temps, cette liste est élargie à treize CO-HAPs présentés dans le Tableau 16 :

Tableau 16 : Liste des 13 CO-HAPs sélectionnés pour être quantifiés

Nom	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Numéro CAS
1-naphtaldéhyde	C ₁₁ H ₈ O	156	66-77-3
1,4-naphtoquinone	C ₁₀ H ₆ O ₂	158	130-15-4
1-acénaphténone	C ₁₂ H ₈ O	168	2235-15-6
9-fluorénone	C ₁₃ H ₈ O	180	486-25-9
benzophénone	C ₁₃ H ₁₀ O	182	119-61-9
6H-dibenzo[bd]pyran-6-one	C ₁₃ H ₈ O ₂	196	2005-10-9
xanthone	C ₁₃ H ₈ O ₂	196	90-47-1
anhydride 2,3-naphtalique	C ₁₂ H ₆ O ₃	198	716-39-2
anhydride 1,8-naphtalique	C ₁₂ H ₆ O ₃	198	81-84-5
9,10-anthraquinone	C ₁₄ H ₈ O ₂	208	84-65-1
benzo[a]fluorénone	C ₁₇ H ₁₀ O	230	479-79-8
benzanthrone	C ₁₇ H ₁₀ O	230	82-05-3
1,2-benzanthraquinone	C ₁₈ H ₁₀ O ₂	258	2498-66-0

2.3.3. Solution de 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés utilisée pour l'optimisation de la séparation et de la détection des CO-HAPs par GC-MS

Un mL d'une solution contenant 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés préparés chacun à une concentration de 1 mg/L dans l'acétonitrile est fournie par l'INERIS (Albinet et al. 2014). Ce mélange comporte 29 CO-HAPs dont la structure chimique possède de deux à cinq cycles aromatiques et couvre des fonctions chimiques aussi diverses que des cétones, des quinones, des aldéhydes et des anhydrides. Cette solution est utilisée pour optimiser la séparation et la détection des CO-HAPs et Nitro-HAPs par GC-MS ainsi que pour la création d'une bibliothèque de spectres de masse des CO-HAPs et Nitro-HAPs. Cette solution est utilisée pour l'identification des composés par analyses en mode externe ou en ajout aux extraits préparés. La liste des 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés contenus dans cette solution est présentée en Tableau 17. Cette solution est conservée au congélateur à -26°C dans un pilulier en verre fermé équipé d'un bouchon comportant un septum en téflon.

Tableau 17 : Liste des 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés présents dans la solution utilisée pour l'optimisation de la séparation et de la détection des CO-HAPs par GC-MS

Nom	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Numéro CAS
Hydrocarbures Aromatiques Monocycliques carbonylés (CO-HAMs)			
phthaldialdéhyde	C ₈ H ₆ O ₂	134	643-79-8
anhydride phthalique	C ₈ H ₄ O ₃	148	85-44-9
2-formyl-(<i>E</i>)-cinnamaldéhyde	C ₁₀ H ₈ O ₂	160	61650-52-0
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques carbonylés (CO-HAPs)			
1-naphtaldéhyde	C ₁₁ H ₈ O	156	66-77-3
1,2-naphtoquinone	C ₁₀ H ₆ O ₂	158	524-42-5
1,4-naphtoquinone	C ₁₀ H ₆ O ₂	158	130-15-4
1-acénaphténone	C ₁₂ H ₈ O	168	2235-15-6
9-fluorénone	C ₁₃ H ₈ O	180	486-25-9
acénaphtènequinone	C ₁₂ H ₆ O ₂	182	82-86-0
benzophénone	C ₁₃ H ₁₀ O	182	119-61-9
anthrone	C ₁₄ H ₁₀ O	194	90-44-8
6H-dibenzo[bd]pyran-6-one	C ₁₃ H ₈ O ₂	196	2005-10-9
xanthone	C ₁₃ H ₈ O ₂	196	90-47-1
anhydride 1,2-naphtalique	C ₁₂ H ₆ O ₃	198	5343-99-7
anhydride 1,8-naphtalique	C ₁₂ H ₆ O ₃	198	81-84-5
anhydride 2,3-naphtalique	C ₁₂ H ₆ O ₃	198	716-39-2
9-phénanthrènealdéhyde	C ₁₅ H ₁₀ O	206	4707-71-5
1,4-anthraquinone	C ₁₄ H ₈ O ₃	208	635-12-1
9,10-anthraquinone	C ₁₄ H ₈ O ₂	208	84-65-1
9,10-phénanthrènequinone	C ₁₄ H ₈ O ₂	208	84-11-7
2-2'-biphényldicarboxaldéhyde	C ₁₄ H ₁₀	210	1210-05-5
4,4'-biphényldicarboxaldéhyde	C ₁₄ H ₁₀ O ₂	210	66-98-8
2-méthylantraquinone	C ₁₅ H ₁₀ O ₂	222	84-54-8
2-nitro-9-fluorénone	C ₁₃ H ₇ NO ₃	225	3096-52-4
benzo[a]fluorénone	C ₁₇ H ₁₀ O	230	479-79-8
benzo[b]fluorénone	C ₁₇ H ₁₀ O	230	76723-60-9
1-pyrèncarboxaldéhyde	C ₁₇ H ₁₀ O	230	3029-19-4
benzanthrone	C ₁₇ H ₁₀ O	230	82-05-3

acéanthrènequinone	$C_{16}H_8O_2$	232	6373-11-1
1,4-chrysènequinone	$C_{18}H_{10}O_2$	258	100900-16-1
5,6-chrysènequinone	$C_{18}H_{10}O_2$	258	2051-10-7
1,2-Benzanthraquinone	$C_{18}H_{10}O_2$	258	2498-66-0
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques nitrés (Nitro-HAPs)			
1-nitronaphtalène	$C_{10}H_7NO_2$	173	86-57-7
2-nitronaphtalène	$C_{10}H_7NO_2$	173	581-89-5
1-méthyl-4-nitronaphtalène	$C_{11}H_9NO_2$	187	880-93-3
1-méthyl-5-nitronaphtalène	$C_{11}H_9NO_2$	187	91137-27-8
1-méthyl-6-nitronaphtalène	$C_{11}H_9NO_2$	187	105752-67-8
2-méthyl-1-nitronaphtalène	$C_{11}H_9NO_2$	187	881-03-8
2-méthyl-4-nitronaphtalène	$C_{11}H_9NO_2$	187	13615-38-8
2-nitrobiphényl	$C_{12}H_9NO_2$	199	86-00-0
3-nitrobiphényl	$C_{12}H_9NO_2$	199	2113-58-8
5-nitroacénaphthène	$C_{12}H_9NO_2$	199	602-87-9
2-nitrofluorène	$C_{13}H_9NO_2$	211	607-57-8
3-nitrodibenzofurane	$C_{12}H_7NO_3$	213	5410-97-9
1,5-dinitronaphtalène	$C_{10}H_6N_2O_4$	218	605-71-0
2-nitroanthracène	$C_{14}H_9NO_2$	223	3586-69-4
9-nitroanthracène	$C_{14}H_9NO_2$	223	602-60-8
3-nitrophénanthrène	$C_{14}H_9NO_2$	223	17024-19-0
9-nitrophénanthrène	$C_{14}H_9NO_2$	223	4199-88-6
2-nitrodibenzothiophène	$C_{12}H_7NO_2S$	229	6639-36-7
9-méthyl-10-nitroanthracène	$C_{15}H_{11}NO_2$	237	84457-22-7
1-nitropyrène	$C_{16}H_9NO_2$	247	5522-43-0
2-nitropyrène	$C_{16}H_9NO_2$	247	789-07-1
4-nitropyrène	$C_{16}H_9NO_2$	247	57835-92-4
3-nitrofluoranthène	$C_{16}H_9NO_2$	247	892-21-7
2-nitrofluoranthène	$C_{16}H_9NO_2$	247	13177-29-2
6-nitrochrysène	$C_{18}H_{11}NO_2$	273	7496-02-8
7-nitrobenzo[a]anthracène	$C_{18}H_{11}NO_2$	273	20268-51-3
1,3-dinitropyrène	$C_{16}H_8N_2O_4$	292	75321-20-9
1,6-dinitropyrène	$C_{16}H_8N_2O_4$	292	42397-64-8
1,8-dinitropyrène	$C_{16}H_8N_2O_4$	292	42397-65-9

1-nitrobenzo[a]pyrène	$C_{20}H_{11}NO_2$	297	70021-99-7
3-nitrobenzo[e]pyrène	$C_{20}H_{11}NO_2$	297	91259-16-4
6-nitrobenzo[a]pyrène	$C_{20}H_{11}NO_2$	297	63041-90-7

2.3.4. Solutions préparées à partir de CO-HAPs purs

Des solutions mères individuelles de chaque CO-HAPs (composés à quantifier, étalons internes) sont préparées en dissolvant une masse solide (entre 20 et 100 mg), pesée précisément à l'aide d'une microbalance, dans des volumes précis d'acétonitrile. Toutes ces solutions mères sont portées aux ultrasons pendant 5 min pour permettre une dissolution complète ainsi qu'une bonne homogénéisation. Elles sont conservées au congélateur à -26 °C pour une durée maximale de trois mois.

Des solutions filles de CO-HAPs sont préparées à partir des solutions mères individuelles. Elles comportent un composé unique (étalon interne) ou des composés en mélange (CO-HAPs quantifiés) et sont préparées au moyen de volumes calculés d'une ou de plusieurs solutions mères. Les volumes calculés de solutions mères sont pris précisément au moyen d'une seringue eVol™ XR (Thermo Scientific). La seringue eVol™ est une seringue analytique automatique manuelle en verre permettant de couvrir des volumes de distribution compris entre 0,2 à 1000 µL. Les solutions filles sont conservées au réfrigérateur à +4 °C pour une durée maximale d'un mois.

2.3.4.1. Solutions de six CO-HAPs

Les phases d'extraction et de purification des CO-HAPs à partir des échantillons végétaux sont optimisées au moyen d'une solution contenant 6 CO-HAPs ciblés. La structure de ces composés possède de deux à quatre cycles aromatiques (Figure 27).

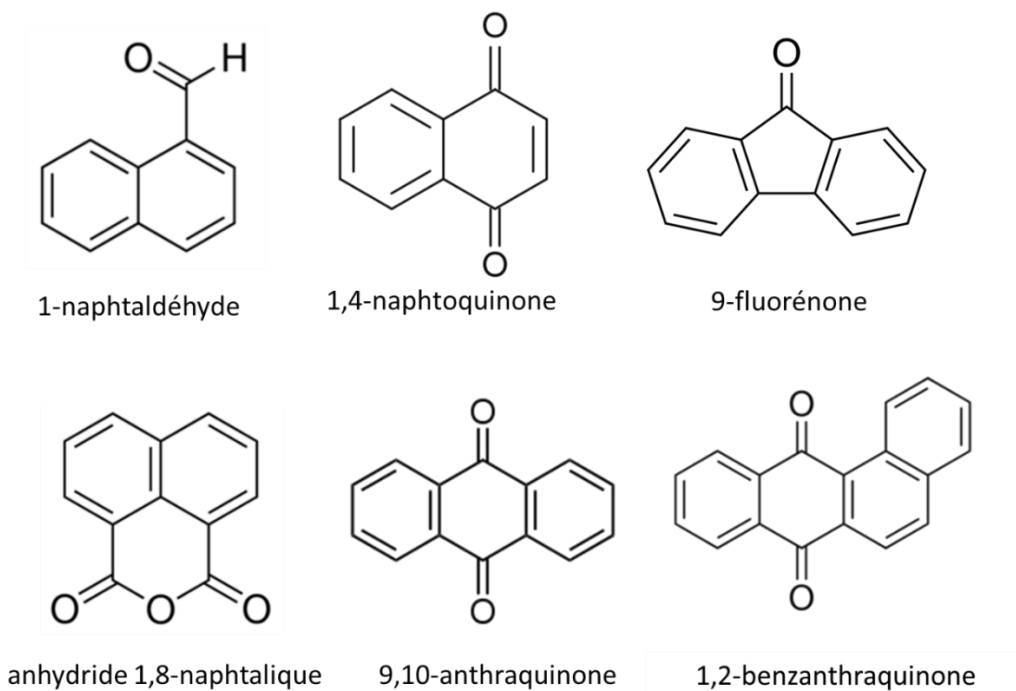


Figure 27 : Structure chimique des six CO-HAPs sélectionnés pour mener à l'optimisation des phases d'extraction et de purification

Ces six CO-HAPs sont le 1-naphthaldéhyde (98%, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), la 9-fluorénone (98%, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), la 1,4-naphtoquinone (90%, TRC, Toronto, Canada), la 9,10-anthraquinone (98%, Alfa Aesar, Kandel, Allemagne), l'anhydride 1,8-naphtalique (% de pureté non communiqué par le fournisseur, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne) et la 1,2-benzanthraquinone (95%, TRC, Toronto, Canada). Les solutions de travail sont préparées à partir de volumes précis calculés des solutions mères de chaque CO-HAPs. Trois solutions préparées sont utilisées :

- une solution comportant chacun des six CO-HAPs à 10 mg/L nommée « Solution 6CO-HAPs 1 »,
- une solution comportant chacun des six CO-HAPs à 1 mg/L nommée « Solution 6CO-HAPs 2 »,
- une solution comportant chacun des six CO-HAPs à 0,1 mg/L nommée « Solution 6CO-HAPs 3 ».

2.3.4.2. Solutions d'étalon interne

Deux CO-HAPs sont utilisés comme étalons internes : la 9-fluorénone-d8 (99,9%, CDN isotopes, Québec, Canada) et la 9,10-anthraquinone-d8 (99,9%, CDN isotopes, Québec, Canada) (Figure 28). Des

solutions filles pour chacun de ces deux étalons internes sont préparées pour des concentrations de 0,1 ; 0,2 ; 1 et 10 mg/L.

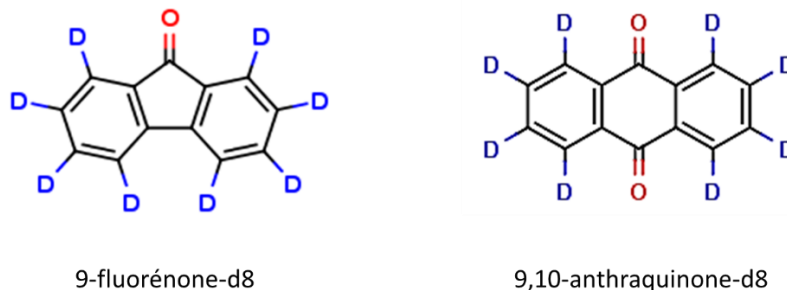


Figure 28 : Structure chimique des deux étalons internes utilisés pour la quantification

2.3.4.3. Solutions de treize CO-HAPs

Pour la quantification des CO-HAPs présents dans les échantillons végétaux (i) prélevés dans les jardins potagers ou (ii) exposés à diverses sources de pollution, une solution contenant 13 CO-HAPs (Tableau 16) est préparée. Elle est nommée « Solution 13CO-HAPs » et contient chaque composé à une concentration de 1 mg/L dans l'acétonitrile. Les CO-HAPs ajoutés (Figure 29) par rapport à la solution contenant 6 CO-HAPs (Figure 27) sont la benzophénone (99%, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), la 1-acénaphténone (96%, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), la xanthone (97%, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), l'anhydride 2,3-naphtalique (% de pureté non communiqué par le fournisseur, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), la 6H-dibenzo[bd]pyran-6-one (96%, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne), la benzo[a]fluorénone (99,79%, Sigma–Aldrich, Steinheim, Allemagne) et la benzanthrone (100%, Santa cruz biotechnology, Heidelberg, Allemagne).

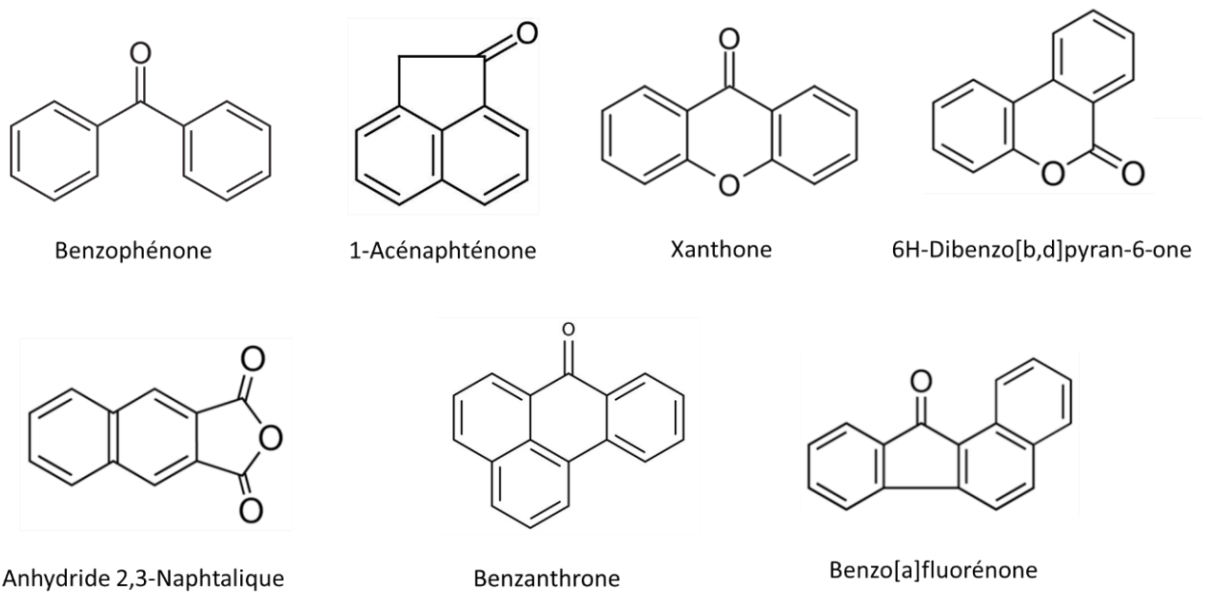


Figure 29 : Structure chimique des sept CO-HAPs supplémentaires contenus dans la solution de treize CO-HAPs

2.4. Préparation des échantillons végétaux

2.4.1. Préparation et stockage des échantillons végétaux avant extraction

Les échantillons végétaux sont récoltés en utilisant des gants jetables et sont directement placés dans des bocaux en verre. Les gants sont changés entre les différentes prises d'échantillons pour éviter d'éventuelles contaminations. Les échantillons sont conservés dans ces bocaux au maximum une journée à température ambiante avant préparation. Les échantillons sont tout d'abord découpés finement puis broyés dans un mixeur. Le broyage est effectué dans un mixeur de type « hachoir électrique de cuisine » équipé d'un bol en verre d'une contenance de 1 L et d'un couteau mélangeur métallique en inox. Une masse de $10 \pm 0,01$ g d'échantillon broyé est pesée dans un tube à centrifuger en verre de 35 mL. Le tube est fermé au moyen d'un bouchon en téflon puis stocké au congélateur à -26 °C. Chaque échantillon est préparé en triplicat.

2.4.2. Procédure de nettoyage du matériel de préparation d'échantillons

Le matériel utilisé pour broyer et peser les échantillons (mixeur, couteau et spatule) est lavé avec un liquide vaisselle neutre, rincé avec l'eau du robinet puis avec de l'eau ultrapure après chaque utilisation pour éviter des contaminations.

L'ensemble de la verrerie utilisée tout au long de la préparation d'échantillon est systématiquement rincée à l'éthanol, à l'eau distillée puis lavée à 70°C dans un lave-vaisselle de laboratoire (Miele, Gütersloh, Allemagne) avec un détergent alcalin universel « neodisher LaboClean A8 » (Dr. Weigert, Roissy, France). Dans le lave-vaisselle, la verrerie est *in fine* rincée deux fois à l'eau déminéralisée puis à l'eau ultrapure.

2.4.3. Mise au point et optimisation de la procédure d'extraction des CO-HAPs par méthodologie QuEChERS

La méthodologie utilisée pour la préparation des échantillons végétaux pour l'extraction des CO-HAPs est inspirée du protocole QuEChERS décrit par Anastassiades *et al.* (Anastassiades et al., 2003) dans

lequel $10 \pm 0,1$ g de broyat d'échantillon de fruits/légumes sont pesés dans un tube à centrifuger et dans lequel sont ensuite ajoutés 20 mL de solvant d'extraction (acétonitrile). Toujours selon Anastassiades *et al.*, le tube est agité vigoureusement (manuellement) pendant 1 min ; un mélange de sels composé de 4 g de sulfate de magnésium anhydre et 1 g de chlorure de sodium est ensuite ajouté dans le tube à centrifugation. Le tube est agité vigoureusement une deuxième fois pendant 1 min puis centrifugé. Après centrifugation, une fraction du surnageant est purifiée avec une extraction en phase solide dispersive (dSPE).

Le protocole décrit par Anastassiades *et al.* (Anastassiades et al., 2003) est modifié afin d'être optimisé et adapté à l'extraction des CO-HAPs issus des échantillons végétaux. Les paramètres vérifiés et optimisés dans le cadre de cette méthodologie QuEChERS sont :

- le solvant d'extraction (partie 2.4.3.1),
- le mélange de sels (partie 2.4.3.2).

2.4.3.1. Choix du solvant d'extraction des CO-HAPs par méthodologie QuEChERS

Cinq solvants d'extraction potentiels et possédant des polarités et des caractéristiques de solubilisation différentes sont testés : l'acétonitrile, le dichlorométhane, le toluène, l'acétate d'éthyle et un mélange dichlorométhane/hexane (90/10, v/v).

Une masse de $10 \pm 0,1$ g d'échantillon de pomme, préalablement broyé et homogénéisé, est dopé à 100 µg/kg (100 ppb) avec 100 µL de la solution 6CO-HAPs 1 et 100 µL de solution d'étalon interne d'extraction (9,10-anthraquinone-d8) à 10 mg/L. Un volume de 20 mL de solvant d'extraction est ajouté dans le tube correspondant. Celui-ci est ensuite fermé, agité vigoureusement (manuellement) pendant 1 min et placé 15 min à 30 °C dans un bain à ultrasons thermostaté T 700/H Elma de hauteur 30 cm, longueur 25,5 cm et largeur 15 cm (Singen, Allemagne) où la fréquence est fixée à 30 kHz. Le contenu du tube est ensuite centrifugé grâce à une centrifugeuse Heraeus (Biofuge Primo R) à 3500 rpm pendant 10 min. 1 mL du surnageant organique ($V_{\text{surnageant}} \approx 16$ mL) est concentré à sec au moyen d'un système d'évaporation sous vide (SpeedVac™) (voir partie 2.4.4.2).

Le résidu est dissout dans 100 µL de solution d'étalon interne d'analyse (9-fluorénone-d8) à 0,1 mg/L dans l'acétonitrile. L'extrait final est transféré dans des micro-inserts en verre de 100 µL à fond conique. Ces micro-inserts sont placés dans des piluliers de 2 mL fermés par des bouchons en silicone et téflon. L'extrait est ensuite analysé par GC-MS en mode SIM (voir partie 2.6.3).

2.4.3.2. Choix du mélange de sels pour l'extraction des CO-HAPs par méthodologie QuEChERS

Trois mélanges de sels sont testés :

- un mélange de sels sans tampon (noté « Sels 1 ») contenant 4 g de MgSO₄ et 1 g de NaCl,
- un mélange de sels contenant un tampon citrate (noté « Sels 2 »), utilisé dans la norme européenne EN 15662 (Afnor, 2009), comprenant 4 g de MgSO₄, 1 g de NaCl, 1 g de citrate trisodique dihydraté (TSCD) et 0,5 g d'hydrogénocitrate disodique sesquihydraté (DHS),
- un mélange de sels contenant un tampon acétate (noté « Sels 3 »), utilisé dans la norme américaine AOAC 2007.01 (AOAC, 2007), comprenant 6 g de MgSO₄ et 1,5 g de NaOAc.

Une masse de $10 \pm 0,1$ g d'échantillon de pomme, préalablement broyés et homogénéisés, est dopé à 100 µg/kg (100 ppb) avec 100 µL de la solution 6CO-HAPs 1 et 100 µL de solution d'étalon interne d'extraction (9,10-anthraquinone-d8) à 10 mg/L. Un volume de 20 mL d'acétonitrile est ajouté dans le tube correspondant. Celui-ci est ensuite fermé, agité vigoureusement (manuellement) pendant 1 min et placé 15 min à 30 °C dans un bain à ultrasons où la fréquence est fixée à 30 kHz. Un des trois mélanges de sels (Sels 1, Sels 2 ou Sels 3) est ajouté. Le contenu du tube est ensuite agité vigoureusement une deuxième fois pendant 1 min puis centrifugé à 3500 rpm pendant 10 min. 1 mL du surnageant organique ($V_{\text{surnageant}} \approx 18$ mL) est récupéré et concentré à sec. Le résidu est dissout dans 100 µL de solution d'étalon interne d'analyse (9-fluorénone-d8) à 0,1 mg/L dans l'acétonitrile. L'extrait est ensuite analysé par GC-MS en mode SIM (partie 2.6.3) après conservation dans un micro-insert de 100 µL.

2.4.4. Procédures de concentration des extraits contenant des CO-HAPs

L'analyse de composés à l'état de traces nécessite des phases de concentration des extraits obtenus.

Deux techniques d'évaporation de solvants sont testées :

- une concentration sous flux d'azote,
- une concentration sous vide au moyen d'un évaporateur de type SpeedVac™.

Le protocole présenté en parties 2.4.3.2 est repris en utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant d'extraction et le mélange de sels 1. La comparaison des procédures de concentration est réalisée sur 1 mL d'extrait de pomme placé dans un tube à essai de 7 mL.

2.4.4.1. Concentration sous flux d'azote

Un flux d'azote est envoyé sur la surface de 1 mL d'extrait à évaporer à travers une pipette pasteur en verre. Il est maintenu avec un faible débit grâce à un manomètre de contrôle (avec une pression moyenne de - 0,5 bar). Au long de l'étape de concentration, la pipette pasteur est déplacée verticalement vers la surface de l'extrait pour qu'elle reste entre 1 cm et 2 cm au-dessus de la surface du liquide. L'extrait est concentré à sec et le résidu est ensuite dissout dans 100 µL de solution d'étalon interne d'analyse (9-fluorénone-d8) à 0,1 mg/L dans l'acétonitrile. L'extrait est ensuite analysé par GC-MS en mode SIM (partie 2.6.3) après conservation dans un micro-insert de 100 µL.

2.4.4.2. Concentration au moyen d'un évaporateur de type SpeedVac™

La concentration est réalisée au moyen d'un système d'évaporation sous vide de type SpeedVac™ (Thermo Scientific, Savant SC210A SpeedVac™) permettant la concentration de plusieurs extraits en même temps. Le système est équipé d'une chambre revêtue de Téflon®, d'un piège à vapeur réfrigéré (Thermo Scientific, RVT400) qui condense et piège les vapeurs des solvants et également de deux niveaux de chauffage pour une évaporation optimisée (Figure 30).

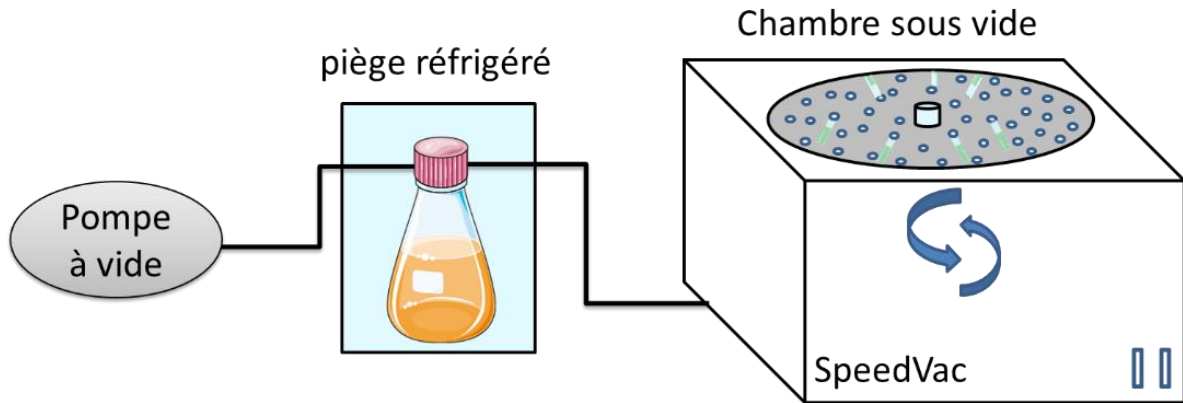


Figure 30 : Illustrations de l'évaporateur sous vide « SpeedVac™ » utilisé pour la concentration des extraits

L'extrait est concentré à sec sans l'utilisation du chauffage et le résidu est ensuite dissout dans 100 μ L de solution d'étalon interne d'analyse (9-fluorénone-d8) à 0,1 mg/L dans l'acétonitrile. L'extrait est ensuite analysé par GC-MS en mode SIM (partie 2.6.3) après conservation dans un micro-insert de 100 μ L.

2.4.5. Choix et optimisation de la méthode de purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs

Des purifications de l'extrait QuEChERS sont testées :

- par dSPE (partie 2.4.5.1), sur des échantillons de pomme, carotte, pomme de terre et salade,
- par MEPS (partie 2.4.5.2), en utilisant 3 supports de rétention différents sur des échantillons de carotte,
- par SPE (partie 2.4.5.3), en utilisant 4 phases de rétention différentes dont deux MIP (partie 2.4.5.4) sur des échantillons de carotte.

Pour toutes ces méthodes de purification (excepté la MEPS), un échantillon de 10 g de broyat d'échantillon de fruit ou de légume issus du commerce est utilisé. Dans un tube à centrifuger, il est dopé à 100 µg/kg avec 100 µL de la solution 6CO-HAPs 1 et 100 µL de la solution d'étalon interne d'extraction (9,10-anthraquinone-d8) à 10 mg/L. Un volume de 20 mL d'acétate d'éthyle est ensuite ajouté. Celui-ci est ensuite fermé, agité vigoureusement (manuellement) pendant 1 min et placé 15 min à 30 °C dans un bain à ultrasons où la fréquence est fixée à 30 kHz, puis centrifugé à 3500 rpm pendant 10 min. Le mélange de sels 1 (4 g de MgSO₄ et 1 g de NaCl) est ajouté. Le tube est agité vigoureusement une deuxième fois pendant 1 min puis centrifugé à 3500 rpm pendant 10 min.

Des aliquots du surnageant sont ensuite utilisés pour être purifiés au moyen des différentes méthodes.

Trois CO-HAPs sont plus particulièrement suivis pour la comparaison de chaque méthodologie : le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone.

2.4.5.1. Purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par dSPE

Une purification des extraits QuEChERS d'échantillons de pomme, carotte, pomme de terre et salade est réalisée par dSPE. Elle met en œuvre un aliquot de 10 mL de surnageant qui est transféré dans un tube de centrifugation en verre de 35 mL contenant 0,4 g de PSA (Amines primaire et secondaire) et 1,2 g de MgSO₄ (Q-sep[®], Restek). Le tube est agité vigoureusement pendant 1 min puis centrifugé à 3500 rpm pendant 10 min. Le surnageant est récupéré, puis concentré à sec avec le système d'évaporation sous vide (SpeedVac[™]). Le résidu est repris dans 100 µL de solution d'étalon interne de 9-fluorénone-d8 préparée dans l'acétonitrile à 0,1 mg/L, puis transféré dans des micro-inserts en verre

de 100 µL à fond conique. Ces micro-inserts sont introduits dans des piluliers fermés par des bouchons en silicone et téflon. L'extrait est ensuite analysé par GC-MS en mode SIM (voir partie 2.6.3).

L'extrait est comparé à une solution de référence qui comporte les 6 CO-HAPs à 5 mg/L chacun, la 9,10-anthraquinone-d8 à 5 mg/L et la fluorénone-d8 à 0,1 mg/L ; ces concentrations correspondent au cas de figure où les CO-HAPs sont totalement récupérés à partir de l'ajout initial à l'échantillon (100 µg/kg pour 10 g d'échantillon).

L'adaptabilité de cette méthodologie à extraire les CO-HAPs à de plus faibles concentrations (< 100 µg/kg) est testée exclusivement à partir d'échantillons de pomme et de carotte. Des microvolumes des solutions « 6CO-HAPs 2 » et « 6CO-HAPs 3 » sont utilisés pour tester des concentrations ajoutées à l'échantillon de 1, 5 et 10 µg/kg.

2.4.5.2. Purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par MEPS

2.4.5.2.1. Optimisation des conditions de purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par MEPS

Une purification des extraits QuEChERS d'échantillons de carotte est réalisée par MEPS ; la procédure est inspirée d'une méthodologie réalisée au laboratoire et qui concerne la purification d'extraits de pomme contenant des HAPs (Paris et al., 2019). Elle met en œuvre, dans un premier temps pour l'optimisation, 1 mL de surnageant concentré à sec au moyen de l'évaporateur de type SpeedVac™. Le résidu sec est repris dans 1 mL de solvant adapté au chargement de la seringue MEPS avant purification. Les solvants testés pour la dissolution du résidu sec sont le dichlorométhane, l'éthanol, le méthanol, le cyclohexane, un mélange eau ultra pure-éthanol (1/1, v/v) et de l'eau ultra pure.

La seringue de MEPS est équipée d'une phase de rétention (solide compacté) sertie dans l'aiguille. Trois phases de rétention sont testées :

- un solide compacté constitué d'une phase inverse de type C18,
- un solide compacté constitué d'une phase de type PEP (copolymère de styrène-divinylbenzène (PS-DVB) modifié avec des groupements fonctionnels urée),
- un solide compacté constitué d'une phase de type M1 (80% de phase inverse C8 et 20 % de silice échangeuse de cations).

Après passage en MEPS du résidu sec dissout dans 1 mL de solvant, l'acétonitrile est choisi comme solvant d'éluion à raison de 50 ou 100 μL pour vérifier par la suite la présence des CO-HAPs par GC-MS.

2.4.5.2.2. Conditions optimisées de purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par MEPS

10 mL de surnageant d'extrait QuEChERS de carotte est dopé à 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ avec 100 μL de la solution 6CO-HAPs et 100 μL de solution de 9,10-anthraquinone-d8 à 10 mg/L. L'extrait dopé est concentré à sec puis dissout dans 10 mL d'EUP avant purification par MEPS. Une seringue de MEPS de capacité volumique de 250 μL est utilisée ; elle est équipée d'un cylindre contenant une phase stationnaire de type C18 sertie dans l'aiguille. La phase stationnaire est conditionnée en aspirant et en évacuant 2 \times 200 μL d'EUP puis 2 \times 200 μL d'acétonitrile (Figure 31). Par la suite, 5 \times 200 μL de l'extrait sont aspirés et évacués au moyen de la seringue (Figure 31). Les composés retenus par la phase stationnaire du cylindre sont ensuite élués par aspiration puis évacuation de 50 μL d'acétonitrile. Ensuite, 50 μL d'une solution d'étalon interne (9-fluorénone-d8 dans l'acétonitrile) à 0,2 mg/L est ajoutée. le volume total est conservé dans un insert en verre de 100 μL contenu dans un pilulier de 2 mL avant injection en GC-MS en mode SIM. La seringue de MEPS est rincée, avant toute autre utilisation, en aspirant et en évacuant 2 \times 200 μL d'EUP puis 2 \times 200 μL d'acétonitrile.

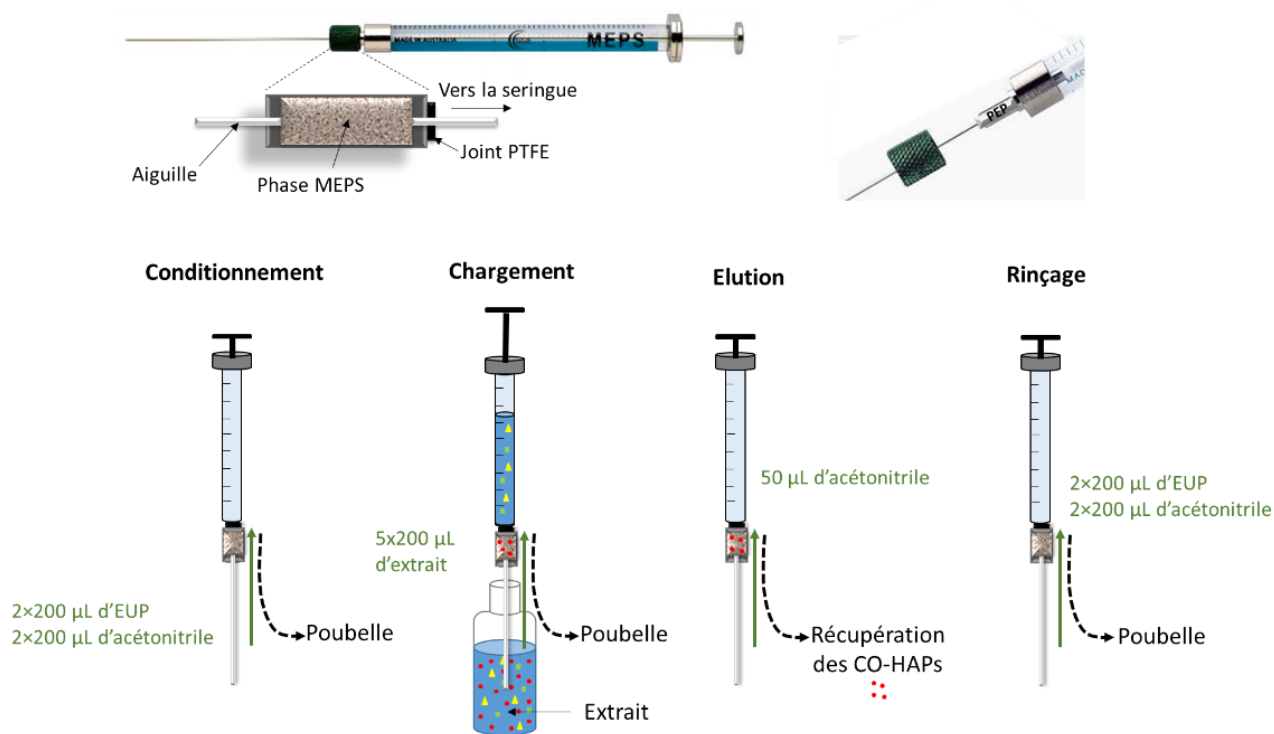


Figure 31 : Schéma de la procédure de purification d'extraits QuEChERS de carotte par micro-extraction par solide compacté (MEPS)

2.4.5.3. Purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par SPE

Une purification des extraits QuEChERS d'échantillons de carotte est réalisée par SPE au moyen de deux phases solides :

- une résine SPE polymérique présentant une rétention en phase inverse modifiée au moyen de groupements polaires de type « Balance Hydrophile-Lipophile » (HLB, AttractSPE™ HLB, particules 40 µm, pores 80 Å, Surface spécifique 800m²/g, AFFINISEP, Paris, France)
- une résine SPE fortement hydrophobe constituée d'un copolymère de styrène et de divinylbenzène (PS-DVB, AttractSPE™ DVB AFFINISEP, particules 40 µm, pores 80 Å, Surface spécifique 800m²/g, Paris, France).

La procédure implique l'utilisation de 10 mL du surnageant auxquels sont additionnés 50 µL de la solution 6CO-HAPs 1 (ajout d'une concentration équivalente de 100 µg/kg à l'échantillon de carotte). Cinquante microlitres de solution d'étalon interne d'extraction (9,10-anthraquinone-d8) à 10 mg/L sont ensuite ajoutés. L'ensemble est évaporé à sec au moyen de l'évaporateur de type SpeedVac™. Le résidu est dissout dans 1 mL de cyclohexane et vortexé pendant 1 min. Cet extrait est ensuite purifié par SPE, les cartouches utilisées de type HLB et PS-DVB (AttractSPE™) ont un volume de 1 mL et contiennent 30 mg de résine polymérique.

La purification est réalisée au moyen d'un montage de type Visiprep Solid Phase Extraction Vacuum Manifold (Supelco) équipé de 12 ports pour capillaires en polytétrafluoroéthylène (PTFE) (diamètre externe de 3 mm, diamètre interne de 1 mm et longueur de 3,1 cm) permettant la purification simultanée de plusieurs extraits au moyen des cartouches d'extraction en phase solide (Figure 32). Les capillaires et les valves du montage sont rincés au préalable au moyen d'environ 5x1 mL d'éthanol puis de 5x1 mL d'eau ultrapure. Ces éléments sont ensuite retirés du montage et introduits dans un bécher contenant de l'éthanol qui est placé 15 min dans un bain à ultrasons à température ambiante. Ils sont ensuite nettoyés avec du liquide vaisselle neutre et rincés à l'eau du robinet. Les capillaires et les valves sont ensuite placés une nuit dans un bain d'Extran® et d'eau (environ 25 mL d'Extran® pour 5 L d'eau). Le lendemain, ils sont rincés à l'eau ultrapure avant de pouvoir être réutilisés



Figure 32 : Photographie du montage Visiprep utilisé pour la purification d'extraits QuEChERS par SPE

La procédure optimisée de purification de l'extrait au moyen des cartouches de SPE est réalisée en 5 étapes (voir Figure 33 et Tableau 18). Elle inclut tout d'abord un conditionnement du support de la cartouche avec successivement 1 mL d'acétate d'éthyle, 1 mL d'eau ultra pure puis 1 mL de

cyclohexane. Après dépôt de l'extrait (1 mL dans le cyclohexane), 1 mL d'eau ultra pure est utilisé pour éliminer les substances hydrophiles par rinçage. Un flux d'air d'environ 30 secondes est appliqué afin d'assécher complètement le support solide. L'élution est réalisée par ajout de 1,5 mL d'acétate d'éthyle qui représente un volume optimisé pour la récupération des CO-HAPs.

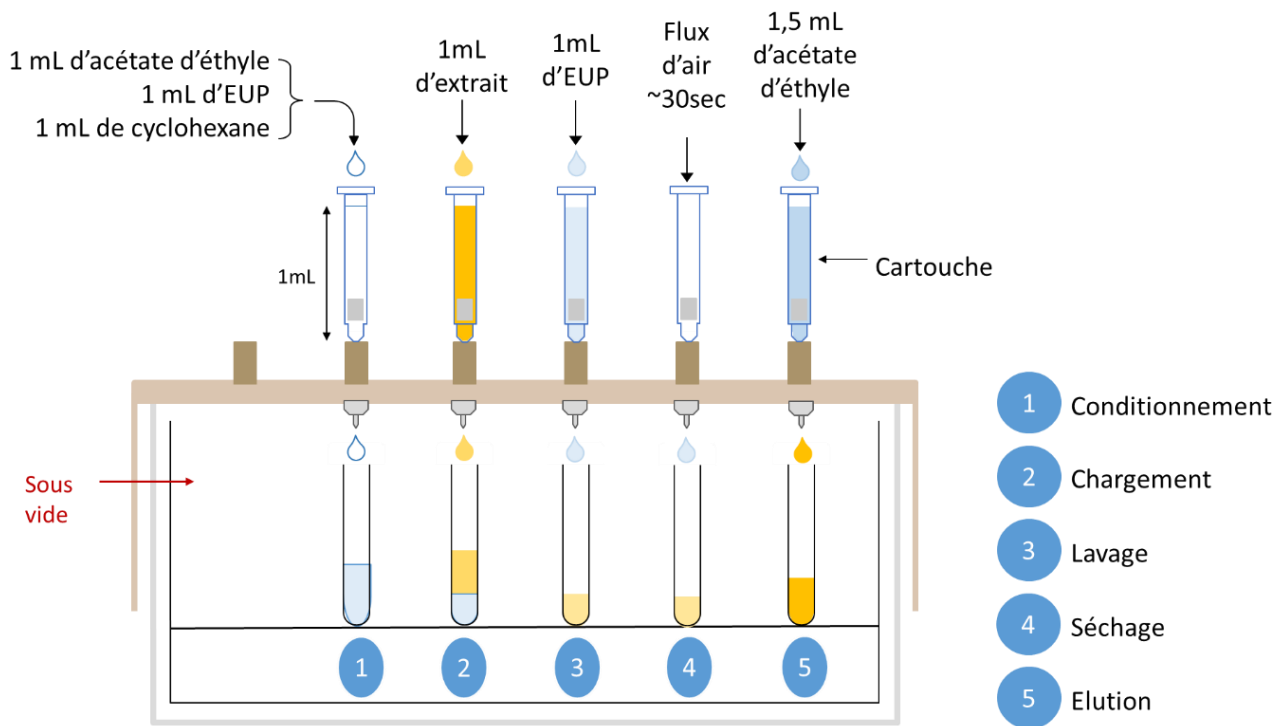


Figure 33 : Illustration de la procédure de purification par extraction en phase solide (SPE) au moyen des supports solides HLB et PS-DVB

Tableau 18 : Paramètres optimisés de la procédure de purification par extraction en phase solide (SPE) au moyen des supports solides HLB et PS-DVB

Etapes	Solvant	Volume	Débit
Conditionnement	Acétate d'éthyle	1 mL	2 gouttes / s
	Eau Ultra Pure	1 mL	2 gouttes / s
	Cyclohexane	1 mL	2 gouttes / s
Chargement	Échantillon	1 mL	1 goutte / s
Rinçage	Eau Ultra Pure	1 mL	1 goutte / s
Séchage	-		
Elution	Acétate d'éthyle	1,5 mL	1 goutte / s

Le volume récupéré après élution est évaporé à sec sous vide au moyen de l'évaporateur de type SpeedVac™. Le résidu est repris dans 100 µL d'une solution d'étalon interne (9-fluorénone-d8 dans l'acétonitrile) à 0,1 mg/L, puis transféré dans des micro-inserts en verre de 100 µL à fond conique contenus dans des piluliers de 2 mL. L'extrait final est conservé au congélateur à -26°C avant d'être analysé par GC-MS en mode SIM (voir partie 2.6.3).

2.4.5.4. Purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par Extraction en Phase Solide de type Polymère à Empreinte Moléculaire (SPE MIP)

Une purification des extraits QuEChERS d'échantillons de carotte est réalisée par SPE au moyen de deux phases solides de type « Polymère à Empreinte Moléculaire » (MIP) :

- une phase solide contenant l'empreinte moléculaire d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (MIP HAP, AFFINIMIP® SPE PAHs, particules 25-80 µm, 100 mg adsorbant, AFFINISEP, Paris, France),
- une phase solide contenant l'empreinte moléculaire de composés phénoliques (MIP Phénoliques, AFFINIMIP® SPE Phénoliques, particules 25-80 µm, 100 mg adsorbant, AFFINISEP, Paris, France).

La procédure de purification est réalisée sur la même base d'échantillon que précédemment (partie 2.4.5.3). Dix millilitres d'extrait QuEChERS de carotte sont additionnés de 50 µL de solution 6CO-HAPs 1 (concentration ajoutée de 100 µg/kg pour l'échantillon de carotte) puis de 50 µL de solution d'étalon

interne d'extraction (9,10-anthraquinone-d8) à 10 mg/L. L'ensemble est évaporé à sec au moyen de l'évaporateur de type SpeedVac™. Le résidu est dissout dans 3 mL de cyclohexane puis vortexé pendant 1 min. L'extrait est alors purifié par SPE au moyen de cartouches de 3 mL remplies de polymère à empreinte moléculaire (MIP SPE) de type MIP HAP et MIP Phénoliques. Le montage utilisé (Visiprep Solid Phase Extraction Vacuum Manifold) est identique à celui présenté en partie 2.4.5.3.

La procédure optimisée de purification de l'extrait au moyen des cartouches de SPE MIP est aussi réalisée en 5 étapes (voir Tableau 19). Elle diffère relativement peu de la procédure menée par SPE (voir partie 2.4.5.3) à savoir que la succession de solvants utilisée est identique, les volumes sont pour leur part portés à 3 mL (au lieu de 1 mL) et l'élution est réalisée au moyen de 4 mL d'acétate d'éthyle.

Tableau 19 : Paramètres optimisés de la procédure de purification par extraction en phase solide (SPE) au moyen des supports solides MIP HAP et MIP Phénoliques

Etapes	Solvant	Volume	Débit
Conditionnement	Acétate d'éthyle	3 mL	2 gouttes / s
	Eau Ultra Pure	3 mL	2 gouttes / s
	Cyclohexane	3 mL	2 gouttes / s
Chargement	Échantillon	3 mL	1 goutte / s
Rinçage	Eau Ultra Pure	3 mL	1 goutte / s
Séchage	-		
Elution	Acétate d'éthyle	4 mL	1 goutte / s

Le volume récupéré après élution est évaporé à sec sous vide au moyen de l'évaporateur de type SpeedVac™. Le résidu est repris dans 100 µL d'une solution d'étalon interne (9-fluorénone-d8 dans l'acétonitrile) à 0,1 mg/L, puis transféré dans des micro-inserts en verre de 100 µL à fond conique contenus dans des piluliers de 2 mL. L'extrait final est conservé au congélateur à -26°C avant d'être analysé par GC-MS en mode SIM (voir partie 2.6.3).

2.5. Procédure finale d'extraction et de purification des CO-HAPs : application aux échantillons végétaux issus de jardins potagers urbains ou exposés à plusieurs sources de combustion

Dans cette partie, la stratégie globale optimisée d'extraction et de purification des CO-HAPs est reportée depuis l'échantillon végétal jusqu'à l'analyse. Elle consiste en une phase d'extraction par la méthode QuEChERS puis à une purification réalisée grâce à une extraction en phase solide utilisant une phase stationnaire de type HLB (Balance Hydrophile-Lipophile).

Une masse de 10 g d'échantillons broyés et homogénéisés est pesée dans un tube à centrifuger. Un volume de 100 μL de solution d'étalon interne d'extraction (9,10-anthraquinone-d8) à 1 mg/L et 20 mL d'acétate d'éthyle sont ajoutés dans le tube. Celui-ci est ensuite fermé, agité vigoureusement (manuellement) pendant 1 min et placé 15 min à 30 °C dans un bain à ultrasons où la fréquence est fixée à 30 kHz. Un mélange de sels composé de 4 g de sulfate de magnésium (MgSO_4) et de 1 g de chlorure de sodium (NaCl) est ajouté. Le tube est agité vigoureusement une deuxième fois pendant 1 min puis centrifugé à 3500 rpm pendant 10 min. Le surnageant ($V_{\text{surnageant}} \approx 18 \text{ mL}$) est concentré à sec avec le système d'évaporation sous vide SpeedVacTM. Le résidu est repris par ajout de 1 mL de cyclohexane puis vortexé pendant 1 min. Cet extrait est ensuite purifié au moyen d'une cartouche SPE de type HLB contenant 30 mg de résine polymérique. La phase solide de la cartouche est tout d'abord conditionnée avec successivement 1 mL d'acétate d'éthyle, 1 mL d'eau ultra pure puis 1 mL de cyclohexane. Après dépôt de l'extrait (dans le cyclohexane), 1 mL d'eau ultra pure est utilisé pour rincer. Un flux d'air d'environ 30 secondes est appliqué afin d'assécher le support solide. L'élution est réalisée par ajout de 1,5 mL d'acétate d'éthyle. Le volume d'éluat recueilli est concentré à sec avec le système d'évaporation sous vide SpeedVacTM. Le résidu est repris par 100 μL de solution de 9-fluorénone-d8 préparée dans l'acétonitrile à 0,1 mg/L. 1 μL de cet extrait final est injecté en GC-MS avec une détection en mode SIM.

2.6. Techniques et méthodes analytiques

2.6.1. Matériel d'analyse (GC-MS)

Deux appareils de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) sont utilisés pour l'analyse des CO-HAPs. Le premier possédant un analyseur de masse de type « Trappe Ionique » (partie 2.6.1.1) est utilisé pour l'optimisation de la séparation ainsi que pour l'identification des analytes. Le deuxième possédant un analyseur de type « quadrupôle » (partie 2.6.1.2) est utilisé pour la quantification.

2.6.1.1. GC-MS de type « Trappe Ionique »

L'appareil de GC-MS de type « trappe ionique » est un chromatographe Varian™ 3800 couplé à un spectromètre de masse à trappe ionique Saturn™ 2000R (Varian, Santa Clara, US) (Figure 34). L'ensemble est piloté par un ordinateur équipé du logiciel Saturn GC/MS workstation® version 5.52 permettant l'acquisition et l'exploitation des données. Une colonne capillaire Phenomenex ZB-5MS (5% Phényl-arylène, 95% méthylpolysiloxane), de 60 m de longueur, 0,25 mm de diamètre intérieur et 0,25 µm d'épaisseur de film est utilisée. L'hélium Alphagaz de pureté 99,999 % (Air Liquide, Paris, France) est utilisé comme gaz vecteur avec un débit de 1,5 mL/min. La détection s'effectue grâce à un spectromètre de masse à piège d'ions permettant l'utilisation du mode Ionisation Electronique (EI) et du mode d'Ionisation Chimique (CI) par utilisation d'acétonitrile comme liquide réactant.

La température de l'interface entre la GC et le spectromètre de masse est maintenue à 320 °C et la température de la source d'ions à 150 °C. Une analyse par balayage total des rapports m/z (full scan) est tout d'abord effectuée en EI dans le but d'identifier les CO-HAPs grâce à leurs spectres de masses complets. La durée de l'acquisition de chaque spectre est fixée à 1 seconde. Une analyse en CI est ensuite réalisée pour confirmer l'identification. L'acquisition en mode « full scan » est effectuée sur une gamme de valeurs pour les rapports m/z comprise entre 44 et 350 après un délai de 7 min pour éviter la détection du solvant.



Figure 34 : Chromatographe en phase gazeuse (GC-Varian™) et spectromètre de masse à piège d'ions (MS-Saturn™)

2.6.1.2. GC-MS de type « quadrupôle »

Les analyses chromatographiques sont réalisées avec un chromatographe en phase gazeuse Shimadzu GC-2010 Plus couplé à un spectromètre de masse quadripolaire QP 2010 SE (Figure 35). L'ensemble est piloté par un ordinateur équipé du logiciel GCMS solution version 4.45. L'appareil est équipée d'une colonne capillaire DB5-MS (60 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne, 0,25 μm d'épaisseur de film de phase stationnaire 5%-phényl 95%- diméthylarylènesiloxane) de marque J&W agilent (Folsom, USA). L'hélium (99,999 %) est utilisé comme gaz vecteur. La détection s'effectue grâce à un spectromètre de masse QP 2010 (Shimadzu Scientific Instruments) utilisant une source d'ionisation électronique (EI) associée à un analyseur de masse quadripolaire. La température de l'interface entre la GC et le spectromètre de masse est maintenue à 320 °C et la température de la source d'ions est à 150 °C. Une analyse par balayage total des rapports m/z (full scan) est tout d'abord effectuée dans le but de repérer les CO-HAPs grâce à leur spectre de masse complet La durée de l'acquisition de chaque spectre est fixée à 0,3 s (0,3 seconde par scan). Une détection spécifique d'ions est ensuite réalisée pour chaque composé grâce au mode d'isolement d'ions SIM (single ion monitoring) de l'analyseur de masse.



Figure 35 : Chromatographe en phase gazeuse (GC) et spectromètre de masse quadripolaire (MS)
Shimadzu

2.6.2. Méthode optimisée de séparation des CO-HAPs et Nitro-HAPs par GC-MS

L'optimisation de la méthode de séparation des CO-HAPs, à travers l'utilisation d'une solution contenant des CO-HAPs et Nitro-HAPs, est réalisée au moyen de l'appareil de GC-MS de type « trappe ionique ». Les mêmes conditions d'analyses chromatographiques sont par la suite utilisées aussi au moyen de l'appareil de GC-MS de type « quadripôle ». Le flux du gaz vecteur (hélium) est de 1,5 mL/min. La température de l'injecteur est fixée à 180 °C, 1 μ L d'extrait est introduit et les injections sont réalisées en mode « splitless ».

Le programme de température du four (Figure 36) commence à 90 °C pendant 5 min. La température est ensuite augmentée de 45 °C/min jusqu'à 190 °C, puis de 5 °C/min jusqu'à 230 °C et maintenue pendant 6 min, Enfin la température est augmentée de 5 °C/min jusqu'à 310 °C et reste maintenue pendant 20 min. La durée totale du programme de température est de 57 min.

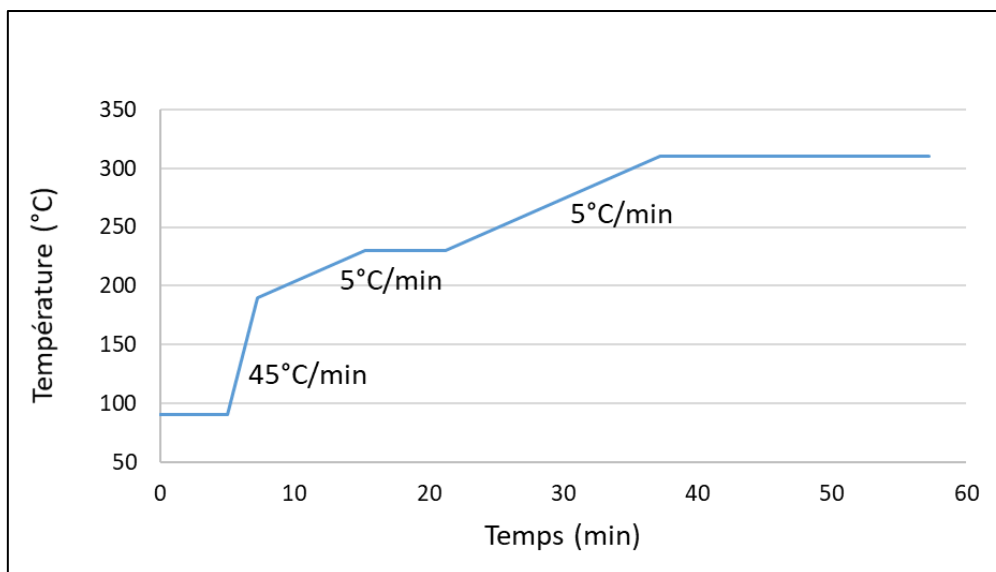


Figure 36 : Programme de température du four de la GC pour la méthode optimisée de séparation des CO-HAPs et Nitro-HAPs par GC-MS

La détection des composés s'effectue par isolement d'ions (mode SIM) en divisant l'analyse en 5 segments de temps (Tableau 20).

Tableau 20 : Segments de temps et rapports m/z ciblés en GC-MS pour la méthode de séparation optimisée des CO-HAPs et Nitro-HAPs

Segments d'analyse (min)	Rapports m/z ciblés	Composés recherchés	Temps de rétention (min)
0,0 – 7,0	-	<i>Pas d'acquisition</i>	-
7,0 – 13,0	<u>158</u> , 102	1,4-naphtoquinone	12,22
13,0 - 15,9	<u>156</u> , 128	1-naphtaldéhyde	13,23
	<u>131</u> , 103	2-formyl-(E)-cinnaamaldéhyde	13,73
	<u>127</u> , 115, 173	1-nitronaphtalène	14,31
	<u>102</u> , 130	1,2-naphtoquinone	14,31
	<u>105</u> , 182	benzophénone	14,48
	<u>115</u> , 187	2-méthyl-1-nitronaphtalène	14,55
	<u>127</u> , 173, 115	2-nitronaphtalène	14,86
	<u>168</u> , 140	1-acénaphténone	15,06

	<u>152</u> , 171, 115	2-nitrobiphényl	15,23
	<u>115</u> , 187, 128	2-méthyl-4-nitronaphtalène	15,65
15,9 – 19,0	<u>188</u>	9-fluorénone-d8	16,10
	<u>180</u> , 152	9-fluorénone	16,16
	<u>115</u> , 128, 187	1-méthyl-4-nitronaphtalène	16,31
	<u>187</u> , 115, 141	1-méthyl-6-nitronaphtalène	16,73
	<u>199</u> , 152	3-nitrobiphényl	17,26
	<u>198</u> , 126, 154	anhydride 1,2-naphtalique	17,61
	<u>181</u> , 152	2-2'-biphényldicarboxaldéhyde	17,89
	<u>196</u> , 168, 139	xanthone	18,16
	<u>154</u> , 126, 182	acénaphènequinone	18,30
19,0 – 23,0	<u>126</u> , 198, 154	anhydride 2,3-naphtalique	19,33
	<u>218</u> , 114	1,5-dinitronaphtalène	19,41
	<u>196</u> , 168, 139	6H-dibenzo[bd]pyran-6-one	19,94
	<u>188</u> , 216	9,10-anthraquinone-d8	20,40
	<u>180</u> , 208, 152	9,10-anthraquinone	20,47
	<u>213</u> , 183, 139	3-nitrodibenzofurane	20,76
	<u>199</u> , 169, 152	5-nitroacénaphène	21,28
	<u>198</u> , 154, 126	anhydride 1,8-naphtalique	21,82
	<u>126</u> , 208, 152	1,4-anthraquinone	22,14
	<u>210</u> , 152	4,4'-biphényldicarboxaldéhyde	22,28
23,0 – 32,0	<u>165</u> , 222	2-méthyl-9,10-anthraquinone	23,71
	<u>211</u> , 165	2-nitrofluorène	23,74
	<u>206</u> , 178	9-phénanthrèncarboxaldéhyde	24,19
	<u>223</u> , 176, 165	9-nitroanthracène	24,41
	<u>180</u> , 152, 208	9,10-phénanthrènequinone	26,04
	<u>225</u> , 195, 151	2-nitro-9-fluorénone	26,04
	<u>223</u> , 195, 176	9-nitrophénanthrène	26,24
	<u>229</u> , 139, 199	2-nitrodibenzothiophène	26,99
	<u>223</u> , 176, 193	3-nitrophénanthrène	27,40
	<u>223</u> , 177	2-nitroanthracène	28,54
	<u>237</u> , 207, 178	9-méthyl-10-nitroanthracène	28,73

	<u>101</u> , 203,230	benzo[a]fluorénone + benzo[b]fluorénone	29,64
	<u>230</u> , 203, 101	benzanthrone	30,95
32,0 – 56,0	<u>230</u> , 203, 101	1-pyrèncarboxaldéhyde	32,75
	<u>232</u> , 192, 116	Acéanthrenequinone	32,87
	<u>247</u> , 201	2-nitrofluoranthène	33,59
	<u>247</u> , 201	3-nitrofluoranthène	33,67
	<u>247</u> , 201	4-nitropyrène	34,01
	<u>258</u> , 230 ,101	1,2-benzanthraquinone	34,54
	<u>247</u> , 201, 189	1-nitropyrène	35,22
	<u>247</u> , 201, 189	2-nitropyrène	35,22

Les rapports *m/z* soulignés sont ceux utilisés pour la quantification (mesure de l'aire du pic du composé).

2.6.3. Méthode réduite de séparation des CO-HAPs par GC-MS

Une méthode d'analyse plus courte que la méthode optimisée de séparation des 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés est utilisée pour la mise au point et l'optimisation de la méthode de préparation d'échantillons. Cette méthode, réalisée au moyen du GC-MS quadripolaire, possède les mêmes paramètres d'analyse que la méthode précédente excepté pour le programme de température (Figure 37).

Le programme de température du four commence à 90 °C pendant 1 min. La température est ensuite augmentée de 55 °C/min jusqu'à 200 °C, puis de 10 °C/min jusqu'à 270 °C et maintenue pendant 5 min. La température est enfin augmentée de 25 °C/min jusqu'à 310 °C puis maintenue pendant 12 min. La durée totale du programme est de 38 min.

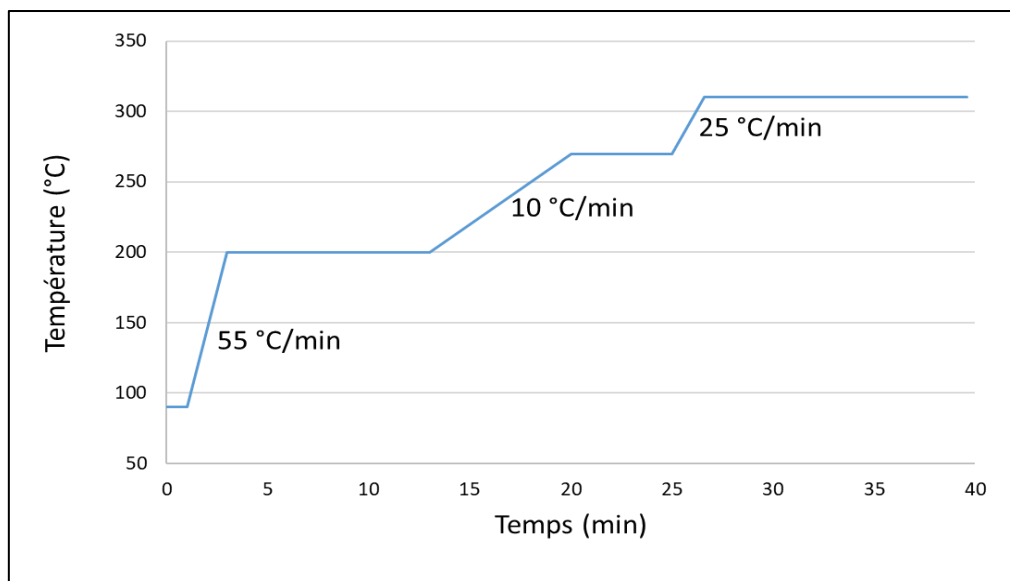


Figure 37 : Programme de température du four de la GC pour la méthode réduite de séparation des CO-HAPs en GC-MS

La détection des composés s'effectue par isolement d'ions (mode SIM). Cette méthode réduite de séparation vise spécifiquement la détection de 8 composés (6 composés à quantifier et 2 étalons internes) ; les rapports m/z des ions isolés sont précisés dans le Tableau 21.

Tableau 21 : Segments de temps et rapports m/z ciblés en GC-MS pour la méthode de séparation réduite des CO-HAPs

Segments d'analyse (min)	Rapports m/z ciblés	Composés recherchés	Temps de rétention (min)
0,0 - 7,0	-	<i>Pas d'acquisition</i>	-
7,0 -27,5	<u>130</u> , 102	1,4-naphtoquinone	9,00
	<u>156</u> , 128	1-naphthaldéhyde	9,50
	<u>180</u> , 152	9-fluorénone	13,93
	<u>188</u>	9-fluorénone-d8	13,84
	<u>208</u> , <u>180</u>	9,10-anthraquinone	18,76
	<u>216</u> , <u>188</u>	9,10-anthraquinone-d8	18,66
	<u>198</u> , 154	anhydride 1,8-naphtalique	
27,5- 38,0	<u>258</u> , 230	1,2-benzanthraquinone	29,79

2.6.4. Programme complémentaire entre chaque analyse par GC-MS

Avant et après chacune des analyses par GC-MS, un programme ayant pour but d'éliminer les résidus des analyses précédentes est appliqué. La température initiale du four est de 90 °C puis elle est augmentée de 50 °C/min jusqu'à 310 °C, et maintenue pendant 11 min. Ce programme dure 15,40 min. Le débit du gaz vecteur (hélium) est de 1,5 mL/min et la température de l'injecteur est fixée à 300 °C.

2.7. Evaluation des performances analytiques de la méthode d'analyse

Les performances analytiques de la méthode d'extraction, de purification, puis d'analyse en GC-MS sont évaluées en termes de taux de recouvrement, linéarité, fidélité (répétabilité et reproductibilité), sensibilité (limites de détection LOD et de quantification LOQ) et d'effet potentiel lié à la matrice.

Les résultats sont basés sur des mesures d'aires relatives par intégration des pics des CO-HAPs ciblés (rapports m/z présentés en Tableau 21) et de celui de la 9,10-anthraquinone-d8 utilisé comme étalon interne pour la méthodologie dans sa globalité (extraction, purification, analyse par GC-MS). La qualité de chaque analyse est vérifiée par intégration du pic de la 9-fluorénone-d8 (étalon interne d'analyse).

2.7.1. Taux de recouvrement

Des taux de recouvrement de trois CO-HAPs sont calculés pour la procédure globale (parties 2.5 et 2.6.3). Ils sont calculés pour une récupération d'une quantité ajoutée de 1 μg (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) de chaque CO-HAPs à 10 g d'un échantillon broyé de carotte. L'ajout est réalisé au moyen de 100 μL de la solution 6CO-HAPs 1 (chacun à 10 mg/L) et 100 μL de solution de 9,10-anthraquinone-d8 à 1 mg/L. Les échantillons dopés sont soumis, par la suite, à l'extraction QuEChERS puis à la purification par SPE HLB. Les extraits concentrés à sec après purification sont tous additionnés de 100 μL de solution de 9-fluorénone-d8 (étalon interne d'injection) à 0,1 mg/L avant d'être injecté en GC-MS en mode SIM. Cette procédure est répétée complètement 3 fois (triplicats). L'absence de chaque CO-HAPs est vérifiée au moyen d'un échantillon de carotte non dopé.

Une aire relative $A_{\text{dopé}}$ est calculée pour chaque CO-HAP et pour chaque extrait final en divisant l'aire du pic du CO-HAP par l'aire du pic de la 9,10-anthraquinone-d8.

Une solution de référence est préparée avec des concentrations finales en CO-HAPs et 9,10-anthraquinone-d8 à 10 mg/L et en fluorénone-d8 à 0,1 mg/L. Cette solution de référence est préparée trois fois puis analysée en GC-MS en mode SIM. Une aire relative A_{ref} est calculée pour chaque CO-HAP et pour chaque solution de référence en divisant l'aire du pic de chaque CO-HAP par l'aire du pic de la 9,10-anthraquinone-d8.

Le taux de recouvrement est alors calculé au moyen de la formule suivante :

$$\text{Taux de recouvrement (\%)} = \left(\frac{\text{Moyenne (A}_{\text{dopé}})_{n=3}}{\text{Moyenne (A}_{\text{réf}})_{n=3}} \right) \times 100$$

2.7.2. Etude du domaine de linéarité

La linéarité pour la procédure globale (partie 2.5) incluant les étapes d'extraction, de purification et d'analyse est testée en utilisant des ajouts dosés à l'échantillon. Elle est vérifiée (i) dans un premier temps, pour des échantillons de pomme avec un nombre limité de CO-HAPs au moyen de la méthode réduite d'analyse (partie 2.6.3) et, (ii) dans un deuxième temps, pour des échantillons de salade avec 13 CO-HAPs au moyen de la méthode optimisée d'analyse (partie 2.6.2).

Dans un premier temps, un étalonnage au moyen d'ajouts dosés est mené pour trois CO-HAPs (1-naphtaldéhyde, 9-fluorénone, 9,10-antraquinone). Ces ajouts sont réalisés à des broyats de pomme (10 g) auxquels sont ajoutés 100 µL de solution de 9,10-antraquinone-d8 à 1 mg/L et entre 0 et 100 µL soit de la solution 6CO-HAPs 2 soit de la solution 6CO-HAPs 3. Cet étalonnage correspond à des dopages entre 0 et 10 µg/kg en poids humide de broyat de pomme (0 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 4 ; 6 ; 8 ; 10 ppb). Le volume total introduit dans l'échantillon est maintenu constant à 200 µL en complétant si nécessaire par un ajout d'acétonitrile. Chaque point de gamme est réalisé trois fois (triplicats). La procédure globale est appliquée aux différents broyats de pomme dopés. L'extrait final est dissout dans 100 µL de 9-fluorénone-d8 à 0,1 mg/L avant d'être analysé par GC-MS en mode SIM au moyen de la méthode réduite d'analyse (partie 2.6.3).

Dans un second temps, un étalonnage au moyen d'ajouts dosés est réalisé pour treize CO-HAPs (Tableau 16) en utilisant la salade comme modèle végétal. Cent microlitres de la solution de 9,10-antraquinone-d8 à 1 mg/L et entre 0 et 100 µL de la solution 13CO-HAPs 1 sont ajoutés aux 10 g de broyat de salade pour réaliser une gamme d'étalonnage entre 0 et 10 µg/kg en poids humide (0 ; 2 ; 4 ; 6 ; 8 ; 10 ppb). Le volume total introduit dans l'échantillon est maintenu constant à 200 µL en complétant si nécessaire par un ajout d'acétonitrile. Chaque point de gamme est réalisé trois fois (triplicats). La procédure globale est appliquée aux différents broyats de salade dopés. L'extrait final

est dissout dans 100 µL de 9-fluorénone-d8 à 0,1 mg/L avant d'être analysée par GC-MS en mode SIM au moyen de la méthode optimisée d'analyse des CO-HAPS et Nitro-HAPS (partie 2.6.2).

Pour chaque CO-HAPS, une aire relative est calculée en divisant l'aire de chaque pic de CO-HAPS par celle de la 9,10-anthraquinone-d8 (étalon interne pour la méthodologie dans sa globalité). La linéarité est évaluée par report des aires relatives en fonction des ajouts réalisés au broyat d'échantillon (en µg/kg). Pour chaque CO-HAPS, le coefficient de détermination (R^2) de la droite d'étalonnage est étudié afin de vérifier la linéarité.

2.7.3. Etude de la fidélité (répétabilité et reproductibilité)

L'étude de la fidélité de la stratégie globale (extraction, purification et analyse) est réalisée pour des échantillons de broyats de pommes dopés en CO-HAPS à 4 µg/kg en poids humide. Les CO-HAPS visés sont le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone.

Les pommes broyées et homogénéisées (10 g) sont dopées avec 40 µL de la solution 6CO-HAPS 2, 60 µL d'acétonitrile et 100 µL de solution d'étalon interne (9,10-anthraquinone-d8) à 1 mg/L. Cette préparation est répétée 5 fois le même jour pour évaluer la répétabilité ($n = 5$), et répétée 5 fois successivement pendant trois jours pour évaluer la reproductibilité ($n = 15$). La procédure finale d'extraction et de purification (QuEChERS-SPE, partie 2.5) est appliquée pour chacune de ces préparations. La méthode réduite d'analyse par GC-MS (partie 2.6.3) est utilisée pour la séparation et la détection des CO-HAPS. Cinq essais, depuis le broyage jusqu'à l'analyse, sont réalisés sur une même journée.

Pour chaque CO-HAP et à l'issue de chaque analyse, un calcul d'aires relatives est effectué par rapport au pic de la 9-10-anthraquinone-d8 pris comme étalon interne global de la méthodologie. La répétabilité est évaluée grâce au coefficient de variation (%RSD) correspondant à l'écart-type d'une série de cinq mesures d'aire relative rapportées à la moyenne ($n=5$). La reproductibilité est évaluée grâce au coefficient de variation (%RSD) des moyennes de séries réalisées chaque jour. Cinq extraits différents de pomme par jour pendant 3 jours sont analysés ($n = 15$).

2.7.4. Détermination des limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ)

La sensibilité de la stratégie globale est évaluée au moyen du calcul de limites de détection (LOD, Rapport Signal/Bruit = 3) et de limites de quantification (LOQ, Rapport Signal/Bruit = 10). Une approche décrite dans le recueil international des méthodes d'analyse (Résolution Oeno 7/2000) est adoptée pour la détermination de ces limites. Cette approche permet de prendre en considération différents facteurs qui affectent le signal analytique tels que la sensibilité, les effets de matrice et les interférences. Les LOD et LOQ sont calculées en utilisant la gamme linéaire d'étalonnage réalisée pour les échantillons de pomme (analysés avec la méthode réduite, partie 2.6.3) et la gamme linéaire d'étalonnage réalisée pour les échantillons de salade (analysés avec la méthode optimisée de séparation des CO-HAPs et Nitro-HAPs, partie 2.6.2).

Les limites de détection et de quantification sont calculées en déterminant :

- 1- La hauteur du signal pour chaque point d'étalonnage (H) (0,5 ; 1 ; 2 ; 4 ; 6 ; 8 ; 10 µg/kg pour la pomme et 2 ; 4 ; 6 ; 8 ; 10 µg/kg pour la salade) est calculées.
- 2- Le facteur de réponse quantité/signal (**R**) correspondant à la pente de la régression linéaire de la concentration ajoutée en CO-HAPs en fonction de la hauteur du signal (H)
- 3- La hauteur moyenne du bruit de fond autour du pic d'intérêt (**h**) pour chaque point d'étalonnage est calculées.

Les limites de détection et de quantification méthodologiques sont données par les formules suivantes :

$$\text{LOD} = 3 \times R \times h$$

$$\text{LOQ} = 10 \times R \times h$$

2.7.5. Effet potentiel de la « matrice échantillon » sur l'étalonnage

L'existence d'un effet de la « matrice échantillon » sur l'étalonnage est relativement courant lors de l'analyse d'échantillons de fruits et légumes (Dong et al., 2019). En effet, les interférents de la matrice sont en compétition avec les composés analysés ce qui induit soit une diminution, soit une augmentation de signal, conduisant à des résultats inexacts. Cet effet est évalué pour dix échantillons végétaux : quatre fruits (tomates, poires, pommes et mûres), cinq légumes (salades de type laitue,

haricots verts, pommes de terre, concombres, courgettes) et de l'herbe. Trois CO-HAPs (le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone) sont testés ; ils sont ajoutés aux broyats de chaque végétal à trois niveaux de concentration à savoir 0 µg/kg, 1 µg/kg et 4 µg/kg.

Les broyats d'échantillons végétaux (10g) sont additionnés de 100 µL de solution d'étalon interne (9,10-anthraquinone-d8) à 1 mg/L. Des ajouts équivalents à 0 µg/kg (avec 100 µL d'acétonitrile), 1 µg/kg (avec 100 µL de la solution 6CO-HAPs 3) et à 4 µg/kg (avec 40 µL de la solution 6CO-HAPs 2 et 60 µL d'acétonitrile) sont ensuite réalisés. Chaque ajout pour chaque végétal est réalisé trois fois (triplicats). La procédure finale d'extraction et de purification (QuEChERS-SPE, partie 2.5) est appliquée pour chacune de ces préparations. La méthode réduite d'analyse par GC-MS (partie 2.6.3) est utilisée pour la séparation et la détection des CO-HAPs.

Des aires relatives pour chaque CO-HAPs sont calculées au moyen de l'aire de leurs pics correspondants et de l'aire du pic de l'étalon interne (9,10-anthraquinone-d8). Une droite d'étalonnage pour chaque CO-HAP (Aire relative = f (concentration ajoutée à l'échantillon)) est réalisée en trois points d'ajouts aux échantillons (0, 1 et 4 µg/kg) pour chaque échantillon végétal. Chaque point d'ajout est la moyenne de 3 essais (triplicats pour 0, 1 et 4 µg/kg).

L'effet potentiel lié à la « matrice échantillon » est évalué par rapport à la moyenne des pentes obtenues pour les droites d'étalonnage des dix échantillons végétaux (Figure 38). La limite d'acceptabilité d'un effet lié à la matrice (effet sur la pente) est fixée à 10% par rapport à la moyenne des pentes (P_{moy}) au moyen d'une limite inférieure (Li) et d'une limite supérieure (Ls).

Avec :

$$Li = \text{moyenne des pentes} \times (1 - 0,1)$$

$$P_{\text{moy}} = \text{moyenne des 10 pentes}$$

$$Ls = \text{moyenne des pentes} \times (1 + 0,1)$$

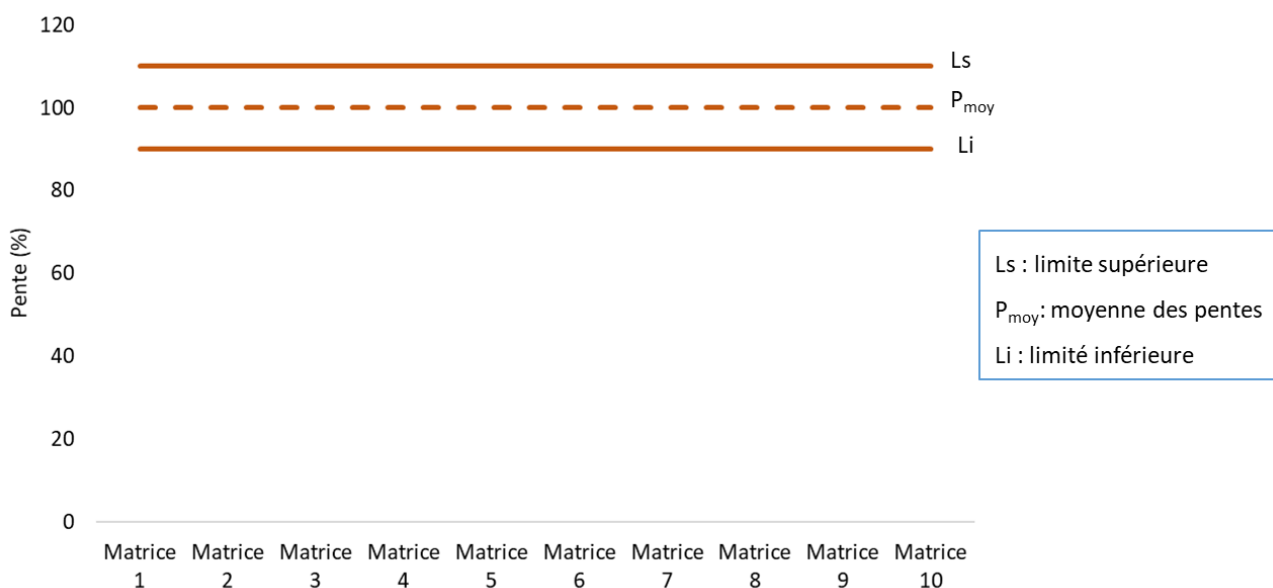


Figure 38 : Schéma d'évaluation de l'effet lié à la « matrice échantillon » présentant les limites d'acceptabilité des pentes obtenues

2.7.6. Quantification des CO-HAPs dans les échantillons végétaux

Les extraits des échantillons végétaux sont analysés avec la méthode d'analyse des CO-HAPs et Nitro-HAPs (partie 2.6.2). La qualité de chaque analyse est vérifiée par intégration du pic de la 9-fluorénone-d8 (étalon interne d'analyse).

Les concentrations en CO-HAPs présents dans les échantillons végétaux issus de jardins potagers urbains (partie 2.1.2) ou exposés à des fumées de combustion (partie 2.2) sont déterminées au moyen des droites d'étalonnage établies pour la salade (partie 2.7.2). Les aires relatives utilisées pour la quantification sont calculées pour chaque CO-HAP en divisant l'aire du pic de chaque CO-HAP par l'aire du pic de la 9,10-anthraquinone-d8 (étalon interne de la méthodologie globale). La concentration pour chaque CO-HAPs est calculée en divisant l'aire relative par la pente de la droite d'étalonnage du CO-HAPs correspondant.

Chapitre 3. Développement de la stratégie analytique

3.1. Stratégie de quantification des CO-HAPs dans les végétaux

Le premier objectif de ce travail de thèse est de développer une stratégie d'analyse des CO-HAPs présents dans les fruits et légumes. Pour cela, les différentes étapes de la stratégie d'analyse sont optimisées, à savoir l'extraction, la purification, la concentration des extraits et enfin l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).

Pour l'analyse instrumentale, les paramètres de la méthode de séparation en GC-MS sont tout d'abord optimisés (partie 3.2.1). Ensuite, une stratégie basée sur la complémentarité de deux outils est appliquée. Celle-ci consiste en l'utilisation dans un premier temps de la GC-MS à trappe ionique (en mode full scan) pour l'identification des CO-HAPs. Dans un second temps, la GC-MS à quadripôle (en mode SIM) est utilisée pour la quantification des CO-HAPs dans les échantillons de fruits et légumes.

Pour la préparation d'échantillons, une méthodologie d'extraction QuEChERS est optimisée en utilisant le modèle de la pomme (partie 3.3). Ensuite, la purification des extraits QuEChERS est évaluée pour trois techniques de purification : la dSPE, la MEPS et la SPE (partie 3.4).

La stratégie globale la plus adaptée utilise la 9,10-anthraquinone-d8 comme étalon interne d'extraction pour réduire la variabilité de la procédure d'extraction et la 9-fluorénone-d8 comme étalon interne d'analyse pour vérifier la variabilité d'injection. Elle est ensuite validée sur onze matrices végétales (partie 3.5.2). Les résultats de la validation de la méthodologie (répétabilité, reproductibilité, linéarité de l'étalonnage, sensibilité, absence d'effet de matrice) sont présentés en partie 3.5.

La méthodologie d'analyse ainsi validée est appliquée à la détermination du contenu en CO-HAPs dans des fruits et légumes de jardins potagers urbains en Normandie (partie 4.1). Des sources en CO-HAPs susceptibles d'être à l'origine de la contamination des fruits et légumes dans les jardins urbains sont étudiées. Des expositions d'échantillons végétaux à des émissions de combustion de biomasse, de fumée d'une chaudière au fioul et de gaz d'échappement d'un moteur diesel sont réalisées (partie 4.2).

3.2. Séparation et détection des CO-HAPs par GC-MS

Le but de cette partie est le développement d'une méthode de séparation et de détection des CO-HAPs contenus dans les fruits et légumes. La chromatographie en phase liquide (LC) et la chromatographie en phase gazeuse (GC) sont les deux techniques séparatives les plus utilisées pour l'analyse des CO-HAPs à l'état de traces dans des échantillons environnementaux et alimentaires (partie 1.3.4). Cependant la chromatographie en phase gazeuse est la méthode de chromatographie la plus fréquemment utilisée parce que, d'une part, elle est la mieux adaptée aux composés volatils comme les CO-HAPs et, d'autre part, elle propose les résolutions (séparation) les plus importantes dans le cas d'échantillons complexes. De plus, couplée à la spectrométrie de masse (MS), elle permet d'obtenir de très bonnes sélectivités. Il est cependant nécessaire dans un premier temps d'optimiser les paramètres de séparation (type de phase stationnaire, programme de température, débit du gaz vecteur, température d'injection) et de détection (gamme de masse, isolement d'ions) utilisés par GC-MS.

Le développement de la méthode d'analyse est effectué grâce à des injections directes de CO-HAPs en solution à 1 mg/L dans l'acétonitrile et présents dans une solution plus complexe fournie par l'INERIS et contenant 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés (Tableau 17). Deux appareils de GC-MS sont utilisés pour ce développement. Tout d'abord, un GC-MS équipé d'une trappe à ions permettant de réaliser des analyses aussi bien en mode Ionisation Electronique (EI-MS) qu'en mode Ionisation Chimique (CI-MS) ; cet appareil est utilisé depuis une vingtaine d'années et possède ainsi une banque de données pour l'identification très fournie (Ledauphin et al. 2004, 2006, 2010; Haider et al. 2014). Dans le cadre de cette étude, il est utilisé pour l'optimisation de la séparation et l'identification des analytes. Le deuxième appareil est un GC-MS équipé d'un simple quadripôle ; plus récent, il permet des analyses en mode isolement d'ions (SIM) avec des zones de linéarité plus étendues pour la quantification.

Deux méthodes d'analyse sont développées au cours de ce travail :

- une méthode longue pour une séparation optimale de 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés dont 29 CO-HAPs. Cette méthode sera appliquée par la suite pour la quantification des CO-HAPs dans les échantillons végétaux,

- une méthode réduite au niveau du temps d'analyse et permettant un gain de temps appréciable dans le cas de l'évaluation des meilleures conditions d'extraction et de purification des échantillons.

3.2.1. Développement de la méthode de séparation des CO-HAPs en GC-MS

Afin d'aboutir aux meilleures conditions de séparation des CO-HAPs par GC-MS, les critères de choix de la phase stationnaire (partie 3.2.1.1), du programme de température du four (partie 3.2.1.2), du débit de gaz vecteur (partie 3.2.1.3) et de la température d'injection (partie 3.2.1.4) ont été évalués. Ces tests sont menés au moyen de l'appareil de GC-MS de type « Trappe à Ions ».

3.2.1.1. Choix de la phase stationnaire

Du fait du caractère plutôt hydrophobe des CO-HAPs, les phases stationnaires utilisées pour la séparation des CO-HAPs par GC sont principalement apolaires. La colonne la plus fréquemment utilisée pour la séparation des CO-HAPs est de type DB-5MS ou équivalent et possède une phase stationnaire composée de 5%-phényl 95%-diméthylarylènesiloxane (Alam et al. 2015; Keyte et al. 2016). Afin de séparer les 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés, une colonne ZB-5MS équivalente à la DB-5MS a été utilisée pour réaliser le développement chromatographique. Elles sont de même nature chimique et diffèrent seulement par le fournisseur qui les commercialise. Cette phase stationnaire a un double avantage vis-à-vis de la séparation des CO-HAPs :

- elle est stable jusqu'à des températures avoisinant les 325/350°C, ce qui peut permettre d'éluer les analytes les plus lourds notamment ceux dont le nombre de cycles aromatiques est assez élevé (≥ 3),
- elle est constituée elle-même de groupements aromatiques situés en surface (groupements phényle) et dans le cœur du polymère la constituant (groupements arylène) ce qui engendre une rétention forte par interaction π - π de l'ensemble des composés aromatiques tels que les CO-HAPs.

Cette phase stationnaire est aussi reconnue pour son relargage faible (« low bleed ») et sa robustesse au cours du temps permettant ainsi d'obtenir un bruit de fond relativement peu important dans le

cadre de futures analyses où des composés à l'état de traces sont recherchés. Le choix s'est donc directement porté sur ce type de phase stationnaire à l'exclusion de toute autre.

3.2.1.2. Optimisation du programme de température

La séparation des CO-HAPs est évaluée grâce à l'injection directe d'un mélange de 64 hydrocarbures aromatiques polycycliques oxygénés et nitrés à une concentration de 1 mg/L chacun préparé dans l'acétonitrile (Tableau 17). Ce mélange, fourni par l'INERIS, est identique à celui utilisé par Albinet *et al.* (Albinet, 2014). Dans un premier temps, le même programme de température du four du chromatographe (Tableau 22) est testé.

Tableau 22 : Programme de température du four de la GC développé par Albinet *et al.*

Vitesse (°C/min)	Température (°C)	Maintien (min)
	70	5
45	190	-
5	320	5

L'utilisation de ce programme a résulté en une séparation moyenne des composés conduisant à de nombreuses coélutions et au repérage d'uniquement 10 CO-HAPs sur les 32 CO-HAPs. Afin d'améliorer la séparation, le programme de température est optimisé après de nombreux essais.

La température initiale de la colonne est modifiée de 70°C à 90 °C afin d'éluer plus rapidement le solvant (acétonitrile). Un palier de température est ajouté à 230°C pour améliorer la résolution de plusieurs pics. Enfin, la température finale est fixée à 310°C au lieu de 320°C afin d'accroître la durée de vie de la colonne (Tableau 23).

Tableau 23 : Programme de température optimisé pour la séparation des 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés

Vitesse (°C/min)	Température (°C)	Maintien (min)
-	90	5
45	190	-
5	230	6
5	310	5

Dans ces conditions, 55 composés sur les 64 présents dans la solution testée sont totalement repérables (28 CO-HAPs, 24 Nitro-HAPs et 3 CO-HAMs). Parmi les 29 CO-HAPs, seule l'anthrone n'a pu être détectée. Les 55 composés sont séparés en environ 50 minutes (Figure 39) soit une douzaine de minutes de plus que lors des travaux d'Albinet *et al.* (Albinet, 2014).

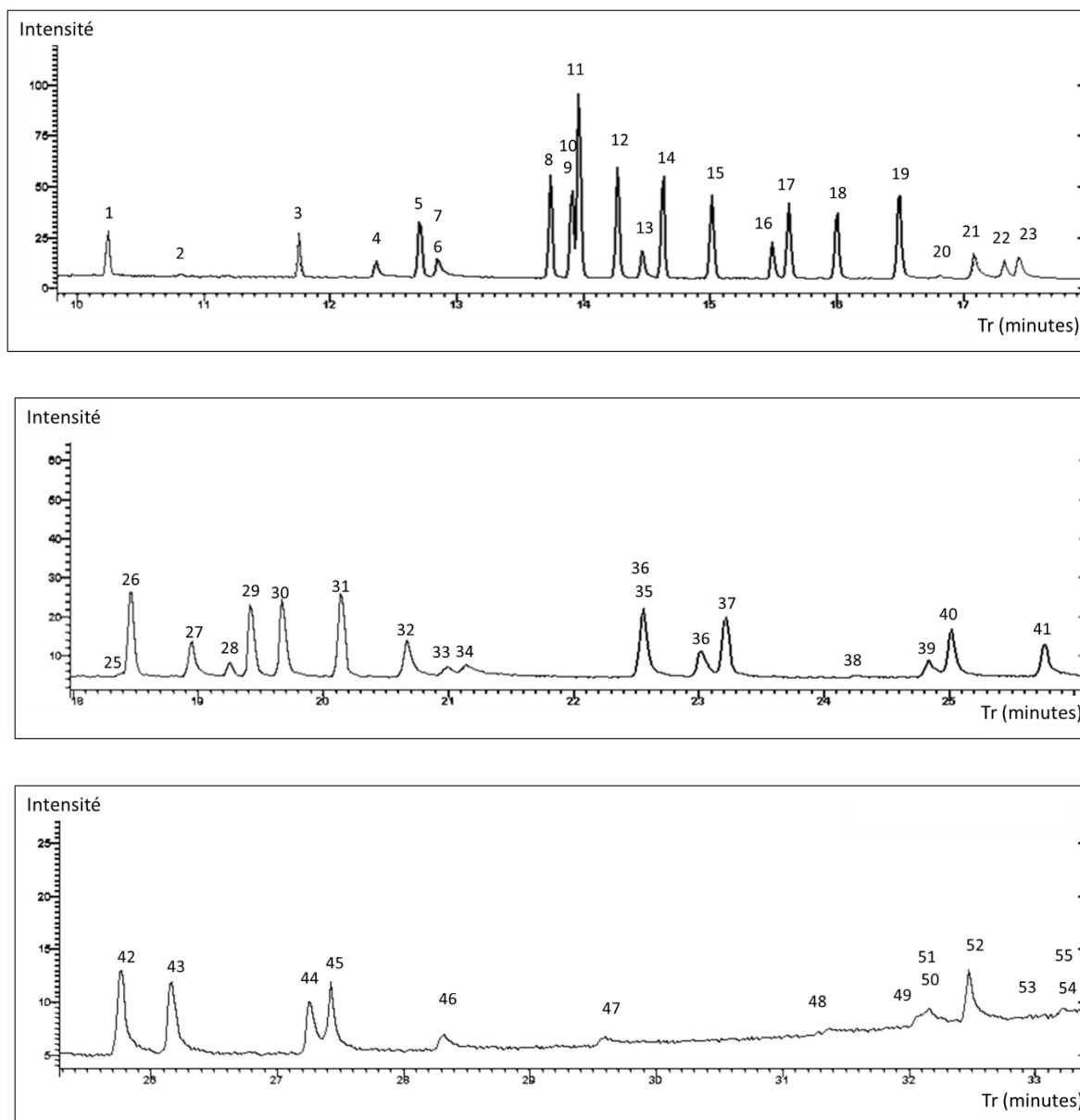


Figure 39 : Chromatogramme obtenu en GC-MS pour l'analyse de la solution contenant 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés à 1 mg/L dans l'acétonitrile au moyen du programme de température optimisé

Pour l'identification des composés, voir le Tableau 24.

Cependant, ces conditions optimisées de séparation (colonne ZB-5MS) et de détection (GC-MS) ne permettent pas de différencier les isomères de la benzofluorénone (benzo[a]fluorénone et benzo[b]fluorénone) qui possèdent un spectre de masse très proche.

3.2.1.3. Débit du gaz vecteur

Plusieurs débits de gaz vecteur sont testés afin de gagner en temps d'analyse tout en n'affectant pas la qualité de séparation. Un débit de 1,5 mL/min permet de gagner 1 à 2 minutes en temps d'analyse sans changer particulièrement la séparation chromatographique des pics (Figure 40).

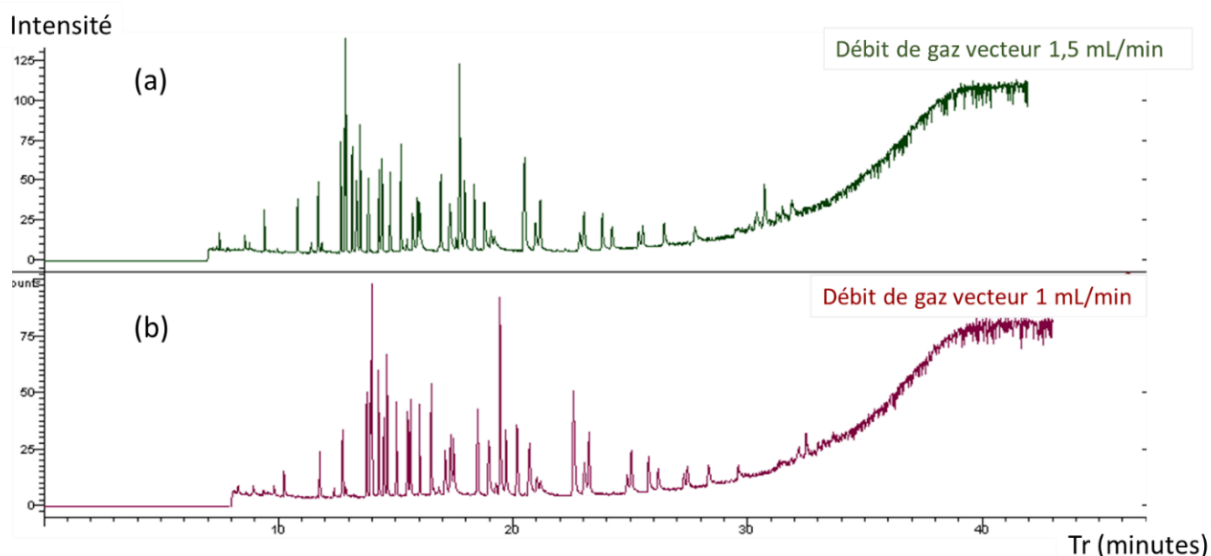


Figure 40 : Chromatogrammes obtenus par GC-MS pour la solution contenant 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés au moyen de débits du gaz vecteur de 1,5 mL/min (a) et de 1 mL/min (b)

Programme de température optimisé ; détection en ionisation électronique en mode « full scan »

3.2.1.4. Température d'injection

Les CO-HAPs ciblés dans cette étude correspondent à un ensemble de composés possédant des caractéristiques de volatilité très différentes. Le choix de la température d'injection doit représenter un compromis entre (i) une température suffisamment élevée pour permettre la vaporisation des composés les plus lourds et (ii) une température relativement peu élevée pour éviter une dégradation des CO-HAPs et Nitro-HAPs qui sont reconnus pour être thermosensibles. L'effet de la température d'injection (Figure 41) a été étudié par Albinet *et al.* (Albinet, 2014) pour des valeurs comprises entre 110 et 280 °C.

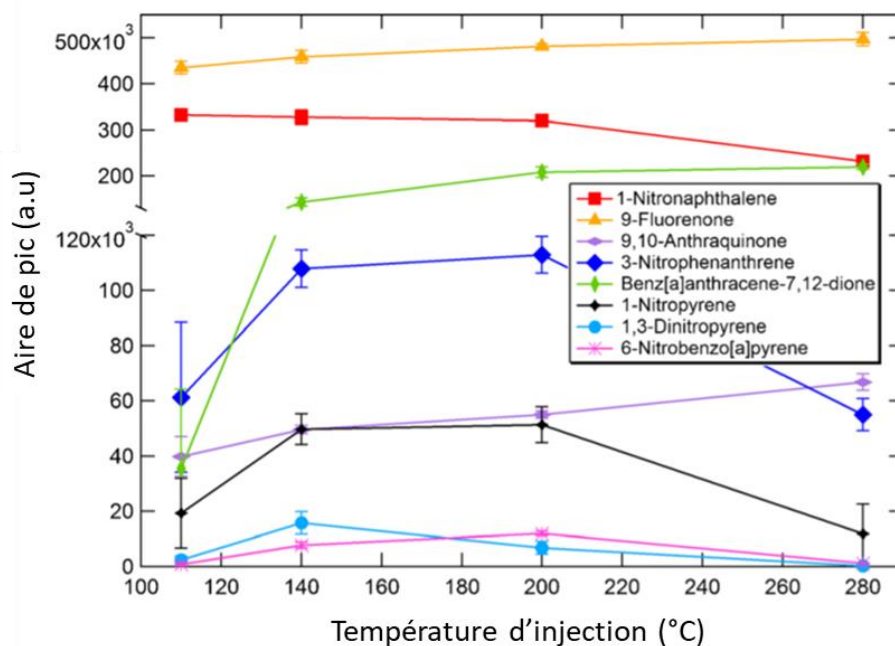


Figure 41 : Effet de la température d'injection sur la réponse chromatographique des Nitro-HAPs et CO-HAPs sélectionnés. *Figure issue des travaux d'Albinet et al. (Albinet, 2014)*

Solution étalon à 500 µg /L, 1 µL injecté (n=3). Mode d'injection en pression pulsée à 30 psi. Acquisition en mode « full scan » et détermination de la réponse sur la base de la surface des pics

Selon les résultats obtenus par Albinet *et al.* (Albinet, 2014), la réponse des CO-HAPs et Nitro-HAPs est assez similaire pour des températures d'injection comprises entre 140 °C et 200 °C (Figure 41) excepté pour les isomères du dinitropyrène. Les auteurs ont ainsi choisi une température d'injection de 140 °C pour obtenir une plus grande sensibilité pour les isomères de dinitropyrène et pour prévenir toute thermodégradation des CO-HAPs ou Nitro-HAPs (Albinet *et al.*, 2014).

Dans le cas de notre étude, un comparatif est réalisé pour des températures d'injection de l'injecteur split/splitless de 140°C et 180°C (Figure 42).

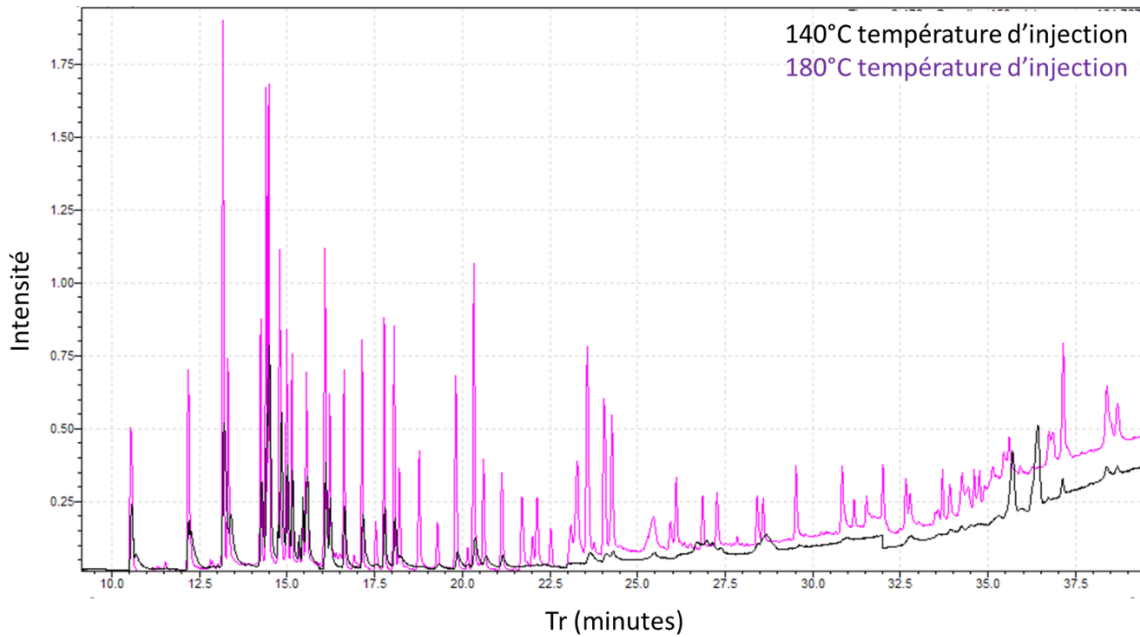


Figure 42 : Chromatogrammes GC-MS superposés du mélange contenant 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés pour des températures d'injection de 140°C (en noir) et 180°C (en rose)

Conditions d'analyse en partie 2.6.2.

L'utilisation d'une température d'injection de 140°C conduit à l'obtention d'une réponse peu adéquate pour l'ensemble des CO-HAPs avec notamment une réponse quasi-nulle (Figure 42) pour les composés les plus lourds. Dans cette condition, les composés ne sont donc pas suffisamment vaporisés dans l'injecteur pour être entraînés par la suite vers la colonne chromatographique. Pour une température d'injection de 180°C, la sensibilité est bien meilleure car les composés les plus lourds sont discernables du bruit de fond (Figure 42). Cette température d'injection de 180°C en mode splitless a ainsi été sélectionnée par la suite pour réaliser l'ensemble des essais.

3.2.2. Identification des CO-HAPs par GC-MS

La solution contenant 64 hydrocarbures aromatiques oxygénés et nitrés, dont l'identité des composés présents a été donnée par l'INERIS, est utilisée pour l'identification et le repérage futur des CO-HAPs présents dans les extraits d'échantillons. L'attribution des identités de composés est menée au moyen de la méthode d'analyse de GC-MS optimisée avec une acquisition en mode « full scan ». Les analyses sont réalisées à la fois en mode Ionisation Electronique (EI) et pour confirmation en mode Ionisation Chimique (CI) au moyen d'un appareil de GC-MS équipé d'une trappe à ions.

3.2.2.1. Analyse en mode ionisation électronique

L'analyse en mode Ionisation Electronique permet d'obtenir des fragments caractéristiques de la structure de chaque composé. Pour ce mode d'ionisation, les CO-HAPs présentent généralement un ion moléculaire ($M^{+\bullet}$) relativement abondant susceptible d'être isolé par la suite dans le cas d'une quantification. Ils présentent aussi quelques fragments de masse utilisables comme ions de confirmation. Pour exemple, le spectre en mode ionisation électronique de la 9-fluorénone (Figure 43) possède un ion moléculaire de rapport $m/z = 180$ (pic de base) ainsi qu'un ion fragment de rapport $m/z = 152$ (50% du pic de base) pouvant être utilisé pour confirmer sa présence lors de l'analyse d'échantillons inconnus.

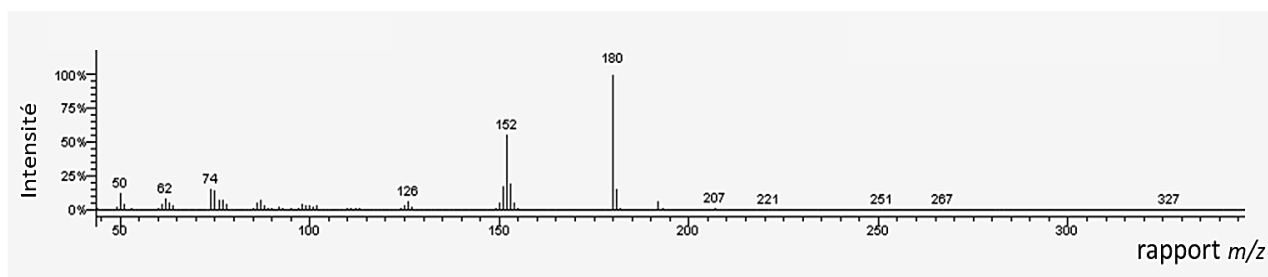


Figure 43 : Spectre de masse de la 9-fluorénone en mode ionisation électronique

En mode ionisation électronique, les spectres de masse sont reproductibles du fait que les électrons permettant l'ionisation ont tous la même énergie (70 eV) lors de l'analyse. Une recherche systématique des composés présents dans la solution standard a pu être opérée grâce à ce mode d'ionisation afin de créer une base de données (Tableau 24) regroupant pour chaque composé le temps de rétention, les masses molaires, les rapports m/z caractéristiques en mode ionisation électronique et en mode ionisation chimique (voir partie suivante).

3.2.2.2. Analyse en mode ionisation chimique

Dans l'optique de pouvoir confirmer l'identité de chaque CO-HAPs, le mode ionisation chimique est utilisé. Au cours de ce travail, l'ionisation chimique est effectuée en mode positif (PCI) au moyen de la GC-MS de type trappe à ions par utilisation d'acétonitrile comme liquide réactant. Ce mode d'ionisation est doux comparé à l'ionisation électronique et permet de favoriser la sensibilité d'analyse en diminuant la fragmentation dans la source du spectromètre de masse. Un ion moléculaire protoné (MH^+) représentant la quasi-totalité du spectre est obtenu comme en témoigne la Figure 44 (spectre de masse de la 9-fluorénone en mode ionisation chimique).

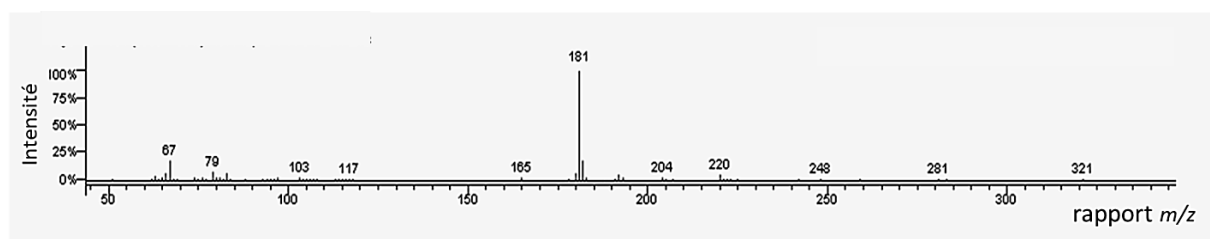


Figure 44 : Spectre de masse de la 9-fluorénone en mode ionisation chimique (liquide réactant : acétonitrile)

L'ensemble des informations spectrales obtenues au moyen de ce mode, grâce à l'analyse de la solution standard, est consigné dans le Tableau 24.

Tableau 24 : Temps de rétention (t_R) et rapports m/z caractéristiques obtenus en modes ionisation électronique (EI) et ionisation chimique (CI) pour la solution contenant 64 composés aromatiques oxygénés et nitrés

t_R (min)	MM (g/mol)	Composé	Ions caractéristiques en EI			Ions caractéristiques en CI	
9,41	134	phthaldialdéhyde	105 (100 %)	77 (60 %)	134 (25 %)	135 (100 %)	
9,95	148	anhydride phthalique	104 (100 %)	76 (75 %)	50 (45 %)	149 (100 %)	
10,83	158	1,4-naphtoquinone	158 (100 %)	102 (50 %)	130 (50 %)	159 (100 %)	
11,70	156	1-naphtaldéhyde	156 (100 %)			157 (100 %)	
11,85	160	2-formyl-(<i>E</i>)-cinnamaldéhyde	131 (100 %)	103 (50 %)	77 (50 %)	161 (100 %)	
12,66	173	1-nitronaphtalène	173 (100 %)	115 (90 %)	127 (70 %)	174 (100 %)	157 (35 %)
12,66	158	1,2-naphtoquinone	102 (100 %)	130 (100 %)	159 (100 %)		
12,82	182	benzophénone	105 (100 %)	182 (65 %)	183 (100 %)		
12,87	187	2-méthyl-1-nitronaphtalène	115 (100 %)	187 (90 %)	188 (100 %)		
12,87	187	1-méthyl-5-nitronaphtalène	115 (100 %)	187 (90 %)	188 (100 %)		
13,15	173	2-nitronaphtalène	173 (100 %)	127 (65 %)	115 (50%)	174 (100 %)	
13,33	168	1-acénaphténone	168 (100 %)	140 (65 %)	169 (100 %)		
13,50	199	2-nitrobiphényl	171 (100 %)	115 (80 %)	152 (50%)	200 (100 %)	
13,84	187	2-méthyl-4-nitronaphtalène	115 (100 %)	187 (90 %)	128 (50%)	188 (100 %)	171 (50%)
14,29	180	9-fluorénone	180 (100 %)	152 (50 %)	181 (100 %)		
14,42	187	1-méthyl-4-nitronaphtalène	187 (100 %)	115 (75 %)	128 (50 %)	188 (100 %)	171 (30%)
14,77	187	1-méthyl-6-nitronaphtalène	187 (100 %)	115 (40 %)	141 (30 %)	188 (100 %)	171 (30%)

Chapitre 3. Développement de la stratégie analytique

15,21	199	3-nitrobiphényle	199 (100 %)	152 (30 %)		200 (100 %)	183 (35 %)
15,49	198	anhydride 1,2-naphtalique	154 (100 %)	198 (95 %)	126 (80 %)	199 (100 %)	
15,73	210	2,2'-biphényldicarboxaldéhyde	181 (100 %)	152 (30 %)		183 (100 %)	211 (50 %) 165 (55 %)
15,92	196	xanthone	196 (100 %)	168 (50 %)	139 (30 %)	197 (100 %)	
16,01	182	acénaphthènequinone	154 (100 %)	126 (75 %)	182 (75 %)	183 (100%)	
16,84	198	anhydride 2,3-naphtalique	126 (100 %)	154 (95 %)	198 (90 %)	199 (100 %)	
16,92	218	1,5-dinitronaphtalène	218 (100 %)	114 (45 %)		219 (100 %)	202 (40 %)
17,32	196	6H-dibenzo[bd]pyran-6-one	196 (100 %)	168 (50 %)	139 (35 %)	197 (100 %)	
17,72	208	9,10-anthraquinone	208 (100 %)	180 (60 %)	152 (30 %)	209 (100 %)	
17,95	213	3-nitrodibenzofurane	213 (100 %)	183 (50 %)	139 (40 %)	214 (100 %)	197 (35 %)
18,35	199	5-nitroacénaphthène	199 (100 %)	152 (45 %)	169 (35 %)	200 (100 %)	183 (40 %)
18,78	198	anhydride 1,8-naphtalique	154 (100 %)	198 (80 %)	126 (55 %)	199 (100 %)	
19,07	208	1,4-anthraquinone	208 (100 %)	152 (35 %)	126 (30 %)	209 (100 %)	
19,21	210	4,4'-biphényldicarboxaldéhyde	210 (100 %)	152 (30 %)		211 (100 %)	
20,49	222	2-méthylantraquinone	222 (100 %)	194 (50 %)	165 (50 %)	223 (100 %)	
20,54	211	2-nitrofluorène	211 (100 %)	194 (75 %)	165 (65 %)	212 (100 %)	
20,96	206	9-phénanthrèncarboxaldéhyde	206 (100 %)	178 (45 %)		207 (100 %)	
21,16	223	9-nitroanthracène	223 (100 %)	176 (25 %)	165 (25 %)	224 (100 %)	
22,23	208	9,10-phénanthrènequinone	180 (100 %)	152 (25 %)	208 (25 %)	209 (100 %)	
22,85	225	2-nitro-9-fluorénone	225 (100 %)	195 (35 %)	151 (35 %)	226 (100 %)	209 (35 %)
23,03	223	9-nitrophénanthrène	223 (100 %)	165 (45 %)	195 (35 %)	224 (100 %)	

Chapitre 3. Développement de la stratégie analytique

23,80	229	2-nitrodibenzothiophène	229 (100 %)	139 (35 %)	199 (35 %)	230 (100 %)
24,22	223	3-nitrophénanthrène	223 (100 %)	176 (25 %)	193 (25 %)	224 (100 %)
25,35	223	2-nitroanthracène	223 (100 %)	177 (45 %)		224 (100 %)
25,53	237	9-méthyl-10-nitroanthracène	237 (100 %)	207 (30 %)	178 (30 %)	238 (100 %)
26,44	230	benzo[a]fluorénone	230 (100 %)	101 (25 %)		231 (100 %)
26,44	230	benzo[b]fluorénone	230 (100 %)	101 (25 %)		231 (100 %)
27,75	230	benzanthrone	230 (100 %)	203 (25 %)		231 (100 %)
29,58	230	1-pyrèncarboxaldéhyde	230 (100 %)	203 (40 %)	101 (30 %)	231 (100 %)
30,07	232	acétylènequinone	232 (100 %)	192 (25 %)		233 (100 %)
30,34	247	2-nitrofluoranthène	247 (100 %)	201 (25 %)		248 (100 %)
30,40	247	3-nitrofluoranthène	247 (100 %)	189 (25 %)	201 (25 %)	248 (100 %)
30,72	247	4-nitropyrène	247 (100 %)	207 (50 %)	189 (25 %)	248 (100 %)
31,25	258	1,2-benzanthraquinone	258 (100 %)	230 (50 %)	201 (25 %)	259 (100 %)
31,49	247	1-nitropyrène	247 (100 %)	201 (30 %)	189 (25 %)	248 (100 %)
31,92	247	2-nitropyrène	247 (100 %)	201 (50 %)	189 (25 %)	248 (100 %)
32,40	258	1,4-chrysènequinone	258 (100 %)	230 (35 %)		259 (100 %)
32,40	258	5,6-chrysènequinone	258 (100 %)	230 (35 %)		259 (100 %)

3.2.2.3. Quantification et identification des CO-HAPs

Le repérage de chaque CO-HAP et Nitro-HAP (Tableau 24) a permis d'établir une liste de composés susceptibles de pouvoir être présents dans les échantillons végétaux. La sensibilité obtenue en mode « full scan » n'étant pas suffisante au regard des concentrations à rechercher, les rapports m/z obtenus en mode ionisation électronique sont isolés par la suite en mode SIM (isolement d'ions) au moyen d'un appareil de GC-MS de type quadripôle. Cet isolement est aussi possible par GC-MS de type trappe à ions mais conduit généralement à l'obtention de plages de linéarité plus restreintes lors de la quantification (Vorce et al 2000; Bowers et Borts 1997).

Toutes les analyses visant à intégrer ou quantifier les CO-HAPs et Nitro-HAPs sont réalisées par la suite en mode SIM au moyen d'un GC-MS de type quadripôle. Les composés y sont repérés grâce (i) à leur ion le plus abondant en mode ionisation électronique, (ii) aux ions fragments (ions de confirmation) aussi obtenu en mode ionisation électronique et (iii) à leur temps de rétention avec un écart $\pm 0,1$ min. Des analyses sont néanmoins régulièrement réalisées par GC-MS de type trappe à ions pour identifier/confirmer la présence de CO-HAPs dans des échantillons inconnus ou dopés grâce aux deux modes ionisation électronique (spectre complet) et ionisation chimique (repérage notamment de l'ion moléculaire protoné MH^+).

3.3. Extraction des CO-HAPs issus d'échantillons végétaux par méthodologie QuEChERS

L'analyse à l'état de traces des CO-HAPs dans les fruits et légumes soulève certaines difficultés car les fruits et légumes contiennent des composés présents en forte concentration tels que des polyphénols, des sucres, des acides organiques ou encore des pigments. La teneur en ces substances potentiellement interférentes dépend fortement du type de fruit ou de légume, et les échantillons très colorés (exemple : salade, carotte, mûre) sont considérées comme les matrices les plus difficiles à extraire. Ces composés, s'ils sont co-extraits, peuvent se déposer lors de l'analyse à l'entrée du chromatographe en phase gazeuse au niveau de l'injecteur ou de la colonne ce qui peut provoquer la formation de nouveaux sites actifs et entraîner une diminution du signal chromatographique (Cajka et al., 2012). Pour cette raison, il est nécessaire d'utiliser une méthode efficace de préparation d'échantillon avant analyse.

Il existe actuellement aucune étude sur l'analyse à l'état de traces des CO-HAPs dans les fruits et légumes. Parmi les méthodologies possibles d'extraction des CO-HAPs (voir partie 1.3.1) nous avons exclu l'utilisation du Soxhlet (partie 1.3.1.1) et de la PLE (partie 1.3.1.2) ; elles utilisent toutes deux, pour une extraction efficace des CO-HAPs, une température relativement élevée qui peut entraîner l'apparition de composés de dégradation issus de l'échantillon lui-même voire éventuellement une dégradation des CO-HAPs. L'application d'une extraction assistée par les ultra-sons (UAE, partie 1.3.1.3) ou par micro-ondes (MAE, partie 1.3.1.4) est envisageable ; cependant, ces deux méthodologies utilisées seules ne permettent pas d'éliminer une bonne partie de la matrice dans laquelle sont situés les CO-HAPs. Nous avons, par conséquent, opté pour l'utilisation de la méthodologie QuEChERS (partie 1.3.1.5). La méthodologie QuEChERS a l'avantage (i) d'avoir été déjà appliquée à l'extraction de résidus de pesticides dans les fruits et légumes (Concha-Meyer et al. 2019; Lehotay et al. 2011) et de permettre par conséquent d'éliminer une bonne partie de la matrice échantillon et (ii) d'être relativement simple et rapide à mettre en œuvre.

L'utilisation de la méthodologie QuEChERS nécessite une phase d'optimisation qui sera évaluée dans cette partie. Après avoir explicité le choix des CO-HAPs ciblés (partie 3.3.1), l'étude portera sur le choix du meilleur solvant d'extraction (partie 3.3.2) et du meilleur mélange de sels utilisable (partie 3.3.3). La Figure 45 résume les tests qui ont été réalisés à partir d'échantillons de pomme utilisés comme modèle végétal.

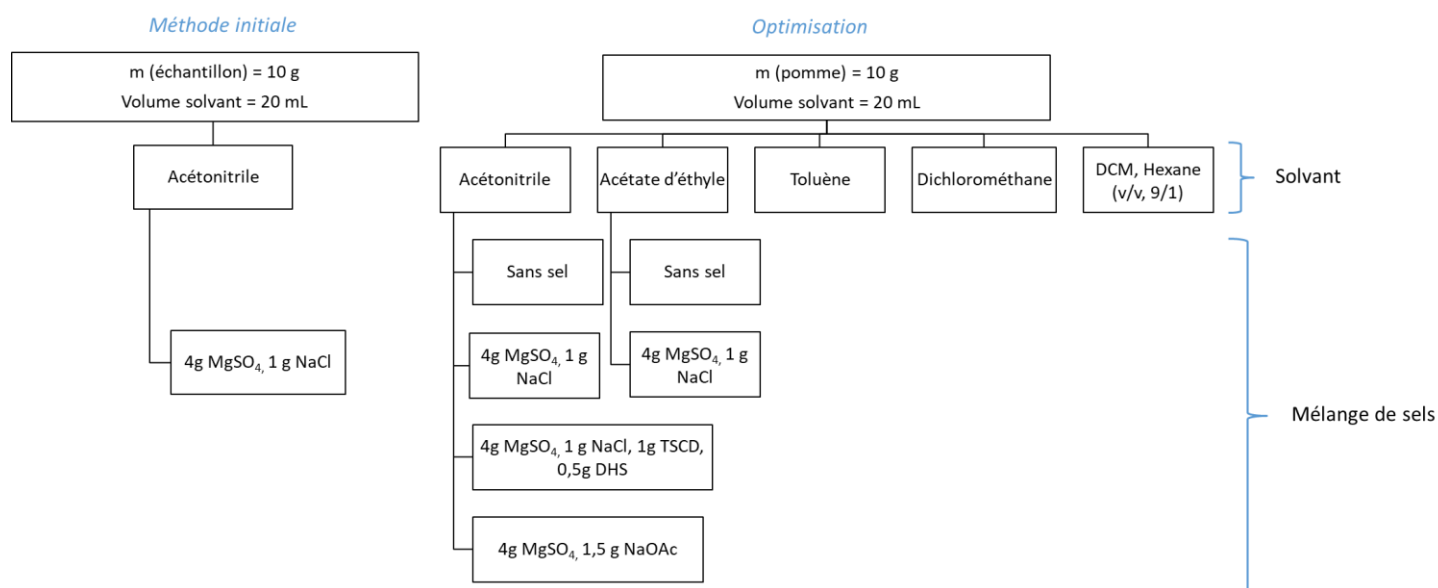


Figure 45 : Schéma synthétisant le protocole d'optimisation de la méthode QuEChERS pour l'extraction des CO-HAPs dans les fruits et légumes

3.3.1. Choix des 6 CO-HAPs

Six CO-HAPs (1,4-naphtoquinone, 1-naphtaldéhyde, 9-fluorénone, 9,10-antraquinone, anhydride 1,8-naphtalique, 1,2-benzanthraquinone) sont sélectionnés exclusivement pour l'optimisation de la méthode d'extraction. Ils représentent la diversité attendue des CO-HAPs dans les échantillons végétaux car ces molécules présentent :

- Une certaine abondance dans l'environnement ;
- Un nombre de cycles aromatiques différents (compris entre 2 et 4 cycles) ;
- Des fonctionnalités chimiques différentes (cétone, quinone, aldéhyde et anhydride).

Les extraits obtenus sont analysés grâce à une méthode d'analyse en GC-MS relativement courte et non optimisée (partie 2.6.3) et, afin de vérifier l'effet strict de l'extraction, des extraits non purifiés sont directement introduits en GC-MS. Ces conditions ont mené à ne sélectionner que les résultats obtenus pour 3 des 6 CO-HAPs à savoir le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-antraquinone. Selon les conditions testées, les résultats concernant la 1,4-naphtoquinone, l'anhydride 1,8-naphtalique et la 1,2-benzanthraquinone pouvaient être non exploitables en raison de co-élutions en GC-MS avec des composés issus de la matrice pomme utilisée comme modèle.

La comparaison des essais réalisés est effectuée sur la base des résultats obtenus pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone par évaluation de l'aire relative de leurs pics par rapport à celui de la 9-fluorénone-d8 utilisée comme étalon interne d'analyse en GC-MS.

3.3.2. Choix du solvant d'extraction

L'acétonitrile a été le premier solvant utilisé pour l'extraction QuEChERS de résidus de pesticides dans les fruits et légumes (Anastassiades et al. 2003). Il est évalué pour l'extraction des CO-HAPs en compagnie du toluène, du dichlorométhane, de l'acétate d'éthyle, et d'un mélange dichlorométhane/hexane (v/v, 9/1). Ces solvants ou mélange de solvants sont testés en raison de leurs caractéristiques différentes de polarité (Tableau 25).

Tableau 25 : Constante diélectrique des cinq solvants d'extraction testés

Solvant	Constante diélectrique ϵ à 20 °C *
Hexane	1,88
Toluène	2,38
Acétate d'éthyle	6,02
Dichlorométhane	8,93
Acétonitrile	37,5

*Données issues des propriétés de solvants établies par Riddick et Bunger (1970)

Selon les solvants testés la réponse chromatographique (aire relative) obtenue pour chaque CO-HAPs est assez différente (Figure 46).

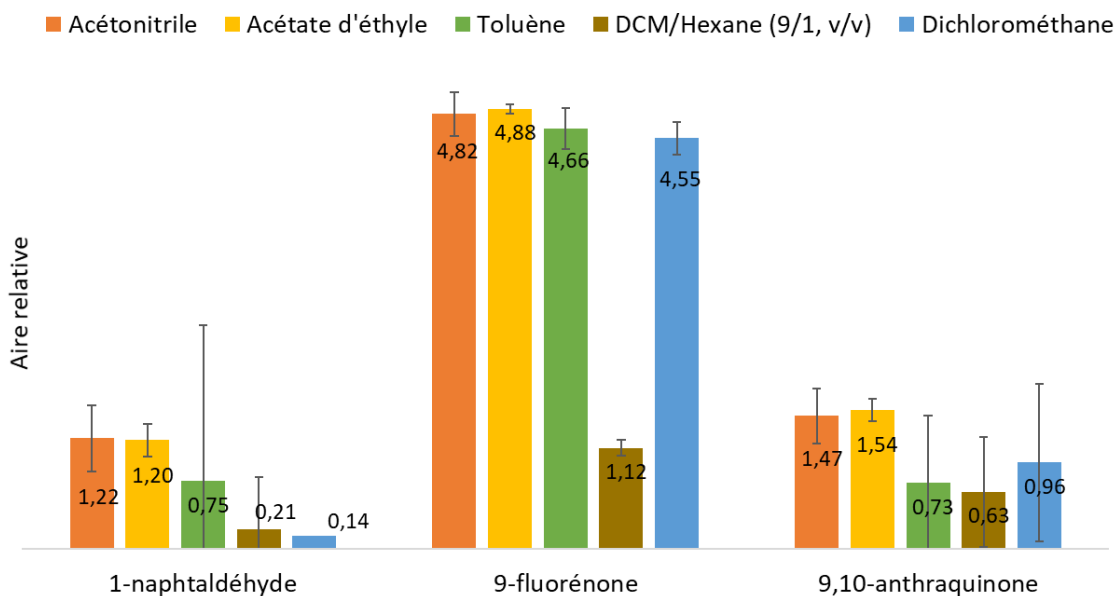


Figure 46 : Comparaison de la réponse obtenue pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-antraquinone en fonction du solvant d'extraction utilisé

1 μ L injecté (n=3) en splitless avec acquisition en mode « SIM ». L'aire relative correspond à l'intégration des pics des CO-HAPs ciblés et de la 9-fluorénone-d8 utilisée comme étalon interne d'analyse en GC-MS. Extraction réalisée sur un broyat de pomme dopé à 100 μ g/kg.

Le mélange dichlorométhane/hexane extrait moins bien tous les CO-HAPs sélectionnés (Figure 46). L'apport en hexane (10%) possédant des caractéristiques hydrophobes et une constante diélectrique faible ($\epsilon = 1,88$) nuit à une extraction efficiente des composés ciblés. Le toluène malgré sa structure chimique similaire en partie à celle des CO-HAPs (existence d'un groupement aromatique) permet une meilleure extraction que le mélange dichlorométhane/hexane cependant il extrait comparativement très peu un composé comme le 1-naphtaldéhyde (Figure 46). Globalement, les solvants possédant une constante diélectrique importante ont une tendance à mieux extraire les CO-HAPs issus des matrices végétales. Le dichlorométhane est exclu du choix de solvant car d'une part il extrait très peu le 1-naphtaldéhyde et d'autre part sa capacité à extraire la 9,10-antraquinone est très variable (Figure 46).

L'acétonitrile et l'acétate d'éthyle sont les deux solvants les plus adaptés pour l'extraction des CO-HAPs. L'acétonitrile et l'acétate d'éthyle sont parmi les solvants les plus utilisés pour une extraction QuEChERS. L'acétonitrile a été utilisé comme solvant d'extraction des CO-HAPs et Nitro-HAPs dans des particules d'air par la méthode QuEChERS (Abinet et al 2014). Il a aussi été utilisé comme solvant

d'extraction des Nitro-HAPs dans des échantillons de légumes et de riz (Deng et Chan 2017). L'acétate d'éthyle a été utilisée comme solvant d'extraction des CO-HAPs et HAPs dans des échantillons de silicone (O'Connell et al 2014). Les résultats obtenus pour ces deux solvants peuvent être considérés comme identiques. Dans un premier temps, l'acétonitrile a été choisi pour évaluer le mélange de sels le plus adéquat pour l'extraction des CO-HAPs (partie 3.3.3) et l'interaction entre le mélange de sel le plus adéquat et ces deux solvants est évaluée (partie 3.3.4).

3.3.3. Choix du mélange de sels

L'ajout de sels est particulièrement important dans le cas d'une méthode d'extraction QuEChERS si l'échantillon contient beaucoup d'eau (Cunha et al. 2013; Payá et al. 2007; Anastassiades et al. 2003), ce qui est le cas des matrices constituant les fruits et légumes ($\approx 90\%$ d'eau). Cet ajout de sels peut favoriser la séparation de la phase aqueuse (grande partie de l'échantillon) et la phase organique (le solvant d'extraction). Quatre modalités utilisant trois différents mélanges de sels destinés d'une part à améliorer l'extraction et d'autre part à éliminer les composés de la matrice sont comparées :

- sans ajout de sels,
- par ajout d'un mélange de sels sans tampon (sels 1 : 4 g MgSO_4 + 1 g NaCl),
- par ajout d'un mélange de sels qui implique l'utilisation d'un tampon citrate ($\text{pH} \approx 5 - 5,5$) selon la norme européenne EN 15662 (Afnor, 2009) (sels 2 : 4 g MgSO_4 + 1 g NaCl + 1 g citrate trisodique dihydraté (TSCD) + 0,5 g hydrogénocitrate disodique sesquihydraté (DHS)),
- par ajout d'un mélange de sels avec un tampon acétate ($\text{pH} = 6$) (sels 3 : 6 g MgSO_4 + 1,5 g NaOAc) selon la norme américaine AOAC 2007.01 (AOAC, 2007).

Les résultats sont présentés en Figure 47.

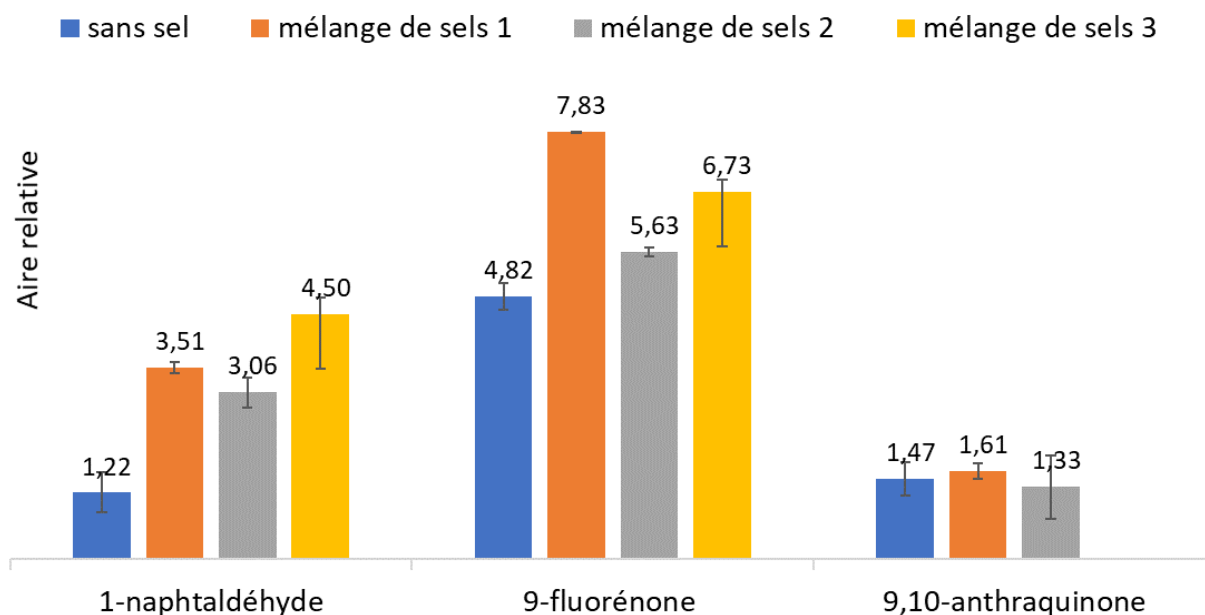


Figure 47 : Comparaison de la réponse obtenue pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-antraquinone en fonction de l'utilisation ou non d'un mélange de sels

1 μ L injecté (n=3) en splitless avec acquisition en mode « SIM ». L'aire relative correspond à l'intégration des pics des CO-HAPs ciblés et de la 9-fluorénone-d8 utilisée comme étalon interne d'analyse en GC-MS. Extraction QuEChERS réalisée au moyen d'acétonitrile sur un broyat de pomme dopé à 100 μ g/kg.

La réponse est meilleure avec le mélange de sels 3 contenant un tampon acétate pour la récupération du 1-naphtaldéhyde, par rapport aux mélanges de sels 1 et 2. D'un autre côté, l'utilisation du mélange de sels 3 a entraîné une récupération trop faible de la 9,10-antraquinone pour pouvoir la détecter. Un bénéfice important au niveau de la récupération de ces 3 CO-HAPs ciblés est obtenu en présence des sels par rapport à la modalité « sans sel ». L'ajout de sels permet ainsi un meilleur transfert des CO-HAPs vers le solvant organique. La présence de tampon citrate (présent exclusivement dans le mélange de sels 2) ne semble pas avoir d'influence sur les résultats obtenus car l'extraction des CO-HAPs est sensiblement la même dans le cas des mélanges de sels 1 et 2.

Globalement, l'utilisation du sulfate de magnésium semble permettre d'améliorer la récupération des CO-HAPs en phase organique. Le chlorure de sodium, pour sa part, semble pouvoir éviter la co-extraction de certains interférents matriciels (sucres) situés dans le broyat de pomme testé (Wilkowska et Biziuk 2011). Les rapports signal/bruit sont plus de deux fois plus élevés lors de l'addition du mélange de sels 1 par rapport à une non-addition de sel (Figure 48). Pour la 9,10-antraquinone le rapport signal

/bruit obtenu avec le mélange de sels 1 est trois fois plus élevé qu'avec le mélange de sels 2. Ces résultats confirment le choix de l'utilisation du mélange de sels 1 pour l'extraction des CO-HAPs.

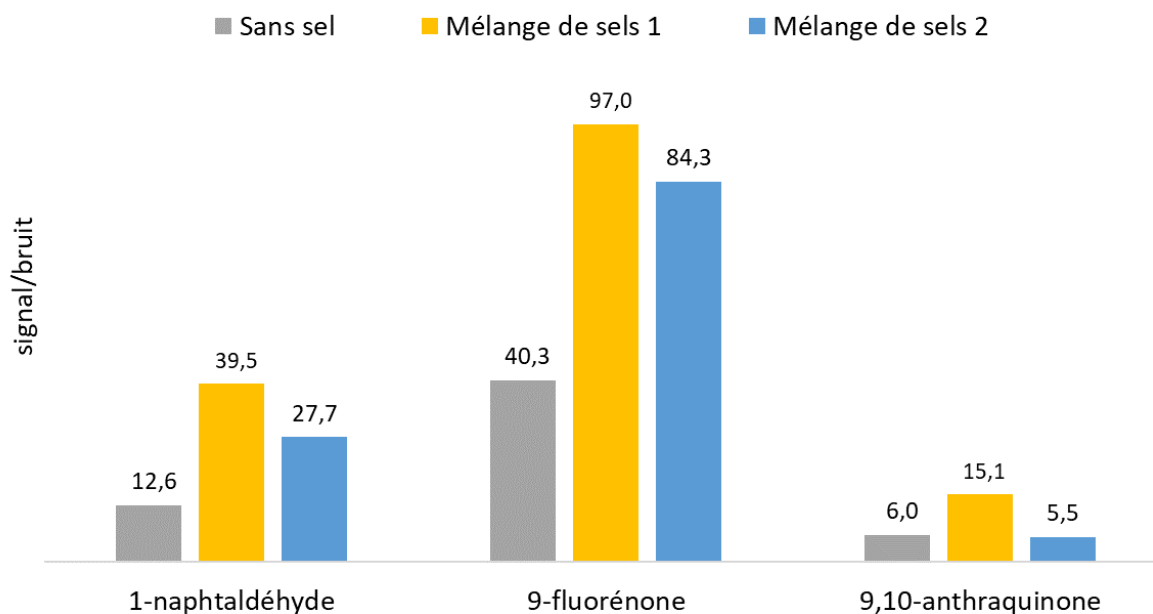


Figure 48 : Comparaison du rapport signal/bruit obtenu pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de l'utilisation ou non d'un mélange de sels

Conditions expérimentales identiques à la Figure 47

3.3.4. Comparaison entre l'acétonitrile et l'acétate d'éthyle

Les deux parties précédentes ont permis de démontrer (i) qu'en l'absence de sels, l'acétonitrile comme l'acétate d'éthyle ont des caractéristiques d'extraction des CO-HAPs très proches et, (ii) que l'ajout de 2 sels (sulfate de magnésium et chlorure de sodium) est utile afin d'améliorer le rendement de récupération des CO-HAPs. La combinaison du solvant (acétonitrile ou acétate d'éthyle) et du mélange de sels 1 est testée à présent.

En présence de sulfate de magnésium et de chlorure de sodium, la récupération des CO-HAPs au moyen d'acétonitrile et d'acétate d'éthyle est quasi-identique (Figure 49).

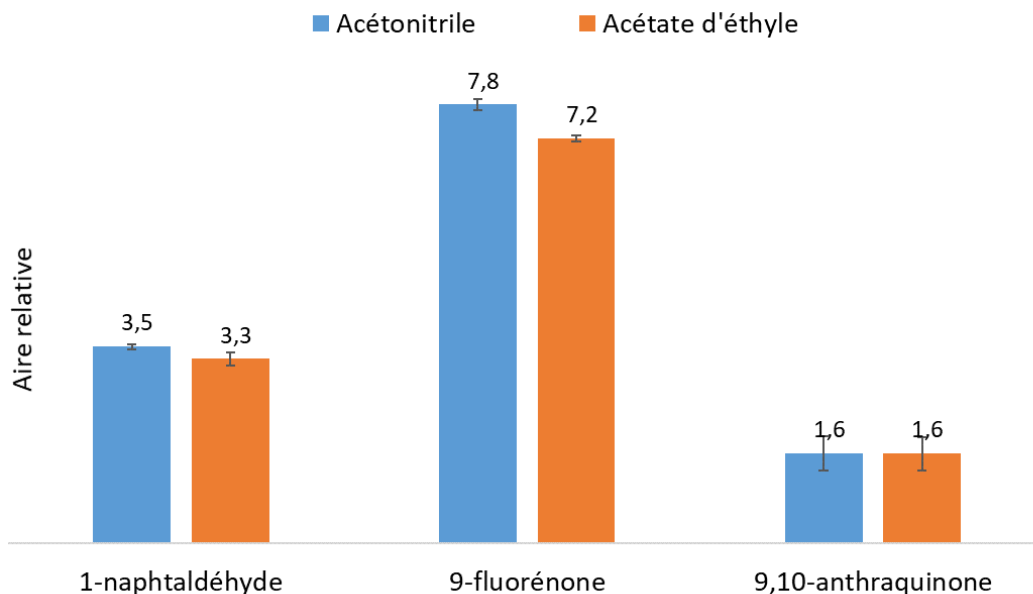


Figure 49 : Comparaison de la réponse obtenue pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de l'utilisation de l'acétonitrile ou de l'acétate d'éthyle

1 μ L injecté (n=3) en splitless avec acquisition en mode « SIM ». L'aire relative correspond à l'intégration des pics des CO-HAPs ciblés et de la 9-fluorénone-d8 utilisée comme étalon interne d'analyse en GC-MS. Extraction QuEChERS réalisée sur un broyat de pomme dopé à 100 μ g/kg avec l'utilisation de 4 g $MgSO_4$ et 1 g NaCl

Les rapports signal/bruit (Figure 50) obtenus lors des analyses des extraits sont par contre nettement en faveur de l'utilisation de l'acétate d'éthyle comme solvant d'extraction notamment dans le cas de la 9-fluorénone. Un plus faible rapport signal/bruit lors de l'analyse peut exprimer une plus faible co-extraction de composés non désirés issus de la matrice. Il est ainsi possible d'envisager à l'aide de l'acétate d'éthyle une meilleure sensibilité (limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ)) notamment pour le 1-naphtaldéhyde et la 9-fluorénone pour une future quantification.

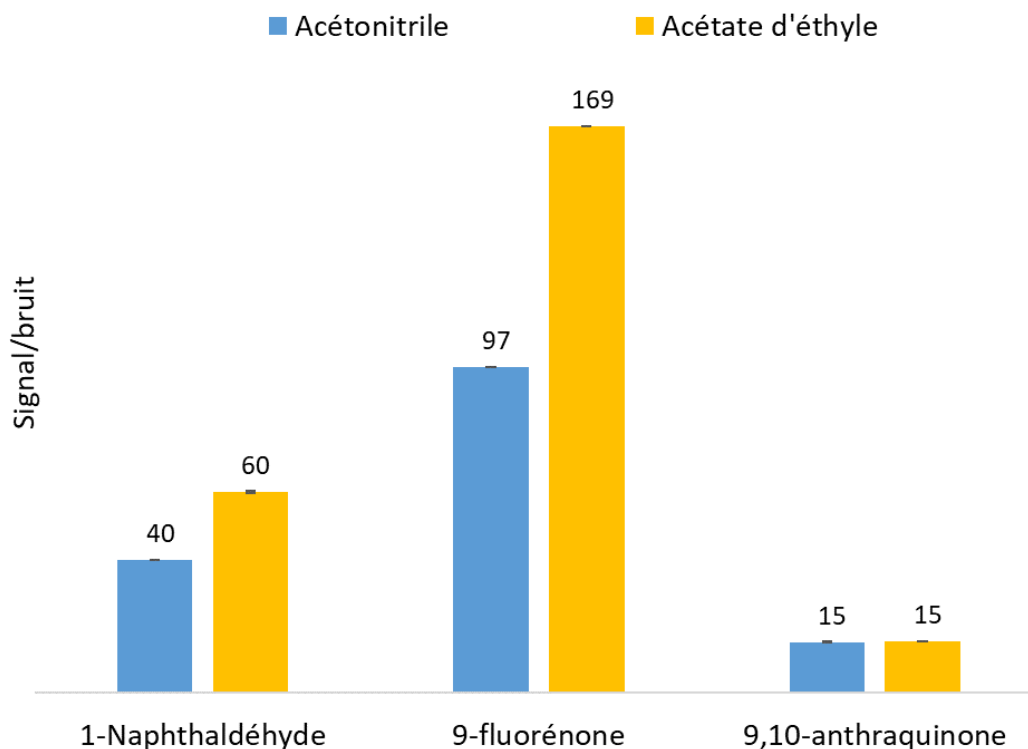


Figure 50 : Comparaison des rapports signal/bruit obtenus pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone par utilisation d'acétonitrile ou d'acétate d'éthyle avec ajout du mélange de sels 1

Conditions expérimentales identiques à la Figure 49

3.3.5. Procédure de concentration

La détermination des CO-HAPs à l'état de traces dans les échantillons nécessite une étape de concentration de l'extrait avant et/ou après l'étape de purification. Cette étape de concentration consiste en une évaporation du solvant d'extraction pour concentrer l'extrait en composés d'intérêt.

Deux techniques d'évaporation du solvant d'extraction sont testées :

- une concentration sous flux d'azote,
- une concentration sous vide au moyen d'un évaporateur de type SpeedVac™.

La concentration sous flux d'azote est la technique la plus utilisée pour l'évaporation de petits volumes de solvant. Cependant, dans le cadre de notre étude, la récupération des CO-HAPs est globalement plus satisfaisante (Figure 51) au moyen du système d'évaporation sous vide de type SpeedVac™. La

réponse (aire relative) est notamment plus de 2 fois plus importante dans le cas de la 9,10-anthraquinone. Ce système d'évaporation sous vide, qui permet de plus la concentration de plusieurs extraits en même temps, est choisi pour la suite de l'étude.

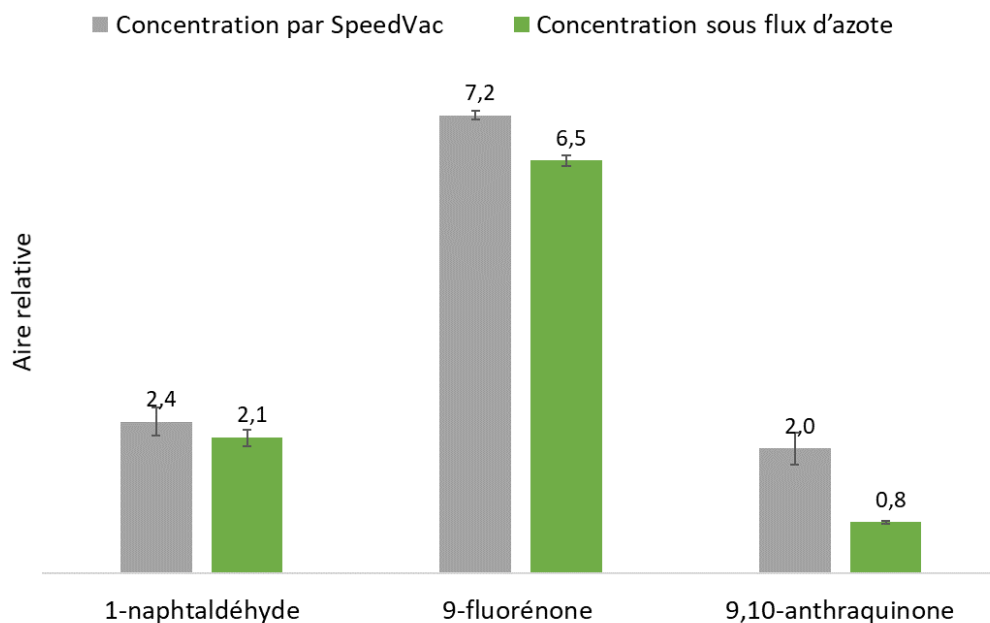


Figure 51 : Comparaison de la réponse obtenue pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de la procédure de concentration

1 μ L injecté (n=3) en splitless avec acquisition en mode « SIM ». L'aire relative correspond à l'intégration des pics des CO-HAPs ciblés et de la 9-fluorénone-d8 utilisée comme étalon interne d'analyse en GC-MS. Extraction QuEChERS réalisée sur un broyat de pomme dopé à 100 μ g/kg.

3.4. Purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs issus d'échantillons végétaux

L'extraction au moyen d'une méthodologie QuEChERS est relativement peu sélective. De nombreux composés non désirés sont possiblement co-extraits et peuvent affecter négativement les performances de la méthode d'analyse. En raison de la complexité des échantillons de fruits et légumes, une étape de purification est indispensable. L'étape de purification permet d'éliminer les composés interférents pour éviter les effets de matrice qui peuvent perturber le signal. Trois techniques de purification sont testées et évaluées sur la base d'extraits obtenus par la méthode QuEChERS :

- une extraction en phase solide dispersive (dSPE) (partie 3.4.1),
- une microextraction par solide compacté (MEPS) par comparaison de 3 supports solides (partie 3.4.2),
- une extraction en phase solide (SPE) au moyen de 4 phases solides différentes dont 2 polymères à empreinte moléculaire (partie 3.4.3).

3.4.1. Purification par dSPE

L'extraction dispersive en phase solide (dSPE) est largement utilisée comme méthode de purification suite à une extraction QuEChERS (Lawal et al. 2018; Ruiz-García et al. 2016; Lehotay 2011). Plus particulièrement, des extraits QuEChERS issus d'aliments et visant à caractériser certains composés aromatiques polycycliques comme des hydrocarbures (HAPs) ou des hydrocarbures nitrés (Nitro-HAPs) ont été purifiés au moyen de cette technique par Gonzalez-Curbelo *et al.* (González-Curbelo et al. 2015) et Deng *et Chan* (Deng et Chan 2017). Ces auteurs ont utilisé une diamine primaire et secondaire greffée sur gel de silice (PSA) comme phase de rétention des composés non désirés issus des échantillons. Parmi les supports disponibles les plus courants en dSPE, on retrouve aussi le carbone graphite (phase de type « GCB ») ainsi que des silices greffées C18 ; ces deux supports sont utilisés pour l'adsorption (GCB) ou la rétention (C18) des composés hydrophobes comme les substances lipidiques. Ces deux supports ne sont pas testés dans le cadre de cette étude car ils conduiront à une rétention des CO-HAPs eux-mêmes très hydrophobes. Seule la phase de rétention de type PSA, connue pour permettre l'élimination d'acides organiques, de pigments polaires et de sucres (Wilkowska et Biziuk 2011), est testée en comparaison à des extraits non purifiés.

Sur la base de broyats de pomme, carotte, pomme de terre et salade, tous dopés à 100 µg/kg et ayant subi l'ensemble de la procédure QuEChERS puis une purification par dSPE (ajout de PSA), des taux de recouvrement de chacun des 3 CO-HAPs sont calculés (Tableau 26) :

Tableau 26 : Estimation du pourcentage de récupération des CO-HAPs pour la procédure d'extraction et de purification QuEChERS-dSPE

	Taux de recouvrement*		
	1-naphtaldéhyde	9-fluorénone	9,10-anthraquinone
Pomme	48%	39%	37%
Carotte	90%	68%	34%
Pomme de terre	76%	59%	63%
Salade	54%	56%	56%

*Les taux de recouvrement sont déterminés par le rapport de la moyenne d'analyses (n = 3) d'un échantillon additionné en CO-HAPs à 100 µg/kg après extraction-purification en QuEChERS-dSPE à la moyenne d'une solution (n = 3) de concentration équivalente analysée par injection directe.

Les taux de recouvrement obtenus (Tableau 26), compris globalement entre 34 et 90%, témoignent d'une récupération correcte des CO-HAPs *via* l'ensemble de la procédure d'extraction QuEChERS suivie d'une purification par dSPE. Un effet lié à la matrice végétale semble, cependant, probable en raison des différences de récupération observées selon le type de fruit ou légume pour un CO-HAP donné.

Le processus de purification par dSPE semble engendrer une perte significative de certains CO-HAPs selon le type d'échantillon testé (Figure 52, cas du broyat de pomme).

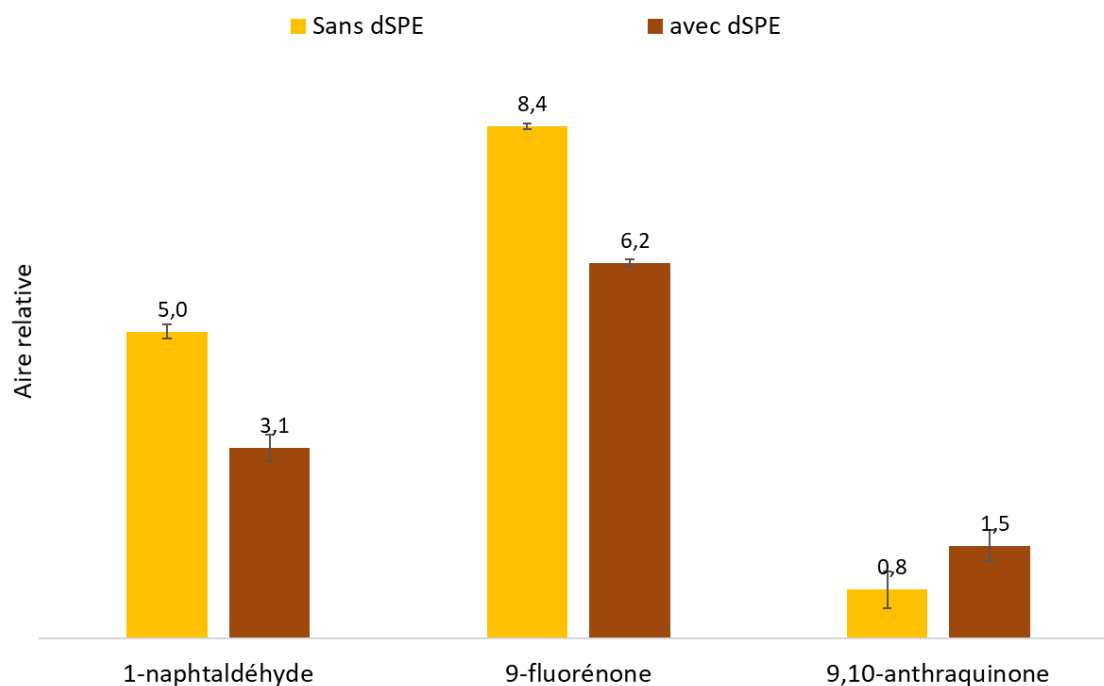


Figure 52 : Comparaison des réponses obtenues pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de l'utilisation ou non de la dSPE

1 μ L injecté (n=3) en splitless avec acquisition en mode « SIM ». L'aire relative correspond à l'intégration des pics des CO-HAPs ciblés et de la 9-fluorénone-d8 utilisée comme étalon interne d'analyse en GC-MS. Extraction QuEChERS réalisée sur un broyat de pomme dopé à 100 μ g/kg.

Il est probable que la diamine primaire et secondaire greffée sur gel de silice (PSA) capte, plus ou moins selon le type d'échantillon, les CO-HAPs en raison de leur fonction carbonyle (C=O) polarisée. Un gain relativement important est néanmoins obtenu au niveau du rapport signal/bruit lors de l'analyse notamment pour la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone (Figure 53, cas de la pomme).

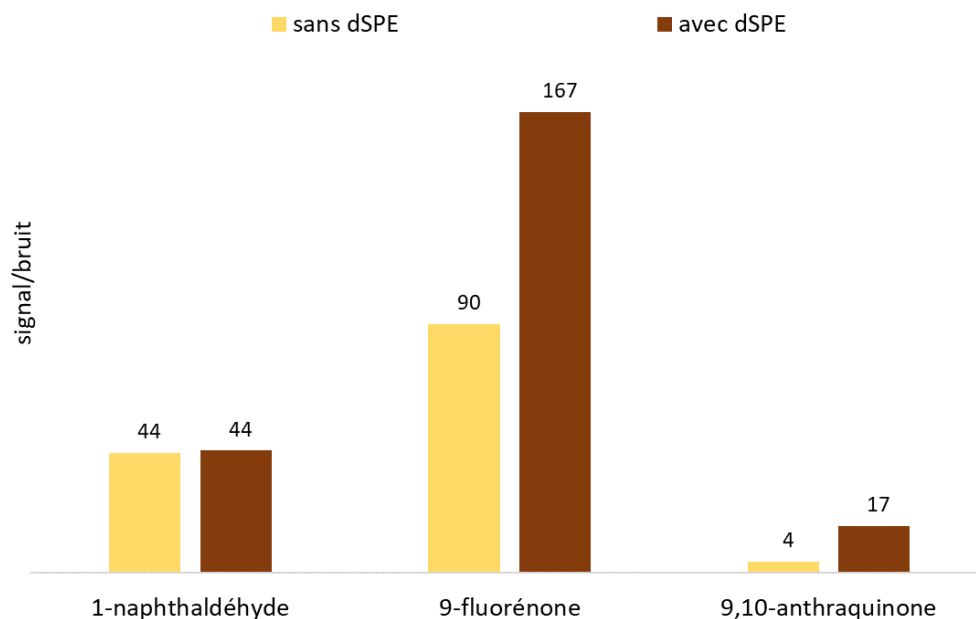


Figure 53 : Comparaison des rapports signal/bruit obtenus pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de l'utilisation ou non de la dSPE

1 μ L injecté (n=3) en splitless avec acquisition en mode « SIM ». L'aire relative correspond à l'intégration des pics des CO-HAPs ciblés et de la 9-fluorénone-d8 utilisée comme étalon interne d'analyse en GC-MS. Extraction QuEChERS réalisée sur un broyat de pomme dopé à 100 μ g/kg.

Ce gain en rapport signal/bruit (S/N) permet de conclure qu'une partie de la matrice est éliminée au moyen de la procédure de purification par dSPE. Cependant, les valeurs de rapports S/N obtenues (44 pour le 1-naphtaldéhyde, 167 pour la 9-fluorénone et 17 pour la 9,10-anthraquinone), trop faibles pour un ajout relativement important de CO-HAPs (100 μ g/kg), ne permettent d'envisager d'obtenir des limites de quantification (S/N > 9) suffisantes pour atteindre une quantification future de ces composés de l'ordre du μ g/kg. Des tests réalisés pour des ajouts en plus faibles concentrations aux broyats ont pu confirmer cette hypothèse (pics des CO-HAPs non visibles lors des analyses).

Les extraits QuEChERS-dSPE de broyats de carotte contenant le plus d'interférents matriciels lors des analyses en GC-MS, des extraits QuEChERS de broyat de carottes ont été plus spécifiquement utilisés par la suite afin de déterminer la méthode de purification la plus adéquate.

3.4.2. Purification par MEPS

Des travaux antérieurs, menés au laboratoire, ont montré que la Microextraction par Sorbant Compacté (MEPS) est une technique de purification adaptée au dosage d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs) à l'état de traces dans des échantillons de pomme (Paris et al. 2019). La procédure globale d'analyse des HAPs utilise tout d'abord une extraction aux ultra-sons (UAE) suivie d'une extraction par MEPS au moyen d'un sorbant compacté de type PEP (Polar Enhanced Polymer).

Dans le cadre de ce travail, l'application de cette méthode (UAE puis MEPS) à la détection de CO-HAPs issus de broyats de pomme dopés n'a pas permis d'obtenir de détection des CO-HAPs après analyse par GC-MS des extraits. La méthode d'extraction des HAPs utilisant les ondes ultra-sonores (UAE) est potentiellement moins bien adaptée à la récupération des CO-HAPs. La méthodologie QuEChERS permettant un recouvrement correct des CO-HAPs (Tableau 26), une purification par MEPS a été testée sur ces extraits au moyen de différentes phases rétentives disponibles sur le marché.

La MEPS correspond à une forme miniaturisée d'HPLC. Un barreau (de volume de l'ordre d'environ une dizaine de microlitres) contenant une phase stationnaire est inclus dans le corps d'une aiguille qui équipe une seringue d'une contenance généralement de 250 μ L (Abdel-Rehim, 2011). Elle permet par un mouvement de va-et-vient du liquide d'extraire ou de purifier éventuellement des composés d'intérêt pouvant se fixer sur la phase stationnaire. Différentes phases stationnaires de MEPS sont commercialisées telles que des supports à base de silice « en phase normale » ou « phase inverse » (C2, C8, C18), de copolymères de type polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB), d'échangeurs de cations (SCX), de type HILIC ou encore des supports de type graphite (Abdel-Rehim, 2011).

Dans le but d'évaluer la capacité de la MEPS à purifier les extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs, trois phases stationnaires en MEPS sont testées ; ces trois phases sont susceptibles de proposer des mécanismes de rétention différents :

- une phase inverse de type C18 pouvant potentiellement retenir par partage les CO-HAPs les plus hydrophobes,
- une phase stationnaire de type PEP (Polar Enhanced Polymer) qui correspond à un copolymère de type PS-DVB avec des groupements fonctionnels urée pouvant potentiellement retenir par interaction π - π les noyaux aromatiques des CO-HAPs,
- une phase stationnaire de type M1 proposant 80% de phase inverse C8 et 20 % de silice échangeuse de cations de type Nucléosil® (SCX) avec des groupements d'acide benzènesulfonique, pouvant retenir par partage et par interaction π - π les CO-HAPs.

L'extrait liquide issu de la méthodologie QuEChERS est au préalable concentré à sec au moyen de l'évaporateur SpeedVac™ puis resolubilisé. Cette resolubilisation est rendue nécessaire car les CO-HAPs doivent proposer une affinité plus forte pour la phase stationnaire que pour le solvant dans lequel ces composés ciblés sont contenus. Quel que soit le type de phase stationnaire utilisée en MEPS, des resolubilisations dans le cyclohexane, le méthanol, l'éthanol, l'acétate d'éthyle et un mélange eau ultra pure-éthanol (1/1, v/v) ont conduit à aucune rétention des CO-HAPs sur les phases stationnaires testées. L'eau ultra pure, utilisée comme solvant de resolubilisation, est la seule condition ayant permis une sorption des CO-HAPs sur les phases stationnaires testées par MEPS.

Un même extrait QuEChERS issu d'un broyat de carottes dopé en CO-HAPs est utilisé pour comparer les trois phases stationnaires (Figure 54).

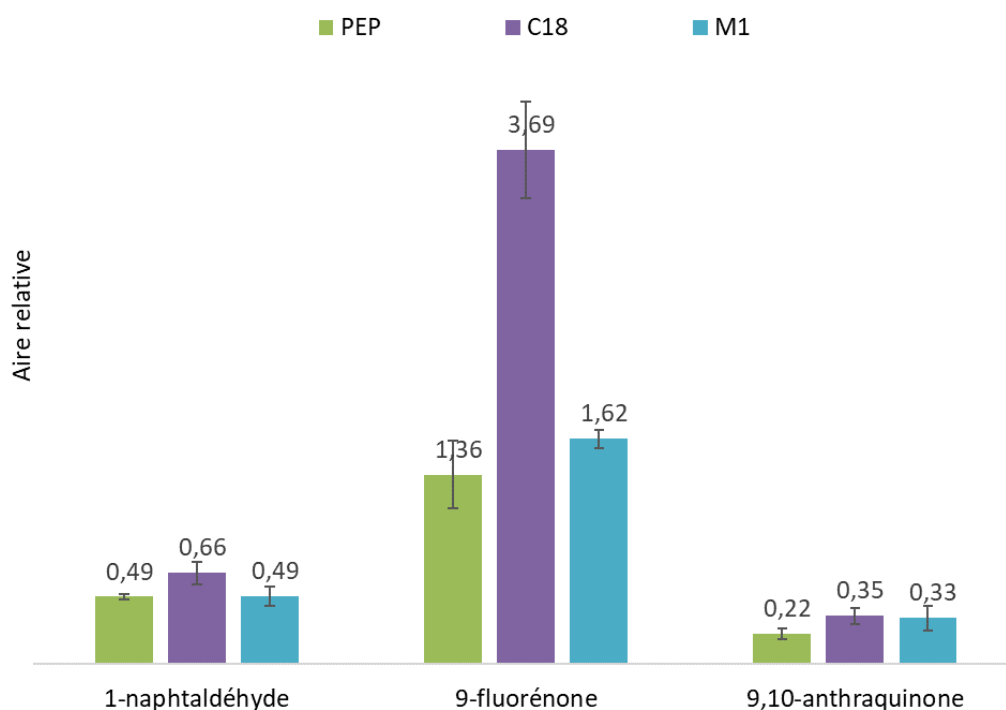


Figure 54 : Comparaison des réponses obtenues pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de la phase stationnaire utilisée en MEPS

1 μ L injecté (n=3) en splitless avec acquisition en mode « SIM ». L'aire relative correspond à l'intégration des pics des CO-HAPs ciblés et de la 9-fluorénone-d8 utilisée comme étalon interne d'analyse en GC-MS.

Les trois phases stationnaires sélectionnées en MEPS permettent la rétention des CO-HAPs (Figure 54). Parmi ces 3 phases celle en phase inverse (C18) conduit systématiquement à une meilleure récupération des CO-HAPs que les phases de type M1 et PEP. Les 3 CO-HAPs sont désorbés avec un volume optimal de 50 µL d'acétonitrile avant injection en GC-MS. L'efficacité de la phase inverse C18 est évaluée au moyen du calcul d'un taux de recouvrement (Tableau 27) d'extrait de carottes additionné à 10 µg/kg soit à une concentration 10 fois moindre que la précédente.

Tableau 27 : Taux de recouvrement estimés en CO-HAPs après purification d'un extrait de carotte par MEPS utilisant une phase stationnaire C18

	Taux de recouvrement		
	1-naphtaldéhyde	9-fluorénone	9,10-anthraquinone
MEPS C18	23%	13%	6%

*Les taux de recouvrement sont déterminés par le rapport de la moyenne d'analyses (n = 3) d'extrait QuEChERS additionné en CO-HAPs à 10 µg/kg à la moyenne d'une solution (n = 3) de concentration équivalente analysée par injection directe.

Les taux de recouvrement obtenus pour des concentrations équivalentes à un ajout de 10 µg/kg en 1-naphtaldéhyde, en 9-fluorénone et en 9,10-anthraquinone sont respectivement de 23%, 13% et 6% (Tableau 27). Ils sont comparativement beaucoup plus faibles que ceux trouvés par dSPE (Tableau 26) où les taux de recouvrements pour un même type d'extrait étaient respectivement de 90%, 68% et 34%. Le processus de purification par MEPS conduit ainsi à une perte trop importante des composés ciblés pouvant être due notamment à une redissolution non suffisante des CO-HAPs avant purification. Malgré des rapports S/N sensiblement améliorés, les investigations au moyen de cette technique de purification n'ont pas été poursuivies car ils n'ont pas permis d'envisager une quantification de l'ordre du µg/kg.

3.4.3. Purification par SPE

Les méthodologies de purification des extraits QuEChERS contenant des CO-HAPs par dSPE (partie 3.4.1) et MEPS (partie 3.4.2) n'ont pas permis d'accéder à des recouvrements (MEPS) ou à une purification (dSPE) suffisants afin d'envisager une quantification de l'ordre du $\mu\text{g}/\text{kg}$ dans les fruits et légumes. Dans la littérature, différentes phases solides par SPE ont été employées afin de purifier des échantillons d'origine végétale et/ou pour purifier des échantillons contenant des CO-HAPs. La SPE est plus gourmande en solvant et moins rapide que les techniques de dSPE et de MEPS, mais, l'utilisation de certaines phases solides a pu permettre le dosage de CO-HAPs pour des concentrations avoisinant le $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Cochran et al. 2012; Qiao et al. 2013, 2014b). Au cours de ce travail, 4 phases solides sont testées en SPE dont 2 phases polymériques « conventionnelles » (partie 3.4.3.1) et 2 phases polymériques à empreinte moléculaire (partie 3.4.3.2). La phase « conventionnelle » et la phase à empreinte moléculaire les mieux adaptées à la récupération des CO-HAPs sont *in fine* comparées (partie 3.4.3.3).

3.4.3.1. Purification par SPE au moyen de phases solides « conventionnelles » de type PS-DVB et HLB

Les extraits QuEChERS obtenus à partir de broyats de carottes dopés à $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ en CO-HAPs sont à nouveau utilisés. Deux phases stationnaires « conventionnelles » en SPE sont testées et chacune d'entre-elles possède une affinité particulière (interaction π - π) vis-à-vis des CO-HAPs. Les phases solides de SPE sont de type Polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB, Figure 55-a) et polymérique avec des groupements aromatiques et N-vinylpyrrolidone (HLB, Figure 55-b).

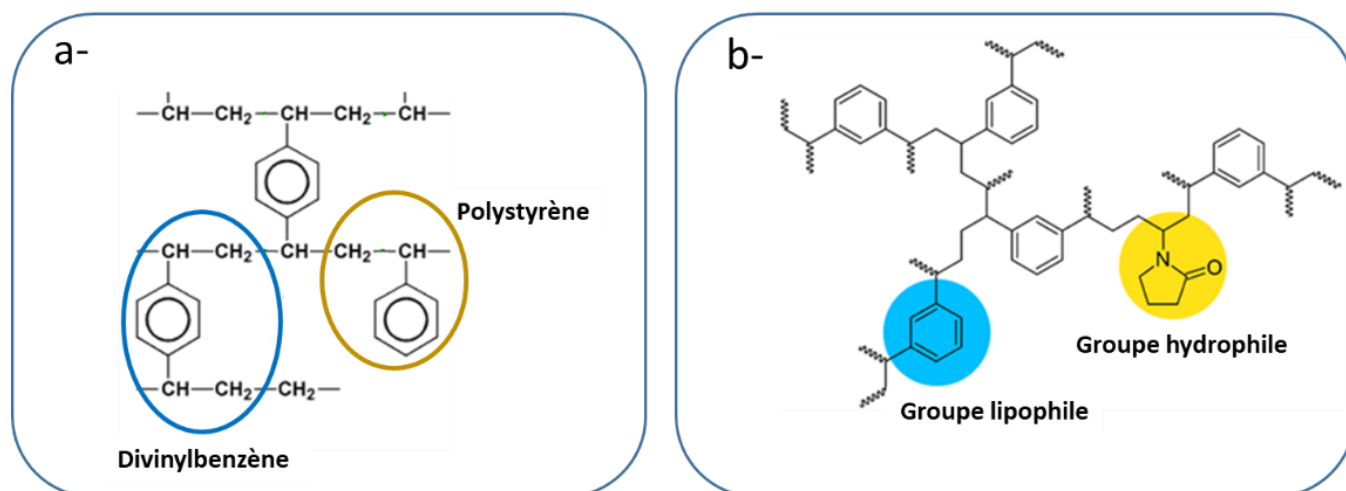


Figure 55 : Structures chimiques des phases solides utilisées pour la purification par SPE « conventionnelle » ((a) phase polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB) ; (b) phase polymérique de type HLB)

La phase stationnaire de type PS-DVB (Figure 55-a) est totalement hydrophobe alors que la phase de type HLB (Figure 55-b) possède une grande majorité de groupements aromatiques hydrophobes (aussi de type PS-DVB) auxquels sont adjoints quelques groupements hydrophiles (N-vinylpyrrolidone). L'éluion de l'extrait QuEChERS de carottes sur ces phases solides conduit à une meilleure récupération des CO-HAPs au moyen de la phase de type HLB (Figure 56).

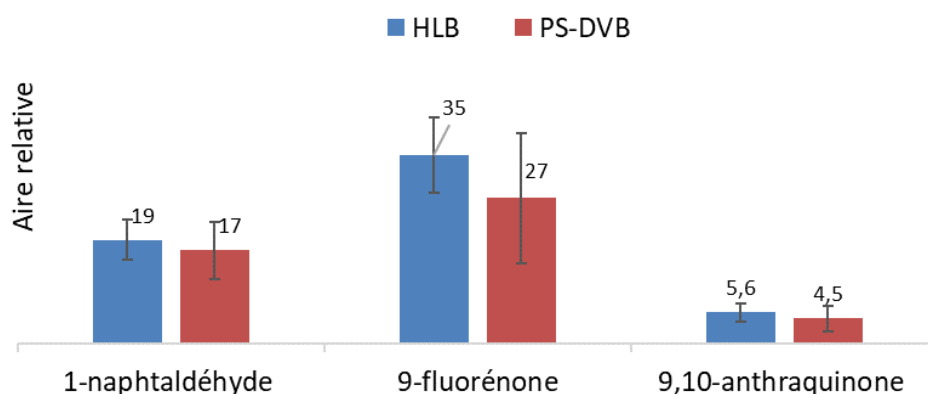


Figure 56 : Comparaison des aires relatives obtenues pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone après purification par SPE au moyen de phases solides de type HLB et PS-DVB

1 μ L injecté (n=5) en splitless avec acquisition en mode « SIM » par GC-MS. L'aire relative correspond à l'intégration des pics des CO-HAPs ciblés et de la 9-fluorénone-d8 utilisé comme étalon interne d'analyse. Extraction QuEChERS réalisée sur un broyat de carotte dopé à 100 μ g/kg.

Globalement, les deux phases solides (PS-DVB et HLB) permettent une rétention puis une récupération des CO-HAPs. Comparativement, la récupération des CO-HAPs est cependant 10% (1-naphtaldéhyde) à 30% (9-fluorénone) plus importante avec la phase HLB qu'avec la phase PS-DVB (Figure 56). De plus, une variabilité plus importante au niveau de la récupération est systématiquement observée pour le cas de la phase stationnaire de type PS-DVB.

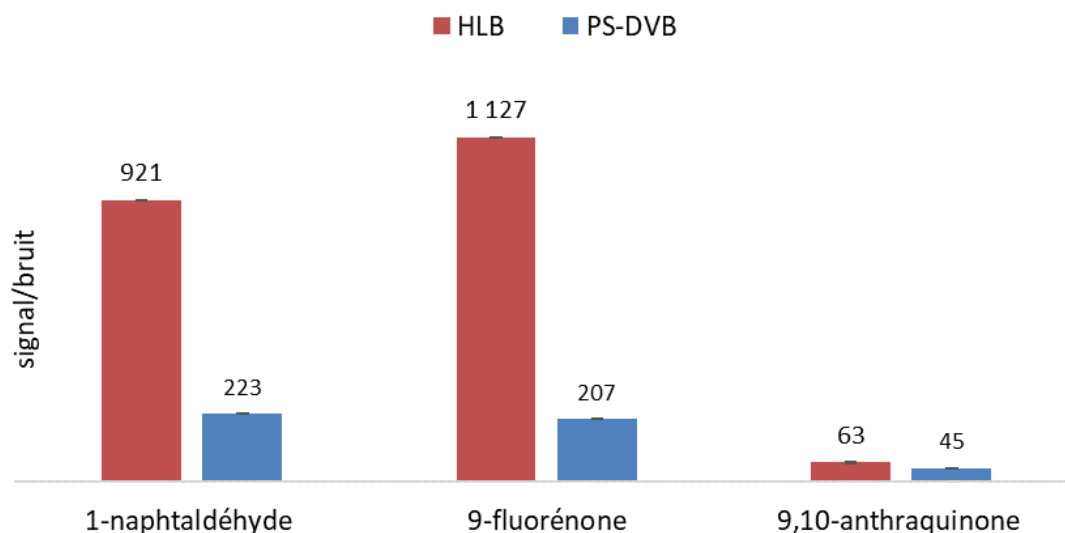


Figure 57 : Comparaison des rapports signal/bruit obtenus pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone en fonction de la phase solide utilisée par SPE « conventionnelle »

Conditions expérimentales identiques à la Figure 56

Les rapports signal/bruit sont beaucoup plus élevés lors de l'utilisation de la phase HLB (Figure 57). Pour le 1-naphtaldéhyde et la 9-fluorénone les rapports signal/bruit obtenus avec la phase HLB sont plus de quatre fois plus élevés qu'avec la phase PS-DVB. La phase stationnaire de type HLB, permettant une bonne rétention des CO-HAPs et une meilleure élimination des composés de la matrice, est sélectionnée par la suite pour être comparée à une phase solide polymérique à empreinte moléculaire (MIP).

3.4.3.2. Purification par SPE au moyen de phases polymériques à empreinte moléculaire (MIP)

L'utilisation par SPE de phases solides polymériques à empreinte moléculaire (MIP) a été appliquée pour la première fois pour la détermination sélective du pentamidine dans des échantillons d'urine (Selligren 1994). Ces phases solides sont constituées de cavités ou de sites récepteurs spécifiques à un type de molécules. Les MIP possèdent des spécificités de reconnaissance (affinité) selon la forme, la taille et l'orientation des groupes fonctionnels des composés à retenir (Figure 58). Dans certains cas de figure, l'affinité et la sélectivité obtenues sont comparables à celles des anticorps naturels.

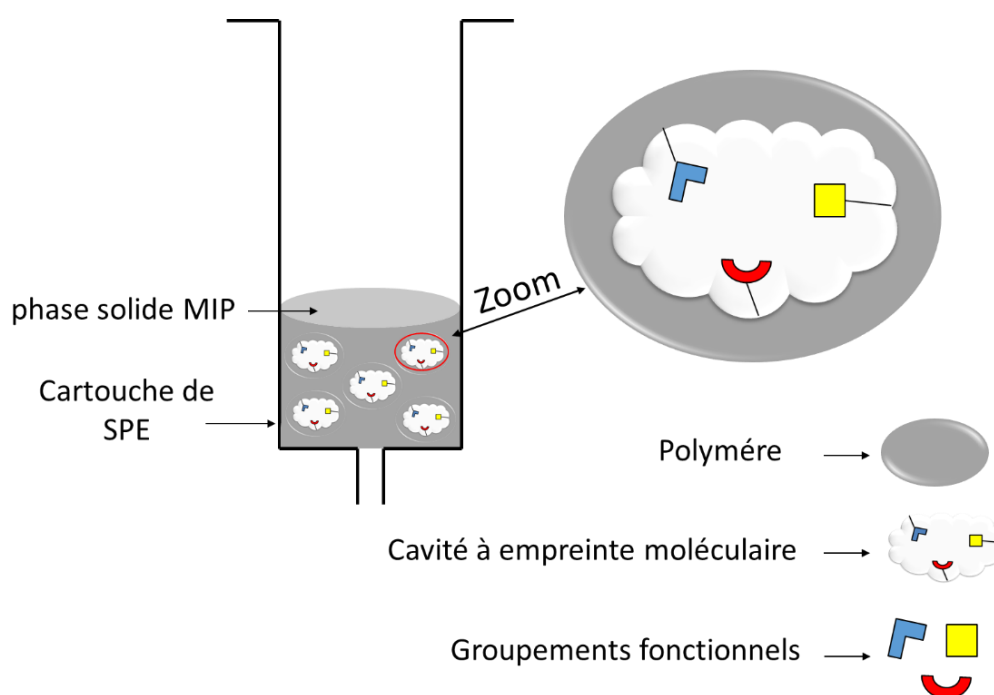


Figure 58 : Schéma représentant une cartouche d'Extraction en Phase Solide (SPE) contenant une phase solide de type « polymère à empreinte moléculaire (MIP) »

Il n'existe pas actuellement sur le marché de MIP constituée à partir de CO-HAP et donc, à priori, aucune phase solide susceptible de proposer une affinité maximale pour ces composés. Cependant, deux types de cartouches s'en rapprochent et sont testées dans le cadre de ce travail :

- une cartouche en SPE de type « MIP HAP » contenant une phase polymérique possédant des cavités constituées à partir d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (4 à 5 cycles aromatiques), comme le benzo[a]pyrène, le benzo[b]fluoranthène, le chrysène et le benzo[a]anthracène.

- une cartouche en SPE de type « MIP phénoliques » contenant une phase polymérique possédant des cavités constituées à partir de l'empreinte moléculaire de phénols (un seul cycle aromatique).

La récupération des CO-HAPs, issus d'un extrait QuEChERS de carotte, est systématiquement plus importante pour les phases solides de type « MIP phénoliques » comparativement aux phases solides de type « MIP HAP » (Figure 59). Les différences entre ces deux phases solides sont très significatives avec des rendements d'extraction trois fois plus importants pour le 1-naphtaldéhyde et jusqu'à 6 fois plus important pour la 9-fluorénone (Figure 59).

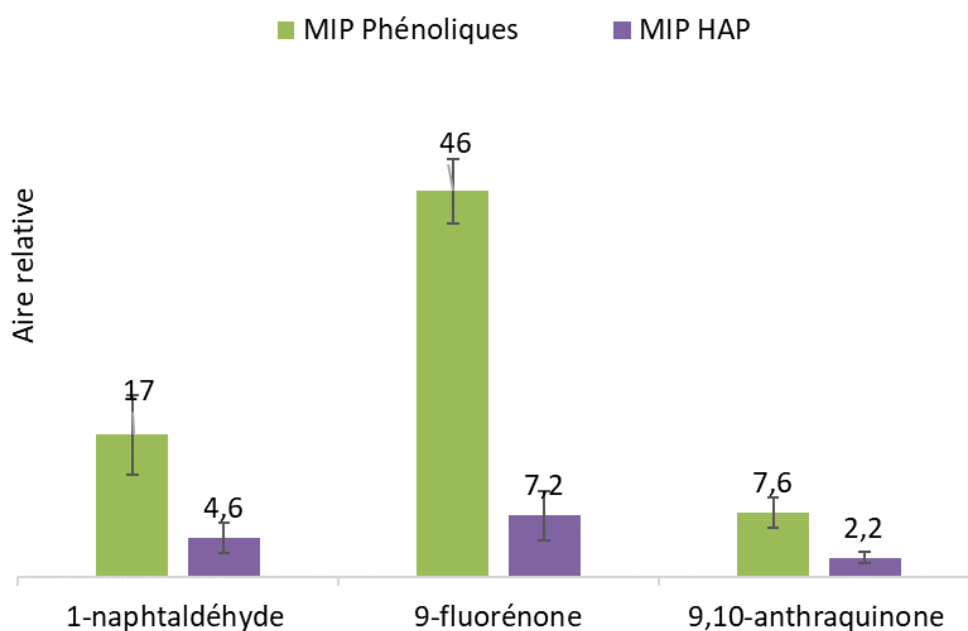


Figure 59 : Comparaison des aires relatives obtenues pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone après purification par SPE au moyen de phases solides de type MIP Phénoliques et MIP HAP

Conditions expérimentales identiques à la Figure 56

La différence de récupération des CO-HAPs au moyen des 2 phases solides de type MIP peut être expliquée par la taille des cavités et la capacité variable à retenir les CO-HAPs. Les MIP HAP ont été

développées pour l'extraction des HAPs et les cavités de reconnaissance ont été imprimées pour des composés avec au moins quatre cycles aromatiques. Par conséquent la taille des cavités n'est sans doute pas adaptée pour les CO-HAPs légers (moins de quatre cycles). La phase solide MIP Phénoliques, pour sa part, est constituée de cavités pour un cycle aromatique phénolique. Une rétention des 3 CO-HAPs est observée sans doute en raison de l'affinité de la fonction carbonyle pour les sites d'adsorption dipolaire (impression de la fonction phénol). La phase solide de type MIP Phénoliques présentant la meilleure récupération des CO-HAPs est par la suite comparée à la phase solide de type HLB (partie 3.4.3.3).

3.4.3.3. Comparaison des phases SPE « conventionnelles » et MIP les mieux adaptées à la récupération des CO-HAPs

Afin d'évaluer les taux de récupération, un rendement est calculé pour les processus de purification en SPE au moyen de la phase « conventionnelle » de type HLB et de la phase à empreinte moléculaire de type MIP Phénoliques (Figure 60).

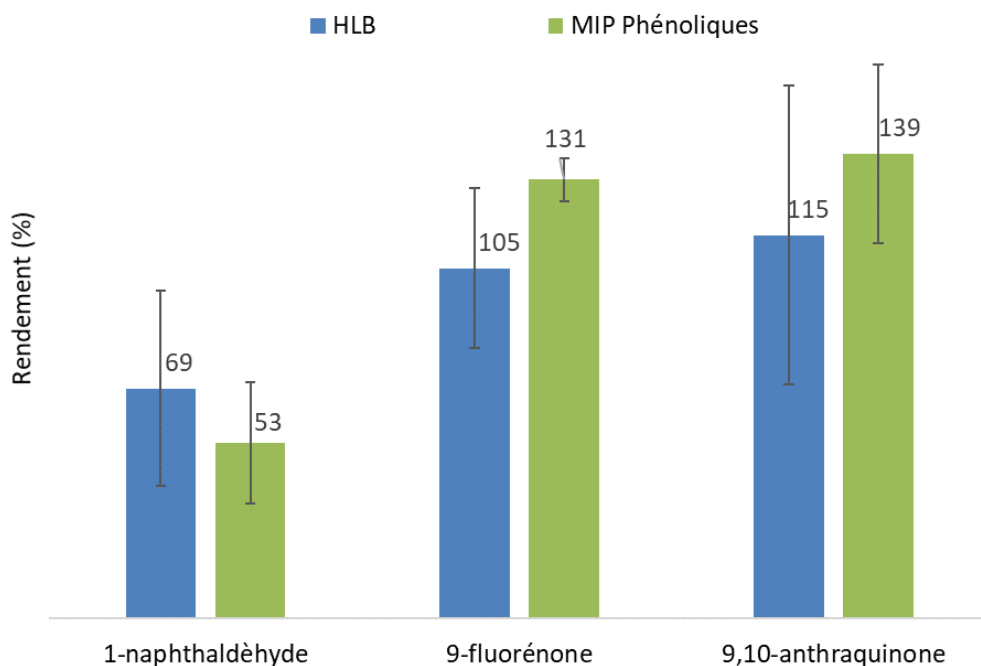


Figure 60 : Rendements en CO-HAPs ciblés par SPE pour un extrait QuEChERS de broyat de carotte après purification par SPE au moyen de phases de type HLB et MIP Phénoliques (n=3)

Les rendements de récupération obtenus au moyen des 2 phases solides (HLB et MIP Phénoliques) sont du même ordre de grandeur (Figure 60). Ces valeurs obtenues sont relativement peu précises du fait d'une certaine variabilité (aussi exprimée par des rendements supérieurs à 100%) ; cette variabilité pourra être par la suite contrôlée par l'utilisation d'un étalon interne ajouté directement à l'échantillon lors de l'application de la méthodologie. Les rendements de récupération obtenus reflètent néanmoins que, pour ces 2 phases solides, la récupération est quasi-totale dans le cas de la 9-fluorénone et de la 9,10-anthraquinone et aux alentours de 50% à 60% dans le cas du 1-naphtaldéhyde.

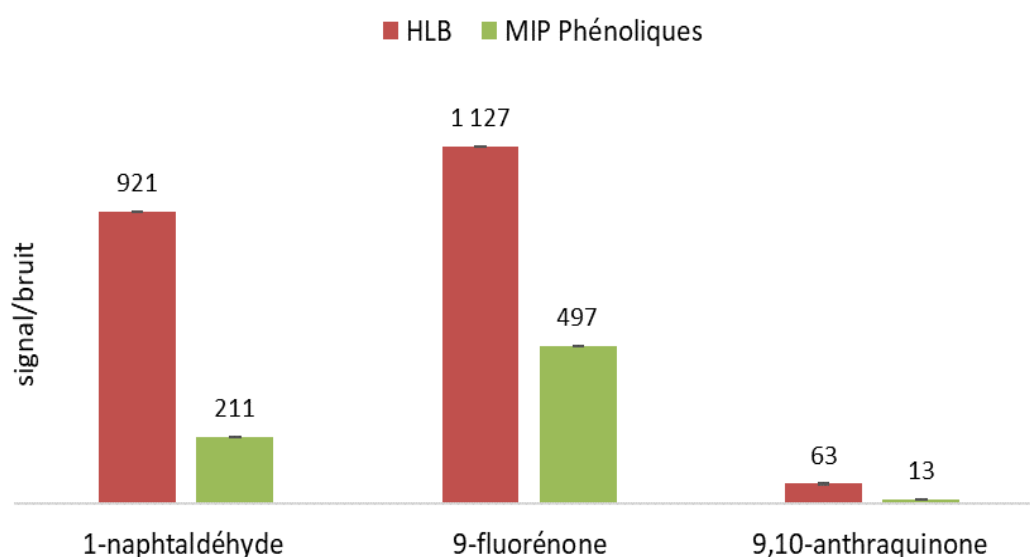


Figure 61 : Comparaison des rapports signal/bruit obtenus pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone après purification par SPE au moyen de phases solides de type MIP Phénoliques et MIP HAP

1 μ L injecté (n=5) en splitless en GC-MS avec acquisition en mode « SIM ». Aire relative correspondant à l'intégration des pics des CO-HAPs ciblés et de la 9-fluorénone-d8 utilisée comme étalon interne d'analyse

Les rapports signal/bruit (S/N) (Figure 61) obtenus lors des analyses des extraits sont par contre nettement en faveur de l'utilisation de la phase HLB pour la purification des extraits QuEChERS. Les rapports S/N obtenus pour le 1-naphtaldéhyde et la 9,10-anthraquinone sont plus de quatre fois plus élevés avec la phase HLB qu'avec la phase MIP phénolique. Ce gain en rapport signal/bruit permet de conclure à une meilleure élimination des composés de la matrice au moyen de la purification par la phase solide HLB.

La phase solide HLB permet une bonne récupération des CO-HAPs et une meilleure sélectivité d'extraction que la phase MIP phénolique. Il est ainsi possible d'envisager à l'aide de la phase HLB une meilleure sensibilité d'analyse. De plus les cartouches HLB sont moins onéreuses que les cartouches MIP phénolique. La technique finalement choisie pour la purification des extraits QuEChERS est la SPE HLB.

3.5. Validation de la stratégie globale d'analyse des CO-HAPs dans les végétaux

La stratégie globale d'analyse des CO-HAPs dans les végétaux comprend tout d'abord une étape de préparation (broyage) de 10 g d'échantillon auquel est ajouté la 9,10-anthraquinone-d8 comme étalon interne. Une extraction est ensuite réalisée au moyen d'une méthodologie QuEChERS utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant d'extraction et une combinaison de sulfate de magnésium anhydre et de chlorure de sodium. Une étape de centrifugation est alors nécessaire afin de récupérer un extrait liquide dans lequel sont contenus les CO-HAPs. Après une étape d'évaporation au moyen d'un évaporateur sous pression réduite de type SpeedVac™, l'extrait concentré est purifié par Extraction en Phase Solide (SPE) utilisant une phase solide de type HLB contenant des groupements hydrophobes de Polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB) et des groupements hydrophiles de N-vinylpyrrolidone. L'élution par SPE est menée après une phase de conditionnement par un rinçage avec de l'eau ultra pure permettant une élimination des résidus hydrophiles puis par un passage d'acétate d'éthyle pour récupérer les CO-HAPs. Une phase de concentration au moyen de l'évaporateur de type SpeedVac™ permet d'obtenir *in fine* un extrait concentré injecté par GC-MS en mode SIM.

L'évaluation des performances de l'ensemble de la stratégie d'analyse est réalisée en termes de taux de recouvrement (partie 3.5.1), d'effet potentiel lié à la matrice (partie 3.5.2), de fidélité (répétabilité et reproductibilité, partie 3.5.3), de linéarité (partie 3.5.4), de sensibilité (limites de détection LOD et de quantification LOQ, partie 3.5.5), et de spécificité de la méthodologie (partie 3.5.6).

3.5.1. Taux de recouvrement pour la stratégie globale d'analyse des CO-HAPs à 10 µg/kg

Des taux de recouvrement sont déterminés afin d'évaluer la récupération des CO-HAPs tout au long de la stratégie d'analyse : depuis le broyat jusqu'à l'extrait final purifié avant analyse par GC-MS. Ils sont calculés pour un échantillon de carottes additionné à 10 µg/kg en 1-naphtaldéhyde, 9-fluorénone et 9,10-anthraquinone (Tableau 28). Ces valeurs sont obtenues après vérification de l'absence de CO-HAPs dans un extrait issu d'un broyat de carotte non dopé en CO-HAPs.

Tableau 28 : Taux de recouvrement déterminés pour la stratégie globale d'analyse pour une concentration ajoutée de 10 µg/kg (broyat de carotte)

Taux de recouvrement	
1-naphtaldéhyde	86 ± 10 %
9-fluorénone	108 ± 11 %
9,10-anthraquinone	138 ± 7 %

Les taux de récupération estimés pour les 3-CO-HAPs sont compris entre 86 et 138 % (tableau 28). Ils sont du même ordre d'idée que ceux obtenus exclusivement lors de l'étape de purification (Figure 60). Cela traduit que les pertes en composés ciblés sont limitées au cours des étapes d'extraction et d'évaporation. Ces taux de recouvrement sont donnés ici à titre indicatif car certains excèdent 100% (9-fluorénone et 9,10-anthraquinone) ; ils confirment que l'étape de purification apporte une certaine variabilité quant à la récupération des CO-HAPs et qu'il est nécessaire d'utiliser un étalon interne dès le début de la stratégie d'analyse.

3.5.2. Effet matrice

L'adaptabilité de la stratégie d'analyse est testée pour différents matrices de fruits et légumes. L'effet matrice est évalué sur onze échantillons végétaux à savoir quatre fruits (pommes, tomates, poires et mûres), six légumes (salades de type laitue, haricots verts, pommes de terre, concombres, courgettes et choux) et de l'herbe.

L'effet matrice est vérifié au moyen de gammes d'étalonnage réalisées pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone pour chaque échantillon végétal. Ces gammes d'étalonnage sont obtenues au moyen d'ajouts de concentration au broyat de chaque végétal à 0, 1 et 4 µg/kg (chaque point en triplicat). La pente obtenue pour chaque échantillon est comparée à la moyenne de toutes les pentes.

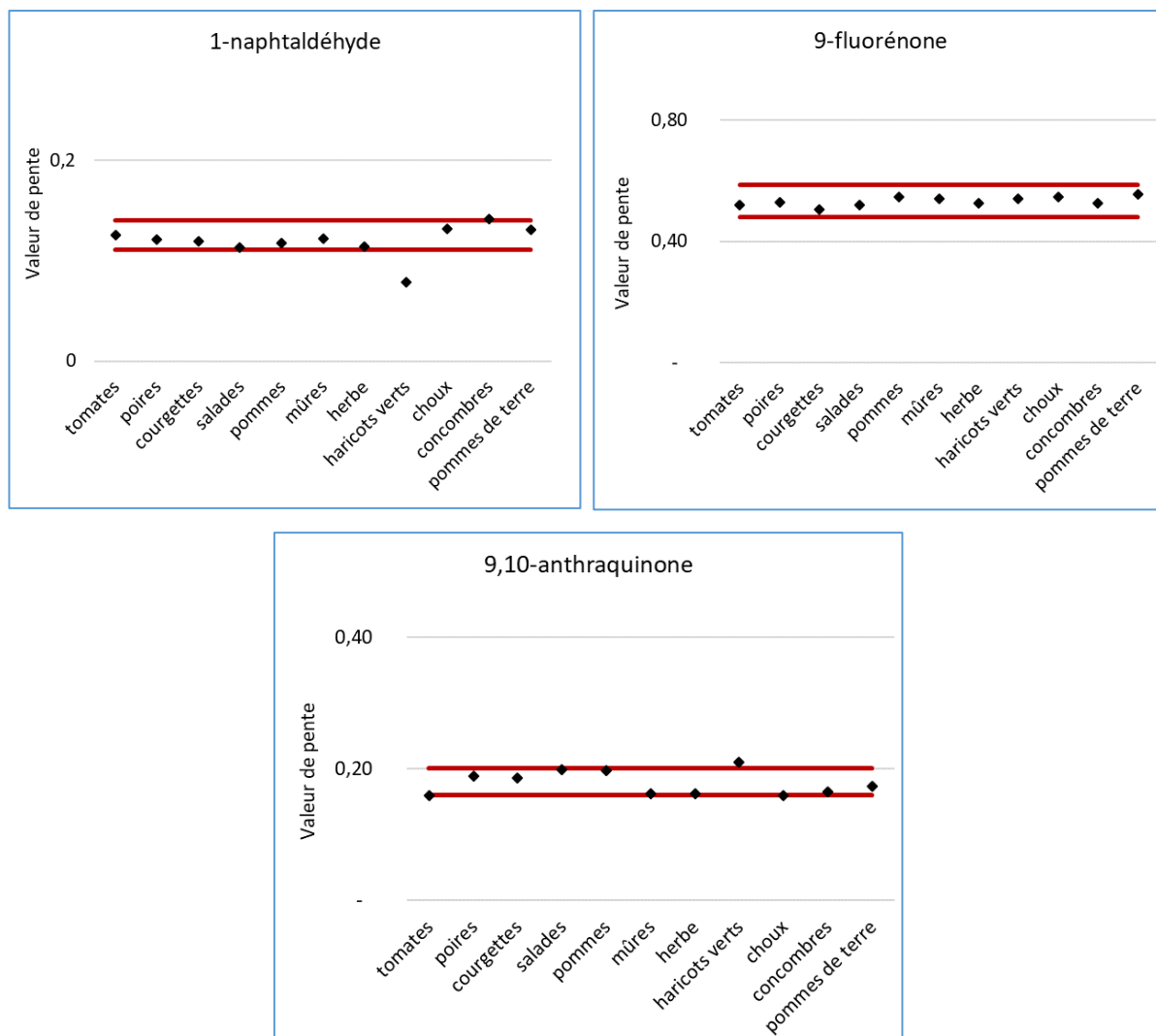


Figure 62 : Carte de contrôle pour l'évaluation d'un potentiel effet matrice pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone pour 11 échantillons végétaux différents

Les 2 droites sur chaque graphique symbolisent un écart de +/- 10 % par rapport à la valeur moyenne de l'ensemble des pentes ; les pentes correspondent à celles obtenues pour l'aire relative au pic de l'étalon interne global (9,10-anthraquinone-d8) en fonction de la concentration ajoutée au broyat

Toutes les pentes obtenues (pour chacun des CO-HAPs et pour chaque échantillon végétal) satisfont un critère d'acceptabilité fixé à 10 % (Figure 62). Ces résultats permettent de conclure sur l'absence d'effet de matrice pour une très grande majorité des fruits et légumes testés (excepté pour les haricots verts où des écarts supérieurs à 10 % ont pu être observés dans les cas particuliers de la détermination du 1-naphtaldéhyde et dans une moindre mesure de la 9,10-anthraquinone). La méthodologie de quantification est ainsi transposable à au moins une dizaine d'échantillons végétaux.

3.5.3. Fidélité de la stratégie d'analyse à 4 µg/kg (répétabilité et fidélité intermédiaire)

La fidélité de la stratégie globale d'analyse est vérifiée pour les 6 CO-HAPs introduits initialement dans la solution d'étalonnage (1,4-naphtoquinone, 1-naphtaldéhyde, 9-fluorénone, 9,10-anthraquinone, anhydride 1,8-naphtalique, 1,2-benzanthraquinone) ajoutés à raison de 4 µg/kg dans un broyat de pomme. Cette étape de validation consiste à vérifier la répétabilité et la fidélité intermédiaire de l'ensemble de la stratégie d'analyse en incluant l'extraction par méthode QuEChERS, la purification par SPE-HLB, les étapes de concentration d'extraits et la séparation/détection par GC-MS. Des coefficients de variation (CV) sont calculés sur des essais réalisés avec un échantillon de pomme additionné en CO-HAPs à 4 µg/kg (Tableau 29).

Tableau 29 : Coefficients de variation (CV) des essais de répétabilité et de fidélité intermédiaire pour la détermination des CO-HAPs dans la pomme pour l'ensemble de la stratégie d'analyse

CV (%)	Répétabilité (n = 5)	Fidélité intermédiaire (n = 15)
1-naphtaldéhyde	6,7	2,1
1,4-naphtoquinone	20	20
9-fluorénone	6,2	6,5
anhydride 1,8-naphtalique	6,5	13
9,10-anthraquinone	15	12
1,2-benzanthraquinone	5,3	13

CV calculé sur la base des aires relatives au pic de l'étalon interne global (9,10-anthraquinone-d8) ajouté au broyat

Globalement les CO-HAPs présentent des répétabilités aux alentours de 5 à 7% sauf pour la 1,4-naphtoquinone (20%) et la 9,10-anthraquinone (15%). La 1,4-naphtoquinone donne un coefficient de variation plus important liée à une évaluation à une concentration proche de la limite de quantification (LOQ = 4,19 µg/ kg, voir partie suivante). L'instabilité de la 1,4-naphtoquinone dans un système GC-MS a été reportée antérieurement dans la littérature (Bandowe et al. 2010a)

Les coefficients de variation de la fidélité intermédiaire sont un peu plus élevés, compris entre 2 et 13%, mais restent cohérents au regard des concentrations à aller rechercher. L'ensemble des coefficients de variation sont inférieurs à 20% ce qui atteste d'une bonne fidélité des analyses effectuées selon les critères de validation de la commission européenne. Cependant, les comparaisons des coefficients de variation avec d'autres méthodes sont difficiles à réaliser car ils sont dépendants du type d'échantillon étudié or il n'existe pas actuellement de méthode d'analyse spécifique des CO-HAPs pour leur détermination dans les fruits et les légumes.

3.5.4. Linéarité des gammes d'étalonnage en CO-HAPs pour des concentrations comprises entre 0 et 10 µg/kg

La linéarité des gammes d'étalonnage est vérifiée pour la stratégie globale d'analyse pour des concentrations équivalentes ajoutées comprises entre 0 et 10 µg/kg à des broyats de salade. La linéarité est vérifiée pour 12 CO-HAPs (partie 2.7.2). Les droites d'étalonnage obtenues pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone sont présentées en Figure 63.

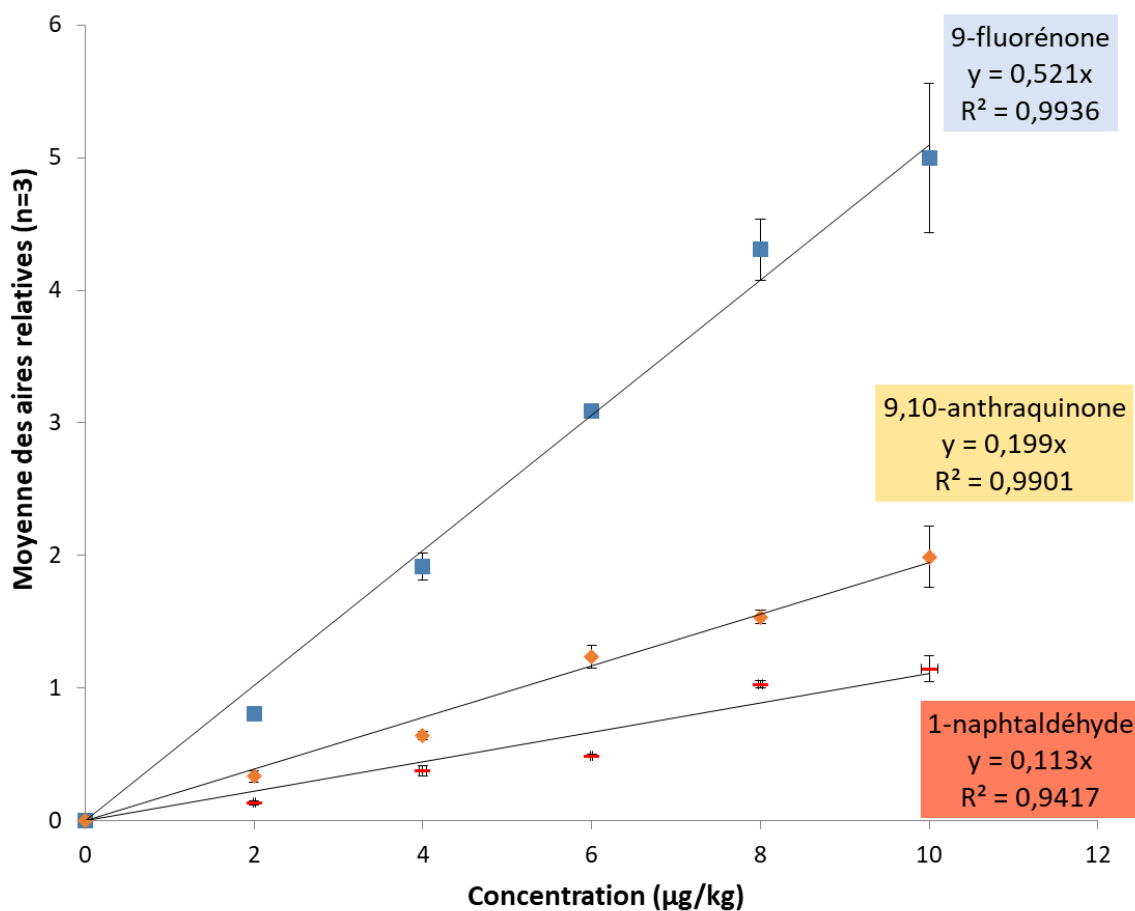


Figure 63 : Droites d'étalonnage pour le 1-naphtaldéhyde, la 9-fluorénone et la 9,10-anthraquinone pour des ajouts compris entre 0 et 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ à un broyat de salade

Les équations des droites d'étalonnage pour chacun des 12 CO-HAPs sont reportées dans le Tableau 30.

Tableau 30 : Équations des droites d'étalonnage pour chacun des 12 CO-HAPs sélectionné pour la quantification

	Équation de droite d'étalonnage	R ²
1-naphtaldéhyde	$y = 0,113 x$	0,942
1,4-naphtoquinone	$y = 0,0059 x + 0,0079$	0,947
acénaphthène	$y = 2,974 x$	0,988
9-fluorénone	$y = 0,521 x$	0,994
benzophénone	$y = 0,494 x + 0,124$	0,984
6H-dibenzo[bd]pyran-6-one	$y = 0,310 x$	0,990
xanthone	$y = 1,584 x$	0,988
anhydride 1,8-naphthalique	$y = 0,068 x$	0,996
9,10-anthraquinone	$y = 0,199 x$	0,990
benzo[a]fluorénone	$y = 0,022 x + 0,005$	0,997
benzanthrone	$y = 0,329 x$	0,997
1,2-benzanthraquinone	$y = 0,582 x$	0,999

Les gammes d'étalonnage sont réalisées avec des broyats de salade

Les coefficients de détermination (R^2) pour toutes les droites d'étalonnage sont compris entre 0,942 (pour le 1-naphtaldéhyde) et 0,999 (pour la 1,2-benzanthraquinone). Les linéarités les moins bonnes sont observées pour les 2 CO-HAPs les plus légers à savoir le 1-naphtaldéhyde et la 1,4-naphtoquinone ; ce résultat peut être dû en partie à la température relativement élevée (180°C) utilisée lors de l'injection en GC-MS. L'estimation future des concentrations en 1-naphtaldéhyde peut néanmoins être jugée comme correcte au regard de la droite d'étalonnage obtenue pour ce composé (Figure 63). La faible valeur du coefficient de détermination pour la 1,4-naphtoquinone est associée quant à elle à une très faible valeur de pente (droite d'équation : $y = 0,0059 x + 0,0079$) ; cela semble traduire une sensibilité peu importante pour ce composé.

Pour les 10 autres CO-HAPs, les coefficients de détermination peuvent être jugés comme très bons car tous supérieurs à 0,984. L'étalonnage étant réalisé par ajouts dans l'échantillon de salade, des concentrations résiduelles sont possibles en benzophénone et en benzo[a]fluorénone (ordonnée à l'origine non nulle) dans l'échantillon testé. Globalement, les linéarités obtenues sont satisfaisantes et sont à relier aux limites de sensibilité évaluées en partie suivante.

3.5.5. Limites de détection et de quantification

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont déterminées par l'analyse d'extraits de salade dopée à des concentrations équivalentes ajoutées au broyat comprises entre 0 et 10 µg/kg (Tableau 31).

Tableau 31 : Limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) pour 12 CO-HAPs dans la salade par méthodologie QuEChERS – SPE

	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
1-naphtaldéhyde	0,10	0,33
1,4-naphtoquinone	1,26	4,19
acénaphténone	0,01	0,03
9-fluorénone	0,03	0,09
benzophénone	0,04	0,14
6H-dibenzo[bd]pyran-6-one	0,08	0,25
xanthone	0,01	0,03
anhydride 1,8-naphthalique	0,54	1,80
9,10-anthraquinone	0,18	0,59
benzo[a]fluorénone	2,69	8,96
benzanthrone	0,12	0,41
1,2-benzanthraquinone	0,20	0,66

Pour 9 des 12 CO-HAPs ciblés pour être quantifiés, les limites de détection (LOD) sont inférieures ou égales à 0,20 µg/kg. Elles peuvent être jugées comme très faibles car elles prennent en compte la nature de l'échantillon ; là où, pour certaines études, elles sont déterminées *via* l'injection de solutions standards (non ajoutées à l'échantillon). Il en découle que, pour 3 composés (acénaphténone, 9-fluorénone, xanthone), des teneurs de l'ordre du 1/10^{ème} de ppb (0,1 µg/kg) peuvent être déterminées dans les fruits et légumes. Des teneurs inférieures au ppb (< 1 µg/kg) peuvent être aisément quantifiées pour le 1-naphtaldéhyde, la benzophénone, la 6H-dibenzo[bd]pyran-6-one, la 9,10-anthraquinone, la benzanthrone et la 1,2-benzanthraquinone. Les valeurs obtenues de LOD

permettent d'envisager une détection de ces 9 CO-HAPs à l'état d'ultra-traces dans une large palette de fruits et légumes.

Les limites de détection pour l'anhydride 1,8-naphtalique, la 1,4-naphtoquinone et la benzo[a]fluorénone sont plus élevées. Elle est cependant tout à fait acceptable dans le cas de l'anhydride 1,8-naphtalique (LOD = 0,54 µg/kg). Ces composés possèdent les valeurs de pente d'étalonnage les plus faibles (Tableau 30), ce qui peut être lié à une fragmentation importante par ionisation électronique. Bandowe *et al.* (Bandowe et al. 2010a) ont souligné une faible sensibilité de détection et une instabilité de la 1,4-naphtoquinone dans le système GC-MS. La benzo[a]fluorénone, pour sa part, est éluee sur un segment de temps correspondant à un gradient de température important du four de la GC ce qui induit un bruit de fond élevé aux alentours de son pic chromatographique ; la sensibilité lors de l'analyse en est ainsi assez fortement affectée. Néanmoins, pour ces 2 composés, des teneurs inférieures à 2,5 µg/kg peuvent être détectées au moyen de la stratégie globale d'analyse mise au point.

Globalement, toutes les valeurs de LOD et LOQ sont faibles et cohérentes avec la recherche des CO-HAPs de l'ordre de quelques µg/kg dans les fruits et légumes. Elles sont comparables voire même meilleures que celles pouvant être trouvées dans la littérature (Bandowe et al. 2010a ; Delhomme et al. 2008) et qui ont trait à la détermination de CO-HAPs dans d'autres types d'échantillons (aqueux, particules de l'air, ...).

3.5.6. Spécificité de la stratégie globale d'analyse vis-à-vis de la récupération d'hydrocarbures aromatiques oxygénés

Nous avons voulu vérifier la spécificité de la stratégie globale d'analyse vis-à-vis des hydrocarbures oxygénés et plus particulièrement des CO-HAPs. Cette étude n'est seulement possible que par une identification des composés retrouvés dans des échantillons. En prenant un des échantillons pour lequel nous avons relevé les teneurs les plus fortes en CO-HAPs (peau d'une courgette exposée à des fumées de combustion de biomasse), nous avons identifié les pics obtenus dans l'extrait analysé en mode full scan (Figure 64).

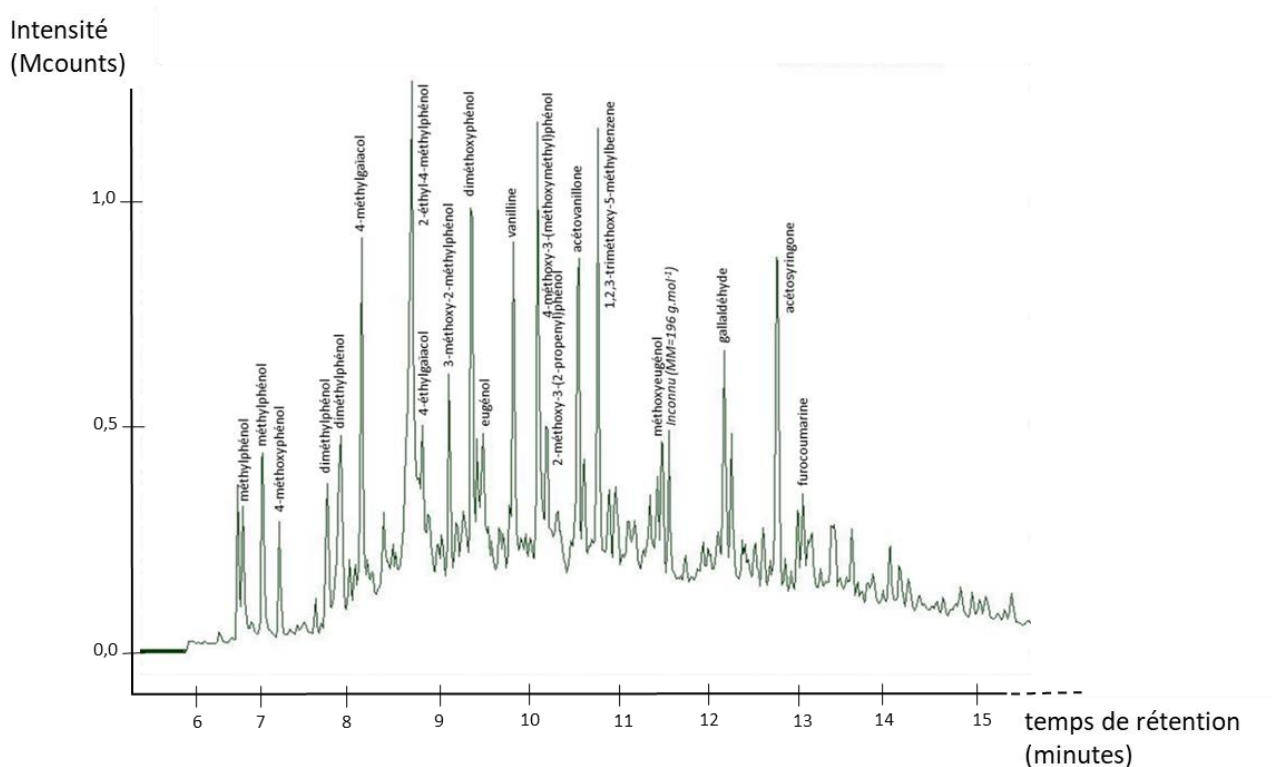


Figure 64 : Chromatogramme en mode full scan (ionisation électronique) d'un échantillon de peau de courgette exposé à une combustion de biomasse

Extrait obtenu après application de la stratégie globale d'analyse au broyat de l'échantillon ; Identification des pics par comparaison des spectres en mode ionisation électronique avec la banque de données NIST et confirmation de l'identité après analyse en mode ionisation chimique

Quelques CO-HAPs ont été repérés sur les chromatogrammes obtenus (en focalisant sur un des ions majoritaires) ; néanmoins, aucun d'entre eux n'est majoritaire lors de l'analyse en mode full scan et ne sont pas directement repérable (Figure 64). Les pics les plus distincts appartiennent tous à des composés possédant au moins un cycle aromatique et un atome d'oxygène (familles des phénols, éthers oxydes de phénols, ...) ce qui atteste que la stratégie mise en point au cours de cette étude est spécifique des hydrocarbures aromatiques oxygénés.

3.6. Conclusion

Dans cette étude, une stratégie d'analyse est mise au point pour la détermination des CO-HAPs présents à l'état de traces dans les fruits et légumes. La stratégie d'analyse est constituée d'une extraction QuEChERS, d'une purification par SPE et d'une analyse par GC-MS.

Les étapes de l'extraction QuEChERS ont été optimisées sur trois CO-HAPs cibles. Cette méthode permet une extraction efficace pour 10g d'échantillon des CO-HAPs avec l'acétate d'éthyle et un mélange de sels contenant 1g de NaCl et 4g de MgSO₄. Une étape de purification est ensuite appliquée en évaluant trois techniques de purification (dSPE, MEPS et SPE). La technique choisie pour la purification des extraits QuEChERS est une Extraction en Phase Solide avec une phase solide de type HLB permettant une élimination des composés de la matrice tout en gardant un bon recouvrement des CO-HAPs extraits.

Les paramètres de la méthode de séparation en GC-MS ont été optimisés. La méthode d'analyse GC-MS permet d'obtenir des résolutions satisfaisantes des pics chromatographiques et une bonne sensibilité d'analyse. Enfin, une base de données contenant 28 CO-HAPs a été créée pour l'identification et le repérage futur des CO-HAPs.

La stratégie globale d'analyse QuEChERS-SPE-GC-MS a été validée et a montré une bonne linéarité (coefficients de détermination R² tous supérieurs à 0,942 et pour la plupart supérieurs à 0,984) et une bonne sensibilité d'analyse. Des limites de détection et de quantification très faibles sont déterminées permettant d'atteindre des niveaux de concentration de l'ordre de quelques dixièmes de µg/kg pour certains CO-HAPs dans des matrices complexes telle que les fruits et les légumes. L'avantage majeur de cette stratégie d'analyse est l'absence d'effet de matrice ainsi que sa spécificité. Elle est transposable à au moins une dizaine de matrices (fruits, légumes et de l'herbe) et elle permet d'extraire sélectivement les hydrocarbures aromatiques oxygénés.

La méthodologie globale développée est appliquée, par la suite, à l'analyse des CO-HAPs dans des échantillons de fruits et légumes issus de jardins potagers urbains, ce qui n'a jamais été réalisé auparavant.

**Chapitre 4. Applications à des végétaux
issus de jardins potagers urbains**

4.1. Présence des CO-HAPs dans les végétaux situés dans des jardins potagers urbains

Au total 40 échantillons végétaux (Tableau 14 et Tableau 15) ont été évalués pour leur patrimoine en CO-HAPs en milieu naturel. La très grande majorité (38 sur 40) ont été prélevés en milieu urbain. Parmi ces échantillons, des salades, des tomates et des feuilles de tomates ont été récoltées spécifiquement dans sept jardins potagers situés dans les trois plus grandes métropoles normandes à savoir les villes de Caen, Rouen et Le Havre. Une comparaison de la présence en CO-HAPs est tout d'abord réalisée en partie 4.1.1. Pour un des jardins potagers situé en milieu urbain la palette végétale (salades, tomates et leurs feuilles) a été étendue à des courgettes et des feuilles de courgettes au cours de 2 années, ce qui fera l'objet d'une présentation en partie 4.1.2.4.

La distribution de 29 CO-HAPs dans les végétaux sera étudiée dans ces différentes parties à travers la présence de :

- 13 CO-HAPs dont les concentrations ont pu être déterminées grâce à la stratégie globale d'analyse mise au point en partie précédente (1-naphtaldéhyde, 1,4-naphtoquinone, 1-acénaphténone, 9-fluorénone, benzophénone, xanthone, 6H-dibenzo[bd]pyran-6-one, 9,10-anthraquinone, anhydride 1,8-naphtalique, benzo[a]fluorénone et benzo[b]fluorénone, benzanthrone, 1,2-benzanthraquinone),
- 13 CO-HAPs dont le niveau a été évalué à travers leur aire relative au moyen de la stratégie globale d'analyse (1,2-naphtoquinone, acénaphtènequinone, anhydride 1,2-naphtalique, anhydride 2,3-naphtalique, 9-phénanthrène-carboxaldéhyde, 1,4-anthraquinone, 9,10-phénanthrènequinone, 2,2'-biphényldicarboxaldéhyde, 4,4'-biphényldicarboxaldéhyde, 2-méthylantraquinone, 2-nitro-9-fluorénone, 1-pyrèncarboxaldéhyde, acéanthrènequinone)

La présence de 3 CO-HAPs n'a pu être évaluée (anthrone, 1,4-chrysènequinone et 5,6-chrysènequinone) ; ces derniers n'ayant pu être repérés au cours des analyses.

4.1.1. Présence des CO-HAPs dans des salades, tomates et feuilles de tomates issues de jardins potagers urbains normands

La présence de CO-HAPs dans des salades, tomates et feuilles de tomates a été évaluée dans 8 jardins potagers urbains distincts dont 3 situés dans la ville de Rouen (Année 2019), 3 situés dans la ville du Havre (Année 2019) et 1 situé dans la ville de Caen (Année 2018 et Année 2019). Parmi la très large palette végétale étudiée, la salade a tout d'abord été sélectionnée car elle possède une importante surface d'exposition. La tomate est étudiée parce qu'elle est le seul fruit largement cultivé dans les jardins potagers et des feuilles situées sur les mêmes pieds de tomate ont été prélevées afin de vérifier s'il existe une relation entre la présence sur le fruit et dans les feuilles correspondantes.

Une synthèse des résultats est consignée dans le Tableau 32. Globalement les concentrations en CO-HAPs sont toutes très faibles avec un maximum de 5,80 µg/kg retrouvé pour le 1-naphtaldéhyde dans un échantillon de feuilles de tomate. Excepté pour cet échantillon, seule la **benzophénone** présente quelques valeurs de concentrations comprises entre 2,5 et 5 µg/kg et peut être clairement considérée comme le CO-HAP majoritaire déterminé dans ces végétaux étudiés en milieu urbain. La benzophénone (LOQ = 0,14 µg/kg) a pu être quantifiée dans les 8 échantillons de tomates, les 8 échantillons de feuilles de tomate et 7 échantillons sur 8 de salade. Les mécanismes conduisant à la formation de la benzophénone sont assez peu connus. Sa présence dans l'environnement a pu être attribuée à des émissions de moteur diesel (Jakober et al 2006). Elle est, de plus, largement utilisée comme additif notamment dans les insecticides, les cosmétiques et les produits de nettoyage ménagers ; au total 10 000 tonnes de benzophénone ont été produites dans l'Union européenne en 2003 (NTP 2006). Des concentrations variant entre 0,38 et 0,43 ng/m³ ont été déterminées dans des particules d'air en milieu urbain (Sienra et al. 2006). La benzophénone peut pénétrer dans l'environnement par les lixiviats de décharges de déchets solides et *via* les effluents des stations d'épuration des eaux usées (Ricking et al. 2003 ; Jeon et al. 2006). La présence de la benzophénone dans l'environnement semble ubiquitaire et a été reportées dans les sols, les sédiments et les écosystèmes aquatiques (Careghini et al. 2015). Des teneurs dans les sols entre 0,82 et 16,55 µg/kg et dans les sédiments entre 2,7 et 110 µg/kg ont été déterminées par Careghini *et al.* (Careghini et al. 2015). Les concentrations en benzophénone retrouvées dans les échantillons végétaux prélevés en milieu urbain, dans le cadre de cette étude, peuvent être potentiellement issus de sources de combustion (exposition aérienne) et/ou d'activités industrielles (pollution des sols).

La **1-acénaphthénone** et la **9-fluorénone** atteignent des concentrations maximales respectivement de 0,75 et de 2,26 µg/kg dans les végétaux étudiés. Ils ont pu être détectés, et même la plupart du temps

quantifiés, dans la quasi-totalité des échantillons. La stratégie globale d'analyse permet leur quantification à des teneurs relativement faibles (LOQ respectivement égales à 0,03 µg/kg et à 0,09 µg/kg). La présence de ces 2 composés a été attestée par Nalin *et al.* (Nalin et al. 2016) qui ont retrouvé lors de combustion de bois des pourcentages de 15 à 20% pour la 1-acénaphthénone et de 8 à 25% pour la 9-fluorénone par rapport au total émis en CO-HAPs. Une origine reliée à des sources de combustion en milieu urbain peut être ainsi envisagée pour la 1-acénaphthénone et la 9-fluorénone.

Le **1-naphtaldéhyde**, la **6H-dibenzo[bd]pyran-6-one** et la **benzanthrone** ont pu être détectés et quantifiés dans un peu plus de la moitié des échantillons. Leur limite de détection (toujours inférieure à 0,12 µg/kg) est aussi relativement faible. Leurs teneurs sont néanmoins très différentes selon le type de végétal étudié. Le 1-naphtaldéhyde, le plus léger des CO-HAPs recherchés, peut atteindre des concentrations assez importantes dans quelques échantillons de feuilles de tomate (concentration maximale de 5,80 µg/kg) ce qui se traduit par une concentration médiane de 1,31 µg/kg dans ce type de végétal. Les concentrations médianes en 1-naphtaldéhyde sont plus faibles (respectivement 0,62 µg/kg et 0,47 µg/kg) pour les échantillons de salade et de tomate. La **6H-dibenzo[bd]pyran-6-one** est quantifiée à des concentrations faibles dans les trois types d'échantillons (concentration maximale de 1,76 µg/kg). La benzanthrone, CO-HAP lourd, est quantifiée à des concentrations faibles aux alentours de 1 µg/kg dans les trois types d'échantillons. Cependant elle est quantifiée dans la quasi-totalité des échantillons de salades. Contrairement au 1-naphtaldéhyde, présent en faible teneur dans la salade, la benzanthrone semble se déposer plus facilement sur la salade.

Les **1,2-naphtoquinone** et **1,4-naphtoquinone** n'ont été détectées dans aucun des échantillons issus des jardins potagers urbains. Les naphtoquinones ont été identifiées auparavant dans des émissions de véhicules diesel et essence (Cho et al., 2004; Jakober et al., 2007) ; elles sont ainsi potentiellement présentes dans l'atmosphère des grandes villes notamment celles visées au cours de cette étude (Caen, Rouen et Le Havre). En ce qui concerne la 1,4-naphtoquinone, en dépit d'une limite de détection relativement élevée (LOD = 1,26 µg/kg), il est possible de conclure que ce composé n'atteint pas des teneurs importantes (concentration < LOD) dans les végétaux testés. Un constat similaire peut être réalisé pour les **benzofluorénones** (benzo[a]fluorénone et benzo[b]fluorénone, composés co-élués dans les conditions d'analyse retenues) ; leur concentration globale ne peut excéder 2,69 µg/kg (LOD pour la benzo[a]fluorénone) dans les tomates, feuilles de tomates et salades récoltées en milieu urbain.

L'**anhydride 1,8-naphtalique** n'a été détectée que dans 4 échantillons au total sur les 24 testés (Tableau 32). Elle atteint une concentration d'environ 2 µg/kg dans un échantillon de salade, un échantillon de tomate et un échantillon de feuilles de tomate. Néanmoins, les teneurs relevées sont

inférieures à 0,5 µg/kg (LOD = 0,54 µg/kg) dans la quasi-totalité des échantillons. En considérant l'ensemble des anhydrides naphthaliques (anhydrides 1,2-naphthalique, 2,3-naphthalique et 1,8-naphthalique) leur présence semble plus importante dans les tomates que dans les autres végétaux testés.

La **9,10-anthraquinone**, utilisée anciennement dans le traitement des fruits et légumes, n'est plus autorisée dans l'Union Européenne. Cette dernière a fixé la limite maximale de résidus pour la 9,10-anthraquinone (LMR) dans les fruits et légumes à l'état frais ou congelé à 0,01 mg/kg. La 9,10-anthraquinone est le CO-HAPs le plus abondant dans les échantillons d'air et particules d'air (Albinet et al. 2007, 2008 ; Ringuet et al. 2012a; Tomaz et al 2016). Cependant, les concentrations en 9,10-anthraquinone trouvées dans les échantillons végétaux sont faibles (concentration maximale de 1,19 µg/kg) mais ne peuvent pas être négligées notamment pour certains types de végétaux. Les quinones les plus lourdes (**anthraquinones, benzanthraquinone, ...**) ont été détectées dans assez peu d'échantillons malgré des limites de détection potentiellement peu élevées (LOD = 0,18 µg/kg pour la 9,10-anthraquinone ; LOD = 0,20 µg/kg pour la 1,2-benzanthraquinone).

Tableau 32 : Liste des 29 CO-HAPs évalués ; concentrations médiane et maximale trouvées dans les échantillons végétaux situés dans des jardins potagers urbains

Composé	MM	Quantifié (Q) (LOD) / niveau évalué (NE)	Salade (8 éch.)			Tomate (8 éch.)			Feuille tomate (8 éch.)		
			DéTECTÉ *	Quantifié **	C _{médiane} - C _{max}	DéTECTÉ *	Quantifié **	C _{médiane} - C _{max}	DéTECTÉ *	Quantifié **	C _{médiane} - C _{max}
1-naphtaldéhyde	156	Q (0,10)	3	3	0,62-1,27	5	5	0,47-0,75	5	5	1,31-5,80
1,2-naphtoquinone	158	NE	0	-	-	0	-	-	0	-	-
1,4-naphtoquinone	158	Q (1,26)	0	0	-	0	0	-	0	0	-
1-acénaphténone	168	Q (0,01)	7	7	0,15-0,30	7	7	0,18-0,75	7	7	0,37-0,64
9-fluorénone	180	Q (0,03)	6	6	0,49-1,12	8	6	0,37-1,06	6	6	0,74-2,26
acénaphthènequinone	182	NE	1	-	-	2	-	-	2	-	-
benzophénone	182	Q (0,04)	7	7	1,86-4,74	8	8	1,45-4,59	8	8	2,39-4,30
anthrone	194	x	0	-	-	-	-	-	-	-	-
6H-dibenzo[bd]pyran-6-one	196	Q (0,08)	4	4	0,91-1,46	5	4	0,30-0,92	4	4	0,84-1,76
xanthone	196	Q (0,01)	1	1	0,08	0	0	-	1	1	0,12
anhydride 1,2-naphtalique	198	NE	0	-	-	4	-	-	0	-	-
anhydride 1,8-naphtalique	198	Q (0,54)	1	1	2,06	2	1	1,91	1	1	2,45
anhydride 2,3-naphtalique	198	NE	0	-	-	3	-	-	1	-	-
9-phénanthrène-carboxaldéhyde	206	NE	0	-	-	1	-	-	1	-	-
1,4-anthraquinone	208	NE	2	-	-	2	-	-	4	-	-
9,10-anthraquinone	208	Q (0,18)	2	2	0,94-2,05	1	1	1,29	4	4	0,76-1,19

Chapitre 4. Applications à des végétaux issus de jardins potagers urbains

9,10-phénanthrènequinone	208	NE	0	-	-	0	-	-	0	-	-
2,2'-biphényldicarboxaldéhyde	210	NE	1	-	-	0	-	-	0	-	-
4,4'-biphényldicarboxaldéhyde	210	NE	1	-	-	0	-	-	1	-	-
2-méthylanthraquinone	222	NE	3	-	-	2	-	-	0	-	-
2-nitro-9-fluorénone	225	NE	0	-	-	0	-	-	0	-	-
benzo[a]fluorénone + benzo[b]fluorénone	230	Q (2,69)	0	0	-	0	0	-	0	0	-
1-pyrènedicarboxaldéhyde	230	NE	0	-	-	0	-	-	0	-	-
benzanthrone	230	Q (0,12)	7	7	0,89-1,39	4	4	0,53-1,67	4	4	0,87-1,52
acéanthrènequinone	232	NE	0	-	-	0	-	-	0	-	-
1,4-chrysènequinone	258	x	0	-	-	0	-	-	0	-	-
5,6-chrysènequinone	258	x	0	-	-	0	-	-	0	-	-
1,2-benzanthraquinone	258	Q (0,20)	0	0	-	0	0	-	0	0	-

« * » nombre de fois détecté dans l'échantillon

« ** » nombre de fois quantifié dans l'échantillon

« x » non détecté

« - » non déterminé

NE : niveau évalué

Q : quantifié

4.1.2. Différence de composition en CO-HAPs dans des salades, tomates et feuilles de tomates issues de jardins potagers urbains normands

Malgré les teneurs relativement faibles voire très faibles retrouvées en CO-HAPs dans les échantillons végétaux récoltés dans les jardins potagers urbains, quelques différences semblent se dessiner au niveau de la composition en CO-HAPs entre les salades, les tomates et les feuilles de tomates. Ces aspects seront discutés dans cette partie en comparant tout d'abord le contenu global en CO-HAPs (partie 4.1.2.1), puis le contenu en certains CO-HAPs (partie 4.1.2.2) tout en mettant en évidence des différences entre sites de production (partie 4.1.2.3) et selon l'année (partie 4.1.2.4).

4.1.2.1. Comparaison globale du contenu en CO-HAPs dans les végétaux

Les teneurs en 9 CO-HAPs possédant tous des limites de quantification inférieures à 0,18 µg/kg ont été sommées pour chacun des échantillons récoltés dans les jardins potagers urbains. De cette sélection sont exclus la 1,4-naphtoquinone, l'anhydride 1,8-naphtalique et la benzo[a]fluorénone qui possèdent des limites de quantification très élevées par rapport aux autres composés. Une teneur totale en CO-HAPs (\sum 9 CO-HAPs) peut ainsi être exprimée et faire l'objet d'une comparaison entre végétaux (Figure 65). Les végétaux ciblés sont les salades, tomates et feuilles de tomate issues des 7 jardins potagers urbains.

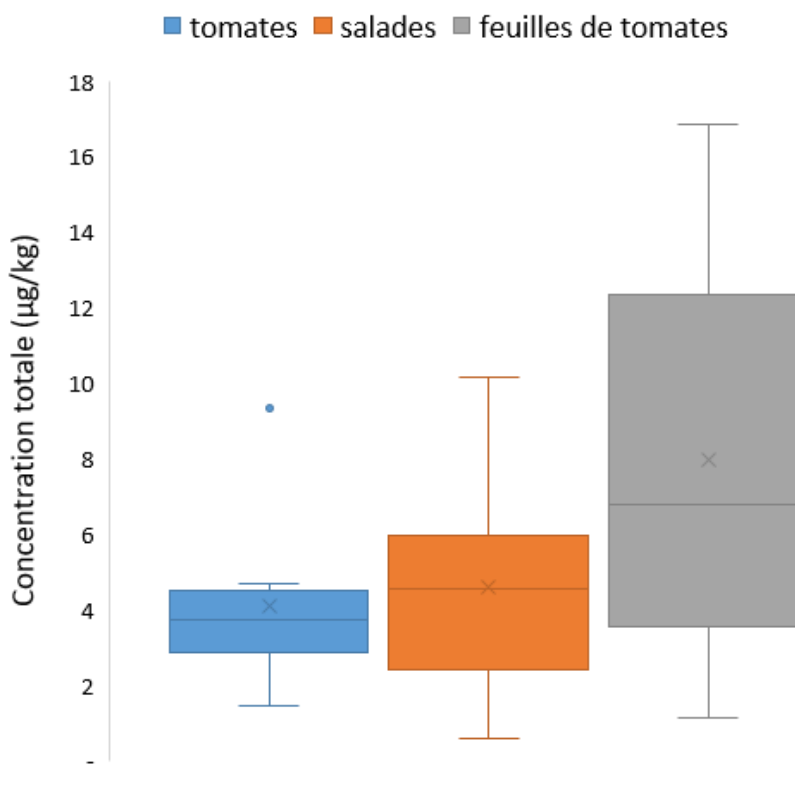


Figure 65 : Boîte à moustaches des teneurs totales en 9 CO-HAPs (µg/kg) dans les échantillons de salade tomate et feuilles de tomates issus des jardins potagers urbains (Année 2019, n=7)

Une dispersion importante de la concentration totale en CO-HAPs ($\Sigma 9$ CO-HAPs) peut être observée quel que soit le végétal mis en jeu (Figure 65). La concentration totale en CO-HAPs est néanmoins relativement dépendante du type de végétal étudié. La médiane de la concentration totale pour les tomates est de l'ordre de 4 µg/kg, alors qu'elle est de l'ordre de 5 µg/kg pour les salades et de 7 µg/kg pour les feuilles de tomates. Ces résultats attestent d'une présence globale en CO-HAPs beaucoup plus importante dans les feuilles de tomate que dans les tomates elles-mêmes. De plus, la salade présente un « comportement intermédiaire » vis-à-vis de la présence en CO-HAPs. Il semble ainsi qu'il existe un lien entre la présence globale en CO-HAPs et les caractéristiques de la surface d'exposition de l'échantillon. Une tendance à une adsorption dépendante de la surface d'exposition a déjà été signalée dans le cas de fruits exposés aux HAPs (Paris et al. 2018).

Dans une étude de suivis des dépôts de OHAPs et de HAPs (dont quelques CO-HAPs) en milieu urbain (Walgraeve 2017 et al.), des feuilles de *Taxus baccata* ont été utilisées comme bio-indicateurs. L'image microscopique d'une coupe transversale d'une feuille de *T. baccata* a permis de montrer qu'elle contient des cellules épidermiques recouvertes d'une cuticule ou d'une couche de cire qui sert de lieu

de stockage pour les micropolluants cibles. Cette surface cireuse varie selon le type du végétal ce qui se traduit par différents niveaux de contamination.

4.1.2.2. Présence spécifique de CO-HAPs dans les échantillons végétaux

En raison de la difficulté d'interprétation des résultats et notamment d'une forte dispersion des concentrations relevées en CO-HAPs, une analyse en composantes principales (ACP) est utilisée (Figure 66) pour caractériser le comportement des CO-HAPs quantifiés vis-à-vis du type d'échantillon. La médiane des concentrations de chaque CO-HAPs pour un type de végétal donné (tomates, salades, feuilles de tomates) est utilisée comme valeur de référence pour l'élaboration de cette analyse statistique et ainsi réduire les variations liées à l'environnement de chaque échantillon. Les quantités médianes liées à 6 CO-HAPs (benzanthrone, 6H-dibenzo[bd]pyran-6-one, benzophénone, 9-fluorénone, 1-acénaphténone, 1-naphtaldéhyde) ont été prises exclusivement en compte du fait de leur présence quantifiable dans la quasi-totalité des échantillons.

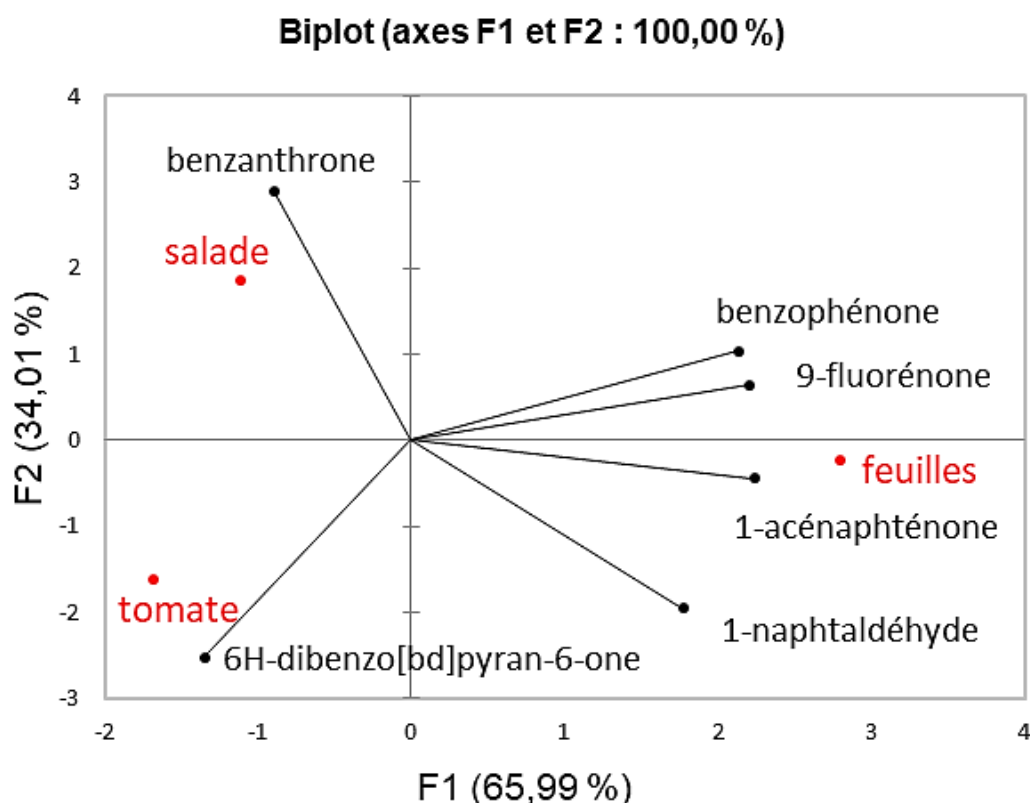


Figure 66 : Analyse en composantes principales (graphique d'observation et de variables) basée sur la concentration de 6 CO-HAPs dans les échantillons végétaux des jardins potagers urbains

Les deux axes principaux F1 et F2 de l'ACP visant à caractériser la présence des CO-HAPs dans un type d'échantillon (Figure 66) couvrent 100% de la variance et peuvent être considérés comme une représentation complète de l'ensemble des résultats. Les trois types d'échantillons (salades, tomates, feuilles) se distinguent clairement sur le graphique de variables, ce qui révèle une présence différenciée des CO-HAPs selon le type d'échantillon. La combinaison des graphiques d'observation et de variables permet d'observer que le 1-naphtaldéhyde, la 1-acénaphténone, la 9-fluorénone et la benzophénone (CO-HAPs légers) sont plutôt spécifiques des feuilles de tomates, que la benzanthrone (CO-HAP lourd) est plutôt spécifique de la salade, et qu'enfin la 6H-dibenzo[bd]pyran-6-one est plutôt spécifique des tomates.

Les tomates et feuilles de tomates sont plus spécifiquement étudiées car il est possible de considérer qu'elles ont exactement le même environnement aérien et terrestre. En effet, pour chaque jardin potager urbain, les feuilles de tomates analysées ont été prélevées sur le même pied que les tomates. Une comparaison directe sous forme de diagrammes empilés (somme des concentrations de chaque CO-HAPs) peut être par conséquent réalisée (Figure 67).

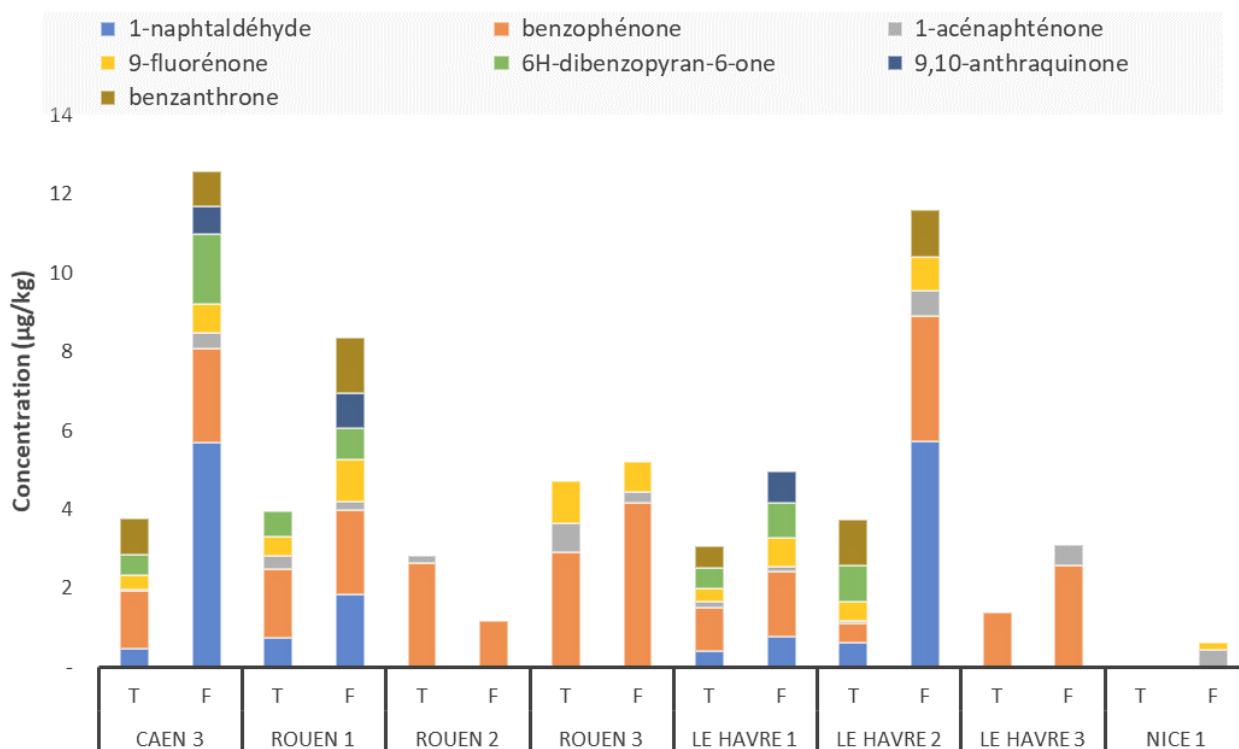


Figure 67 : Comparaison de la concentration totale des CO-HAPs quantifiés dans les échantillons de tomates et de feuilles de tomates (année 2019)

T : tomates, F : feuilles de tomates

Il est confirmé par ces diagrammes (Figure 67) que, quel que soit le site de prélèvement, les concentrations totales en CO-HAPs dans les tomates sont inférieures à celles déterminées dans les feuilles de tomates correspondantes. Seul un site de prélèvement déroge à cette règle et concerne la ville de Rouen (échantillon « Rouen 2 ») ; pour ce site, les concentrations totales sont quasiment les plus faibles et dominées par une présence presque exclusive de benzophénone. Les teneurs plus élevées en CO-HAPs retrouvées dans les feuilles de tomates peuvent être liées à leur plus grande surface d'exposition comparativement au fruit. Une exposition aérienne des végétaux aux CO-HAPs ou à des précurseurs de CO-HAPs est à privilégier dans ce contexte ; en effet, il est peu probable qu'ils proviennent du sol étant donné que les teneurs sont déterminées en poids relatif. De plus, la capacité des CO-HAPs à se fixer sur l'épiderme du végétal semble être aussi à négliger au regard de la surface totale d'exposition car la surface du fruit est plus hydrophobe que celle des feuilles (Górna-Binkul et al. 1996, 1997).

Des résultats similaires sont obtenus pour le contenu en HAPs dans des végétaux récoltés en milieu urbain (Ashraf et al. 2012). Des teneurs en HAPs plus élevées ont été retrouvées dans les légumes à feuilles (épinards) que les autres fruits et légumes.

En fonction de ces résultats, des essais de corrélation pour chaque CO-HAPs ont été réalisés. Il est à noter que la 9,10-anthraquinone ne présente pas de corrélation particulière mais qu'elle est présente dans 3 échantillons de feuilles de tomates alors que sa concentration est inférieure à sa limite de quantification pour l'ensemble des échantillons de tomates. Majoritairement, les CO-HAPs sont individuellement plus présents dans les feuilles que dans le fruit mais une seule corrélation significative a été obtenue et elle concerne la 9-fluorénone (Figure 68).

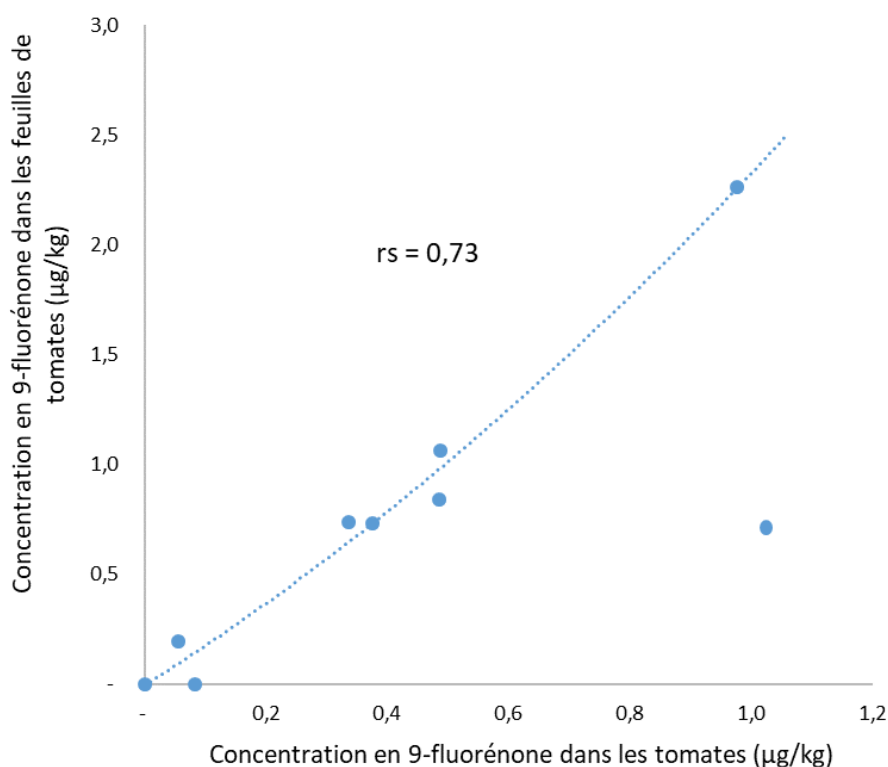


Figure 68 : Corrélation pour la concentration en 9-fluorénone dans les feuilles de tomates et dans les tomates

Un coefficient de corrélation (r_s) non paramétrique de Spearman égal à 0,73 pour un intervalle de confiance de 95 % ($p = 0,05$) est obtenu pour la 9-fluorénone. Cette valeur exprime une relation forte entre la concentration en 9-fluorénone dans les tomates et dans les feuilles de tomates.

4.1.2.3. Différence de composition en CO-HAPs selon les sites de production

Afin d'évaluer la composition en CO-HAPs selon le site de prélèvement, les 3 valeurs de concentrations totales obtenues ($\sum 9$ CO-HAPs pour les tomates, les salades et les feuilles de tomates) sont prises en compte et comparées au moyen d'une boîte à moustaches (Figure 69).

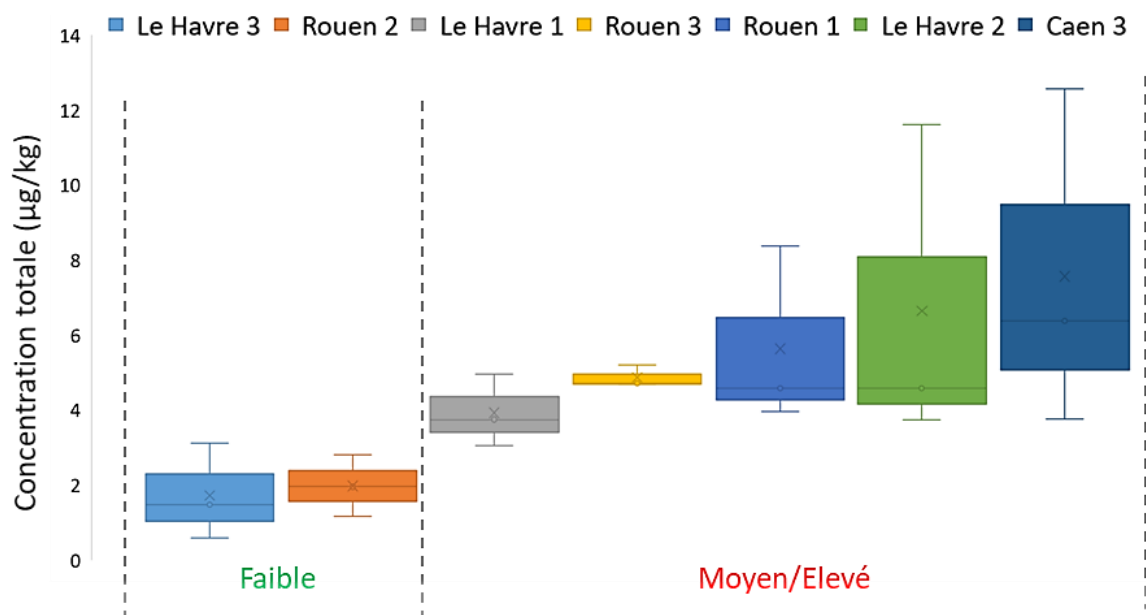


Figure 69 : Boîte à moustaches des teneurs totales en CO-HAPs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) dans les trois échantillons végétaux (tomates, salade, feuilles de tomates) issus des jardins potagers urbains

Il est ainsi possible de distinguer deux « types » de jardins potagers urbains selon leurs concentrations globales en CO-HAPS : ceux possédant des :

- concentrations totales faibles, variant entre 0,58 et 3,11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ et qui correspondent aux sites « Le Havre 3 » et « Rouen 2 »,
- concentrations totales plus élevées, variant entre 3,06 et 12,57 $\mu\text{g}/\text{kg}$ et qui correspondent aux autres sites à savoir « Le Havre 1 et 2 », « Rouen 1 et 3 » et « Caen 3 ».

La localisation des sites de prélèvement est rappelée ci-dessous en Figure 70.

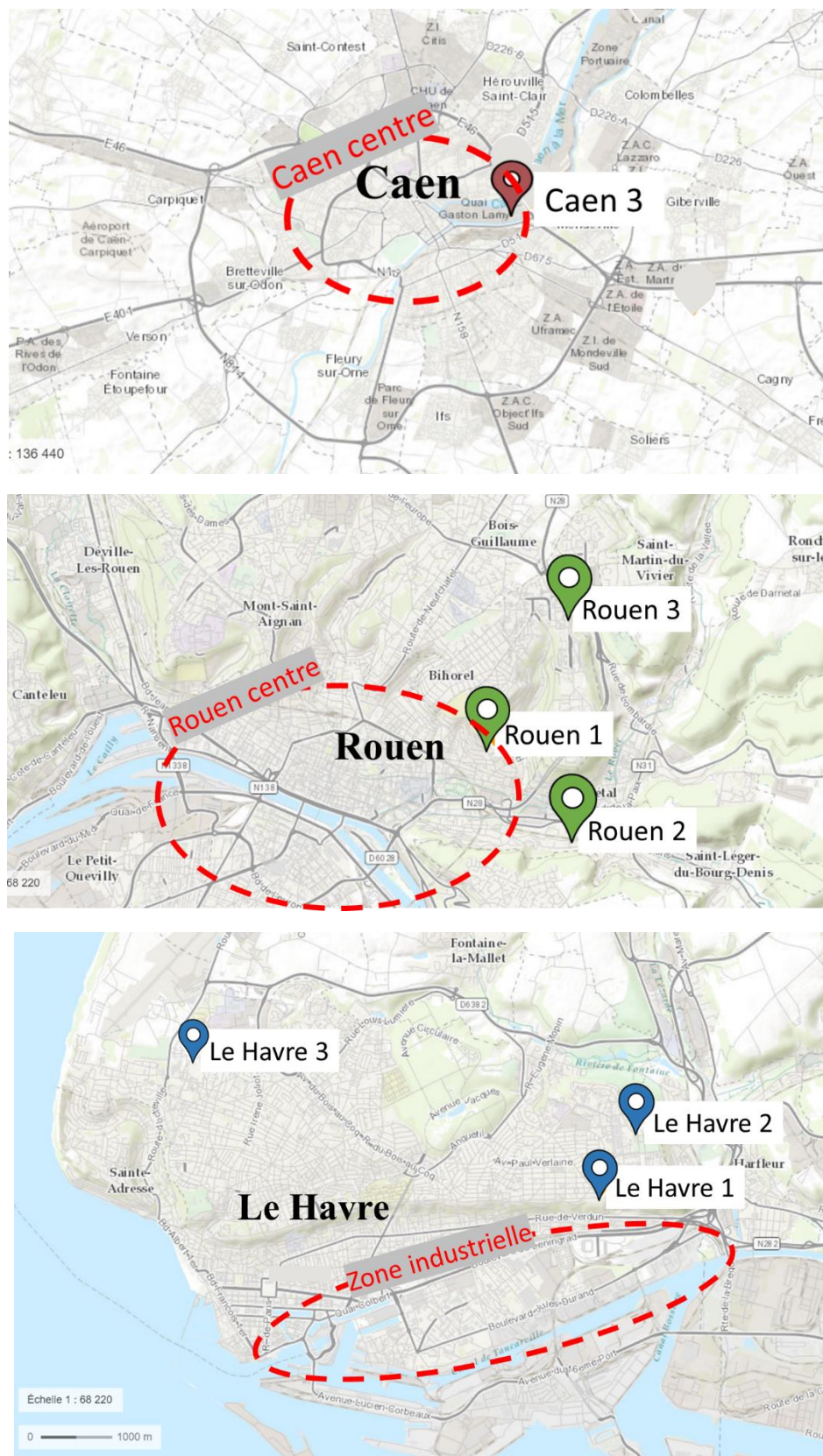


Figure 70 : Localisation des sites de prélèvement de la deuxième campagne (Année 2019) à Caen, Rouen et Le Havre

Parmi les deux sites possédant un niveau faible total en CO-HAPs, on retrouve tout d'abord un jardin potager « **Le Havre 3** » (Figure 69) qui est situé à l'ouest de la ville du Havre (Figure 70) et exposé aux vents dominants provenant de la mer. Situé à l'écart du centre-ville et de l'activité industrielle de la ville, il est peu probable qu'il soit soumis à une pollution urbaine étant donné que les vents dominants en Normandie proviennent majoritairement de l'ouest.

De même, le jardin potager « **Rouen 2** » possède une localisation particulière (Figure 70) ; il est moins soumis aux vents dominants de la ville que les deux autres sites « Rouen 1 » et « Rouen 2 » et il est localisé dans une vallée relativement protégée du vent et en bordure de la ville. De plus, nous n'avons remarqué l'existence d'aucune source éventuelle de pollution (trafic routier, activité industrielle, ...) à proximité immédiate de ce site. Ces constats tendent à confirmer les hypothèses formulées par Kojima *et al.* et Albinet *et al.* (Kojima *et al.* 2010b; Albinet *et al.* 2007) qui ont démontré que les concentrations en CO-HAPs dans l'atmosphère ont tendance à diminuer avec l'augmentation de la distance par rapport à la source de pollution.

Afin de hiérarchiser la discussion pour les autres sites où les végétaux contiennent des teneurs plus élevées en CO-HAPs une analyse en composantes principales est réalisée (Figure 71).

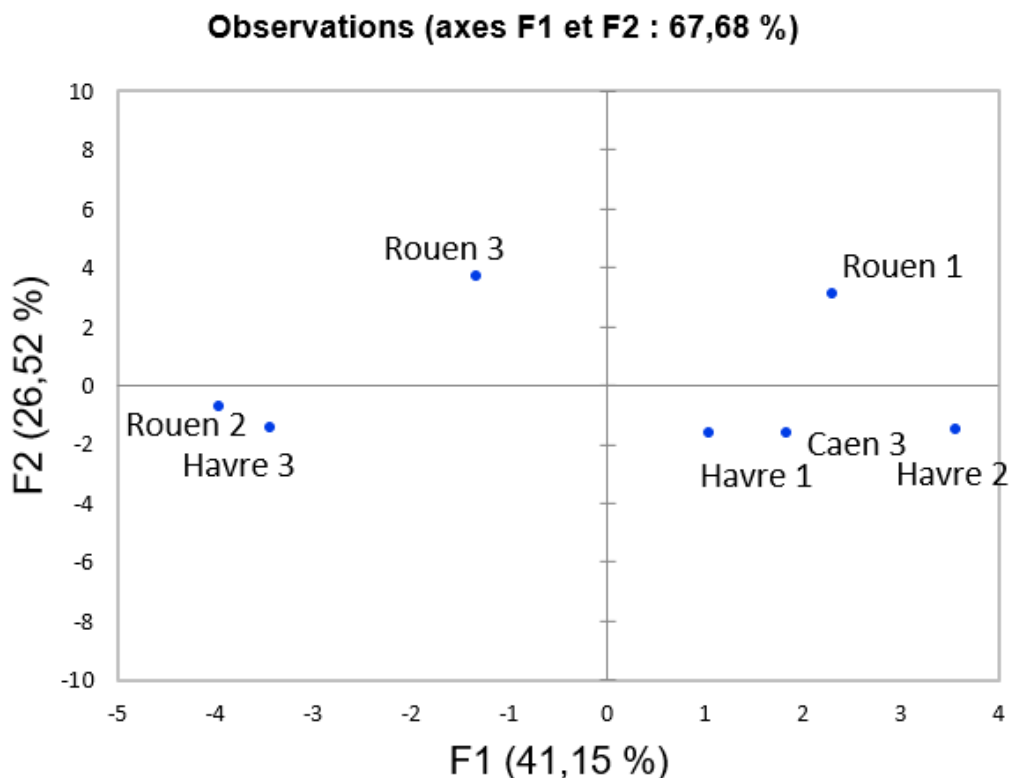


Figure 71 : Analyse en composantes principales (graphique d'observation) basée sur la concentration de 6 CO-HAPs (dont LOQ < 0,16 µg/kg) selon le lieu de prélèvement dans les échantillons végétaux des jardins potagers urbains

La représentation statistique (Figure 71) permet de séparer clairement les sites de prélèvements entre eux. Les deux sites « Rouen 2 » et « Le Havre 3 », où les teneurs en CO-HAPs sont les plus faibles, sont différenciés des autres jardins potagers selon l'axe des abscisses (projection représentant la plus grande variabilité des données soit 41% de la variance).

Le site de prélèvement « **Rouen 3** » est nettement isolé sur cette projection ; situé le plus en hauteur (environ 110 mètres d'altitude), il correspond au site urbain le plus éloigné du centre d'une des villes et de zones importantes d'activités industrielles. Il est néanmoins situé à proximité d'une chaufferie mais relativement peu active à la période où ont été réalisés les prélèvements (mois de Juillet) et les végétaux y sont exposés aux vents dominants de la ville.

Les 4 autres jardins potagers sont situés en centre-ville (« **Rouen 1** »), à proximité de zones industrielles importantes (« **Le Havre 1** » et « **Le Havre 2** ») et d'un fort trafic routier (« **Caen 3** ») (Figure 20) ; la présence en CO-HAPs semble y être ainsi plus importante dans les végétaux prélevés.

4.1.2.4. Différence de composition en CO-HAPs selon le facteur « Année »

Des échantillons de tomates, feuilles de tomates, courgettes et feuilles de courgettes sont récoltés dans le jardin potager urbain « Caen 3 » (Figure 70) en 2018 et en 2019. Les broyats d'échantillons ont tous été congelés (-26 °C) pour être tous extraits, purifiés et analysés au cours de la même semaine afin de s'affranchir d'une potentielle dérive des résultats. L'objectif est de vérifier s'il existe un effet « année » pour la composition en CO-HAPs des végétaux situés dans les jardins potagers urbains. Les profils de concentrations en CO-HAPs pour les années 2018 et 2019 pour les courgettes, les feuilles de courgettes, les tomates et les feuilles de tomates sont présentés en Figure 72.

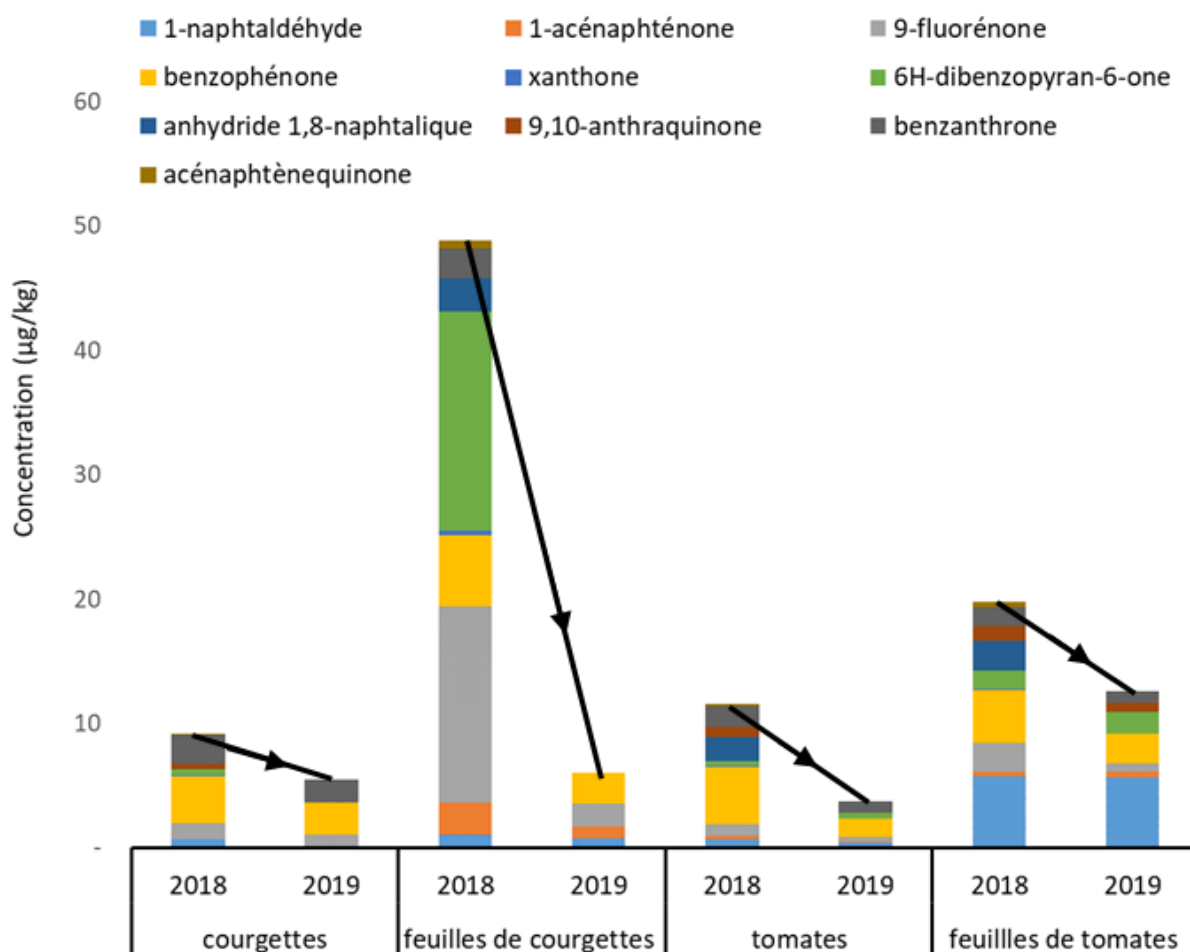


Figure 72 : Concentrations totales en CO-HAPs quantifiés dans les végétaux issus du jardin potager urbain « Caen 3 » pour les années 2018 et 2019

Cette étude permet tout d’abord de confirmer que (i) quel que soit l’année et (ii) quel que soit le végétal étudié, la concentration totale en CO-HAPs est supérieure dans les feuilles que dans le fruit ou le légume (Figure 72). Le contenu en CO-HAPs dans chaque échantillon semble être très dépendant de l’année de production. Des teneurs globales en CO-HAPs très élevées sont obtenues pour l’année 2018 comparativement à l’année 2019. Les feuilles de courgettes récoltées au cours de l’année 2018 ont notamment une concentration totale 8 fois plus élevée en CO-HAPs que celles récoltées au cours de l’année 2019. Cette diminution de teneur totale entre l’année 2018 et l’année 2019 est traduite soit (i) par une teneur plus faible de certains CO-HAPs (la concentration en benzophénone et en 9-fluorénone est notamment plus de trois fois plus faible en 2019 qu’en 2018 pour les tomates) ou soit (ii) par le fait que certains CO-HAPs comme la 9,10-anthraquinone et l’anhydride 1,8-naphtalique n’ont été déterminés que dans les échantillons prélevés en 2018. Une variabilité annuelle très marquée est ainsi observée pour l’ensemble des végétaux.

Une analyse en composantes principales (ACP) a été effectuée pour une représentation différente des données. Les échantillons végétaux produits pendant l’année 2018 et 2019, ont été comparés au moyen des concentrations en CO-HAPs quantifiés dont la LOQ < 0,16 µg/kg (Figure 73). En raison de sa limite de quantification plus élevée, les concentrations en anhydride 1,8-naphtalique n’ont pas été pris en compte pour cette ACP.

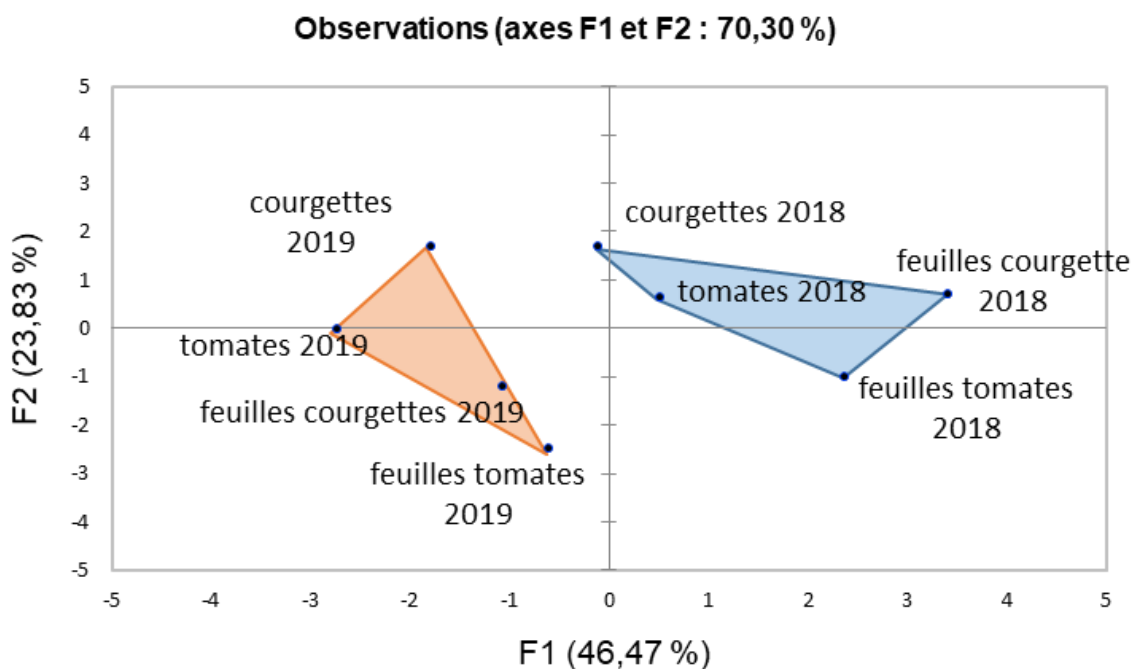


Figure 73 : Analyse en composantes principales (graphique d’observation) basée sur la concentration de 6 CO-HAPs dans les échantillons végétaux issu du jardin Caen 3 (année 2018 et 2019)

La première et la deuxième composantes principales (F1 et F2) décrivent respectivement 46 % et 24 % de la variabilité (Figure 73). Deux groupes d'échantillons sont établis, avec chaque groupe qui correspond à une année d'échantillonnage. La formation de ces groupes ainsi que leur position sur le graphique sont liés à la variabilité annuelle ainsi qu'au type d'échantillon. L'axe de la composante principal (F1) semble séparer les échantillons selon leurs contenus en CO-HAPs, avec une augmentation de la teneur totale en CO-HAPs de la gauche vers la droite. Les groupes formés dans l'ACP, malgré la faible distance entre les deux groupes, permet de confirmer un effet « année » sur le contenu en CO-HAPs dans les échantillons.

4.2. Présence des CO-HAPs dans les végétaux exposés à des sources de combustion

Pour vérifier la production de CO-HAPs à partir de sources de combustion et identifier éventuellement des marqueurs pour chaque source de combustion, de l'herbe et neuf fruits et légumes provenant du commerce sont intentionnellement exposés en même temps à des fumées de combustion de biomasse, à des émissions de moteur diesel et à des émissions de chaudière au fioul pendant 3 heures.

4.2.1. Comparaison de la présence globale en CO-HAPs à partir de sources de combustion

Parmi les échantillons exposés, des salades et des tomates ont été ciblées dans un premier temps pour étudier les trois sources d'émission de CO-HAPs et tenter de relier les résultats à ceux obtenus pour les 3 jardins potagers urbains pour lesquels les concentrations les plus élevées en CO-HAPs ont été observées (jardins potagers « Caen 3 », « Rouen 1 » et « Le Havre 2 »). Les teneurs globales en 11 CO-HAPs (\sum 11 CO-HAPs) dans chaque échantillon exposé ont été calculées pour chacune des trois sources de combustion puis comparées à titre indicatif avec celles déterminées pour les végétaux issus des 3 jardins potagers (Figure 74).

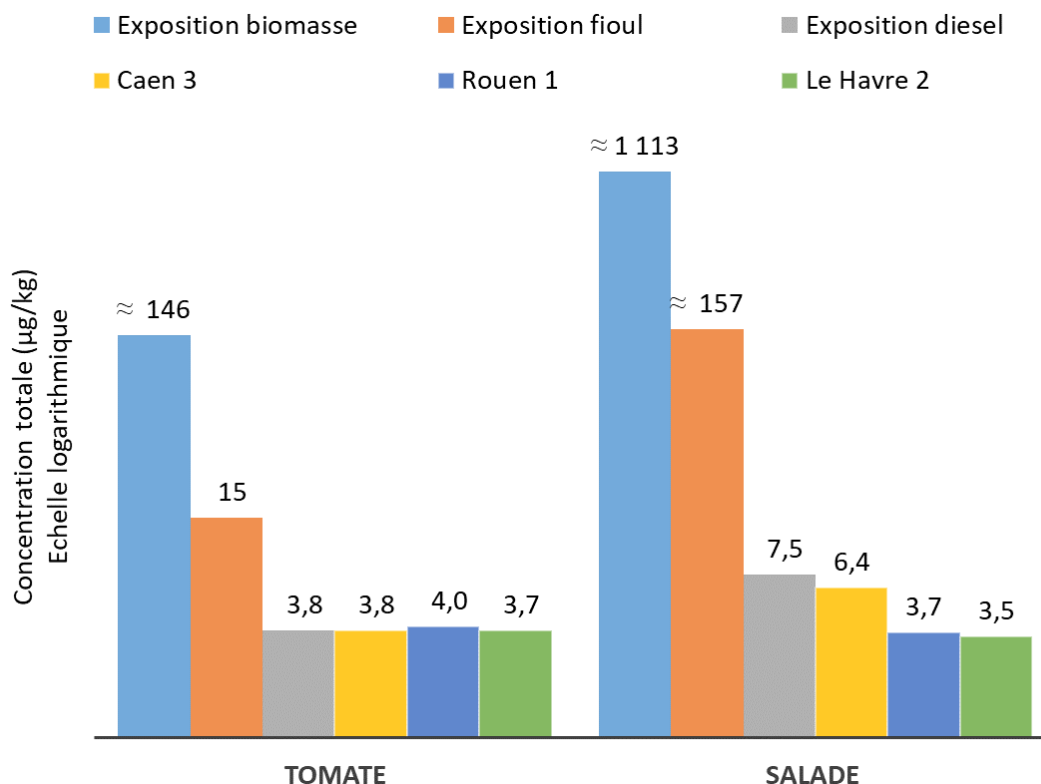


Figure 74 : Teneurs totales en 11 CO-HAPs quantifiés (\sum 11 CO-HAPs) dans les échantillons de tomate et de salade exposés à des fumées de combustion de biomasse, à des émissions de moteur diesel et à des émissions de chaudière au fioul

Les teneurs globales obtenues en CO-HAPs dans les végétaux exposés (Figure 74) sont recherchées afin de vérifier des tendances et ne sont données qu'à titre indicatif. En effet, les concentrations individuelles calculées pour plusieurs CO-HAPs dans le cas de certaines expositions (fumées de combustion de biomasse pour la salade et la tomate, émissions d'une chaudière au fioul pour la salade) dépassent le point de gamme maximal testé lors de la validation de méthode (10 µg/kg dans le végétal). Les teneurs globales les plus élevées (Figure 74) peuvent ainsi être en partie erronées.

Néanmoins, pour une durée d'exposition identique de 3 heures et pour une mise en jeu d'une quantité relativement similaire de combustible (environ 2L de fioul, 2L de diesel, 2 kg de bois), une différence très nette est observée au niveau de la teneur totale en CO-HAPs issue des trois sources d'émission aussi bien pour les salades exposées que pour les tomates exposées. La concentration totale en CO-HAPs la plus élevée est obtenue à partir des émissions de combustion de biomasse (≈ 150 et 1100 µg/kg), suivie des émissions de chaudière au fioul qui sont dix fois plus faibles (≈ 15 et 150 µg/kg) alors qu'elle est de l'ordre de grandeur des concentrations totales trouvées dans les jardins potagers urbains

(3,5 et 6,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$) pour les émissions de moteur diesel (3,8 et 7,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Ces résultats attestent d'une exposition aux CO-HAPs beaucoup plus importante par combustion de biomasse qu'au moyen d'émissions de chaudière au fioul. Une comparaison des teneurs en quelques CO-HAPs produits dans l'air en fonction d'un type de combustible (Chen et al. 2017) a montré des niveaux plus élevés lorsque des combustibles solides traditionnels tels que le bois et la mousse de tourbe sont utilisés par rapport à des énergies telles que l'électricité et le gaz de pétrole liquéfié (GPL).

Il est aussi confirmé par ces résultats que la concentration totale en CO-HAPs susceptible de se déposer par exposition sur un végétal est dépendante de la nature de celui-ci. Les tomates et les salades, contenant initialement une quantité nulle ou négligeable en CO-HAPs, sont soumises ici à une même durée et aux mêmes conditions d'expositions. Cependant, quel que soit le type d'exposition, les teneurs totales retrouvées en CO-HAPs dans les tomates sont nettement inférieures à celles déterminées dans les salades. Cette différence significative observée entre ces deux types d'échantillon semble très dépendante de la morphologie du végétal et plus particulièrement de sa surface spécifique. La surface spécifique plus importante d'une salade en interaction avec la phase gazeuse, comparativement à des tomates, permet visiblement une accumulation plus importante de CO-HAPs. La dimension de la surface d'échange entre un végétal et son espace aérien semble être, par conséquent, un facteur primordial pour un dépôt de CO-HAPs. Cela semble confirmer l'hypothèse qu'une contamination en CO-HAPs des végétaux issus de jardins potagers urbains (partie 4.1.2.2) soit attribuable à une exposition aérienne plutôt qu'à une exposition terrestre.

4.2.2. Comparaison de la présence globale en CO-HAPs dans différents végétaux suite à des expositions

Pour vérifier le lien existant entre la teneur totale en CO-HAPs dans les végétaux exposés et leur surface spécifique, le contenu total en CO-HAPs est étudié. Une comparaison directe sous forme de camembert (en pourcentages) de la teneur totale en 11 CO-HAPs dans l'ensemble des 9 échantillons végétaux exposés aux émissions de combustion de biomasse et de chaudière au fioul est réalisée (Figure 75). Les résultats pour les émissions du moteur diesel ne sont pas présentés ici du fait qu'un des 9 échantillons végétaux (l'herbe) n'a pas pu être analysé.

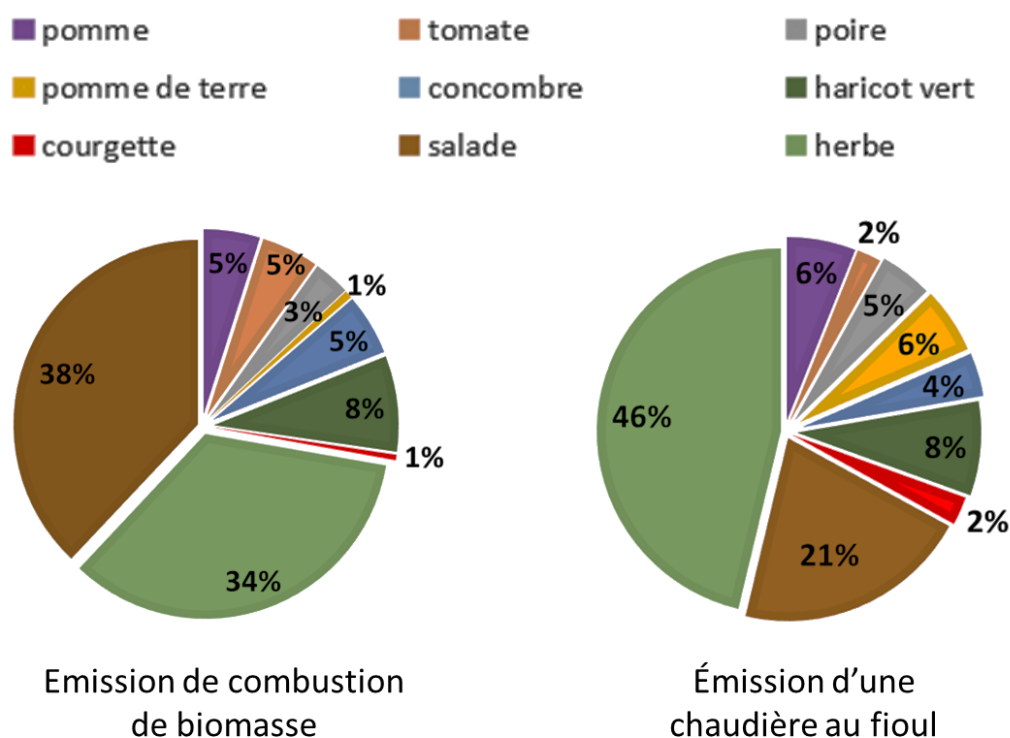


Figure 75 : Pourcentages en concentration totale des CO-HAPs quantifiés dans 9 végétaux exposés aux émissions de combustion de biomasse et de chaudière au fioul

Les résultats donnés ici (Figure 75) sont aussi à discuter sous forme de tendance du fait que certaines concentrations individuelles utilisées dépassent 10 µg/kg. De plus, le calcul de tels pourcentages n'a pas à priori de signification. Cependant, cette représentation (Figure 75) permet de mettre en lumière et de comparer plus aisément la capacité des CO-HAPs à se fixer sur différents végétaux situés dans un même environnement exposé. Les 2 végétaux (herbe et salade) proposant les surfaces spécifiques ont subi un dépôt en CO-HAPs bien supérieur aux autres. Pour ces 2 végétaux, le rapport surface spécifique/masse est le plus élevé de toute la palette végétale testée. Il est ensuite difficile de distinguer clairement les végétaux entre eux. Néanmoins, les 3 végétaux possédant le rapport surface spécifique/masse le plus faible (pommes de terre, courgette et concombre) ont subi un dépôt en CO-HAPs bien moindre que les autres végétaux.

4.2.3. Identification des marqueurs de chaque source de combustion

Les trois sources de combustion étudiées présentent des productions en CO-HAPs très différentes. De plus, les végétaux ciblés ne possèdent pas tous les mêmes caractéristiques d'adsorption des CO-HAPs. Par conséquent, afin de différencier les sources de combustion et de révéler des CO-HAPs marqueurs d'un type d'exposition, une comparaison des teneurs en chaque CO-HAP est effectuée (Tableau 33). La médiane des concentrations individuelles pour chaque CO-HAPs est utilisée comme estimateur pour l'ensemble des végétaux exposés (excepté pour l'herbe) pour une source de combustion donnée (combustion de biomasse, émissions de moteur diesel, émissions de chaudière au fioul).

Tableau 33 : Médiane des concentrations déterminées (ou aire relative) pour chaque CO-HAP dans les échantillons végétaux exposés aux trois sources de combustion (combustion de biomasse, émissions de moteur diesel et émissions de chaudière au fioul)

	Combustion de biomasse	Émission chaudière fioul	Émission moteur diesel
Concentration médiane (µg/kg)			
1-naphtaldéhyde	21	2,5	1,6
acénaphténone	6,3	0,35	0,28
9-fluorénone	12	4,5	1,6
benzophénone	24	6,7	4,8
xanthone	1,9	0,17	0,19
6H-dibenzo[bd]pyran-6-one	5,8	2,5	0,90
anhydride 1,8-naphtalique	-	5,2	6,9
9,10-anthraquinone	6,4	2,4	0,47
benzanthrone	-	0,63	-
benzo[a]fluorénone+	-	18	-
benzo[b]fluorénone	-	-	-
1,2-benzanthraquinone	-	1,1	-
Niveau (aire relative)			
anhydride 1,2-naphtalique	0,76	0,32	0,27
anhydride 2,3-naphtalique	-	0,65	-
1,4-anthraquinone	-	0,38	-
9,10-phénanthrènequinone	-	0,55	-
2,2'-biphényldicarboxaldéhyde	-	0,28	0,08
2-méthylantraquinone	-	9,25	-
1-pyrènegarboxaldéhyde	-	0,53	-

Le patrimoine en CO-HAPs émis par chaque source de combustion et déposé sur les végétaux exposés est relativement différent (Tableau 33). Là où les émissions liées aux combustions de biomasse et de moteur diesel présentent des profils en CO-HAPs ne regroupant quasiment que des composés légers (masse molaire inférieure à 208 g/mol, correspondant à celle de la 9,10-anthraquinone), celles qui correspondent à une **chaudière au fioul** rassemblent une présence fournie en **CO-HAPs plus lourds**. Des concentrations en benzofluorénone (230 g/mol) souvent supérieures à 10 µg/kg ont notamment

pu être décelées dans plusieurs végétaux exposés aux émissions de chaudière au fioul ; de même, des concentrations médianes de l'ordre de 1 µg/kg en benzantrone (230 g/mol) et en 1,2-benzanthraquinone (258 g/mol) y ont été évaluées. Ces 3 composés plus lourds sont absents de la composition des végétaux exposés notamment à une combustion de biomasse là où les concentrations globales les plus importantes en CO-HAPs ont été obtenues (Figure 74). De plus, des composés plus lourds (non quantifiés dans cette étude mais dont une aire relative a pu être déterminée) comme la 9,10-phénanthrènequinone, le 2,2'-biphénylcarboxaldéhyde, la 2-méthylantranthraquinone et le 1-pyrèncarboxaldéhyde (possédant tous des masses molaires comprises entre 208 et 230 g/mol) ont été aussi spécifiquement repérés dans les végétaux exposés aux émissions de chaudière au fioul. Ces résultats sont cohérents avec ceux de la littérature ; en effet, lors de procédés de combustion à basse température (tel qu'une combustion de biomasse), des composés aromatiques polycycliques (HAPs) de faible poids moléculaire sont majoritairement formés, alors que pour des procédés à haute température (tels qu'une combustion de carburants dans des moteurs ou appareils de chauffage) des composés de poids moléculaire plus élevé sont générés (Mostert et al. 2010 ; Tobiszewski 2012). Cette tendance à produire des CO-HAPs plus lourds semble aussi se vérifier d'après les résultats obtenus notamment dans le cas d'une exposition à des émissions de chaudière au fioul (Tableau 33). L'absence de ces composés plus lourds (benzantrone, benzofluorénone et 1,2-benzanthraquinone) dans le cadre d'une exposition à des émissions de moteur diesel peut être expliquée par le fait que le véhicule utilisé est équipé d'un filtre à particules qui doit ainsi limiter l'apport en CO-HAPs les plus lourds susceptibles de se retrouver en phase particulaire plutôt qu'en phase gazeuse.

Tous les CO-HAPs les plus légers quantifiés dans cette étude (1-naphtaldéhyde, acénaphténone, 9-fluorénone, benzophénone, xanthone, 6H-dibenzo[bd]pyran-6-one), de masse molaire inférieure ou égale à 196 g/mol, ont été déterminés dans les végétaux quel que soit la source d'exposition. Ils sont donc à ce titre peu discriminants. Cependant, une présence combinée en forte concentration dans les végétaux en **1-naphtaldéhyde et benzophénone** semble être relativement spécifique d'une exposition à des fumées d'une **combustion de biomasse**. Cet argument rejoint celui avancé par Nalin *et al.* (Nalin et al. 2016) qui ont démontré que le 1-naphtaldéhyde est un CO-HAP très abondant émis lors de la combustion du bois dans des conditions réelles de cheminée domestique. D'un autre côté, une présence combinée en forte concentration en **benzophénone et anhydride 1,8-naphtalique** semble être spécifique d'émissions à la fois de **chaudière au fioul** et de **moteur diesel**.

4.2.4. Lien entre les sources d'exposition et la présence en CO-HAPs dans les jardins potagers urbains

Les végétaux cultivés dans des milieux urbains étant sujets à de multiples expositions, un lien direct est difficile à préciser entre la présence en CO-HAPs dans ces végétaux et ceux exposés à des sources de combustion de biomasse, d'émissions de moyen de chauffage et de moteur diesel. Cependant, la présence quasi-systématique en **benzophénone** dans les végétaux cultivés en milieu urbain (Tableau 32) semble pouvoir être expliquée par n'importe quel processus de combustion (Tableau 33). Une présence significative en **anhydride 1,8-naphtalique** n'a pu être observée que dans les végétaux cultivés dans le jardin potager urbain « Caen 3 » (salade, tomates, feuilles de tomates, feuilles de courgette, voir Figure 72). La localisation particulière de ce site de prélèvement situé sous un viaduc routier à fort trafic automobile peut expliquer la présence de ce composé dans les végétaux du fait d'une exposition à des émissions de certains véhicules motorisés.

4.3. Conclusion

Trente-sept échantillons végétaux (salades, tomates, courgettes, ...) ont été récoltés spécifiquement dans huit jardins potagers situés dans les trois plus grandes métropoles normandes (Caen, Rouen et Le Havre). Des teneurs relativement faibles en CO-HAPs (n'excédant généralement pas 5 µg/kg) sont retrouvées pour la majorité des végétaux situés en milieu urbain. Malgré les teneurs très faibles retrouvées en CO-HAPs dans les échantillons végétaux, des tendances pour le contenu global en CO-HAPs ont été mis en évidence en fonction (i) du type d'échantillon, (ii) des sites de prélèvement, et (iii) de l'année de production.

Le contenu en CO-HAPs d'échantillons exposés à trois sources de combustion (fumées de combustion de biomasse, émissions de moteur diesel et émissions de chaudière au fioul) ont permis de confirmer les résultats d'analyse en CO-HAPs des végétaux cultivés en milieu urbain, à savoir, une accumulation plus importante dans les échantillons à surface spécifique importante et une contamination des échantillons urbains principalement par voie aérienne. L'exposition aux fumées de combustion de biomasse engendre un dépôt de CO-HAPs beaucoup plus important qu'au moyen d'émissions de chaudière au fioul et d'émission par moteur diesel. Des productions en CO-HAPs très différentes au moyen des trois sources de combustion ont été observées et la présence combinée de certains de ces analytes dans les végétaux urbains pourraient éventuellement expliquer une contamination potentielle.

Conclusions et perspectives

Conclusions et perspectives

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés (CO-HAPs) sont des polluants organiques semi-volatils omniprésents dans l'environnement. Leur présence majeure dans l'atmosphère en particulier dans les milieux urbains peut entraîner leur dépôt sur les fruits et légumes produits dans les jardins potagers urbains. Pour vérifier la présence des CO-HAPs dans les fruits et légumes, une stratégie d'analyse permettant leur détermination dans une matrice complexe comme celle des fruits et légumes est nécessaire. Les principaux objectifs de cette thèse étaient de développer une stratégie d'analyse permettant l'identification et la quantification des CO-HAPs à l'état de traces dans les fruits et légumes et de vérifier leur présence dans les végétaux issus de jardins potagers urbains situés en Région Normandie.

Pour la mise en œuvre de la stratégie d'analyse des CO-HAPs, trois étapes ont été spécifiquement étudiées : leur extraction à partir de fruits et légumes, la purification des extraits obtenus puis l'analyse instrumentale par GC-MS.

L'optimisation de la méthode instrumentale d'analyse est effectuée au moyen d'un GC-MS possédant un spectromètre de masse de type trappe à ions. Elle est opérée à l'aide d'une solution standard contenant 64 composés aromatiques (dont 29 CO-HAPs et 32 Nitro-HAPs). Les paramètres optimisés de la méthode de séparation en GC-MS (température d'injection des extraits, débit du gaz vecteur, programme de température du four de la GC) ont permis le repérage de 28 CO-HAPs sur 29. L'utilisation de deux modes d'ionisation (ionisation électronique et ionisation chimique) a permis la création d'une base de données regroupant pour chacun des composés repéré son temps de rétention, sa masse molaire ainsi que ses rapports m/z caractéristiques au moyen des deux modes d'ionisation. Les CO-HAPs sont détectés par isolement d'ions (mode SIM) et les pics correspondants intégrés au moyen d'un GC-MS de type quadrupôle permettant ainsi d'améliorer la sensibilité d'analyse.

Trois CO-HAPs (1-naphtaldéhyde, 9-fluorénone et 9,10-anthraquinone) ont été plus particulièrement ciblés pour le développement de la méthodologie de préparation d'échantillons et d'extraction. Un broyage des fruits et légumes suivi d'une extraction optimisée par méthodologie QuEChERS (choix du solvant d'extraction et d'un mélange de sels) ont été mis en œuvre. Cette procédure, plutôt simple et rapide (avec un minimum de manipulation) a permis de récupérer efficacement les 3 CO-HAPs tout en préservant l'intégrité de l'échantillon et en évitant la dégradation et la formation de sous-produits. Elle met en jeu une extraction QuEChERS au moyen d'acétate d'éthyle et d'un mélange de sels composé exclusivement de sulfate de magnésium et de chlorure de sodium.

Conclusions et perspectives

Cependant, en raison des concentrations de CO-HAPs à rechercher (de l'ordre du $\mu\text{g}/\text{kg}$) et de la complexité des matrices-échantillons de fruits et légumes, une étape de purification s'est révélée être indispensable. Trois techniques de purification ont alors été évaluées : l'extraction en phase solide dispersive (dSPE) au moyen de différents solvants, la microextraction par solide compacté (MEPS) au moyen de divers supports de rétention et l'extraction en phase solide (SPE) au moyen de 4 phases solides différentes dont 2 polymères à empreinte moléculaire. Malgré les taux de recouvrement relativement élevée obtenus lors du processus de purification par dSPE, cette technique n'a pas permis une purification suffisante afin d'envisager une détection des CO-HAPs à l'état de traces dans les fruits et légumes. Contrairement à la dSPE, les taux de recouvrement obtenus lors du processus de purification par MEPS sont très faibles et ont conduit à une perte trop importante des composés. L'utilisation de la SPE avec des phases polymériques à empreinte moléculaire (HAP et phénoliques) n'a pas permis d'obtenir la sélectivité souhaitée. Une purification par SPE avec une phase solide HLB (contenant des groupements aromatiques et N-vinylpyrrolidinone, lipophile et hydrophile) a permis une récupération satisfaisante des CO-HAPs et une meilleure sélectivité d'extraction que les autres techniques testées.

Selon nos connaissances, il s'agit de la première stratégie permettant de détecter spécifiquement à très faibles teneurs les CO-HAPs dans les fruits et légumes.

La stratégie globale d'analyse combinant l'extraction QuEChERS, la purification par SPE et l'analyse en GC-MS a été validée par la suite. Des pourcentages de récupération satisfaisants ont été obtenus (supérieur à 86 %) avec des pertes en composés cibles très limitées. Cette méthodologie conduit à de bons résultats en termes de reproductibilité et de fidélité intermédiaire avec des coefficients de variation inférieurs à 20%. Un autre avantage majeur de cette stratégie est l'absence d'effet lié à la matrice-échantillon. Elle n'est pas influencée par la nature de l'échantillon à analyser et a été validée pour une dizaine de végétaux différents. Cette méthodologie dans sa globalité est donc susceptible d'être appliquée à une grande diversité de matrices. Des applications étendues à d'autres matrices alimentaires ou environnementales pourraient être envisagées comme perspective à ce développement.

La méthodologie d'analyse validée permet la quantification simultanée de 12 CO-HAPs (coefficient de détermination tous compris entre 0,942 et 0,999) à de très faibles concentrations ($\text{LOQ} < 1 \mu\text{g}/\text{kg}$ pour 9 composés) dans une large palette de fruits et légumes.

En perspective à la mise en place de cette stratégie d'analyse de CO-HAPs, un élargissement de la liste des CO-HAPs quantifiables pourrait être envisagé. Ces travaux ont montré que la stratégie d'analyse est parfaitement adaptée à la détermination des CO-HAPs dans les fruits et légumes mais qu'elle est

Conclusions et perspectives

aussi spécifique d'un ensemble plus large de composés aromatiques oxygénés. Les pistes d'amélioration de cette stratégie d'analyse concernent la possibilité d'automatiser cette stratégie afin de gagner en temps de préparation d'échantillon (principalement l'étape de purification) et l'utilisation d'un spectromètre de masse à haute résolution ou offrant des possibilités d'analyse en tandem (MS/MS) afin d'accroître la sensibilité pour certains CO-HAPs.

La stratégie d'analyse a ensuite été appliquée à 40 échantillons végétaux issus de 8 jardins potagers urbains situés dans les trois plus grandes métropoles normandes (Caen, Rouen et Le Havre). Des teneurs relativement faibles voire très faibles en CO-HAPs (généralement inférieures à 5 µg/kg) sont retrouvées dans les végétaux ciblés en milieu urbain. Ce travail constitue, à notre connaissance, la première étude sur la présence spécifique de CO-HAPs et de leurs teneurs respectives dans les fruits et légumes. Au regard des concentrations en CO-HAPs déterminées dans les fruits et légumes dans les jardins potagers urbains, il serait intéressant de compléter cette étude en comparant à celles de végétaux correspondants localisés dans des zones rurales.

La benzophénone est le CO-HAP majoritairement retrouvé dans tous les échantillons végétaux issus de jardins potagers urbains et sa concentration peut être comprise entre 2,5 et 5 µg/kg. Pour quelques rares échantillons, le 1-naphtaldéhyde peut dépasser très légèrement 5 µg/kg ; sa présence est néanmoins très différente selon les échantillons. La 1-acénaphténone et la 9-fluorénone atteignent quant à elles des concentrations maximales respectivement de 0,75 et de 2,26 µg/kg dans les végétaux étudiés et ont pu être détectées dans la quasi-totalité des échantillons. Le patrimoine en CO-HAPs est néanmoins très différent selon des critères de lieu, d'année, et de type de végétal. Une présence globale en CO-HAPs beaucoup plus importante est observée pour les végétaux possédant les plus grandes surfaces spécifiques (salade, feuilles de tomates, feuilles de courgettes, ...) comparativement aux autres échantillons (tomates, courgettes, ...). Exposés intentionnellement à plusieurs sources de combustion, nous avons confirmé que les végétaux possédant les rapports surface spécifique/masse élevés subissent des dépôts en CO-HAPs bien supérieurs aux autres. En perspective, une étude plus fine de la surface des végétaux (mesure précise de la surface spécifique par technique de type BET et étude physico-chimique de l'épiderme) permettrait éventuellement d'améliorer la compréhension des processus d'adsorption des CO-HAPs mis en jeu.

La comparaison des teneurs en CO-HAPs dans des végétaux produits dans un même jardin potager sur deux années différentes (années 2018 et 2019) a permis d'observer une variabilité annuelle très marquée pour l'ensemble des végétaux. De même, les concentrations en CO-HAPs dans les échantillons sont différentes d'un jardin à l'autre ; cependant, les teneurs en CO-HAPs ont tendance à diminuer avec l'augmentation de la distance par rapport à certaines sources de pollution (zone de forte

activité industrielle, zone de fort trafic routier notamment). Il est néanmoins difficile d'établir un lien direct entre la contamination des végétaux en CO-HAPs en milieu urbain et leur localisation géographique.

Une dizaine de végétaux ont été exposés à trois sources de combustion (fumées de combustion de biomasse, émissions de moteur diesel et émissions de chaudière au fioul) révélant des contenus en CO-HAPs beaucoup plus importants lors d'expositions par combustion de biomasse qu'au moyen d'émissions de chaudière au fioul ou d'émissions de moteur diesel.

D'un côté, les émissions d'une chaudière au fioul engendrent une présence importante en CO-HAPs lourds (benzofluorénone, benzantrone et 1,2-benzanthraquinone) dans les végétaux exposés. D'un autre côté, les émissions liées aux combustions de biomasse et de moteur diesel présentent des profils en CO-HAPs regroupant quasiment que des composés légers ; il est cependant à remarquer que les émissions de moteur diesel ont été réalisées au moyen d'un véhicule équipé d'un filtre à particules susceptible de ne pas libérer une grande quantité de composés liés aux particules tels que les composés aromatiques les plus lourds. La présence en association de certains CO-HAPs peut être considérée comme une marque d'un type d'exposition. Des présences élevées en 1-naphtaldéhyde et benzophénone semblent être relativement spécifiques d'une exposition à des fumées d'une combustion de biomasse. Une présence combinée en forte concentration en benzophénone et en anhydride 1,8-naphtalique semble être spécifique d'émissions à la fois de chaudière au fioul et de moteur diesel. L'ensemble des tests réalisés semble permettre de suspecter une contamination aérienne plutôt qu'une contamination terrestre aux CO-HAPs dans le cas de fruits et légumes cultivés en milieu urbain. De même, leur présence semble être plutôt liée à des émissions primaires que secondaires. Néanmoins, afin d'affirmer ou de confirmer ces hypothèses des travaux approfondis devront être menés sur (i) l'évolution des CO-HAPs lors de la période de pousse des végétaux, sur (ii) les contenus respectifs en CO-HAPs de l'atmosphère et de la terre environnant les jardins potagers urbains et, (iii) sur les processus de dégradation, d'accumulation ou de migration des CO-HAPs lorsqu'ils sont adsorbés sur l'épiderme des fruits et légumes.

Valorisation

Publications (en cours de rédaction)

Revue : Nassamer C, Lopez C, Ledauphin J. Carbonyl Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (CO-HAPs) in environment and food products, *Environmental Pollution*, soumission prévue en Avril 2020.

Revue correspondant globalement à la Partie 1.2.2 de ce manuscrit

Article : Nassamer C, Lopez C, Ledauphin J. New analytical Approach for the determination of Carbonyl Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (CO- PAHs) at trace amount in fruits and vegetables, *Journal of Food Composition and Analysis*, soumission prévue en Avril 2020

Article correspondant globalement aux parties 2.3 à 2.7 et à l'ensemble du chapitre 3 de ce manuscrit

Article : Nassamer C, Ledauphin J. Presence of Carbonyl Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (CO-PAHs) in vegetables grown in urban gardens, *Environmental Pollution*, soumission prévue en Juillet 2020.

Article correspondant globalement aux parties 2.1 à 2.2 ainsi qu'à l'ensemble du chapitre 4 de ce manuscrit.

Communication dans des congrès

Communication orale : Nassamer C, Lopez C, Ledauphin J. New analytical method for the determination of the presence of Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (OPAHs) in fruit and vegetables. International conference on environmental pollution, risk assessment and remediation ICEPRAR2018 - Mahdia (Tunisie), Avril 2018

Communication par affichage : Nassamer C, Lopez C, Ledauphin J. Nitro & Oxy-Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Identification and quantification at trace levels – Existing analytical methods. NanoDay - Caen, 2 Février 2017

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdel-Shafy H, Mansour M. **2016**. « A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation ». *Egyptian Journal of Petroleum* 25: 107-123. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>.

Ahmed TM, Bergvall C, Åberg M, Westerholm R. **2015a** « Determination of oxygenated and native polycyclic aromatic hydrocarbons in urban dust and diesel particulate matter standard reference materials using pressurized liquid extraction and LC-GC/MS». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407: 427-438. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8304-8>

Ahmed TM, Ahmed B, Bakhtayr KA, Bergvall C, Westerholm R. **2015b**. « Native and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air particulate matter from the city of Sulaimaniyah in Iraq » *Atmospheric Environment* 116: 44-50. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.06.020>

Alam MS, Delgado-Saborit JM, Stark C, Harrison RM. **2014**. « Investigating PAH Relative Reactivity Using Congener Profiles, Quinone Measurements and Back Trajectories ». *Atmospheric Chemistry and Physics* 14: 2467-2477. <https://doi.org/10.5194/acp-14-2467-2014>.

Alam MS, Keyte IJ, Yin J, Stark C, Jones AM, Harrison RM. **2015**. « Diurnal variability of polycyclic aromatic compound (PAC) concentrations: Relationship with meteorological conditions and inferred sources ». *Atmospheric Environment* 122 :427-438. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.09.050>.

Albinet A, Leoz-Garziandia E, Budzinski H, Villenave E. **2006**. « Simultaneous analysis of oxygenated and nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons on standard reference material 1649a (urban dust) and on natural ambient air samples by gas chromatography–mass spectrometry with negative ion chemical ionisation ». *Journal of Chromatography A* 1121: 106-113. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.04.043>.

Albinet A, Leoz-Garziandia E, Budzinski H, Villenave E. **2007**. « Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nitrated PAHs and oxygenated PAHs in ambient air of the Marseilles area (South of France): Concentrations and sources ». *Science of The Total Environment* 384: 280-292. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.04.028>.

Albinet A, Leoz-Garziandia E, Budzinski H, Villenave E, Jaffrezo JL. **2008**. « Nitrated and oxygenated derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air of two French alpine valleys Part 2: Particle size distribution ». *Atmospheric Environment* 42: 55-64. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.10.008>.

Albinet A, Nalin F, Tomaz S, Beaumont J, Lestremau F. **2014**. « A Simple QuEChERS-like Extraction Approach for Molecular Chemical Characterization of Organic Aerosols: Application to Nitrated and Oxygenated PAH Derivatives (NPAH and OPAH) Quantified by GC-NICIMS ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 406: 3131-3148. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7760-5>.

Albinet A, Tomaz S, Lestremau F. **2013**. « A Really Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) Extraction Procedure for the Analysis of Particle-Bound PAHs in Ambient Air and Emission Samples ». *The Science of the Total Environment* 450-451: 31-38. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.068>.

Alves CA, Vicente AM, Custódio D, Cerqueira M, Nunes T, Pio C, Lucarelli F, Calzolari G, Nava S, Diapouli E, Eleftheriadis K, Querol X, Bandowe BAM. **2017**. « Polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives (nitro-PAHs, oxygenated PAHs, and azaarenes) in PM_{2.5} from Southern European cities ». *Science of The Total Environment* 595: 494-504. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.256>.

Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D, Schenck FJ. **2003**. « Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce ». *Journal of AOAC International* 86: 412-431.

Andersson JT, Achten C. **2015**. « Time to Say Goodbye to the 16 EPA PAHs? Toward an Up-to-Date Use of PACs for Environmental Purposes ». *Polycyclic Aromatic Compounds* 35: 330-354. <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.991042>.

Andreou G, Rapsomanikis R. **2009**. « Polycyclic aromatic hydrocarbons and their oxygenated derivatives in the urban atmosphere of Athens ». *Journal of Hazardous Materials* 172: 363-373. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.07.023>.

AOAC. **2007**. « Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulphate ». *AOAC Official Method 01*: 9

Arey J, Zielinska B, Atkinson R, Aschmann SM. **1989**. « Nitroarene Products from the Gas-Phase Reactions of Volatile Polycyclic Aromatic Hydrocarbons with the OH Radical and N₂O₅ ». *International Journal of Chemical Kinetics* 21: 775-799. <https://doi.org/10.1002/kin.550210906>.

Arp HPH, Lundstedt S, Josefsson S, Cornelissen G, Enell A, Allard AS, Kleja DB. **2014**. « Native Oxy-PAHs, N-PACs, and PAHs in Historically Contaminated Soils from Sweden, Belgium, and France: Their Soil-Porewater Partitioning Behavior, Bioaccumulation in *Enchytraeus crypticus*, and Bioavailability ». *Environmental Science & Technology* 48: 11187-11195. <https://doi.org/10.1021/es5034469>.

Arthur CL, Pawliszyn J. **1990**. « Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers ». *Analytical Chemistry* 62: 2145-2148. <https://doi.org/10.1021/ac00218a019>

Ashraf MW, Salam A. **2012**. « Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Vegetables and Fruits Produced in Saudi Arabia ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 88: 543-47. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0528-8>.

Atkinson R, Aschmann SM, Arey J, Carter WP. **1989**. « Formation of Ring-Retaining Products from the OH Radical-Initiated Reactions of Benzene and Toluene ». *International Journal of Chemical Kinetics* 21: 801-827. <https://doi.org/10.1002/kin.550210907>.

Atkinson R, Arey J. **1994**. « Atmospheric chemistry of gas-phase polycyclic aromatic hydrocarbons: formation of atmospheric mutagens. » *Environmental Health Perspectives* 102: 117-126. <https://doi.org/10.1289/ehp.94102s4117>.

Atkinson R, Arey J. **2003**. « Gas-phase tropospheric chemistry of biogenic volatile organic compounds: a review ». *Atmospheric Environment*, 37: 197-219. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(03\)00391-1](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(03)00391-1).

Atkinson R, Arey J. **2007**. « Mechanisms of the gas-phase reactions of Aromatic Hydrocarbons and PAHs with OH and NO₃ radicals ». *Polycyclic Aromatic Compounds* 27: 15-40. <https://doi.org/10.1080/10406630601134243>.

B

Ballesteros E, Sánchez GA, Ramos MN. **2006**. « Simultaneous multidetermination of residues of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in olive and olive-pomace oils by gas chromatography/tandem mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A*, 1111: 89–96

Bandowe BAM, Wilcke W. **2010a**. « Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Oxygen-Containing Derivatives and Metabolites in Soils ». *Journal of Environmental Quality* 39: 1349-1358.

Bandowe BAM, Shukurov N, Kersten M, Wilcke W. **2010b**. « Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their oxygen-containing derivatives (OPAHs) in soils from the Angren industrial area, Uzbekistan ». *Environmental Pollution* 158: 2888-2899. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.06.012>.

Bandowe BAM, Sobocka J, Wilcke W. **2011**. « Oxygen-containing polycyclic aromatic hydrocarbons (OPAHs) in urban soils of Bratislava, Slovakia: Patterns, relation to PAHs and vertical distribution ». *Environmental Pollution* 159: 539-549. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.10.011>.

Bandowe BAM, Bigalke M, Boamah L, Nyarko E, Saalia FK, Wilcke W. **2014a**. « Polycyclic aromatic compounds (PAHs and oxygenated PAHs) and trace metals in fish species from Ghana (West Africa): Bioaccumulation and health risk assessment ». *Environment International* 65: 135-146. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.12.018>.

Bandowe BAM, Meusel H, Huang R, Ho K, Cao J, Hoffmann T, Wilcke W. **2014b**. « PM2.5-bound oxygenated PAHs, nitro-PAHs and parent-PAHs from the atmosphere of a Chinese megacity: Seasonal variation, sources and cancer risk assessment ». *Science of The Total Environment* 473-474: 77-87. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.108>.

Bandowe BAM, Bigalke M, Kobza J, Wilcke W. **2018**. « Sources and fate of polycyclic aromatic compounds (PAHs, oxygenated PAHs and azaarenes) in forest soil profiles opposite of an aluminium plant ». *Science of The Total Environment* 630: 83-95. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.109>.

Bandowe BAM, Leimer S, Meusel H, Velescu A, Dassen S, Eisenhauer N, Hoffmann T, Oelmann Y, Wilcke W. **2019**. « Plant diversity enhances the natural attenuation of polycyclic aromatic compounds (PAHs and oxygenated PAHs) in grassland soils ». *Soil Biology and Biochemistry* 129: 60-70. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.10.017>.

Bansal V, Kim KH. **2015**. « Review of PAH contamination in food products and their health hazards ». *Environment International* 84: 26-38. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.016>.

Barbas JT, Sigman ME, Buchanan AC, Chevis EA. **1993**. « Photolysis of substituted naphthalenes on SiO₂ and Al₂O₃ ». *Photochemistry and Photobiology* 58: 155-158. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1993.tb09541.x>.

Barbas JT, Sigman ME, Dabestani R. **1996**. « Photochemical Oxidation of Phenanthrene Sorbed on Silica Gel ». *Environmental Science & Technology* 30: 1776-1780. <https://doi.org/10.1021/es950769p>.

Benigni R, Bossa C. **2011**. « Mechanisms of Chemical Carcinogenicity and Mutagenicity: A Review with Implications for Predictive Toxicology ». *Chemical Reviews* 111: 2507-2536. <https://doi.org/10.1021/cr100222q>.

Berger-Brito I, Machour N, Morin C, Portet-Koltalo F. 2018. « Experimental Designs for Optimizing Multi-Residual Microwave-Assisted Extraction and Chromatographic Analysis of Oxygenated (Hydroxylated, Quinones) Metabolites of PAHs in Sediments ». *Chromatographia* 81: 1401-1412. <https://doi.org/10.1007/s10337-018-3584-3>.

Biache C, Ouali S, Cébron A, Lorgeoux C, Colombano S, Faure P. 2017. « Bioremediation of PAH-contaminated soils: Consequences on formation and degradation of polar-polycyclic aromatic compounds and microbial community abundance ». *Journal of Hazardous Materials* 329: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.01.026>.

Bjorseth A, Ramdahl T. 1985. « Handbook of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, volume 2, emission sources and recent progress in analytical chemistry ».

Bogan BW, Lamar RT, Hammel KE. 1996. « Fluorene Oxidation In Vivo by Phanerochaete Chrysosporium and In Vitro during Manganese Peroxidase-Dependent Lipid Peroxidation ». *Applied and Environmental Microbiology* 62: 1788-1792.

Boll ES, Johnsen AR, Christensen JH. 2015. « Polar metabolites of polycyclic aromatic compounds from fungi are potential soil and groundwater contaminants ». *Chemosphere* 119: 250-257. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.033>.

Bowers LD, Borts DJ. 1997. « Evaluation of selected-ion storage ion-trap mass spectrometry for detecting urinary anabolic agents ». *Clinical Chemistry* 43: 1033-1039

Brack W, Altenburger R, Küster E, Meissner E, Wenzel KD, Schüürmann G. 2003. « Identification of Toxic Products of Anthracene Photomodification in Simulated Sunlight ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 22: 2228-2237. <https://doi.org/10.1897/02-450>.

Brorström-Lundén E, Remberger M, Kaj L, Hansson K, Palm-Cousins A, Andersson H. 2010. « Results from the Swedish National Screening Programme 2008. Screening of Unintentionally Produced Organic Contaminants ». *Swedish Environmental Research Institute (IVL) report B1944*, IVL Swedish Environmental Research Institute Ltd, Göteborg, Sweden

Bruns EA, Krapf M, Orasche J, Huang Y, Zimmerman R, Drinovec L, Močnik G, El-Haddad I, Slowik J G, Dommen J, Baltensperger U, Prévôt A S H. 2015. « Characterization of primary and secondary wood combustion products generated under different burner loads ». *Atmospheric Chemistry and Physics* 15: 2825-2841. <https://doi.org/10.5194/acp-15-2825-2015>

C

Cai C, JingYa L, Di W, XiLong W, Tsang D, XiangDong L, JianTeng S 2017. « Spatial distribution, emission source and health risk of parent PAHs and derivatives in surface soils from the Yangtze River Delta, eastern China ». *Chemosphere* 178: 301-308. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.057>.

Cajka T, Chris S, Bachanova V, Drabova L, Kalachova K, Pulkrabova J, Hajslova J. 2012. « Streamlining Sample Preparation and Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Analysis of Multiple Pesticide Residues in Tea ». *Analytica Chimica Acta* 743 : 51-60. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.06.051>.

Calvert JG, Atkinson R, Becker KH, Kamens RM, Seinfeld JH, Wallington TH, Yarwood G. 2002. « The Mechanisms of Atmospheric Oxidation of the Aromatic Hydrocarbons ». *Oxford University Press*.

Cao W, Qiao M, Liu B, Zhao X. 2018. « Occurrence of Parent and Substituted Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Typical Wastewater Treatment Plants and Effluent Receiving Rivers of Beijing, and Risk Assessment ». *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 53: 992-999.

Careghini A, Filippo AM, Saponaro S, Sezenna E. 2015. « Bisphenol A, Nonylphenols, Benzophenones, and Benzotriazoles in Soils, Groundwater, Surface Water, Sediments, and Food: A Review ». *Environmental Science and Pollution Research* 22: 5711-41. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3974-5>.

Cerniglia CE. 1992. « Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons ». *Biodegradation* 3: 351-368. <https://doi.org/10.1007/BF00129093>.

Chan AWH, Kautzman KE, Chhabra PS, Surratt JD, Chan MN, Crouse JD, Kürten A, Wennberg PO, Flagan RC, Seinfeld JH. 2009. « Secondary Organic Aerosol Formation from Photooxidation of Naphthalene and Alkyl-naphthalenes: Implications for Oxidation of Intermediate Volatility Organic Compounds (IVOCs) ». *Atmospheric Chemistry and Physics* 9: 3049-3060. <https://doi.org/10.5194/acp-9-3049-2009>.

Chang FH, Ta-Chang L, How-Ran C, Mu-Rong C. 2001. « A Study on Losses of PAHs During Sample Concentration for Chromatographic Analysis: Evaporation with a Stream of Nitrogen ». *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 80: 13-26. <https://doi.org/10.1080/03067310108044382>.

Chen Y, Du W, Shen G, Zhuo S, Zhu X, Shen H, Huang Y, Su S, Lin N, Pei L, Zheng X, Wu J, Duan Y, Wang X, Liu W, Wong M, Tao S. 2017. « Household Air Pollution and Personal Exposure to Nitrated and Oxygenated Polycyclic Aromatics (PAHs) in Rural Households: Influence of Household Cooking Energies ». *Indoor Air* 27: 169-178. <https://doi.org/10.1111/ina.12300>.

Chen Y, Shen G, Su S, Du W, Huangfu Y, Liu G, Wang X, Xing B, Smith KR, Tao K. 2016. « Efficiencies and pollutant emissions from forced-draft biomass-pellet semi-gasifier stoves: Comparison of International and Chinese water boiling test protocols ». *Energy for Sustainable Development* 32: 22-30. <https://doi.org/10.1016/j.esd.2016.02.008>.

Chen Y, Shen G, Su S, Shen H, Huang Y, Li T, Li W, Zhang Y, Lu Y, Chen H, Yang C, Lin N, Zhu Y, Fu X, Liu W, Wang X, Tao S. 2014. « Contamination and Distribution of Parent, Nitrated, and Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Smoked Meat ». *Environmental Science and Pollution Research International* 21: 11521-11530. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3129-8>.

Cheng CC. 2003. « Recovery of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons During Solvent Evaporation with a Rotary Evaporator ». *Polycyclic Aromatic Compounds* 23: 315-325. <https://doi.org/10.1080/10406630308048>.

Chibwe L, Geier CM, Nakamura J, Tanguay LR, Aitken DM, Massey LS. 2015. « Aerobic Bioremediation of PAH Contaminated Soil Results in Increased Genotoxicity and Developmental Toxicity ». *Environmental Science & Technology* 49: 13889-13898. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00499>.

Cho AK, Di Stefano E, You Y, Rodriguez EC, Schmitz AD, Kumagai Y, Miguel HA, Eiguren-fernandez A, Kobayashi T, Avol E, Froines J. 2004. « Determination of Four Quinones in Diesel Exhaust Particles, SRM 1649a, and Atmospheric PM 2.5 Special Issue of Aerosol Science and Technology on Findings from the Fine Particulate Matter Supersites Program ». *Aerosol Science and Technology* 38: 68-81. <https://doi.org/10.1080/02786820390229471>.

Chung M, Lazaro AR, Lim D, Jackson J, Lyon J, Rendulic D, Hasson SA. 2006. « Aerosol-Borne Quinones and Reactive Oxygen Species Generation by Particulate Matter Extracts ». *Environmental Science & Technology* 40: 4880-4886. <https://doi.org/10.1021/es0515957>.

Chung SW, Toriba A, Young Chung H, Pal Yu B, Kameda T, Tang N, Kizu R, Hayakawa K. 2008. « Activation of 5-Lipoxygenase and NF-KB in the Action of Acenaphthenequinone by Modulation of Oxidative Stress ». *Toxicological Sciences* 101: 152-158. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm252>.

Clark CD, De Bruyn JW, Ting J, Scholle W. 2007. « Solution medium effects on the photochemical degradation of pyrene in water ». *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 186: 342-348. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2006.09.003>.

Cochran RE, Dongari N, Jeong H, Beránek J, Haddadi S, Shipp J, Kubátová A. 2012. « Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their oxy-, nitro-, and hydroxy-oxidation products ». *Analytica Chimica Acta* 740: 93-103. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.050>.

Cochran RE, Kubátová A. 2015. « Pressurised fluid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and their polar oxidation products from atmospheric particles ». *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 95: 434-452. <https://doi.org/10.1080/03067319.2015.1025225>.

Concha-Meyer A, Grandon S, Sepúlveda G, Diaz R, Yuri JA, Torres C. 2019 « Pesticide residues quantification in frozen fruit and vegetables in Chilean domestic market using QuEChERS extraction with ultra-high-performance liquid chromatography electrospray ionization Orbitrap mass spectrometry », *Food Chemistry* 295: 64-71, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.05.046.

Cunha SC, Fernandes JO. 2013. « Assessment of bisphenol A and bisphenol B in canned vegetables and fruits by gas chromatography–mass spectrometry after QuEChERS and dispersive liquid–liquid microextraction », *Food Control* 33: 549-555. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.03.028.

D

Dasgupta S, Cao A, Mauer B, Yan B, Uno S, McElroy A. 2014. « Genotoxicity of Oxy-PAHs to Japanese Medaka (*Oryzias Latipes*) Embryos Assessed Using the Comet Assay ». *Environmental Science and Pollution Research* 21: 13867-13876. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2586-4>.

De Witte B, Walgraeve C, Demeestere K, Van Langenhove. 2019. « Oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in mussels: analytical method development and occurrence in the Belgian coastal zone». *Environmental Science Pollution Research* 26: 9065–9078. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04259-2>

Delgado-Saborit JM, Alam SM, Godri Pollitt JK, Stark C, Harrison MR. 2013. « Analysis of atmospheric concentrations of quinones and polycyclic aromatic hydrocarbons in vapour and particulate phases ». *Atmospheric Environment* 77: 974-982. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.05.080>.

Delhomme O, Millet M, Herckes P. 2008. « Determination of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric aerosol samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry ». *Talanta* 74: 703-10. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.06.037>.

Deng K, et Chang W. 2017. « Development of a QuEChERS-Based Method for Determination of Carcinogenic 2-Nitrofluorene and 1-Nitropyrene in Rice Grains and Vegetables: A Comparative Study with Benzo[a]pyrene ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 65: 1992-99. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00051>.

Di Filippo P, Pomata D, Riccardi C, Buiarelli F, Gallo V. 2015. « Oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in size-segregated urban aerosol ». *Journal of Aerosol Science* 87: 126-134. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2015.05.008>.

Diehl DM. 2007. « EXTRACTION | Sorptive Extraction Methods ». In *Encyclopedia of Separation Science*, édité par Ian D. Wilson, 1-7. *Oxford: Academic Press*. <https://doi.org/10.1016/B978-012226770-3/10678-8>.

Dieme D, Cabral-Ndior M, Garçon G, Verdin A, Billet S, Cazier F, Courcot D, Diouf A, Shirali P. 2012. « Relationship between physicochemical characterization and toxicity of fine particulate matter (PM_{2.5}) collected in Dakar city (Senegal) ». *Environmental Research* 113: 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.11.009>.

Ding J, Zhong J, Yang Y, Li B, Shen G, Su Y, Wang C, Li W, Shen H, Wang B, Wang R, Huang Y, Zhang Y, Cao H, Zhu Y, Simonich SL, Tao S. 2012. « Occurrence and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives in a rural Chinese home through biomass fuelled cooking ». *Environmental Pollution, Interactions Between Indoor and Outdoor Air Pollution - Trends and Scientific Challenges*, 169: 160-166. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.10.008>.

Dos Santos RR, Dos Santos RR, Vidotti Leal LL, De Lourdes Cardeal Z, Costa Menezes H. 2019. « Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated and oxygenated derivatives in coffee brews using an efficient cold fiber-solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry method ». *Journal of Chromatography A* 1584: 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.11.046>.

Dreyer A, Kirchgeorg T, Weinberg I, Matthias V. 2009. « Particle-size distribution of airborne poly- and perfluorinated alkyl substances ». *Chemosphere* 129: 142-149. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.069>

Durant JL, Busby FW, Lafleur LA, Penman WB, Crespi LC. **1996**. « Human cell mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbons associated with urban aerosols ». *Mutation Research/Genetic Toxicology* 371: 123-157. [https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(96\)90103-2](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(96)90103-2).

E

Eagar JD, Ervens B, Herckes P. **2017**. « Impact of partitioning and oxidative processing of PAH in fogs and clouds on atmospheric lifetimes of PAH ». *Atmospheric Environment* 160: 132-141. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.04.016>.

EHC 229 (Environmental Health Criteria). **2003**. « Selected Nitro– and Nitro–Oxy–Polycyclic Aromatic Hydrocarbons». Hanover, Germany.

F

Fine PM, Glen RC, Bernd RTS. **2004**. « Chemical Characterization of Fine Particle Emissions from the Wood Stove Combustion of Prevalent United States Tree Species ». *Environmental Engineering Science* 21: 705-21. <https://doi.org/10.1089/ees.2004.21.705>.

Fujiwara F, Guiñez M, Cerutti S, Smichowski P. **2014**. « UHPLC-(+)APCI-MS/MS determination of oxygenated and nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particulate matter and tree barks collected in Buenos Aires city ». *Microchemical Journal* 116: 118-124. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.04.004>.

G

Ghosal D, Dutta A, Chakraborty J, Basu S, Dutta TK. **2013**. « Characterization of the Metabolic Pathway Involved in Assimilation of Acenaphthene in Acinetobacter Sp. Strain AGAT-W ». *Research in Microbiology* 164: 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2012.11.003>.

Ghosal D, Ghosh S, Dutta TK, Ahn Y. **2016**. « Current State of Knowledge in Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review ». *Frontiers in Microbiology* 7: 1369. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01369>.

González-Curbelo MÁ, Socas-Rodríguez B, Herrera AV, González-Sálamo J, Hernández-Borges J, Rodríguez-Delgado MA. **2015**. « Evolution and Applications of the QuEChERS Method ». *TrAC Trends*

in *Analytical Chemistry, Green Extraction Techniques*, 71: 169-85.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.012>.

Górna-Binkul A, Keymeulen R, Langenhove VH, Buszewski B. 1996. « Determination of monocyclic aromatic hydrocarbons in fruit and vegetables by gas chromatography-mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A* 734: 297-302.

Górna-Binkul A, Buszewski B. 1997. « Volatile organic air contaminants in plants: Comparative investigations of toluene sorption in fruit and chemically modified adsorbents ». *Environmental Science and Pollution Research International* 4: 125–129.

Grosse S, Letzel. 2007. « Liquid chromatography/atmospheric pressure ionization mass spectrometry with post-column liquid mixing for the efficient determination of partially oxidized polycyclic aromatic hydrocarbons ». *Journal of Chromatography A* 1139: 75-83.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.10.086>

Guan C, Cheung CS, Li X, Huang Z. 2017. « Effects of oxygenated fuels on the particle-phase compounds emitted from a diesel engine ». *Atmospheric Pollution Research* 8: 209-220.
<https://doi.org/10.1016/j.apr.2016.08.005>.

Guiñez M, Bazan C, Martinez LD, Cerutti S. 2018a. « Determination of nitrated and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by a liquid–liquid phase microextraction procedure based on the solidification of a floating organic drop followed by solvent assisted back-extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry ». *Microchemical Journal* 139: 164-173.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.02.027>.

Guiñez M, Canales R, Martinez LD, Cerutti S. 2018b. « Solvent-Based de-Emulsification Dispersive Liquid–liquid Microextraction Coupled with UPLC-MS/MS for the Fast Determination of Ultratrace Levels of Nitrated and Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Environmental Samples ». *Analytical Methods* 10: 910-919. <https://doi.org/10.1039/C8AY00021B>.

Gurbani D, Bharti SK, Kumar A, Pandey AK, Ana GR, Verma A, Khan AH, Patel DK, Mudiam MK, Jain SK, Roy R, Dhawan A. 2013. « Polycyclic aromatic hydrocarbons and their quinones modulate the metabolic profile and induce DNA damage in human alveolar and bronchiolar cells ». *International Journal of Hygiene and Environmental Health, Environmental Mutagens in Human Populations*, 216: 553-565. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.04.001>.

H

Haider W, Barillier D, Akhtar H, Gaillard JL, Ledauphin J. 2014. « Rapid quantification and comparison of major volatile compounds of ciders from France (Normandy and Brittany) using microextraction by packed sorbent (MEPS) ». *Analytical methods* 6: 1364 – 1376. <https://doi.org/10.1039/C3AY41385C>

Hammel KE, Green B, Gai WZ. 1991. « Ring Fission of Anthracene by a Eukaryote ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88: 10605-10608. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.23.10605>.

Harrison RM, Alam MS, Dang J, Ismail IM, Basahi J, Alghamdi MA, Hassan IA, Khoder M. 2016. « Relationship of polycyclic aromatic hydrocarbons with oxy(quinone) and nitro derivatives during air mass transport ». *Science of The Total Environment* 572: 1175-1183. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.030>.

Hashemi B, Zohrabi P, Kim KH, Shamsipu M, Deep A, Hong J. 2017. « Recent advances in liquid-phase microextraction techniques for the analysis of environmental pollutants ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 97: 83-95. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.08.014>.

Hellou J, Johnston D, Cheeseman K, Gronlund A, Desnoyers E, Leonard J, Robertson S. 2009. « Bioavailability and Bioaccumulation of Pah in Amphipods Exposed to Reference and Harbor Sediments ». *Polycyclic Aromatic Compounds* 29: 12-27. <https://doi.org/10.1080/10406630802686322>.

Hua H, Zhao X, Wu S, Li G. 2016. « Impact of refining on the levels of 4-hydroxy-trans-alkenals, parent and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in soybean and rapeseed oils ». *Food Control* 67: 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.02.028>.

Huang B, Liu M, Bi X, Chaemfa C, Ren Z, Wang X, Sheng G, Fu J. 2014. « Phase distribution, sources and risk assessment of PAHs, NPAHs and OPAHs in a rural site of Pearl River Delta region, China ». *Atmospheric Pollution Research* 5: 210-218. <https://doi.org/10.5094/APR.2014.026>.

Huang XD, El-Alawi Y, Penrose DM, Glick BR, Greenberg BM. 2004. « A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils ». *Environmental Pollution* 130: 465-476. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.09.031>.

I

IARC (International Agency for Research on Cancer). 2010. « Out Door Air Pollution ».

IARC (International Agency for Research on Cancer). **2012**. « A Review of Human Carcinogens: Some Chemicals in Industrial and Consumer Products, Food Contaminants and Flavourings, and Water Chlorination By-Products» Lyon, France.

Idowu O, Semple KT, Ramadass K, O'Connor W, Hansbro P, Thavamani P. **2019**. « Beyond the obvious: Environmental health implications of polar polycyclic aromatic hydrocarbons ». *Environment International* 123: 543-557. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.12.051>.

J

Jafarabadi RA, Riyahi BA, Yaghoobi Z, Kong Yap C, Maisano M, Cappello T. **2019**. « Distributions and compositional patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their derivatives in three edible fishes from Kharg coral Island, Persian Gulf, Iran ». *Chemosphere* 215: 835-845. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.092>.

Jakober CA, Charles MJ, Kleeman MJ, Green PG. **2006**. « LC-MS Analysis of Carbonyl Compounds and Their Occurrence in Diesel Emissions ». *Analytical Chemistry* 78: 5086-5093. <https://doi.org/10.1021/ac060301c>.

Jakober CA, Riddle SG, Robert MA, Destailats H, Charles MJ, Green PG, Kleeman MJ. **2007**. « Quinone Emissions from Gasoline and Diesel Motor Vehicles ». *Environmental Science & Technology* 41: 4548-4554. <https://doi.org/10.1021/es062967u>.

Jariyasopit N, Liu Y, Liggio J, Harner T. **2015**. « Stability of polycyclic aromatic compounds in polyurethane foam-type passive air samplers upon O₃ exposure ». *Atmospheric Environment* 120: 200-204. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.08.088>.

Jariyasopit N, Zimmermann K, Schrlau J, Arey J, Atkinson R, Yu TW, Dashwood RH, Tao S, Simonich SL. **2014**. « Heterogeneous Reactions of Particulate Matter-Bound PAHs and NPAHs with NO₃/N₂O₅, OH Radicals, and O₃ under Simulated Long-Range Atmospheric Transport Conditions: Reactivity and Mutagenicity ». *Environmental Science & Technology* 48: 10155-64. <https://doi.org/10.1021/es5015407>.

Jeon HK, Chung Y, Ryu JC. **2006**. « Simultaneous determination of benzophenone-type UV filters in water and soil by gas chromatography-mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A* 1131: 192-202. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.07.036>.

Jiang P, Yang L, Chen X, Gao Y, Li Y, Zhang J, Zhao T, Hao Y, Wang W. 2018. « Impact of Dust Storms on NPAHs and OPAHs in PM_{2.5} in Jinan, China, in Spring 2016: Concentrations, Health Risks, and Sources ». *Aerosol and Air Quality Research* 18: 471-484. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2017.08.0274>.

K

Kameda T, Goto T, Toriba A, Tang N, Hayakawa K. 2009. « Determination of airborne particle-associated benz[a]anthracene-7,12-quinone using high-performance liquid chromatography with in-line reduction and fluorescence detection » *Journal of Chromatography A* 1216: 6758-6761. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2009.08.009>

Kamiya Y, Kameda T, Ohura T, Tohno S. 2017. « Determination of Particle-Associated PAH Derivatives (CIPAHs, NPAHs, OPAHs) in Ambient Air and Automobile Exhaust by Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Negative Chemical Ionization ». *Polycyclic Aromatic Compounds* 37: 128-140. <https://doi.org/10.1080/10406638.2016.1202290>.

Karavalakis G, Deves G, Fontaras G, Stournas S, Samaras Z, Bakeas E. 2010. « The impact of soy-based biodiesel on PAH, nitro-PAH and oxy-PAH emissions from a passenger car operated over regulated and nonregulated driving cycles ». *Fuel* 89: 3876-3883. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.07.002>.

Kautzman KE, Surratt JD, Chan MN, Chan AWH, Hersey SP, Chhabra PS, Dalleska NF, Wennberg PO, Flagan RC, Seinfeld JH. 2010. « Chemical Composition of Gas- and Aerosol-Phase Products from the Photooxidation of Naphthalene ». *The Journal of Physical Chemistry A* 114: 913-934. <https://doi.org/10.1021/jp908530s>.

Keyte IJ, Albinet A, Harrison RM. 2016. « On-road traffic emissions of polycyclic aromatic hydrocarbons and their oxy- and nitro- derivative compounds measured in road tunnel environments ». *Science of The Total Environment* 566-567: 1131-1142. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.152>.

Keyte IJ, Harrison RM, Lammel G. 2013. « Chemical Reactivity and Long-Range Transport Potential of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons – a Review ». *Chemical Society Reviews* 42: 9333-9391. <https://doi.org/10.1039/C3CS60147A>.

Kielhorn J. 2003. « Selected Nitro- and Nitro-Oxy-Polycyclic Aromatic Hydrocarbons ». *Environmental Health Criteria* 229. Geneva: World Health Organization. International Programme on Chemical Safety, et Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals

Kishikawa N, Nakao M, Elgawish SM, Ohyama K, Nakashima K, Kuroda N. **2011**. « 4-Carbomethoxybenzaldehyde as a highly sensitive pre-column fluorescence derivatization reagent for 9,10-phenanthrenequinone ». *Talanta* 85: 809-812. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.03.085>.

Kishikawa N, Wada M, Ohba Y, Nakashima K, Kuroda N. **2004**. « Highly Sensitive and Selective Determination of 9, 10-Phenanthrenequinone in Airborne Particulates Using High-Performance Liquid Chromatography with Pre-Column Derivatization and Fluorescence Detection ». *Journal of Chromatography. A* 1057: 83-88.

Knecht AL, Goodale BC, Truong L, Simonich MT, Swanson AJ, Matzke MM, Anderson KA, Waters KM, Tanguay RL. **2013**. « Comparative developmental toxicity of environmentally relevant oxygenated PAHs ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 271: 266-275. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.05.006>.

Kojima Y, Inazu K, Hisamatsu Y, Okochi H, Baba T, Nagoya T. **2010a**. « Influence of secondary formation on atmospheric occurrences of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particles ». *Atmospheric Environment* 44: 2873-2880. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2010.04.048>.

Kojima Y, Inazu K, Hisamatsu Y, Okochi H, Baba T, Nagoya T. **2010b**. « Comparison of Pahs, Nitro-Pahs and Oxy-Pahs Associated with Airborne Particulate Matter at Roadside and Urban Background Sites in Downtown Tokyo, Japan ». *Polycyclic Aromatic Compounds* 30: 321-333. <https://doi.org/10.1080/10406638.2010.525164>.

Krauss M, Wilcke W. **2002**. « Photochemical Oxidation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Soils — a Tool to Assess Their Degradability? » *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165: 173-178. [https://doi.org/10.1002/1522-2624\(200204\)165:2<173::AID-JPLN173>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1522-2624(200204)165:2<173::AID-JPLN173>3.0.CO;2-D).

Kurihara R, Shiraishi F, Tanaka N, Hashimoto S. **2005**. « Presence and Estrogenicity of Anthracene Derivatives in Coastal Japanese Waters ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 24: 1984-1993. <https://doi.org/10.1897/04-310R.1>.

Kwok ES, Harger WP, Arey J, Atkinson R. **1994**. « Reactions of Gas-Phase Phenanthrene under Simulated Atmospheric Conditions ». *Environmental Science & Technology* 28: 521-527. <https://doi.org/10.1021/es00052a027>.

L

Lawal A, Wong RCS, Tan GH, Abdulra'uf LB, Alsharif AMA. 2018. « Recent Modifications and Validation of QuEChERS-dSPE Coupled to LC-MS and GC-MS Instruments for Determination of Pesticide/Agrochemical Residues in Fruits and Vegetables: Review ». *Journal of Chromatographic Science* 56: 656–669. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmy032>.

Layshock JA, Wilson G, Anderson KA. 2010. « Ketone and Quinone-Substituted Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mussel Tissue, Sediment, Urban Dust, and Diesel Particulate Matrices ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29: 2450-2460. <https://doi.org/10.1002/etc.301>.

Lee JY , Lane AD. 2009. « Unique products from the reaction of naphthalene with the hydroxyl radical ». *Atmospheric Environment* 43: 4886-4893. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.07.018>.

Lee JY, Lane AD, Heo JB, Yi SM, Kim YP. 2012. « Quantification and seasonal pattern of atmospheric reaction products of gas phase PAHs in PM2.5 ». *Atmospheric Environment* 55: 17-25. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.03.007>.

Lee JY, Lane AD. 2010. « Formation of oxidized products from the reaction of gaseous phenanthrene with the OH radical in a reaction chamber ». *Atmospheric Environment* 44: 2469-2477. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2010.03.008>.

Ledauphin J, Saint-Clair JF, Lablanquie O, Guichard H, Founier N, Guichard E, Barillier D. 2004 « Identification of Trace Volatile Compounds in Freshly Distilled Calvados and Cognac Using Preparative Separations Coupled with Gas Chromatography–Mass Spectrometry », *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 16: 5124-5134. <https://doi.org/10.1021/jf040052y>.

Ledauphin J, Le Milbeau C, Barillier D, Hennequin D. 2010. « Differences in the Volatile Compositions of French Labeled Brandies (Armagnac, Calvados, Cognac, and Mirabelle) Using GC-MS and PLS-DA », *Agricultural and Food Chemistry* 13: 7782-7793. <https://doi.org/10.1021/jf9045667>.

Lehotay SJ. 2011. « QuEChERS sample preparation approach for mass spectrometric analysis of pesticide residues in foods». *Methods in Molecular Biology* 747: 65-91. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-136-9_4.

Lehto KM, Puhakka AJ, Lemmetyinen H. 2003. « Photodegradation Products of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water and Their Amenability to Biodegradation ». *Polycyclic Aromatic Compounds* 23: 401-416. <https://doi.org/10.1080/713743538>.

Leong MI, Huang SD. 2008. « Dispersive liquid–liquid microextraction method based on solidification of floating organic drop combined with gas chromatography with electron-capture or mass spectrometry detection ». *Journal of Chromatography A* 1211: 8-12. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.09.111>.

Li G, Wu S, Zeng J, Wang L, Yu W. 2016. « Effect of frying and aluminium on the levels and migration of parent and oxygenated PAHs in a popular Chinese fried bread youtiao ». *Food Chemistry* 209: 123-130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.036>.

Li J, Yang L, Gao Y, Jiang P, Li Y, Zhao T, Zhang J, Wang W. 2019. « Seasonal variations of NPAHs and OPAHs in PM_{2.5} at heavily polluted urban and suburban sites in North China: Concentrations, molecular compositions, cancer risk assessments and sources ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 178: 58-65. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.04.009>.

Li W, Wang C, Shen H, Su S, Shen G, Huang Y, Zhang Y, Chen Y, Chen H, Lin N, Zhuo S, Zhong Q, Wang X, Liu J, Li B, Liu W, Tao S. 2015. « Concentrations and origins of nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons and oxy-polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air in urban and rural areas in northern China ». *Environmental Pollution* 197: 156-164. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.12.019>.

Li W, Wang C, Wang H, Chen J, Shen H, Shen G, Huang Y, Wang R, Wang B, Zhang Y, Chen H, Chen Y, Su S, Lin N, Tang J, Li Q, Wang X, Liu J, Tao S. 2014. « Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in rural and urban areas of northern China ». *Environmental Pollution* 192: 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.04.039>.

Li Y, Yang L, Chen X, Jiang P, Gao Y, Zhang J, Yu H, Wang W. 2018. « Indoor/outdoor relationships, sources and cancer risk assessment of NPAHs and OPAHs in PM_{2.5} at urban and suburban hotels in Jinan, China ». *Atmospheric Environment* 182: 325-334. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.03.058>.

Lin Y, Ma T, Qiu X, Li R, Fang Y, Wang J, Zhu Y, Hu D. 2015. « Sources, transformation, and health implications of PAHs and their nitrated, hydroxylated, and oxygenated derivatives in PM_{2.5} in Beijing ». *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 120: 7219-7228. <https://doi.org/10.1002/2015JD023628>.

Lintelmann J, Fischer K, Karg E, Schröppel A. 2005. « Determination of Selected Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aerosol Samples by High-

Performance Liquid Chromatography and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381: 508-519. <https://doi.org/10.1007/s00216-004-2883-8>.

Lintelmann J, Fischer K, Matuschek G. **2006**. « Determination of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in particulate matter using high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A* 1133: 241-247. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.08.038>.

Luque-Garcia JL, Luque de Castro MD. **2003**. « Ultrasound: a powerful tool for leaching ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 22: 41-47. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)00102-X](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)00102-X)

Lundstedt S, Bandowe BAM, Wilcke W, Boll E, Christensen JH, Vila J, Grifoll M, Faure P, Biache C, Lorgeoux C, Larsson C, Frech I, Ivarsson P, Ricci M. **2014**. « First intercomparison study on the analysis of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons (oxy-PAHs) and nitrogen heterocyclic polycyclic aromatic compounds (N-PACs) in contaminated soil ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 57: 83-92. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.01.007>.

Lundstedt S, Haglund P, Oberg L. **2006**. « Simultaneous Extraction and Fractionation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Oxygenated Derivatives in Soil Using Selective Pressurized Liquid Extraction ». *Analytical Chemistry* 78: 2993-3000. <https://doi.org/10.1021/ac052178f>.

Lundstedt S, White PA, Lemieux CL, Lynes KD, Lambert IB, Oberg L, Haglund P, Tysklind M. **2007**. « Sources, Fate, and Toxic Hazards of Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) at PAH-contaminated Sites ». *Journal of the Human Environment* 36: 475-485. [https://doi.org/10.1579/0044-7447\(2007\)36\[475:SFATHO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1579/0044-7447(2007)36[475:SFATHO]2.0.CO;2).

M

Machala M, Ciganek M, Bláha L, Minksová K, Vondráck J. **2001**. « Aryl Hydrocarbon Receptor-Mediated and Estrogenic Activities of Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Azaarenes Originally Identified in Extracts of River Sediments ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 20: 2736-2743.

Malig B. **2015**. « Technical Support Document for Cancer Potency Factors 2009 ». *Text. OEHHA*. 28 novembre 2015. <https://oehha.ca.gov/air/crnrr/technical-support-document-cancer-potency-factors-2009>.

Mallakin A, Dixon DG, Greenberg BM. **2000**. « Pathway of anthracene modification under simulated solar radiation ». *Chemosphere* 40: 1435-1441. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00331-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00331-8).

Mallick S, Chatterjee S, Dutta TK. 2007. « A Novel Degradation Pathway in the Assimilation of Phenanthrene by *Staphylococcus* Sp. Strain PN/Y via Meta-Cleavage of 2-Hydroxy-1-Naphthoic Acid: Formation of Trans-2,3-Dioxo-5-(2'-Hydroxyphenyl)-Pent-4-Enoic Acid ». *Microbiology* 153: 2104-2115. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2006/004218-0>.

Manzano C, Hoh E, Simonich SL. 2013. « Quantification of complex polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures in standard reference materials using comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A* 1307: 172-179. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.093>.

Meckenstock RU, Safinowski M, Griebler C. 2004. « Anaerobic Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons ». *FEMS Microbiology Ecology* 49: 27-36. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.02.019>.

Mirivel G, Riffault V, Galloo JC. 2010. « Simultaneous Determination by Ultra-Performance Liquid Chromatography–atmospheric Pressure Chemical Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry of Nitrated and Oxygenated PAHs Found in Air and Soot Particles ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397: 243-256. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3416-2>.

Motorykin O, Schrlau J, Jia Y, Harper B, Harris S, Harding A, Stone D, Kile M, Sudakin D, Massey SSL. 2015. « Determination of parent and hydroxy PAHs in personal PM2.5 and urine samples collected during Native American fish smoking activities ». *Science of The Total Environment* 505: 694-703. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.051>.

Mustafa A, Turner C. 2011. « Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review ». *Analytica Chimica Acta* 703: 8-18. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.018>.

Mostert MMR, Godwin AA, Kokot S. 2010. « Application of Chemometrics to Analysis of Soil Pollutants ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 29: 430-45. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.02.009>.

N

Nalin F, Golly B, Besombes JL, Pelletier C, Aujay-Plouzeau R, Verlhac S, Dermigny A, Fievet A, Karoski N, Dubois P, Collet S, Favez O, Albinet A. 2016. « Fast oxidation processes from emission to ambient air introduction of aerosol emitted by residential log wood stoves ». *Atmospheric Environment* 143: 15-26. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.08.002>.

Nikolaou K, Masclat P, Mouvier G. 1984. « Sources and chemical reactivity of polynuclear aromatic hydrocarbons in the atmosphere — A critical review ». *Science of The Total Environment* 32: 103-132. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(84\)90125-6](https://doi.org/10.1016/0048-9697(84)90125-6).

Nocun MS, Schantz MM. 2013. « Determination of Selected Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (Oxy-PAHs) in Diesel and Air Particulate Matter Standard Reference Materials (SRMs) ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405: 5583-5593. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-6957-3>.

NTP. 2006. « Toxicology and carcinogenesis studies of benzophenone (CAS No. 119–61–9) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies) ». *NTP TR 533*. Technical report. National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services. NIH Publication no. 06–4469

Nyiri Z, Novák M, Bodai Z, Szabó BS, Eke Z, Záray G, Szigeti T. 2016. « Determination of particulate phase polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated and oxygenated derivatives using gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–tandem mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A* 1472: 88-98. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.10.021>.

O

Obrist D, Zielinska B, A. Perlinger J. 2015. « Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and oxygenated PAHs (OPAHs) in organic and mineral soil horizons from four U.S. remote forests ». *Chemosphere* 134: 98-105. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.087>.

O'Connell SG, Haigh T, Wilson G, Anderson KA. 2013. « An Analytical Investigation of 24 Oxygenated-PAHs (OPAHs) Using Liquid and Gas Chromatography–mass Spectrometry ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405: 8885-8896. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7319-x>.

O'Connell SG, McCartney MA, Paulik LB, Allan SE, Tidwell LG, Wilson G, Anderson KA. 2014. « Improvements in pollutant monitoring: Optimizing silicone for co-deployment with polyethylene passive sampling devices ». *Environmental Pollution* 193: 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.019>.

Oda J, Maeda I, Mori T, Yasuhara A, Saito Y. 1998. « The Relative Proportions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Oxygenated Derivatives in Accumulated Organic Particulates as Affected by Air Pollution Sources ». *Environmental Technology* 19: 961-976. <https://doi.org/10.1080/09593331908616755>.

OEHHA (Office of Environmental Health Hazard Assessment). **2011**. « Technical Support Document for Cancer Potency Factors » <http://oehha.ca.gov/air/cnr/technical-support-document-cancer-potency-factors-2009>

OEHHA (Office of Environmental Health Hazard Assessment). **2015**. « Technical Support Document for Cancer Potency Factors 2009 ». *Text. OEHHA. 28 novembre 2015.* <https://oehha.ca.gov/air/cnr/technical-support-document-cancer-potency-factors-2009>.

Okere UV. **2011**. « Biodegradation of PAHs in ‘Pristine’ Soils from Different Climatic Regions ». *Journal of Bioremediation & Biodegradation*. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.S1-006>.

Olive PL, Banáth JP, Durand RE. **1990**. « Heterogeneity in Radiation-Induced DNA Damage and Repair in Tumor and Normal Cells Measured Using the “Comet” Assay ». *Radiation Research* 122: 86-94. <https://doi.org/10.2307/3577587>.

P

Paris A, Gaillard JL, Ledauphin J. **2019**. « Rapid Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Apple: Ultrasound-Assisted Solvent Extraction Followed by Microextraction by Packed Sorbent ». *Food Analytical Methods* 12: 2194-2204. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01568-7>

Paris A, Ledauphin J, Poinot P, Gaillard JL. **2018**. « Polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits and vegetables: Origin, analysis, and occurrence ». *Environmental Pollution* 234: 96-106. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.028>.

Payá P, Anastassiades M, Mack D, Sigalova I, Tasdelen B, Oliva J, Barba A. 2007 « Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection », *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 389: 1697-1714, doi:10.1007/s00216-007-1610-7.

Pedersen DU, Durant JL, Taghizadeh K, Hemond HF, Lafleur AL, Cass GR. **2005**. « Human Cell Mutagens in Respirable Airborne Particles from the Northeastern United States. 2. Quantification of Mutagens and Other Organic Compounds ». *Environmental Science & Technology* 39: 9547-9560. <https://doi.org/10.1021/es050886c>.

Peng RH, Xiong AS, Xue Y, Fu XY, Gao F, Zhao W, Tian YS, Yao QH. **2008**. « Microbial Biodegradation of Polyaromatic Hydrocarbons ». *FEMS Microbiology Reviews* 32: 927-955. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00127.x>.

Perraudin E, Budzinski H, Villenave E. **2007**. « Kinetic Study of the Reactions of Ozone with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Adsorbed on Atmospheric Model Particles ». *Journal of Atmospheric Chemistry* 56: 57-82. <https://doi.org/10.1007/s10874-006-9042-x>.

Poncelet L, El Bakhi S, Dulaurent S, Saint-Marcoux F. **2016**. « Les sels QuEChERS pour l'identification et la quantification de benzodiazépines et métabolites dans les prélèvements biologiques par LC–MS/MS ». *Toxicologie Analytique et Clinique* 28: 201-210. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2016.05.054>.

Pulleyblank C, Cipullo S, Campo P, Kelleher B, Coulon F. **2019**. « Analytical progress and challenges for the detection of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbon transformation products in aqueous and soil environmental matrices: A review ». *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 0: 1-53. <https://doi.org/10.1080/10643389.2018.1547622>.

Purcaro G, Moret S, Conte SL. **2013**. « Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: Occurrence, legislation and innovative determination in foods ». *Talanta* 105: 292-305. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.10.041>.

Q

Qiao M, Bai Y, Cao W, Huo Y, Zhao X, Liu D, Li Z. **2018**. « Impact of secondary effluent from wastewater treatment plants on urban rivers: Polycyclic aromatic hydrocarbons and derivatives ». *Chemosphere* 211: 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.167>.

Qiao M, Cao W, Liu B, Bai Y, Qi W, Zhao X, Qu J. **2017**. « Impact of upgrading wastewater treatment plant on the removal of typical methyl, oxygenated, chlorinated and parent polycyclic aromatic hydrocarbons ». *Science of The Total Environment* 603-604: 140-147. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.097>.

Qiao M, Qi W, Liu H, Bai Y, Qu J. **2016**. « Formation of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons from polycyclic aromatic hydrocarbons during aerobic activated sludge treatment and their removal process ». *Chemical Engineering Journal* 302: 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.04.139>.

Qiao M, Qi W, Liu H, Qu J. **2013**. « Simultaneous determination of typical substituted and parent polycyclic aromatic hydrocarbons in water and solid matrix by gas chromatography–mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A* 1291: 129-136. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.03.044>.

Qiao M, Qi W, Liu H, Qu J. 2014a. « Occurrence, behavior and removal of typical substituted and parent polycyclic aromatic hydrocarbons in a biological wastewater treatment plant ». *Water Research* 52: 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.12.032>.

Qiao M, Qi W, Liu H, Qu J. 2014b. « Oxygenated, nitrated, methyl and parent polycyclic aromatic hydrocarbons in rivers of Haihe River System, China: Occurrence, possible formation, and source and fate in a water-shortage area ». *Science of The Total Environment* 481: 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.050>.

Qu X, Zhang Q, Wang W. 2006. « Mechanism for OH-initiated photooxidation of naphthalene in the presence of O₂ and NO_x: A DFT study ». *Chemical Physics Letters* 429: 77-85. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2006.08.036>.

R

Reisen F, Arey J. 2005. « Atmospheric Reactions Influence Seasonal PAH and Nitro-PAH Concentrations in the Los Angeles Basin ». *Environmental Science & Technology* 39: 64-73. <https://doi.org/10.1021/es035454l>.

Ricking M, Schwarzbauer J, Franke S. 2003. « Molecular markers of anthropogenic activity in sediments of the Havel and Spree Rivers (Germany) ». *Water Research* 37: 2607-2617

Riddick JA, Bunger WB. 1970. « Techniques of Organic Chemistry, volume 2. Organic Solvents », Third Edition, *Wiley-Interscience, New York*.

Ringuet J, Albinet A, Leoz-Garziandia E, Budzinski H, Villenave E. 2012a. « Diurnal/nocturnal concentrations and sources of particulate-bound PAHs, OPAHs and NPAHs at traffic and suburban sites in the region of Paris (France) ». *Science of The Total Environment* 437: 297-305. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.07.072>.

Ringuet J, Albinet A, Leoz-Garziandia E, Budzinski H, Villenave E. 2012b. « Reactivity of polycyclic aromatic compounds (PAHs, NPAHs and OPAHs) adsorbed on natural aerosol particles exposed to atmospheric oxidants ». *Atmospheric Environment* 61: 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.07.025>.

Rivas FJ, J. Beltrán F, Acedo B. 2000. « Chemical and photochemical degradation of acenaphthylene. Intermediate identification ». *Journal of Hazardous Materials* 75: 89-98. [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(00\)00196-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(00)00196-5).

Ruiz-García Y, L. Silva C, Gómez-Plaza E, Câmara JS. 2016. « A Powerful Analytical Strategy Based on QuEChERS-Dispersive Solid-Phase Extraction Combined with Ultrahigh Pressure Liquid Chromatography for Evaluating the Effect of Elicitors on Biosynthesis of trans-Resveratrol in Grapes », *Food Analytical Methods* 3: 670-679, doi: 10.1007/s12161-015-0227-2.

S

Santos AG, Regis AC, da Rocha GO, Bezerra MA, de Jesus RM, de Andrade JB. 2016. « A simple, comprehensive, and miniaturized solvent extraction method for determination of particulate-phase polycyclic aromatic compounds in air ». *Journal of Chromatography A* 1435: 6-17. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.01.018>.

Santos LO, dos Anjos JP, Ferreira SLC, de Andrade BJ. 2017. « Simultaneous determination of PAHS, nitro-PAHS and quinones in surface and groundwater samples using SDME/GC-MS ». *Microchemical Journal* 133: 431-440. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.04.012>.

Santos LO, Santos AG, de Andrade BJ. 2018. « Methodology to examine polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) nitrated PAHs and oxygenated PAHs in sediments of the Paraguaçu River (Bahia, Brazil) ». *Marine Pollution Bulletin* 136: 248-256. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.022>.

Sasaki J, Aschmann MS, Kwok SCE, Atkinson R, Arey J. 1997. « Products of the Gas-Phase OH and NO₃ Radical-Initiated Reactions of Naphthalene ». *Environmental Science & Technology* 31: 3173-3179. <https://doi.org/10.1021/es9701523>.

Schlages I, Meyer D, Palm WU, Ruck W. 2008. « Identification, Quantification and Distribution of Pac-Metabolites, Heterocyclic Pac and Substituted Pac in Groundwater Samples of Tar-Contaminated Sites from Germany ». *Polycyclic Aromatic Compounds* 28: 320-338. <https://doi.org/10.1080/10406630802377807>.

Semple KT, Morriss AWJ, Paton GI. 2003. « Bioavailability of Hydrophobic Organic Contaminants in Soils: Fundamental Concepts and Techniques for Analysis ». *European Journal of Soil Science* 54: 809-818. <https://doi.org/10.1046/j.1351-0754.2003.0564.x>.

Sellergren B. 1994. « Direct Drug Determination by Selective Sample Enrichment on an Imprinted Polymer », *Analytical Chemistry* 9: 1578-1582. doi: 10.1021/ac00081a036.

Seo JS, Keum YS, Li XQ. 2009. « Bacterial Degradation of Aromatic Compounds ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 6: 278-309. <https://doi.org/10.3390/ijerph6010278>.

Serrano A, Gallego M. 2006. « Continuous microwave-assisted extraction coupled on-line with liquid–liquid extraction: Determination of aliphatic hydrocarbons in soil and sediments ». *Journal of Chromatography A* 1104: 323-330. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.12.017>.

Shahpoury P, Kitanovski Z, Lammel G. 2018. « Snow Scavenging and Phase Partitioning of Nitrated and Oxygenated Aromatic Hydrocarbons in Polluted and Remote Environments in Central Europe and the European Arctic ». *Atmospheric Chemistry and Physics* 18: 13495-13510. <https://doi.org/10.5194/acp-18-13495-2018>.

Shen G, Chen Y, Du W, Lin N, Wang X, Cheng H, Liu J, Xue C, Liu G, Zeng EY, Xing B, Tao S. 2016. « Exposure and Size Distribution of Nitrated and Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons among the Population Using Different Household Fuels ». *Environmental Pollution* 216: 935-942. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.07.002>.

Shen G, Wang W, Yang Y, Ding J, Xue M, Min Y, Zhu C, Shen H, Li W, Wang B, Wang X, Tao S, Russell GA. 2011. « Emissions of PAHs from Indoor Crop Residue Burning in a Typical Rural Stove: Emission Factors, Size Distributions, and Gas–Particle Partitioning ». *Environmental Science & Technology* 45: 1206-12. <https://doi.org/10.1021/es102151w>.

Shen G, Wei S, Zhang Y, Wang R, Wang B, Li W, Shen H, Huang Y, Chen Y, Chen H, Wei W, Tao S. 2012. « Emission of Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Biomass Pellet Burning in a Modern Burner for Cooking in China ». *Atmospheric Environment* 60: 234-237. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.06.067>.

Shen G, Xue M, Wei S, Chen Y, Wang B, Wang R, Yan LY, Shen H, Li W, Zhang Y, Huang Y, Chen H, Wei W, Zhao Q, Li B, Wu H, Tao S. 2013. « Emissions of Parent, Nitrated, and Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Indoor Corn Straw Burning in Normal and Controlled Combustion Conditions ». *Journal of Environmental Sciences* 25: 2072-2080. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60249-6](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60249-6).

Sidhu S, Gullett B, Striebich R, Klosterman J, Contreras J, DeVito M. 2005. « Endocrine disrupting chemical emissions from combustion sources: diesel particulate emissions and domestic waste open burn emissions ». *Atmospheric Environment* 39: 801-811. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2004.10.040>.

Sienra MDR. 2006. « Oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in urban air particulate matter ». *Atmospheric Environment* 40: 2374-2384

Simoneit BRT, Bi X, Oros RD, Medeiros MP, Sheng G, Fu J. **2007**. « Phenols and Hydroxy-PAHs (Arylphenols) as Tracers for Coal Smoke Particulate Matter: Source Tests and Ambient Aerosol Assessments ». *Environmental Science & Technology* 41: 7294-7302. <https://doi.org/10.1021/es071072u>.

Singh L, Varshney GJ, Agarwal J. **2016**. « Polycyclic aromatic hydrocarbons' formation and occurrence in processed food ». *Food Chemistry* 199: 768-781. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.074>.

Souza KF, Carvalho RFL, Allen GA, Cardoso AA. **2014**. « Diurnal and nocturnal measurements of PAH, nitro-PAH, and oxy-PAH compounds in atmospheric particulate matter of a sugar cane burning region ». *Atmospheric Environment* 83: 193-201. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.11.007>.

Srivastava D, Favez O, Bonnaire N, Lucarelli F, Haeffelin M, Perraudin E, Gros V, Villenave E, Albinet A. **2018a**. « Speciation of organic fractions does matter for aerosol source apportionment. Part 2: Intensive short-term campaign in the Paris area (France) ». *Science of The Total Environment* 634: 267-278. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.296>.

Srivastava D, Tomaz S, Favez O, Lanzafame GM, Golly B, Besombes JL, Alleman LY, Jaffrezo JL, Jacob V, Perraudin E, Villenave E, Albinet A. **2018b**. « Speciation of Organic Fraction Does Matter for Source Apportionment. Part 1: A One-Year Campaign in Grenoble (France) ». *Science of the Total Environment* 624: 1598-1611. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.135>.

Sun Z, Zhu Y, Zhuo S, Liu W, Zeng EY, Wang X, Xing B, Tao S. **2017**. « Occurrence of nitro- and oxy-PAHs in agricultural soils in eastern China and excess lifetime cancer risks from human exposure through soil ingestion ». *Environment International* 108: 261-270. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.09.001>.

T

Tang S, Qi T, Dim AP, Nalouzebi FJC, Shen W, Basheer C, Lee HK. **2018**. « Single-drop microextraction ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 108: 306-313. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.09.016>.

Teng C, Wu S, Gong G. **2019**. « Bio-removal of phenanthrene, 9-fluorenone and anthracene-9,10-dione by laccase from *Aspergillus niger* in waste cooking oils ». *Food Control* 105: 219-225. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.06.015>.

Tidwell LG, Allan SE, O'Connell SG, Hobbie KA, Smith BW, Anderson KA. **2016**. « PAH and OPAH Flux during the Deepwater Horizon Incident ». *Environmental Science & Technology* 50: 7489-7497. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02784>.

Tidwell LG, Blair PL, Anderson KA. 2017. « Air-water exchange of PAHs and OPAHs at a superfund mega-site ». *Science of The Total Environment* 603-604: 676-686. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.185>.

Tillner J, Hollard C, Bach C, Rosin C, Munoz JF, Dauchy X. 2013. « Simultaneous Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Chlorination By-Products in Drinking Water and the Coatings of Water Pipes by Automated Solid-Phase Microextraction Followed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry ». *Journal of Chromatography. A* 1315: 36-46. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.09.047>.

Tobiszewski M, Namieśnik J. 2012. « PAH Diagnostic Ratios for the Identification of Pollution Emission Sources ». *Environmental Pollution* 162: 110-19. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.10.025>.

Tomaz S, Jaffrezo JL, Favez O, Perraudin E, Villenave E, Albinet A. 2017. « Sources and atmospheric chemistry of oxy- and nitro-PAHs in the ambient air of Grenoble (France) ». *Atmospheric Environment* 161: 144-154. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.04.042>.

Tomaz S, Shahpoury P, Jaffrezo JL, Lammel G, Perraudin E, Villenave E, Albinet A. 2016. « One-year study of polycyclic aromatic compounds at an urban site in Grenoble (France): Seasonal variations, gas/particle partitioning and cancer risk estimation ». *Science of The Total Environment* 565: 1071-1083. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.137>.

Toriba A. 2018. « Analytical Methods for Oxidative Derivatives of PAHs Including Application to Environmental and Biological Samples ». In *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Environmental Behavior and Toxicity in East Asia* 41-55. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6775-4_4.

Totlandsdal AI, Øvrevik J, Cochran RE, Herseth JI, Bølling AK, Låg M, Schwarze P, Lilleaas E, Holme JA, Kubátová A. 2014. « The Occurrence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Derivatives and the Proinflammatory Potential of Fractionated Extracts of Diesel Exhaust and Wood Smoke Particles ». *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* 49: 383-396. <https://doi.org/10.1080/10934529.2014.854586>.

U

Umbuzeiro GA, Franco A, Martins MH, Kummrow F, Carvalho L, Schmeiser HH, Leykauf J, Stiborova M, Claxton LD. 2008. « Mutagenicity and DNA adduct formation of PAH, nitro-PAH, and oxy-PAH fractions of atmospheric particulate matter from São Paulo, Brazil ». *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 652: 72-80. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.12.007>.

V

Valavanidis A, Fiotakis K, Vlahogianni T, Bakeas B E, Triantafillaki S, Paraskevopoulou V, Dassenakis M. **2006**. « Characterization of atmospheric particulates, particle-bound transition metals and polycyclic aromatic hydrocarbons of urban air in the centre of Athens (Greece) » *Chemosphere* 65: 760-768. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.052>

Viñas P, Campillo N, Andruch V. **2015**. « Recent achievements in solidified floating organic drop microextraction ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 68: 48-77. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.005>.

von Soxhlet F. **1879**. « Die gewichtsanalytische Bestimmung des Milchfettes ». *Dingler's Polytechnisches Journal* 232: 461-465

Vorce SP, Sklerov JH, Kalasinsky KS. **2000**. « Assessment of the Ion-Trap Mass Spectrometer for Routine Qualitative and Quantitative Analysis of Drugs of Abuse Extracted from Urine ». *Journal of Analytical Toxicology* 24: 595–601. <https://doi.org/10.1093/jat/24.7.595>

Vyas BRM, Bakowski S, Šašek V, Matucha M. **1994**. « Degradation of anthracene by selected white rot fungi ». *FEMS Microbiology Ecology* 14: 65-70. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1994.tb00091.x>

W

Walgraeve C, Demeestere K, De Wispelaere P, Dewulf J, Lintelmann J, Fischer K, Van Langenhove H. **2012**. « Selective Accurate-Mass-Based Analysis of 11 Oxy-PAHs on Atmospheric Particulate Matter by Pressurized Liquid Extraction Followed by High-Performance Liquid Chromatography and Magnetic Sector Mass Spectrometry ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 402: 1697-1711. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5568-0>.

Walgraeve C, Chantara S, Sopajaree K, De Wispelaere P, Demeestere K, Van Langenhove H. **2015**. « Quantification of PAHs and oxy-PAHs on airborne particulate matter in Chiang Mai, Thailand, using gas chromatography high resolution mass spectrometry ». *Atmospheric Environment* 107: 262-272. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.02.051>.

Walgraeve C, De Wispelaere P, Van der Elst F, Van Langenhove H. **2017**. « Development of an Analytical Method to Determine Oxy-PAHs and PAHs in *Taxus Baccata* Leaves ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 409: 335-347. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-0008-9>.

Walgraeve C, Demeestere K, Dewulf J, Zimmermann R, Van Langenhove H. 2010. « Oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particulate matter: Molecular characterization and occurrence ». *Atmospheric Environment* 44: 1831-1846. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.12.004>.

Wang L, Atkinson R, Arey J. 2007a. « Formation of 9,10-phenanthrenequinone by atmospheric gas-phase reactions of phenanthrene ». *Atmospheric Environment* 41: 2025-2035. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2006.11.008>.

Wang L, Atkinson R, Arey J. 2007b. « Dicarbonyl Products of the OH Radical-Initiated Reactions of Naphthalene and the C1- and C2-Alkyl naphthalenes ». *Environmental Science & Technology* 41: 2803-10. <https://doi.org/10.1021/es0628102>.

Wang W, Jariyasopit N, Schrlau J, Jia Y, Tao S, Yu TW, Dashwood RH, Zhang W, Wang X, Simonich SL. 2011. « Concentration and Photochemistry of PAHs, NPAHs, and OPAHs and Toxicity of PM_{2.5} during the Beijing Olympic Games ». *Environmental Science & Technology* 45: 6887-6895. <https://doi.org/10.1021/es201443z>.

Wang X, Zhou L, Luo F, Zhang X, Sun H, Yang M, Lou Z, Chen Z. 2018. « 9,10-Anthraquinone deposit in tea plantation might be one of the reasons for contamination in tea ». *Food Chemistry* 244: 254-259. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.123>.

Wilkowska A, Biziuk M. 2011. « Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology ». *Food Chemistry* 125: 803-12. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.094>.

Wei C, Han Y, Bandowe BAM, Cao J, Huang RJ, Ni H, Tian J, Wilcke W. 2015. « Occurrence, gas/particle partitioning and carcinogenic risk of polycyclic aromatic hydrocarbons and their oxygen and nitrogen containing derivatives in Xi'an, central China ». *Science of The Total Environment* 505: 814-822. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.054>.

Wei S, Huang B, Liu M, Bi X, Ren Z, Sheng G, Fu J. 2012. « Characterization of PM_{2.5}-bound nitrated and oxygenated PAHs in two industrial sites of South China ». *Atmospheric Research* 109-110: 76-83. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2012.01.009>.

Wei S, Shen G, Zhang Y, Xue M, Xie H, Lin P, Chen Y, Wang X, Tao S. 2014. « Field measurement on the emissions of PM, OC, EC and PAHs from indoor crop straw burning in rural China ». *Environmental Pollution* 184: 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.07.036>.

Wei Y, Han IK, Hu M, Shao M, Zhang JJ, Tang X. 2010. « Personal Exposure to Particulate PAHs and Anthraquinone and Oxidative DNA Damages in Humans ». *Chemosphere* 81: 1280-1285. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.055>.

Weigand H, Totsche KU, Kögel-Knabner I, Annweiler E, Richnow HH, Michaelis W. 2002. « Fate of Anthracene in Contaminated Soil: Transport and Biochemical Transformation under Unsaturated Flow Conditions ». *European Journal of Soil Science* 53: 71-81. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2002.00427.x>.

Wilcke W, Bandowe BAM, Lueso MG, Ruppenthal M, Del Valle H, Oelmann Y. 2014a. « Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their polar derivatives (oxygenated PAHs, azaarenes) in soils along a climosequence in Argentina ». *Science of The Total Environment* 473-474: 317-325. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.037>.

Wilcke W, Kiesewetter M, Bandowe BAM. 2014b. « Microbial formation and degradation of oxygen-containing polycyclic aromatic hydrocarbons (OPAHs) in soil during short-term incubation ». *Environmental Pollution* 184: 385-390. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.09.020>.

Witter AE, Nguyen MH. 2016. « Determination of oxygen, nitrogen, and sulfur-containing polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in urban stream sediments ». *Environmental Pollution* 209: 186-196. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.10.037>.

Z

Zhang J, Yang L, Ledoux F, Courcot D, Mellouki A, Gao Y, Jiang P, Li Y, Wang W. 2019. « PM_{2.5}-bound polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and nitrated PAHs (NPAHs) in rural and suburban areas in Shandong and Henan Provinces during the 2016 Chinese New Year's holiday ». *Environmental Pollution* 250: 782-791. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.040>.

Zhang J, Yang X, Mellouki A, Chen J, Chen X, Gao Y, Jiang P, Li Y, Yu H, Wang W. 2018a. « Atmospheric PAHs, NPAHs, and OPAHs at an urban, mountainous, and marine sites in Northern China: Molecular composition, sources, and ageing ». *Atmospheric Environment* 173: 256-264. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.11.002>.

Zhang J, Yang L, Mellouki A, Chen J, Chen X, Gao Y, Jiang P, Li Y, Yu H, Wang W. 2018b. « Diurnal concentrations, sources, and cancer risk assessments of PM_{2.5}-bound PAHs, NPAHs, and OPAHs in

urban, marine and mountain environments ». *Chemosphere* 209: 147-155. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.054>.

Zhang Y, Yang B, Meng J, Gao S, Dong X, Shu J. 2010. « Homogeneous and heterogeneous reactions of phenanthrene with ozone ». *Atmospheric Environment* 44: 697-702. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.11.017>.

Zhang ZH, Khlystov A, Norford KL, Tan ZK, Balasubramanian R. 2017. « Characterization of traffic-related ambient fine particulate matter (PM_{2.5}) in an Asian city: Environmental and health implications ». *Atmospheric Environment* 161: 132-143. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.04.040>.

Zhao X, Wu S, Gong G, Li G, Zhuang L. 2017. « TBHQ and peanut skin inhibit accumulation of PAHs and oxygenated PAHs in peanuts during frying ». *Food Control* 75: 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.029>.

Zhou S, Lee AKY, McWhinney RD, Abbatt JPD. 2012. « Burial Effects of Organic Coatings on the Heterogeneous Reactivity of Particle-Borne Benzo[a]pyrene (BaP) toward Ozone ». *The Journal of Physical Chemistry A* 116: 7050-7056. <https://doi.org/10.1021/jp3030705>.

Zhuo S, Du W, Shen G, Li B, Liu J, Cheng H, Xing B, Tao S. 2017a. « Estimating relative contributions of primary and secondary sources of ambient nitrated and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons ». *Atmospheric Environment* 159: 126-134. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.04.003>.

Zhuo S, Shen G, Zhu Y, Du W, Pan X, Li T, Han Y, Li B, Liu J, Cheng H, Xing B, Tao S. 2017b. « Source-oriented risk assessment of inhalation exposure to ambient polycyclic aromatic hydrocarbons and contributions of non-priority isomers in urban Nanjing, a megacity located in Yangtze River Delta, China ». *Environmental Pollution* 224: 796-809. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.039>.

Zuloaga O, Navarro P, Bizkarguenaga E, Iparraguirre A, Vallejo A, Olivares M, Prieto A. 2012. « Overview of extraction, clean-up and detection techniques for the determination of organic pollutants in sewage sludge: a review ». *Analytica Chimica Acta* 736: 7-29 <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.016>

Résumé

L'alimentation à travers l'ingestion de végétaux contaminés est une source potentiellement importante d'exposition humaine aux hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés (CO-HAPs). Ce travail de thèse vise à vérifier la présence des CO-HAPs dans les fruits et légumes issus de l'agriculture urbaine.

Une stratégie d'analyse permettant la détection de 28 CO-HAPs et la quantification de 12 d'entre-eux à l'état de traces dans les fruits et légumes a été mise au point. Cette stratégie comprend une étape optimisée d'extraction QuEChERS utilisant de l'acétate d'éthyle et un mélange de sels, puis une étape de purification par Extraction en Phase Solide (SPE) au moyen d'une phase stationnaire de type HLB. Les CO-HAPs extraits sont séparés, identifiés et quantifiés par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS). Cette méthodologie offre de bonnes linéarités pour des teneurs dans les fruits et légumes inférieures à 10 µg/kg, une bonne fidélité ainsi qu'une sensibilité adaptée à une quantification à l'état de traces (limites de détection comprises entre 0,01 et 2,6 µg/kg). Elle ne présente pas d'effet matrice pour une dizaine de végétaux et peut ainsi être transposable à une palette végétale très large.

Cette stratégie d'analyse a été appliquée avec succès à différents végétaux issus de jardins potagers urbains localisés en Normandie. Des teneurs relativement faibles en CO-HAPs (excédant rarement 5 µg/kg) sont retrouvées. Une présence globale plus importante en CO-HAPs est observée pour les végétaux possédant les plus grandes surfaces spécifiques permettant d'envisager une contamination majoritairement aérienne. Les concentrations les plus faibles en CO-HAPs ont pu être déterminées pour les sites les plus éloignés d'activités industrielles denses ou d'infrastructures routières importantes. L'exposition de végétaux à trois sources de combustion a permis de montrer une adsorption différente des CO-HAPs selon la nature du végétal ainsi que de proposer certains CO-HAPs comme marqueurs d'exposition pour chacun des processus de combustion étudiés.

Mots clés : hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés (CO-HAPs), extraction QuEChERS, Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS), fruits et légumes, agriculture urbaine, exposition aux polluants

Abstract

Ingestion of contaminated fruits and vegetables is a potential important source of human exposure to carbonyl polycyclic aromatic hydrocarbons (CO-PAHs). This PhD work aims to verify the presence of CO-HAPs in fruits and vegetables from urban agriculture.

During this research an analytical procedure for the detection of 28 CO-HAPs and the quantification of 12 of them under trace form in fruits and vegetables was developed. This strategy included firstly an optimized step of a QuEChERS extraction using ethyl acetate and a salt mixture and secondly a step of purification using a Solid Phase Extraction (SPE) with an HLB stationary phase. Extracted CO-PAHs were separated, identified and quantified using Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS). This methodology offered adequate linearities for amounts in fruits and vegetables lesser than 10 µg/kg, an adequate fidelity and a sensitivity suitable for a trace amount quantification (limits of detection between 0.01 and 2.6 µg/kg). No matrix effect was recorded for about 10 different plants and can be further implemented to a wide range of fruits and vegetables.

This procedure was successfully applied to various fruit and vegetable samples harvested in several urban gardens in Normandy. The presence of low contents of CO-PAHs (rarely exceeding 5 µg/kg) was confirmed in urban vegetation. Highest amounts of CO-PAHs were determined for plants presenting the highest specific surface so that an aerial contamination may be suspected. Lowest concentrations in CO-PAHs were conversely obtained for plants located far from important industrial activities or from significant road traffic. Exposition of fruits and vegetables to three combustion processes led to different adsorption of CO-PAHs according to the type of plant and, then, some CO-PAHs could be identified as markers of contamination of particular sources of combustion.

Key words : Carbonyl Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (CO-PAHs), QuEChERS extraction, Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS), fruits and vegetables, urban agriculture, exposition to pollutants

Présence et distribution des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques Carbonylés (CO-HAPs) dans les fruits et légumes : mises au point méthodologiques et applications à des jardins potagers urbains

Résumé

L'alimentation à travers l'ingestion de végétaux contaminés est une source potentiellement importante d'exposition humaine aux hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés (CO-HAPs). Ce travail de thèse vise à vérifier la présence des CO-HAPs dans les fruits et légumes issus de l'agriculture urbaine.

Une stratégie d'analyse permettant la détection de 28 CO-HAPs et la quantification de 12 d'entre-eux à l'état de traces dans les fruits et légumes a été mise au point. Cette stratégie comprend une étape optimisée d'extraction QuEChERS utilisant de l'acétate d'éthyle et un mélange de sels, puis une étape de purification par Extraction en Phase Solide (SPE) au moyen d'une phase stationnaire de type HLB. Les CO-HAPs extraits sont séparés, identifiés et quantifiés par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS). Cette méthodologie offre de bonnes linéarités pour des teneurs dans les fruits et légumes inférieures à 10 µg/kg, une bonne fidélité ainsi qu'une sensibilité adaptée à une quantification à l'état de traces (limites de détection comprises entre 0,01 et 2,6 µg/kg). Elle ne présente pas d'effet matrice pour une dizaine de végétaux et peut ainsi être transposable à une palette végétale très large.

Cette stratégie d'analyse a été appliquée avec succès à différents végétaux issus de jardins potagers urbains localisés en Normandie. Des teneurs relativement faibles en CO-HAPs (excédant rarement 5 µg/kg) sont retrouvées. Une présence globale plus importante en CO-HAPs est observée pour les végétaux possédant les plus grandes surfaces spécifiques permettant d'envisager une contamination majoritairement aérienne. Les concentrations les plus faibles en CO-HAPs ont pu être déterminées pour les sites les plus éloignés d'activités industrielles denses ou d'infrastructures routières importantes. L'exposition de végétaux à trois sources de combustion a permis de montrer une adsorption différente des CO-HAPs selon la nature du végétal ainsi que de proposer certains CO-HAPs comme marqueurs d'exposition pour chacun des processus de combustion étudié.

Mots clés : hydrocarbures aromatiques polycycliques carbonylés (CO-HAPs), extraction QuEChERS, Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS), fruits et légumes, agriculture urbaine, exposition aux polluants

Abstract

Ingestion of contaminated fruits and vegetables is a potential important source of human exposure to carbonyl polycyclic aromatic hydrocarbons (CO-PAHs). This PhD work aims to verify the presence of CO-HAPs in fruits and vegetables from urban agriculture.

During this research an analytical procedure for the detection of 28 CO-HAPs and the quantification of 12 of them under trace form in fruits and vegetables was developed. This strategy included firstly an optimized step of a QuEChERS extraction using ethyl acetate and a salt mixture and secondly a step of purification using a Solid Phase Extraction (SPE) with an HLB stationary phase. Extracted CO-PAHs were separated, identified and quantified using Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS). This methodology offered adequate linearities for amounts in fruits and vegetables lesser than 10 µg/kg, an adequate fidelity and a sensitivity suitable for a trace amount quantification (limits of detection between 0.01 and 2.6 µg/kg). No matrix effect was recorded for about 10 different plants and can be further implemented to a wide range of fruits and vegetables.

This procedure was successfully applied to various fruit and vegetable samples harvested in several urban gardens in Normandy. The presence of low contents of CO-PAHs (rarely exceeding 5 µg/kg) was confirmed in urban vegetation. Highest amounts of CO-PAHs were determined for plants presenting the highest specific surface so that an aerial contamination may be suspected. Lowest concentrations in CO-PAHs were conversely obtained for plants located far from important industrial activities or from significant road traffic. Exposition of fruits and vegetables to three combustion processes led to different adsorption of CO-PAHs according to the type of plant and, then, some CO-PAHs could be identified as markers of contamination of particular sources of combustion.

Key words : Carbonyl Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (CO-PAHs), QuEChERS extraction, Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS), fruits and vegetables, urban agriculture, exposition to pollutants