



HAL
open science

Caractérisation de nanoplastiques et microplastiques dans des matrices environnementales par des méthodes thermiques et séparatives

Corentin Le Juge

► **To cite this version:**

Corentin Le Juge. Caractérisation de nanoplastiques et microplastiques dans des matrices environnementales par des méthodes thermiques et séparatives. Autre. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 2022. Français. NNT: 2022PAUU3066 . tel-04277949

HAL Id: tel-04277949

<https://theses.hal.science/tel-04277949>

Submitted on 9 Nov 2023

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

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

THÈSE

UNIVERSITE DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR
École Doctorale des Sciences Exactes et leurs Applications
(ED211 SEA)

Présentée et soutenue le 15 décembre 2022

Par **Corentin LE JUGE**

Pour obtenir le grade de docteur
de l'université de Pau et des Pays de l'Adour
Spécialité : **Chimie Analytique**

Caractérisation de nanoplastiques et microplastiques dans des matrices environnementales par des méthodes thermiques et séparatives

MEMBRES DU JURY

RAPPORTEURS

- Alexandra TER HALLE Directeur de Recherche CNRS / IMRCP
- Sébastien SAUVÉ Professeur / Université de Montréal, Canada

EXAMINATEURS

- Mélanie DAVRANCHE Professeur / Géosciences Rennes, Université de Rennes 1

DIRECTEURS

- Bruno GRASSL Professeur / UPPA- IPREM, France
- Julien GIGAULT Chargé de recherche-HDR / Université LAVAL, Canada

INVITES

- David POINT Chargé de recherche-HDR, IRD / Université Paul Sabatier



Remerciements :

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du projet *JPI Water* qui ont financé et qui m'ont permis d'effectuer ces trois années de travaux de thèse. Je remercie aussi *Ian ALLAN* qui a dirigé l'ensemble de ce projet.

Je tiens ensuite à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer mes travaux. Merci à *Alexandra TER HALLE*, *Sébastien SAUVÉ* d'avoir été les rapporteurs de ce travail de thèse. Je tiens aussi à remercier *Mélanie DAVRANCHE* d'avoir traversé la France afin de présider à ma soutenance de thèse.

Je remercie mes deux co-directeurs de thèse, *Bruno GRASSL* et *Julien GIGAULT*. Merci à tous les deux pour votre soutien, votre confiance et votre disponibilité.

Ce travail de thèse a été l'occasion pour moi de quelques déplacements à Toulouse. Je tiens donc particulièrement à remercier *David POINT* et *Christelle LAGANE* de m'avoir accueilli à *Géosciences Environnement Toulouse*. De manière plus personnelle, merci à David pour ta disponibilité, ton aide ainsi que ton investissement à mon égard.

Je tiens également à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire Géosciences Rennes et de l'IPREM qui a participé de près ou de loin au bon déroulement de cette thèse.

Enfin d'un point de vue personnel, je souhaite remercier mes proches pour leur soutien le long de ces huit années d'études, et surtout lors de ces derniers mois de rédaction.

Résumé :

On peut aisément qualifier le plastique comme étant l'un des matériaux les plus utilisés au monde. Un tel succès, au regard d'autres matériaux, est la conséquence d'un moindre coût de fabrication associé à un spectre de propriétés quasiment infini. Le rejet en masse dans l'environnement entraîne la production de particules de tailles et de formes aléatoires. Ces particules nouvellement formées sont majoritairement définies par leur taille : on parle de microplastiques (MPs) et de nanoplastiques (NPs). Les principaux risques liés à la formation de ces particules sont : (i) le relargage d'additifs initialement imbriqués dans la structure plastique (retardateur de flamme, plastifiants, pigments et colorants) et (ii) la capacité à interagir par des phénomènes de sorption/désorption avec les contaminants (métaux, pesticides, composés organiques volatiles (VOCs)) présents dans l'environnement. Ces interactions complexifient davantage le processus de dégradation des contaminants en plus de contribuer à leur transfert le long de la chaîne trophique. C'est pour l'ensemble de ces raisons que la pollution plastique est désormais considérée comme un problème environnemental majeur et constitue une menace émergente pour le règne animal.

À ce jour, bien que de plus en plus étudié les informations relatives à leur présence et leur comportement dans l'environnement reste peu voire pas documenté : ceci est dû au manque de méthodes capables de les détecter. Il devient donc crucial de mettre au point des méthodes précises de mesure pour évaluer leurs niveaux de contamination dans plusieurs compartiments de l'environnement. Du fait de leur petite taille, de leur faible concentration environnementale et de leur composition en carbone, les NPs échappent à la plupart des techniques instrumentales. La caractérisation des MPs est moins délicate du fait de leur taille supérieure aux NPs. Jusqu'à présent, il existe de nombreuses méthodologies pour caractériser les MPs. Cependant ces méthodes ne fournissent pas de renseignement sur l'origine, la réactivité ou la transformation des MPs dans l'environnement. C'est pourquoi un besoin d'innovation analytique se fait ressentir pour retracer les sources et le cycle de vie des plastiques.

Le premier chapitre se concentre sur la remise en contexte de la crise du plastique (origine, pollution, transfert dans l'environnement, impact...). Il s'intéresse également au potentiel du couplage de la pyrolyse avec la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse

(Py-GCMS) pour la caractérisation des MPs et NPs dans des échantillons environnementaux ainsi qu'à l'utilisation de la déviation du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ par rapport à un standard international ($\delta^{13}\text{C}$) dans la compréhension des sources et processus des MPs.

La Py-GCMS est un outil analytique utilisé pour caractériser une large variété de polymères et composés ne pouvant être analysés par GCMS simple. Cependant, le polystyrène (PS) est soumis à des interférences causées par la matière organique (OM). Pour cette raison, nous nous sommes concentrés sur deux stratégies ayant pour objectif de minimiser ces interférences. La première est l'identification directe du PS à partir de marqueurs spécifiques du polymère qui ne sont pas produits lors de la pyrolyse de la OM : le dimère du styrène (3-butene-1,3-diylidibenzene) et le trimère du styrène (5-hexene-1,3,5-triyltribenzene). Nous avons montré que les signaux de dimère et de trimère de Styrène rapportés au signal du Styrène sont fortement influencés par deux paramètres : la température de pyrolyse et la taille des NPs de PS. L'analyse de NPs de PS de plus en plus grands est corrélée à une augmentation de l'intensité relative des signaux de dimère et de trimère rapportés au styrène. Dans un contexte où la formation de NPs dans les milieux environnementaux génère des polydispersités en taille et en forme, l'utilisation de marqueurs dimère sur styrène et trimère sur styrène représente un biais trop important pour une caractérisation fiable. La deuxième stratégie consiste en l'utilisation du ratio des produits de pyrolyse du PS. Le ratio toluène/styrène ($R_{T/S}$) permet l'identification indirecte des NPs de PS. En effet, alors qu'un $R_{T/S} > 4-5$ est généralement attribué au substrat dérivé de la OM, un $R_{T/S} < 0,1$ est généralement attribué aux plastiques de PS. Nous avons mis en évidence que le $R_{T/S}$ est corrélé à la fraction massique de PS présente dans un mélange. Ces résultats ont permis de développer un nouveau modèle empirique liant le $R_{T/S}$ à la fraction massique de PS. L'application de ce modèle à un échantillon de sol a permis de le valider et de déterminer la fraction massique (1,58%) de NPs de PS dans un sol contaminé. L'utilisation du même modèle sur les données de la littérature a permis d'estimer la concentration de NPs de PS dans les échantillons de composts présentés dans ces travaux. Étendu aux études existantes dans la littérature, ce modèle pourrait considérablement améliorer les informations quantitatives de la présence des NPs de PS dans l'environnement.

Des méthodologies nouvelles et complémentaires sont nécessaires pour retracer les sources des MPs et leur cycle de vie dans l'environnement. C'est dans ce but que nous avons développé une méthode par purge & piégeage-GC-MS-C-IRMS, permettant de mesurer le $\delta^{13}\text{C}$ CSIA

(Analyse d'isotopes stables spécifique à un composé) de VOCs extraits de MPs. Après développement de la méthode sur un standard contenant 60 VOCs, l'application sur un échantillon de MPs de PS industriel a permis la mesure du $\delta^{13}\text{C}$ de 7 VOCs. La méthode a été optimisée selon différentes températures d'échantillon : 100°C, 120°C, 140°C. Les analyses ont montré une augmentation de la quantité de VOCs désorbés des MPs en fonction de la température, avec un maximum d'intensité à 140°C. En parallèle, les valeurs $\delta^{13}\text{C}$ (CSIA) mesurées ont permis de démontrer l'absence de biais de fractionnement significatif qui aurait pu être causé par la température. La phase d'optimisation de la masse d'échantillon à analyser montre une augmentation linéaire de l'intensité du pic avec l'augmentation de la quantité d'échantillon. Ces résultats prouvent le transfert quantitatif des VOCs issus de MPs de PS en direction du piège et des détecteurs MS et IRMS. L'absence de biais liée à la masse d'échantillon de MPs analysé a permis d'améliorer la sensibilité de la méthode en augmentant la masse d'échantillon. L'application de cette méthode sur deux autres types de plastiques à savoir le polyéthylène téréphtalate (PET) et l'acide polylactique (PLA), montre une signature $\delta^{13}\text{C}$ différente pour un même VOCs en fonction du type de MPs. Par exemple, le Toluène qui se trouve dans les trois types de plastiques possède une valeur $\delta^{13}\text{C}$ CSIA de $25,9 \pm 0,1\%$ pour le PS, $-28,4 \pm 0,5\%$ pour le PET et $-38,7 \pm 0,5\%$ pour le PLA. Ces résultats préliminaires suggèrent que le $\delta^{13}\text{C}$ CSIA des VOCs issus des MPs serait un bon indicateur du traçage de sources et de processus des MPs dans l'environnement.

Les avancées dans cette thèse permettent non seulement d'élargir les méthodes analytiques dans un but de caractérisation et de quantification de NPs dans les milieux environnementaux, mais aussi d'offrir un nouveau potentiel analytique dans la compréhension du cycle de vie des MPs dans l'environnement.

SOMMAIRE

Contents

Résumé :	1
SOMMAIRE.....	5
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	8
CHAPITRE I. ÉTAT DE L'ART	12
I.1 Contexte.....	13
I.1.1 Origine et utilisations du plastique	13
I.1.2 La pollution plastique.....	16
I.1.3 Transfert et accumulation des plastiques dans l'environnement	16
I.1.4 Les plastiques dans l'océan : processus de dégradation	17
I.1.4.1 Dégradation physico-chimique.....	18
I.1.4.3 La dégradation biologique	20
I.1.5 Du macroplastique au NPs.....	21
I.1.6 Impacts environnementaux des MPs et NPs	22
I.2 Caractérisation des plastiques	24
I.2.1 Analyse des MPs et NPs : statut actuel et perspectives	24
I.2.2 Historique et principe fondamental de la Py-GCMS	28
I.2.3 Potentiel de la Py -GCMS	29
I.2.3.1 Caractérisation de la matière organique.....	30
I.2.3.1 Caractérisation des MPs et NPs.....	33
I.2.3 Utilisation du $\delta^{13}\text{C}$	36
I.2.3.1 principe du $\delta^{13}\text{C}$	36
I.2.2.2 Un outil dans la compréhension des processus environnementaux	38
I.2.2.3 Études préliminaires de caractérisation des plastiques par EA/IRMS.....	38
I.2.2.4 Analyse isotopique des polluants organiques	39
I.3 Conclusion.....	41
CHAPITRE II	42
Résumé chapitre II :	43
II.1 Polystyrene nanoplastics identification in the environment: possibilities, limitations, and applications of pyrolysis-gas-chromatography mass spectrometry	44
II.1.1 Introduction	45

II.1.2 Experimental section	47
II.1.2.1 Sample preparation.....	47
II.1.2.2 Instrumentation.....	47
II.1.2.3 Model	48
II.1.3 Results and Discussion	49
II.1.4 Conclusion.....	57
CHAPITRE III	59
Résumé chapitre III :	60
III.1 Volatile Organic Compounds Identification and Specific Isotopic Analysis ($\delta^{13}\text{C}$) in microplastics by Purge and Trap Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry and Combustion Isotope Ratio Mass Spectrometry (PT-GC-MS-C-IRMS)	61
III.1.1 Abstract	61
III.1.2 Introduction	62
III.1.3 Materials and methods.....	64
III.1.3.1 Reagents, MPs samples.....	64
III.1.3.2 Instrumentation	65
III.1.3.3 Measurement of carbon isotope ratios	66
III.1.4 Results and discussion	68
III.1.4.1 Identification and characterization of VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA	68
III.1.4.2 Influence of MPs sample mass and temperature.....	73
III.1.4.3 Application to different MPs materials (PET, PLA).....	76
III.1.5 Conclusion.....	78
CHAPITRE IV : Conclusion et perspective.....	79
IV.1 Conclusion.....	80
IV.2 Perspectives.....	82
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES	85
LISTE DES FIGURES	88
LISTE DES TABLEAUX	90
RÉFÉRENCES.....	91
Information supplémentaire:.....	106
Chapitre 2: Polystyrene nanoplastics identification in the environment: possibilities, limitations, and applications of pyrolysis-gas-chromatography mass spectrometry	106
Chapitre 3 : Identifications des VOCs et analyse isotopique spécifique ($\delta^{13}\text{C}$) dans les MPs par PT-GC-MS-C-IRMS	111

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis sa découverte au XX^{ème} siècle, le plastique est omniprésent au sein de notre société, inféodé à des secteurs d'application tant commerciaux, qu'industriels ou médicaux. On peut aisément le qualifier comme étant l'un des matériaux les plus utilisés au monde. Un tel succès, au regard d'autres matériaux, est la conséquence d'un moindre coût de fabrication associé à un spectre de propriétés quasiment infini. Il est en effet possible de disposer de plastiques de flexibilités, couleurs, capacités de conduction, durabilités et thermo-résistances différentes [1, 2]. Ces caractéristiques ont inévitablement conduit à multiplier la demande mondiale annuelle en plastique par 245 entre 1950 et 2019 [3]. Sur plus de 350 millions de tonnes produites annuellement, environ 8 millions échappent au circuit de gestion des déchets et sont relarguées dans les océans. Une fois dans l'environnement, les plastiques sont soumis à plusieurs processus de dégradation (photodégradation, dégradation mécanique, biodégradation...) : il en résulte la formation de particules de tailles et de formes aléatoires [4, 5]. Ces particules nouvellement formées sont majoritairement définies par leur taille. Ainsi un débris plastique dont la taille est inférieure à 5 mm est appelé microplastique (MPs) [6]. La définition de la limite basse en taille étant encore sujette à débats (0,1 μm /1 μm /20 μm ?), on considère de façon plus consensuelle qu'un nanoplastique (NPs) est une particule dont la taille est comprise entre 1 et 1000 nm [7]. Il découle de la fragmentation des plastiques une libération des additifs initialement imbriqués dans la structure du plastique (retardateurs de flamme, plastifiants, pigments et colorants [8]). De plus, les particules plastiques de petites tailles vont interagir par des phénomènes de sorption/désorption avec les contaminants (métaux, pesticides, composés organiques volatiles (VOCs)...) présents dans l'environnement. Ces interactions complexifient davantage le processus de dégradation des contaminants en plus de contribuer à leur transfert le long de la chaîne trophique [9]. En parallèle, cette fragmentation des plastiques est source d'aspects toxiques. Les échelles micrométriques et nanométriques vont permettre plus facilement le passage des barrières physiologiques [4]. De plus, l'intensité de la fragmentation des plastiques va de pair avec l'augmentation de leur surface spécifique. Ce phénomène a pour conséquence d'accroître leur capacité de sorption et, par extension, de transport de polluants. C'est pour l'ensemble de ces raisons que la pollution plastique est désormais considérée comme un problème environnemental majeur et constitue une menace émergente pour le règne animal.

Il devient donc crucial de mettre au point des méthodes de mesures précises pour évaluer leurs niveaux de contamination dans plusieurs compartiments de l'environnement. Du fait de leur

petite taille, de leur faible concentration environnementale et de leur composition carbonée, les NPs échappent à la plupart des techniques instrumentales [10]. Dans un but d'identification, le couplage de la pyrolyse avec la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (Py-GCMS) se révèle être l'une des méthodes les plus efficaces pour les plastiques. Des adaptations sont toutefois nécessaires pour la quantification : la matière organique (OM) naturelle présente dans les échantillons environnementaux peut par exemple biaiser le signal du plastique [11]. La caractérisation des MPs est moins délicate du fait de leur taille supérieure aux NPs. Jusqu'à présent, la plupart des méthodologies employées pour caractériser les MPs comprenaient les techniques suivantes : micro-spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (micro-FTIR) [12] ou Raman [13] pour la qualification et quantification, microscopie optique pour la caractérisation en taille, spectroscopie photo-électronique à rayon X (XPS) [14] pour la composition de surface. Ces méthodes ne fournissent toutefois pas de renseignement sur l'origine, la réactivité ou la transformation des MPs dans l'environnement. C'est pourquoi un besoin d'innovation analytique se fait ressentir pour retracer la source et le cycle de vie des plastiques.

C'est autour de cette problématique que la thèse s'est articulée, l'objectif étant de mettre au point des techniques analytiques thermiques et séparatives afin de caractériser et de quantifier les MPs et NPs.

Pour répondre à cet objectif, la thèse s'articule en trois parties :

- Le premier chapitre consiste en une remise en contexte de la crise du plastique (origine, pollution, transfert dans l'environnement, impact environnemental...). Il comprend également un travail bibliographique qui pose les bases des deux volets constituant le cœur des travaux de thèse, à savoir i) le potentiel analytique de la Py-GCMS pour la caractérisation des MPs et NPs dans des échantillons environnementaux et ii) l'utilité de la déviation du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ par rapport à un standard international ($\delta^{13}\text{C}$) dans la compréhension des sources et processus des MPs et NPs.
- Le deuxième chapitre présente le développement d'une méthode par Py-GCMS permettant de détecter et de quantifier des NPs de polystyrène (PS) dans une phase riche contenant de la OM naturelle. Ce chapitre comprend les possibilités, les limitations ainsi que différentes applications. Un modèle empirique a été proposé pour évaluer la quantité relative de NPs de PS. Ce dernier a été validé sur un échantillon de sol contaminé par des débris plastiques.

- Enfin le troisième chapitre expose le développement et l'application d'un système original de purge and trap couplée à un GC-MS-C-IRMS. Ici, l'application est l'analyse des isotopes stables du carbone appartenant aux VOCs issus des MPs. Ce chapitre comprend la mise au point de la méthode selon différents paramètres ainsi que l'application sur trois types de MPs.

Ce projet intitulé TROPOPLAST a été financé par WATER JPI (Water challenges for a changing world) dirigé par Ian ALLAN. Une partie des travaux a été réalisée en collaboration avec David POINT, chercheur à l'IRD au sein de Géosciences Environnement Toulouse.

CHAPITRE I. ÉTAT DE L'ART

I.1 Contexte

I.1.1 Origine et utilisations du plastique

Les plastiques sont des polymères organiques synthétiques composés de longues molécules simples ou ramifiées. Ils sont produits par polymérisation d'unités chimiques simples appelées monomères. Au cours de l'élaboration du produit, de nombreuses molécules annexes peuvent être ajoutées. Il s'agit des additifs qui ont pour objectif d'améliorer ou de donner une propriété au plastique : filtrante, plastifiante, stabilisatrice vis-à-vis des UV ou de la température, antimicrobienne ou encore colorante [15]. Ces additifs ont pour but de créer des matériaux aux propriétés polyvalentes et recherchées comme la résistance, la durabilité, flexibilité [1, 2]. Ces différentes propriétés ont rapidement conduit le plastique au cœur de la plupart des procédés industriels et technologiques (exemple dans le domaine de l'emballage, de la construction, du textile ou encore du secteur médical) [16, 17]. On dénombre actuellement environ 30 000 types de polymères à usage distinct [12]. Les premiers plastiques d'origine naturelle datent de l'antiquité : ils étaient créés à partir du caoutchouc, d'ambre, de corne ou d'écailles de tortues. C'est au XIX^{ème} siècle que le premier plastique artificiel fut développé. Il s'agit de la parkésine, fabriquée à partir de cellulose par Alexander Parkes en 1862 et présentée lors de l'exposition internationale de Londres [18]. L'invention des plastiques synthétiques à base de combustibles fossiles remonte à 1907 avec l'invention de Bakélite, une résine issue de la condensation du phénol et du formol [19]. C'est ensuite en 1920 qu'Herman Staudinger démontre que les petites molécules sont capables de s'assembler non seulement par agglomération physique, mais aussi par liaison chimique. Sa découverte est à l'origine de la synthèse de polymères par réaction de chimie organique (estérifications, ouvertures de cycles ...) telle que nous la connaissons aujourd'hui [20]. Ce n'est toutefois qu'au cours des années 1940 et 1950 qu'a lieu l'engouement du public et des professionnels autour de l'utilisation des matériaux plastiques. Dès 1945, Yarsley et Couzens prédisaient un champ d'application infini [21]. La production évoluant jusqu'à 260 millions de tonnes en 2009 [2] puis à 359 millions de tonnes en 2018 [22] confirme largement ces prédictions. En 2019, l'Asie produisait 51 % du plastique fabriqué à l'échelle mondiale, les États-Unis et le Canada 18 % et l'Union Européenne 17 %.

Aujourd'hui, six types de plastiques constituent à eux seuls environ 80 % de la demande de plastique européenne (*table 1*). Le polyéthylène (PE) et le polypropylène (PP) représentent respectivement 29,7 % et 19,3 % de la demande européenne. Ils sont suivis par le polychlorure de vinyle (PVC), le polyéthylène téréphtalate (PET), le polyuréthane (PU) et le (PS) [22]. Le PE se décline en polyéthylène basse densité (LD-PE) et polyéthylène haute densité (HD-PE). Le HDPE présente une faible ramification de ses chaînes polymériques, ce qui lui confère une forte rigidité et une faible perméabilité à l'inverse du LDPE. De l'emballage alimentaire à la construction en passant par l'électronique, les plastiques sont imbriqués dans tous les secteurs d'activités sociétales. Cependant en raison de l'énorme volume de déchets généré et non-anticipé, les plastiques ont tendance à s'accumuler dans l'environnement. De par leur résistance et leur stabilité, ils entraînent des conséquences environnementales auxquelles nous devons aujourd'hui nous confronter [9].

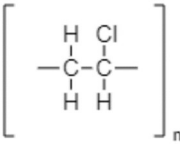
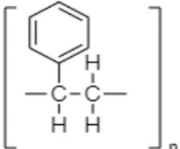
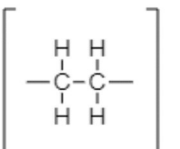
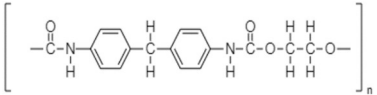
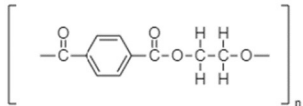
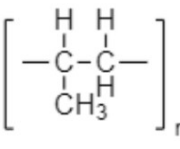
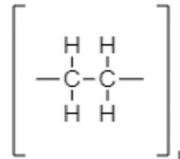
Année	Nom de plastique	Abréviation	Densité	Unité monomère	Demande européenne en 2019 (%)
1926	Polychlorure de vinyle	PVC	1,39		10
1930	Polystyrène	PS	1,04		6,2
1933	Polyéthylène basse densité	LD-PE	0,90-0,97		17,4
1937	Polyuréthane	PU	1,20		7,9
1940	Polyéthylène téréphtalate	PET	1,35		7,9
1951	Polypropylène	PP	0,87		19,4
1956	Polyéthylène haute densité	HD-PE	0,90-0,97		12,4

Tableau 1 : Présentation des « Big Six », plastiques les plus couramment utilisés

1.1.2 La pollution plastique

Il a été estimé que 50 % des plastiques produits sont à usage unique, tels que les emballages, les bâches utilisées en agriculture ou encore les articles de consommation jetables. Environ 20 % sont utilisés pour les matériaux de construction tels que : les tuyaux, les revêtements de câbles et les matériaux de structure, le reste servant à diverses applications comme l'électronique, l'ameublement ou la construction automobile [23]. Malgré son utilisation quotidienne, il y a un manque d'anticipation du cycle de vie du plastique. Sa fin de vie pose aujourd'hui un problème sociétal majeur [2]. La production cumulée de plastique (primaire et recyclée) entre 1950 et 2015 s'élève à 8300 millions de tonnes. Il est estimé que 70 % du total est devenu inutilisable après usage. Environ 10 % (800 millions de tonnes) de cette fraction a été incinérée. Presque 80 % (4900 millions de tonnes) s'accumule dans des décharges ou des milieux naturels. Ainsi, seulement 10 % des plastiques ayant perdu leur utilité sont recyclés [3, 24]. Cette mauvaise gestion du plastique entraîne un relargage en masse de débris plastiques dans l'environnement. Le premier article relatant la découverte de débris plastiques dans l'environnement marin date de 1972, des biologistes marins ont remarqué la présence de granulés en mer des Sargasses [25]. L'industrie du plastique n'a pas su prévoir les impacts de l'engouement que susciterait les plastiques sur les filières de gestion des déchets et du recyclage ces trente dernières années. Pourtant aujourd'hui la littérature sur les débris marin ne laisse aucun doute sur le fait que les plastiques constituent la majeure partie des déchets marins dans le monde [26]. Sur l'ensemble de la pollution marine, les débris plastiques représenteraient entre 60 à 80% des débris marin [27].

1.1.3 Transfert et accumulation des plastiques dans l'environnement

Aujourd'hui on estime que 10 millions de tonnes de déchets plastiques entrent dans les océans tous les ans [18]. Il existe deux sources principales de plastiques dans les océans :

- (i) La grande majorité y arrive charriée par les cours d'eau et rivières. D'après une récente estimation, ils représenteraient jusqu'à 12,7 millions de tonnes par an. Soit jusqu'à 90 % des déchets retrouvés en mer [18, 28].

- (ii) La seconde partie provient des activités maritimes. Il existe diverses sources de pollution maritimes telles que la pêche (filets de pêche), l'aquaculture, les plateformes en haute mer et enfin le transport maritime.

Il existe des zones dans les océans où différents courants marins convergent les uns vers les autres et où il se forme de gigantesques tourbillons permanents, appelés gyres. Ces tourbillons créent une zone d'accumulation de milliers de tonnes de débris plastiques. De récents modèles de circulation océanique suggèrent une accumulation de plastiques en cinq gyres différents : les gyres Nord et Sud Atlantique, les gyres Nord et Sud Pacifique et le gyre de l'Océan Indien [29]. Le gyre Pacifique Nord, communément surnommé « septième continent » ou « *Great Pacific Garbage Patch* » a été découvert en 1997 par Charles Moore. Il compterait environ 3,5 millions de tonnes de déchets. Les données historiques (1970-2015) indiquent que les niveaux de pollution augmentent à l'intérieur des gyres. Cette augmentation est plus rapide que dans les eaux environnantes [30]. Un manque de données sur la pollution plastique en milieu continental est présent au regard des études faites sur les milieux marins. Plusieurs études ont tenté d'estimer la quantité de débris plastiques dans les eaux de surface à travers le monde. Une modélisation par Lebreton et son équipe en 2012 [30] fait état d'une quantité de 100 000 tonnes de plastique. Eriksen et son équipe l'estiment à 270 000 tonnes en 2014 [31]. Malgré une différence notable entre ces deux estimations, les valeurs sont largement inférieures à la quantité de plastique relarguée dans les océans via les cours d'eau [32]. Des auteurs ont justifié cette différence par le manque de prise en considération des processus de dégradation des plastiques qui génère des particules de taille inférieure échappant aux méthodes d'échantillonnage actuelles [33].

1.1.4 Les plastiques dans l'océan : processus de dégradation

L'origine et les mécanismes de dégradation des plastiques dans l'environnement sont actuellement attribués à la combinaison de plusieurs processus [4, 5, 34, 35] :

- i) Dégradation physico-chimique
- ii) Biodégradation

L'ensemble de ces mécanismes conduisent à la libération de particules de plastique possédant une gamme de tailles et de formes incontrôlée. Les processus de dégradation sont dépendants d'une part des conditions physico-chimiques de l'environnement (pH, température, concentration en oxygène, micro-organismes...), d'autre part des propriétés intrinsèques du plastique (taille, structure, présence d'additifs, cristallinité) [36].

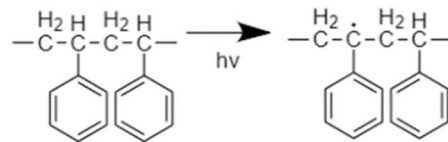
1.1.4.1 Dégradation physico-chimique

La photo-oxydation est un processus de détérioration/clivage moléculaire dû à son exposition à des rayonnements ultraviolets (UV-A et UV-B). Cette voie de dégradation peut être déclinée en trois étapes [37]:

- (i) L'initiation, consiste à l'extraction d'hydrogène du polymère par le rayonnement UV donnant lieu à des radicaux libres. Cette étape nécessite la présence d'un chromophore (groupement chimique qui absorbe la lumière) [38]. Le PE et le PP semblent de mauvais candidats à ce processus, ne possèdent pas de doubles liaisons insaturées (faisant office de chromophore dans leur structure moléculaire) [39]. Pour autant ils ne sont pas immunisés contre la photo-oxydation. La présence « d'impuretés externes ou d'anomalies structurelles » suffisant à enclencher la photo-oxydation [40]. En plus de la photolyse des groupes hyperoxydes, un second contributeur majeur conduit à la photodégradation des polycétones. Ces mécanismes appelées Norrish I et Norrish II, brisent les liaisons carbone-carbone et scissionnent le squelette du polymère [41].
- (ii) La propagation est l'étape où les radicaux réagissent avec l'oxygène et forment des radicaux peroxyde. En plus de la formation de peroxyde, d'autres réactions radicalaires ont lieu et conduisent à l'auto-oxydation. Cette étape génère la scission de la chaîne polymère [37].
- (iii) La terminaison, l'arrêt de la réaction se produit par la combinaison de deux radicaux formant un produit inerte. Ainsi le poids moléculaire du polymère diminue peu à peu [9].

La dégradation des polymères dans un milieu environnemental est réalisée lors des deux premières étapes (*figure 1*) [42]. Les polymères sont des matériaux très résistants du fait de leurs nombreuses liaisons C-C et C-H dans la chaîne principale. L'énergie nécessaire afin de mener à bien la scission de la chaîne de polymères résulte de la différence entre l'énergie d'activation de l'initiation et la terminaison. Les liaisons trouvées en abondance dans la plupart des polymères (C-C et C-H) possèdent des énergies d'activation de 75 et 90 kcal par mole. De fait, la photo-oxydation ne se fait qu'à des longueurs d'onde comprises entre 290 et 400 nm afin de fournir suffisamment d'énergie pour la scission de la chaîne [43].

étape 1: Initiation



étape 2: Propagation

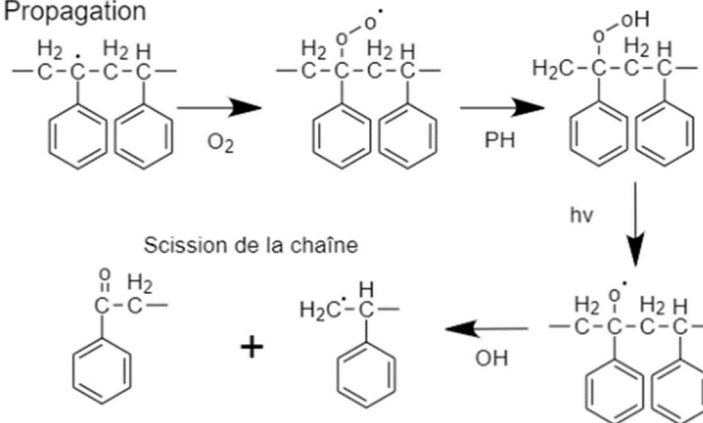


Figure 1 : Mécanisme de scission de la chaîne « polymère du styrène= polystyrène » par photo-oxydation (initiation, propagation) adapté de Gardette et al., 2008

L'hydrolyse est une réaction chimique dans laquelle la chaîne de polymères est rompue par action d'une molécule d'eau. Bien qu'il ait été rapporté que le taux d'hydrolyse de polymères est insignifiant dans l'océan [44], le PET ainsi que le PU sont sensibles à l'hydrolyse [9]. Les plastiques peuvent subir des réactions thermo-oxydantes lorsque suffisamment de chaleur est absorbée par le polymère. Sous l'action de la chaleur, les chaînes de polymères peuvent être clivées en générant des radicaux libres [45]. Ces radicaux libres peuvent ensuite réagir avec de l'oxygène et former des radicaux peroxyde. La réaction continue jusqu'à ce que l'apport d'énergie thermique soit interrompu, moment où des produits inertes se forment par collision de deux radicaux [46].

La température nécessaire à ce processus dépend des propriétés thermiques des plastiques et de la disponibilité de l'oxygène environnant [47]. Dans l'environnement, les plastiques sont soumis à des forces de friction et à des collisions physiques externes avec d'autres particules. Les roches et le sable, sous l'action du vent et des vagues, peuvent entrer en collision avec les plastiques, provoquant leur abrasion [47]. Le stress continu que subissent les plastiques entraîne à terme la scission des chaînes de polymères.

1.1.4.3 La dégradation biologique

La dégradation biologique se traduit par une décomposition de la matière plastique par des micro-organismes. Ces derniers peuvent physiquement dégrader les plastiques par morsure, par fragmentation digestive [48] ou par un processus biochimique [49]. Les champignons, insectes et bactéries sont majoritairement responsables de la dégradation biologique des plastiques [46]. La biodisponibilité des plastiques est extrêmement réduite. C'est pourquoi le phénomène de dégradation biologique intervient après une première phase de dégradation chimique et/ou physique, lorsque le plastique est déjà affaibli [50]. Ici, les enzymes dégradent le plastique jusqu'à la scission du polymère, produisant des chaînes d'oligomères, de dimères puis de monomères. Ces produits de dégradation peuvent être facilement absorbés par les micro-organismes et métabolisés. La dernière étape est la minéralisation : les fragments de polymère sont complètement dégradés sous forme de CO_2 , H_2O et CH_4 [51]. La biodégradation des plastiques en conditions anaérobies est défavorable au regard de conditions aérobies [52]. En effet, la biodégradation est un processus lent, les enzymes ne sont pas synthétisées immédiatement et leur concentration est fonction du temps. Une force mécanique permet de créer des fractures et des pores sur la surface du polymère pouvant accélérer les processus de biodégradation [53].

1.1.5 Du macroplastique au NPs

Selon leur origine, les MPs et NPs peuvent être répartis en deux groupes :

- (i) Les MPs et NPs primaires sont fabriqués pour les applications industrielles ou domestiques particulières. Il s'agit de particules issues des crèmes pour le visage, le dentifrice, produits cosmétiques... Ces produits de consommation sont caractérisés comme « à usage ouvert » car ils sont destinés à être lavés et finissent dans les égouts [54].
- (ii) Les débris plastiques les plus gros se fragmentent en plus petites particules avec l'exposition au milieu environnemental, on parle de MPs et NPs secondaires. L'intégrité des débris macroplastiques comme les bouteilles, sac ou filets de pêche, conduisant ainsi à la fragmentation de plastique secondaire.

Il existe un dissensus sur la définition et la caractérisation en taille des MPs et NPs [55]. Comme l'illustre la *figure 2*, il y a un écart en fonction du milieu académique ou des instances intergouvernementales sur la définition des MPs et NPs. Une définition suggérée par Verschoor et al., 2015 [6] présente les MPs comme « des particules solides synthétiques ou des matrices polymères avec des formes régulières ou irrégulières et une taille comprise entre 1µm et 5mm insolubles dans l'eau ». Gigault et son équipe sont les premiers à définir les NPs comme « une particule d'une taille allant de 1 à 1000 nm résultant de la dégradation des objets plastiques industriels et peut présenter un comportement colloïdal » [7]. Une récente étude de Gigault et al., 2021 [56] admet qu'il est impossible de définir et de trouver un consensus sur une définition basée sur la taille. Les auteurs proposent une définition basée sur les propriétés physico-chimiques de la fraction colloïdale des débris plastiques.

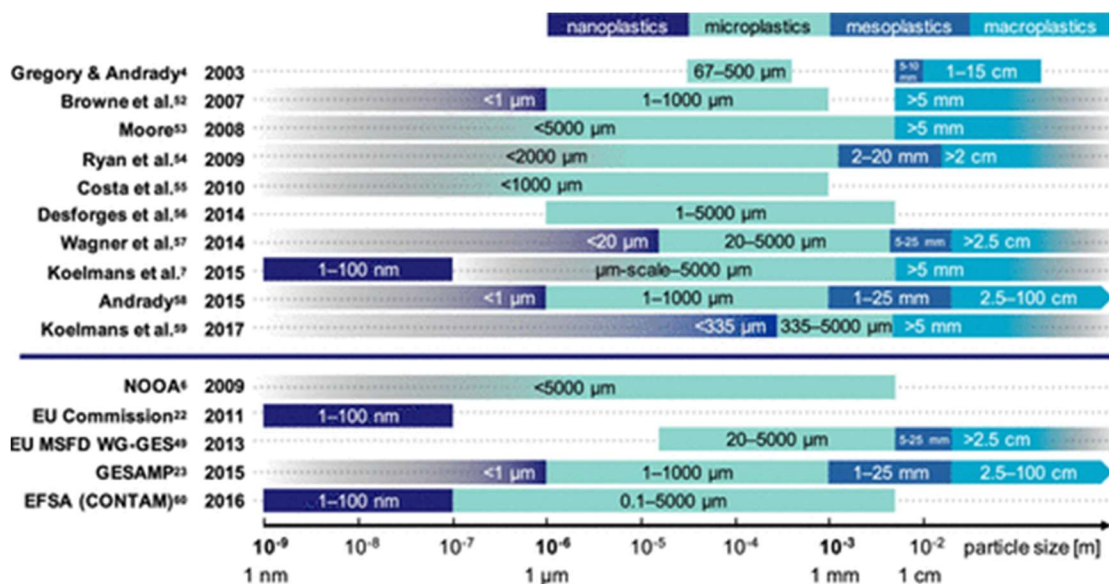


Figure 2 : Exemples de différences dans la catégorisation des débris plastiques en fonction de leur taille telle qu'elle est appliquée (et/ou définie) dans la littérature scientifique et dans les rapports institutionnels.

1.1.6 Impacts environnementaux des MPs et NPs

Les plastiques sont formulés à base de monomères et d'autres composés tels que les additifs. Les additifs sont des composés chimiques permettant d'attribuer des propriétés aux plastiques tels que les plastifiants, les retardateurs de flamme, les antioxydants, etc. La dégradation de ces plastiques dans l'environnement conduit souvent au relargage de ces additifs [8]. Dans les milieux marin et terrestre, les MPs et NPs interagissent également avec les polluants organiques par des mécanismes de sorption/désorption. L'affinité de la plupart des contaminants avec les plastiques augmente avec leur hydrophobicité ($\text{Log } K_{ow}$ ou $\text{Log } P$) [57, 58]. Les mécanismes de sorption de nombreux polluants organiques comme les alcanes, les phtalates, les BTEX (Benzène, Toluène, Ethylbenzène et Xylène) sont principalement dominés par interactions hydrophobes [59, 60]. D'autres polluants sont soumis à des interactions supplémentaires : l'empilement π - π sont des interactions attractives et non-covalentes entre les cycles aromatiques par le biais des liaisons π . Ce type d'interaction a été mis en évidence entre du PS et des hydrocarbures aromatiques polycycliques [61]. On peut aussi prendre pour exemple les liaisons hydrogène entre l'oxytétracycline et le PS [62], des complexations de surface ou des répulsions électrostatiques

[63, 64]. Cette forte capacité de sorption/désorption des plastiques a de nombreux impacts sur le comportement des polluants organiques. La *figure 3* adaptée de Wang et al., 2020 [65] présente les différentes interactions possibles entre les plastiques et les polluants organiques :

- (i) Bioaccumulation : des études ont montré un effet porteur des MPs aussi appelé effet « cheval de Troie ». Ceci a pour conséquence l'augmentation de la bioaccumulation des polluants organiques adsorbés et transférés à travers la chaîne alimentaire. Plusieurs auteurs ont mis en évidence cette effet de bioaccumulation sur le phénanthrène et la méthamphétamine ainsi que l'impact le long de la chaîne trophique [66, 67].
- (ii) Toxicité : la capacité de transport des MPs et NPs a un effet sur les toxicités létales des polluants organiques. Les effets porteurs augmentent fortement les doses absorbées par les organismes. Des dommages histopathologiques plus importants ont été observés chez des moules et poissons zèbres exposés à des polluants (HAP, PCB, retardateurs de flamme bromés ...) en même temps que des MPs [68].
- (iii) Dégradation : les effets « cheval de Troie » entraînent une redistribution des polluants dans la matrice environnementale. Cela complexifie le schéma de dégradation des polluants et réduit leur biodégradation dans les sols et dans les eaux. Ma et al., 2016 [66], ont mis en évidence un effet inhibiteur de la dissipation et transformation du phénanthrène dans un milieu en présence de NPs.
- (iv) Transport : en tant que vecteurs de polluants organiques, les MPs et NPs peuvent accélérer leurs transports dans différents compartiments de l'environnement. Une étude a montré la capacité de NPs de polyuréthane à transporter des composés aromatiques polycycliques tels que le phénanthrène [69], ou encore le transport de pyrène, bisphénol A, bisphénol F, tétrabromodiphényl éther, nonyphénol par des NPs de PS [70].

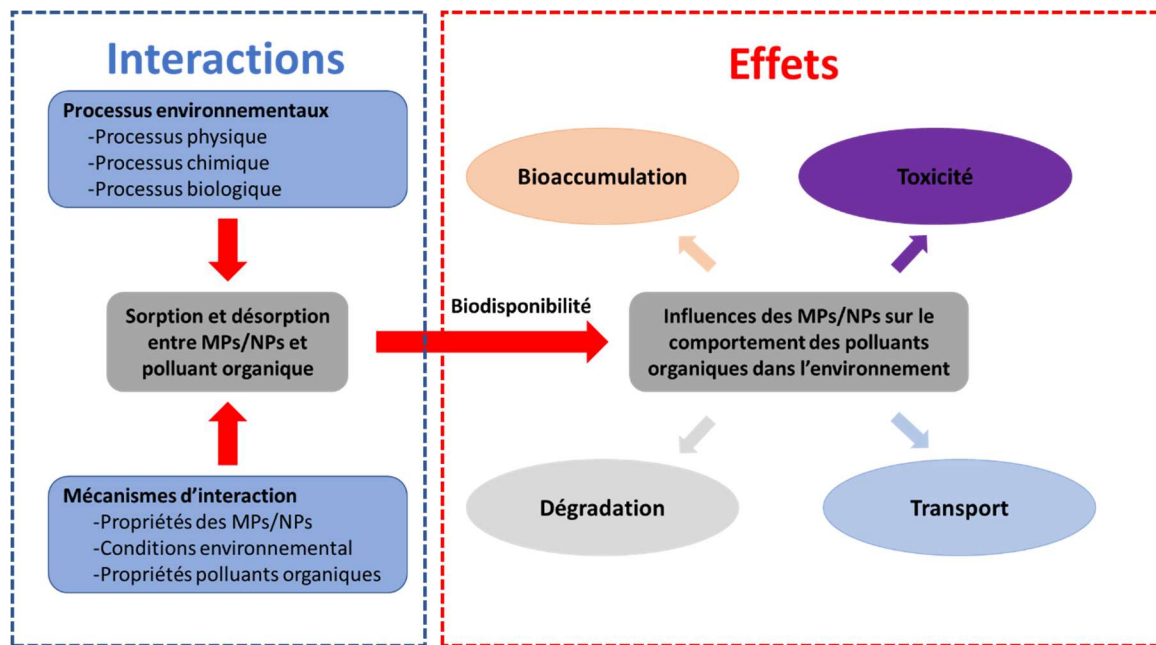


Figure 3 : Interactions entre les NPs- MPs et les polluants organiques : effet de toxicité, bioaccumulation, dégradation et transport. Adapté de Wang et al., 2020

I.2 Caractérisation des plastiques

I.2.1 Analyse des MPs et NPs : statut actuel et perspectives

Il existe de nombreux mécanismes menant à la production de MPs et NPs. À ce jour le devenir et le comportement de ces derniers est cependant encore largement méconnu. Pourtant c'est une étape obligatoire en vue de l'estimation de l'exposition réelle des organismes à cette pollution. Afin de mieux appréhender le cycle de vie des plastiques, il est primordial de mettre au point des protocoles analytiques adaptés. Ces méthodes doivent permettre de détecter à l'état de trace, des matériaux carbonés disposant de nombreuses propriétés physico-chimiques. Parmi les propriétés les plus importantes pour décrire les débris plastiques il y a : la taille, la distribution, la fonctionnalité de surface, la porosité, la composition chimique (type de polymère) ainsi que la teneur en additifs. La caractérisation des MPs est à ce jour beaucoup plus documentée que pour les NPs (*table 2*) car une grande partie des outils analytiques existants ne sont pas adaptés à ces

derniers [12, 14, 71–79]. La caractérisation de la taille, de la forme ou de la surface nous est rendue grâce à des méthodes telles que la microscopie optique et électronique par transmission (TEM) et balayage (SEM), la diffusion dynamique de la lumière (DLS) et ou encore la spectrométrie photo électronique x (XPS). Le manque de technique se fait nettement plus sentir autour de l'identification et de la quantification. Les MPs dispose d'un panel analytique large dans la cadre de quantification Raman, Py-GCMS, la micro-FTIR. L'application de ces techniques à l'échelle nanométrique est beaucoup plus limitée. Il apparaît urgent d'élaborer des méthodes d'identification et de quantification de NPs dans des échantillons environnementaux [80]. Actuellement les procédures d'analyse de MPs comprennent le plus souvent une étape de préconcentration, de filtration, ou de purification suivant le type de matrice. Les échantillons sont ensuite analysés par FTIR ou Raman, et quantifiés par comptage manuel [72, 81, 82]. Ces méthodes sont coûteuses en temps et de nombreuses imprécisions peuvent apparaître en fonction de l'opérateur ou des limites de détection des techniques spectroscopiques. Comme présentées dans la *table 2*, les limites analytiques en taille du FTIR et du Raman se trouvent respectivement aux alentours de 10 et 0,5 μm [12, 71]. Parmi toutes les méthodes adaptées à la quantification de trace voire d'ultra-trace, la spectrométrie de masse apparaît comme une méthode de choix. Six études l'ont appliquée à des échantillons environnementaux :

- (i) Une première étude a permis d'identifier la présence de PET dans de la neige alpine à l'aide d'un système de désorption thermique couplé à la spectrométrie de masse à réaction de transfert de proton (TD-PTRMS) mettant en évidence une concentration de plusieurs ng/ml [83].
- (ii) Jiménez-Lamana et al., 2020 [84] ont développé une méthode reposant sur le marquage de NPs avec des particules d'or. Ici les NPs ont pu être quantifiés dans de l'eau de rivière par spectrométrie de masse à couplage inductif en mode simple particule (SP-ICPMS).
- (iii) Récemment, une quantification de PP, PS et PVC à des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g/L}$ a été réalisée à l'aide d'un pyrolyseur couplé à une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse à temps de vol (Py-GCToF) sur une eau de rivière [85].
- (iv) Les trois autres études ont utilisé la Py-GCMS. Une quantification de l'eau de mer venant du gyre subtropical de l'Atlantique Nord, après une étape d'ultrafiltration, a mis

en évidence des traces de PET, PS, PE, PVC [72]. Wahl et al., 2021 [86] ont trouvé des NPs de PE, PS et PVC dans des extractions de sol agricole, utilisant le fractionnement d'écoulement de champ par écoulement asymétrique (A4F) pour limiter l'interférence de la OM⁽⁹¹⁾. De la même manière, Davranche et al., 2020 [87] ont trouvé du PS, PVC dans la fraction colloïdale d'extrait aqueux de sable.

La spectroscopie Raman actuelle ne peut pas couvrir toute la gamme nanométrique en raison des limites de détection de la taille des particules [71]. Ainsi la communauté scientifique s'est réorientée vers l'utilisation de la Py-GCMS dans le cadre d'analyse de MPs et NPs.

Technique analytique	Connaissance acquise	Types de plastiques	Avantages	Désavantages	Référence
FTIR_ATR/micro-FTIR	Quantification et composition chimique	MPs	-Limite de taille >10µm -Automatisé -Identification de la configuration chimique jusqu'à 10mm	- Relativement long - Limite de taille et d'épaisseur - Pas applicable aux NPs	[12]
Raman/micro-Raman	Quantification et composition chimique	MPs / NPs	-Limite de taille > 0,5 µm -Résolution spatiale plus avancée FTIR -Composition des polymères plastiques -Grande sensibilité au groupe fonctionnel	- Peut dégrader les polymères en raison du chauffage - Les polluants peuvent interférer les résultats	[71]
Py-GCMS	Quantification et composition chimique/additif	MPs / NPs	-Limite de détection ng-ug -Analyse du type de polymère et additifs -Déduction rapide	- Impossible d'identifier les additifs inorganiques - OM interférant	[72]
TGA-SPE/TD-GCMS/TED-GCMS	Type de polymère	MPs / NPs	-Peut utiliser des masses d'échantillons plus élevées -Identification malgré un milieu complexe -Analyse du type de polymère et additifs	- Ne détecte parfaitement que certains polymères	[73]
SEM	Taille, forme, agrégation, surface	MPs / NPs	-Taille limite 3 nm -Caractérisation d'interactions	- Pas de quantification - Effet de charge - Préparation laborieuse des échantillons	[74]
TEM	Taille, forme, agrégation	MPs / NPs	-Taille limite <1nm -Caractérisation d'interactions	- Pas de quantification - Effet de charge - Préparation laborieuse des échantillons	[75]
EDS	Composition des éléments	MPs / NPs	-Limite de taille de l'ordre du nm	- Limite de diffraction - Information élémentaire insuffisante	[75]
XPs	Surface	MPs / NPs	-Caractérisation de surface	- Chère	[14]
AFM	Morphologie	MPs / NPs	-Haute résolution 0.1nm -Condition liquide	- Lent - Petite surface d'analyse - Artefact du au mouvement des particules	[76]
Microscopie optique & Microscopie par Fluorescence	Taille, forme, morphologie	NPs	-Non destructive	- Limité par la diffraction - Les plastiques environnementaux ne sont pas fluorescents	[77]
DLS	Taille, distribution en taille, agrégation	NPs	-Rapide, in situ -Etude d'agrégation	- Impossibilité d'analyser les particules larges (1nm-3µm)	[78]
AF4	Séparation, taille	MPs / NPs	-Permet une séparation ainsi qu'une caractérisation en taille	-Facteur de dilution important	[79]
EA/IRMS	Détermination du δ ¹³ C	MPs / NPs	-Valeur δ ¹³ C	- Méthode très peu étudiée dans le cadre des plastiques	/

Tableau 2 : Techniques de caractérisation les plus répandues pour l'analyse des MPs et NPs

1.2.2 Historique et principe fondamental de la Py-GCMS

Les premières évocations de l'utilisation du couplage Py-GCMS sur les polymères ont été publiés par Madorsky et al. en 1948 [88]. Soixante ans plus tard, la Py-GCMS est toujours au premier plan dans le contexte de l'identification des polymères. Au cours d'une mesure en Py-GCMS, un échantillon est instantanément pyrolysé entre 400 et 1000°C, avec ou sans réactifs catalytiques (comme l'usage de CaCO_3 comme catalyseur pyrolytique afin d'obtenir une conversion stable des composés de dégradation), sous flux d'azote ou d'hélium. Cette pyrolyse à température élevée permet de cliver les liaisons covalentes des polymères, donnant lieu à des produits de dégradation.

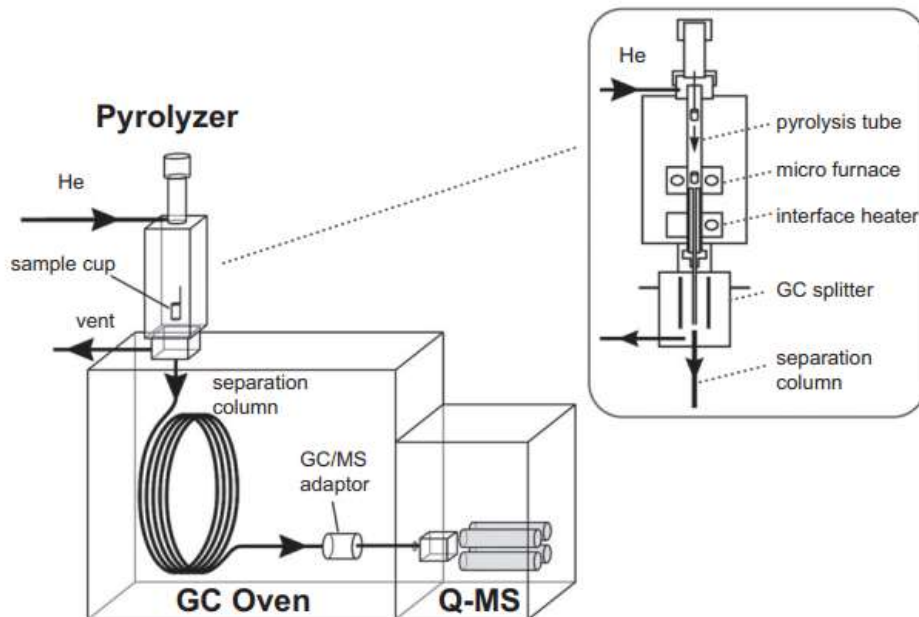


Figure 4 : Schéma d'un Py-GCMS (d'après Tsuge et al., 2011)

Ces produits sont ensuite transférés dans la colonne de chromatographie gazeuse GC comme représenté sur la *figure 4* d'après Tsuge et al., 2011 [89], qui les sépare via un principe d'affinité. Enfin, le spectre de masse des produits de décomposition est acquis grâce au détecteur de masse MS. Les chromatogrammes obtenus après pyrolyse sont appelés des pyrogrammes (*figure 5a*), dont chaque pic est associé à un spectre de masse. L'identification est effectuée en confrontant le spectre de masse du pyrogramme à une bibliothèque de spectres de masse (NIST) (*figure 5b*). Les produits de pyrolyse d'un échantillon de polymère donné sont généralement constitués de composés complexes, chacun donnant des éléments sur la structure d'origine.

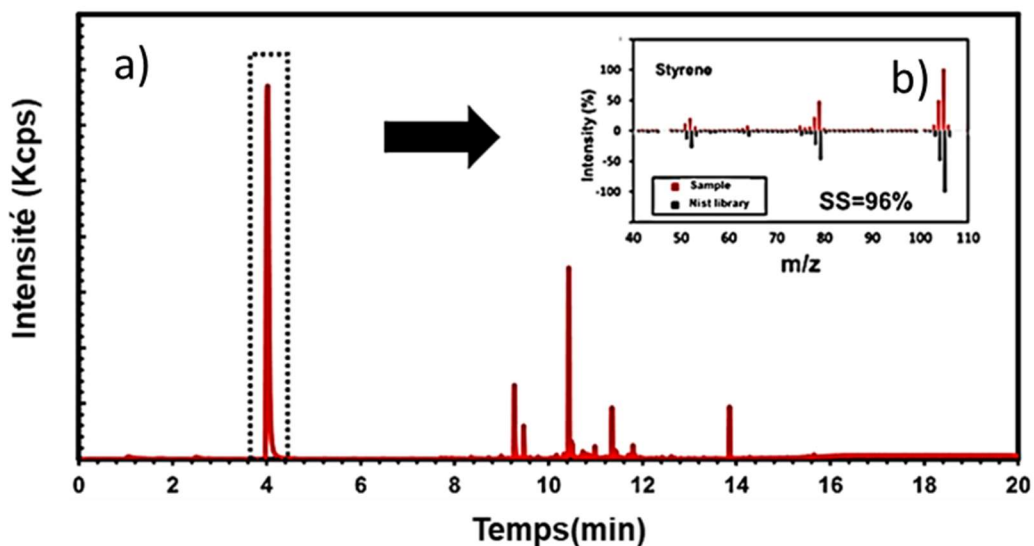


Figure 5 : a) Pyrogramme du PS b) Spectre de masse du styrène

1.2.3 Potentiel de la Py-GCMS

Les premières études d'identification de substances peu volatiles ont été rapportées en 1967 pour la Py-GCMS pour des protéines, peptides et acides aminés [90]. Depuis, le spectre d'application de cette méthode analytique ne cesse de s'élargir : macromolécules, polymères, additifs, biomasses, médicaments [91–93]. Cette technique permet de couvrir une très large gamme de composés présentant une faible volatilité. Et pourtant, la littérature montre que cette technique n'est utilisée que lorsque toutes les autres méthodes conventionnelles de chromatographie (liquide ou gazeuse), couplée à la spectrométrie de masse, se sont révélées infructueuses. Il n'y a que récemment que la Py-GCMS est devenu un outil indispensable dans le domaine de l'environnement. Celle-ci dispose de deux applications majeures ; à savoir l'évaluation de la OM naturelle et l'identification et la caractérisation de MPs et NPs [94, 95].

Le principe de la Py-GCMS repose sur la dégradation thermique contrôlée de macromolécules, décomposées en petits fragments séparés par chromatographie en phase gazeuse et détectés par spectrométrie de masse. De nos jours il existe différents modes de fonctionnement de la Py-GCMS [96] :

- (i) La pyrolyse simple « *Single shot analysis* » correspond au mode d'analyse le plus standard. La température de l'échantillon augmente très rapidement jusqu'à la température de pyrolyse. Les macromolécules sont instantanément clivées sous forme de petits fragments, ensuite séparés par la colonne chromatographique.
- (ii) La double pyrolyse « *Double shot* » est un mode d'analyse adapté aux composés volatiles (faible température d'ébullition). Son principe repose sur une pyrolyse à faible température afin d'initier une étape de désorption. Ensuite, une pyrolyse à température élevée va permettre la fragmentation des macromolécules.
- (iii) Le mode analyses des gaz émanent « EGA » (*Evolved gaz analysis*), repose sur une séparation des produits de dégradation de macromolécules en fonction de la température de formation. Une rampe en température lente du pyrolyseur permet de réaliser cette séparation.
- (iv) L'analyse « *Heart-cut* » permet un travail bidimensionnel. Dans cette technique, le mode EGA permet d'obtenir un thermogramme et chaque zone de température d'intérêt est analysé sélectivement dans une colonne GC.
- (v) La pyrolyse réactive repose sur la dérivatisation chimique de macromolécules dans la chambre de pyrolyse. L'agent dérivé le plus utilisé est le TMAH (tétraméthylammonium hydroxide)

1.2.3.1 Caractérisation de la matière organique

La composition de la OM est variable et complexe, elle peut être composée de polysaccharides, protéines, lipides, lignines, acides humiques (HA)... Une telle hétérogénéité complique la caractérisation de la OM dans les études environnementales. La Py-GCMS est une

technique qui permet d'étudier l'empreinte moléculaire de la OM et d'identifier la composition des biopolymères (polysaccharides, protéines, lipides et lignine dans les sols et les sédiments [97, 98]. Malgré l'existence de plusieurs modes d'analyse, la plupart des études utilisent le mode la pyrolyse simple à des températures comprises entre 500 et 800°C [99, 100]. La pyrolyse réactive a aussi été appliquée dans certaines études [101, 102]. Cependant Jiang et al., 2017 [103] ont mis en évidence que le mode « *single shot* » était plus propice à l'obtention de l'empreinte moléculaire de la OM que la pyrolyse réactive. Enfin la double pyrolyse a été très peu étudiée, étant donné que la OM est formée de composés non volatiles. Le principal problème dans la caractérisation de la OM est la complexité des résultats obtenus, appelés pyrogrammes. Ces derniers contiennent un grand nombre de composés, et une quantité d'information très difficile à traiter. La *figure 6* présente le pyrogramme obtenu lors de l'analyse de biodéchets (compost). Le nom de chaque composé est présent *table 3*. Les principaux produits de pyrolyse sont de type phénolique (phénol, 4-méthyl ; phénol, 4-éthyl) ou alkylbenzène (styrène, benzène). Ces derniers sont des produits de pyrolyse omniprésents et sont donc d'origine non spécifique. Ils peuvent être associés à des peptides, des protéines, ou de la lignine. L'ensemble de ces composés non-spécifiques complexifie fortement la caractérisation de la OM.

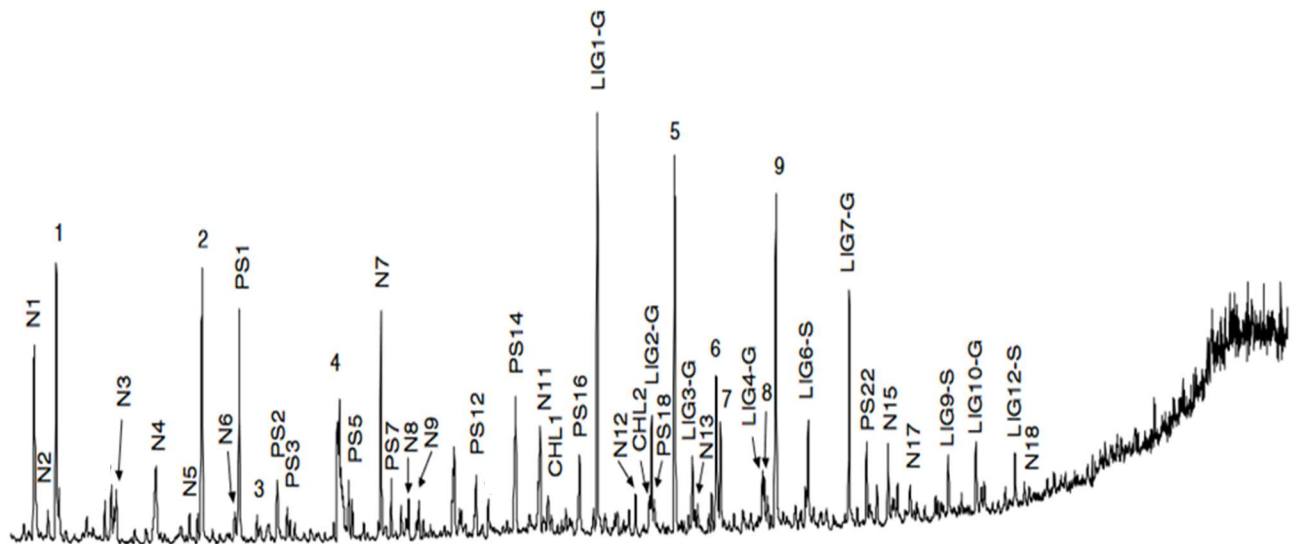


Figure 6 : Pyrogramme obtenu par analyse de biodéchets (compost). Adapté de Dignac et al., 2005

N1	Acétonitrile
N2	Propane nitrile
1	Benzène
N3	1-Méthyl-1H-pyrrole
N4	Pyridine
N5	3-Méthyl-pyridine
2	Styrène
N6	2-Méthyl-pyridine
PS1	1-Hydroxy-propane-2-one
3	Benzène
PS2	2-Méthyl-furane
PS3	2-Méthyl-2-cyclopentene-1-one
4	Acide acétique
PS5	2-Furancarboxaldehyde
N7	1H-Pyrrole
PS7	3-Méthyl-cyclopent-2-en-1-one
N8	2-Méthyl-1H-pyrrole
N9	1-Méthyl-1H-pyrrole
PS12	2-Furanméthanol
PS14	Cyclopentane-1,3-dione
N11	Acétamide
CHL1	Prist-1-ène
PS16	3-Méthyl-cyclopentane-1,2-dione
LIG1-G	2-Méthoxy-phénol
N12	Benzène acétonitrile
CHL2	Phytadiène
LIG2-G	2-Méthoxy-4-méthyl-phénol

PS18	Levogluosenone
5	Phénol
LIG3-G	4-éthyl-2-Méthoxy-phénol
N13	Benzène propane nitrile
6	Phénol, 4-méthyl
7	Phénol, 3-méthyl
LIG4-G	2-Méthoxy-4-(2-propényl) -phénol
8	Phénol, 4-éthyl
9	Phénol, 5-méthyl-2-(1-méthyléthyl)
LIG6-S	2,6-Diméthoxy-phenol
LIG7-G	2-Méthoxy-4-(1-propényl) -phénol
PS22	2,3-Dihydro-benzofuran
N15	1H-Indole
N17	3-Méthyl-1H-indole
LIG9-S	2,6-Diméthoxy-4-vinyl-phénol
LIG10-G	1-(4-Hydroxy-3-méthoxyphényl) - éthanone
LIG12-S	2,6-Diméthoxy-4-(2-propényl) -phénol
N18	Diketodipyrrole

Tableau 3 : Nom des composés associés au pyrogramme (figure 6) adapté de Dignac et al., 2005

Afin de trier une telle quantité de données, il est commun d'avoir recours à l'utilisation de marqueurs définis en amont de la OM. Par exemple, l'analyse d'acide gras à chaîne ramifiée sert en tant qu'indice de maturité du compost [102]; la diversité des méthoxyphénols sert en tant que prédicteur du stockage du carbone dans le sol [84]. Pour pallier au problème de traitement des données, certaines études utilisent différents tests statistiques telles que l'analyse de la variance (ANOVA) et l'analyse factorielles. Chen et al., 2018 [104] ont utilisé l'approche statistique (ANOVA) afin d'évaluer l'effet des facteurs environnementaux sur la décomposition d'un sol forestier au niveau moléculaire. Cette approche a clairement identifié deux étapes de la décomposition d'un sol forestier, fournissant alors un moyen efficace d'étudier la composition chimique de la OM.

1.2.3.1 Caractérisation des MPs et NPs

La Py-GCMS est devenue l'une des techniques les plus prometteuses pour identifier les MPs et NPs dans l'environnement. En effet elle permet, grâce à la spectrométrie de masse, d'obtenir une sensibilité supérieure aux autres méthodes. Sur la base de produits de pyrolyse spécifiques, la détermination de la masse de polymère seule est facile et rapide. L'empreinte moléculaire des principaux types de plastiques a déjà été référencée dans un manuel [89] (*table 4*). Toutefois, l'application aux échantillons environnementaux n'est pas si simple. Les impuretés et les interférences occasionnées par la OM posent souvent problème. Afin d'éliminer ces interférences, une préparation d'échantillon augmente les performances de l'analyse Py-GCMS. L'identification peut être réalisée sur l'intensité relative des produits de dégradation, spécifique à différents polymères [105]. Dans ce contexte la sélection de l'indicateur propre à chaque polymère devient essentielle pour une identification et une quantification correctes [106]. Par exemple, le PS possède trois indicateurs majoritaires en intensité : le styrène, son dimère (3-butène-1,3-diylidibenzène) et son trimère (5-hexène-1,3,5-triyltribenzène). Le styrène est plus abondant mais non-spécifique contrairement à son dimère et à son trimère. Le styrène est un composé indicateur adéquat pour la quantification du PS dans des échantillons sans matrice. À l'inverse, son utilisation n'est pas recommandée dans un échantillon environnemental, le styrène pouvant provenir de la OM [11] telle que la chitine, le bois, HA, la cellulose, etc. Il est possible d'atténuer ces signaux de OM par le biais de méthodes d'extraction ou de purification spécifiques. L'isolation de MPs dans un échantillon de sol est souvent réalisée en plusieurs étapes. Tout d'abord les plastiques sont séparés par différence de densité (en utilisant des solutions de NaCl, NaI, ZnCl₂, NaBr...) [107] ou bien par filtration. Ils sont ensuite concentrés par digestion [108]. Dans le cas de l'analyse des eaux usées et en raison de leur teneur conséquente en OM, la filtration séquentielle peut aider à isoler les MPs sans obstruer le filtre [109]. Les NPs peuvent quant à eux être isolés par filtration à l'échelle nanométrique sur membranes en polytétrafluoroéthylène (PTFE) (taille de pore entre 0,45 et 0,1µm) [85]. Ter Halle et al., 2017 [72] ont utilisé l'ultrafiltration pour concentrer la fraction colloïdale (<1,2 µm) sur 1L d'un échantillon d'eau de mer. Une autre méthode basée sur l'extraction du point de trouble (CPE) a également été testée à l'aide du détergent non-ionique

Triton X-45 pour préconcentrer les NPs. Cette méthode fournit un facteur d'enrichissement de 500 sans perturber la morphologie des NPS ni leur taille d'origine [110]. Wahl et al., 2021 ont utilisé l'A4F afin de récupérer des fractions colloïdales (20-150 nm et 150-500 nm) au sein d'un sol [86]. Afin d'éviter ces étapes de protocole souvent laborieuses, des études se sont concentrées sur le ratio toluène/styrène ($R_{T/S}$) dans le cadre de l'identification du PS. Le PS est le plastique le plus soumis aux interférences de la OM. Ce rapport permet de discriminer la contribution de la OM de celle du plastique. Le styrène et le toluène sont également produits lors de la pyrolyse de la OM [111] selon un ratio qui varie de 3 à 5. La valeur de ce ratio varie de 0,001 à 1 au lors de la pyrolyse du PS. Cette différence dans les ratios a été confirmée au laboratoire grâce à l'analyse de NPs de PS mélangés à un standard de HA [112].

Nom de plastique	Abréviation	m/z	Composés	Intensités (%)
Polychlorure de vinyle	PVC	36	Chlorure d'hydrogène	100%
		78	Benzène	16%
		91	Toluène	4.32%
		104	Styrène	1,3%
		106	Ethylbenzène	0,5%
Polystyrène	PS	91	Toluène	1,9%
		104	Styrène	100%
		208	2,4-Diphényl-1-butène	10,2%
		312	2,4,6-Triphényl-1-hexène	26,7%
Polyuréthane	PU	84	Cyclopentanone	100%
		90	1,4-Butanediol	6,5%
Polytéraphalate d'éthylène	PET	122	Acide benzoïque	44,7%
		192	4-(vinyloxy-carbonyl) Benzoic acid	100%
		218	Téraphthalate de divinyle	25,7%
Polypropylène	PP	72	Tétraméthyl-1-undécène	18,5%
		84	Propylène	14,6%
		126	2,4-diméthyl-1-heptène	100%
Polyéthylène	PE	84	1-Hexène	91,8%
		140	1-Decène	64,2%
		420	1-Triacontène	100%
Polyméthacrylate de méthyle	PMMA	100	Méthyl méthacrylate	100%

Tableau 4 : Propriétés des principaux types de plastiques obtenues pour une température de pyrolyse de 600°C : nom, abréviation, m/z marqueur de pyrolyse, intensités relatives au marqueur.

1.2.3 Utilisation du $\delta^{13}C$

1.2.3.1 principe du $\delta^{13}C$

Le carbone est un élément qui possède deux isotopes stables : un isotope léger qu'est le carbone ^{12}C et un isotope lourd ^{13}C . Le carbone naturel est composé d'environ 98.89% d'isotopes légers et 1.11% d'isotopes lourds [113]. Les mesures isotopiques du carbone sont exprimées sous la forme d'une abondance $\delta^{13}C$. Cette abondance est déterminée à partir d'un rapport comparé avec celui d'un standard le PDB (Pee Dee Belemnite). Ce standard correspond à des restes de fossiles d'une bélemnite (Crétacé de Caroline du Sud). Cette notation $\delta^{13}C$ a été définie par Craig et al., 1954 [114] par l'équation suivante :

$$(1) \delta^{13}C = \left(\frac{\left(\frac{^{13}C}{^{12}C} \right)_{sample}}{\left(\frac{^{13}C}{^{12}C} \right)_{VDPB}} - 1 \right) \times 1000 (\text{‰})$$

Le fractionnement isotopique entre deux espèces correspond à un appauvrissement ou à un enrichissement de l'espèce formée par rapport à l'espèce initiale. Ce facteur d'enrichissement symbolisé ϵ est exprimé en ‰ et est défini par l'équation suivante :

$$(2) \epsilon = \frac{(R_1)}{(R_2-1)} \times 1000$$

Avec R_1 et R_2 les rapports isotopiques $^{13}C/^{12}C$ des espèces 1 et 2 respectivement.

L'analyse des isotopes est une technique qui mesure l'abondance relative d'isotopes stables donnant un rapport isotopique pouvant être utilisé comme un outil de recherche. Cette mesure trouve des applications dans un nombre croissant de domaines d'études et de cas pratiques. Elle est notamment utilisée pour retracer l'origine de la OM dans divers environnements [115, 116], traquer les fraudes

dans les industries alimentaires [117] ou encore identifier les microtraces de drogue, de liquide inflammable et explosif. Cette technique n'a pour l'instant été que très peu appliquée pour évaluer la présence de MPs et NPs dans l'environnement [118]. Le potentiel de détection des plastiques dans des échantillons environnementaux repose sur la différence des signatures isotopiques. Le carbone dispose d'une signature différente suivant une origine pétrosourcé ou biosourcé [119].

Les signatures isotopiques peuvent être soumises par le biais de processus à des fractionnements isotopiques :

- (i) Processus chimiques tels que la nitrification et l'ammonification.
- (ii) Processus physiques tels que l'évaporation et la condensation.
- (iii) Processus biologiques tels que la photosynthèse, l'assimilation et l'excrétion.

Beaucoup de processus naturels sont susceptibles d'altérer la signature isotopique d'un élément chimique dans une matrice. Cela va provoquer un déséquilibre de la distribution isotopique, générant une variation de sa signature isotopique d'origine. C'est pourquoi la mesure de cette signature isotopique est un outil idéal pour étudier les processus subis par un composé. De manière générale, on retrouve les mécanismes de fractionnement suivants [120] :

- (i) Le fractionnement cinétique est le plus dominant lorsque des réactions rapides et non-réversibles se produisent, comme par exemple l'évaporation, la diffusion ou encore les processus biogéniques. Durant ces divers processus, l'équilibre n'a pas été complètement atteint : ceci est principalement dû à la différence de vitesse de diffusion entre deux isotopes d'un même élément. Les composés constitués d'isotopes légers diffuseront plus rapidement que les composés constitués d'isotopes lourds. Les produits d'une réaction seront toujours appauvris en isotope lourd par rapport aux réactifs.
- (ii) Le fractionnement à l'équilibre se produit pour des réactions réversibles (en équilibre entre deux phases). Ce type de fractionnement est souvent produit à haute température. Le seul facteur en jeu est la différence d'énergie de liaison entre les isotopes.

Outre la détermination de processus, la signature isotopique permet d'identifier les sources de certains composés. À l'écart d'activités industrielles, le gaz carbonique atmosphérique montre une

signature isotopique moyenne constante = -8‰. Les teneurs en ^{13}C des plantes dépendent de leurs voies métaboliques d'assimilation du gaz carbonique. Rapidement les plantes de type C3 (la plupart) présentent une valeur d'environ -28 ‰ tandis que les plantes de type C4 (canne à sucre ou maïs -14 ‰). La combustion de matières fossiles présente une signature isotopique de -30 ‰ caractéristique du CO_2 industriel.

1.2.2.2 Un outil dans la compréhension des processus environnementaux

Le $\delta^{13}\text{C}$ est utilisé afin d'étudier la matière circulante entre les principales composantes d'un écosystème. Plus particulièrement le réseau trophique, c'est-à-dire les flux de matière entre les principales composantes d'un écosystème comme la OM, les producteurs, ou encore les consommateurs. Il est possible de distinguer deux principales réserves de carbone qui seront chacune caractéristique de processus différents [119] :

- (i) Premièrement le carbone organique présente un cycle à court terme et à long terme. Le cycle à court terme (à l'échelle du siècle), est gouverné par les processus de photosynthèse. Ces processus permettent d'une part de transformer le carbone inorganique en carbone organique mais aussi de réaliser le processus inverse par respiration. Le cycle long est de nature géologique, définie par l'enfouissement des OM, l'altération ainsi que la transformation en combustibles.
- (ii) Deuxièmement le cycle du carbone inorganique est défini par trois réservoirs de carbone : l'atmosphère, l'océan et les roches sédimentaires carbonatées. L'ensemble de ces trois réservoirs est considéré comme étant en équilibre.

1.2.2.3 Études préliminaires de caractérisation des plastiques par EA/IRMS

Très peu d'études se sont penchées sur l'utilisation du $\delta^{13}\text{C}$ appliquée aux différents processus et aux différentes sources des plastiques dans l'environnement. Berto et al., 2016 [119] ont réalisé une étude préliminaire visant à évaluer le potentiel de l'analyse des isotopes stables sur les plastiques. Les conclusions ont d'une part permis de mettre en évidence qu'il était possible de

distinguer les polymères dérivés du pétrole de ceux synthétisés à partir de matrices naturelles, d'autre part de conclure que l'exposition de plastique durant 60 jours à des processus de dégradation biotique et abiotique entraîne un fractionnement du rapport isotopique. D'autres auteurs ont utilisé l'IRMS pour suivre l'origine géographique des plastiques dans l'environnement [121]. Du fait du manque de connaissances sur les possibles modifications de la signature isotopique du carbone des plastiques, l'obtention d'informations sur le cycle de vie de ces polymères reste difficile.

1.2.2.4 Analyse isotopique des polluants organiques

L'analyse isotopique des polluants organiques permet d'attester de la (bio)dégradation des polluants et/ou de définir leur origine. En effet, une simple caractérisation du suivi de leur concentration dans les eaux ne suffit pas à mettre en évidence le processus de dégradation. La valeur $\delta^{13}\text{C}$ d'un polluant organique est couramment mesurée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse et un module de combustion couplée à un spectromètre de masse isotopique (GC-C-IRMS) [122]. Ces polluants organiques aux propriétés et structures chimiques différentes présentent une source soit naturelle soit anthropique. Les combustibles fossiles dont le charbon, le pétrole et le gaz naturel proviennent de la transformation de sédiments. Il existe une base de données riches sur l'isotopie des combustibles fossiles pour les besoins de l'exploration pétrolière (*figure 7*). Le pétrole est composé de nombreuses fractions aux propriétés chimiques et physiques très variables. Ainsi pour simplifier la mesure, la détermination des signatures isotopiques est réalisée sur des fractions groupées. Le pétrole possède une signature moyenne comprise entre -23 et -33‰. L'observation de divers composants du gaz naturel sont généralement plus appauvris en $\delta^{13}\text{C}$ que ceux du pétrole associé : par exemple -30,6 à -14,6‰ pour le butane, -35,9 à -22,9 ‰ pour l'isobutane et enfin -30,6 à -17,2 ‰ pour le pentane. La majorité des VOCs émis sont dus aux véhicules à combustion.

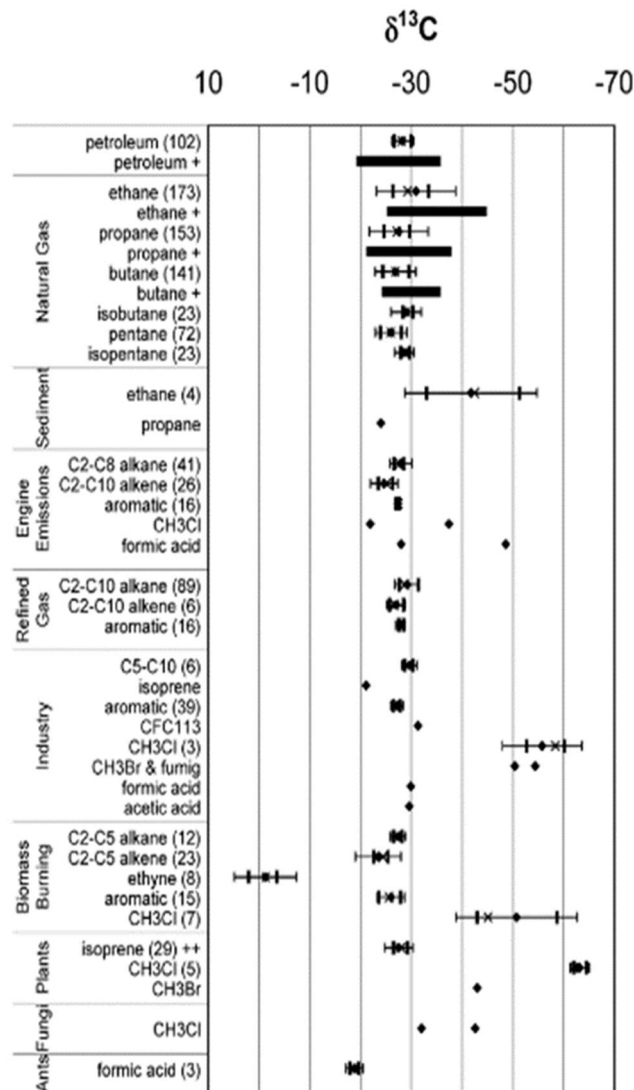


Figure 7 : Signature isotopique du carbone pour les sources de VOCs. Les symboles sont les suivants : losange, moyenne ; x, médiane ; barres verticales et horizontales fines, écart-type ; barres verticales larges 25 et 75%. Le nombre d'échantillons est entre parenthèses. Un signe plus signifie que seuls les intervalles ont été rapportés. Un double signe plus signifie que seules les mesures prises avec un $\delta^{13}\text{C}$ CO_2 proche de l'air ambiant ont été utilisées. Adapté de Goldstein et al. 2003

Une mesure du $\delta^{13}\text{C}$ moyen de tous les composés liés au transport (raffinerie d'essence, émissions par évaporation des stations-service, combustion/évaporation des moteurs) a été déterminée à -27.1‰. Cette valeur se situe dans la plage attendue pour les hydrocarbures dérivés du pétrole. L'activité industrielle représente une grosse part d'émission de VOCs : par exemple, la fumigation

des champs est responsable de plus d'un tiers des émissions mondiales de CH₃Br. Les valeurs δ¹³C ont été mesurées de -66,4 à -43,5 ‰. Une autre source d'émission de VOCs est la combustion de biomasse par le biais des feux de forêt, du défrichage ou encore de la lutte contre les mauvaises herbes. Ces processus entraînent l'émission de CO₂ [123] dans l'atmosphère.

I.3 Conclusion

Cette bibliographie s'est focalisée sur les lacunes analytiques actuelles concernant la caractérisation des plastiques. Ces lacunes sur les taux de contamination de NPs sont dues à un manque de savoir-faire sur des échantillons environnementaux. Il apparaît crucial de mettre au point des méthodes de mesures précises pour évaluer leur niveau de contamination dans plusieurs compartiments de l'environnement. La Py-GCMS se révèle être une technique de choix pour la caractérisation des NPs. Cependant l'application de cette méthode sur une matrice complexe reste limitée. C'est pourquoi le premier défi de ces travaux sera **d'évaluer la capacité de la Py-GCMS à détecter et quantifier des NPs de PS dans des échantillons environnementaux complexes.**

La caractérisation des MPs est moins délicate du fait de leur taille supérieure aux NPs. En effet comme le détaille ce chapitre, la littérature comprend de nombreuses techniques analytiques pour les caractériser. Cependant cette bibliographie a mis en évidence qu'aucune méthode ne permettait de déterminer ni l'origine, ni la réactivité ni la transformation des plastiques dans l'environnement. L'utilisation de l'isotope stable du carbone a permis à la science biogéochimique de faire un bond en avant dans la compréhension de l'origine et des processus de transformation de plusieurs composés inorganiques et organiques terrestres. C'est pourquoi, afin de combler ce besoin en innovation analytique, le recours à l'isotope stable du carbone s'avère être une technique à fort potentiel. Le deuxième défi de ces travaux sera donc **l'analyse isotopique spécifique de VOCs extraits de MPs à l'aide d'un système Purge & Trap couplé à un GC-MS-C-IRMS.**

CHAPITRE II

Dans le premier chapitre nous avons exploré dans la littérature les différentes méthodologies et techniques analytiques permettant la caractérisation des nanoplastiques (NPs) en milieu complexe. La pyrolyse couplée avec la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (Py-GCMS) apparaît comme étant l'une des techniques les plus intéressantes pour identifier les polymères. Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés au potentiel de cette technique dans la caractérisation de NPs de polystyrène (PS). Ce travail présente l'étude de la possibilité de détection et de quantification des NPs de PS dans un phase riche de matière organique (OM).

Ce chapitre correspond à un article en soumission dans la Revue Analytical and Bioanalytical Chemistry. "Polystyrene nanoplastics identification in the environnement : possibilities, limitations, and applications of pyrolysis-gas-chromatography mass spectrometry", Corentin Le Juge, Bruno Grassl, Ian Allan, Julien Gigault.

Résumé chapitre II :

Dans ce chapitre nous évaluons la capacité de la Py-GCMS à détecter et à quantifier des NPs de PS dans un échantillon environnemental complexe.

L'identification de NPs au sein de matrices environnementales reste un challenge analytique. Malgré un besoin urgent de documenter leur comportement dans l'environnement, trop peu de données sont à ce jour disponibles quant à la caractérisation des NPs. Un tel manque s'explique par leur faible taille et leur faible concentration dans le milieu. De plus, leur présence en proportion moindre vis-à-vis de la OM représente un frein supplémentaire. Dans l'étude présente, la Py-GCMS est utilisée dans le but de détecter et de quantifier des NPs de PS dans une phase organique complexe. L'analyse des produits de pyrolyse spécifiques du polymère, le dimère du styrène (3-butène-1,3-diyltribenzène) et le trimère du styrène (5-hexène-1,3,5-triyltribenzène) fait état d'un biais de mesure causé par deux paramètres, la température de pyrolyse et la taille des NPs. À l'inverse, le ratio toluène/styrène ($R_{T/S}$) semble être corrélé à la fraction massique de OM naturelle sans biais observé. Un modèle empirique a été proposé pour évaluer la quantité relative de NPs de PS dans une matrice organique complexe. L'application de la méthode sur un sol contaminé par des débris plastiques ainsi que des données de la littérature démontrent le potentiel de cette méthode.

II.1 Polystyrene nanoplastics identification in the environment: possibilities, limitations, and applications of pyrolysis-gas-chromatography mass spectrometry

Corentin Le Juge¹, Bruno Grassl¹, Ian J. Allan², Julien Gigault^{3*}

¹ IPREM, CNRS – Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS, IPREM, Pau, France

² NIVA Norwegian Institute for Water Research, Økernveien 94, NO-0579 Oslo, Norway

³ TAKUVIK – Université Laval - 1045, Avenue de la Médecine, Québec, QC, Canada

* Corresponding authors (e-mail: bruno.grassl@univ-pau.fr; julien.gigault@takuvik.ulaval.ca)

Abstract

Due to the large amount of plastic debris entering the environment, it is necessary to document and monitor their degradation pathways at different scales. At the colloidal size scale, the systematic hetero-association of nanoplastics (NPs) with natural organic matter (OM) complexifies the ability to detect plastic signatures in the collected particles at trace concentrations in various environments. The current techniques used for microplastics (MPs) could not discriminate the polymers from the natural macromolecules. Only a few methods are available concerning NPs identification in complex matrices, with the coupling of pyrolysis with gas chromatography and mass spectrometry (Py-GCMS) as one of the most promising due to its mass-based detection. However, natural OM in environmental samples interferes with similar pyrolysis products. These interferences are even more critical for polystyrene (PS) polymers as this plastic present no specific pyrolysis' markers such as polypropylene (PP). Here, we investigate the ability to detect and quantify PS NPs in a rich phase of natural OM based on the relative ratio of pyrolyzates. The use of specific degradation products (styrene dimer and styrene trimer) and the toluene/styrene ratio ($R_{T/S}$) are explored for these two axes. While the size of the PS NPs biased the pyrolyzates of Styrene dimer and trimer, the $R_{T/S}$ was correlated with the PS NPs mass fraction (w_{NPs}) in the presence of natural OM. An empirical model is proposed to evaluate the relative quantity of PS NPs in relevant environmental matrices. The model has been applied to a real contaminated soil by plastic debris and literature data to demonstrate its potential.

Keywords: Polystyrene, Nanoplastics, Py-GCMS, Identification, Detection

II.1.1 Introduction

World production of synthetic polymers has exceeded 350 Mt [124] leading to a significant release of plastic debris into the environment [124, 125] and threatening all living species [124–126]. Once present in the environment, plastics undergo degradation processes resulting in particles of random sizes and shapes, namely MPs with sizes less than 5 mm. Over the last 20 years, MPs have been increasingly studied due to their potential health and environmental issues [47, 127–129]. Recently a special attention has been given to smaller plastic particles $< 1 \mu\text{m}$, namely NPs [7, 130]. Compared with MPs, this nano-size fraction presents a large specific surface area with decreasing particle size, resulting in higher toxicity to organisms [130–132]. Despite the pressure of policy and the public regarding the need to document NPs in the environment, only limited data are available on their environmental concentration. This lack is due to the demand for adequate methodologies to identify and characterize trace concentrations of NPs in complex dispersion media [10]. Some techniques have been explored experimentally to directly or indirectly analyze (ultra)-trace concentration of NPs in complex environmental matrices, such as single-particle inductively coupled plasma mass spectrometry (SP-ICPMS) for doped NPs models in river water [84], or more exotic ones such as thermal desorption coupled to proton transfer reaction mass spectrometry (TD-PTRMS) in alpine snow [83]. Py-GCMS remains one of the most interesting techniques due to its direct identification of polymers and the relatively high sensitivity [133]. Py-GCMS allows the thermal fragmentation of the polymers and their identification based on a series of specific pyrolysis products. This technique has been used for MPs identification sampled in the environment [134, 135]. While this technique has been applied to MPs, just a few data exist on its application to NPs in environmental samples. It was used to detect various NPs in a marine water sample from the North Atlantic subtropical [72], on Caribbean island shorelines [87], and in contaminated soil by plastic debris [86]. However, these techniques are limited for environmental applications due to the NPs carbon-based composition, trace concentration and their ability to (hetero)-aggregate rapidly with other natural OM [7, 136]. To detect NPs by Py-GCMS, preliminary purification and concentration steps are mandatory to remove natural OM and increase the sensitivity regarding the polymer [137, 138]. Natural OM, such as chitin, wood, humic acid

(HA), and cellulose, present the same pyrolyzates as plastics [139]. As we recently demonstrated it, unlike PP with the 2,4-dimethyl-1-heptene, Styrene pyrolyzate is the main one for PS and for the various natural OM [111, 137, 140]. Two effective strategies have been reported to identify PS from natural OM: (i) direct identification of PS based on the presence of styrene dimer and trimer [141] and (ii) the use of $R_{T/S}$ [111, 112]. While $R_{T/S} > 4-5$ was generally attributed to the OM-derived substrate, a $R_{T/S} < 0.1$ is usually attributed to PS plastics due to the large abundance of the styrene signal compared to toluene [142]. Nevertheless, it is still unknown whether both approaches can qualitatively and quantitatively identify PS NPs with a dispersing media containing a large amount of natural OM [136]. This work aims to evaluate the potential of both strategies to detect a low w_{NPs} in different dispersion media of natural OM. The evolution of PS pyrolyzates (styrene, styrene-dimer, and -trimer) and the $R_{T/S}$ was investigated according to particle properties and natural OM composition. We propose a new empirical model to relate $R_{T/S}$ to the w_{NPs} in a mixture of natural OM. Using this model, we investigate the presence of PS NPs in various environmental samples, such as the colloidal fraction extracted from contaminated soil in plastic debris. We were able to determine a coherent w_{NPs} in these samples and previously published studies.

II.1.2 Experimental section

II.1.2.1 Sample preparation

Two NPs models were used in this study, soap and metal-free carboxylated PS spheres of 390 nm that were produced by emulsion polymerization according to the method described by Pessoni et al. 2019 [143] and carboxylated PS latex spheres with different diameters (50 nm, 500 nm, 760 nm, 3 μm , 10 μm) were purchased from Polysciences and described in the supplemental information (SI *table SI*). The HA used in this work was Leonardite, purchased from the International Humic Substance Society (IHSS); sodium alginate (ALG) and bovine serum albumin (BSA) were purchased from Sigma-Aldrich (Ref-W201502 and Ref-10735078001, respectively). The soil samples are from an agricultural soil collected in France in February 2018 and previously described [86]. The contaminated soil received household waste composed mainly of plastics about thirty and fifteen years ago. The debris was shredded and mixed with organic compost spread on the soil. A control soil was taken from an unamended plot near the contaminated plot. The soil samples were air-dried, sieved to 2 mm, and stored in the dark. Both soils were kept and treated similarly to prevent additional plastic pollution. To extract nanoparticles from the soil samples, soil-water extraction was performed using 4 mmol L⁻¹ of sodium chloride and soil to NaCl ratio of 1:4 (wt/wt) and mixed for 24 hours at 300r min⁻¹. The sample was finally filtered at 0.7 μm and dried-freeze. A solution containing various natural organic matter (Mix OM) was prepared by mixing equivalent mass of BSA, ALG, and HA.

II.1.2.2 Instrumentation

A Pyrolyzer 3030D (Frontier Lab, Japan) coupled to gas chromatography-mass spectrometry 5977B (Agilent Technologies, SRA) installed by SRA (Lyon, France) was used for plastic identification. Pyrolysis was performed at a temperature from 500 °C to 700°C. The gas chromatography method is set as follows: 5 min at 40°C, increasing to 320°C at 20°C/min, and maintained for 14 min. Pyrolysis products were separated on a C18 capillary column (DB5, 30m,

Agilent Technologies). GC-MS Interface temperature was fixed at 300 °C. Concerning MS configuration: ionization voltage was set at 70 eV, and an m/z range from 40 to 350 m/z was analyzed with a 2000 Hz scan speed (SI *table S2*). For pyrolyzates identification, mass spectrum similarities to the NIST library spectrum were performed using the MSD Chemstation (Agilent Technologies). As advised by the Py-GCMS supplier, a minimal value of 80% was necessary to certify the proper identification. For PS pyrolyzates quantification, m/z=104 was used for styrene, and m/z= 91 for toluene, dimer, and styrene trimer [89].

II.1.2.3 Model

A simulation of the $R_{T/S}$ was determined as a function of w_{NPs} and natural OM mass fraction (w_{OM}). $R_{T/S}$ of NPs + OM defined by the following equation (SI *equation 4-8*):

$$(3) \mathbf{R}_{T/S} = \frac{t'_{OM}w_{OM} + t'_{NPs}w_{NPs}}{s'_{OM}w_{OM} + s'_{NPs}w_{NPs}}$$

Where t'_{OM} et s'_{OM} represents the sensitivity of toluene and styrene for OM; t'_{NPs} and s'_{NPs} represent the sensitivity of toluene and styrene for NPs, respectively.

II.1.3 Results and Discussion

To identify the PS NPs, we first investigate the influence of the size of the NPs on the various pyrolysis products. *Figure 8a* illustrates the pyrograms obtained at equivalent mass for two sizes of NPs, i.e., 50 and 759 nm, with a pyrolysis temperature of 500 °C. These two pyrograms presented one dominant styrene peak at a retention time of 4.06 min ($m/z= 104$) with a similar intensity for NPs with a size of 50nm (PS-50) and 759nm (PS-759). Two other pyrolysis products were present with a lower intensity, styrene dimer at a retention time of 10.41 min ($m/z= 91$) and styrene trimer at a retention time of 13.82 min ($m/z= 91$). Note that toluene had a retention time of 2.66 min ($m/z= 91$) and that low pyrolysis temperature caused the lowest signal. It is necessary to increase the temperature to produce small mass pyrolysis products, favor the transformation of styrene dimer and trimer into styrene monomer, and produce toluene sufficiently, as shown in *figure S18*. The styrene dimer signal intensity obtained for PS-759 was twice as high as the signal obtained for PS-50. Investigating the effect of different NPs sizes on the Styrene dimer and trimer response at 500°C showed a decrease in their relative intensity to the Styrene monomer with NPs size (*figure 8b*). This size variation created a bias in the quantitative analysis for the sample with an extensive size continuum, as for environmental NPs. Indeed, environmental NPs are polydispersed in size and shape, affecting the quantification of the specific markers. This quantification methodology was, therefore, contraindicated within the application of environmental NPs.

Figure 8b illustrates the $R_{T/S}$ of NPs formed by pyrolysis at 700°C, and results indicated $R_{T/S}$ did not vary according to size. As previously stated, $R_{T/S}$ could indirectly identify the presence of PS NPs in environmental matrices [112]. $R_{T/S} > 4-5$ is generally attributed to the OM-derived substrate, a $R_{T/S} < 0.1$ is usually attributed to PS plastics. The constancy of $R_{T/S}$ according to the size confirms that this strategy appears to be the most suitable for identifying PS NPs in environmental samples. As no qualitative and quantitative investigation of such a possibility currently exists, there is a need to thoroughly understand their variation in a complex environmental matrix (i.e., containing OM). *Figure 9a* illustrates the pyrograms obtained at 700°C for the NPs and an NPs + Mix OM described in the experimental section. Styrene and toluene were well separated and were not interfered with by other pyrolysis products. Note that the OM has been analyzed within the same condition and presented in the supporting information (*figure S19*) with

a pyrolysis temperature of 700°C. As illustrated in the supplemental information (*figure S19*), both toluene and styrene were present in the various natural OM (BSA, ALG, and HA). For each type of OM, the toluene signal dominated the pyrograms, as reported in the literature [112]. The chromatogram of NPs (*figure 9a*) presented one dominant styrene peak as opposed to toluene which was lower at 500°C but higher at 700°C (*figure S18*). These values demonstrated that for natural OM, the sensitivity of toluene was higher than that of styrene ($t' \gg s'$), conversely for NPs $s' \gg t'$. This sensitivity contrast could explain the variation of $R_{T/S}$ in a mixture of NPs and OM. The $m/z=104$ pyrograms for the Mix OM and NPs + Mix OM presented similar fingerprints. The presence of NPs could only be suggested based on the change in the $R_{T/S}$ of NPs + Mix OM. Both markers could represent an opportunity to identify the presence of PS in an environmental natural OM as recently proposed [111, 112]. *Table 1* summarizes the $R_{T/S}$ for the various models and mixtures. The $R_{T/S}$ Mix OM was 7.9. First, it was worth mentioning that it corresponded to the average weight of each natural OM that composed the Mix (7.87). As previously mentioned, the $R_{T/S}$ variation in the mixture was due to a t'/s' contrast between natural OM and NPs. An approximation is possible when the s' and t' of each species are similar, and the $R_{T/S}$ of a mixture is an average of the $R_{T/S}$ of each species. Secondly, similar trends were observed in the presence of NPs in the Mix-OM. The $R_{T/S}$ of NPs + Mix OM decreased proportionally as the NPs proportion increased. This result demonstrated that $R_{T/S}$ could be used to evaluate the contribution of various OM in the pyrolysis cup.

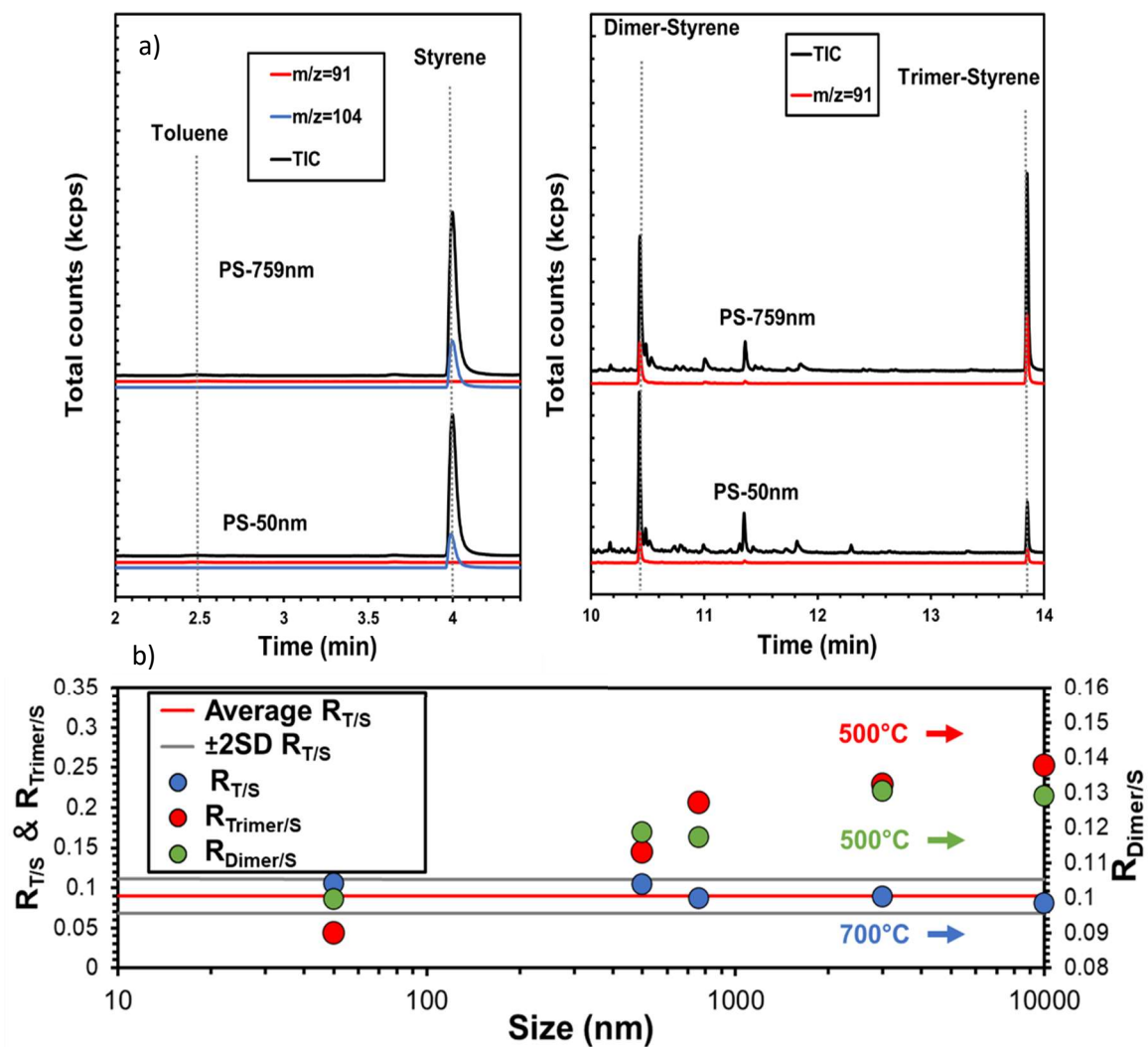


Figure 8: (a) Pyrograms performed pyrolysis temperature of 500°C of 1.5 μg of commercial PS nanoparticle with a size of 50nm and 759nm; and (b) $R_{T/S}$ variation of NPs according to the size of particles (50nm-10000nm) obtained with a pyrolysis temperature of 700°C for $R_{T/S}$ and 500°C for $R_{Dimer/S}$ and $R_{Trimer/S}$. The uncertainties are expressed as $\pm 2SD$ from 3 independent replicates.

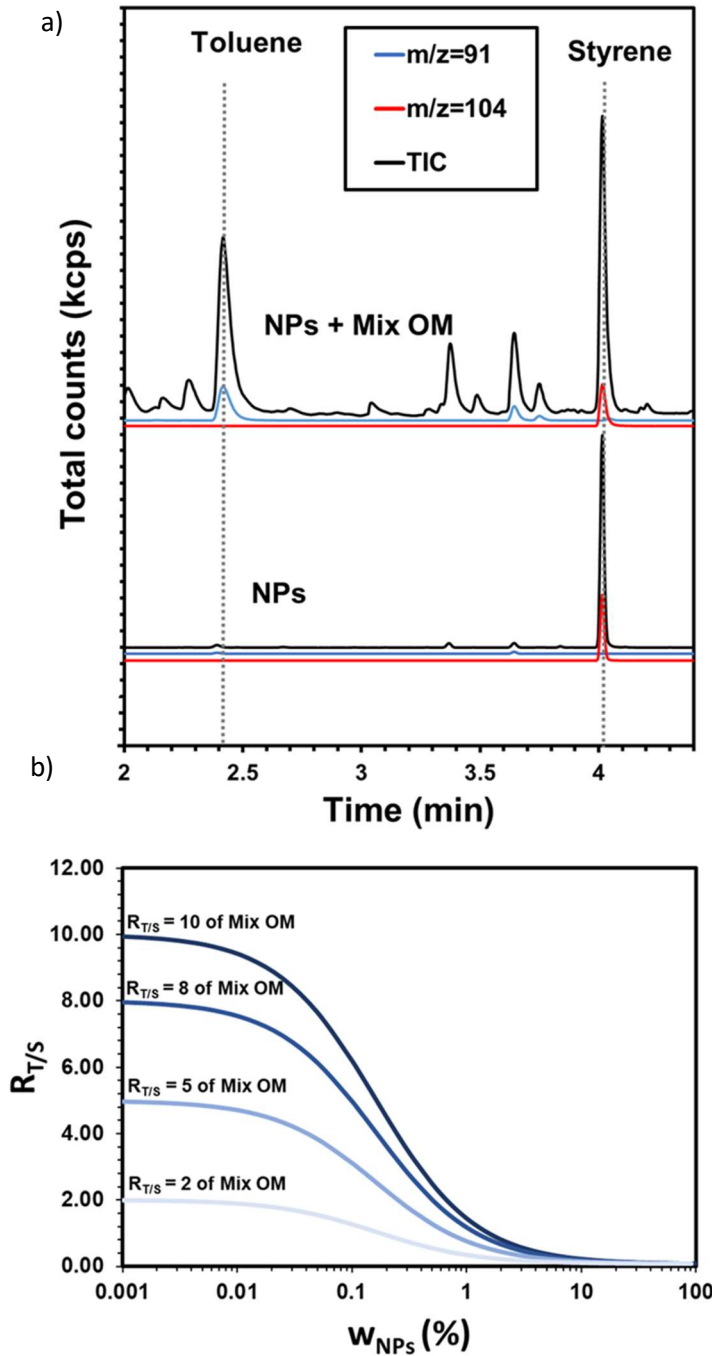


Figure 9: (a) Total Ion, m/z=104 (Styrene), and m/z=91 (toluene) pyrograms obtained for NPs and NPs + Mix OM at pyrolysis temperature =700°C, NPs used was Soap and metal-free carboxylated PS sphere. (b) Modeling $R_{T/S}$ in a mixture NPs + Mix OM according to w_{NPs} with equation 1. The s' and t' for NPs were respectively 3.19×10^7 and 2.55×10^6 obtained experimentally, the s' for Mix OM was $s'=5.16 \times 10^4$ obtained experimentally. Model was applied for a range of $R_{T/S}$ corresponding to $2 \leq R_{T/S} \leq 10$.

Sample		R _{T/S}
BSA		5.1±0.4
Alginate		6.7±0.8
Humic Acid		11.7±0.2
Mix-OM (BSA/ALG/HA)		7.90±0.15
NPs-Mix OM	w _{NPs} =1.3%	1.72±0.02
	w _{NPs} =2.6%	1.05±0.02
	w _{NPs} =5.2%	0.59±0.01
	w _{NPs} =57.8%	0.24±0.01

Tableau 5: R_{T/S} for each sample BSA, ALG, HA, mixture of the three (Mix-OM), the melting of NPs + Mix OM at different w_{NPs} using the m/z=91 and the m/z=104. These values were calculated using the 5 replicates to prepare 5 different pyrolysis sample cups. These values were determined at 700 °C.

According to the pyrograms obtained, we modeled the change of the R_{T/S} in a mixture NPs + Mix OM according to the w_{NPs} (*figure S20*). The model was established from equation 1, presented in the experimental section. Results indicated that the model agreed with the empirical model. As presented in *table 1*, not all-natural OM presented the same R_{T/S}. This was due to the contrast between the t' and s' of OM. Based on the model equation (equation 1), *figure 9b* illustrates the variation of R_{T/S} of a mixture according w_{NPs} for different t' of OM. The s' and t' obtained experimentally used for NPs were respectively 3.19 x 10⁷ and 2.55 x 10⁶. The sensibility of styrene used for natural OM was the value obtained experimentally for Mix OM, s'=5.16 x 10⁴. The model has been applied on a range of R_{T/S} corresponding to 2 ≤ R_{T/S} ≤ 10. The R_{T/S} tended to the environmental background without plastic when w_{NPs} (%) tended to 0. Whatever the initial R_{T/S}, three characteristics varied according to the w_{NPs} (%) identified: (i) a constant R_{T/S} value at low w_{NPs} (%) (below ~0.03% of PS) (ii) a rapid decrease from w_{NPs} (%)~0.03% to 1-3% and (iii) finally a second plateau over w_{NPs} (%)~1-3% is reached. Notes that when R_{T/S} reached the plateau where w_{NPs} (%) > 1-3%, a clear identification of the NPs could be made as the styrene signal is dominating the pyrogram (R_{T/S} << 1). However, below 0.1% of NPs, the toluene and styrene signals on the pyrograms are governed by OM. At this low level of NPs, it became impossible to discriminate

the presence of NPs based on the $R_{T/S}$, whatever the initial value of the natural OM in the dispersing media. In this case, detecting the NPs presence could be realized by digesting the natural OM and quantifying the $R_{T/S}$ [144]. Our modeling showed that such attribution depends on the initial value of $R_{T/S}$. A high $R_{T/S}$ for natural OM increased the sensibility contrast of t'/s' for natural OM compared to NPs, which allowed the discrimination of the lowest w_{NPs} . One interesting solution to attribute the signal is to add NPs to the mixture or the natural sample to see how the $R_{T/S}$ changes and if it can fit with the model proposed in this work. Different approaches were used to validate the model presented here. First, as shown in *figure S20*, experimental data obtained for mixture NPs + Mix OM agreed with the model. The second approach involved the use of an environmental sample doped with NPs. This was tested using the reference soil (plastic free). The soil was one of the most characteristics of all complex environments. This soil was similar (in composition, nature, and geographical location) to the one contaminated with plastic debris and where NPs were previously identified. Both soils were leached, and the colloidal fraction ($<0.7\mu\text{m}$) was collected according to the protocol described in Wahl et al., 2020 [86].

Figure 10b represents the modeling of $R_{T/S}$ in a mixture NPs + reference soil according to the w_{NPs} . The $R_{T/S}$ of the reference soil was 3.4. After preparing various colloidal solutions from the reference soil with the different w_{NPs} , the $R_{T/S}$ values agreed with the predicted values according to the empirical model. It is worth noting that the values obtained validated the model on an extensive range of w_{NPs} (%), from 0.1 % up to 100 %. The reference soil experiments were then compared to the $<0.7\mu\text{m}$ fraction of the contaminated soil (red triangle). The corresponding pyrograms for the reference soil and the contaminated one are shown in *figure 10a*. For the reference soil, styrene and toluene were less discriminated than the natural OM mixtures (i.e., 3.4 vs. 7.9, respectively). For the contaminated soil, the styrene signal mainly dominated the pyrogram, which was represented by the position of the corresponding red triangle ($R_{T/S}= 0.3$). The model estimated a w_{NPs} (%) of 1.58 % in the colloidal fraction extracted from the contaminated soil. This result complemented the first characterization published previously on the NPs identification in this contaminated soil [86]. Both approaches validated the model. However, it used to be subject to certain conditions validate in this work: (i) firstly, the model required contrast between s'/t' of natural OM and s'/t' of NPs (ii) secondly, the use of this model was based on the assumption that during the pyrolysis of a mixture, the association between natural OM and NPs did not influence the pyrolysis mechanism (iii) interference from other plastics as styrene is a

characteristic pyrolyzate of polyvinyl chloride (PVC) [89]. To demonstrate the potential of the proposed model, it was applied to the data obtained by Watteau et al., 2018 [112] on compost soils. In this study, $R_{T/S}$ was measured for the control soil and compost-amended soil (contaminated soil) in several size fractions 200 μ m-2mm, 50-200 μ m, 20-50 μ m, 2-20 μ m, and 0-2 μ m. To apply the model to each size fraction, the s' and t' obtained experimentally for NPs were respectively 3.19×10^7 and 2.55×10^6 . The s' used for natural OM in the model is the value obtained experimentally for Mix OM: $s'=5.16 \times 10^4$. Different t' was calculated from the $R_{T/S}$ of non-amended soil (*figure S21*). *Figure 11* illustrates the interpretation of the data using our model. As the authors claimed, PS was identified in the larger size fraction (200 μ m -2mm, MPs) followed by the 50-200 μ m. This was confirmed by the presence of specific pyrolyzates (dimer and trimer) in these size fractions. The dimer and trimer were missing for the colloidal fraction (0-2 μ m). Despite the presence of styrene, the authors suggested the presence of PS, while the model made it possible to evaluate the significant contribution of PS NPs. It was crucial to mention that w_{NPs} (%) was estimated as, here, it was assumed a $s'=5.16 \times 10^4$ for OM. However, the relative position should not be significantly changed as it was directly proportional to w_{NPs} (%) (*figure S21*).

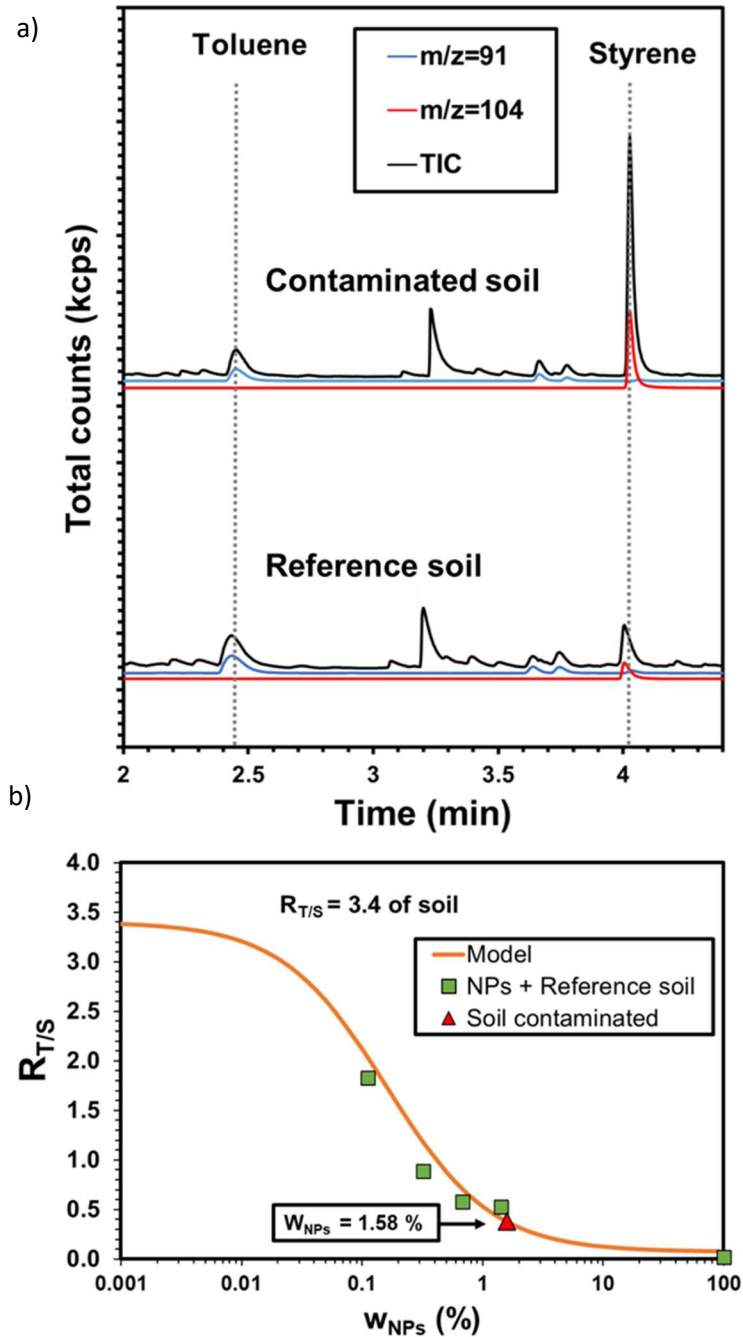


Figure 10: (a) Total Ion, m/z=104 (styrene), and m/z=91 (toluene) pyrograms obtained for the control soil and contaminated soil analysis at pyrolysis temperature =700°C. (b) Modeling $R_{T/S}$ in a mixture NPs + reference soil according to the mass fraction w_{NPs} with equation 1. The s' and t' for NPs were respectively 3.19×10^7 and 2.55×10^6 obtained experimentally, and s' and t' for soil were respectively 9.52×10^4 and 2.8×10^4 obtained experimentally. The green square represents the experimental data obtained by analysis of different mixtures NPs + reference soil with different proportions in NPs. NPs used was soap and metal-free carboxylated PS sphere. The red triangle corresponds to the contaminated soil.

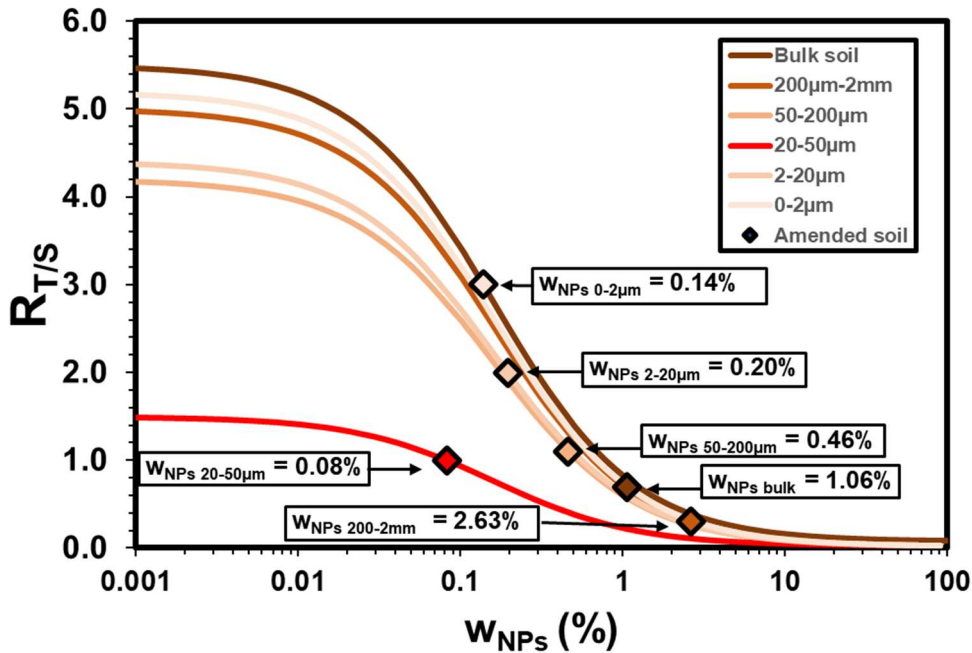


Figure 11 : Based on Watteau et al. 2018 data, modeling of $R_{T/S}$ of non-amended soil according to the mass fraction W_{NPs} with equation 1. The mass fraction W_{NPs} of compost-amended soil was calculated with the model. The s' and t' for NPs were respectively 3.19×10^7 and 2.55×10^6 obtained experimentally. The sensibility of styrene used for natural OM was the value obtained experimentally for Mix OM, $s'=5.16 \times 10^4$. Different t' was calculated from the $R_{T/S}$ of non-amended soil.

II.1.4 Conclusion

Due to the large abundance of natural OM compared with meager proportions of NPs in the environment and their similar pyrolysis fingerprints, the detection of NPs is a considerable analytical challenge that needs to be urgently addressed. Among all the plastics, PS identification by Py-GCMS was processed using two strategies based on specific markers (dimer and trimer) or $R_{T/S}$. However, results have shown that the size of PS particles impacted the response of specific markers. Due to the polydispersity of environmental NPs, these markers represent an analytical bias in the environmental evaluation of NPs. This work demonstrated that the $R_{T/S}$ is promising in distinguishing PS NPs from OM. This study presented a new empirical model that determined the W_{NPs} in a complex mixture of OM for the first time. It is worth noting that such models must be carefully considered together with the s' and t' values of natural OM and NPs. This model was based on the sensitivity contrast between t'/s' of natural OM and NPs. A higher contrast allows to

quantify a lower w_{NPs} . However, the final application of the work on contaminated soil with plastic debris showed that a mass fraction of $w_{\text{NPs}}=1.58\%$. Such analytical advancements allow a better understanding of the presence and levels of PS NPs in environmental samples. Ongoing work on various environmental sample and matrices are performed using the same approach. Finally, it would be attractive to apply this model to the various data used in the literature to characterize PS NPs.

CHAPITRE III

Dans le deuxième chapitre, nous avons proposé une étude complète sur la possibilité de détecter et de quantifier des NPs de PS dans une phase riche contenant de la OM. Un nouveau modèle empirique a été fourni, permettant de déterminer la w_{PS} pour la première fois dans un mélange complexe naturel à l'aide du $R_{T/S}$. La caractérisation des MPs est moins délicate du fait de leur taille supérieure aux NPs. En effet la littérature comprend de nombreuses techniques analytiques pour les caractériser. Ces méthodes ne fournissent toutefois pas de renseignement sur l'origine, la réactivité ou la transformation des MPs dans l'environnement. C'est pourquoi un besoin d'innovation analytique se fait ressentir dans le but de retracer la source et le cycle de vie des plastiques. Dans ce chapitre nous nous sommes donc intéressés à l'analyse isotopique de composés organiques volatiles (VOCs) à l'aide d'un système de purge & piégeage couplé à un GC-MS-C-IRMS. Les objectifs étaient (i) d'élaborer une technique permettant de déterminer $\delta^{13}C$ de VOCs extrait de MPs ; (ii) de l'optimiser ; (iii) de réaliser une étude exploratoire sur différents MPs.

Ce chapitre correspond à un article soumis dans la revue Analytical and Bioanalytical Chemistry. «Volatile Organic Compounds Identification and Specific Isotopic Analysis ($\delta^{13}C$) in MPs by Purge and Trap Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry and Combustion Isotope Ratio Mass Spectrometry (PT-GC-MS-C-IRMS) ». Corentin Le Juge, David Point, Christelle Lagane, Stéphanie Reynaud, Bruno Grassl, Ian Allan, Julien Gigault.

Résumé chapitre III :

Dans ce chapitre, il est question de l'analyse isotopique spécifique de VOCs extraits de MPs par purge et piégeage (Purge & Trap). Après séparation par chromatographie gazeuse (GC), l'ambition est l'obtention d'un signal isotopique via la détection et la mesure du signal $\delta^{13}\text{C}$ par spectrométrie de masse.

Il existe actuellement de nombreuses méthodes pour caractériser de manière physico-chimique les MPs dans les échantillons environnementaux et expérimentaux. Aucune d'entre elles ne permet d'évaluer les sources et les processus environnementaux des MPs. Afin de combler ce besoin en innovation analytique, le recours à l'isotope stable du carbone apparaît comme une solution à fort potentiel. Dans cette étude nous présentons le développement et l'application d'un système original purge & trap couplé à un GC-MS-C-IRMS pour explorer l'analyse isotopique spécifique de VOCs extraits de MPs. Une méthode qui permet l'identification et la caractérisation des valeurs $\delta^{13}\text{C}$ de VOCs dans une solution standard contenant 60 VOCs a été mise au point et appliquée à un MP de PS. Une optimisation de la sensibilité et des performances a été réalisée suivant la masse d'échantillon et la température. Cette méthode optimisée a par la suite été appliquée à deux autres types de MP, l'acide polylactique (PLA) et le polytéréphtalate d'éthylène (PET). Ceci a permis de mettre en évidence que le profil des VOCs, combiné à leurs valeurs respectives et spécifiques de $\delta^{13}\text{C}$, permettait de discriminer les trois types de MPs. En effet l'adsorption de VOCs par les MPs semble être uniquement contrôlée par le milieu environnant, illustrant la nécessité d'une approche isotopique pour les tracer. Ces résultats préliminaires suggèrent que l'analyse du $\delta^{13}\text{C}$ spécifique des VOCs extrait des MPs détient un potentiel prometteur pour différencier leurs voies de transformation et leur cycle de vie dans l'environnement.

III.1 Volatile Organic Compounds Identification and Specific Isotopic Analysis ($\delta^{13}\text{C}$) in microplastics by Purge and Trap Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry and Combustion Isotope Ratio Mass Spectrometry (PT-GC-MS-C-IRMS)

Corentin Le Juge¹, David Point^{2*}, Christelle Lagane², Stéphanie Reynaud¹, Bruno Grassl¹, Ian Allan³, Julien Gigault^{4*}

¹ Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS UMR 5254, IPREM, Pau, France

² Laboratoire TAKUVIK – Université Laval - 1045, Avenue de la Médecine, Québec, QC, Canada

³ NIVA Norwegian Institute for Water Research, NO-0579 Oslo, Norway

⁴ UMR CNRS 5563, IRD 234 -Géosciences Environnement Toulouse (GET), Observatoire Midi Pyrénées (OMP), 14 avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse, France

* Corresponding authors (e-mail: david.point@ird.fr, julien.gigault@takuvik.ulaval.ca)

III.1.1 Abstract

MPs have become one of **Identification of polystyrene nanoplastics from natural organic matter in complex environmental matrices by pyrolysis–gas chromatography–mass spectrometry**

the major global environmental issues in recent decades due to their ubiquity in the environment. Understanding the source and reactivity of MPs is urgently needed to better constrain the cycle of MPs in the environment. The analytical tools available in MPs research have improved our ability to measure and identify MPs in the environment, but more research is needed to help understand their sources and reactivity in the environment. In this work, we developed and applied an original purge-&-trap system coupled to a GC-MS-C-IRMS to explore the $\delta^{13}\text{C}$ compound specific stable isotope analysis (CSIA) of volatile organic compounds (VOCs) embedded in MPs. The method consists of heating and purging MPs samples prior to GC-MS-C-IRMS analysis was developed using a PS material to perform VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA in the low mass range. MPs sample mass and heating temperature were found to increase the sensitivity, while having no influence on VOCs

$\delta^{13}\text{C}$ CSIA values, leading to a robust, precise and accurate methodology. Results show that the monomer styrene displays a different $\delta^{13}\text{C}$ value (-22.2‰); compared to the $\delta^{13}\text{C}$ value of the bulk polymer sample (-27.8‰), hinting at processes related to the synthesis process and/or diffusion. VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA of PS, polyethylene terephthalate (PET), and polylactic acid (PLA) displayed unique VOCs $\delta^{13}\text{C}$ patterns, with toluene showing specific $\delta^{13}\text{C}$ values for PS ($25.9\pm 0.1\%$), PET ($-28.4\pm 0.5\%$), and PLA ($-38.7\pm 0.5\%$). These results illustrate the interesting potential of VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA in MPs research. Further studies in the laboratory could help determine the main mechanisms responsible for MPs VOCs $\delta^{13}\text{C}$ stable isotopic composition.

Keywords: microplastics, volatile organic compounds, detection, isotopes, trace concentrations

II.1.2 Introduction

World production of synthetic polymers in 2020 had surpassed 350Mton. About half of that was used in packaging materials and other disposable items with a short lifetime [3, 145]. Due to inefficiency in waste management, a large amount of plastic is continuously released into the environment, increasing environmental pollution problems [3, 32, 145]. Once released into the environment, most plastic materials can fragment into smaller plastic debris, namely MPs with particle sizes less than 5 mm [22, 47, 127, 128]. During the last decade, MPs input into the environment has become a global pollution problem. Because of their small size, MPs have become ubiquitous and have been detected in all environmental compartments [146–148]. Recent reports indicate that MPs can now be found throughout the biogeosphere, from the open ocean to deep ocean trenches [149], and even in remote locations such as in Antarctica [150]. MPs are also considered a source of contaminants [151], capable of releasing inorganic elements and organic compounds. These compounds can be part of their inner structure and added specifically during the manufacturing process to give them unique properties, such as strength, flexibility, and thermal resistance [152]. The degradation of plastics in the environment leads to the potential release of embedded additives and VOCs [153]. Inorganic and organic pollutants over as (PCBs, bisphenols, antibiotics, phthalates and other) can also adsorb the plastic debris [59, 65, 154]. However, the process of release and transport of additive, metallic elements, or organic compounds is still poorly

characterized. The identification and quantification of MPs in the environment represent an analytical challenge due to their small size, complex composition, and the need to achieve precise and accurate determinations at trace concentrations levels in diluted compartments (ocean, freshwater, snow) [146]. The analytical techniques used to characterize MPs include: Py-GCMS [72], micro-Fourier-transform infrared spectroscopy (micro-FTIR) [12] or Raman for quantification [13], optical microscopy for size characterization, and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) for surface composition [14]. Nevertheless, despite allowing a relatively complete characterization of MPs, we need to develop other complementary approaches to improve our knowledge about the source, reactivity, and transformation of MPs in the environment. Exploring the natural stable isotope variations of light elements ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{18}\text{O}$) in biogeochemical and ecological sciences has allowed a leap in understanding the source cycle and transformation processes of several inorganic and organic compounds in the earth system [155–157]. Recent developments of hyphenated techniques such as gas chromatography-isotopic ratio-mass spectrometry (GC-IRMS) have pushed our ability to explore the natural variations of stable isotopes embedded in molecules thanks to CSIA. Application of CSIA to organic contaminant helps gain precise information about their source origin and abiotic/biotic transformation pathways in the environment [123, 158].

The investigation of VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA in environmental samples has shown that under biotic or abiotic conditions, isotopic fractionation of VOCs can be used as a tracer of degradation processes for BTEX (benzene, toluene, ethylbenzene, xylene) [159], aliphatic chlorinated compounds [160], n-alkane [161]. The application of CSIA methods to VOCs typical of petroleum products has shown that their $\delta^{13}\text{C}$ signature can be related to their chemical precursor and/or to the synthesis method used during their production process [122]. The pioneer work by Berto et al., 2017 [162], who performed bulk $\delta^{13}\text{C}$ analysis of different plastic materials showing the existence of a wide range of $\delta^{13}\text{C}$ values (-40.7; -13.7‰) in the context that VOCs are known to be adsorbed and/or released from plastic materials [65, 153, 163, 164] guided our interest to explore and document for the first time VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA in MPs samples.

This study is based on the previous work by Queipo-Abad et al., 2020 [165], who developed a cryogenic PT-GC-C-IRMS platform to measure VOCs (BTEX) $\delta^{13}\text{C}$ -CSIA at ultratrace levels. This analytical platform was upgraded with a complementary MS detector to help identify VOCs

present in MPs while simultaneously determining their respective $\delta^{13}\text{C}$ values (IRMS) in the context of an expected large number of VOCs present in MPs. Our objectives were to : (i) identify and characterize VOCs $\delta^{13}\text{C}$ values in a standard solution containing numerous VOCs, and in PS MPs, (ii) optimize method sensitivity, robustness and performance for MPs analysis focusing on sample mass and temperature, and (iii) document and explore VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA on the different type of MPs materials (PS, PLA, PET).

III.1.3 Materials and methods

III.1.3.1 Reagents, MPs samples

All glassware, new and reused was cleaned by pyrolysis before use. Millipore $18.6\text{ M}\Omega\text{ cm}^{-1}$ ultrapure water was used for the preparation of all solutions. The main VOCs standard solution used in this work consisted of a $200\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ standard MEGAMIX 30603 mixture in Methanol (MeOH), purchased from Restek (Bellefonte, PA, USA). This standard contained 60 VOCs (*SI table S4*), including aromatics compounds (AC), BTEX, and CFC (chloro-fluoro-carbons). A standard of 200 ng g^{-1} in water, was prepared daily for analysis. About $150\text{--}450\text{ }\mu\text{L}$ ($1.9\text{--}5.7\text{ ng}$ of Compound) of this solution was diluted into a final volume of 10 mL Milli-Q water in 20 mL PT glass vials equipped with a silicon Teflon septum. A secondary VOCs standard solution consisting of a $200\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ benzene, ethylbenzene, toluene, and (m, o, p)- xylenes (BTEX) compound mixture in MeOH, purchased from Restek (MEGAMIX 30051, Bellefonte, PA, USA) was used to check for daily instrument performance. The PS and PET MPs materials used in this work were obtained from Good Fellow with a particle size of 250 and $300\text{ }\mu\text{m}$, respectively. The PLA (corn based) MPs sample was a 3D printing filament obtained from Arianoplast (France), which was cut into fragments of approximately $2000\text{ }\mu\text{m}$. PS, PET, and PLA MPs were beforehand measured for bulk $\delta^{13}\text{C}$ analysis showing values of $-27.8\pm 0.2\text{ ‰}$, $-28.7\pm 0.2\text{ ‰}$, and $-11.5\pm 0.2\text{ ‰}$, respectively (*SI table S5*).

III.1.3.2 Instrumentation

Bulk $\delta^{13}\text{C}$ analysis of plastic materials was performed by continuous-flow isotope ratio mass spectrometer (Thermo Electron Delta Advantage) in the continuous-flow mode (Thermo Electron ConFlo III) using an ECS 4010 Elemental Analyzer/ZeroBlank Autosampler (Costech Analytical Technologies). Samples were loaded into tin capsules and combusted (localized temperature up to 1800°C). Two laboratory standards, USGS40 and USGS41 were analyzed every 12 unknown samples in each analytical sequence, allowing instrument drift to be corrected if observed.

VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA of liquid standard samples and plastic material samples was performed using a gas chromatograph (GC, Trace 1310, Thermo Scientific) equipped with a Rxi-624Sil MS capillary column (6%-cyanopropylphenyle)-methylpolysiloxane, $60\text{ m} \times 0.25\text{ mm i.d.} \times 1.4\text{ }\mu\text{m}$), coupled to an isotope ratio mass spectrometer (MAT 253 IRMS, Thermo Scientific) and a mass spectrometer (ISQ7000 MS, Thermo Scientific) using a GC Isolink 2 combustion reactor equipped with a splitter, and a Conflow IV (Thermo Scientific) interface. About 5% of the GC flow out of the column was sent to the MS detector for VOCs identification, while the remaining 95% was sent to the combustion reactor, where each compound is decomposed in CO_2 to estimate their carbon stable isotopes ratios by the IRMS relative to that of a calibrated CO_2 reference gas. The GC-C-IRMS-MS platform was interfaced with an automated purge and trap unit (VSP4000, IMT Innovative Messtechnik, Vohenstrauß, Germany) directly connected to the GC column by the mean of a heated transfer line illustrate *figure 12*. MPs samples (3-50mg) introduced at the bottom of a 20ml PT glass vial and covered by a pyrolyzed QM-A Quartz Microfiber filter were loaded on the autosampler. In vial purging of the samples ($20\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ during 20 mins) was performed by a double needle system penetrating the septum. During purging, sample vials can be heated with a working range from 20°C to 140°C . The PT unit was equipped with a Peltier water trap (PWT) located on the frontend of the adsorbent to remove water vapors from the sample vial. A micro Tenax trap (cooled at -50°C by LN_2) was used as a sorbent to trap VOCs purged from the vial. The GC conditions and the PT conditions are detailed in *SI table S6*.

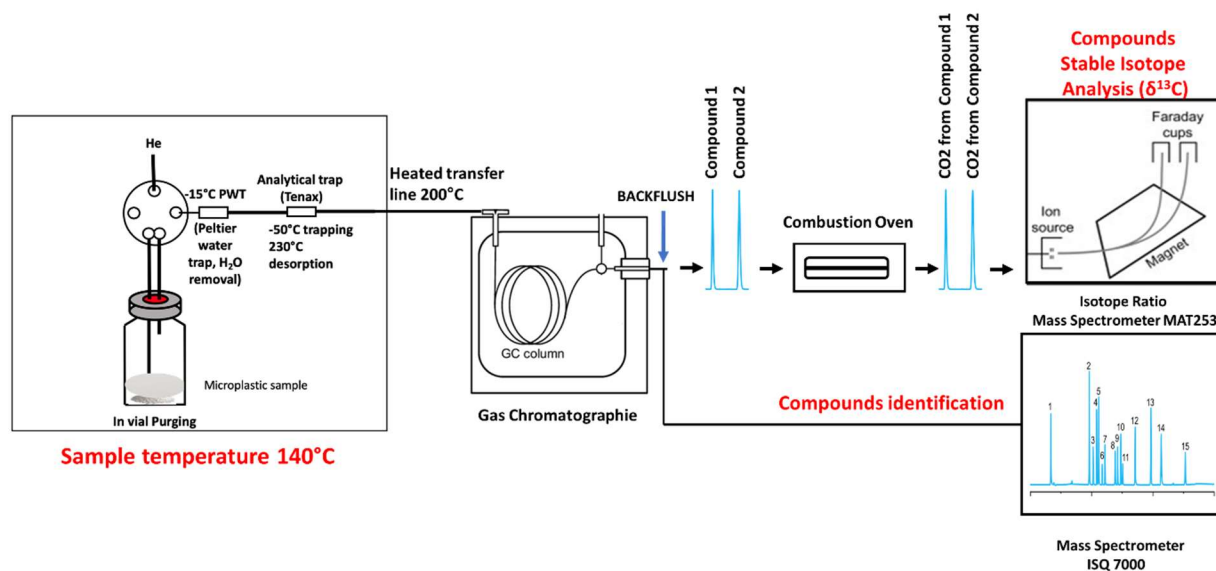


Figure 12 : Illustration of the PT-GC-MS-C-IRMS coupling used for the VOCs simultaneous identification, and $\delta^{13}\text{C}$ -CSIA in MPs samples

III.1.3.3 Measurement of carbon isotope ratios

Target compounds were combusted to CO₂ a single combined reactor (P/N 1255321, NiO tube and CuO-NiO-Pt wires, Thermo Fischer Scientific) at 1000°C. Laboratory MEGAMIX 30051 BTEX standard solution was injected at the beginning of each session to check the performance of the instrument, and every 10 samples during analysis sessions to follow up the measurement accuracy. The combustion reactor was reoxidized on a daily basis, and/or during sample sequences if measured $\delta^{13}\text{C}$ values deviated by more than 1‰ relative to in house established reference values [165]. An empty glass vial was analyzed every three samples to ensure a good blank control and to check for the absence of carry-over from one sample to the other. Isotope values of VOCs standards and MPs samples were calibrated relative to Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB) using liquid injections of a $\delta^{13}\text{C}$ certified C15-C13-C20 alkane mix standard solution (Chiron, Norway).

All isotopic measurements are reported in delta notation:

$$\delta^{13}\text{C} = \left(\frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{sample}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{VDPB}}} - 1 \right) \times 1000 \quad (1)$$

where $\delta^{13}\text{C}$ is the isotopic value (‰) of the sample, $\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{sample}}$ is the ratio of ^{13}C to ^{12}C in the sample, and $\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{VDPB}}$ is the ratio of ^{13}C to ^{12}C isotopes in the standard in an international isotopic scale (Vienna Pee Dee Belemnite).

The method detection limit of the instrument was 150 mV, i.e., the point with the lowest concentration within a linear interval of $\pm 0.6\%$ of the mean value for the standard measured with GC-IRMS and with good reproducibility ($1\sigma < 0.6\%$) from triplicate measurements. The IRMS instrument was tuned for maximum linearity. Note that MEGAMIX 30603 contains isomers that cannot be separated with MS (m-xylene and p-xylene). In this case the $\delta^{13}\text{C}$ value attributed to the compound was that of the two isomers. Samples were analyzed in triplicates and values are reported as the arithmetic mean, except when specific mentioned. VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values were attributed to the compounds present in the liquid standard solutions and the MPs samples with applying the following criteria's; (i) identified by MS, (ii) IRMS peak height $>200\text{mV}$, and (iii) chromatographically resolved by IRMS. Note that for coeluting compounds that are present at different concentrations in a given liquid or solid sample, the samples were reanalyzed using different masses of liquid standard or MPs samples in the purging vial to obtain more resolved chromatograms for these compounds when possible. In the case this was not achievable, no VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values were attributed to the coeluting compounds.

III.1.4 Results and discussion

III.1.4.1 Identification and characterization of VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA

Purging flow conditions were identical as in our previous study [165] to ensure a quantitative purging of all VOCs from the vial and to get accurate $\delta^{13}\text{C}$ values on separated VOCs in liquid samples by PT-GC-C-IRMS. Since MPs samples are considered to be an analytical challenge for $\delta^{13}\text{C}$ CSIA since they are suspected to display an unknown but possibly wide range of VOCs, from ultra-volatile, to middle and low volatile compounds, we used a 60-meter Rxi-624Sil column with an optimized GC program (*SI table S6*) to get the best compromise conditions to separate most of the compounds while covering the widest range of boiling points. The optimized GCMS conditions allowed the identification of the 60 VOCs by MS (*figure 13a*), of which 2 could not be properly resolved with m/z identification: m-xylene (n°35) and p-xylene (n°36). The IRMS chromatograms (*figure 13b, 13c*) allowed the proper separation of 14 compounds of the same standard sample for which CSIA is achievable. The slight delay in retention time (t_R) between MS and IRMS (80s) is due to the longer residence time of the compounds in the combustion reactor after the split at the output of GC column in the case of IRMS. Of the 58 VOCs identified and resolved in MS, 6 could be resolved by IRMS at a concentration of 1.9ng (*figure 13b*) and 8 at a concentration of 5.7 ng (*figure 13c*). The difference in chromatographic resolution between MS and IRMS is caused by the slight degradation in chromatographic resolution related to the combustion reactor where VOCs are transformed into CO_2 for IRMS analysis. Analysis of BTEX MEGAMIX 30051 standard solution range before and after MEGAMIX 30603 (60 VOCs) showed no difference in peak intensity and/or $\delta^{13}\text{C}$ values for BTEX relative to in house reference values [165]. This suggests that the combustion reactor performance was not influenced by the larger carbon loading of MEGAMIX 30603 relative to MEGAMIX 30051, across the concentration range tested (1.9-5.7 ng). The VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values for the MEGAMIX 30603 standard ranged between $-24.5\pm 0.2\text{‰}$ for (*E*)-1,3-dichloroprop-1-ene to $-48.3\pm 0.4\text{‰}$ for 1,2-dichlorobenzene with an average value of $-27.9\pm 0.3\text{‰}$ for all VOCs combined. The results show that AC displayed an average $\delta^{13}\text{C}$ value of $-26.3\pm 0.3\text{‰}$, different from that of halogen compounds displaying a lighter isotopic value ($-29.4\pm 0.3\text{‰}$) in this VOCs standard solution. VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values for the 13

compounds are summarized in *SI table S4*. Note that MeOH was not analyzed since it is used as the dilution media in both megamix standard solutions and is present in too high concentrations for IRMS determinations. The MeOH peak region was left out from the chromatogram (backflush, 450-650s; *figure 13b* and *figure 13c*).

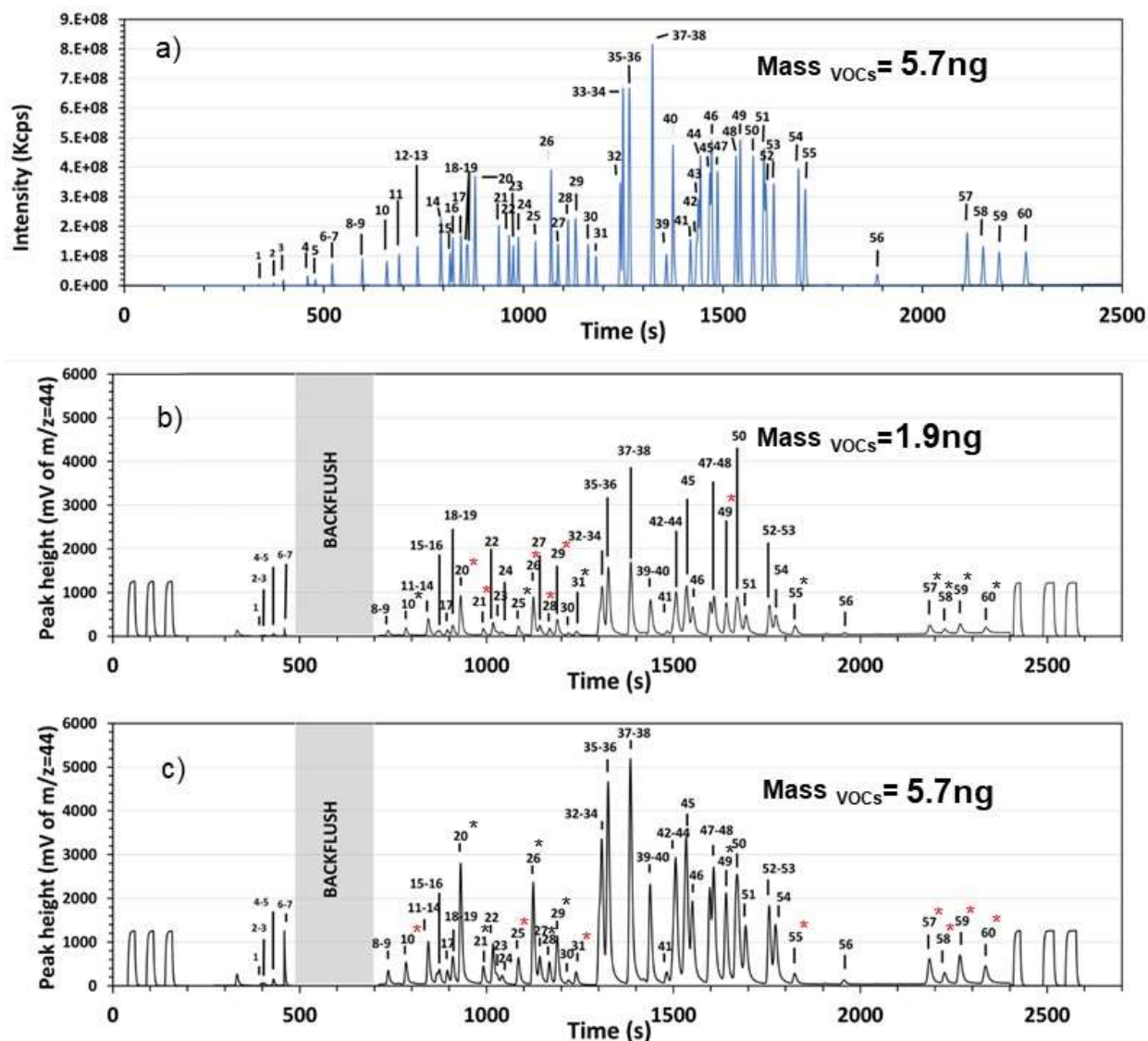


Figure 13 : (a) MS-Chromatogram and (c) IRMS-Chromatogram of MEGAMIX VOCs standard solution (5.7ng of each VOCs in the vial). The IRMS backflush valve was opened between 450-600s to let out the MeOH peak (dilution media of MEGAMIX VOCs std) to avoid the overload of the combustion reactor and the saturation of detector (see Supplemental Information). (b) IRMS-Chromatogram of MEGAMIX VOCs standard solution (1.9 ng of each VOCs in the vial). Compounds marked with “*” indicate they qualify for $\delta^{13}\text{C}$ CSIA determinations (see method section). The red color indicates the concentration at which the $\delta^{13}\text{C}$ CSIA value was attributed. Isomers (m-xylene and p-xylene cannot be separated with MS. In this case a single $\delta^{13}\text{C}$ value was for the two compounds.

- (1) CFC-12; (2) Chloromethane; (3) Chloroethene; (4) Bromomethane ; (5) Chloroethane; (6) CFC-11; (7) 1,1-Dichloroethene; (8) (Z)-1,2-Dichloroethene; (9) (E)-1,2-Dichloroethene; (10) Dichloromethane; (11) 1,1-Dichloroethane; (12) 1,2-Dichloroethane; (13) 2,2-Dichloropropane; (14) 1,1-Dichloropropene; (15) Bromochloromethane; (16) Chloroform; (17) 1,1,1-Trichloroethane; (18) 1,3-Dichloropropane; (19) Tetrachloromethane; (20) Benzene; (21) Trichloroethene; (22) 1,2-Dichloropropane; (23) Dibromomethane; (24) Bromodichloromethane; (25) (E)-1,3-Dichloroprop-1-ene; (26) Toluene; (27) (Z)-1,3-Dichloroprop-1-ene; (28) 1,1,2-Trichloroethane; (29) Tetrachloroethene; (30) Dibromochloromethane; (31) 1,2-Dibromoethane ; (32) Chlorobenzene; (33) 1,1,1,2-Tetrachloroethane; (34) Ethylbenzene; (35) 1,3-Xylene (m-Xylene); (36) 1,4-Xylene (p-Xylene); (37) 1,2-Xylene (o-Xylene); (38) Styrene; (39) Bromoform; (40) Cumene; (41) 1,1,2,2-Tetrachloroethane; (42) 1,2,3-Trichloropropane; (43) Bromobenzene ; (44) Propylbenzene; (45) 1-Chloro-2-methylbenzene; (46) 1,3,5-Trimethylbenzene; (47) 1-Chloro-4-methylbenzene; (48) Tert-butylbenzene; (49) 1,2,4-Trimethylbenzene; (50) Butan-2-ylbenzene (Sec-butylbenzene); (51) 1-Methyl-4-propan-2-ylbenzene ; (52) 1,3-Dichlorobenzene; (53) 1,4-Dichlorobenzene; (54) Butylbenzene; (55) 1,2-Dichlorobenzene; (56) 1,2-Dibromo-3-chloropropane; (57) 1,2,4-Trichlorobenzene; (58) 1,1,2,3,4,4-Hexachlorobuta-1,3-diene; (59) Naphthalene; (60) 1,2,3-Trichlorobenzene

The same purging conditions were applied to a PS MPs loaded in the PT glass vial and heated at 140°C to favor the release of VOCs. Since the PS MPs contains high concentrations of the main monomer (styrene) relative to other VOCs present at lower concentrations, we analyzed two distinct sample masses for this material. First, a sample mass of 3 mg of PS was analyzed to (i) identify the presence of the styrene peak (RT of 1384s) and its associated $\delta^{13}\text{C}$ value (-22.2‰), and, (ii) identify the 9 other main VOCs present. Second, we analyzed a higher mass (10 mg) of PS with backflushing the styrene peak (1370-1470s) to get a higher sensitivity of the other 9 VOCs to facilitate the determination of their $\delta^{13}\text{C}$ values. Results are illustrated in *figure 14* showing the MS-IRMS chromatograms for the PS MPs sample. The PS MPs sample displayed 7 VOCs in common with the liquid MEGAMIX standard. Four of them qualified for $\delta^{13}\text{C}$ CSIA determination showing values: $-25.9 \pm 0.1\text{‰}$ for toluene (n°26), $-34.0 \pm 0.1\text{‰}$ for ethylbenzene (n°34), $-26.1 \pm 0.5\text{‰}$ for m,p-xylene and $-22.2 \pm 0.2\text{‰}$ for styrene. Other VOCs present in the PS MPs sample but not present in MEGAMIX 30063, could also be identified displaying values of $-26.6 \pm 0.2\text{‰}$ for 1-pentene (n°I), -28.2 ± 0.3 for hexane (n°II) and -29.0 ± 0.1 for 1-phenylethanone (n°III). Hexane and 1-phenylethanone $\delta^{13}\text{C}$ values were relatively similar to that of the bulk $\delta^{13}\text{C}$ isotopic value for PS material (-27.8‰). On the contrary; 5 VOCs display significant different $\delta^{13}\text{C}$ values relative to that of the bulk isotopic composition, including for the monomer (n°38, styrene). The $\Delta^{13}\text{C}=5.6$ enrichment in $\delta^{13}\text{C}$ of the styrene monomer relative to the PS material enriched in lighter isotopes could be explained by (i) the synthesis process since the reaction product (PS) is enriched in lighter C isotopes compared to the reactant (styrene) and (ii) by the loss/diffusion of lighter styrene during the storage conditions (20°C), and leading to a remaining pool of styrene enriched in ^{13}C in the PS sample, this remaining pool being extracted and analyzed by PT-GC-MS-C-IRMS. It is worth noting that the $\delta^{13}\text{C}$ values obtained for toluene, ethylbenzene, and m,p-xylene in the PS MPs are quite different from that in in MEGAMIX 30051 [165] and from MEGAMIX 30630 standard (*SI table S6*). These data highlight the potential of VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA to discriminate different VOCs source materials and to investigate MPs fabrication (polymerization) and/or interaction with the environment through sorbing/desorbing mechanisms.

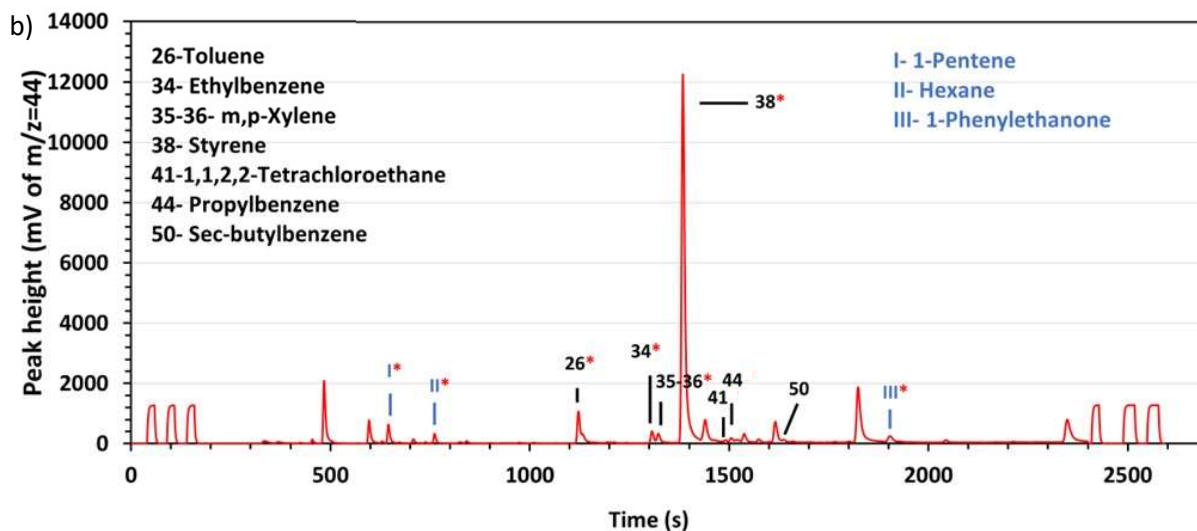
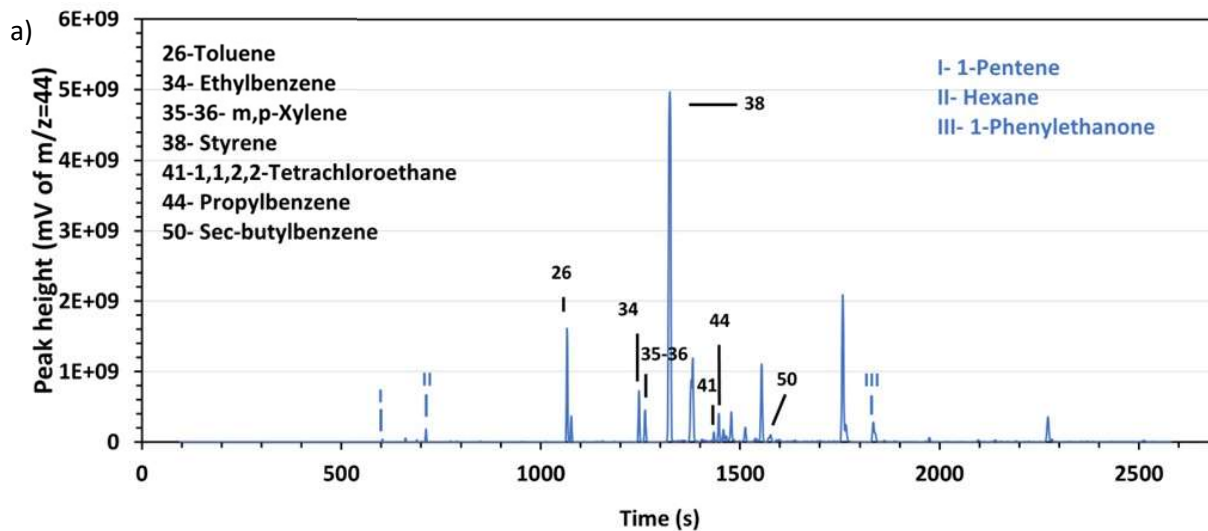


Figure 14 : (a) MS-Chromatogram for a 10 mg sample of the PS MPs standard. (b) IRMS-chromatogram for 3mg of the PS MPs standard to evaluate the $\delta^{13}\text{C}$ value of the main monomer (Styrene, n°38). The backflush mode was enabled between 1370-1470s when analyzing a higher amount of PS MPs (10mg) to avoid overloading the combustion reactor and saturating IRMS. Compounds marked with "*" indicate they present conform condition for $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values. The red color indicates that $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values were resolved at their respective chromatogram concentration. Isomers (m-xylene and p-xylene) cannot be separated with MS. In this case a single $\delta^{13}\text{C}$ value was for the two compounds.

III.1.4.2 Influence of MPs sample mass and temperature

Influence of sample temperature

Since the heating of MPs samples is known to favor the release of VOCs, we tested the effect of heating temperatures on VOCs concentrations (peak intensities) and corresponding $\delta^{13}\text{C}$ values to optimize the method sensitivity, robustness and performance. Three organic compounds covering a large range of boiling points typical of VOCs (110°C-145°C) were selected for this evaluation: toluene (n°26), m,p-xylene (n°35-36) and styrene (n°38) using 10 mg of PS, heated at a different temperature, 100°C, 120°C to 140°C. In the case of styrene $\delta^{13}\text{C}$ CSIA, only 3 mg of PS material was used (see above for details). The results are displayed in *figure 15* which shows the $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values obtained for the four compounds, and their respective intensities as a function of heating temperature. The results show that VOCs were increasingly desorbed with increasing heating temperature of the PS MPs sample, reaching a maximum peak intensity at 140°C. The increase in intensity from 100°C to 140°C was almost doubled for toluene (peak n°26); 7.6 times for m,p-xylene (Peak n°35-36) and 17 times for styrene (peak n°38). This result indicates first that increasing sample temperature is an efficient approach to increase the sensitivity for VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA, and second that the absence of leveling highlights the efficiency of the combustion reactor to handle increased VOCs (ng C) loads. The absence of temperature influence on VOCs $\delta^{13}\text{C}$ values determined by IRMS highlights the dynamic range of the method leading to consolidated average values of $-25.9 \pm 0.4\text{‰}$ for toluene, $-26.1 \pm 0.3\text{‰}$ for m,p-xylene, ‰ - and $-22.2 \pm 0.4\text{‰}$ for styrene for the PS MPs sample material. The temperature of 140°C was then used to maximize VOCs desorption and method sensitivity while providing precise and accurate VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values.

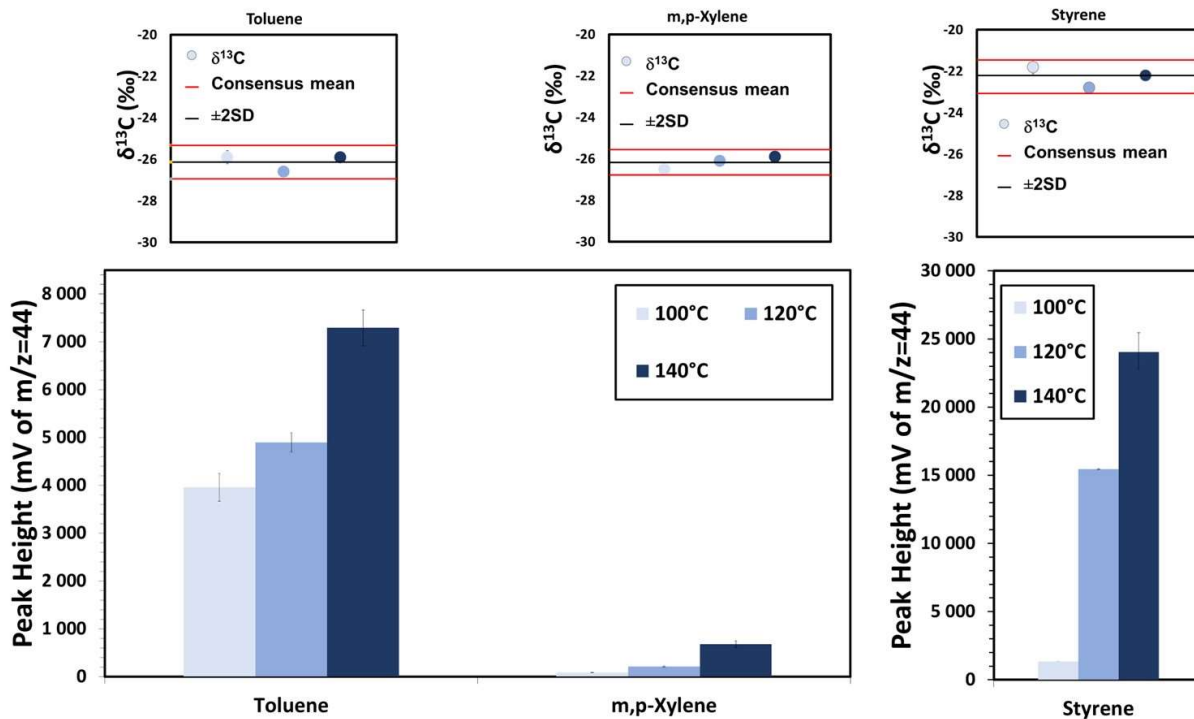


Figure 15: $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values and the peak ($\text{V}\cdot\text{S}^{-1}$) of the $m/z=44$ area signal according to the temperature of the sample (100°C, 120°C, 140°C) for toluene; m,p-xylene and styrene. The values of toluene and m,p-xylene were obtained by analysis of 10mg of PS MPs, styrene was obtained with analysis of 3 mg to avoid saturating the combustion reactor and IRMS considering the high abundance of styrene in the sample ($n = 3$ replicates for each temperature).

Influence of PS MPs sample mass

Figure 16 illustrates the influence of PS MPs sample mass (10-20 mg) on VOCs peak intensity and $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values. The same compounds were selected for this evaluation (toluene ($n^{\circ}26$), and m,p-xylene ($n^{\circ}35-36$)). Styrene was not considered given its high concentration, saturating IRMS beyond 3 mg, but its behavior is expected to be similar to that of the other VOCs. The results showed a linear increase of peak intensity with increasing PS MPs sample mass in the vial ($r^2=0.99$). For each VOCs, consistent and reproducible $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values were obtained over the range of sample mass investigated, with $\delta^{13}\text{C}$ values of $-25.9\pm 0.1\text{‰}$ for toluene and $-26.1\pm 0.5\text{‰}$ for xylene measured using 10 to 20 mg of PS MPs. These results confirm the absence of isotopic fractionation bias with increasing PS MPs sample mass, highlight the efficient transfer and analysis of VOCs from the sample, and of the combustion reactor to handle increased VOCs (ng C) loads method. Similar to temperature, increasing MPs sample mass represents a complementary

alternative to increase even more the sensitivity of the method for VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA at trace concentration in the low ng range.

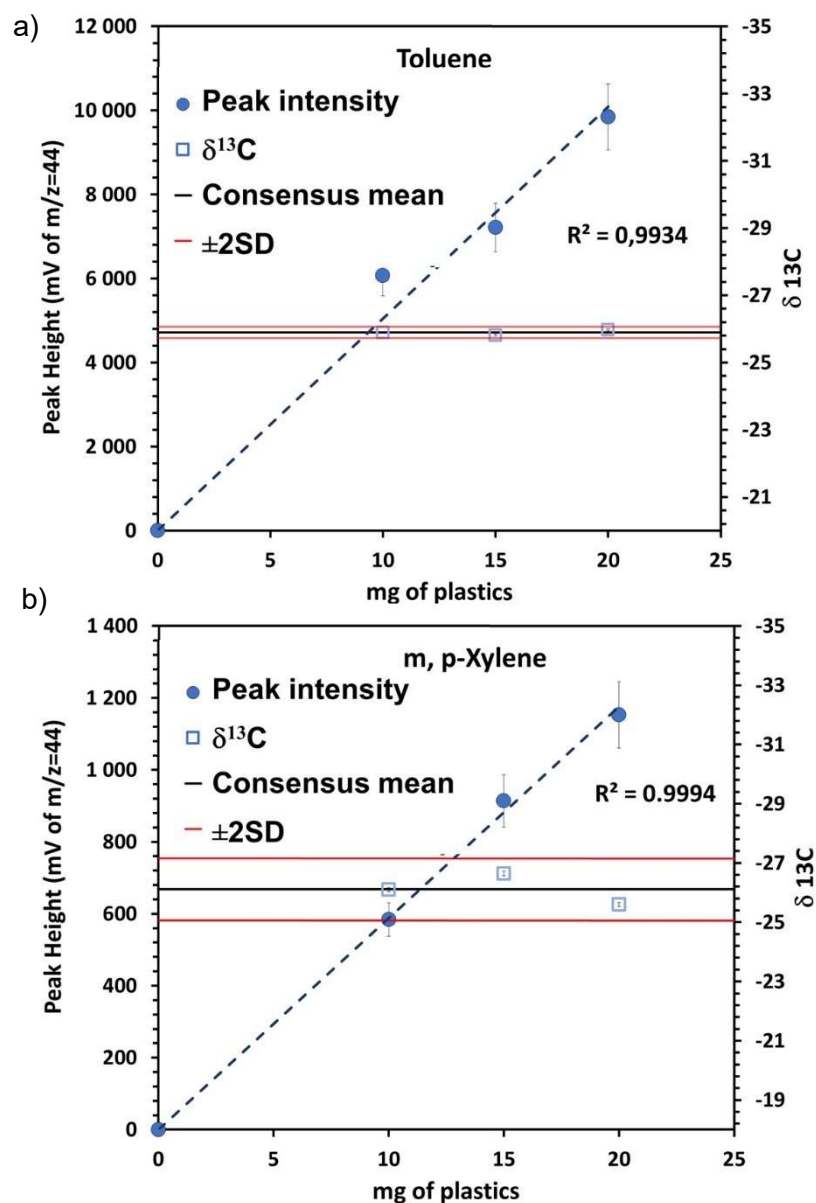


Figure 16: Influence of PS MPs sample mass on sensitivity and $\delta^{13}\text{C}$ CSIA for 2 compounds: a) Toluene b) m, p-Xylene. The uncertainties are population standard deviation from 2 independent replicates.

The results obtained from this optimization study show that both temperature and MPs sample mass can be used to increase the method sensitivity while offering reproducible and accurate VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA with no fraction bias induced by the method.

III.1.4.3 Application to different MPs materials (PET, PLA)

An exploratory application of the method on two other MPs material was performed. Results are illustrated in *figure 17*. *Figure 17a* illustrates the intensity of VOCs extracted from the three MPs samples at 140°C and, *figure 17b*, shows the corresponding VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values. The values were obtained by analysis of 10 mg of PS; 30 mg of PLA and 50 mg of PET respectively to reach the sensitivity needed for $\delta^{13}\text{C}$ CSIA determinations (>200mV). Toluene (n°26); ethylbenzene (n°34); m,p-xylene (n°35-36) and styrene (n°38) were encountered in the 3 MPs materials PLA, PET, and PS. All these VOCs contain an aromatic ring that is supposed to enhance their affinity for plastics materials. Regardless of sample mass, the overall concentrations of VOCs were relatively higher in PS than PET and PLA. The same pattern was found when normalizing the peak intensities to sample mass (data not shown). It is worth noting that PLA VOCs $\delta^{13}\text{C}$ values were much more fractionated by ~20‰ lighter relative to its heavier bulk isotopic composition (- 11.5‰) typical of its plant origin (i.e., from fermented plant starch such as corn, cassava, sugarcane, or sugar beet pulp). This was not the case for PET and PS which have a petroleum source with VOCs $\delta^{13}\text{C}$ values being closer to that of their bulk $\delta^{13}\text{C}$ isotopic composition. This may indicate that VOCs present in PLA may not be related to its source and/or fabrication process, but that they may have been adsorbed afterwards. Interestingly, toluene displayed significant difference in $\delta^{13}\text{C}$ values for PS ($25.9\pm 0.1\text{‰}$), PET ($-28.4\pm 0.5\text{‰}$), and PLA ($-38.7\pm 0.5\text{‰}$) suggesting that Toluene $\delta^{13}\text{C}$ values are specific to that of the material considered. Further studies in the laboratory could help determine the main mechanisms responsible for MPs VOCs $\delta^{13}\text{C}$ stable isotopic composition. These new results illustrate the interesting potential of VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA in MPs research to help understand their source origin and/or reactivity in the environment.

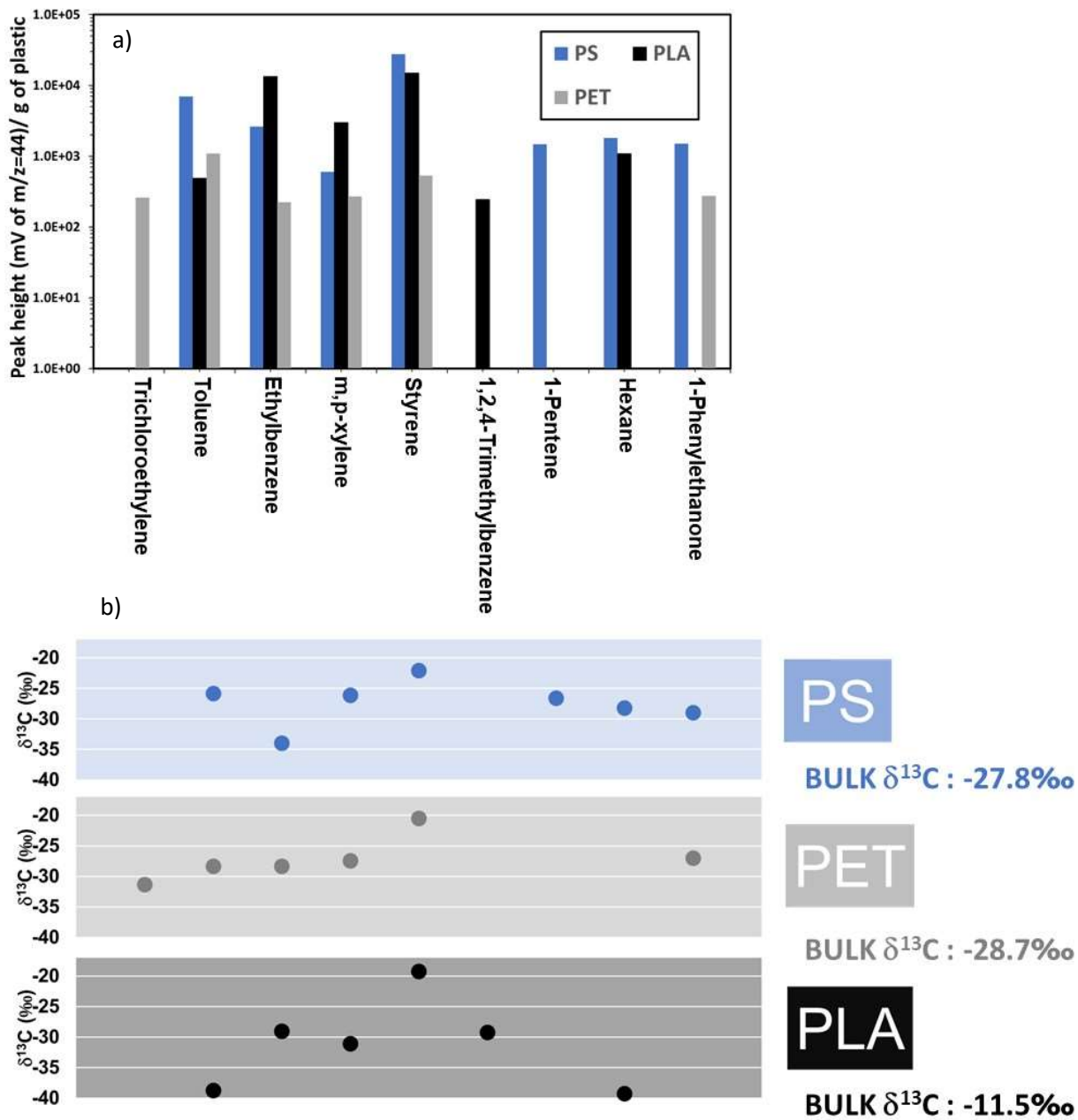


Figure 17 : (a) Relative intensity of VOCs extracted from the plastic at 140°C in mV of m/z=44. The values PS MPs were obtained by analysis of 10mg, PET 50mg and PLA 30mg. (b) δ¹³C CSIA value of VOCs complementing the δ¹³C BULK of these samples (PS, PET, PLA).

III.1.5 Conclusion

This work demonstrates the method development, validation and application of the identification of VOCs, and the simultaneous determination of their $\delta^{13}\text{C}$ values in MPs samples by PT GC-MS-C-IRMS. We show that this method offers a good dynamic range with the possibility of increasing the method sensitivity by increasing the sample temperature and sample mass without affecting VOCs $\delta^{13}\text{C}$ values. Complementary to previous studies which investigated the bulk $\delta^{13}\text{C}$ signatures in plastic materials, the exploratory study of VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA of PS, PET, and PLA illustrates new results showing marked differences among materials, with unique VOCs $\delta^{13}\text{C}$ patterns, as well as differences in isotopic composition between the monomer and polymer in the case of PS. Improvements in the methodology could be considered by comparing different GC columns to improve the chromatographic resolution, and/or combining different types of GC columns to focus on specific classes of VOCs. Overall, our results show that VOCs $\delta^{13}\text{C}$ CSIA in MPs research could provide complementary information for source tracking MPs materials as well as fingerprinting synthesis processes and/or reactivity pathways in the environment. Further experimental studies are needed to explore the isotopic fraction of MPs in the environment.

CHAPITRE IV : Conclusion et perspective

IV.1 Conclusion

Des récents travaux ont montré que les MPs et NPs ont été identifiés dans l'ensemble des compartiments environnementaux [149]. Cette omniprésence soulève de nombreuses questions quant à leur comportement, leur transport, leur accumulation et les interactions avec différents contaminants (organiques ou inorganiques). À ce jour, la présence des NPs dans les systèmes environnementaux reste peu voire pas documentée. Ceci est dû à un manque de méthodes analytiques adaptées à cette fraction de taille. En effet, si l'identification et la quantification des MPs en laboratoire est possible, il existe de nombreux défis à relever concernant les NPs. Ceci est dû à leur petite taille, leur faible concentration et de leur composition carbonée [10]. De plus, il est nécessaire de pouvoir déterminer la source des plastiques dans les systèmes où la présence a été ou sera démontrée. Dans cette optique, il est également urgent de développer des méthodes permettant de tracer les sources et surtout les processus de transports et de transformations de ces particules dans l'environnement. C'est dans ce contexte que ce travail de thèse s'est inscrit. Il a eu pour but d'élaborer des protocoles et des méthodes inédites pour caractériser les MPs et NPs et les contaminants associés aux débris plastiques. Les travaux se sont concentrés sur deux problématiques majeures, à savoir la détection de NPs au sein de la matrice environnementale et le traçage des contaminants organiques associés.

Dans le chapitre 2, les potentialités de la Py-GCMS ont été démontrées à travers la caractérisation de NPs de PS dans différentes matrices. La OM présente dans le milieu naturel perturbe les analyses [11], notamment pour le PS. En effet le PS a des produits de pyrolyse similaires à la OM. Nous nous sommes concentrés sur deux stratégies avec pour objectif de minimiser ces interférences :

- (i) L'identification directe du PS à partir de marqueurs spécifiques du polymère qui ne sont pas produits lors de la pyrolyse de la OM : le dimère du styrène (3-butène-1,3-diyldibenzène) et le trimère du styrène (5-hexene-1,3,5-triyltribenzène). Plus spécifiquement, cette première étude s'est intéressée à la variation de ces différents produits de pyrolyse en fonction des paramètres température de pyrolyse *et* taille. Nous avons montré que les signaux de dimères et de trimère de styrène rapportés au signal du styrène sont fortement influencés par la température de pyrolyse et la taille des NPs de PS.

Une température de pyrolyse de 500 °C semble être la plus adéquate pour l'obtention de bons signaux de dimère et trimère. L'analyse de NPs de PS de plus en plus grands est corrélée à une augmentation de l'intensité relative des signaux de dimère et de trimère rapportés au styrène. En effet, le signal du rapport trimère sur styrène pour des particules de 750 nm est 5 fois plus élevé que pour des particules de 50 nm. Dans un contexte où la formation de NPs dans les milieux environnementaux génère des polydispersités en taille et en forme, l'utilisation de marqueurs dimère sur styrène et trimère sur styrène représente un biais trop important pour une caractérisation fiable.

- (ii) La deuxième méthode consiste en l'utilisation du ratio des produits de pyrolyse du PS. Le $R_{T/S}$ permet l'identification indirecte des NPs de PS. En effet, alors qu'un $R_{T/S} > 4-5$ est généralement attribué au substrat dérivé de la OM, un $R_{T/S} < 0,1$ est généralement attribué aux plastiques de PS [112, 166]. Nous avons mis en évidence que le $R_{T/S}$ est corrélé à la fraction massique de PS présent dans un mélange. Ces résultats ont permis de développer un nouveau modèle empirique liant le $R_{T/S}$ à la fraction massique de PS. L'application de ce modèle à un échantillon de sol a permis de le valider et de déterminer la w_{PS} (1,58 %) de NPs de PS dans un sol contaminé. L'utilisation du même modèle sur les données de la littérature ont permis d'estimer la concentration de NPs de PS dans les échantillons de composts présentés dans ces travaux. Étendu aux études existantes dans la littérature, ce modèle pourrait considérablement améliorer les informations quantitatives sur la présence des NPs de PS dans l'environnement.

Dans le chapitre 3, nous nous sommes intéressés au transport de VOCs. En passant par une technique de thermo désorption couplée à un spectromètre de masse à rapport isotopique, nous avons développé une méthode permettant d'analyser le $\delta^{13}C$ CSIA de VOCs issus de MPs par purge & piégeage-GC-MS-C-IRMS. Après développement de la méthode sur un standard contenant 60 VOCs, l'application sur un échantillon de MPs a permis la mesure du $\delta^{13}C$ de 7 VOCs. La méthode a été optimisée selon différentes températures d'échantillon : 100°C, 120°C, 140°C. Les analyses ont montré une augmentation de la quantité de VOCs désorbés des MPs en fonction de la température, avec un maximum d'intensité à 140°C. En parallèle les valeurs $\delta^{13}C$ (CSIA) mesurées ont permis de démontrer l'absence de biais de fractionnement significatif qui aurait pu être causé par la température. La phase d'optimisation de la masse d'échantillon à

analyser montre une augmentation linéaire de l'intensité du pic avec l'augmentation de la quantité d'échantillon. Ces résultats suggèrent le transfert quantitatif des VOCs issus de MPs de PS en direction du piège et des détecteurs MS et IRMS. L'absence de biais lié à la masse d'échantillon de MPs analysé a permis d'améliorer la sensibilité de la méthode en augmentant la masse d'échantillon. L'application de cette méthode sur trois types de MPs montre une signature $\delta^{13}\text{C}$ différente, pour un même VOCs en fonction du type de MPs. Par exemple, le toluène qui se trouve dans les trois types de plastiques possède une valeur $\delta^{13}\text{C}$ CSIA de $25,9 \pm 0,1\text{‰}$ pour le PS, $-28,4 \pm 0,5\text{‰}$ pour le PET et $-38,7 \pm 0,5\text{‰}$ pour le PLA. Ces résultats préliminaires suggèrent que le $\delta^{13}\text{C}$ CSIA des VOCs issus des MPs serait un bon indicateur du traçage de sources et de processus des MPs dans l'environnement.

IV.2 Perspectives

Ces résultats, en plus de représenter une avancée significative, soulèvent des questions qui permettent de proposer de nouvelles perspectives d'études. La détection de NPs dans des matrices environnementales reste relativement difficile. C'est pourquoi, afin de répondre à la problématique de quantification de NPs, plusieurs pistes peuvent être envisagées :

- (i) Les interférences peuvent être supprimées soit par séparation de la OM ou bien par dégradation. Ces étapes doivent être inertes pour le polymère. L'approche de séparation semble être la plus adéquate, car elle ne présente aucun risque de dégradation du polymère. Pour certains échantillons faiblement chargés en OM, une filtration à l'échelle nanométrique peut convenir. Pour d'autres échantillons riches en OM, la détection de plastique nécessite une étape de dégradation de la OM en suspension.

Elle peut s'effectuer par exposition UV couplée à l'ajout de H_2O_2 afin de dégrader la OM. Une vérification peut être réalisée par analyse fluorescence et Py-GCMS. Appliquer ce pré-traitement est une option intéressante mais qui reste laborieuse pour une grosse quantité d'échantillons. Nous savons que la OM est fortement dégradée à 400°C alors que la dégradation des polymères débute à des températures

supérieures à 400°C (PA, PE, PET, PP). La séparation de la pyrolyse en deux étapes permettrait d'éliminer la OM, et ensuite de pyrolyser les NPs.

- (ii) La taille des particules influence la quantité de pyrolysats produits pour le PP et PS. Il est possible que des paramètres autres que la taille influence le comportement de ces pyrolysats et ce pour différents types de plastique. La disponibilité des pyrogrammes de NPs selon différentes conditions devraient être visible dans la littérature. Chaque condition devra être étudiée et vérifiée.

- (iii) De nouveaux modèles peuvent être développés sur différents marqueurs ou ratio de marqueurs. Le PVC est fortement interféré par la OM. Le chlorure d'hydrogène est le pyrolysat majoritaire lors de la pyrolyse du PVC. Cependant il est aussi produit par pyrolyse d'additifs. L'utilisation du deuxième pyrolysat majoritaire apparaît comme une bonne option, à savoir le benzène. Sur la base d'essais préliminaires, l'utilisation du ratio benzène/éthylbenzène ($R_{B/E}$) pourrait être envisagée. La pyrolyse de PVC conduit à un $R_{B/E}=32$ pour du PVC alors que la OM présente un ratio aux alentours de 1. La modélisation du $R_{B/E}$ et $R_{T/S}$ permettrait une quantification groupée de ces deux types de plastiques.

La détermination de la source ainsi que le cycle de vie des MPs restent très peu étudiés. Le manque d'outils analytiques est la principale cause de défaut de connaissances. Dans la présente étude, la mise au point d'une nouvelle méthode utilisant l'isotope stable du carbone offre de nouvelles perspectives sur la thématique. Cependant, cette étude préliminaire soulève des questions sur les points suivants. La caractérisation et l'étude des NPs n'en n'est qu'à ses débuts. L'utilisation du $\delta^{13}C$ comme traceur nécessite de nombreux développements. La dégradation des plastiques dans l'environnement conduit souvent au relargage de VOCs. Afin d'utiliser le $\delta^{13}C$ comme traceur, il est indispensable de déterminer si la perte de VOCs est totale ou partielle. La dégradation d'un plastique en laboratoire de manière contrôlée permettrait d'étudier le potentiel du $\delta^{13}C$ comme traceur. Plusieurs types de dégradation peuvent être envisagés : photochimiques, mécaniques ou biologiques. Il pourrait être intéressant de déterminer si un fractionnement est aussi présent à l'échelle du composé spécifique lors de la dégradation. Les MPs sont connus pour leur forte capacité de sorption/désorption de contaminant organique. Lors de ces mécanismes, les

VOCs peuvent subir des fractionnements $\delta^{13}\text{C}$. L'étude du fractionnement lors de ces différents mécanismes de sorption/désorption permettrait d'obtenir plus d'informations sur les mécanismes mis en jeu.

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

MPs : Microplastiques

NPs : Nanoplastiques

VOCs : Composés organiques volatiles

CSIA : Analyse d'isotopes stables spécifiques à un composé

PLA : Acide polylactique

PET : Polytéréphtalate d'éthylène

Py-GCMS : Pyrolyseur couplé à une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse

OM : Matière organique

Micro-FTIR : Micro- Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

XPS : Spectrométrie photo électronique X

$\delta^{13}\text{C}$: Déviation du rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ par rapport à un standard international

PS : Polystyrène

PE : Polyéthylène

PP : Polypropylène

PVC : Polychlorure de vinyle

PU : Polyuréthane

LD-PE : Polyéthylène basse densité

HD-PE : Polyéthylène haute densité

BTEX : benzène, toluène, ethylbenzène, xylène

HAC : Hydrocarbures aromatiques polycycliques

PCB : Polychlorobiphényles

TEM : Microscope électronique à transmission

SEM : Microscope électronique à balayage

DLS : Diffusion dynamique de la lumière

TD-PTRMS : Désorption thermique couplée à la spectrométrie de masse à réaction de transfert de proton

SP-ICPMS : Spectrométrie de masse à couplage inductif en mode simple particule

Py-GCToF : Pyrolyseur couplé à une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse à temps de vol

A4F : Fractionnement d'écoulement de champ par écoulement asymétrique

TGA-SPE-GCMS : Analyse thermogravimétrique par extraction en phase solide couplée à une chromatographie en phase gazeuse couplée un spectromètre de masse

TD-GCMS : Désorption thermique couplée à une chromatographie en phase gazeuse couplée à spectromètre de masse

TED-GCMS : Désorption thermique automatique couplée à une chromatographie en phase gazeuse couplée à spectromètre de masse

EDS : Spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie

AFM : Microscope à force atomique

EA-IRMS : Analyseur élémentaire / Spectromètre de masse de rapport isotopique

EGA : Analyse des gaz évaporés

TMAH : Tétraméthylammonium hydroxide

HA : Acide humique

ANOVA : Analyse de la variance

PTFE : Polytétrafluoroéthylène

CPE : Extraction du point trouble

R_{T/S}: Ratio Toluène / Styène

PMMA: Polyméthylmétacrylate

PDB: Pee Dee Belemnite

GC-C-IRMS : Chromatographe en phase gazeuse et un module de combustion couplée à un spectromètre de masse isotopique

w_{NPS} = Fraction massique de nanoplastique de polystyrène

ALG : Alginate

BSA : Albumine de sérum bovin

Mix OM : Mélange de matière organique (BSA, ALG, HA)

t'_{OM} = Sensibilité du toluène obtenue par pyrolyse de la matière organique

t'_{NPS} = Sensibilité du toluène obtenue par pyrolyse de nanoplastiques de polystyrène

s'_{OM} = Sensibilité du styrène obtenue par pyrolyse de la matière organique

s'_{NPs} = Sensibilité du styrène obtenue par pyrolyse de nanoplastiques de polystyrène

PS-50 : Nanoplastique de polystyrène de 50 nm

PS-759 : Nanoplastique de polystyrène de 759 nm

AC = Composés aromatiques

CFC = Chlorofluorocarbone

MeOH = Méthanol

PWT = Piège par effet Peltier

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Mécanisme de scission de la chaîne « polymère du styrène= polystyrène » par photo-oxydation initiation, propagation).....	19
Figure 2 : Exemples de différences dans la catégorisation des débris plastiques en fonction de leur taille telle qu'elle est appliquée (et/ou définie) dans la littérature scientifique et dans les rapports institutionnels.	22
Figure 3 : Interactions entre les NPs-MPs et les polluants organiques : effet de toxicité, bioaccumulation, dégradation et transport.	24
Figure 4 : Schéma d'un Py-GCMS.....	28
Figure 5 : a) Pyrogramme du PS b) Spectre de masse du styrène.....	29
Figure 6 : Pyrogramme obtenu par analyse de biodéchets (compost).	31
Figure 7 : Signature isotopique du carbone pour les sources de VOCs.....	40
Figure 8: (a) Pyrograms performed pyrolysis temperature of 500°C of 1.5 µg of commercial PS nanoparticle with a size of 50 nm and 759 nm; and (b) $R_{T/S}$ variation of NPs according to the size of particles (50 nm-10000 nm) obtained with a pyrolysis temperature of 700°C for $R_{T/S}$ and 500°C for $R_{Dimer/S}$ and $R_{Trimer/S}$.....	51
Figure 9: (a) Total Ion, $m/z=104$ (styrene), and $m/z=91$ (toluene) pyrograms obtained for NPs and NPs + Mix OM at pyrolysis temperature =700°C, NPs used was soap and metal-free carboxylated PS sphere. (b) Modeling $R_{T/S}$ in a mixture NPs + Mix OM according to w_{NPs} with equation 1.	52
Figure 10: (a) Total Ion, $m/z=104$ (styrene), and $m/z=91$ (toluene) pyrograms obtained for the control soil and contaminated soil analysis at pyrolysis temperature =700°C. (b) Modeling $R_{T/S}$ in a mixture NPs + reference soil according to the mass fraction w_{NPs} with equation 1.....	56
Figure 11 : Based on Watteau et al. 2018 data, modeling of $R_{T/S}$ of non-amended soil according to the mass fraction w_{NPs} with equation 1. The mass fraction w_{NPs} of compost-amended soil was calculated with the model.....	57
Figure 12 : Illustration of the PT-GC-MS-C-IRMS coupling used for the VOCs simultaneous identification, and $\delta^{13}C$-CSIA in MPs samples.....	66

Figure 13 : (a) MS-Chromatogram and (c) IRMS-Chromatogram of MEGAMIX VOCs standard solution (5.7 ng of each VOCs in the vial). (b) IRMS-Chromatogram of MEGAMIX VOCs standard solution (1.9 ng of each VOCs in the vial)..... 70

Figure 14 : (a) MS-Chromatogram for a 10 mg sample of the PS MPs standard. (b) IRMS-chromatogram for 3 mg of the PS MPs standard 72

Figure 15: $\delta^{13}\text{C}$ CSIA values and the peak ($\text{V}\cdot\text{S}^{-1}$) of the $m/z=44$ area signal according to the temperature of the sample (100°C , 120°C , 140°C) for toluene; m,p-xylene and styrene. 74

Figure 16: Influence of PS MPs sample mass on sensitivity and $\delta^{13}\text{C}$ CSIA for 2 compounds: a) toluene b) m, p-xylene. 75

Figure 17 : (a) Relative intensity of VOCs extracted from the plastic at 140°C in mV of $m/z=44$. The values PS MPs were obtained by analysis of 10mg, PET 50mg and PLA 30mg. (b) $\delta^{13}\text{C}$ CSIA value of VOCs complementing the $\delta^{13}\text{C}$ BULK of these samples (PS, PET, PLA). 77

Figure S18 : Total counts evolution of styrene, dimer, trimer and toluene according pyrolysis temperature. 108

Figure S19: Total ion, $m/z=104$ (styrene), and $m/z=91$ (toluene) pyrograms obtained for BSA, ALG and AH by pyrolysis at 700°C 109

Figure S20 : Modeling of $R_{T/S}$ in a mixture NPs + Mix OM according to the mass fraction (w_{NPs}) with equation 1..... 109

Figure S21: Modeling $R_{T/S}$ in a mixture NPs + Mix OM according to the mass fraction (w_{NPs}) equation 110

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Présentation des « <i>Big Six</i> », plastiques les plus couramment utilisés	15
Tableau 2 : Techniques de caractérisation les plus répandues pour l'analyse des MPs et NPs.....	27
Tableau 3 : Nom des composés associés au pyrogramme figure 6.	32
Tableau 4 : Propriétés des principaux types de plastiques obtenues pour une température de pyrolyse de 600°C : nom, abréviation, m/z marqueur de pyrolyse, intensités relatives au marqueur.	35
Tableau 5: R_{T/S} for each sample BSA, ALG, HA, mixture of the three (Mix-OM), the melting of NPs + Mix OM at different w_{NPs} using the m/z=91 and the m/z=104. These values were calculated using the 5 replicates to prepare 5 different pyrolysis sample cups..	53
Table S1 : Size and coefficient of variation of commercial Polysciences Polybead carboxylate microspheres).....	106
Table S2 : Condition of the Py-GCMS analysis	107
Table S3: R_{T/S} in the control and the amended soil and in their fraction extract from Watteau et al., 2018.	110
Table S4 : IRMS-MS method performance for each compound by analysis of 5.7 ng of STD.....	111
Table S5 : Information about PS, PET and PLA microplastics	112
Table S6 : GC conditions and the set-up of the PT unit	113
Table S7: Values $\delta^{13}\text{C}$ obtained by analysis of Megamix 30603, polystyrene MP and BTEX	114

RÉFÉRENCES

1. Hammer J, Kraak MHS, Parsons JR (2012) *Plastics in the Marine Environment: The Dark Side of a Modern Gift*. In: Whitacre DM (ed) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer New York, New York, NY, pp 1–44
2. Thompson RC, Moore CJ, vom Saal FS, Swan SH (2009) *Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends*. *Phil Trans R Soc B* 364:2153–2166. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0053>
3. Geyer R (2020) *Production, use, and fate of synthetic polymers*. In: *Plastic Waste and Recycling*. Elsevier, pp 13–32
4. Mattsson K, Hansson L-A, Cedervall T (2015) *Nano-plastics in the aquatic environment*. *Environ Sci: Processes Impacts* 17:1712–1721. <https://doi.org/10.1039/C5EM00227C>
5. Andrady AL (2011) *Microplastics in the marine environment*. *Marine Pollution Bulletin* 62:1596–1605. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>
6. Verschoor, A.J., n.d. *Towards a definition of microplastics* 42.
7. Gigault J, Halle A ter, Baudrimont M, Pascal P-Y, Gauffre F, Phi T-L, El Hadri H, Grassl B, Reynaud S (2018) *Current opinion: What is a nanoplastic?* *Environmental Pollution* 235:1030–1034. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.024>
8. Hermabessiere L, Dehaut A, Paul-Pont I, Lacroix C, Jezequel R, Soudant P, Duflos G (2017) *Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review*. *Chemosphere* 182:781–793. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.096>
9. Gewert B, Plassmann MM, MacLeod M (2015) *Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment*. *Environ Sci: Processes Impacts* 17:1513–1521. <https://doi.org/10.1039/C5EM00207A>
10. Cai H, Xu EG, Du F, Li R, Liu J, Shi H (2021) *Analysis of environmental nanoplastics: Progress and challenges*. *Chemical Engineering Journal* 410:128208. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128208>
11. Okoffo ED, Ribeiro F, O'Brien JW, O'Brien S, Tschärke BJ, Gallen M, Samanipour S, Mueller JF, Thomas KV (2020) *Identification and quantification of selected plastics in biosolids by pressurized liquid extraction combined with double-shot pyrolysis gas chromatography–mass spectrometry*. *Science of The Total Environment* 715:136924. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136924>
12. Strungaru S-A, Jijie R, Nicoara M, Plavan G, Faggio C (2019) *Micro- (nano) plastics in freshwater ecosystems: Abundance, toxicological impact and quantification methodology*.

13. Käppler A, Fischer M, Scholz-Böttcher BM, Oberbeckmann S, Labrenz M, Fischer D, Eichhorn K-J, Voit B (2018) Comparison of μ -ATR-FTIR spectroscopy and py-GCMS as identification tools for microplastic particles and fibers isolated from river sediments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 410:5313–5327. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1185-5>
14. Foerch R, Beamson G, Briggs D (1991) XPS valence band analysis of plasma-treated polymers. *Surf Interface Anal* 17:842–846. <https://doi.org/10.1002/sia.740171204>
15. Law KL (2017) Plastics in the Marine Environment. *Annu Rev Mar Sci* 9:205–229. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060409>
16. Vert M, Doi Y, Hellwich K-H, Hess M, Hodge P, Kubisa P, Rinaudo M, Schué F (2012) Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry* 84:377–410. <https://doi.org/10.1351/PAC-REC-10-12-04>
17. Andrady AL (2015) Persistence of Plastic Litter in the Oceans. In: Bergmann M, Gutow L, Klages M (eds) *Marine Anthropogenic Litter*. Springer International Publishing, Cham, pp 57–72
18. Heinrich-Böll-Stiftung France. (2020). Atlas du plastique. editeur: H.-B.-S. France, 58 ISBN : 979-10- 97395-01-8, <https://fr.boell.org/fr/2020/02/24/atlas-du-plastique>
19. Baekeland LH, Yonkers O UNITED STATES PATENT OFFICE. 3
20. Shampo MA, Kyle RA, Steensma DP (2013) Hermann Staudinger—Founder of Polymer Chemistry. *Mayo Clinic Proceedings* 88:e23. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2012.01.026>
21. Yarsley VE, Couzens EG 1945 *Plastics*. Middlesex : Pengin Books Limited
22. PlasticsEurope. (2020). *Plastics - the Facts 2020*.
23. Hopewell J, Dvorak R, Kosior E (2009) Plastics recycling: challenges and opportunities. *Phil Trans R Soc B* 364:2115–2126. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0311>
24. Bergmann M (2015) *Marine anthropogenic litter*. Springer, Cham
25. Carpenter, E.J.; Smith, K.L. Plastics on the Sargasso Sea surface. *Science* (80-.). 1972, 175, 1240–1241, doi:10.1126/science.175.4027.1240
26. Derraik JGB (2002) The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine Pollution Bulletin* 44:842–852. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00220-5)

27. Gregory MR, Ryan PG (1997) Pelagic Plastics and Other Seaborne Persistent Synthetic Debris: A Review of Southern Hemisphere Perspectives. In: Coe JM, Rogers DB (eds) *Marine Debris*. Springer New York, New York, NY, pp 49–66
28. Hurley R, Woodward J, Rothwell JJ (2018) Microplastic contamination of river beds significantly reduced by catchment-wide flooding. *Nature Geosci* 11:251–257. <https://doi.org/10.1038/s41561-018-0080-1>
29. Barnes DKA, Galgani F, Thompson RC, Barlaz M (2009) Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Phil Trans R Soc B* 364:1985–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
30. Lebreton LC-M, Greer SD, Borrero JC (2012) Numerical modelling of floating debris in the world's oceans. *Marine Pollution Bulletin* 64:653–661. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.10.027>
31. Eriksen M, Thiel M, Lebreton L (2016) Nature of Plastic Marine Pollution in the Subtropical Gyres. In: Takada H, Karapanagioti HK (eds) *Hazardous Chemicals Associated with Plastics in the Marine Environment*. Springer International Publishing, Cham, pp 135–162
32. Jambeck JR, Geyer R, Wilcox C, Siegler TR, Perryman M, Andrady A, Narayan R, Law KL (2015) Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347:768–771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>
33. Cózar A, Echevarría F, González-Gordillo JI, Irigoien X, Úbeda B, Hernández-León S, Palma ÁT, Navarro S, García-de-Lomas J, Ruiz A, Fernández-de-Puelles ML, Duarte CM (2014) Plastic debris in the open ocean. *Proc Natl Acad Sci USA* 111:10239–10244. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314705111>
34. Cai L, Wang J, Peng J, Wu Z, Tan X (2018) Observation of the degradation of three types of plastic pellets exposed to UV irradiation in three different environments. *Science of The Total Environment* 628–629:740–747. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.079>
35. Song YK, Hong SH, Jang M, Han GM, Jung SW, Shim WJ (2017) Combined Effects of UV Exposure Duration and Mechanical Abrasion on Microplastic Fragmentation by Polymer Type. *Environ Sci Technol* 51:4368–4376. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06155>
36. Duan J, Bolan N, Li Y, Ding S, Atugoda T, Vithanage M, Sarkar B, Tsang DCW, Kirkham MB (2021) Weathering of microplastics and interaction with other coexisting constituents in terrestrial and aquatic environments. *Water Research* 196:117011. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117011>
37. Pritchard G (1998) *Plastics Additives: An A-Z reference*. Springer Netherlands, Dordrecht
38. Gijsman P, Meijers G, Vitarelli G (1999) Comparison of the UV-degradation chemistry of polypropylene, polyethylene, polyamide 6 and polybutylene terephthalate. *Polymer Degradation and Stability* 65:433–441. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(99\)00033-6](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(99)00033-6)

39. Calvert PD (1986) Polymer degradation and stabilisation. N. Grassie and G. Scott, Cambridge University Press, Cambridge, 1985. pp. 222, price £27.50, \$54.50. ISBN 0-521-24961-9. *Brit PolyJ* 18:278–278. <https://doi.org/10.1002/pi.4980180422>
40. Scott G (2002) *Degradable Polymers*. Springer Netherlands, Dordrecht
41. Yousif E, Haddad R (2013) Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: review. *SpringerPlus* 2:398. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-398>
42. Gardette M, Perthue A, Gardette J-L, Janecska T, Földes E, Pukánszky B, Therias S (2013) Photo- and thermal-oxidation of polyethylene: Comparison of mechanisms and influence of unsaturation content. *Polymer Degradation and Stability* 98:2383–2390. <https://doi.org/10.1016/j.polyimdegstab.2013.07.017>
43. Haider TP, Völker C, Kramm J, Landfester K, Wurm FR (2019) Plastics of the Future? The Impact of Biodegradable Polymers on the Environment and on Society. *Angew Chem Int Ed* 58:50–62. <https://doi.org/10.1002/anie.201805766>
44. Webb H, Arnott J, Crawford R, Ivanova E (2012) Plastic Degradation and Its Environmental Implications with Special Reference to Poly(ethylene terephthalate). *Polymers* 5:1–18. <https://doi.org/10.3390/polym5010001>
45. Pirsahab M, Hossini H, Makhdoumi P (2020) Review of microplastic occurrence and toxicological effects in marine environment: Experimental evidence of inflammation. *Process Safety and Environmental Protection* 142:1–14. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.05.050>
46. Crawford CB, Quinn B (2017) Physiochemical properties and degradation. In: *Microplastic Pollutants*. Elsevier, pp 57–100
47. Zhang K (2021) Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment: A review. *Environmental Pollution* 14
48. Cadée GC (2002) Seabirds and floating plastic debris. *Marine Pollution Bulletin* 44:1294–1295. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00264-3](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00264-3)
49. Danso D, Chow J, Streit WR (2019) Plastics: Environmental and Biotechnological Perspectives on Microbial Degradation. *Appl Environ Microbiol* 85:e01095-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01095-19>
50. Battin TJ, Besemer K, Bengtsson MM, Romani AM, Packmann AI (2016) The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nat Rev Microbiol* 14:251–263. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.15>
51. Jacquin J, Cheng J, Odobel C, Pandin C, Conan P, Pujo-Pay M, Barbe V, Meistertzheim A-L, Ghiglione J-F (2019) Microbial Ecotoxicology of Marine Plastic Debris: A Review on Colonization and Biodegradation by the “Plastisphere.” *Front Microbiol* 10:865. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00865>

52. Gu J-D (2003) Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. *International Biodeterioration & Biodegradation* 52:69–91. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(02\)00177-4](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(02)00177-4)
53. Wu X, Pan J, Li M, Li Y, Bartlam M, Wang Y (2019) Selective enrichment of bacterial pathogens by microplastic biofilm. *Water Research* 165:114979. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114979>
54. Auta HS, Emenike CU, Fauziah SH (2017) Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environment International* 102:165–176. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.013>
55. Mitrano DM, Wohlleben W (2020) Microplastic regulation should be more precise to incentivize both innovation and environmental safety. *Nat Commun* 11:5324. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19069-1>
56. Gigault J, El Hadri H, Nguyen B, Grassl B, Roweczyk L, Tufenkji N, Feng S, Wiesner M (2021) Nanoplastics are neither microplastics nor engineered nanoparticles. *Nat Nanotechnol* 16:501–507. <https://doi.org/10.1038/s41565-021-00886-4>
57. Lee H, Shim WJ, Kwon J-H (2014) Sorption capacity of plastic debris for hydrophobic organic chemicals. *Science of The Total Environment* 470–471:1545–1552. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.023>
58. Wu C, Zhang K, Huang X, Liu J (2016) Sorption of pharmaceuticals and personal care products to polyethylene debris. *Environ Sci Pollut Res* 23:8819–8826. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6121-7>
59. Hüffer T, Hofmann T (2016) Sorption of non-polar organic compounds by micro-sized plastic particles in aqueous solution. *Environmental Pollution* 214:194–201. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.018>
60. Liu F, Liu G, Zhu Z, Wang S, Zhao F (2019) Interactions between microplastics and phthalate esters as affected by microplastics characteristics and solution chemistry. *Chemosphere* 214:688–694. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.174>
61. Liu L, Fokkink R, Koelmans AA (2016) Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to polystyrene nanoplastic: Sorption of PAHs to nanoplastic. *Environ Toxicol Chem* 35:1650–1655. <https://doi.org/10.1002/etc.3311>
62. Zhang H, Wang J, Zhou B, Zhou Y, Dai Z, Zhou Q, Christie P, Luo Y (2018) Enhanced adsorption of oxytetracycline to weathered microplastic polystyrene: Kinetics, isotherms and influencing factors. *Environmental Pollution* 243:1550–1557. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.122>
63. Guo X, Pang J, Chen S, Jia H (2018) Sorption properties of tylosin on four different microplastics. *Chemosphere* 209:240–245. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.100>

64. Wu P, Cai Z, Jin H, Tang Y (2019) Adsorption mechanisms of five bisphenol analogues on PVC microplastics. *Science of The Total Environment* 650:671–678. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.049>
65. Wang T, Wang L, Chen Q, Kalogerakis N, Ji R, Ma Y (2020) Interactions between microplastics and organic pollutants: Effects on toxicity, bioaccumulation, degradation, and transport. *Science of The Total Environment* 748:142427. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142427>
66. Ma Y, Huang A, Cao S, Sun F, Wang L, Guo H, Ji R (2016) Effects of nanoplastics and microplastics on toxicity, bioaccumulation, and environmental fate of phenanthrene in fresh water. *Environmental Pollution* 219:166–173. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.061>
67. Qu H, Ma R, Barrett H, Wang B, Han J, Wang F, Chen P, Wang W, Peng G, Yu G (2020) How microplastics affect chiral illicit drug methamphetamine in aquatic food chain? From green alga (*Chlorella pyrenoidosa*) to freshwater snail (*Cipangopaludian cathayensis*). *Environment International* 136:105480. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105480>
68. Paul-Pont I, Lacroix C, González Fernández C, Hégaret H, Lambert C, Le Goïc N, Frère L, Cassone A-L, Sussarellu R, Fabioux C, Guyomarch J, Albentosa M, Huvet A, Soudant P (2016) Exposure of marine mussels *Mytilus* spp. to polystyrene microplastics: Toxicity and influence on fluoranthene bioaccumulation. *Environmental Pollution* 216:724–737. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.06.039>
69. Johari WLW, Diamessis PJ, Lion LW (2010) Mass transfer model of nanoparticle-facilitated contaminant transport in saturated porous media. *Water Research* 44:1028–1037. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.033>
70. Liu J, Ma Y, Zhu D, Xia T, Qi Y, Yao Y, Guo X, Ji R, Chen W (2018) Polystyrene Nanoplastics-Enhanced Contaminant Transport: Role of Irreversible Adsorption in Glassy Polymeric Domain. *Environ Sci Technol* 52:2677–2685. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05211>
71. Käßler A, Fischer D, Oberbeckmann S, Schernewski G, Labrenz M, Eichhorn K-J, Voit B (2016) Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *Anal Bioanal Chem* 408:8377–8391. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9956-3>
72. Ter Halle A, Jeanneau L, Martignac M, Jardé E, Pedrono B, Brach L, Gigault J (2017) Nanoplastic in the North Atlantic Subtropical Gyre. *Environ Sci Technol* 51:13689–13697. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03667>
73. Dümichen E, Eisentraut P, Bannick CG, Barthel A-K, Senz R, Braun U (2017) Fast identification of microplastics in complex environmental samples by a thermal degradation method. *Chemosphere* 174:572–584. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.010>
74. Laborda F, Bolea E, Cepriá G, Gómez MT, Jiménez MS, Pérez-Arantegui J, Castillo JR (2016) Detection, characterization and quantification of inorganic engineered

- nanomaterials: A review of techniques and methodological approaches for the analysis of complex samples. *Analytica Chimica Acta* 904:10–32. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.11.008>
75. Lin P-C, Lin S, Wang PC, Sridhar R (2014) Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology Advances* 32:711–726. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.11.006>
 76. Dazzi A, Saunier J, Kjoller K, Yagoubi N (2015) Resonance enhanced AFM-IR: A new powerful way to characterize blooming on polymers used in medical devices. *International Journal of Pharmaceutics* 484:109–114. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.02.046>
 77. Dawson AL, Kawaguchi S, King CK, Townsend KA, King R, Huston WM, Bengtson Nash SM (2018) Turning microplastics into nanoplastics through digestive fragmentation by Antarctic krill. *Nat Commun* 9:1001. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03465-9>
 78. Xu R (2015) Light scattering: A review of particle characterization applications. *Particuology* 18:11–21. <https://doi.org/10.1016/j.partic.2014.05.002>
 79. Gigault J, El Hadri H, Reynaud S, Deniau E, Grassl B (2017) Asymmetrical flow field flow fractionation methods to characterize submicron particles: application to carbon-based aggregates and nanoplastics. *Anal Bioanal Chem* 409:6761–6769. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0629-7>
 80. Ivleva NP, Wiesheu AC, Niessner R (2017) Microplastic in Aquatic Ecosystems. *Angew Chem Int Ed* 56:1720–1739. <https://doi.org/10.1002/anie.201606957>
 81. Tagg AS, Sapp M, Harrison JP, Ojeda JJ (2015) Identification and Quantification of Microplastics in Wastewater Using Focal Plane Array-Based Reflectance Micro-FT-IR Imaging. *Anal Chem* 87:6032–6040. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b00495>
 82. Hanvey JS, Lewis PJ, Lavers JL, Crosbie ND, Pozo K, Clarke BO (2017) A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. *Anal Methods* 9:1369–1383. <https://doi.org/10.1039/C6AY02707E>
 83. Materić D, Kasper-Giebl A, Kau D, Anten M, Greilinger M, Ludewig E, van Sebille E, Röckmann T, Holzinger R (2020) Micro- and Nanoplastics in Alpine Snow: A New Method for Chemical Identification and (Semi)Quantification in the Nanogram Range. *Environ Sci Technol* 54:2353–2359. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07540>
 84. Jiménez-Lamana J, Marigliano L, Allouche J, Grassl B, Szpunar J, Reynaud S (2020) A Novel Strategy for the Detection and Quantification of Nanoplastics by Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). *Anal Chem* 92:11664–11672. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01536>
 85. Sullivan GL, Gallardo JD, Jones EW, Holliman PJ, Watson TM, Sarp S (2020) Detection of trace sub-micron (nano) plastics in water samples using pyrolysis-gas chromatography

- time of flight mass spectrometry (PY-GCToF). *Chemosphere* 249:126179. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126179>
86. Wahl A, Le Juge C, Davranche M, El Hadri H, Grassl B, Reynaud S, Gigault J (2021) Nanoplastic occurrence in a soil amended with plastic debris. *Chemosphere* 262:127784. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127784>
 87. Davranche M, Lory C, Juge CL, Blancho F, Dia A, Grassl B, El Hadri H, Pascal P-Y, Gigault J (2020) Nanoplastics on the coast exposed to the North Atlantic Gyre: Evidence and traceability. *NanoImpact* 20:100262. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2020.100262>
 88. Madorsky SL, Straus S (1948) High Vacuum Pyrolytic Fractionation of Polystyrene. *Ind Eng Chem* 40:848–852. <https://doi.org/10.1021/ie50461a017>
 89. Shin T, Hajima O, Chuichi W (2011) Pyrograms and Thermograms of 163 High Polymers, and MS Data of the Major Pyrolyzates. In: *Pyrolysis & GC/MS Data Book of Synthetic Polymers*. Elsevier, pp 7–335
 90. Merritt C, Robertson DH *The Analysis of Proteins, Peptides and Amino Acids by Pyrolysis-Gas Chromatography and Mass Spectrometry*. 3
 91. Fries E, Dekiff JH, Willmeyer J, Nuelle M-T, Ebert M, Remy D (2013) Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environ Sci: Processes Impacts* 15:1949. <https://doi.org/10.1039/c3em00214d>
 92. Subagyono RRDJN, Qi Y, Jackson WR, Chaffee AL (2016) Pyrolysis-GC/MS analysis of biomass and the bio-oils produced from CO₂/H₂O reactions. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 120:154–164. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2016.05.001>
 93. Correia LP, Procópio JVV, de Santana CP, Santos AFO, de Medeiros Cavalcante HM, Macêdo RO (2013) Characterization of herbal medicine with different particle sizes using pyrolysis GC/MS, SEM, and thermal techniques. *J Therm Anal Calorim* 111:1691–1698. <https://doi.org/10.1007/s10973-011-2129-x>
 94. Santoiemma G (2018) Recent methodologies for studying the soil organic matter. *Applied Soil Ecology* 123:546–550. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.011>
 95. Peñalver R, Arroyo-Manzanares N, López-García I, Hernández-Córdoba M (2020) An overview of microplastics characterization by thermal analysis. *Chemosphere* 242:125170. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125170>
 96. Picó Y, Barceló D (2020) Pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry in environmental analysis: Focus on organic matter and microplastics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 130:115964. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115964>
 97. Park J, Choi M, Cho J, Chon K (2018) Transformation of dissolved organic matter in a constructed wetland: A molecular-level composition analysis using pyrolysis-gas

- chromatography mass spectrometry. *Environmental Engineering Research* 23:390–396. <https://doi.org/10.4491/eer.2018.043>
98. Otto S, Erdmann S, Streibel T, Herlemann DPR, Schulz-Bull D, Zimmermann R (2016) Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry with electron-ionization and resonance-enhanced-multi-photon-ionization for the characterization of terrestrial dissolved organic matter in the Baltic Sea. *Anal Methods* 8:2592–2603. <https://doi.org/10.1039/C5AY01292A>
 99. Zhang Z, Wang JJ, Lyu X, Jiang M, Bhadha J, Wright A (2019) Impacts of land use change on soil organic matter chemistry in the Everglades, Florida - a characterization with pyrolysis-gas chromatography–mass spectrometry. *Geoderma* 338:393–400. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.12.041>
 100. Dorado J, Almendros G, González-Vila FJ (2016) Response of humic acid structure to soil tillage management as revealed by analytical pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 117:56–63. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2015.12.016>
 101. Taube PS, Silva D, Vasconcelos A, Rebellato L, Madureira L, Hansel F (2018) Exploratory on-line pyrolysis and thermally assisted hydrolysis and methylation for evaluating non-hydrolyzable organic matter in anthropogenic soil from Central Brazilian. *Br J Anal Chem* 5:38–53. <https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.2018.5.19.38-53>
 102. Fukushima M, Tu X, Aneksampant A, Tanaka A (2018) Analysis of branched-chain fatty acids in humic substances as indices for compost maturity by pyrolysis–gas chromatography/mass spectrometry with tetramethylammonium hydroxide (TMAH-py–GC/MS). *J Mater Cycles Waste Manag* 20:176–184. <https://doi.org/10.1007/s10163-016-0559-z>
 103. Jiang T, Kaal J, Liang J, Zhang Y, Wei S, Wang D, Green NW (2017) Composition of dissolved organic matter (DOM) from periodically submerged soils in the Three Gorges Reservoir areas as determined by elemental and optical analysis, infrared spectroscopy, pyrolysis-GC–MS and thermally assisted hydrolysis and methylation. *Science of The Total Environment* 603–604:461–471. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.114>
 104. Chen H, Blosser GD, Majidzadeh H, Liu X, Conner WH, Chow AT (2018) Integration of an automated identification-quantification pipeline and statistical techniques for pyrolysis GC/MS tracking of the molecular fingerprints of natural organic matter. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 134:371–380. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2018.07.002>
 105. Dibke C, Fischer M, Scholz-Böttcher B (2021) Microplastic Mass Concentrations and Distribution in German Bight Waters by Pyrolysis–Gas Chromatography–Mass Spectrometry/Thermochemolysis Reveal Potential Impact of Marine Coatings: Do Ships Leave Skid Marks? *Environmental Science & Technology* 55:. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04522>
 106. Primpke S, Christiansen SH, Cowger W, De Frond H, Deshpande A, Fischer M, Holland EB, Meyns M, O'Donnell BA, Ossmann BE, Pittroff M, Sarau G, Scholz-Böttcher BM, Wiggin KJ (2020) Critical Assessment of Analytical Methods for the Harmonized and Cost-

Efficient Analysis of Microplastics. *Appl Spectrosc* 74:1012–1047.
<https://doi.org/10.1177/0003702820921465>

107. Doyen P, Hermabessiere L, Dehaut A, Himber C, Decodts M, Degraeve T, Delord L, Gaboriaud M, Moné P, Sacco J, Tavernier E, Grard T, Duflos G (2019) Occurrence and identification of microplastics in beach sediments from the Hauts-de-France region. *Environmental Science and Pollution Research* 26:28010–28021. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06027-8>
108. Gomiero A, Øysæd KB, Agustsson T, van Hoytema N, van Thiel T, Grati F (2019) First record of characterization, concentration and distribution of microplastics in coastal sediments of an urban fjord in south west Norway using a thermal degradation method. *Chemosphere* 227:705–714. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.096>
109. Funck M, Yildirim A, Nickel C, Schram J, Schmidt TC, Tuerk J (2020) Identification of microplastics in wastewater after cascade filtration using Pyrolysis-GC-MS. *MethodsX* 7:100778. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.100778>
110. Zhou X, Hao L, Wang H, Li Y, Liu J (2019) Cloud-Point Extraction Combined with Thermal Degradation for Nanoplastic Analysis Using Pyrolysis Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Anal Chem* 91:1785–1790. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04729>
111. Fabbri D, Trombini C, Vassura I (1998) Analysis of Polystyrene in Polluted Sediments by Pyrolysis--Gas Chromatography--Mass Spectrometry. *Journal of Chromatographic Science* 36:600–604. <https://doi.org/10.1093/chromsci/36.12.600>
112. Watteau F, Dignac M-F, Bouchard A, Revallier A, Houot S (2018) Microplastic Detection in Soil Amended With Municipal Solid Waste Composts as Revealed by Transmission Electronic Microscopy and Pyrolysis/GC/MS. *Front Sustain Food Syst* 2:81. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00081>
113. (1996) Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters. *Choice Reviews Online* 33:33-6312-33–6312. <https://doi.org/10.5860/CHOICE.33-6312>
114. Craig H (1954) Carbon 13 in Plants and the Relationships between Carbon 13 and Carbon 14 Variations in Nature. *The Journal of Geology* 62:115–149. <https://doi.org/10.1086/626141>
115. Holmes JA (2008) Book review: Michener, R. and Lajtha, K., editors 2007: Stable isotopes in ecology and environmental science (second edition). *Ecological Methods and Concepts Series*. Malden, MA: Wiley/ Blackwell. 592 pp. £33.99 paper. ISBN: 978 1 4051 2680 9. *Progress in Physical Geography: Earth and Environment* 32:350–352. <https://doi.org/10.1177/03091333080320030503>
116. Berto D, Rampazzo F, Gion C, Noventa S, Ronchi F, Traldi U, Giorgi G, Cicero AM, Giovanardi O (2017) Preliminary study to characterize plastic polymers using elemental analyser/isotope ratio mass spectrometry (EA/IRMS). *Chemosphere* 176:47–56. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.090>

117. Camin F, Boner M, Bontempo L, Fauhl-Hassek C, Kelly SD, Riedl J, Rossmann A (2017) Stable isotope techniques for verifying the declared geographical origin of food in legal cases. *Trends in Food Science & Technology* 61:176–187. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.12.007>
118. Suzuki Y, Akamatsu F, Nakashita R, Korenaga T (2010) A Novel Method to Discriminate between Plant- and Petroleum-derived Plastics by Stable Carbon Isotope Analysis. *Chem Lett* 39:998–999. <https://doi.org/10.1246/cl.2010.998>
119. Berto D, Rampazzo F, Gion C, Noventa S, Formalewicz M, Ronchi F, Traldi U, Giorgi G (2019) Elemental Analyzer/Isotope Ratio Mass Spectrometry (EA/IRMS) as a Tool to Characterize Plastic Polymers in a Marine Environment. In: Gomiero A (ed) *Plastics in the Environment*. IntechOpen
120. Alexandre P (2020) *Isotopes and the Natural Environment*. Springer International Publishing, Cham
121. Birch QT, Potter PM, Pinto PX, Dionysiou DD, Al-Abed SR (2021) Isotope ratio mass spectrometry and spectroscopic techniques for microplastics characterization. *Talanta* 224:121743. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121743>
122. Negrel P *Méthodes isotopiques d'identification de l'origine des polluants métalliques et organiques dans les milieux : état de l'art et approche critique d'application*. 116
123. Goldstein AH, Shaw SL (2003) Isotopes of Volatile Organic Compounds: An Emerging Approach for Studying Atmospheric Budgets and Chemistry. *Chem Rev* 103:5025–5048. <https://doi.org/10.1021/cr0206566>
124. Geyer R, Jambeck JR, Law KL (2017) Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances* 3:e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
125. Lebreton L, Andrady A (2019) Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Commun* 5:1–11. <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0212-7>
126. Jambeck JR, Geyer R, Wilcox C, Siegler TR, Perryman M, Andrady A, Narayan R, Law KL (2015) Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347:768–771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>
127. Souza Machado AA, Kloas W, Zarfl C, Hempel S, Rillig MC (2018) Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Glob Change Biol* 24:1405–1416. <https://doi.org/10.1111/gcb.14020>
128. Frias JPGL, Lyashevskaya O, Joyce H, Pagter E, Nash R (2020) Floating microplastics in a coastal embayment: A multifaceted issue. *Marine Pollution Bulletin* 158:111361. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111361>

129. Thompson RC, Olsen Y, Mitchell RP, Davis A, Rowland SJ, John AWG, McGonigle D, Russell AE (2004) Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* 304:838–838. <https://doi.org/10.1126/science.1094559>
130. Gaylarde CC, Baptista Neto JA, da Fonseca EM (2021) Nanoplastics in aquatic systems - are they more hazardous than microplastics? *Environmental Pollution* 272:115950. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115950>
131. Li Y, Liu Z, Li M, Jiang Q, Wu D, Huang Y, Jiao Y, Zhang M, Zhao Y (2020) Effects of nanoplastics on antioxidant and immune enzyme activities and related gene expression in juvenile *Macrobrachium nipponense*. *Journal of Hazardous Materials* 398:122990. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122990>
132. Banerjee A, Shelver WL (2021) Micro- and nanoplastic induced cellular toxicity in mammals: A review. *Science of The Total Environment* 755:142518. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142518>
133. Zhang X, Zhang H, Yu K, Li N, Liu Y, Liu X, Zhang H, Yang B, Wu W, Gao J, Jiang J (2020) Rapid monitoring approach for microplastics using portable pyrolysis-mass spectrometry. *Anal Chem* 92:4656–4662. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00300>
134. Hermabessiere L, Himber C, Boricaud B, Kazour M, Amara R, Cassone A-L, Laurentie M, Paul-Pont I, Soudant P, Dehaut A, Duflos G (2018) Optimization, performance, and application of a pyrolysis-GC/MS method for the identification of microplastics. *Anal Bioanal Chem* 410:6663–6676. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1279-0>
135. Picó Y, Barceló D (2020) Pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry in environmental analysis: Focus on organic matter and microplastics. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 130:. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115964>
136. Gigault J, El Hadri H, Nguyen B, Grassl B, Rowenczyk L, Tufenkji N, Feng S, Wiesner M (2021) Nanoplastics are neither microplastics nor engineered nanoparticles. *Nat Nanotechnol* 16:501–507. <https://doi.org/10.1038/s41565-021-00886-4>
137. Blacho F, Davranche M, Hadri HE, Grassl B, Gigault J (2021) Nanoplastics Identification in Complex Environmental Matrices: Strategies for Polystyrene and Polypropylene. *Environ Sci Technol*. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c01351>
138. Zhou XX, Hao LT, Wang HYZ, Li YJ, Liu JF (2019) Cloud-Point Extraction Combined with Thermal Degradation for Nanoplastic Analysis Using Pyrolysis Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 91:1785–1790. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04729>
139. Dierkes G, Lauschke T, Becher S, Schumacher H, Földi C, Ternes T (2019) Quantification of microplastics in environmental samples via pressurized liquid extraction and pyrolysis-gas chromatography. *Anal Bioanal Chem* 411:6959–6968. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02066-9>

140. Steinmetz Z, Kintzi A, Muñoz K, Schaumann GE (2020) A simple method for the selective quantification of polyethylene, polypropylene, and polystyrene plastic debris in soil by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 147:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2020.104803>
141. Fischer M, Scholz-Böttcher BM (2017) Simultaneous trace identification and quantification of common types of microplastics in environmental samples by pyrolysis-gas chromatography–mass spectrometry. *Environ Sci Technol* 51:5052–5060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06362>
142. Pico Y, Alfarhan A, Barcelo D (2019) Nano- and microplastic analysis: Focus on their occurrence in freshwater ecosystems and remediation technologies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 113:409–425. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.022>
143. Pessoni L, Veclin C, El Hadri H, Cugnet C, Davranche M, Pierson-Wickmann A-C, Gigault J, Grassl B, Reynaud S (2019) Soap- and metal-free polystyrene latex particles as a nanoplastic model. *Environ Sci: Nano* 6:2253–2258. <https://doi.org/10.1039/C9EN00384C>
144. Blancho F, Davranche M, Hadri HE, Grassl B, Gigault J Nanoplastics identification in complex environmental matrices: Strategies for polystyrene and polypropylene. 16
145. Lebreton L, Andrady A (2019) Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Commun* 5:6. <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0212-7>
146. Wang C, Zhao J, Xing B (2021) Environmental source, fate, and toxicity of microplastics. *Journal of Hazardous Materials* 407:124357. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124357>
147. Betts K (2008) Why small plastic particles may pose a big problem in the oceans. *Environ Sci Technol* 42:8995–8995. <https://doi.org/10.1021/es802970v>
148. Horton AA (2017) Large microplastic particles in sediments of tributaries of the River Thames, UK – Abundance, sources and methods for effective quantification. *Marine Pollution Bulletin* 10
149. Peng G, Bellerby R, Zhang F, Sun X, Li D (2020) The ocean’s ultimate trashcan: Hadal trenches as major depositories for plastic pollution. *Water Research* 168:115121. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115121>
150. Cincinelli A, Scopetani C, Chelazzi D, Lombardini E, Martellini T, Katsoyiannis A, Fossi MC, Corsolini S (2017) Microplastic in the surface waters of the Ross Sea (Antarctica): Occurrence, distribution and characterization by FTIR. *Chemosphere* 175:391–400. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.024>
151. Worm B, Lotze HK, Jubinville I, Wilcox C, Jambeck J (2017) Plastic as a Persistent Marine Pollutant. *Annu Rev Environ Resour* 42:1–26. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-102016-060700>

152. Hahladakis JN, Velis CA, Weber R, Iacovidou E, Purnell P (2018) An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of Hazardous Materials* 344:179–199. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.014>
153. Lomonaco T (2020) Release of harmful volatile organic compounds (VOCs) from photo-degraded plastic debris_ A neglected source of environmental pollution. *Journal of Hazardous Materials* 9
154. Godoy V, Blázquez G, Calero M, Quesada L, Martín-Lara MA (2019) The potential of microplastics as carriers of metals. *Environmental Pollution* 255:113363. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113363>
155. Michener R, Lajtha K (2008) *Stable isotopes in ecology and environmental science*. John Wiley & Sons
156. Holland HD, Turekian KK (2010) *Isotope geochemistry: a derivative of the treatise on geochemistry*. Academic Press
157. Degens E (1969) Biogeochemistry of stable carbon isotopes. *Organic geochemistry* 304–329
158. Elsner M, Imfeld G (2016) Compound-specific isotope analysis (CSIA) of micropollutants in the environment — current developments and future challenges. *Current Opinion in Biotechnology* 41:60–72. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.04.014>
159. Slater GF, Ahad JME, Sherwood Lollar B, Allen-King R, Sleep B (2000) Carbon isotope effects resulting from equilibrium sorption of dissolved VOCs. *Anal Chem* 72:5669–5672. <https://doi.org/10.1021/ac000691h>
160. Huang L, Sturchio NC, Abrajano T, Heraty LJ, Holt BD (1999) Carbon and chlorine isotope fractionation of chlorinated aliphatic hydrocarbons by evaporation. *Organic Geochemistry* 30:777–785. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(99\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(99)00060-1)
161. Morris BEL DOCTOR OF PHILOSOPHY. 127
162. Berto D, Rampazzo F, Gion C, Noventa S, Ronchi F, Traldi U, Giorgi G, Cicero AM, Giovanardi O (2017) Preliminary study to characterize plastic polymers using elemental analyser/isotope ratio mass spectrometry (EA/IRMS). *Chemosphere* 176:47–56. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.090>
163. Wang F, Zhang M, Sha W, Wang Y, Hao H, Dou Y, Li Y (2020) Sorption behavior and mechanisms of organic contaminants to nano and microplastics. 17
164. La Nasa J, Lomonaco T, Manco E, Ceccarini A, Fuoco R, Corti A, Modugno F, Castelvetro V, Degano I (2021) Plastic breeze: Volatile organic compounds (VOCs) emitted by degrading macro- and microplastics analyzed by selected ion flow-tube mass spectrometry. *Chemosphere* 270:128612. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128612>

165. Queipo-Abad S, Lagane C, Point D (2020) Sensitive determination of methylmercury $\delta^{13}\text{C}$ compound specific stable isotopic analysis by purge and trap gas chromatography combustion isotope ratio mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1617:460821. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460821>
166. Dignac M-F, Houot S, Francou C, Derenne S (2005) Pyrolytic study of compost and waste organic matter. *Organic Geochemistry* 36:1054–1071. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2005.02.007>

Information supplémentaire:

Chapitre 2: Polystyrene nanoplastics identification in the environment: possibilities, limitations, and applications of pyrolysis-gas-chromatography mass spectrometry

Corentin Le Juge¹, Bruno Grassl¹, Ian Allan², Julien Gigault^{3*}

¹ IPREM, CNRS – Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS, IPREM, Pau, France

² NIVA Norwegian Institute for Water Research, Økernveien 94, NO-0579 Oslo, Norway

³ TAKUVIK – Université Laval - 1045, Avenue de la Médecine, Québec, QC, Canada

* Corresponding authors (e-mail: bruno.grassl@univ-pau.fr; julien.gigault@takuvik.ulaval.ca)

<i>Name</i>	<i>Average size diameter (nm)</i>	<i>Coefficient of variation (CV)</i>
<i>PS-50</i>	<i>50</i>	<i>15%</i>
<i>PS-500</i>	<i>500</i>	<i>3%</i>
<i>PS-759</i>	<i>759</i>	<i>3%</i>
<i>PS-3000</i>	<i>3000</i>	<i>5%</i>
<i>PS-10000</i>	<i>10000</i>	<i>10%</i>

Table S1 : Size and coefficient of variation of commercial Polysciences Polybead carboxylate microspheres).

Pyrolyseur	Frontier EGA/PY-3030D
Carrier gas	Helium
Oven temperature	500-700°C
Interface	300°C
Prepurge time	10s
Pyrolyse time	0s
Gaz chromatogram	Agilent 7890B
Split ratio	50
Température	300°C
Column	DB-5 Column; 30 mx0.25 mm; film thickness 0.25 µm
flow	1 ml/min
temperature program	50°C (2.5min) =>320°C(4min) rate 20°C/min
Transfer line	300°C
Mass spectrometer	Agilent 5977B
Mode	Scan
Ionization energy	70 ev
Cycle time	4,5 Scan/s
Frequence time	1,562 u/s
Cycle time	221,05 ms
Scan range	40-350
Source temperature	230°C
Quadrupole temperature	150°C

Table S2 : Condition of the Py-GCMS analysis

In the following formulas, T and S represent respectively the integrations of the signal obtained for toluene (m/z=91) and styrene (m/z=104). We pose:

$$(4) R_{T/S} = \frac{T_{OM} + T_{NPs}}{S_{OM} + S_{NPs}}$$

m_{MO} et m_{NPs} the mass of OM and PS. In a mixture we define the mass fraction of OM and the mass fraction of PS by the two following equations:

$$(5) w_{OM} = \frac{m_{OM}}{m_{om} + m_{NPs}}$$

$$(6) w_{NPs} = \frac{m_{NPs}}{m_{om} + m_{NPs}}$$

We define s' and t' by the following two equations:

$$(7) s'_{OM} = \frac{S_{OM}}{m_{OM}} \quad (8) s'_{NPs} = \frac{S_{NPs}}{m_{NPs}}$$

$$(8) t'_{OM} = \frac{T_{OM}}{m_{OM}} \quad (10) t'_{NPs} = \frac{T_{NPs}}{m_{NPs}}$$

$R_{T/S}$ of a mixture of OM and PS defined by the following equation:

$$(3) R_{T/S} = \frac{t'_{OM}w_{OM} + t'_{NPs}w_{NPs}}{s'_{OM}w_{OM} + s'_{NPs}w_{NPs}}$$

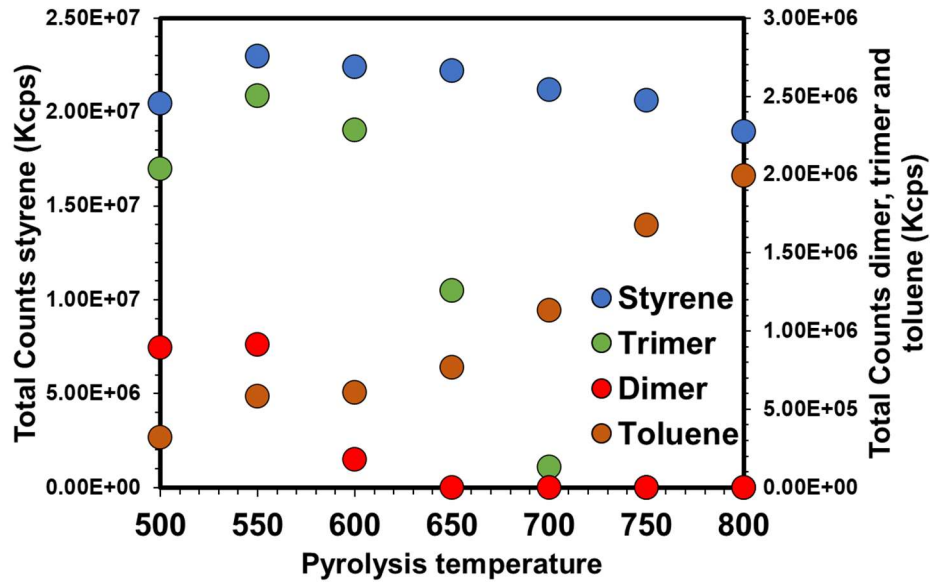


Figure S18 : Total counts evolution of styrene, dimer, trimer and toluene according pyrolysis temperature, NPs used was soap and metal-free carbolyated PS spheres

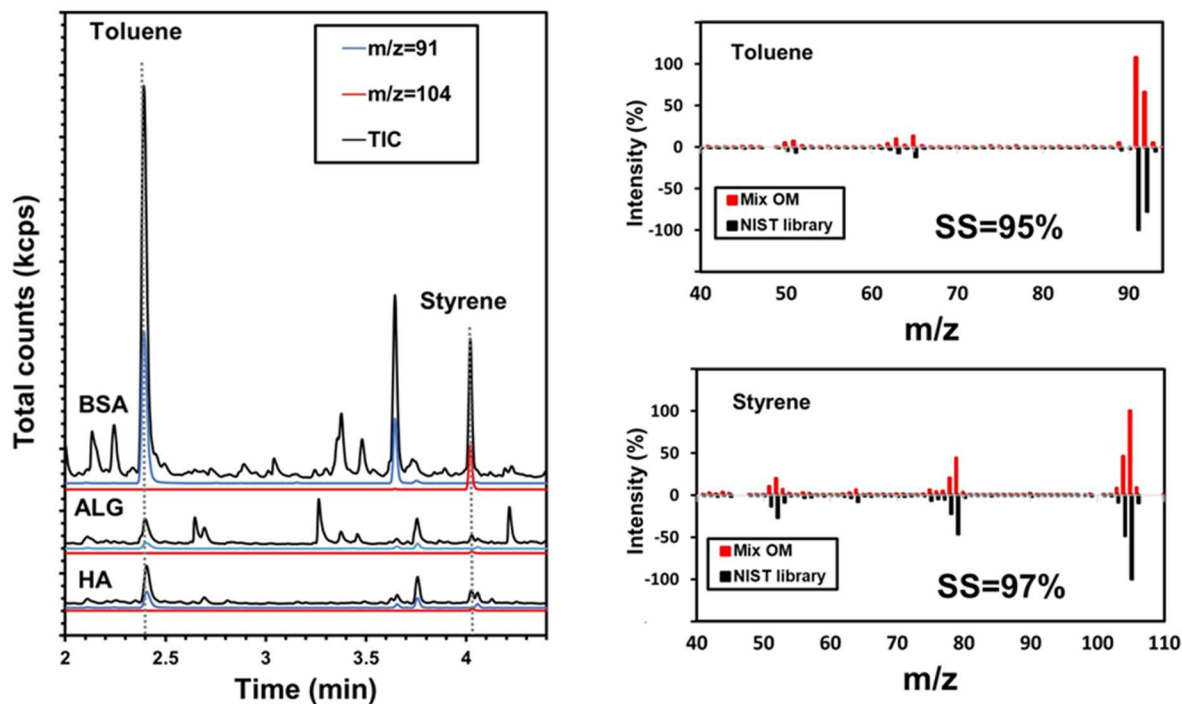


Figure S19: Total ion, m/z=104 (styrene), and m/z=91 (toluene) pyrograms obtained for BSA, ALG and AH by pyrolysis at 700°C. Supplemented with the comparison of the mass spectra of pyrolysates (toluene and styrene) with the NIST library. SS represented the similarity rate between the two mass spectra.

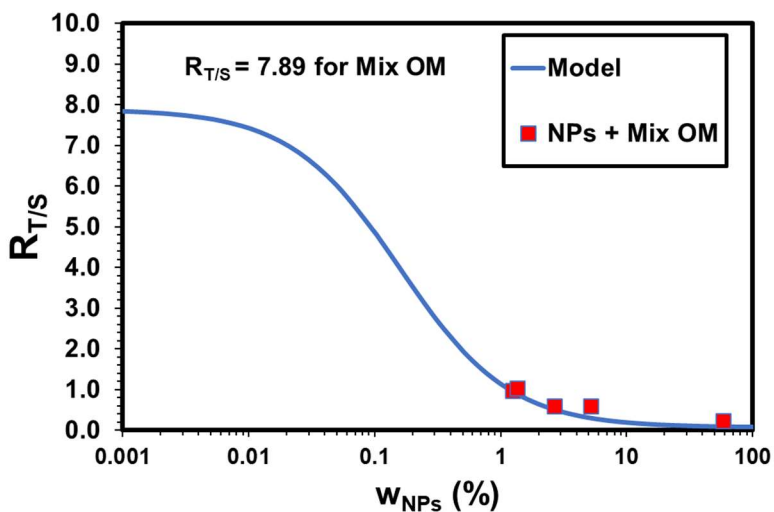


Figure S20 : Modeling of $R_{T/S}$ in a mixture NPs + Mix OM according to the mass fraction (w_{NPs}) with equation 1. The s' and t' for NPs were respectively 3.19×10^7 and 2.55×10^6 obtained experimentally, the s' and t' for Mix OM was $s'=5.16 \times 10^4$ and $t'=4.07 \times 10^5$ obtained experimentally.

Size fraction	Non-amended soil	Compost-amended soil
Bulk	5.5	0.7
200µm-2mm	5.0	0.3
50-200µm	4.2	1.1
20-50µm	1.5	1.0
2-20µm	4.3	2.0
0-2µm	5.2	2.9

Table S3: $R_{T/S}$ in the control and the amended soil and in their fractions extract from Watteau et al., 2018.

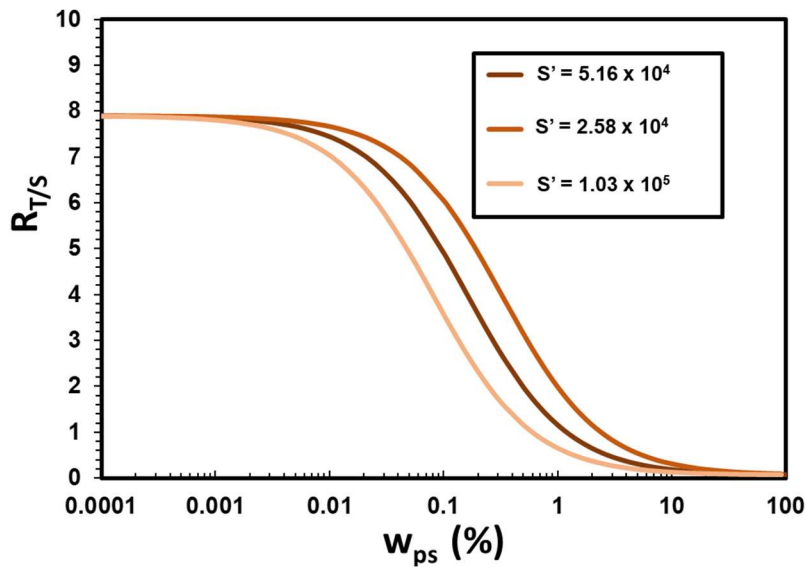


Figure S21: Modeling $R_{T/S}$ in a mixture NPs + Mix OM according to the mass fraction (w_{NPs}) equation 1. The s' and t' for NPs were respectively 3.19×10^7 and 2.55×10^6 obtained experimentally, t' for Mix OM was $t' = 4.07 \times 10^5$. The model was tracer for different values of s' for Mix OM ($s' = 5.16 \times 10^4$, $s' = 2.58 \times 10^4$, $s' = 1.03 \times 10^5$).

Chapitre 3 : Identifications des VOCs et analyse isotopique spécifique ($\delta^{13}\text{C}$) dans les MPs par PT-GC-MS-C-IRMS

	CAS	Compounds	Class of compound	ng C	RT IRMS (s)	RT Ms (s)	Heigh m/z = 44 (mv) IRMS	Area (V.s-1) IRMS	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	SD $\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Height MS (Kcps)	Area MS (Kcps.s-1)
1	75-71-8	CFC-12	CFC	0.57	397.5	337	62	0.31	n.d*	n.d*	1.94 x 10 ⁶	8.88 x 10 ⁴
2	74-87-3	Chloromethane	Halogen compound	1.35	405	374.4	25.9	0.18	n.d*	n.d*	4.53 x 10 ⁶	2.06 x 10 ⁵
3	75-01-4	Chloroethene	Halogen compound	2.19	405.0	398.5	41.8	0.3	n.d*	n.d*	1.22 x 10 ⁷	5.71 x 10 ⁵
4	74-83-9	Bromomethane	Halogen compound	0.72	429.9	459.5	55.5	0.34	n.d*	n.d*	1.14 x 10 ⁷	5.01 x 10 ⁵
5	75-00-3	Chloroethane	Halogen compound	1.26	429.9	478.9	96.8	0.6	n.d*	n.d*	1.15 x 10 ⁷	5.84 x 10 ⁵
6	75-69-4	CFC-11	CFC	0.5	459.2	521.3	366.7	0.91	n.d*	n.d*	3.53 x 10 ⁷	1.82 x 10 ⁶
7	75-35-4	1,1-Dichloroethene	Halogen compound	1.41	459.2	527.6	1039.3	2.58	n.d*	n.d*	7.92 x 10 ⁵	4.29 x 10 ⁴
8	156-59-2	(Z)-1,2-Dichloroethene	Halogen compound	1.41	736.7	596.4	134.5	1.54	n.d*	n.d*	3.51 x 10 ⁷	1.78 x 10 ⁶
9	156-60-5	(E)-1,2-Dichloroethene	Halogen compound	1.41	736.7	657.8	76.7	0.88	n.d*	n.d*	3.83 x 10 ⁷	2.30 x 10 ⁶
10	75-09-2	Dichloromethane	Halogen compound	0.81	784.4	688.6	507	4.03	-27.9	0.12	3.62 x 10 ⁷	1.80 x 10 ⁶
11	75-34-3	1,1-Dichloroethane	Halogen compound	1.38	844.2	735.2	248.3	2.06	n.d*	n.d*	7.08 x 10 ⁷	3.55 x 10 ⁶
12	107-06-2	1,2-Dichloroethane	Halogen compound	1.38	844.2	740.7	318	2.63	n.d*	n.d*	1.09 x 10 ⁶	4.08 x 10 ⁴
13	594-20-7	2,2-Dichloropropane	Halogen compound	1.77	844.2	793.1	332.1	2.75	n.d*	n.d*	6.15 x 10 ⁷	3.22 x 10 ⁶
14	563-58-6	1,1-Dichloropropene	Halogen compound	1.85	844.2	816.2	94.9	0.79	n.d*	n.d*	2.98 x 10 ⁷	1.54 x 10 ⁶
15	74-97-5	Bromochloromethane	Halogen compound	0.53	873.6	823.1	119.4	1.57	n.d*	n.d*	8.56 x 10 ⁷	4.24 x 10 ⁶
16	67-66-3	Chloroform	Halogen compound	0.57	873.6	843.7	213.6	2.8	n.d*	n.d*	6.04 x 10 ⁷	3.17 x 10 ⁶
17	71-55-6	1,1,1-Trichloroethane	Halogen compound	1.03	895.1	857.8	331.7	2.57	n.d*	n.d*	4.49 x 10 ⁷	2.24 x 10 ⁶
18	142-28-9	1,3-Dichloropropane	Halogen compound	1.77	909.6	860.5	50	0.44	n.d*	n.d*	4.45 x 10 ⁷	2.35 x 10 ⁶
19	56-23-5	Tetrachloroethane	Halogen compound	0.44	909.6	878.6	590.7	5.21	n.d*	n.d*	1.57 x 10 ⁸	8.12 x 10 ⁶
20	71-43-2	Benzene	Aromatic compound	5.25	930.9	939	2787.3	24.46	-28.77	0.12	3.95 x 10 ⁷	2.09 x 10 ⁶
21	79-01-6	Trichloroethene	Halogen compound	1.04	991.7	964.1	402	3.2	-30.9	0.18	4.81 x 10 ⁷	2.55 x 10 ⁶
22	78-87-5	1,2-Dichloropropane	Halogen compound	1.82	1017.2	974.5	913.7	7	n.d*	n.d*	2.64 x 10 ⁷	1.47 x 10 ⁶
23	74-95-3	Dibromomethane	Halogen compound	0.39	1026.4	987.4	232.3	1.55	n.d*	n.d*	7.14 x 10 ⁷	3.78 x 10 ⁶
24	75-27-4	Bromodichloromethane	Halogen compound	0.42	1041.2	1030.7	196	1.84	n.d*	n.d*	7.38 x 10 ⁷	3.96 x 10 ⁶
25	10061-02-6	(E)-1,3-Dichloroprop-1-ene	Halogen compound	1.67	1085.1	1069.6	631.3	6.06	-24.49	0.12	1.90 x 10 ⁸	1.01 x 10 ⁷
26	108-88-3	Toluene	BTEX	5.19	1124.8	1086.9	2358.3	19.17	-26.48	0.14	6.89 x 10 ⁷	3.75 x 10 ⁶
27	10061-01-5	(Z)-1,3-Dichloroprop-1-ene	Halogen compound	1.67	1142.6	1112.1	668.7	6.78	n.d*	n.d*	4.23 x 10 ⁷	2.39 x 10 ⁶
28	79-00-5	1,1,1-Trichloroethane	Halogen compound	1.03	1167.9	1130.6	526.7	4.7	-29.54	0.94	3.44 x 10 ⁷	1.90 x 10 ⁶
29	127-18-4	Tetrachloroethane	Halogen compound	0.82	1188.8	1162.1	1125.3	10.78	-30.65	0.21	4.85 x 10 ⁷	2.89 x 10 ⁶
30	124-48-1	Dibromochloromethane	Halogen compound	0.33	1219.1	1182.1	118	1.14	n.d*	n.d*	4.03 x 10 ⁷	2.43 x 10 ⁶
31	106-93-4	1,2-Dibromoethane	Halogen compound	0.73	1239.6	1242.7	296.3	2.71	-26.67	0.61	1.16 x 10 ⁸	7.20 x 10 ⁶
32	108-90-7	Chlorobenzene	Aromatic compound	3.65	1308.1	1248.6	2058.3	24.2	n.d*	n.d*	1.14 x 10 ⁸	6.94 x 10 ⁶
33	630-20-6	1,1,1,2-Tetrachloroethane	Halogen compound	0.81	1308.1	1249.1	459.3	5.42	n.d*	n.d*	2.02 x 10 ⁸	1.16 x 10 ⁷
34	100-41-4	Ethylbenzene	BTEX	5.15	1308.1	1249.6	2904.3	34.27	n.d*	n.d*	2.02 x 10 ⁸	1.16 x 10 ⁷
35	108-38-3	1,3-Xylene (m-Xylene)	BTEX	5.15	1325.1	1265.8	2345.5	25.52	n.d*	n.d*	2.68 x 10 ⁸	1.30 x 10 ⁷
36	106-42-3	1,4-Xylene (p-Xylene)	BTEX	5.15	1325.1	1265.8	2345.5	25.52	n.d*	n.d*	2.68 x 10 ⁸	1.30 x 10 ⁷
37	95-47-6	1,2-Xylene o-Xylene	BTEX	5.15	1384.8	1322.8	2571.3	26.4	n.d*	n.d*	1.85 x 10 ⁸	1.15 x 10 ⁷
38	100-42-5	Styrene	Aromatic compound	5.25	1384.8	1322.9	2621	26.91	n.d*	n.d*	1.85 x 10 ⁸	1.15 x 10 ⁷
39	75-25-2	Bromoform	Halogen compound	0.27	1437.5	1358.4	116.5	1.3	n.d*	n.d*	2.76E+07	1.87 x 10 ⁶
40	98-82-8	Cumene	Aromatic compound	5.12	1437.5	1375.3	2204.8	24.53	n.d*	n.d*	1.92 x 10 ⁸	1.20 x 10 ⁷
41	79-34-5	1,1,2,2-Tetrachloroethane	Halogen compound	0.81	1481.8	1419	299.7	2.95	n.d*	n.d*	4.81 x 10 ⁷	3.30 x 10 ⁶
42	96-18-4	1,2,3-Trichloropropane	Halogen compound	1.39	1506.1	1434.3	448.6	5.91	n.d*	n.d*	4.37 x 10 ⁷	3.47 x 10 ⁶
43	108-86-1	Bromobenzene	Halogen compound	2.61	1506.1	1438.2	842.4	11.1	n.d*	n.d*	9.14 x 10 ⁷	7.43 x 10 ⁶
44	103-65-1	Propylbenzene	Aromatic compound	5.12	1506.1	1443.7	1650.6	21.75	n.d*	n.d*	2.21 x 10 ⁸	1.45 x 10 ⁷
45	95-49-8	1-Chloro-2-methylbenzene	Halogen compound	3.78	1534.3	1466.8	3402.3	40.28	n.d*	n.d*	1.46 x 10 ⁸	1.05 x 10 ⁷
46	108-67-8	1,3,5-Trimethylbenzene	Aromatic compound	5.12	1550.4	1471.9	1939.3	24.56	n.d*	n.d*	1.80 x 10 ⁸	1.20 x 10 ⁷
47	106-43-4	1-Chloro-4-methylbenzene	Halogen compound	3.78	1607.6	1486.9	1151.3	20.91	n.d*	n.d*	1.51 x 10 ⁸	1.06 x 10 ⁷
48	98-06-6	Tert-butylbenzene	Aromatic compound	5.09	1607.6	1533.1	1551	28.17	n.d*	n.d*	1.39 x 10 ⁸	9.59 x 10 ⁶
49	95-63-6	1,2,4-Trimethylbenzene	Aromatic compound	5.09	1640.7	1543.4	2117.3	22.68	-26.45	0.1	1.82 x 10 ⁸	1.28 x 10 ⁷
50	135-98-8	Butan-2-ylbenzene (Sec-butylbenzene)	Aromatic compound	5.09	1669.9	1575.7	2554.7	35.36	n.d*	n.d*	1.91 x 10 ⁸	1.07 x 10 ⁷
51	25155-15-1	1-Methyl-4-propan-2-ylbenzene	Aromatic compound	5.09	1693.1	1602.4	1368.3	19.28	n.d*	n.d*	1.69 x 10 ⁸	1.16 x 10 ⁷
52	541-73-1	1,3-Dichlorobenzene	Halogen compound	2.79	1756	1607.5	901	8.7	n.d*	n.d*	8.66 x 10 ⁷	6.57 x 10 ⁶
53	106-46-7	1,4-Dichlorobenzene	Halogen compound	2.79	1756	1626.9	901	8.7	n.d*	n.d*	9.12 x 10 ⁷	6.80 x 10 ⁶
54	104-51-8	Butylbenzene	Aromatic compound	5.09	1773.2	1689.6	1353	17.36	n.d*	n.d*	1.46 x 10 ⁸	1.09 x 10 ⁷
55	202-425-9	1,2-Diclorobenzene	Halogen compound	2.79	1824.4	1706.3	240.3	2.55	-48.29	0.36	8.47 x 10 ⁷	6.82 x 10 ⁶
56	96-12-8	1,2-Dibromo-3-chloropropane	Halogen compound	0.87	1956	1886.3	96.3	1.14	n.d*	n.d*	7.75 x 10 ⁶	6.57 x 10 ⁵
57	120-82-1	1,2,4-Trichlorobenzene	Halogen compound	2.26	2184.9	2111.6	563.7	7.69	-27.7	0.17	3.53 x 10 ⁷	3.35 x 10 ⁶
58	87-68-3	1,1,2,3,4,4-Hexachlorobuta-1,3 diene	Halogen compound	1.05	2225.4	2151.8	227.3	2.56	-28.1	0.22	1.58 x 10 ⁷	1.23 x 10 ⁶
59	202-049-5	Naphtalene	Aromatic compound	5.33	2266.4	2192.2	611	8.04	-29.0	0.06	5.94 x 10 ⁷	4.14 x 10 ⁶
60	12002-48-1	1,2,3-Trichlorobenzene	Halogen compound	2.26	2334.9	2258.9	377.3	5.6	-28.16	0.25	2.32 x 10 ⁷	1.34 x 10 ⁶

Table S4 : IRMS-MS method performance for each compound by analysis of 5.7ng of STD. *nd: $\delta^{13}\text{C}$ values were not reported for peak height (mV m/z=200 (minimum signal to determine a relatively reliable value of $\delta^{13}\text{C}$) and/or in the case of coelution conditions.

Name	PS	PET	PLA
Type of plastic	Polystyrene	Polyethylene Terephthalate	Polylactic acid
Origin	Petrosourced	Petrosourced	Biosourced (corn)
Melting Temperature (°C)	/	245	230
Supplier	GoodFellow	GoodFellow	ArianePlast
Size (µm)	250 (powder)	300 (powder)	2000 (pellet)
δ¹³C Bulk (‰)	-27.8	-28.7	-11.5
Stdev (‰)	0.2		

Table S5 : Information about PS, PET and PLA microplastics

Sample :	Plastic powder
Mass sample :	10 mg
Method	
Sample Temp :	140°C
Valve Temp :	120°C
Purge Time :	20 min
Purge Flow :	20 ml/min
Traping Temp :	-50°C
Desorbing Temp :	230°C
Desorbing Time :	7 min
Split Flow :	0 ml/min
Transfer Time :	0s
Loop Filling Time :	0s
Cycle Time :	51 min
Trap	40950
Settings	
From sensor :	On
H2O-Trap :	PWT
H2O-Trap-Temp :	-15°C
GC-Cucme-Time :	Progressive
EPC :	1700 mbar
Purge Flow :	MS
Transferline :	
Temp :	200°C
Drypurge :	Off
Predesorb :	Off
Purge LED :	On
Fan Sample :	
Cooler :	Off
Column	Rxi 624 MS sil
Length :	60 m
Inner diameter :	0.32 mm
Film Thickness :	1.8 µm
Transferline	
Length :	2 m
Inner diameter :	0.32 mm
Film :	0 µm
Temperature program	
35°C/5min > 11°C/min > 60°C > 20°C/min > 116°C > 4°C/min > 164°C > 2°C/min > 200°C > 2min (GC Run Time 43min)	

Table S6 : GC conditions and the set-up of the PT unit

	Toluene $\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Ethylbenzene $\delta^{13}\text{C}$ (‰)	m,p-Xylene $\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Megamix 30603	-26.5±0.1	/	/
Polystyrene MP	-25.9±0.1	-34±0.2	-26.1±0.5
BTEX	-27.5±0.4	-28.9±0.5	-27.4±0.3

Table S7: Values $\delta^{13}\text{C}$ obtained by analysis of Megamix 30603, polystyrene MP and BTEX (from Queipo-Abad et al., 2020)

Caractérisation de nanoplastiques et microplastiques dans des matrices environnementales par des méthodes thermiques et séparatives

Résumé :

On peut aisément qualifier le plastique comme étant l'un des matériaux le plus utilisé au monde. Le rejet de masse dans l'environnement entraîne la production de particule de taille et de forme aléatoire on parle de microplastiques (MPs) et de nanoplastiques (NPs). Les principaux risques liés à la formation de ces particules sont : (i) le relargage d'additif qu'ils contiennent (ii) la capacité de transporter et de concentrer d'autres contaminants, tels que les métaux, pesticides ou encore composés organiques volatiles (VOCs). Cet effet porteur aussi appelé « effet cheval de Troie » a pour conséquence la bioaccumulation des polluants et leur transfert à travers la chaîne trophique. A ce jour, les informations relatives à leur présence et leur comportement dans l'environnement ne reste peu voire pas documentée, ceci est dû au manque de méthodes capables de les détecter. Dans ce contexte l'objectif de la thèse a été de caractériser les NPs et MPs par des méthodes thermiques et séparative. La Py-GCMS est l'une des techniques analytiques les plus intéressantes pour identifier les polymères. Cependant, dans un échantillon environnemental, la matière organique (OM) masque cette potentialité, encore plus pour les PS à l'échelle nanométrique. C'est pourquoi nous avons proposé une étude complète de la possibilité de détecter et de quantifier les NPs de Ps dans une phase riche contenant de la OM. A l'inverse de NPs, il existe actuellement de nombreuses méthodes pour caractériser les MPs dans des échantillons environnementaux. Cependant, aucune ne permet d'évaluer les sources et processus des MPs dans l'environnement. C'est pourquoi nous présentons le développement d'un système original de purge et piégeage-GC-MS-C-IRMS pour explorer l'analyse des isotopes stables du carbone spécifique au VOCs extrait de MPs. Cette étude présente le développement de la méthode à l'aide d'un MPs de PS commercial selon *la température, et la masse*. Puis, une analyse exploratoire de la méthode optimisée sur d'autre type de MPs (polyéthylène, acide polylactique).

Characterization of nanoplastics and microplastics in environmental matrices by thermal and separative methods

Abstract :

We can easily qualify plastic as one of the most used materials in the world. The mass released into the environment leads to the production of particles of random size and shape called microplastics (MPs) and nanoplastics (NPs). The main risks associated to the formation of these particles are: (i) the release of additives, (ii) the ability to transport and concentrate others contaminants such as metals, pesticides or volatile organic compounds (VOCs). This lead effect, also known as the "Trojan horse effect", results in the bioaccumulation of pollutants and their transfer throughout the food chain. To date, the information on their presence and behavior in the environment remains poorly or not documented: this is due to the lack of methods capable of detecting them. In this context, the objective of the thesis was to characterize NPs and PMs by thermal and separative methods. Py-GCMS is one of the most interesting analytical technique to identify polymers. However, in an environmental sample, the organic matter (OM) masks this potentiality, even more so for nanoscale PS. Therefore, we proposed a comprehensive study of the possibility to detect and quantify Ps NPs in a rich phase containing OM. In contrast to NPs, there are currently many methods to characterize MPs in environmental samples. However, none of them are able to assess the sources and processes of MPs in the environment. Therefore, we present the development of an original purge and trap-GC-MS-C-IRMS system to explore the analysis of stable carbon isotopes specific to VOCs extracted from MPs. This study presents the development of the method using a commercial PS MPs according to temperature, and mass. Then, an exploratory analysis of the method optimized on other types of MPs (polyethylene, polylactic acid).