



N° d'ordre : 4731

THÈSE

Présentée à

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1

École doctorale des sciences chimiques

Par **Rami KANAN**

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité : Chimie analytique et environnement

Développements méthodologiques pour l'extraction et l'analyse des polluants organiques d'intérêt pour l'environnement marin : Application aux hydrocarbures aromatiques polycycliques

Directrice de recherche : Hélène BUDZINSKI
Responsable scientifique : Stéphane LE FLOCH

Soutenue le : 20 décembre 2012

Devant la commission d'examen constituée de :

Mme CAMEL Valérie	Professeur, AgroParisTech, Paris	Rapporteur
Mr DOUMENQ Pierre	Professeur, Université d'Aix Marseille	Rapporteur
Mr MAZELLIER Patrick	Professeur, Université Bordeaux	Examineur
Mr LE FLOCH Stéphane	Dr., Cedre, Brest	Resp. Scientifique
Mme BUDZINSKI Hélène	Directrice de recherche CNRS, UMR 5805 Bordeaux	Directrice de thèse

À mon fils Jad!

Remerciements

Ce travail a été principalement réalisé au Cedre (Centre de Documentation, de Recherche et d'Expérimentations sur les Pollutions Accidentelles des Eaux à Brest), et pour quelques séjours au sein de l'équipe EPOC-LPTC de l'Université Bordeaux 1. De nombreuses personnes m'ont beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail, tant sur le plan scientifique que sur le plan personnel.

Je tiens tout d'abord à remercier Messieurs Gilbert LE LANN (Directeur) et Georges PEIGNE (Adjoint au Directeur) pour m'avoir permis de réaliser ce travail au sein de la structure Cedre.

Je remercie également Monsieur François-Xavier MERLIN, Responsable du service Recherche et Développement (Cedre, Brest), je lui adresse ici toute ma profonde reconnaissance pour m'avoir accueilli au sein de son équipe.

J'adresse mes profonds remerciements au professeur Pierre DOUMENQ (Université d'Aix Marseille) ainsi qu'au professeur Valérie CAMEL (AgroParisTech, Paris) d'avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse et de bien avoir voulu évaluer ce travail. J'ai grandement apprécié le regard critique qu'ils ont porté à mon travail. Mes sincères remerciements s'adressent aussi au professeur Patrick MAZELLIER (Université Bordeaux) d'avoir accepté de faire parti de mon jury en tant qu'examinateur.

Je remercie ici ma grande chef, Madame Hélène BUDZINSKI, Directrice de Recherche (EPOC-LPTC-UMR 5805 CNRS), d'avoir dirigé ma thèse. Sincèrement, grâce à elle, j'ai appris une façon de travailler, j'ai acquis une certaine confiance en moi. Je lui suis très reconnaissant pour son accueil au sein de son équipe, ses qualités humaines, pédagogiques et scientifiques, sa franchise et sa sympathie. Son énergie et sa confiance ont été des éléments moteurs pour moi. J'ai énormément appris à ses côtés et je lui adresse ma très profonde gratitude pour tout cela.

Je tiens à exprimer mes remerciements à mon co-directeur de thèse, Dr. Stéphane LE FLOCH, Service Recherche et Développement (Cedre, Brest), pour son encadrement et l'intérêt qu'il a porté à mon travail. Je voudrais ici lui témoigner toute ma reconnaissance pour m'avoir guidé, encouragé et conseillé aux moments les plus difficiles. Je tiens à lui

affirmer ici toute ma gratitude pour avoir mis en œuvre tous les moyens nécessaires à la réalisation de ces travaux, mais également pour m'avoir permis de participer à plusieurs congrès internationaux...

Je tiens aussi à remercier le professeur Jan T. ANDERSSON (Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Muenster, Germany). Bien qu'éloigné géographiquement, il a toujours été présent pour me suivre tout au long de ce travail. Je le remercie également pour m'avoir fait parvenir régulièrement les solutions étalons des composés aromatiques soufrés.

J'associe à ces remerciements Monsieur Julien GUYOMARCH, Monsieur Ronan JEZEQUEL, Madame Pascale LE GUERROUE et Madame Karine DUBOSCQ, Service Recherche et Développement (Cedre, Brest), pour l'ensemble des connaissances qu'ils m'ont transmis, pour leurs disponibilités ainsi que pour les compétences qu'ils m'ont permis d'acquérir.

Ma reconnaissance s'adresse également à Madame Muguette MERLIN, assistante au Service Recherche et Développement (Cedre, Brest), pour ses conseils et ses aides.

Je voudrais bien sûr remercier Madame Karyn LE MENACH, Ingénieur d'études (EPOC-LPTC-UMR 5805 CNRS), pour ses conseils, son aide au niveau des manipulations, son soutien pendant mes séjours sur Bordeaux. Elle a su jouer un rôle fondamental dans ma formation.

Je remercie tous les autres permanents du LPTC qui ont toujours accepté avec beaucoup de sympathie de m'aider ou de me donner des conseils : Sylvie AUGAGNEUR, Laurent PELUHET, Pierre LABADIE, Patrick PARDON, Emmanuel GENESTE, Marie-Hélène DEVIER.

Je suis très reconnaissant à Madame Anne-Cécile DERUELLE, Service Information et Documentation (Cedre, Brest), pour avoir accepté de m'aider à finaliser ma liste bibliographique.

Une forte pensée également aux personnels administratifs du Cedre (Michel MELLAZA, Lucien PAUGAM, Bernadette LANNUZEL, Annick GRUNY) sans qui les déplacements et les congrès n'auraient pas pu être possibles.

Je n'oublie pas Justine RECEVEUR (stagiaire et en suite CDD au Cedre) pour sa contribution à ce travail.

Je souhaite également exprimer ma gratitude à Sally FERGUSON (Alba Traduction) pour la relecture minutieuse et avertie des articles présents dans ce travail.

Mille mercis à Matthieu DUSSAUZE, doctorant au Cedre et au laboratoire ORPHY de l'UBO, pour tous les services qu'il m'a rendu ainsi que pour son éternelle bonne humeur. Je lui souhaite plein de bons résultats pour sa thèse.

Je remercie chaleureusement tous les thésards passés du Cedre avec lesquels j'ai pu partager des moments agréables, Morgane DANION, Mélanie FUHRER, Camille LACROIX.

Je ne saurais oublier les anciens CDD du Cedre, Marine RENAULT, Sophie VAN GANSE, Nolwenn LECUFF, Adeline BAS, Anne Laure GAC, Anne Laure BALCON, Estérine EVRARD, Olivier PERON, Vincent CROGUENOC, Benjamin COUZIGOU, Stéphane HERVE, à qui je souhaite une bonne continuation.

Mais une thèse est aussi une aventure humaine... C'est pour cela je souhaite adresser mes vifs remerciements à tous les autres permanents du Cedre qui ont partagé mon quotidien et souvent contribué à le rendre plus agréable. Mes sincères remerciements vont donc à Marc LAVENANT, Gérard CARIOU, Mikaël LAURENT, Loëiz DAGORN, Ivan CALVEZ, Pierre RICHARD, Loïc KÉRAMBRUN, Frédéric MELLOUËT, Vincent GOURIOU, Arnaud GUÉNA, Xavier KREMER, Christophe ROUSSEAU, Fanch CABIOC'H sans oublier évidemment les plus adorables "girls" : Anne LE ROUX, Christine OLLIVIER, Valérie ABIVEN, Sylvie RAVAILLEAU, Natalie PADEY, Emmanuelle POUPON, Martine MARC, Claudine GUÉZÉNEC, Natalie BEAU MONVOISIN, Cécile RIVOAL, Florence PONCET, Corinne CAROFF, Claudine TIERCELIN, Karine ROPARS, Karen QUINTIN, Christelle MAILLY, Annie TYGRÉAT, Delphine GUILLET.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans une pensée émue pour tous les doctorants et les contractuels que j'ai rencontré dans le ciel du LPTC : Patrick POIAGHI, Pierre VAN DELFT, Thomas GENY, Yann AMINOT, Jonathan ROBIN, Hugues BIJOUX, Hoï BUI VAN, Angel BELLES, Mohammed BENYAHIA, Sébastien SCHRAMM, Janos FARKAS, Baptiste POUSSET, Maximilien DELAFOULHOUZE, Gabriel MUNOZ, Geoffroy

DUPORTE, Guillaume LAURENT, Caroline GARDIA PAREGE, Caroline MARTIN, Maylis SAINT HUBERT, Justine CRUZ, Céciline LOURTIL, Imilla OROZCO, Samia MOKH, Abir KOUZAYA, Aisha AL ASHI, Ninette ABOU MRAD, Marion-Justine CAPDEVILLE, Coralie SOULIER, Nathalie TAPIE, Amélie GUILLON, Alisson MAGNAN, Anaïs SAINT PAUL, Nathalie DESGRANGES, Julie PEDELUCQ, Perrine WUND.

Un immense merci à tous mes amis qui ne m'ont jamais abandonné. Merci à tous pour votre patience, votre soutien : Eliane, Giselle, Jessica, Julie, Espère, Aziz, Tarek, Amar, Yasser et Nawal.

Bien sûr, je remercie tout particulièrement mes frères (Sami et Raian) et ma sœur (Rana) pour m'avoir soutenu durant ces années.

Je réserve par ailleurs une pensée très particulière pour mes parents... Merci pour tout ce que vous m'avez enseigné sur la vie, Merci de m'avoir conduit jusque-là!

Une pensée également à ceux qui ne sont plus à mes côtés, mais qui sont dans mon cœur...

Je ne pourrais terminer mes remerciements sans dire Merci à ma femme (Carole) pour son soutien et son aide.

*Et un dernier Merci à mon petit bout de chou, **Jad**, à qui je dois tout ce bonheur.*

À TOUS, MERCI

Rami

Sommaire

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
1. LES HYDROCARBURES.....	5
1.1. Les différentes familles d'hydrocarbures.....	5
1.2. Les pétroles.....	7
1.2.1. <i>La composition des pétroles.....</i>	<i>7</i>
1.2.2. <i>Les caractéristiques physiques.....</i>	<i>9</i>
1.3. Devenir d'une nappe de pétrole en milieu marin.....	10
1.3.1. <i>Les processus physico-chimiques.....</i>	<i>11</i>
1.3.2. <i>Les processus biologiques.....</i>	<i>14</i>
1.4. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).....	16
1.4.1. <i>Définition.....</i>	<i>16</i>
1.4.2. <i>Caractéristiques physico-chimiques.....</i>	<i>17</i>
1.4.3. <i>Origines des HAP.....</i>	<i>20</i>
1.4.4. <i>Outils d'identification des origines.....</i>	<i>22</i>
1.5. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS).....	24
1.6. Les dérivés alkylés des hydrocarbures polyaromatiques.....	26
2. LES TECHNIQUES DE MESURES DES COMPOSÉS CIBLÉS.....	27
2.1. La microextraction sur phase solide (SPME).....	27
2.1.1. <i>Principes et fonctionnement.....</i>	<i>27</i>
2.1.2. <i>Nature du revêtement.....</i>	<i>29</i>
2.1.3. <i>Applications de la SPME.....</i>	<i>29</i>
2.2. "Stir Bar Sorptive Extraction" (SBSE).....	37
2.2.1. <i>Théorie et principe.....</i>	<i>37</i>
2.2.2. <i>Extraction et désorption thermique.....</i>	<i>38</i>
2.2.3. <i>Facteurs affectant l'extraction.....</i>	<i>41</i>
2.2.4. <i>Facteurs affectant la désorption thermique.....</i>	<i>42</i>
2.2.5. <i>Applications de la SBSE.....</i>	<i>43</i>
3. OBJECTIFS DE THÈSE.....	49

<u>CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES</u>	<u>51</u>
1. PRÉPARATION DES ANALYTES ET DES ÉCHANTILLONS	52
1.1. Solution de calibration pour la technique SBSE	52
1.2. Solution de calibration pour la technique SPME.....	53
1.3. Solution de calibration pour l'analyse en GC-MS-MS.....	55
1.4. Préparation des fractions solubles (WAF et WSF)	55
1.5. Prélèvement des échantillons naturels	56
2. LES TECHNIQUES ANALYTIQUES EMPLOYÉES.....	57
2.1. LLE-GC-MS	57
2.2. SBSE-TD-GC-MS	57
<i>2.2.1. Extraction des analytes</i>	<i>57</i>
2.3. SPME-GC-MS.....	59
2.4. Conditions d'analyse par GC-MS	61
2.5. Mise au point d'une méthodologie de quantification par GC-MS-MS.....	61
<i>2.5.1. Développement de la méthode d'analyse des composés standards</i>	<i>62</i>
<i>2.5.2. Purification sur colonne SPE</i>	<i>65</i>
<i>2.5.3. Quantification des composés standards dans un pétrole.....</i>	<i>65</i>
<i>2.5.4. Quantification des composés alkylés non calibrés</i>	<i>66</i>
2.6. Conditions d'analyse par GC-MS-MS	66
2.7. Étalonnage et validation des méthodes développées.....	67
<i>2.7.1. Calibration par la méthode d'étalonnage interne</i>	<i>67</i>
<u>CHAPITRE III : RÉSULTATS.....</u>	<u>73</u>
Liste des publications :	74
Publication n°1 : Identification et quantification des hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS) dissous dans l'eau de mer par "stir bar sorptive extraction" (SBSE) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC-MS).....	75

Publication n°2 : Caractérisation des systèmes eaux-pétroles par "stir bar sorptive extraction" (SBSE) couplée à la chromatographie en phase gazeuse (GC) et à la spectrométrie de masse (MS).....	92
Publication n°3 : Développement d'une méthodologie pour la détermination des HAP et HAPS dissous dans l'eau de mer par "stir bar sorptive extraction" (SBSE) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC-MS).....	104
Publication n°4 : Quantification des hydrocarbures aromatiques polycycliques et de leurs dérivés alkylés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS-MS) pour qualifier un pétrole de référence.	129
Publication n° 5 : Extraction des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans l'eau de mer par la microextraction sur phase solide (SPME) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC-MS).....	146
Publication n° 6 : Intérêt de la microextraction sur phase solide (SPME) couplée à la GC-MS-MS pour l'analyse des HAP et HAPS dans l'eau de mer.	163
<u>CHAPITRE IV : SYNTHÈSE</u>	<u>174</u>
1. Contexte	175
2. Développements analytiques	176
2.1. Mise au point d'une méthode d'extraction (SBSE) et d'analyse (GC-MS) des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans l'eau de mer (publications n° 1, 2, 3)	176
2.2. Mise au point d'une méthode de dosage (GC-MS-MS) des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans les produits pétroliers (publications n° 4)	180
2.3. Mise au point d'une méthode d'extraction (SPME) et d'analyse (GC-MS et MS-MS) des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans l'eau de mer (publications n° 5 et 6)..	184
<u>CONCLUSION GÉNÉRALE</u>	<u>188</u>

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 192

ANNEXES 219

Liste des Annexes 220

Annexe 1 : Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et HAPS (SBSE-GC-MS) 221
Annexe 2 : Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et HAPS (SPME-GC-MS) 228
Annexe 3 : Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et HAPS (GC-MS-MS)... 234
Annexe 4 : Chromatogrammes des composés d'intérêt dans l'analyse en GC-MS 240
Annexe 5 : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
simple et en tandem 254
Annexe 6 : Curriculum vitae..... 258

Liste des figures

Figure 1. Structures de quelques hydrocarbures appartenant aux différentes familles. NB : les alcynes sont absents dans les organismes vivants et dans les pétroles	6
Figure 2. Ensemble des hydrocarbures et des composés non-hydrocarbonés présents dans les pétroles bruts... 8	8
Figure 3. Processus physico-chimiques et biologiques affectant le devenir des hydrocarbures pétroliers au sein de la colonne d'eau et des sédiments (d'après Mirales, 2007).	11
Figure 4. Structures chimiques des HAP. [*Substances prioritaires selon l'agence de l'environnement des États-Unis d'Amérique (US-EPA)].	17
Figure 5. Différentes origines des HAP dans l'environnement (d'après Bertrand <i>et al.</i> , 2011).....	20
Figure 6. Structures chimiques des HAPS. NB : dans les pétroles bruts, le benzo[<i>b</i>]thiophène, le dibenzo[<i>b,d</i>]thiophène et leurs dérivés alkylés sont plus abondants que les autres composés soufrés (Ho <i>et al.</i> , 1974; Tissot et Welte, 1984; Andersson et Schmid, 1995; Liang <i>et al.</i> , 2006).....	25
Figure 7. Les dérivés alkylés du phénanthrène.	26
Figure 8. Familles d'alkylés du phénanthrène.	26
Figure 9. Représentation schématique de la SPME. A : extraction des analytes. B : désorption thermique et analyse en GC-MS	28
Figure 10. Principe d'extraction par SBSE (mode classique).	38
Figure 11. Extraction par "headspace sorptive extraction" (mode HSSE).	39
Figure 12. Échantillonneur SBSE portable. (a) mode immersion direct (SBSE), (b) mode "headspace" (HSSE), et (c) mode flux en continue (CF-SBSE) (d'après Mao <i>et al.</i> , 2012).	40
Figure 13. Schéma de préparation d'une solution de "water accommodated fraction" (WAF). A : déversement du pétrole à la surface de l'eau (rapport pétrole/eau : 1/100 000 ; rapport phase gazeuse/phase aqueuse : 1/4), B : agitation de l'échantillon durant 24 h (en évitant l'apparition de vortex ou de gouttelettes dans la colonne d'eau), C : prélèvement de la solution de WAF.	56
Figure 14. Protocole d'extraction et d'analyse en SBSE-TD-GC-MS.....	58
Figure 15. Schémas de l'unité de désorption thermique (TDU) montée en série avec l'injecteur à programmation de température (CIS) (à gauche) relié au dispositif d'introduction des composés dans la colonne capillaire (à droite).	59
Figure 16. Extraction et analyse par SPME-GC-MS. A : représentation schématique de la SPME (d'après De Perre <i>et al.</i> , 2009). B : analyse d'un échantillon d'eau par SPME-GC-MS.	60
Figure 17. Chromatogramme de la solution contenant tous les composés individuels à la concentration de 100 ng/mL (injection 1 µL, colonne HP-5MS, ionisation en impact électronique, acquisition en mode SIM). 62	62
Figure 18. Choix des ions fils de quantification et de qualification ("quantifier et qualifier").	63
Figure 19. Courbe d'étalonnage du benzo[<i>b</i>]naphto[1,2- <i>d</i>]thiophène.	68
Figure 20. Dosage des HAP dans la fraction soluble du fioul de l'Erika par SBSE-TD-GC-MS et LLE-GC-MS ($n = 3$).	177

Figure 21. Cinétiques d'extraction de quelques composés en fonction du temps d'extraction. Conditions : 100 mL d'eau de mer, un film PDMS de 0,5 mm d'épaisseur, vitesse d'agitation (700 tr/min), température (21°C). L'extrait est ensuite analysé par TD-GC-MS ($n = 3$).	178
Figure 22. Extraction et analyse des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans un échantillon d'eau de mer par SBSE-TD-GC-MS ($n = 3$).	179
Figure 23. Courbes de calibration des benzothiophènes et chrysènes en mode MRM.	180
Figure 24. Courbes de calibration des naphthalènes et dibenzothiophènes en mode MRM.	181
Figure 25. Comparaison des coefficients de réponse des familles de phénanthrènes/anthracènes et naphthalènes en modes SIM et MRM.	182
Figure 26. Estimation du coefficient de réponse des C ₁ -fluorènes (MM_1/MM : masse molaire des C ₁ /masse molaire des parents. CR_1/CR : coefficients de réponse des C ₁ /coefficients de réponse des parents).	183
Figure 27. Extraction et analyse des composés d'intérêt dans la WAF de l'Erika par SPME-GC-MS ($n = 3$).	186
Figure 28. Intérêt de la SPME-GC-MS-MS dans le cas de l'analyse simultanée des HAP et HAPS.	187
Figure 29. Spectromètre de masse en tandem (Sablier, 2010).	256

Liste des tableaux

Tableau 1. Solubilité de quelques hydrocarbures dans l'eau distillée (mg/L) à 25 °C (Mackay <i>et al.</i> , 1992). NB: dans l'eau de mer ces solubilités sont inférieures d'environ 25% à celles présentées dans le tableau.	12
Tableau 2. Propriétés physico-chimiques des HAP.	19
Tableau 3. Principaux déversements d'hydrocarbures dus à des accidents de navires-citernes, dans les eaux européennes (d'après les données de l'ITOPF).	21
Tableau 4. Valeurs de quelques indices moléculaires caractérisant l'origine des HAPs.	23
Tableau 5. Les fibres de la SPME commercialement disponibles (d'après Vas et Vékey, 2004).	29
Tableau 6. Applications environnementales de la SPME.	31
Tableau 7. Applications alimentaires de la SPME.	33
Tableau 8. Applications pharmaceutiques et biomédicales de la SPME.	35
Tableau 9. TDU paramètres et analytes étudiés dans certains travaux.	43
Tableau 10. Applications environnementales de la SBSE.	45
Tableau 11. Applications alimentaires de la SBSE.	46
Tableau 12. Applications pharmaceutiques et biomédicales de la SBSE.	48
Tableau 13. Liste des analytes dosés en SBSE-TD-GC-MS ainsi que des étalons internes utilisés pour les quantifier.	52
Tableau 14. Liste des analytes dosés en SPME-GC-MS et MS-MS ainsi que des étalons internes utilisés pour les quantifier.	54
Tableau 15. Conditions MRM (transitions et énergie de collision) obtenus pour les composés étudiés.	64
Tableau 16. Limites de détection (LD) et de quantification (LQ) selon la méthodologie utilisant la SBSE-GC-MS. LD calculées selon la méthode de la droite d'étalonnage.	70
Tableau 17. Limites de détection (LD) et de quantification (LQ) selon la méthodologie utilisant la SPME-GC-MS et MS-MS. LD calculées selon la méthode de la droite d'étalonnage.	70
Tableau 18. Limites de détection (LD) et de quantification (LQ) selon la méthodologie utilisant la GC-MS-MS. LD calculées selon la méthode de la droite d'étalonnage.	72
Tableau 19. Concentration des analytes d'intérêt dans le fioul de l'Erika.	183

Abréviations

Acy : Acénaphtylène

Ace : Acénaphène

Ant : Anthracène

API : "American petroleum institute"

AP : Alkylphénols

B : Biphényl

B[b]N[2,1-d]T : Benzo[b]naphto[2,1-d]thiophène

B[b]N[1,2-d]T : Benzo[b]naphto[1,2-d]thiophène

B[a]Ant : Benzo[a]anthracène

B[b]Fluo : Benzo[b]fluoranthène

B[j]Fluo : Benzo[j]fluoranthène

B[k]Fluo : Benzo[k]fluoranthène

B[e]Pyr : Benzo[e]pyrène

B[a]Pyr : Benzo[a]pyrène

B[ghi]P : Benzo[ghi]pérylène

BPA : Biphénols-A

BSTFA : "Bis-(Trimethylsilyl)trifluoroacetamide"

BTEX : Benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes

CAR : Carboxen

CAP : Chloramphénicol

Cedre : Centre de documentation, de recherche et d'expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux

COV : Composés organiques volatils

COSV : Composés organiques semivolatils

Chry : Chrysène

CIS : "Cooled injection system"

Cor : Coronène

CPI : "Carbon preference index"

CP : Chlorophénols

CROSSERF : "Chemical Response to Oil Spills: Ecological Research Forum"

CW : Carbowax

DB[b,d]T : Dibenzo[b,d]thiophène

DB[*a,h*]Ant : Dibenzo[*a,h*]anthracène

DB[*a,c*]Ant : Dibenzo[*a,c*]anthracène

DCP : Dichlorophénol

DCB : Dodécylcyclobutanone

DCE : Directive cadre sur l'eau

DED : "Direct extraction device"

DL : Désorption liquide

DMN : Diméthylnaphtalène

DMDBT : Diméthyl dibenzothiophène

DMPhe : Diméthylphénanthrène

DEDBT : Diéthyl dibenzothiophène

DI : "Direct immersion"

DT : Désorption thermique

DVB : Divinylbenzène

EDC : "Endocrine disrupting chemicals"

EPOC : Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux

F : Fluorène

FPD : "Flame photometric detection"

Fluo : Fluoranthène

FTD : "Flame thermoionic detection"

GC-ECD : Chromatographie en phase gazeuse-détection à capture électronique

GC-FID : Chromatographie en phase gazeuse-détecteur à ionisation de flamme

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse simple

GC-MS-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem

GC-ID-MS : Chromatographie en phase gazeuse-dilution isotopique-spectrométrie de masse simple

GC-TOF-MS : Chromatographie en phase gazeuse-temps de vol- spectrométrie de masse simple

HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques

HAPS : Hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés

HMW : "High molecular weight"

HRTOF : "High-resolution time of flight"

HS : "Headspace"

HSSE : "Headspace sorptive extraction"

I[1,2,3-*cd*]Pyr : Indéno[1,2,3-*cd*]pyrène

IT-MS : "Ion trap"-spectrométrie de masse simple

LD : Limites de détection

LVI : "Large volume injection"

LMW : "Low molecular weight"

LC-MS : Chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse simple

LC-DAD : Chromatographie en phase liquide-"diode array detector"

LC-ECD : Chromatographie en phase liquide-détection à capture électronique

LC-FLD : Chromatographie en phase liquide-détection par fluorescence

LC-UV : Chromatographie en phase liquide-détection par ultraviolet

LLE : Extraction liquide-liquide

LPTC : Laboratoire de Physico- et Toxico-Chimie de l'environnement

LQ : Limites de quantification

MA : "Microwave-assisted"

MN : Méthylnaphtalène

MBT : Méthylbenzothiophène

MPhe : Méthylphénanthrène

MAnt : Méthylanthracène

MFluo : Méthylfluoranthène

MPyr : Méthylpyrène

MChry : Méthylchrysène

MDBT : Méthyldibenzothiophène

MRM : "Multiple reaction monitoring"

MTBE : "Methyl tert-butyl ether"

MTCS : Méthyltriclosan

NaphtylBT : Naphtylbenzothiophène

N[2,3-*b*]T : Naphto[2,3-*b*]thiophène

N : Naphtalène

NP : Nonylphénols

NPG : "Nonylphenol glucuronide"

ITOPF : "International Tanker Owners Pollution Federation"

K_p : Coefficient de partage sédiment/eau

K_{ea} : Coefficient de partage eau/air

K_{oc} : Coefficient de partage carbone organique/eau

K_{ow} : Coefficient de partage n-octanol/eau

OPG : "Octylphenol glucuronide"

PACs : "Polycyclic aromatic compounds"

PA : Polyacrylates

PASHs : "Polycyclic aromatic sulfur heterocycles"

PBD: Polybromodiphényles

PBDE : Polybromodiphényléthers

PCA : Pentachloroanisole

PCB : Polychlorobiphényles

PCP : Pentachlorophénol

PDMS : Polydiméthylsiloxane

PE : Phtalates éthers

PEG-CNTs : Polyéthylène glycol-carbone nanotube

PFPD : Détecteur à photométrie de flamme pulsée

PhénylT : Phénylthiophène

Phe : Phénanthrène

POC : Pesticides organochlorés

POP : Pesticides organophosphorés

Poly(VBHI_m+NTf₂-) : "Poly(1-(4-vinylbenzyl)-3-hexadecyllimidazolium bis [(Trifluorométhyl)sulfonil]imide"

P : Pérylène

Pyr : Pyrène

Pe : Point d'ébullition

Pf : Point de fusion

P_{vs} : Pression de vapeur saturante

R : Rétène

SBSE : "Stir bar sorptive extraction"

SIM : "Single ion monitoring"

SCCP : "Short-chain chlorinated paraffins"

SPME : "Solid phase microextraction"

SPE : "Solid phase extraction"

TDU : "Thermal desorption unit"

TMDBT : Tétraméthylidibenzothiophène

TCA : Trichloroanisole

TCS : Triclosan

TeCA : Tétrachloroanisole

THM : Trihalométhanes

TOF : "Time of flight"

TPR : "Templated resin"

Triph : Triphénylène

TSD : "Thermionic specific detection"

US-EPA : Agence américaine de protection de l'environnement

WAF : "Water accommodated fraction"

WSF : "Water soluble fraction"

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Les sociétés modernes ont une économie qui repose essentiellement sur le pétrole, source de toutes les convoitises qui ne cesse de s'accroître depuis le milieu du XIX^e siècle avec la montée en puissance des pays émergents. De par sa grande variété d'utilisations, soit directement en tant que source d'énergie soit en tant que matière première dans l'industrie chimique, le pétrole est devenu une des marchandises les plus transportées à l'échelle du globe. Aujourd'hui encore, ce transport, qui se fait essentiellement par voie maritime, n'est pas sans risque pour l'environnement qui peut subir des pressions chroniques comme des déversements plus ou moins conséquents à partir des raffineries des oléoducs, voire des pressions de plus large ampleur comme les accidents pétroliers encore appelés marées noires.

Afin d'évaluer l'impact des hydrocarbures déversés dans le milieu aquatique, il est nécessaire de développer des méthodologies analytiques permettant de les identifier et de les quantifier. Cependant, les interrogations concernant la toxicité des hydrocarbures déversés dans l'environnement se heurtent généralement à l'absence de données. En effet, la plupart des études réalisées sur les hydrocarbures, notamment aromatiques, se limitent à la quantification des 16 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) identifiés par l'Agence américaine de Protection Environnementale (US-EPA) et considérés, pour certains d'entre eux, comme cancérigènes. Or, les HAP, leurs analogues soufrés (hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés : HAPS) ainsi que leurs homologues ramifiés non classés en tant que cancérigènes peuvent néanmoins présenter un risque et ne peuvent pas nécessairement être considérés comme non cancérigènes par manque de données. Il existe donc une réelle nécessité de compléter la liste des HAP classiquement étudiés par leurs analogues soufrés (HAPS) et leurs dérivés alkylés, dont la toxicité et l'abondance poseraient autant voire plus de problèmes environnementaux.

L'analyse des hydrocarbures dans la phase aqueuse requiert des étapes assez lourdes et fastidieuses de préparation, d'extraction, de purification et de reconcentration d'échantillon préalablement à leur séparation et détection. Ceci oblige à disposer de méthodes, qui soient suffisamment rapides, routinières et sensibles et qui, également, fournissent des résultats fiables.

Les travaux réalisés lors de ce doctorat s'inscrivent ainsi dans ce contexte et ont pour objectifs de développer de nouveaux outils analytiques, performants, rapides et utilisables en routine, pour l'extraction et l'analyse simultanées des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés.

L'exposé de cette étude s'articule en différents chapitres. Le **chapitre I** présente une synthèse des connaissances actuelles sur les hydrocarbures, les HAP, HAPS ainsi que leurs dérivés alkylés, et fait un point sur l'état de l'art des méthodologies analytiques employées pour l'extraction et l'analyse d'une grande variété de composés. Le **chapitre II** regroupe les outils analytiques employés ainsi que les différentes études réalisées lors de ces travaux de recherche. Dans une troisième partie (**chapitre III**), les résultats obtenus lors de cette thèse sont présentés sous la forme d'articles. Les trois premiers articles (publications n° 1, 2 et 3) présentent les développements méthodologiques de la "stir bar sorptive extraction" (SBSE) pour l'analyse des composés d'intérêt ainsi que leurs validations et applications dans des systèmes eaux-pétroles, ("water accommodated fraction" : WAF et "water soluble fraction" : WSF), et dans le milieu naturel. Le quatrième article consiste à présenter la mise au point d'une méthodologie d'analyse par GC-MS-MS permettant de définir un produit pétrolier de référence contenant l'ensemble des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés. Ce travail visait à proposer une méthode pour quantifier les composés alkylés non disponibles dans le commerce et donc dans les solutions de calibration usuelles. Une méthodologie d'extraction ("solid phase microextraction" : SPME) et d'analyse (GC-MS et GC-MS-MS) des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés, facile à mettre en œuvre et utilisable en routine est présentée dans les publications n°5 et 6. Le chapitre suivant (**chapitre IV**) est consacré à une revue de synthèse de l'ensemble des résultats, détaillés dans le chapitre précédent. Enfin, une **conclusion générale** ainsi que des **perspectives** de recherche finalisent ce manuscrit.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. LES HYDROCARBURES

Les hydrocarbures, au sens chimique du terme, sont des composés organiques exclusivement constitués d'hydrogène et de carbone, associés sous la forme de molécules d'une grande diversité, de la plus simple, le méthane (CH_4), constituant principal du gaz naturel, aux plus complexes que l'on trouve dans les fractions lourdes des pétroles bruts et dans les schistes bitumineux (Vandecasteele, 2005). Les hydrocarbures font partie de la vie quotidienne, ils sont présents de façon ubiquiste dans l'environnement en raison de la multiplicité de leurs origines à la fois naturelles et anthropiques (Commendatore et Esteves, 2004; Volkman *et al.*, 1992). Leur devenir dans le milieu marin est soumis à un ensemble de processus physico-chimiques et biologiques.

1.1. Les différentes familles d'hydrocarbures

Les hydrocarbures peuvent être regroupés en trois familles : (i) *les hydrocarbures saturés*, qui ne possèdent pas de double ou de triple liaison ; ils peuvent être linéaires (*n*-alcane ou paraffines), ramifiés (isoparaffines) ou cycliques (cycloalcane, appelés aussi naphthènes) (Figure 1) ; (ii) *les hydrocarbures insaturés*, qui possèdent une à plusieurs double(s) liaison(s) (alcènes¹) ou triple(s) liaisons (alcynes) ; les hydrocarbures (poly)insaturés, alcènes, sont principalement d'origine biogénique, synthétisés par des organismes vivants ; à titre d'exemple, les phytadiènes se retrouvent dans le zooplancton, les mollusques lamellibranches et les poissons (Blumer et Thomas, 1965; Grossi *et al.*, 1996) ; chez le requin, le squalène ($\text{C}_{30}\text{H}_{50}$) (Figure 1), est fabriqué et stocké dans le foie (Bakes et Nichols, 1995; Deprez *et al.*, 1990; Fernández *et al.*, 2012) ; (iii) *les hydrocarbures aromatiques*, qui comportent un cycle aromatique (composés mono-aromatiques) ou plusieurs cycles aromatiques (composés polyaromatiques) ; une description plus précise des hydrocarbures polyaromatiques sera présentée ultérieurement.

¹ Ces composés, peu stables, sont transformés par les processus diagénétiques, ce qui explique leur absence dans les pétroles bruts d'origine fossile.

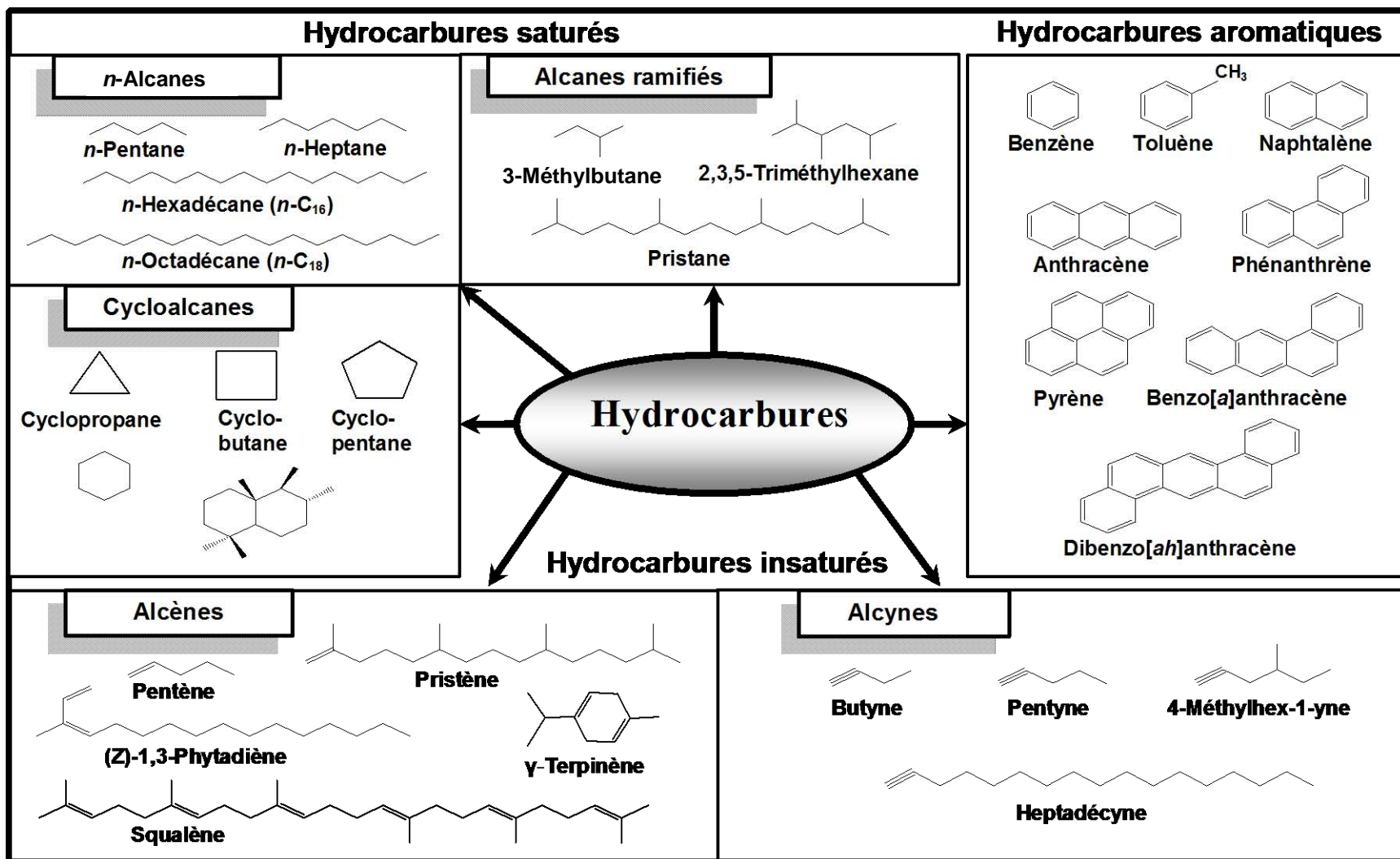


Figure 1. Structures de quelques hydrocarbures appartenant aux différentes familles. NB : les alcynes sont absents dans les organismes vivants et dans les pétroles et ne proviennent, dans le milieu naturel, que d'intermédiaires des résidus industriels.

1.2. Les pétroles

1.2.1. La composition des pétroles

Les pétroles bruts sont des mélanges extrêmement complexes d'hydrocarbures et de composés non-hydrocarbonés (Lefebvre, 1978). Ils renferment plus de 20 000 structures différentes et présentent des compositions chimiques variables (Tissot et welte, 1984). Les hydrocarbures (saturés et aromatiques) sont majoritaires, représentent environ 80% en masse de la plupart des pétroles bruts. Les autres constituants d'un pétrole (environ 5 à 20%) sont les asphaltènes, les résines, les composés azotés, soufrés, oxygénés (N, S, O), les porphyrines ainsi que des métaux (Figure 2).

Les hydrocarbures saturés

(i) Les *n*-alcanes

Les *n*-alcanes sont des composés à chaînes linéaires de formule brute C_nH_{2n+2} . Ils représentent en général 10 à 40% d'un pétrole brut (Bertrand et Mille, 1989). Le nombre d'atomes de carbone peut varier de 1 (méthane) jusqu'à plus de 60 (*n*-hexacontane). Les chaînes à nombre pair d'atomes de carbone et à nombre impair d'atomes de carbone sont en proportions sensiblement égales². ("Carbon Preference Index" : CPI³ voisin de 1) (Bray et Evans, 1961; Gao et Chen, 2008; Marzi *et al.*, 1993; Seki *et al.*, 2006).

(ii) Les alcanes ramifiés

La ramification est généralement constituée par un groupement méthyle (CH₃). Les alcanes ramifiés se trouvent généralement dans des proportions sensiblement égales à celles des *n*-alcanes. Ils regroupent principalement les alcanes monoramifiés (*iso*- et *antéiso*-alcanes)⁴, les plus abondants, et les isoprénoïdes (polyramifiés) tels que le pristane (2, 6, 10, 14-tétraméthylpentadécane) et le phytane (2, 6, 10, 14-tétraméthylhexadécane)⁵ (Figure 2).

(iii) Les cycloalcanes

Les cycloalcanes peuvent représenter 30 à 45% d'un pétrole brut. Ils forment une famille complexe de composés saturés cycliques le plus souvent substitués.

² C'est d'ailleurs une propriété caractéristique d'un pétrole. Pour les *n*-alcanes biogènes, il y a une prédominance des chaînes à nombre de carbone impair (Souza *et al.*, 2011a; Xiao *et al.*, 2008).

³ Donne le rapport entre les *n*-alcanes à chaînes impaires et les *n*-alcanes à chaînes paires (Bi *et al.*, 2003; Fraser *et al.*, 2002; Lin et Lee, 2004; yassaa *et al.*, 2001; Zheng *et al.*, 2000).

⁴ *Iso*-alcanes : groupement méthyle en position α . *Antéiso*-alcanes : groupement méthyle en position β .

⁵ Ce sont les deux hydrocarbures isoprénoïques les plus fréquemment rencontrés (Rontani et Bonin, 2011; Volkman et Maxwell, 1986).

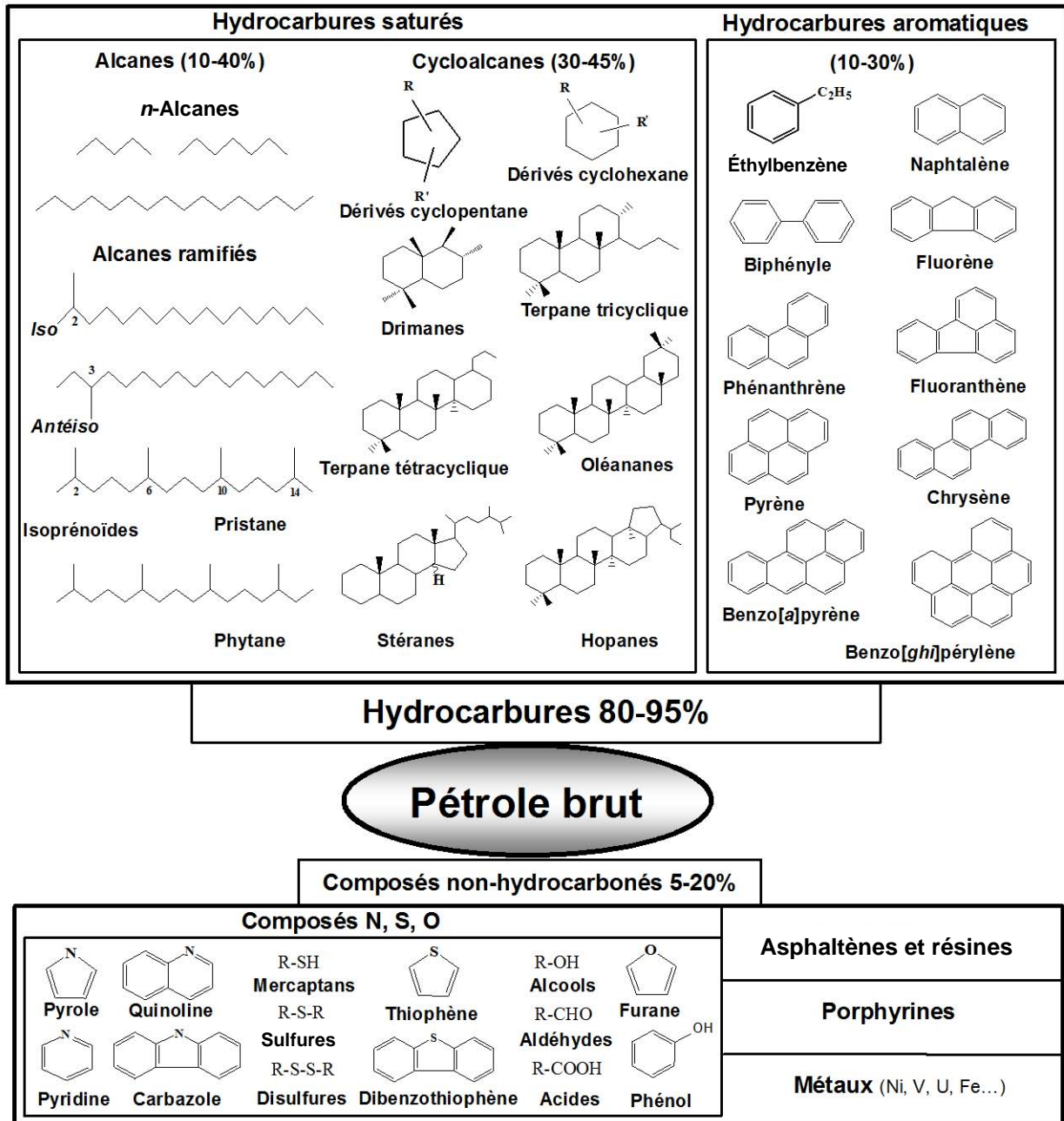


Figure 2. Ensemble des hydrocarbures et des composés non-hydrocarbonés présents dans les pétroles bruts.

À côté de nombreux dérivés cyclopentaniques et cyclohexaniques, quelques dérivés polycycliques sont également présents tels que les stéranes et les hopanes (Figure 2). Ces derniers représentent une véritable empreinte digitale évolutive. Du fait de leur grande stabilité, ils sont utilisés en géochimie organique sous le terme de "marqueurs biogéochimiques" afin de caractériser la maturation d'un pétrole brut et d'identifier son origine. Ils sont également utilisés pour le suivi d'une pollution pétrolière (Doumenq *et al.*, 2005; Jacquot *et al.*, 1999; Le Dréau *et al.*, 1997a, 1997b; Silva et Bicego, 2010; Yim *et al.*, 2011).

Les hydrocarbures aromatiques

Les hydrocarbures aromatiques constituent un mélange de nombreux composés, tels que les benzènes mono et polyalkylés et les polyaromatiques. De toxicité élevée, ils ne représentent en général, que 10 à 30% d'un pétrole brut. Les composés alkylés sont, la plupart du temps, plus abondants que les molécules homologues non substituées dont ils dérivent ⁶ (Tissot et Welte, 1984; Wang et Fingas, 1999). Certains cycles aromatiques peuvent être associés à des noyaux saturés (cycle à 5 ou 6 carbones). De tels composés sont qualifiés de naphténoaromatiques.

Les composés non-hydrocarbonés

Les composés non-hydrocarbonés sont : (i) *les asphaltènes et les résines* : ce sont des composés lourds et fonctionnalisés de structure chimique complexe à base de cycles aromatiques condensés, de naphténoaromatiques, de ramifications et d'hétéroatomes (Boukir *et al.*, 1998) ; (ii) *les composés N, S, O* : ce sont, en général, des constituants mineurs d'un pétrole brut (Lefebvre, 1978), à l'exception des pétroles très lourds ; les dérivés soufrés sont dans la plupart des cas plus abondants que les composés oxygénés ou azotés (Bertrand et Mille, 1989) ; (iii) *les porphyrines* : elles sont présentes dans les pétroles presque exclusivement sous forme de complexes de vanadium ou de nickel provenant de la dégradation des chlorophylles, et leurs teneurs varient entre 1 et 3 500 mg/L. Cette catégorie atteste de l'origine biologique des pétroles (Escobar *et al.*, 2012; Huseby *et al.*, 1996; Tissot, 1997).

Enfin, des métaux sont présents dans les pétroles bruts à l'état de traces. Le vanadium, le nickel sont généralement les plus abondants mais du fer, du cuivre et de l'uranium ont également été détectés (Bertrand et Mille, 1989; Escobar *et al.*, 2012; Lefebvre, 1978).

1.2.2. Les caractéristiques physiques

Les caractéristiques physiques les plus importantes ayant une incidence sur le devenir d'un pétrole déversé dans le milieu marin sont :

(i) La densité

La densité d'un pétrole s'exprime par le rapport de sa masse volumique sur celle de l'eau. Elle déterminera sa capacité à flotter, et elle donnera également une indication sur

⁶ C'est d'ailleurs un critère qui permet de distinguer une origine pétrolière d'une origine pyrolytique, où les dérivés substitués sont d'autant moins abondants que les températures de combustion sont plus importantes (Boehm *et al.*, 1997; Garrigues *et al.*, 1995).

certaines de ses propriétés physico-chimiques. Ainsi, les pétroles de faible densité ont tendance à être très fluides et à renfermer un pourcentage élevé de composés volatils (ITOPF, 1987).

La plupart des pétroles ont une densité inférieure à 1 (0,8 à 0,95 kg/L) ce qui leur confère une aptitude à flotter. La densité des pétroles est généralement exprimée en degrés API ("American Petroleum Institute") selon l'expression :

$$\text{Densité en API} = (141,5 / \text{densité}) - 131,5$$

(ii) La viscosité

La viscosité d'un pétrole est une mesure de sa résistance au cisaillement. Elle est plus communément connue sous le nom de résistance à l'écoulement. Ainsi, les pétroles à faible viscosité auront tendance à s'étaler facilement à la surface de l'eau, ce qui n'est pas vrai pour les pétroles visqueux.

(iii) Les propriétés de distillation (courbes d'étêtage)

Les propriétés de distillation d'un pétrole reflètent sa volatilité et elles sont caractérisées par son pourcentage à distiller pour une gamme de températures données. Ainsi, la fraction d'un pétrole susceptible de s'évaporer lors d'une dérive en mer peut être estimée à partir d'une courbe d'étêtage.

(iv) Le point d'écoulement

Le point d'écoulement est la température en dessous de laquelle un pétrole ne s'écoule plus. Si la température ambiante est inférieure à son point d'écoulement, le pétrole en question se comportera comme un solide (ITOPF, 1987).

(v) Le point éclair

Le point éclair est la température la plus basse à laquelle un pétrole dégage une vapeur qui brûle immédiatement lorsqu'on l'enflamme (Guide d'intervention chimique, Cedre, décembre, 2008).

1.3. Devenir d'une nappe de pétrole en milieu marin

Le devenir d'une nappe de pétrole dans le milieu marin est lié à des processus physico-chimiques et biologiques, responsables de sa transformation ou de sa disparition partielle ou totale (Figure 3). L'importance relative de ces processus dépend de la nature et de la quantité des hydrocarbures présents ainsi que des conditions environnementales.

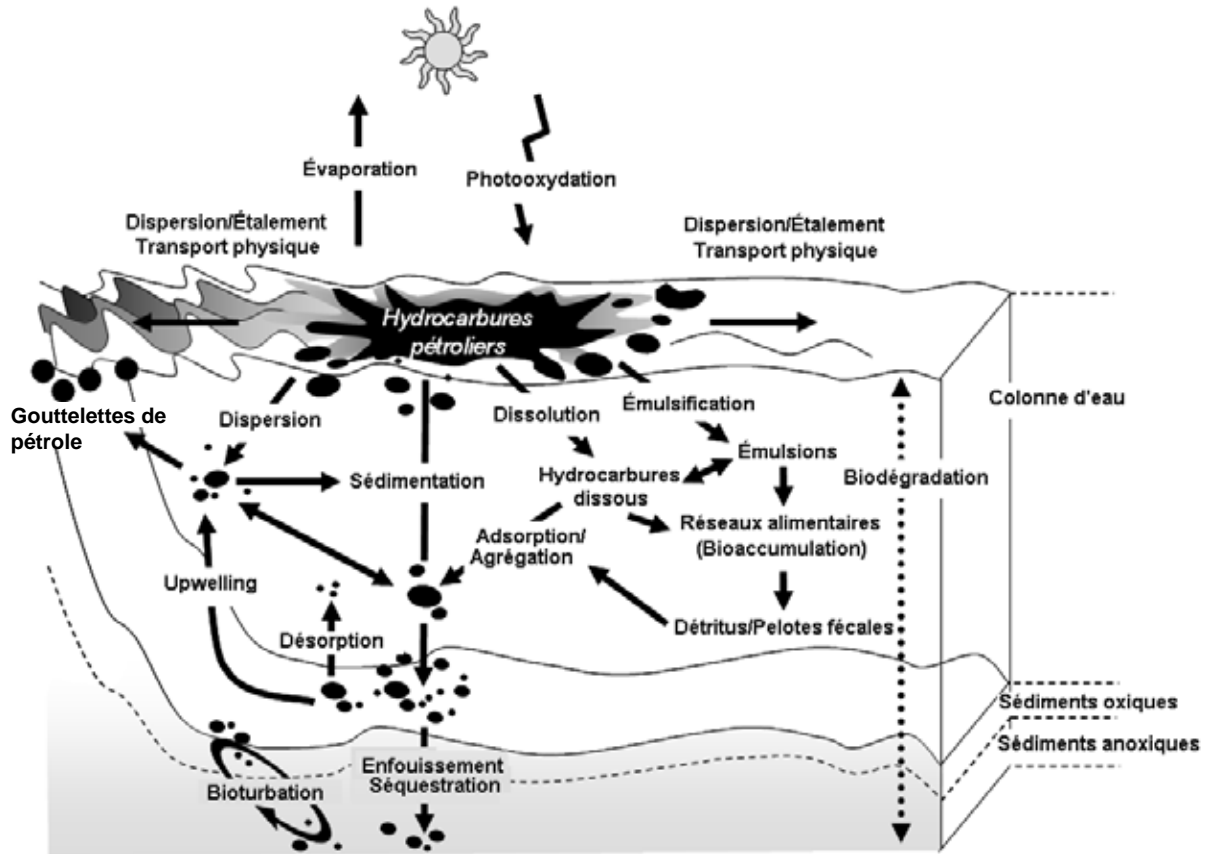


Figure 3. Processus physico-chimiques et biologiques affectant le devenir des hydrocarbures pétroliers au sein de la colonne d'eau et des sédiments (d'après Mirales, 2007).

1.3.1. Les processus physico-chimiques

(i) Étalement, dispersion et transport physique

L'étalement est le premier phénomène qui se produit suite à un déversement de pétrole en mer. La nappe ainsi formée va dériver sous l'influence du vent (3%) et des courants de surface (100%). De plus, selon l'agitation de surface, des gouttelettes de pétrole peuvent être arrachées de la nappe pour diffuser horizontalement et verticalement dans la colonne d'eau. L'étalement, la dispersion et le transport d'une nappe de pétrole dans la sphère marine sont donc gouvernés par des facteurs hydrologiques et météorologiques tout en restant intimement liés à la nature chimique de l'hydrocarbure (viscosité et densité) (Le Floch *et al.*, 2002a).

(ii) Évaporation

Dans le cas d'une marée noire, l'évaporation peut être le processus le plus important en termes de bilan massique. Malgré son importance, il existe relativement peu d'études physico-chimiques concernant l'évaporation du pétrole (Fingas, 1995; National Research

Council, 2003). Ceci s'explique par la complexité des constituants du pétrole et des différents paramètres mis en jeu. Ce phénomène dépend en effet des températures respectives de l'eau et de l'air, de l'hydrodynamisme (agitation, marée, courants, houle), de la viscosité et de l'épaisseur de la nappe. Durant les 24 à 48 premières heures qui suivent un déversement, l'évaporation constitue le principal agent de disparition du pétrole. Les hydrocarbures les plus légers ($< C_{15}$), moyens ($C_{15}-C_{20}$) et lourds ($> C_{25}$) sont éliminés, par cette voie jusqu'à 75,40 et 10% respectivement, quelques jours après le déversement du pétrole, pouvant conduire à une pollution de l'atmosphère.

(iii) Dissolution

La dissolution dépend de la composition chimique du pétrole, de l'étendue de la nappe, des conditions physico-chimiques, comme par exemple, la température, la salinité, le vent ou les vagues. Elle est aussi fonction de la viscosité du pétrole. Seuls quelques composants du pétrole sont partiellement solubles, donc la dissolution implique uniquement une faible fraction du pétrole initial. Généralement, un hydrocarbure est d'autant plus soluble dans l'eau que sa masse moléculaire est faible et sa polarité élevée. Les hydrocarbures aromatiques sont donc plus solubles que les hydrocarbures saturés. Dans une même famille, la décroissance de la solubilité avec l'augmentation du poids moléculaire est exponentielle (Tableau 1).

Tableau 1

Solubilité de quelques hydrocarbures dans l'eau distillée (mg/L) à 25 °C (Mackay *et al.*, 1992). NB : dans l'eau de mer ces solubilités sont inférieures d'environ 25% à celles présentées dans le tableau.

<i>n</i> -Alcanes	Solubilité (mg/L)	Aromatiques	Solubilité (mg/L)
Pentane (<i>n</i> -C ₅)	40	Benzène	1700
Hexane (<i>n</i> -C ₆)	10	Toluène	530
Heptane (<i>n</i> -C ₇)	3	Éthylbenzène	170
Octane (<i>n</i> -C ₈)	1	Para-Xylène	175
Dodécane (<i>n</i> -C ₁₂)	0,01	Naphtalène	30
Triacotane (<i>n</i> -C ₃₀)	0,002	1-Méthylnaphtalène	28
		1,3-Diméthylnaphtalène	8
		1,3,6-Triméthylnaphtalène	2
		Fluorène	2
		Phénanthrène	1
		Chrysène	0,002

(iv) Émulsification

L'émulsification modifie considérablement les propriétés et les caractères du pétrole déversé. Lorsque les conditions d'agitation sont suffisantes et en présence de composés

ayant des propriétés tensioactives (certains constituants du pétrole appartenant à la famille des asphaltènes), deux types d'émulsions peuvent se former : eau-dans-huile appelée "mousse chocolat", et huile-dans-eau (National Research Council, 2003). Les émulsions eau-dans-huile contiennent entre 60 et 80% d'eau sous forme de gouttelettes de 1 à 20 µm, provoquant une augmentation du volume de pétrole de départ de 3 à 5 fois (Fingas, 1995). Leur densité est généralement supérieure à celle du pétrole d'origine (1,03 comparée à 0,8-0,95). Ces émulsions, difficilement dégradables, sont les précurseurs des résidus goudronneux retrouvés sur les plages. Les émulsions huile-dans-eau, quant à elles, sont bien moins stables et elles correspondent à des gouttelettes d'hydrocarbures entourées d'une enveloppe de molécules d'eau en suspension dans la colonne d'eau. Ces agrégats vont dériver sous l'influence des courants de surface.

(v) Photooxydation

La lumière solaire possède une énergie suffisante pour favoriser la transformation de nombreux hydrocarbures dans l'eau de mer, jusqu'à environ 25 m de profondeur. L'efficacité de ce phénomène dépend de l'intensité, de la nature (spectre de longueurs d'ondes) et de la durée de l'exposition, de la nature des hydrocarbures ainsi que de la présence éventuelle de composés non-hydrocarbonés (Bertrand et Mille, 1989; National Research Council, 2003). La photooxydation touche plus particulièrement les hydrocarbures aromatiques qui sont plus photosensibles que les hydrocarbures saturés (Dutta et Harayama, 2000). Parmi ces derniers, les composés ramifiés sont plus facilement photooxydés que les *n*-alcane (Rontani et Giusti, 1987). L'incorporation photochimique de l'oxygène conduit à la formation d'un nombre important de composés (acides, alcools, cétones, aldéhydes, etc.) qui sont généralement plus solubles et se dispersent plus facilement dans l'eau de mer et sont, par conséquent, plus biodégradables (Dutta et Harayama, 2000; Lee, 2003; Lee, 1980; Rontani et Giusti, 1987). Par contre, s'agissant des pétroles lourds ou de ceux qui ont perdu leurs composés légers, la photooxydation favorise les réactions de polymérisation qui vont gêner le traitement de ces hydrocarbures et leur dégradation finale (Thominette et Verdu, 1984). Il est important de noter que certains photoproduits ont une toxicité plus importante que celle des hydrocarbures d'origine (Maki *et al.*, 2001; National Research Council, 2003).

(vi) "Overwashing"

L'"overwashing" est un processus au cours duquel le pétrole est submergé juste au dessous de la surface de l'eau. Les principales causes de ce phénomène sont l'action des vagues et de la turbulence près de la surface de la mer (Clark *et al.*, 1987). Deux autres facteurs doivent être pris en considération : (i) le pétrole doit avoir une viscosité suffisante pour former des billes de goudrons "tarballs" et (ii) sa densité doit être proche de celle de l'eau de mer (National Research Council, 2003). L'"overwashing" est un phénomène à prendre en considération, car la présence d'un pétrole submergé n'est pas détectable notamment par l'imagerie satellitaire⁷. Une partie des billes de goudrons atteint ultérieurement le rivage, les plages et les rochers. Certaines de ces billes, après adsorption sur des matières en suspension, deviendront plus denses que l'eau de mer et sédimenteront.

(vii) Sédimentation

La sédimentation est le passage du pétrole de la surface vers le fond ; elle survient lorsque la densité du pétrole résiduel dépasse celle de l'eau de mer. L'augmentation de densité d'un pétrole consécutive à l'évaporation des fractions légères, à la dissolution et à l'émulsification, ainsi qu'à l'adsorption sur les particules en suspension, conduit à la sédimentation et à l'accumulation des produits pétroliers dans le sédiment marin. La sédimentation peut entraîner la constitution d'agrégats de haute densité difficilement dégradables par voie naturelle.

1.3.2. Les processus biologiques

(i) Bioturbation

Les processus biologiques de bioturbation générés par la faune (méiofaune et macrofaune) benthique jouent un rôle prépondérant dans le devenir des hydrocarbures au sein des sédiments (Gilbert *et al.*, 1996). Durant le remaniement sédimentaire la faune bioturbatrice stimule la désorption des hydrocarbures et favorise ainsi leur biodisponibilité dans la colonne d'eau (Doumenq *et al.*, 2005; Gilbert *et al.*, 2001; Madsen *et al.*, 1997). De plus, l'introduction d'oxygène dans le sédiment par la faune favorise leur biodégradation par les microorganismes. À titre d'exemple, la circulation de l'eau dans des galeries construites par les Néréis va entraîner l'oxygénation d'un sédiment anoxique (Bertrand et Guillerme, 1999). Dans les zones côtières tout sédiment traverse au moins une fois le tractus digestif de

⁷ Toutefois, ce phénomène est mal connu et les travaux sont peu nombreux.

la macrofaune benthique. La nature et l'importance des transformations subies par la matière organique lors du transit sont mal connues. Les travaux sont peu nombreux en ce qui concerne les hydrocarbures.

(ii) Bioaccumulation

Dans le milieu marin, les organismes sont exposés aux hydrocarbures principalement sous forme de "micro-gouttes" dissoutes ou adsorbées sur les particules organiques ou minérales. Sous ces formes, les hydrocarbures peuvent avoir une biodisponibilité accrue, ce qui peut, malgré de faibles concentrations, augmenter l'effet de l'exposition. L'accumulation des hydrocarbures sous forme de vésicules intracellulaires va entraîner, tout au long des chaînes trophiques, une amplification des teneurs pour aboutir à des teneurs plus importantes que celles initialement rencontrées dans l'eau de mer. Les organismes particulièrement atteints par le phénomène de bioaccumulation sont donc les prédateurs se trouvant aux sommets des réseaux trophiques (O'Rourke et Conolly, 2003). Pour les HAP, cette bioaccumulation, chez les organismes vertébrés supérieurs, est cependant très minoritaire en comparaison aux phénomènes de biotransformation du fait de leur réactivité oxydative (Baumard *et al.*, 1998, 1999).

(iii) Biodégradation

La biodégradation des hydrocarbures est l'un des grands axes de la recherche scientifique se développant de manière importante depuis plusieurs années. Elle est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement. De nombreux microorganismes (procaryotes et eucaryotes) présentent la capacité à dégrader les hydrocarbures. Ils sont qualifiés d'hydrocarbonoclastes. Ces microorganismes sont largement répandus dans le milieu marin, à la fois dans la colonne d'eau et dans les sédiments. Ils sont capables d'utiliser les hydrocarbures comme source de carbone et d'énergie (Bertrand et Mille, 1989). La biodégradation dépend de la nature des hydrocarbures ; en général, elle débute par l'attaque des *n*-alcanes suivie successivement par celle des alcanes ramifiés, des aromatiques à faible poids moléculaire, des alcanes cycliques, des aromatiques à hauts poids moléculaires et des alcanes cycliques (stéranes, hopanes) (Atlas et Bartha, 1992; Bertrand *et al.*, 2011; Sauer *et al.*, 1998; Van Hamme *et al.*, 2003).

Plusieurs autres facteurs peuvent influencer la biodégradation comme, la température, la salinité, la pression, l'approvisionnement en sels nutritifs, la concentration en oxygène, la présence de tensioactifs ainsi que le nombre et le type de microorganismes présents dans le

milieu (Atlas, 1981; Bertrand et Mille, 1989; Bertrand *et al.*, 1993; Berthe-Corti et Hopner, 2005; Le Floch *et al.*, 1999; Le Floch, 2002b; Marin *et al.*, 1996). De plus, la présence de sources de carbone autre que les hydrocarbures, l'existence de prédateurs qui se nourrissent au détriment des microorganismes, pourraient avoir une influence sur la biodégradation. Dans des conditions *in vitro*, les microorganismes hydrocarbonoclastes sont capables de dégrader la majorité des hydrocarbures ; ces résultats peuvent être extrapolés *in situ*, mais la vitesse de dégradation est beaucoup plus faible.

Pendant de nombreuses années, on pensait que les hydrocarbures ne pouvaient être dégradés qu'en présence d'oxygène. En fait, la biodégradation des hydrocarbures est aussi possible en conditions anaérobies (Bertrand *et al.*, 2011; Chang *et al.*, 2002; Grossi *et al.*, 2000; Holiger et Zehander, 1996; Massias *et al.*, 2003; Widdel et Rabus, 2001; Yu *et al.*, 2012). De nombreux hydrocarbures, essentiellement aromatiques, mais également des alcanes saturés et insaturés, sont dégradés par des microorganismes qui utilisent le nitrate, le sulfate voire le fer comme accepteur terminal d'électrons (Harms *et al.*, 1999; Rabus *et al.*, 1993; Van Hamme *et al.*, 2003). À titre d'exemple, le toluène est dégradé par des microorganismes dénitrifiants, sulfatoréducteurs ou réduisant le fer (Cupples, 2011; Dou *et al.*, 2008; Holiger et Zehander, 1996; Van Hamme *et al.*, 2003).

1.4. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

1.4.1. Définition

Parmi les substances chimiques polluantes retrouvées dans l'environnement, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) forment une vaste classe de contaminants organiques exclusivement constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène, formés par la condensation d'au moins deux cycles aromatiques à 6, ou parfois, 5 atomes de carbone (Menzie *et al.*, 1992) (Figure 4). Dans l'environnement, les HAP les plus présents et les plus mobiles vont du naphthalène formé de 2 cycles jusqu'au coronène formé de 7 cycles (Neff, 1979).

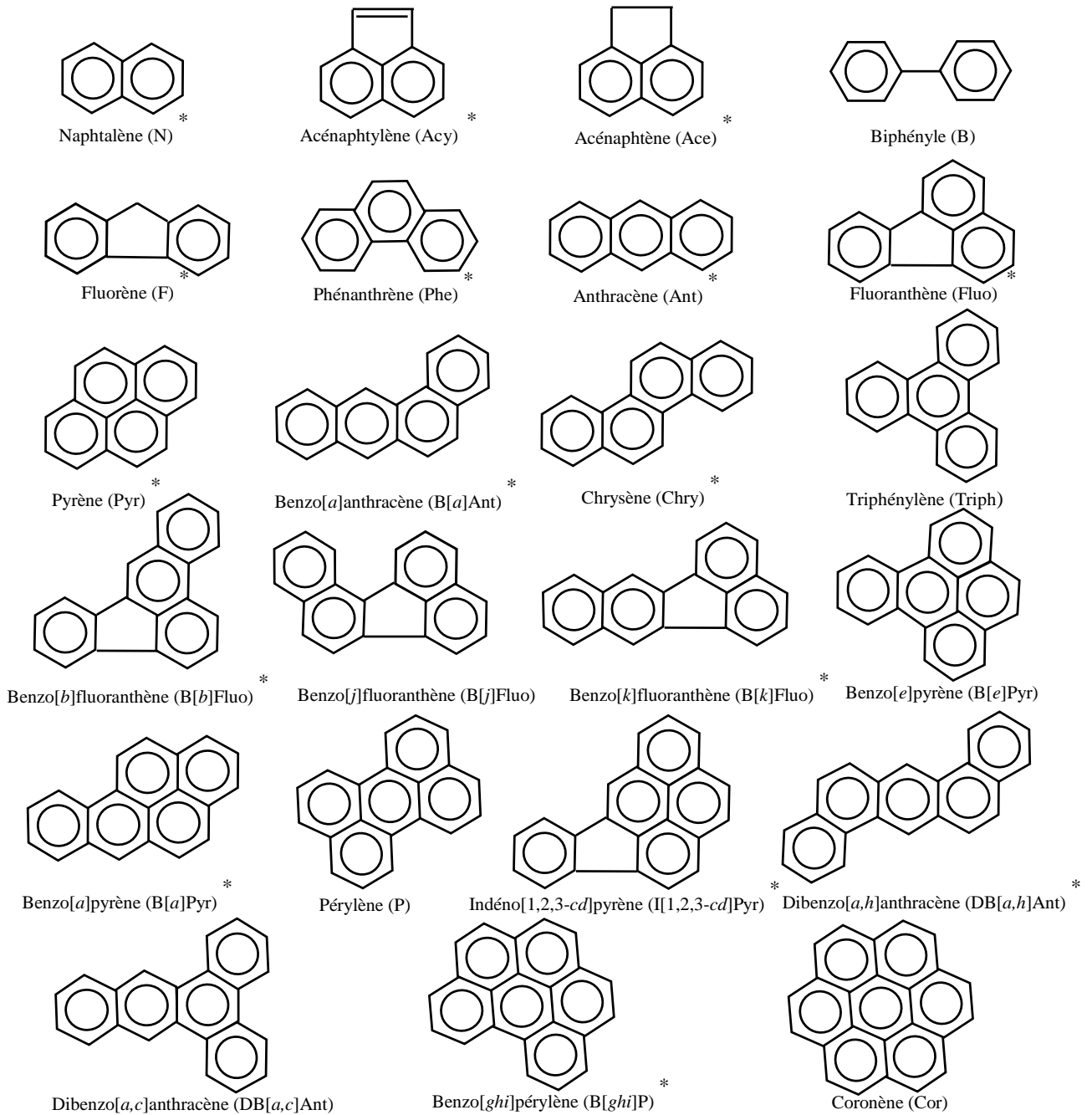


Figure 4. Structures chimiques des HAP. [*Substances prioritaires selon l'agence de l'environnement des États-Unis d'Amérique (US-EPA)].

1.4.2. Caractéristiques physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des HAP sont liées à leur structure particulière et à leur masse moléculaire (Tableau 2). À l'état pur, les HAP sont des solides souvent colorés et cristallins à température ambiante. Ce sont des molécules planes, neutres, non polaires, composées de noyaux aromatiques qui comportent des électrons π . Ces électrons π

stabilisent la structure en la rendant moins réactive chimiquement (Portella *et al.*, 2005). Néanmoins, certains HAP, (anthracène, benzo[*a*]pyrène), sont sensibles à l'oxydation chimique, photochimique et biologique (McElroy et Sisson, 1989). L'arrangement des cycles de façon linéaire ou angulaire influence la stabilité des molécules, les HAP angulaires étant les plus stables et les linéaires les moins stables (Blumer, 1976; Bouchez *et al.*, 1996; Kanaly et Harayama, 2000). De la même façon la présence de cycles à 5 atomes de carbone parmi des cycles benzéniques augmenterait la stabilité des molécules vis-à-vis de la biodégradation (Wammer et Peters, 2005).

À l'exception du naphthalène, leur solubilité dans l'eau est très faible. Parallèlement, leurs coefficients de partage octanol/eau (K_{ow}) sont relativement élevés, témoignant d'un important potentiel de bioconcentration dans les organismes (McElroy et Sisson, 1989). Par ailleurs, les composés alkylés sont plus hydrophobes que les composés parents.

Ils peuvent être subdivisés en deux catégories (Bouchez *et al.*, 1996) : *(i) les HAP légers*, dont la masse molaire est comprise entre 150 et 180 g/mol (moins de quatre cycles aromatiques) ; *(ii) les HAP lourds* (au moins quatre cycles aromatiques), dont les masses molaires varient de 200 à 280 g/mol.

Tableau 2
Propriétés physico-chimiques des HAP.

Analytes	Masse moléculaire (g/mol)	Pf ^a (°C) ⁽²⁾	Pe ^b (°C) ⁽¹⁾	Pvs ^c (Pa) ⁽⁹⁾	Solubilité dans l'eau à 25 °C (mg/L) ⁽¹⁾	Log K _{ow} ^d (1) ⁽¹⁾	Log K _{oc} ^e (1) ⁽¹⁾	Log K _p ^f (7) ⁽¹⁾	Log K _{ea} ^g (8) ⁽¹⁾	Cste de Henry ^h (atm.m ³ /mol) ⁽¹⁾
Naphtalène	128	80,2	218	10,5 ⁽¹⁾	31,8	3,40 ⁽¹⁰⁾	3	1,7	1,7	483
Acénaphtylène	152	92,5	270		3,93 ⁽³⁾	3,61 ⁽¹¹⁾	-	-	-	-
Acénaphthène	154	96,2	279	0,356 ⁽¹⁾	3,7	3,77 ⁽¹¹⁾	3,7	-	-	145
Fluorène	166	116	295	0,09	1,98	3,96 ⁽¹¹⁾	3,9	-	-	91
Phénanthrène	178	101	340	0,018	1,2	4,57	4,2	2,73	2,8	39,3
Anthracène	178	217,5	340,9	7,5.10 ⁻⁴	1,29	4,60 ⁽¹⁰⁾	4,4	2,73	3,5	49,7
Fluoranthène	202	110,5	384	1,2.10 ⁻³ ⁽¹⁾	0,26	5,1	4,9	3,7 ⁽⁵⁾	3,7	6,5 ⁽⁵⁾
Pyrène	202	156	404	8,86.10 ⁻⁴	0,13	5,32	-	3,7 ⁽⁵⁾	-	5 ⁽⁵⁾
Benzo[<i>a</i>]anthracène	228	160,6	437	7,3.10 ⁻⁶	0,011 ⁽³⁾	5,31 ⁽¹²⁾	-	4,19	-	-
Chrysène	228	255	448	5,7.10 ⁻⁷	0,002	5,81 ⁽²⁾	-	4,19	-	-
Benzo[<i>b</i>]fluoranthène	252	168,3 ⁽³⁾	481		0,0012 ⁽³⁾	6,57	5,8	5 ⁽⁵⁾	3,3	12 ⁽⁵⁾
Benzo[<i>k</i>]fluoranthène	252	215,7 ⁽³⁾	480	6.10 ⁻⁷	0,00076	6,84	5,9	4,88	-	0,68
Benzo[<i>j</i>]fluoranthène	252	166	-	-	0,0025 ⁽⁴⁾	6,44 ⁽⁶⁾	-	4,88	-	-
Benzo[<i>e</i>]pyrène	252	-	-	-	0,0063 ⁽⁴⁾	6,44 ⁽⁶⁾	-	4,88	-	0,4
Benzo[<i>a</i>]pyrène	252	176,5	496	7,3.10 ⁻⁷ ⁽¹⁾	0,002 ⁽⁵⁾	6,13 ⁽²⁾	6	4,88	4,2	-
Pérylène	252	-	-	-	0,003 ⁽⁴⁾	6,50 ⁽¹⁰⁾	-	4,88	-	0,29
Indéno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrène	276	163,6 ⁽³⁾	533	-	0,062	6,6	6,8	5,57	-	0,05 ⁽⁵⁾
Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracène	278	262 ⁽³⁾	524	3,7.10 ⁻¹	0,0005	6,7	6,1	5,65	5,6	-
Dibenzo[<i>a,c</i>]anthracène	278	-	-	1,3.10 ⁻⁹	0,023 ⁽⁴⁾	7,1 ⁽⁸⁾	-	5,65	-	-
Dibenzo[<i>a,j</i>]anthracène	278	-	-	-	0,012 ⁽⁴⁾	7,11 ⁽⁶⁾	-	5,65	-	-
Benzo[<i>ghi</i>]pérylène	276	273 ⁽³⁾	550	-	0,00026	6,5	-	-	-	-

Référence : ⁽¹⁾ INERIS, 2003; ⁽²⁾ Schwarzenbach *et al.*, 2003; ⁽³⁾ ATSDR, 1995; ⁽⁴⁾ Karcher *et al.*, 1991; ⁽⁵⁾ Rapport de l'ADEME, 1995, fiche n°4; ⁽⁶⁾ Karcher, 1988; ⁽⁷⁾ Budavari *et al.*, 1996; ⁽⁸⁾ Pearlman *et al.*, 1984; ⁽⁹⁾ De Kruif, 1980; ⁽¹⁰⁾ Andersson et Schrader, 1999; ⁽¹¹⁾ Sahu et Pandit, 2003; ⁽¹²⁾ Jiang *et al.*, 2012.

^a Pf : point de fusion, ^b Pe : point d'ébullition, ^c Pvs : pression de vapeur saturante à 25 °C, ^d K_{ow} : coefficient de partage n-octanol/eau, ^e K_{oc} : coefficient de partage carbone organique/eau, ^f K_p : coefficient de partage carbone sédiment/eau, ^g K_{ea} : coefficient de partage eau/air, ^h Constante de Henry à 25 °C.

1.4.3. Origines des HAP

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques se trouvent dans l'environnement sous forme de mélanges, plus ou moins complexes, constitués de plus d'une centaine de composés différents. Ils peuvent avoir plusieurs origines (Neff, 1979) (Figure 5). La plus importante est l'origine pyrolytique qui correspond à la combustion incomplète de la matière organique à haute température (McElroy et Sisson, 1989; Samanta *et al.*, 2002; Suess, 1976). L'activité industrielle contribue largement à la production de ces composés, en particulier l'industrie du charbon (cokeries, usines à gaz), ainsi que les émissions des véhicules, le chauffage domestique et urbain. La formation de HAP d'origine pyrolytique est également parfois issue de processus de combustion naturels, comme les feux de forêts (Freeman et Cattell, 1990; Youngblood et Blumer, 1975) ou les éruptions volcaniques (Edwards, 1983; Houya *et al.*, 1996; Nikolaou *et al.*, 1984). Il faut garder à l'esprit qu'en atmosphère intérieure, la fumée de cigarette (Chuang *et al.*, 1991; Mitra et Ray, 1995; Schmeltz et Hoffmann, 1976) ainsi que la fumaison (grillade, fumage, chauffage de l'huile de cuisine) représentent également une source pyrolytique non négligeable d'exposition de l'homme aux HAP.

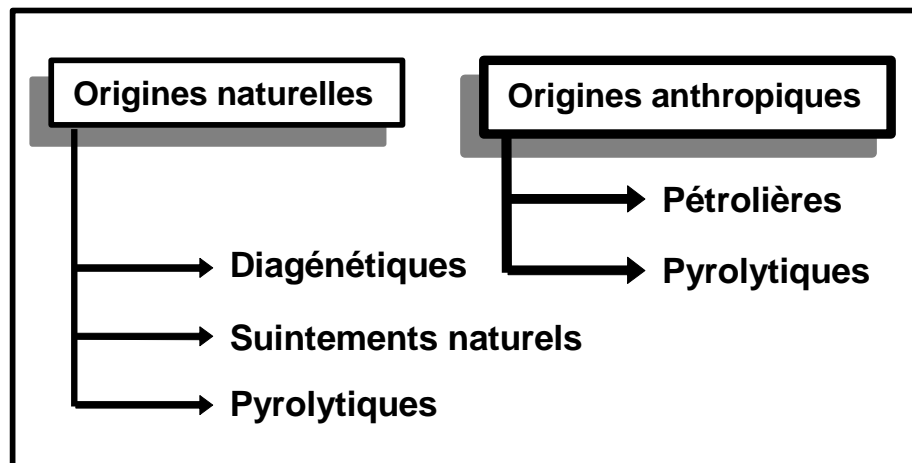


Figure 5. Différentes origines des HAP dans l'environnement (d'après Bertrand *et al.*, 2011).

Les pétroles bruts contiennent des HAP en teneurs variables. Dans ce cas, cette source correspond à toutes les pollutions induites par l'utilisation humaine hors combustion du pétrole. Deux types d'apports y participent (Bertrand *et al.*, 2011) : (i) **les apports chroniques** : notamment les rejets dans les réseaux des zones urbaines ou industrielles, les rejets liés aux activités d'exploitation et de production pétrolière et de transports ; (ii) **les apports accidentels** : chaque étape de la production et d'exploitation représente un risque de

contamination ; les plus spectaculaires sont les accidents de navires-citernes (Tableau 3), les accidents de tête de puits, les ruptures d'oléoducs et les accidents liés au stockage.

Tableau 3

Principaux déversements d'hydrocarbures dus à des accidents de navires-citernes, dans les eaux européennes (d'après les données de l'ITOPF⁸).

Nom du navire	Année de l'accident	Lieu de l'accident	Quantité déversée (10 ³ tonnes)
Amoco Cadiz	1978	Bretagne, France	223
Haven	1991	Gênes, Italie	144
Torry Canyon	1967	Cornouailles, GB	119
Irenes Serenade	1980	Grèce	100
Urquiola	1976	La Corogne, Espagne	100
Independenta	1979	Bosphore, Turquie	95
Braer	1993	Shetlands, Écosse	85
Jacob Maersk	1975	Portugal	85
Aegean Sea	1992	La Corogne, Espagne	74
Sea Empress	1996	Milford Haven, Galles	72
Prestige	2002	Galice, Espagne	63
Andros Patria	1978	Large de l'Espagne	50
Erika	1999	Bretagne Sud, France	18
Tanio	1980	Bretagne, France	6

Les HAP peuvent également être d'origine diagénétique. En effet, certains HAP peuvent dériver de la modification chimique lors de la diagénèse précoce⁹ de précurseurs naturels, tels que les terpénoïdes, les pigments, les stéroïdes, les quinones, accumulés dans les dépôts sédimentaires (Aizenshtat, 1973; Laflamme et Hites, 1979; Wakeham *et al.*, 1980). Cette source est toutefois minoritaire par rapport aux autres sources excepté en certains endroits très localisés (Budzinski *et al.*, 1997).

Le pétrole, formé dans les couches sédimentaires profondes au cours des temps géologiques, migre vers la surface. S'il n'est pas piégé dans des roches-réservoirs, il peut former en milieu continental des affleurements tels que les schistes bitumineux de l'Athabasca au Canada (National Research Council, 2003; Vandecasteele, 2005). En milieu marin, il remonte à la surface de l'océan pour former des petites nappes d'hydrocarbures qui vont dériver ou s'échouer sur le littoral. Le suintement naturel le plus étudié (Mau *et al.*, 2007; Hornafius *et al.*, 1999) est celui situé à Santa Barbara en Californie, d'où s'échappe

⁸ ITOPF : "International Tanker Owners Pollution Federation". <http://www.itopf.com>

⁹ Processus lent responsable de la transformation de la matière organique en dépôt sédimentaire sous l'effet de la température, du pH et de la microflore.

quotidiennement 150 000 m³ de méthane (CH₄) et 16 L de pétrole. Ainsi, des HAP d'origine pétrogénique se trouvent dans l'environnement de façon naturelle.

À propos des hydrocarbures aromatiques trouvés en faible quantité chez certains organismes vivants, il n'a pas été clairement établi que ces composés étaient réellement biosynthétisés et non pas seulement bioaccumulés (Blumer, 1976; Budzinski, 1993).

1.4.4. Outils d'identification des origines

Les divers processus de formation des HAP (pyrolytiques, pétrogéniques et diagénétiques) génèrent des HAP ayant une empreinte caractéristique. Ces caractéristiques ont permis le développement d'outils de diagnostic spécifique afin de déterminer les origines de la contamination d'un environnement donné.

Les environnements principalement marqués par des pollutions pétrogéniques présenteront une prédominance des HAP substitués vis-à-vis des HAP parents, ainsi que des HAP de faible poids moléculaire (2 et 3 cycles aromatiques). Les températures relativement basses (inférieures à 200 °C), atteintes lors de la lente maturation de la matière organique, favorisent la préservation des HAP de faible poids moléculaires et substitués. Inversement, les HAP provenant des processus pyrolytiques à haute température (activité industrielle : 1500-2000 °C) présentent des profils caractérisés par une prédominance des composés parents et des HAP de haut poids moléculaire (4, 5 et 6 cycles aromatiques) (Baumard, 1997). À ces températures les composés substitués ne sont pas stables. Si la température de pyrolyse diminue (feux de forêt : température inférieure à 800 °C), une quantité non négligeable de composés substitués peut être générée (Neff, 1979). À partir de ces caractéristiques, des rapports impliquant les composés parents et substitués ont été établis afin de différencier les sources pétrolières des sources pyrolytiques (Tableau 4). Les indices $\Sigma C_1\text{-HAP}/\text{HAP}$ (somme des concentrations des composés méthylés divisée par la concentration du composé parent) sont discriminants. Ils sont plus grands pour les HAP pétroliers que pour les HAP pyrolytiques. Le 4,5-MPhe (4,5-méthylène phénanthrène) est un produit caractéristique de la combustion (Garrigues *et al.*, 1995). L'indice moléculaire 4,5-MPhe/ Σ MPhe (concentration du 4,5-méthylène phénanthrène divisée par la somme des concentrations des méthyl-phénanthrènes) est très discriminant. Une absence de 4,5-MPhe caractérise des HAP d'origine pétrogénique ou diagénétique. Dans le cas d'un mélange de pollutions, plus l'indice est grand, plus la proportion de la pollution d'origine pyrolytique est grande. Le rapport des HAP de faible poids moléculaire sur ceux de haut poids

moléculaire ("Low Molecular Weight"/"High Molecular Weight" : LMW/HMW) est couramment utilisé afin de distinguer les origines pétrolières (rapport supérieur à 1) et pyrolytiques (rapport inférieur à 1) (Azimi *et al.*, 2005; De Luca *et al.*, 2005).

Les différences de stabilité thermodynamique des composés ont également été appliquées à plusieurs couples d'isomères. Le rapport d'isomères phénanthrène/anthracène est thermo-dépendant. Pour des températures élevées, typiques des processus de combustion, le rapport est faible (<10) alors que pour des températures plus faibles, comme celles atteintes lors de la lente maturation de la matière organique, ce rapport est important (Budzinski *et al.*, 1997; Huang *et al.*, 2012).

Le rapport d'isomères fluoranthène/pyrène est également utilisé pour la différenciation entre les échantillons pyrolytiques et pétroliers. Les valeurs inférieures à 1 caractérisent une pollution d'origine pétrolière alors que des valeurs supérieures à 1 seraient la conséquence d'une contamination pyrolytique (Budzinski *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 1999). De nombreux autres indices ont été décrits dans la littérature (Asia *et al.*, 2008; Colombo *et al.*, 1989; Li *et al.*, 2012a; Mille *et al.*, 2006; Mille *et al.*, 2007; Oros et Ross, 2004; Yunker *et al.*, 2002; Zeng et Vista, 1997).

La fiabilité de ces indices repose sur l'utilisation de couples d'isomères possédant des caractéristiques physico-chimiques similaires et présentant le minimum de différences quant à leur devenir dans l'environnement. Par ailleurs, ces différents indices sont le plus souvent étudiés simultanément afin d'obtenir une bonne estimation des différentes sources de HAP (Budzinski *et al.*, 1997; Li *et al.*, 2012a; Oros et Ross, 2004; Yunker *et al.*, 2002).

Enfin, quelques HAP peuvent dériver de précurseurs biogéniques par des processus diagénétiques. Ainsi, le pérylène est fréquemment utilisé comme marqueur d'apports continentaux naturels (résine, bois) et/ou autochtones à partir du matériel aquatique (diatomées) (Baumard *et al.*, 1999; Budzinski *et al.*, 1997; Venkatesen, 1998).

Tableau 4
Valeurs de quelques indices moléculaires caractérisant l'origine des HAP.

Sources	Indices caractéristiques					
	$\Sigma C_1\text{-Phe/Phe}$ (1)	$4,5\text{-MPhe}/\Sigma\text{MPhe}$ ⁽¹⁾	Phe/Ant (2) (5)	Fluo/Pyr (2)	$\text{B[a]Ant/(B[a]Ant + Chry)}$ ⁽³⁾	LMW/HMW (4) (6)
Pétrolière	> 2	0	> 10	< 1	< 0,20	> 1

Pyrolytique	< 1	0,04-0,4	< 10	> 1	> 0,35	< 1
-------------	-----	----------	------	-----	--------	-----

Référence : ⁽¹⁾ Garrigues *et al.*, 1995; ⁽²⁾ Budzinski *et al.*, 1997; ⁽³⁾ Yunker *et al.*, 2002; ⁽⁴⁾ De Luca *et al.*, 2005; ⁽⁵⁾ Huang *et al.*, 2012; ⁽⁶⁾ Commendatore *et al.*, 2012.

Phe : phénanthrène, Ant : anthracène, Fluo : fluoranthène, Pyr : pyrène, B[a]Ant : benzo[a]anthracène, Chry : chrysène, 4,5-MPhe : 4,5-méthylène phénanthrène, MPhe : méthyl-phénanthrènes, LMW/HMW : "low molecular weight/high molecular weight".

1.5. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS)

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS), forment une classe de composés aromatiques polycycliques qui contiennent un ou plusieurs atomes de soufre dans l'un des cycles aromatiques (Figure 6). En dépit de leur composition différente, ils sont généralement intégrés à la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).

Les HAPS quantifiés dans l'environnement sont principalement d'origine anthropique et ils résultent notamment de la combustion incomplète de la matière organique. Ils sont introduits via les rejets industriels, les marées noires, le déballastage etc. Ils ont été détectés dans plusieurs échantillons environnementaux : poussière urbaine (Mostafa *et al.*, 2009), sédiments (Brack et Schirmer, 2003; Heininger et Claus, 1995; Lübck-von *et al.*, 2008), gaz de combustion de charbon (Thuß *et al.*, 2000) et eaux usées (Popp *et al.*, 1999). Les HAPS ont été également analysés dans les matières fossiles (Budzinski, 1993; Mössner et Wise, 1999; Moustafa et Andersson, 2011).

Comme les HAP, les HAPS sont connus pour leur pouvoir cancérigène ou mutagène (Jacob, 1990; Kropp et Fedorak, 1998; MacFall *et al.*, 1984; Pelory *et al.*, 1983). À titre d'exemple, le dibenzo[b,d]thiophène et le benzo[b]naphto[2,1-d]thiophène sont cancérigènes (Amat *et al.*, 2004). Le phénanthro[3,4-b]thiophène et le benzo[2,3]phénanthro[4,5-bcd]thiophène sont mutagènes (Karcher *et al.*, 1981; Swartz *et al.*, 2009).

En plus de leur importance en chimie environnementale et en toxicologie, ces composés sont également utilisés en géochimie organique afin de caractériser la maturation d'un pétrole brut et d'identifier son origine (Andersson et Sielex, 1996; Budzinski *et al.*, 1993; Hegazi *et al.*, 2003; Hegazi et Andersson, 2007; Liang *et al.*, 2006; Younes *et al.*, 2007). Il a été clairement établi que les rapports d'isomères C₁-DBT (monométhyl-dibenzothiophènes) varient fortement en fonction de l'origine de pétrole. Ainsi, ces rapports peuvent être utilisés afin d'identifier l'origine d'un pétrole brut et de différencier les pétroles frais des pétroles vieillis (Wang et Fingas, 1995, 1997; Yim *et al.*, 2011).

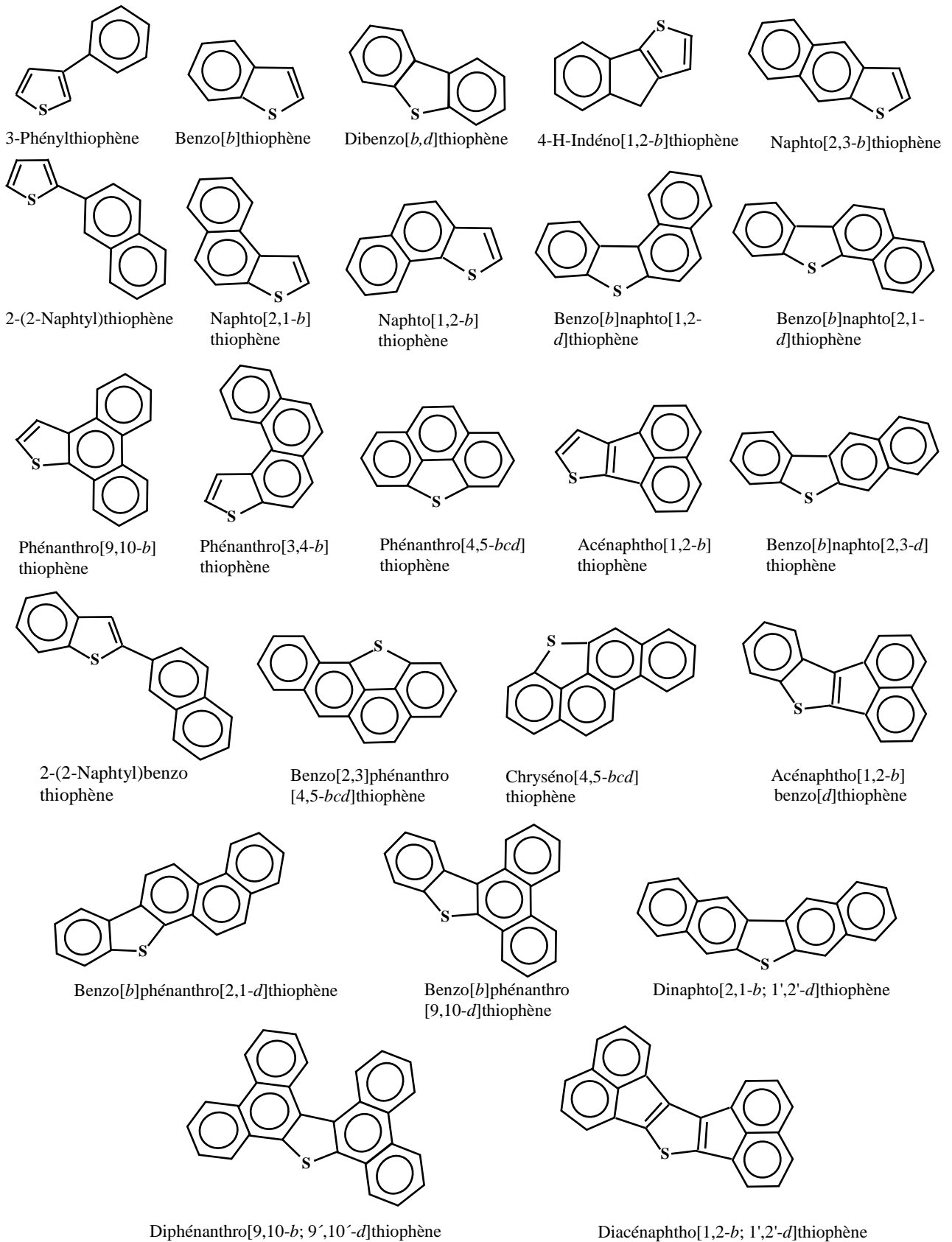


Figure 6. Structures chimiques des HAPS. NB : dans les pétroles bruts, le benzo[*b*]thiophène, le dibenzo[*b,d*]thiophène et leurs dérivés alkylés sont plus abondants que les autres composés soufrés (Andersson et Schmid, 1995; Ho *et al.*, 1974; Liang *et al.*, 2006; Tissot et Welte, 1984).

1.6. Les dérivés alkylés des hydrocarbures polyaromatiques

Les hydrocarbures sont constitués d'une multitude de molécules dont les composés substitués des HAP et HAPS parents présentés précédemment. Ainsi, des chaînes saturées peuvent substituer un à plusieurs atomes d'hydrogène du composé parent, et ce pour différentes positions sur les noyaux aromatiques. Il en résulte donc, pour la plupart des composés parents, une multitude de dérivés qui sont regroupés en fonction du nombre de carbones supplémentaires par rapport au composé parent dont ils dérivent (Figure 7). Ces groupes de molécules se présentent sous forme de plusieurs pics dont la distribution se complexifie avec le degré de ramification et le nombre de cycles aromatiques (Figure 8). Selon l'origine de ces composés, ils sont plus ou moins abondants en comparaison des composés parents (ils sont généralement plus abondants si leur origine est pétrogénique) (Wang et Fingas, 1999).

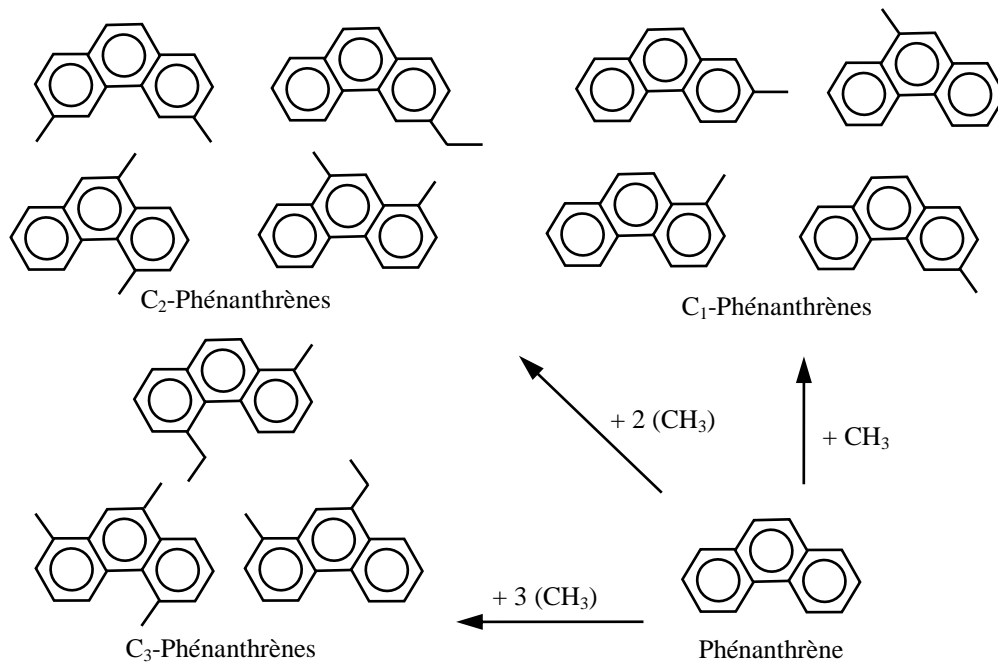


Figure 7. Les dérivés alkylés du phénanthrène.

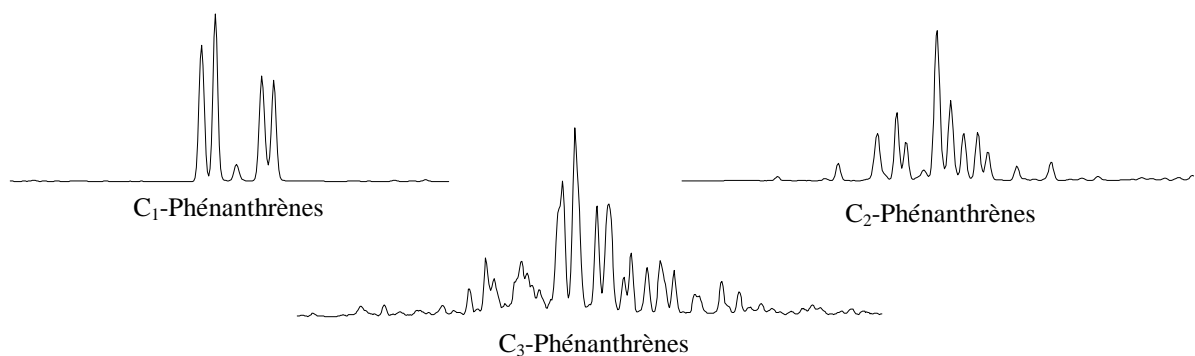


Figure 8. Familles d'alkylés du phénanthrène.

2. LES TECHNIQUES DE MESURES DES COMPOSÉS CIBLÉS

Les HAP et HAPS sont reconnus pour leur pouvoir cancérigène et mutagène vis-à-vis de la faune et de la flore. Ces composés pénètrent directement dans les milieux aquatiques par des sources essentiellement anthropiques tels que les effluents industriels ou des déversements accidentels de pétrole. La présence de ces contaminants organiques dans la phase dissoute des systèmes aquatiques représente donc un problème environnemental sérieux mais leur quantification à de faibles teneurs dans les matrices complexes s'avère difficile. En effet, leur analyse nécessite une étape d'extraction/concentration bien souvent fastidieuse par les méthodes classiques (LLE, SPE). Dans ce contexte, les techniques d'extraction dites par SPME ("solid phase microextraction") et SBSE ("stir bar sorptive extraction") semblent offrir de nombreuses perspectives (Blasco *et al.*, 2004; Rianawati et Balasubramanian, 2009). Ce sont des techniques performantes, et suffisamment rapides afin d'assurer les suivis environnementaux à grande échelle.

2.1. La microextraction sur phase solide (SPME)

2.1.1. Principes et fonctionnement

Parmi toutes les méthodologies d'extraction des contaminants organiques dans la phase aqueuse, la microextraction sur phase solide (SPME) a prouvé au cours des dernières années ses atouts dans l'analyse des polluants organiques (Ouyang et Pawliszyn, 2006; Pawliszyn, 1997; Shumer et Pawliszyn, 2000). C'est une technique de préconcentration d'analytes qui n'utilise pas de solvant organique, ne nécessite qu'un faible volume d'échantillon et où la préparation de l'échantillon est très souvent limitée à son prélèvement. Elle a été développée par Arthur et Pawliszyn 1990 (Arthur et Pawliszyn, 1990), commercialisée en 1993 par Supelco (Bellefonte, PA, USA) et automatisée en 1996 par Varian (passeur automatique d'échantillons).

La SPME consiste à plonger une fibre en silice fondue revêtue d'un polymère adéquat et placée à l'intérieur d'une aiguille dans un échantillon donné. La fibre coulisse dans l'aiguille sous l'action d'un piston en acier inoxydable. L'extraction est basée sur le partage des analytes d'intérêt entre la phase stationnaire de la fibre et le milieu dans lequel elle est plongée (Figure 9). La méthodologie SPME inclut deux modes d'extraction principaux :

(i) Une extraction directe ou par immersion où la fibre est immergée directement dans le liquide et les analytes se partagent entre la fibre et l'échantillon liquide. En général, les analytes polaires, semi-ou non-volatils sont extraits par ce mode (King *et al.*, 2004; Luan *et al.*, 2007; Rianawati et Balasubramania, 2009).

(ii) Une extraction de l'espace de tête ("headspace") où la fibre est exposée dans l'espace de tête au dessus de l'échantillon. Dans ce processus, deux équilibres interviennent : l'équilibre échantillon-phase gazeuse et l'équilibre phase gazeuse-fibre. Ce mode est largement utilisé pour l'extraction des composés volatils et apolaires (Harris *et al.*, 1999; Jaraula *et al.*, 2008; Llompart *et al.*, 1998).

Après l'extraction, la fibre est rétractée dans l'aiguille, retirée de l'échantillon et désorbée thermiquement directement dans un injecteur de chromatographe en phase gazeuse pour les composés volatils ou semi-volatils (Bianchin *et al.*, 2012; Globig et Weickhardt, 2005; Popp *et al.*, 2000) (Figure 9). Pour les composés à faible volatilité ou thermiquement instables, la désorption s'effectue par un lavage avec des solvants organiques appropriés à la chromatographie en phase liquide (Chen et Pawliszyn, 1995; Lord et Pawliszyn, 2000).

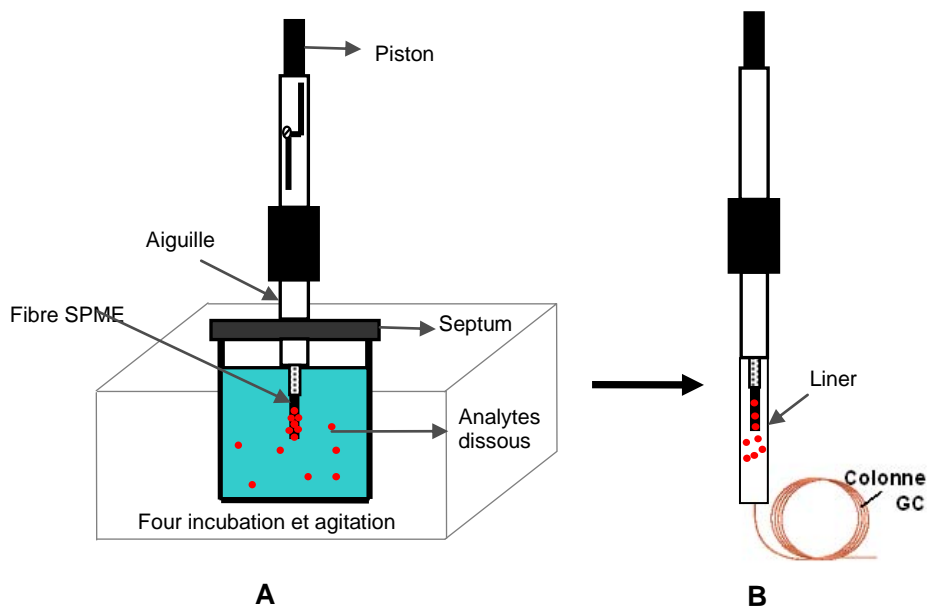


Figure 9. Représentation schématique de la SPME. A : extraction des analytes. B : désorption thermique et analyse en GC-MS.

2.1.2. Nature du revêtement

Différents polymères de revêtements de fibres, permettant de piéger plusieurs types d'analytes, sont commercialement disponibles. Il s'agit notamment du polydiméthylsiloxane (PDMS : revêtement apolaire) et des revêtements plus polaires tels que les copolymères PDMS-divinylbenzène (DVB), les carbowax (CW)-PMDS ou DVB, les carboxen (CAR)-PMDS ou DVB et les polyacrylates (PA) (Tableau 5).

Tableau 5

Les fibres de la SPME commercialement disponibles (d'après Vas et Vékey, 2004).

Nature du revêtement	Épaisseur de film (µm)	Polarité	Température opératoire maximale (°C)	Technique	Analytes
PDMS	100	Apolaire	280	GC-HPLC	Volatils
PDMS	30	Apolaire	280	GC-HPLC	Apolaires semi-volatils
PDMS	7	Apolaire	340	GC-HPLC	Apolaires semi-volatils
PDMS-DVB	65	Bipolaire	270	GC	Polaires volatils
PDMS-DVB	60	Bipolaire	270	HPLC	Usage général
PDMS-DVB	65	Bipolaire	270	GC	Polaires volatils
PA	85	Polaire	320	GC-HPLC	Polaires semivolatils
CAR-PDMS	75	Bipolaire	320	GC	Gaz et volatils
CAR-PDMS	85	Bipolaire	320	GC	Gaz et volatils
CW-DVB	65	Polaire	265	GC	Analytes polaires (alcools)
CW-DVB	70	Polaire	265	GC	Analytes polaires (alcools)
CW-TPR	50	Polaire	240	HPLC	Tensioactifs
DVB-PDMS-CAR	50/30	Bipolaire	270	GC	Odeurs et saveurs

CAR : carboxen, CW : carbowax, DVB : divinylbenzène, GC : chromatographie en phase gazeuse, HPLC : "high-performance liquid chromatography", PA : polyacrylate, PDMS : polydiméthylsiloxane, TPR : "templated resin".

La mise au point analytique nécessite l'optimisation de différents paramètres d'extraction (température, temps d'extraction, effet de sel, nature de fibre, pH,...) et de désorption (Cortazar *et al.*, 2002).

2.1.3. Applications de la SPME

La SPME a été appliquée avec succès à une grande variété d'analytes dans les domaines de l'environnement (Tableau 6), de l'alimentaire (Tableau 7) ainsi que dans le domaine pharmaceutique ou biomédical (Tableau 8). Dans sa première période de développement, la plupart des applications de la SPME étaient en chimie environnementale. Le tableau 6 résume les méthodes SPME appliquées dans le secteur de l'environnement. Dans ce tableau, les analytes, la matrice, le mode d'extraction, la nature du revêtement, le système analytique ainsi que les limites de détection sont présentés. La SPME a été principalement utilisée pour l'extraction des composés organiques volatils et semi-volatils

dans les eaux (Potter et Pawliszyn, 1994). Popp *et al.* (2000) ont utilisé la SPME couplée à la LC-FLD pour la détermination des HAP dans les eaux usées. Une méthodologie par SPME suivie par une analyse en GC-MS et GC-MS-MS a été également développée pour la détermination des HAP dans différents types d'échantillons d'eau (eau du robinet, eau de puits, eau superficielle et eau de mer). Cette méthodologie s'est montrée très adaptée pour l'analyse des HAP dans une matrice complexe (González *et al.*, 2007a). La détermination des HAP dans les eaux de pluie a été réalisée par SPME-GC-MS (Rianawati et Balasubramanian, 2009). Bien que cette technique a été initialement développée pour l'extraction des analytes dans les échantillons aqueux, elle a également été utilisée pour la détermination des composés d'intérêt dans les sols, les sédiments et les fractions pétrolières (Tableau 6).

La SPME a été largement utilisée dans le domaine alimentaire que ce soit pour l'évaluation de la qualité nutritionnelle, la caractérisation d'additifs ou l'analyse des contaminants présents à l'état de trace. Les protocoles SPME développés pour l'analyse des différents composants et contaminants dans les échantillons alimentaires sont résumés dans le tableau 7.

La SPME a aussi montré sa performance dans les secteurs pharmaceutiques et biomédicaux (Tableau 8). Une application connue du grand public est l'analyse des amphétamines dans l'urine. Ces analytes ont été également détectés dans le sang, la salive et les cheveux humains.

Enfin, les applications de la SPME présentées dans les tableaux 6, 7, et 8 constituent seulement une petite fraction des travaux effectués avec succès par cette technique.

Tableau 6

Applications environnementales de la SPME.

Analytes	Matrice	Mode	phase	Système analytique	LD	Références
HAP	Eaux usées	SPME	PDMS	LC-FLD	1-6 ng/L	Popp <i>et al.</i> , 2000
HAP	Eaux	SPME	PDMS	GC-MS	0,08-0,27 ng/mL	Doong <i>et al.</i> , 2000
HAP	Eaux	SPME	PDMS	GC-MS	0,0005-0,004 µg/mL	Liu et Korenaga, 2001
HAP	Eaux usées	SPME	PDMS	GC-MS	< ng/L	Hawthorne <i>et al.</i> , 2005
HAP	Eaux	SPME	PDMS-DVB	GC-MS-MS	0,07-0,76 ng/L	González <i>et al.</i> , 2007a
HAP	Sédiments	SPME	PDMS-DVB	GC-MS	0,4-15 µg/kg	González <i>et al.</i> , 2008
HAP-N	Eau	SPME	PDMS-DVB	GC-MS	0,004-0,060 µg/L	Mekiki <i>et al.</i> , 2006
HAP	Eau	SPME	PDMS	GC-MS	1-29 ng/L	King <i>et al.</i> , 2004
HAP, HAP alkylés, DBT	Sols pollués	HS-SPME	PDMS	GC-MS	0,65-24,60 mg/kg	Havenga et Rohwer, 1999
HAP, PCB, Phtalates	Eau	SPME	PDMS	GC-MS	0,03-3,15 µg/L	Cortazar <i>et al.</i> , 2002
HAP	Eau	SPME	PDMS	GC-MS	-	Globig et Weickhardt, 2005
HAP	Eaux	SPME	PDMS	GC-MS	0,001-0,044 µg/L	Rianawati et Balasubramanian, 2009
HAP	Sols	HS-SPME	PDMS	GC-MS	-	Eriksson <i>et al.</i> , 2001
HAP	Particules atmosphériques	HS-SPME	PDMS	GC-MS	5-750 pg	Vaz, 2003
Phe	Sols	HS-SPME	PDMS	GC-MS	-	De Cesare <i>et al.</i> , 2008
HAP, Phénols, Phtalates	Eaux	SPME	CW-DVB, PDMS-DVB	GC-ITMS	0,1-1, 0,1-2 ng/L	Stiles <i>et al.</i> , 2008
HAP, BTEX	Eau	DI-HS-SPME	PDMS-DVB	GC-MS	0,1-0,31 µg/L	Bianchin <i>et al.</i> , 2012
HAP, AP, Parabènes	Eaux usées	SPME	Poly(VBHI _m +NTf ₂ -)	GC-FID	0,006-7 ng/mL	Darias <i>et al.</i> , 2010
HAP-OH	Eau, sols	SPME	PA	GC-MS	0,003-0,44 µg/L	Luan <i>et al.</i> , 2007
BTEX, N,...	WAF	HS-SPME	PDMS	GC-MS	1,3-273,9 ng/L	Llompart <i>et al.</i> , 1998
BTEX	Eau	HS-SPME	CAR-PDMS	GC-MS	0,01-0,05 ng/L	Lee <i>et al.</i> , 2007
HAP, HAP alkylés	Pétrole, eau,...	HS-SPME	PDMS	GC-MS	-	Jaraula <i>et al.</i> , 2008
Chlorobenzènes	Sols	HS-SPME	PDMS	GC-IT-MS	0,03-0,1 ng/g	Santos <i>et al.</i> , 1997
<i>n</i> -Alcanes (C ₅ -C ₁₀)	Pétrole	HS-SPME	PDMS	GC-FID	-	Harris <i>et al.</i> , 1999
<i>n</i> -Alcanes (C ₅ -C ₁₂),...	Sédiments	HS-SPME	PDMS, DVB-CAR-	GC	Sub ppm	Abrams <i>et al.</i> , 2009
T, N, dodécane,...	Eau de rivière	SPME	PA, CW-DVB, PDMS	GC-MS	1-6,1 ng/mL	Salafranca <i>et al.</i> , 2003
Chlorotoluènes	Eaux	HS-SPME	PDMS-DVB	GC-MS-MS	0,03-0,33 pg/mL	Regueiro <i>et al.</i> , 2009
Dérivés benzéniques	Eau	SPME	PA	GC-FID	1-16 ng/mL	Da Huang <i>et al.</i> , 1997
Composés aromatiques	Eaux	SPME	CW-DVB	GC-FID	0,5-10 ng/mL	Doorn <i>et al.</i> , 1998
COV	Eaux	HS-SPME	CAR-PDMS	GC-MS-MS	0,004-0,2 µg/L	Cervera <i>et al.</i> , 2011

Muscs synthétiques	Eaux	SPME	PDMS-DVB	GC-MS	14-22 ng/L	Winkler <i>et al.</i> , 2000
Phtalates	Eau	SPME	CW-DVB	GC-MS	0,005-0,04 µg/L	Betlej <i>et al.</i> , 2001
Herbicides	Eaux	SPME	PA	GC-MS	0,02-0,11 µg/L	Martínez <i>et al.</i> , 2003
Herbicides	Eaux	SPME	PDMS	GC-MS	0,5-0,25 µg/L	Rocha <i>et al.</i> , 2008
Pesticides	Eaux	HS-SPME	PDMS-DVB	GC-ECD, GC-TOF-MS	0,00051-0,0032 µg/L	Mmualefe <i>et al.</i> , 2009 Gonçalves et Alpendurada, 2002
Pesticides	Eaux	SPME	PDMS-DVB	GC-ECD, TSD	1-50 ng/L	González <i>et al.</i> , 2007b
Pesticides	Eau	SPME	PDMS-DVB	GC-MS	4-17 ng/L	Filho <i>et al.</i> , 2010
Pesticides	Eaux	SPME	PA	GC-MS	0,02-0,3 ng/L	Cavaliere <i>et al.</i> , 2012
Pesticides	Eaux	SPME	PDMS-DVB	GC-MS-MS	0,04-1,5 ng/L	Sakamoto et Tsutsumi, 2004
Pesticides	Eau	HS-SPME	PA	GC-MS	0,01-10 µg/L	Lambropoulou <i>et al.</i> , 2000
Fongicides	Eaux	SPME	PDMS	GC-ECD	0,001-0,015 µg/L	Lambropoulou et Albanis, 2001
POP	Eaux	HS-SPME	PDMS	GC-FTD, MS	0,01-0,04 µg/L	Su et Huang, 1997
POP	Eaux	SPME	PA	GC-FPD	0,1-0,29 µg/L	Chang et Doong, 2006
POC	Sédiments	HS-SPME	PDMS	GC-ECD	0,029-0,084 ng/g	Lambropoulou <i>et al.</i> , 2003
Composés "antifouling"	Sédiments	SPME	PDMS	GC-MS	0,5-6 ng/g	Magdic et Pawliszyn, 1996
POC	Eau	SPME	PDMS	GC-MS	0,02-800 µg/L	Derouiche <i>et al.</i> , 2007
POC, PCB	Eau	HS-SPME	PDMS	GC-MS-MS	0,4-26 pg/mL	Tomkins et Barnard, 2002
POC	Eau	HS-SPME	DVB-CAR-PDMS	GC-ECD	2-70 ng/L	Júnior et Poppi, 2007
POC	Eaux	SPME	DVB-CAR-PDMS	GC-ECD	4,5 x 10 ⁻³ -1,5 ng/L (LQ)	Aguilar <i>et al.</i> , 1998
Pesticides	Eau	SPME	PA	GC-MS	0,002-0,01 µg/L	Xu <i>et al.</i> , 2007
Herbicides	Eaux	SPME	CAR-PDMS	GC-MS	1,2-2,7 ng/L	Shu <i>et al.</i> , 2003
PCB	Eau	MA-HS-SPME	PDMS	GC-MS	0,27-1,34 ng/L	Yang <i>et al.</i> , 1998
PCB	Eaux	SPME	PDMS	GC-ECD	< 5 pg/mL	Peñalver <i>et al.</i> , 2000
PE	Eaux	SPME	PA	GC-MS	0,006-0,17 µg/L	Peñalver <i>et al.</i> , 2001
PE	Eaux	SPME	PDMS-DVB	GC-MS	3-30 ng/L	Peñalver <i>et al.</i> , 2002
Phénols	Eaux	SPME	PA	LC-ECD	0,05-15 µg/L	Piazza <i>et al.</i> , 2001
MTBE	Eaux	HS-SPME	DVB-CAR-PDMS	GC-MS	-	Carpinteiro <i>et al.</i> , 2004
Anti-inflammatoires	Eau	SPME	PA	GC-MS	12-20 ng/L	Rodríguez <i>et al.</i> , 2004
Anti-inflammatoires	Eau	SPME	PA	GC-MS	12-40 ng/L (LQ)	Araujo <i>et al.</i> , 2008
Anti-inflammatoires	Eau	SPME	PDMS	GC-MS	0,3-2,9 ng/L	Rodríguez <i>et al.</i> , 2005
Herbicides	Eau	SPME	PA	GC-MS	0,004-0,030 ng/mL (LQ)	Canosa <i>et al.</i> , 2006
Parabènes	Eau	SPME	PA	GC-MS-MS	0,001-0,025 µg/L	Canosa <i>et al.</i> , 2005
TCS, MTCS, 2,4-DCP,...	Eau	SPME	PA	GC-MS	< 10 ng/L	

PE	Eau	SPME	PDMS-DVB	GC-MS	2-103 ng/L	Polo <i>et al.</i> , 2005
NP, BPA,...	Eau usée	SPME	PA	GC-MS	40-100 ng/L	Braun <i>et al.</i> , 2003
PBDE	Sédiments	SPME	PDMS	GC-MS	-	Jia <i>et al.</i> , 2012
PBDE, PBD	Eau	HS-SPME	PDMS	GC-MS-MS	7-190 ng/L	Polo <i>et al.</i> , 2004
CP	Eau	SPME	CW-TPR	LC-ECD	3-8 ng/L	Sarrión <i>et al.</i> , 2002
Phénols	Eau	SPME	CW-TPR	LC-DAD	1-10 µg/L	Toledo <i>et al.</i> , 2001
Phénols, CP	Eau	SPME	PA	GC-MS	0,074-9,10 µg/L	Simões <i>et al.</i> , 2007
THM	Eau de robinet	HS-SPME	CAR-PDMS	GC-ECD	0,005-0,01 µg/L	Cho <i>et al.</i> , 2003
THM	Eau	HS-SPME	PDMS	GC-ECD	1,4-6,1 ng/L	Bahri et Driss, 2010
THM	Eau	HS-SPME	CAR-PDMS-DVB	GC-MS	1-20 ng/L	Allard <i>et al.</i> , 2012
Composés organostanniques	Eau	HS-SPME	PDMS	GC-MS	0,4-1,5 ng/L	Chou et Lee, 2005
"Halonitriles"	Eau potable	HS-SPME	CAR-PDMS-DVB	GC-MS	0,9-80 ng/L	Kristiana <i>et al.</i> , 2012
SCCP	Eau	SPME	PDMS	GC-ECD	0,02-0,3 µg/L	Castells <i>et al.</i> , 2003

AP : alkylphénols, BPA : biphénols-A, BTEX : benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes, CAR : carboxen, COV : composés organiques volatils, CP : chlorophénols, CW : carbowax, DCP : dichlorophénol, DBT : dibenzothiophène, DI : "direct immersion", DVB : divinylbenzène, GC-FPD : chromatographie en phase gazeuse-"flame photometric detection", GC-FTD : chromatographie en phase gazeuse-"flame thermionic detection", GC-ECD : chromatographie en phase gazeuse-détection à capture électronique, GC-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse simple, GC-MS-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse en tandem, GC-FID : chromatographie en phase gazeuse-détecteur à ionisation de flamme, GC-TOF-MS : chromatographie en phase gazeuse-"time of flight"- spectrométrie de masse simple, GC-IT-MS : chromatographie en phase gazeuse-"ion trap"- spectrométrie de masse simple HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques, HAP-N : hydrocarbures aromatiques polycycliques azotés, HAP-OH : hydrocarbures aromatiques polycycliques hydroxylés, HS : "headspace", LC-DAD : chromatographie en phase liquide-"diod array detector", LD : limites de détection, LQ : limites de quantification, LC-ECD : chromatographie en phase liquid-détection à capture électronique, LC-FLD : chromatographie en phase liquid-détection par fluorescence, MA : "microwave-assisted", MTBE : "Methy tert-butyl" ether, MTCS : méthyltriclosan, N : naphthalène, NP : nonylphénols, PA : polyacrylate, PBDE : polybromodiphényléthers, PBD : polybromodiphényles, PCB : polychlorobiphényles, PDMS : polydiméthylsiloxane, Phe : phénanthrène, PE : phtalates éthers, POC : pesticides organochlorés, POP : pesticides organophosphorés, SCCP : "Short-chain chlorinated paraffin", SPME : "solid phase microextraction", Poly(VBHI_m+NTf₂-) : "poly(1-(4-vinylbenzyl)-3-hexadecyllimidazolium bis [(Trifluorométhyl)sulfonil]imide)", TCS : triclosan, T : toluène, THM : trihalométhanes, TPR : "templated resin", TSD : "thermionoc specific detection", WAF : "water accommodated fraction".

Tableau 7

Applications alimentaires de la SPME.

Analytes	Matrice	Mode	phase	Système analytique	LD	Références
HAP	Lait, produits laitiers	SPME	PDMS-DVB	GC-MS	0,003-1,5 µg/L 0,008-	Aguinaga <i>et al.</i> , 2007
HAP	Viande fumée	SPME-DED	PDMS	GC-MS	0,138 ng/mL	Martin et Ruiz, 2007
HAP	Lait	HS-SPME	PDMS-DVB	GC-MS	0,2-5 ng/L	Aguinaga <i>et al.</i> , 2008

HAP	Infusios (thés)	HS-SPME	PDMS-DVB	LC-FLD	4,88-145 ng/L	Viñas <i>et al.</i> , 2007
HAP	Huile végétale	SPME	Carbopack Z-PDMS	GCxGC-TOF-MS	0,1-1,4 µg/kg	Purcaro <i>et al.</i> , 2007a
B[a]Pyr	Huile végétale	SPME	Carbopack Z-PDMS	GC-MS	0,17 µg/kg	Purcaro <i>et al.</i> , 2007b
HAP	Fromage fumé	HS-SPME	PA	GC-MS	-	Guillén et Sopelana, 2005
BTEX	Urine, sang	SPME	CAR-PDMS	GC-MS	5-10 ng/L	Andreoli <i>et al.</i> , 1999
Composés soufrés	Bières	HS-SPME	CAR-PDMS	GC-PFPD	-	Hill et Smith, 2000
Fongicides, acaricide	Vin	SPME	PDMS	GC-MS-MS	4,37-274,70 µg/L	Martins <i>et al.</i> , 2012
Pesticides	Concombre, fraise	HS-SPME	PDMS	GC-ECD	0,01-1 µg/L	Chai et Guan, 2010
Pesticides	Fruits, légumes	HS-SPME	PDMS	GC-ECD	0,01-1 µg/L	Chai et Guan, 2009
Pesticides	Laitue	SPME	CW-TPR	LC-DAD	0,8-2,14 mg/kg	Melo <i>et al.</i> , 2012
Pesticides	Jus de fruits	SPME	CW-TPR, PDMS-DVB, PA	LC-MS	0,005-0,05 µg/mL	Sagratini <i>et al.</i> , 2007
POC	Vin, jus de fruits	SPME	PA	GC-MS	2-33 ng/mL, 2-99 ng/mL, 0,001-	Zambonin <i>et al.</i> , 2004
Furane	Jus de fruits, nourriture pour bébé	HS-SPME	PEG-CNT	GC-FID	0,00025 ng/mL	Yazdi <i>et al.</i> , 2012
Pyrazine	Sirop d'érable	HS-SPME	CAR-PDMS, CW-DVB	GC-MS	-	Sabik <i>et al.</i> , 2012
Hexanal	Beurre	HS-SPME	CAR-PDMS	GC-MS	1,02 ng/g	Panseri <i>et al.</i> , 2011
Phénols	Urine	HS-SPME	DVB-CAR-PDMS	GC-MS-MS	0,01-0,02 µg/L	Pizarro <i>et al.</i> , 2010
Phénols	Filets d'hareng fumé	SPME	PA	GC-MS	-	Sérot et Lafficher, 2003
Phytostéroïls	Jus de fruits	SPME	PA	GC-MS	-	Balme et Gülaçar, 2012
THM	Boisson gazeuse	HS-SPME	CAR-PDMS	GC-MS	0,22-0,46 µg/L	Santos <i>et al.</i> , 2011
2-DCB	Steaks hachés de bœuf	HS-SPME	PDMS	GC-MS	1,5 ppb	Soncin <i>et al.</i> , 2012
Terpènes	Matière grasse du lait	HS-SPME	DVB-CAR-PDMS	GC-MS	0,21-78,15 µg/L	Abilleira <i>et al.</i> , 2010
POC	Tissus de poisson	SPME	PDMS	GC-ECD	0,1-0,7 ng/g	Used <i>et al.</i> , 2003
COV	Jus de fruits, nourriture pour bébé	HS-SPME	PDMS	GC-MS	0,2-1,8 µg/L	Aumatell <i>et al.</i> , 2004
COV	Fruit de jacquier	HS-SPME	DVB-CAR-PDMS	GC-TOF-MS	-	Ong <i>et al.</i> , 2008
COV	Lait de soja	HS-SPME	CAR-PDMS	GC-MS	-	Achouri <i>et al.</i> , 2006
COV	Muscles de poissons	HS-SPME	PDMS-DVB	GC-MS	1,4-6,1 ng/L	Iglesias <i>et al.</i> , 2010
COV	Vin d'ananas	HS-SPME	PDMS	GC-MS	0,1-5 µg/L	Pino et Queris, 2010
COV	Vins	HS-SPME	CAR-PDMS	GCxGC-TOF-MS	-	Weldegegis <i>et al.</i> , 2011
COV	Miels	HS-SPME	CAR-PDMS-DVB	GC-MS	-	Plutowska <i>et al.</i> , 2011

COV	Abricot	SPME	CAR-PDMS	GC-MS	-	Gokbulut et Karabulut, 2012
COV	Prunes	HS-SPME	PDMS-DVB	GC-MS	-	Chai <i>et al.</i> , 2012
COV	Plantes	HS-SPME	DVB-CAR-PDMS	GC-MS	-	Lasekan, 2012
COV	Piment, poivre	HS-SPME	DVB-CAR-PDMS	GC-MS	-	Moreno <i>et al.</i> , 2012

B[a]Pyr : benzo[a]pyrène, BTEX : benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes, CAR : carboxen, COV : composés organiques volatils, CW : carbowax, DVB : divinylbenzène, 2-DCB : 2-dodécylcyclobutanone, DED : "direct extraction device", GC-ECD : chromatographie en phase gazeuse-détection à capture électronique, GC-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse simple, GC-MS-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse en tandem, GC-FID : chromatographie en phase gazeuse-détecteur à ionisation de flamme, GCxGC-TOF-MS : "two-dimensional gas chromatography"- "time of flight"-spectrométrie de masse simple, GC-PFPD : chromatographie en phase gazeuse-détecteur à photométrie de flamme pulsée, HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques, HS : "headspace", LC-MS : chromatographie en phase liquid-détection par spectrométrie de masse, LC-DAD : chromatographie en phase liquide-"diod array detector", LC-FLD : chromatographie en phase liquid-détection par fluorescence, LD : limites de détection, PA : polyacrylate, PEG-CNT : polyéthylène glycol-carbone nanotube, PDMS : polydiméthylsiloxane, POC : pesticides organochlorés, SPME : "solid phase microextraction", THM : trihalométhanes, TPR : "templated resin".

Tableau 8

Applications pharmaceutiques et biomédicales de la SPME.

Analytes	Matrice	Mode	phase	Système analytique	LD	Références
HAP	Urine humaine	HS-SPME	PDMS	GC-MS	0,0005-0,5 µg/L	Waidyanatha <i>et al.</i> , 2003
HAP	Urine humaine	HS-SPME	PDMS	GC-ID-MS	2,28-2,28 × 10 ¹ ng/L	Campo <i>et al.</i> , 2009
HAP-OH	Urine humaine	HS-SPME	PA	GC-MS	0,03-0,14 µg/L	Gmeiner <i>et al.</i> , 1998
Benzène, toluène,...	Sang, urine humaine	HS-SPME	CAR-PDMS	GC-FID	0,25-1,5 ng/0,5 mL	Lee <i>et al.</i> , 1999
Clenbutérol	Urine humaine, sérum	SPME	PDMS-DVB	LC-UV	9 ng/L	Aresta <i>et al.</i> , 2008
Délorazépam	Urine humaine	SPME	PDMS-DVB	LC-UV	1 ng/L	Aresta <i>et al.</i> , 2002
Citalopram, Fluoxétine	Urine humaine	SPME	CW-TPR	GC-DAD	0,01 mg/L	Unceta <i>et al.</i> , 2008
Ochratoxine A	Urine humaine	SPME	PDMS-DVB	LC-FLD	0,01 ng/L	Vatinno <i>et al.</i> , 2007
CAP	Urine, eau	SPME	CW-TPR	LC-UV	0,1-37 ng/mL	Aresta <i>et al.</i> , 2010
Lidocaïne	Plasma humain	SPME	PDMS, PDMS-DVB	GC-FID	5 ng/mL	Koster <i>et al.</i> , 2000
PCP	Plasma humain	HS-SPME	PDMS	GC-MS	0,02 ng/mL	Zhou <i>et al.</i> , 2007
Tramadol	Plasma	HS-SPME	PDMS-DVB	GC-MS	0,2 ng/L	Sha <i>et al.</i> , 2005
Fentanyl	Plasma humain	HS-SPME	PDMS	GC-MS	0,03 ng/L	Bagheri <i>et al.</i> , 2007
Cocaïne et Cocaéthylènes	Plasma	SPME	PDMS	GC-MS	11-19 ng/L	Álvarez <i>et al.</i> , 2007
Acide tranexanique	Plasma	SPME	C ₁₈	LC-MS-MS	0,5 µg/L	Bojko <i>et al.</i> , 2011
Vitamine D3	Sérum humain	SPME	"methacrylate-based	GC-MS-MS	5 ng/mL (LQ)	Xie <i>et al.</i> , 2011

			monoliths"			
Éthanol	Fluides biologiques	HS-SPME	PA	GC-MS	0,1-0,5 mg/dL	De Martinis <i>et al.</i> , 2004
Strychnine	Sang	SPME	CW-DVB	GC-MS	6,83 ng/L	Barroso <i>et al.</i> , 2005
Quinalphos	Sang, urine	SPME	CW-DVB	GC-MS	2-10 ng/mL (urine-sang)	Gallardo <i>et al.</i> , 2006
Amphétamines	Sang	HS-SPME	PDMS	GC-MS	-	Nagasawa <i>et al.</i> , 1996 Mastrogianni <i>et al.</i> , 2012
Venlafaxine	Sang	HS-SPME	PDMS	GC-NPD	3-10 ng/mL	
Monoterpènes	Sang	HS-SPME	PDMS	GC-ECD	1,41-6,27 µg/L	Malecky <i>et al.</i> , 2012
Drogues	Salive	HS, DI- SPME	PDMS	GC-MS	1-100 ng/L	Fucci <i>et al.</i> , 2003
Amphétamines	Cheveux humains	HS-SPME	PDMS	GC-NPD	0,1-0,4 ng/mg	Koide <i>et al.</i> , 1998 Sporkert et Pragst, 2000
Nicotine, amphétamines,...	Cheveux humains	HS-SPME	PDMS, CAR-DBV,...	GC-MS	0,05-1 ng/mg	
Amphétamines	Salive	SPME	PDMS	GC-MS	0,5-2 mg/L	Souza <i>et al.</i> , 2011a
Amphétamines	Urine	SPME	PDMS	GC-MS	0,016-0,193 ng/mL	Chia et Huang, 2005
Amphétamines	Urine	HS-SPME	PDMS	GC-FID	30-40 ng/mL	Raikos <i>et al.</i> , 2003
Méthadone, EDDP,...	Cheveux humains	SPME	PDMS	GC-MS	2,48-0,15 ng/mg	Lucas <i>et al.</i> , 2000

CAP : chloramphénicol, CW : carbowax, CAR : carboxen, C₁₈ : octadécyl, DVB : divinylbenzène, DI : "direct immersion", EDDP : "2-ethylene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine", GC-ECD : chromatographie en phase gazeuse-détection à capture électronique, GC-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse simple, GC-MS-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse en tandem, GC-FID : chromatographie en phase gazeuse-détecteur à ionisation de flamme, GC-ID-MS : chromatographie en phase gazeuse-"isotope dilution"-spectrométrie de masse simple, GC-NPD : chromatographie en phase gazeuse-"nitrogenphosphorous detection", HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques, HAP-OH : hydrocarbures aromatiques polycycliques hydroxylés, HS : "headspace", LC-DAD : chromatographie en phase liquide-"diod array detector", LD : limites de détection, LQ : limites de quantification, LC-FLD : chromatographie en phase liquide-détection par fluorescence, LC-MS-MS : chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse en tandem, LC-UV : chromatographie en phase liquide-détection par ultraviolet, PA : polyacrylate, PCP : pentachlorophénol, PDMS : polydiméthylsiloxane, SPME : "solid phase microextraction", TPR : "templated resin".

2.2. "Stir Bar Sorptive Extraction" (SBSE)

L'extraction sur phase solide de barreau d'agitation ("stir bar sorptive extraction" : SBSE) est une technique similaire à l'approche SPME. Elle repose sur le partage des analytes entre la matrice de l'échantillon et une phase polymérique spécifique (polydiméthylsiloxane) supportée sur un barreau aimanté (on parle de "twister"). Introduite dans les années 1999 par Baltussen (Baltussen *et al.*, 1999), cette technique permet le traitement de l'échantillon de toute nature (liquide, gazeux et solide).

2.2.1. Théorie et principe

La technique d'extraction SBSE est par nature une technique d'équilibre. Pour les échantillons aqueux, le coefficient de partage entre la phase polydiméthylsiloxane (PDMS) et l'eau, noté $K_{PDMS/W}$, est proportionnel au coefficient de distribution octanol-eau, noté $K_{O/W}$ (David *et al.*, 2003). Ce dernier est un indicateur de la lipophilie d'une molécule. Il donne donc une indication directe de la capacité d'extraction d'un soluté par la technique SBSE.

La technique SBSE est basée sur le partage des solutés entre les phases défini par log $K_{O/W}$ (David *et al.*, 2003), selon la formule à l'équilibre (1) :

$$K_{PDMS/W} \approx K_{O/W} = \frac{C_{PDMS}}{C_W} = \left(\frac{m_{PDMS}}{m_W} \right) \left(\frac{V_W}{V_{PDMS}} \right) = \beta \left(\frac{m_{PDMS}}{m_W} \right) \quad (1)$$

Où C_{PDMS} est la concentration des analytes dans le PDMS, C_W la concentration des analytes dans l'eau, m_{PDMS} et m_W respectivement la masse des analytes dans le PDMS et dans l'eau, V_W est le volume d'eau et V_{PDMS} le volume de PDMS utilisé, et avec le rapport de phase $\beta = V_W/V_{PDMS}$.

Le taux de récupération R donne une indication de l'efficacité de l'extraction des molécules organiques sur le barreau. Il est défini par le rapport de la quantité extraite de soluté (m_{PDMS}) sur la quantité initiale de soluté présente dans l'eau ($m_0 = m_W + m_{PDMS}$), et est donc dépendant du coefficient de distribution $K_{PDMS/W}$ et du rapport de phase β , comme l'indique l'équation (2) :

$$R = \frac{m_{PDMS}}{m_0} = \frac{\frac{K_{PDMS/W}}{\beta}}{1 + \frac{K_{PDMS/W}}{\beta}} \quad (2)$$

Cette équation permet donc de calculer le taux de récupération théorique d'un soluté connaissant le coefficient de partage et le rapport de phase. Celle-ci montre également que l'efficacité de l'extraction augmente avec l'augmentation de $K_{PDMS/W}$.

2.2.2. Extraction et désorption thermique

La SBSE se décompose en deux grandes étapes : l'extraction et la désorption.

Extraction par SBSE

(i) Mode immersion

Le barreau aimanté est plongé directement dans la matrice liquide à analyser et est agité pendant un temps pré-établi (Figure 10). Les molécules organiques dissoutes sont alors absorbées sur le barreau. Après l'extraction, le barreau est récupéré, rincé avec de l'eau distillée afin d'éliminer les sels, les sucres, les protéines ou d'autres composants de l'échantillon. Le rinçage est une étape importante quand les analytes sont désorbés thermiquement, car il évite la formation de matière non volatile qui peut encrasser l'unité de désorption (Prieto *et al.*, 2010).

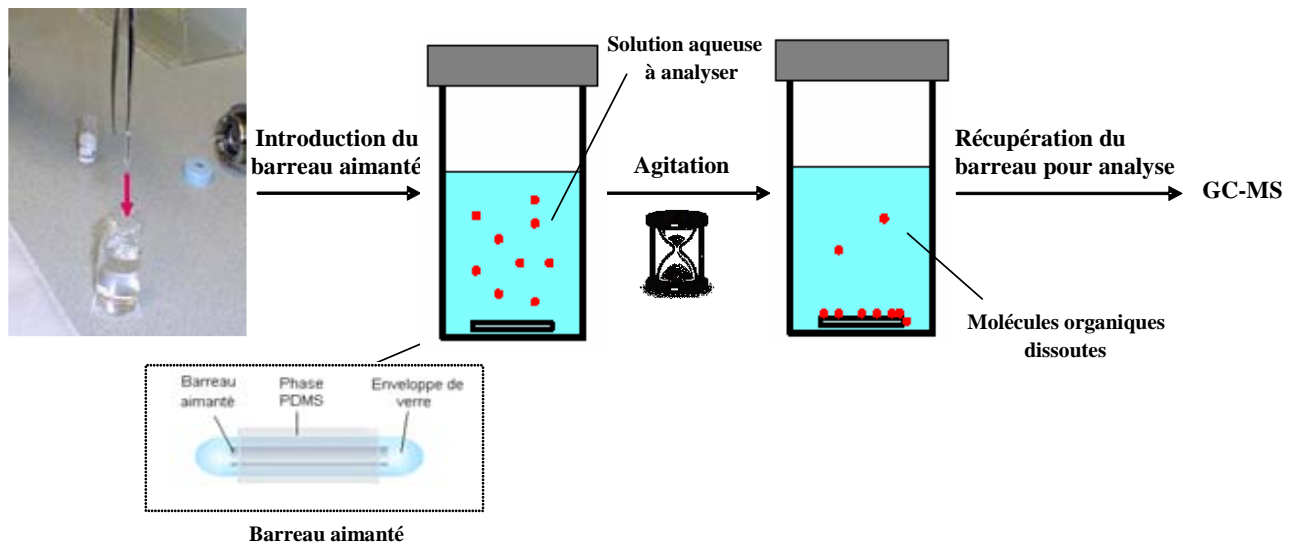


Figure 10. Principe d'extraction par SBSE (mode classique).

(ii) Mode "headspace"

La SBSE peut être utilisée pour l'extraction des composés volatils à partir de la phase gazeuse d'une matrice solide ou aqueuse, et dans ce cas la technique est connue sous le nom de HSSE ("Headspace sorptive extraction") (Bicchi *et al.*, 2002; Thalhamer *et al.*, 2011). L'extraction par HSSE est effectuée en suspendant le barreau aimanté dans la phase gazeuse du flacon. L'échantillon est habituellement agité afin de favoriser la présence des composés volatils dans la phase gazeuse (Figure 11).

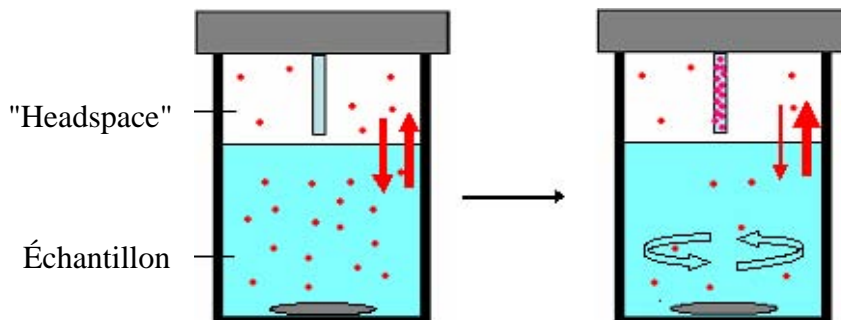


Figure 11. Extraction par "headspace sorptive extraction" (mode HSSE).

(iii) Mode flux en continu

Le mode flux en continu ("continuous flow mode": CF-SBSE) a été récemment développé afin de simuler au mieux la réalité de terrain d'un échantillonnage d'une masse d'eau en mouvement (Mao *et al.*, 2012). Contrairement aux deux modes d'extraction présentés précédemment (SBSE et HSSE) qui sont réalisés sur des volumes d'eau fixes (volumes d'eau prélevés), dans ce mode l'extraction est réalisée sur des volumes d'eau renouvelés en continu. De ce fait, le rendement de cette extraction sera directement dépendant de facteurs comme le débit d'eau entrant dans la cellule de mesure et la vitesse d'agitation.

La figure 12 présente ces trois modes d'extraction SBSE réalisés à l'aide d'un agitateur électrique portable.

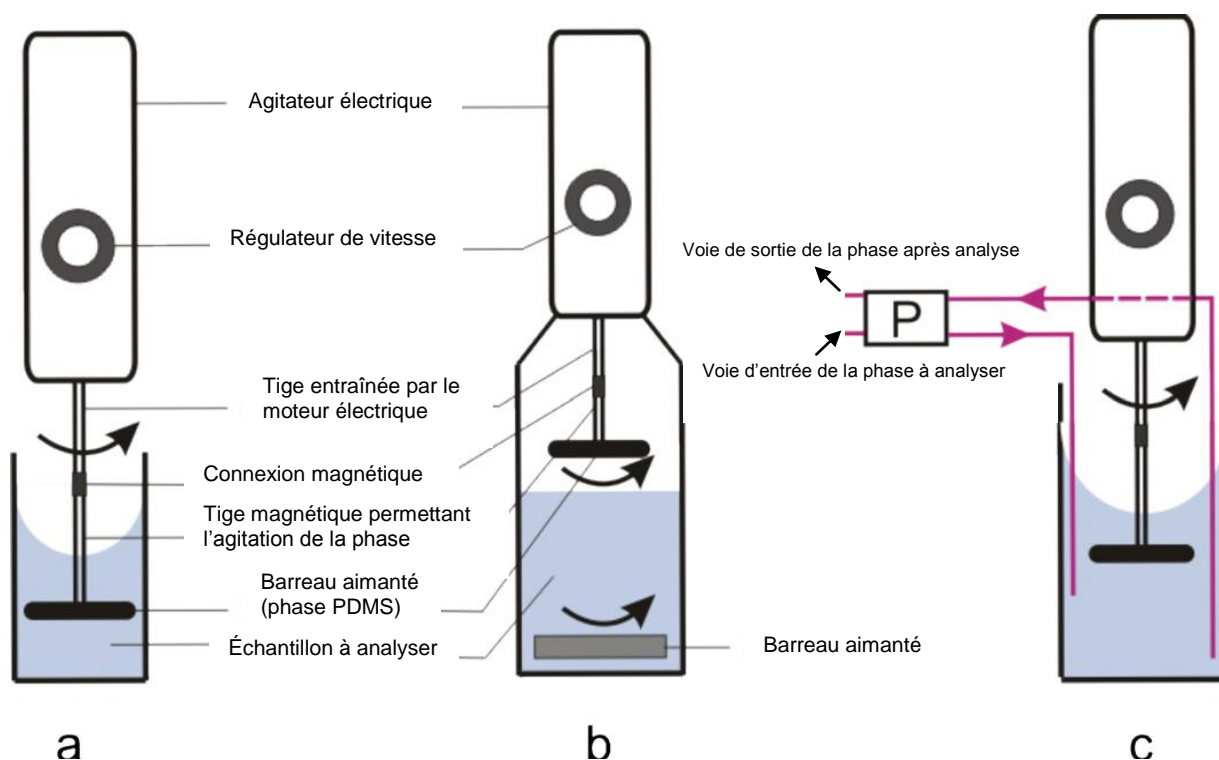


Figure 12. Échantillonneur SBSE portable. (a) mode immersion direct (SBSE), (b) mode "headspace" (HSSE), et (c) mode flux en continu (CF-SBSE) (d'après Mao *et al.*, 2012).

Désorption et analyse

(i) Désorption thermique

La plupart des applications de la SBSE utilisent la désorption thermique suivie par une analyse en GC-MS (Heurtas *et al.*, 2007; Kolahgar *et al.*, 2002; Leòn *et al.*, 2003, 2006; Llorca-Pórcel *et al.*, 2006; Ochiai *et al.*, 2005, 2006; Pérez-Carrera *et al.*, 2007; Prieto *et al.*, 2007; Roy *et al.*, 2005). La désorption thermique des composés est réalisée par une unité TDU ("Thermal Desorption Unit") montée en série avec un injecteur à programmation de température (CIS : "Cooled Injection System"). Pour ce faire, le barreau est placé dans un tube étanche à l'air situé sur le passeur d'échantillon puis introduit dans le TDU maintenu à la température de 50 °C, tandis que le CIS est refroidi (à température située dans la gamme -150 et +40 °C) par de l'azote liquide. Le TDU est alors chauffé (à température située dans la gamme 150 et 320 °C). Les molécules ainsi libérées sont condensées avant d'être injectées dans le couplage GC-MS.

(ii) Désorption liquide

La désorption liquide peut être utilisée (alternative de la désorption thermique) lorsque les analytes d'intérêt sont instables thermo-dynamiquement. Le barreau est placé dans un petit flacon de 2 mL (ou flacon avec insert) et la désorption est effectuée avec des solvants ou mélange de solvants compatibles (méthanol, acétonitrile) suivie par une analyse le plus souvent en HPLC-FLD (García-Falcón *et al.*, 2004), HPLC-UV (Chaves *et al.*, 2007) ou LC-MS-MS (Klein *et al.*, 2010; Nguyen *et al.*, 2011). La désorption liquide peut présenter certains avantages par rapport à la désorption thermique, notamment dans le cas de l'analyse des phtalates. En effet, avec la désorption thermique, il peut y avoir des interférences entre les pics de la phase PDMS et les phtalates (Serôdio et Nogueira, 2006).

Après la désorption liquide ou thermique, les barreaux peuvent être réutilisés de 20 à 50 fois selon la matrice (David et Sandra, 2007).

2.2.3. Facteurs affectant l'extraction

Plusieurs paramètres sont susceptibles d'affecter l'extraction en SBSE ; les plus importants sont le temps d'extraction, l'addition d'un sel inerte, l'addition d'un modificateur organique, et la vitesse d'agitation.

Selon la littérature, le temps d'extraction est le paramètre le plus important qui affecte l'extraction en SBSE. Généralement, ce paramètre est étudié une fois que les autres paramètres ont été définis. Le temps d'extraction est étudié afin d'atteindre l'équilibre qui garantit un maximum de sensibilité et de précision. Cependant, afin de minimiser le temps d'analyse, certains auteurs sacrifient la sensibilité et la précision et travaillent dans des conditions hors équilibre (García-Falcón *et al.*, 2004; Guan *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2007).

Des sels inertes, tel que le chlorure de sodium (NaCl), peuvent être ajoutés afin d'améliorer la récupération des composés polaires : NaCl réduit la solubilité des composés polaires et, donc, augmente le coefficient de partage entre la phase PDMS et l'échantillon aqueux (Ochiai *et al.*, 2006; Quintana *et al.*, 2007). Pour les composés apolaires ($\log K_{o/w} > 3,5$), l'addition d'un sel inerte n'améliore pas l'efficacité de l'extraction et peut même la réduire (Chaves *et l.*, 2007; David et Sandra, 2007; Heurtas *et al.*, 2007; Rodil et Moeder, 2008; Sánchez-Avila *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2009).

Le Méthanol (MeOH) est le modificateur organique le plus utilisé comme un additif pendant l'extraction en SBSE, il minimise l'adsorption des analytes hydrophobes ($\log K_{o/w} > 5$) sur les parois du flacon et évite ainsi la perte des analytes (Brossa *et al.*, 2005; Kolahgar *et al.*, 2002; Leòn *et al.*, 2003; Prieto *et al.*, 2007; Serôdio et Nogueira, 2004). Toutefois, l'ajoute de MeOH peut aussi augmenter la solubilité des analytes dans la phase aqueuse, et par conséquence, minimiser l'efficacité de l'extraction (MacNamara *et al.*, 2009; Serôdio et Nogueira, 2005;). Ainsi, la quantité de MeOH rajoutée doit être soigneusement optimisée.

La vitesse d'agitation est un paramètre important, elle peut améliorer l'efficacité de l'extraction pour un temps défini. Toutefois, l'augmentation de la vitesse d'agitation peut engendrer une usure précoce du barreau du fait des frottements sur le fond du flacon (Liu *et al.*, 2005; Yu et Hu, 2009). Plusieurs auteurs (Quintana *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2009; Yu et Hu, 2009) ont trouvé que la vitesse d'agitation augmente les rendements d'extraction pour des valeurs situées dans la gamme 500-800 tr/min mais que des valeurs plus élevées ont peu ou aucun effet.

D'autres paramètres peuvent influencer l'extraction en SBSE comme le volume de l'échantillon, le volume de la phase PDMS, la température et le pH (Prieto *et al.*, 2010).

2.2.4. Facteurs affectant la désorption thermique

Concernant la désorption thermique, les variables les plus fréquemment étudiées sont le temps de désorption, la température de désorption et la température de condensation ("Cryofocus") puis viennent des variables comme la pression et le flux de désorption (Leòn *et al.*, 2003; Pérez-Carrera *et al.*, 2007; Prieto *et al.*, 2007; Sánchez-Avila *et al.*, 2010).

La température de désorption est normalement évaluée dans la gamme 150-300 °C, et un effet positif est généralement observé lorsque la température augmente (MacNamara *et al.*, 2009; Prieto *et al.*, 2007). La température de "Cryofocus" est aussi une autre variable importante pendant la désorption puisqu'elle garantit la condensation des analytes avant leur injection dans la colonne chromatographique. Une large gamme de températures de "Cryofocus" (-120, +60 °C) a été évaluée par différents auteurs et les conditions sont résumées dans le tableau 9.

Tableau 9

TDU paramètres et analytes étudiés dans certains travaux.

Analytes	Matrice	TDU paramètre				Références
		Température de "Cryofocus" (°C)	Température de désorption (°C)	Temps de désorption (min)	Flux (mL/min)	
HAP, POC, POP	Eau douce	20	280	6	75	Leòn <i>et al.</i> , 2006
HAP	Eau de mer	-	280	1	50	Roy <i>et al.</i> , 2005
PCB	Eau douce	-20	280	10	100	Popp <i>et al.</i> , 2005
HAP, POC, PCB, POP	Eau de mer	20	280	7	75	Pérez-Carrera <i>et al.</i> , 2007
HAP, NP, PCB,...	Eau de mer	-50	300	10	23	Prieto <i>et al.</i> , 2007
HAP, POC, AP	Eau de mer	30	280	7	-	Heurtas <i>et al.</i> , 2007
HAP, POC, PCB, PBDE, NP	Eau de mer	8	280	7	50	Sánchez-Avila <i>et al.</i> , 2010

AP : alkylphénols, HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques, NP : nonylphénols, PBDE : polybromodiphényléthers, PCB : polychlorobiphényles, POC : pesticides organochlorés, POP : pesticides organophosphorés.

2.2.5. Applications de la SBSE

La SBSE trouve des applications très nombreuses dans des domaines aussi variés que l'environnement (Tableau 10), l'alimentaire (Tableau 11), la pharmacie ou le biomédical (Tableau 12). Cette technique a d'abord été appliquée dans le domaine environnemental. Dans le tableau 10, les analytes, la matrice, le volume de l'échantillon, les dimensions du barreau, le temps d'extraction, le système analytique ainsi que les limites de détection sont présentés. Plusieurs travaux démontrent l'intérêt de la technique SBSE pour l'analyse des hydrocarbures dans l'eau, notamment ceux de Kolahgar *et al.* (2002) qui l'utilisent couplée à la GC-MS pour la détermination des HAP dans l'eau ou ceux de García-Falcón *et al.* (2004) qui la couplent à la LC-FLD pour identifier et quantifier des HAP dans l'eau. Les paramètres les plus susceptibles d'affecter le processus SBSE tels que le temps d'extraction, l'addition d'un modificateur organique, l'addition d'un sel inerte, le temps et la température de désorption ont été optimisés. Ces derniers étant fixés, la validation de la SBSE-LC-FLD a porté sur des critères de qualité comme la linéarité et les limites de détection. Une méthodologie par SBSE-LC-GC-MS-MS a également été développée pour la détermination des HAP dans les eaux usées (Barco-Bonilla *et al.*, 2011). Itoh *et al.* (2005) décrivent un protocole pour la détermination des HAP hydroxylés dans l'eau par SBSE avec une dérivation *in situ* suivie par une analyse en TD-GC-MS. La détermination simultanée des pesticides, HAP et PCB dans l'eau de mer a été réalisée par Pérez-Carrera *et al.* (2007).

L'application environnementale de la SBSE ne couvre pas uniquement la phase aqueuse, elle est également utilisée pour les sédiments (Serôdio *et al.*, 2007) et les sols (De La Torre-Roche *et al.*, 2009). Pour ces matrices, les analytes d'intérêt sont d'abord extraits à l'aide d'un solvant miscible à l'eau selon un protocole d'extraction liquide-solide standard, puis après dilution à l'eau de l'extrait, l'extraction SBSE est réalisée.

Les applications de la SBSE dans le domaine alimentaire peuvent être classées en trois catégories : **(i)** l'analyse des constituants mineurs (volatils, additifs) ; **(ii)** la détermination des composés responsables des mauvaises odeurs (aldéhydes) ; et **(iii)** l'analyse à l'état de trace des contaminants (HAP, pesticides). Le tableau 11 présente des méthodes SBSE appliquées dans ce secteur. De nombreux auteurs ont utilisé la SBSE pour l'analyse des composés volatils dans la matière végétale (Bicchi *et al.*, 2005; Kreck *et al.*, 2002; Salinas *et al.*, 2004; Scascighini *et al.*, 2005) et dans les fruits (Sewenig *et al.*, 2005). Les deux modes, immersion (SBSE) et "headspace" (HSSE), ont été utilisés. Ochiai *et al.* (2003) ont appliqué la SBSE pour la détermination des aldéhydes dans la bière. Enfin, des contaminants à l'état de trace tels que les pesticides et les HAP ont été analysés dans les matrices alimentaires (Li *et al.*, 2012b; Maggi *et al.*, 2008; Zuin *et al.*, 2005).

L'utilisation de la SBSE pour l'analyse des composés organiques dans les échantillons biologiques (urine, plasma, salive,...) est devenue usuelle. Le tableau 12 présente différentes méthodologies SBSE appliquées dans le secteur pharmaceutique ou biomédical. À titre d'exemple, la SBSE est utilisée après dérivation *in situ* pour la détermination et la quantification des HAP hydroxylés dans l'urine (Desmet *et al.*, 2003). Ces composés hydroxylés sont utilisés comme indicateurs de l'exposition des organismes aux HAP (Beyera *et al.*, 2010; Budzinski *et al.*, 2004). Huang *et al.* (2008) ont détecté 6 hormones sexuelles stéroïdiennes dans l'urine par SBSE couplée à la chromatographie en phase liquide-"diode array detector" (LC-DAD). Une nouvelle phase ("poly-methacrylic acid stearyl ester-ethylene dimethacrylate") a été synthétisée et utilisée pour l'extraction. Cette nouvelle phase extrait simultanément les composés polaires et apolaires avec des limites de détection de l'ordre ou inférieures à 1,3 ng/mL.

Tableau 10

Applications environnementales de la SBSE.

Analytes	Matrice	Addition	Volume de l'échantillon (mL)	Dimension (mm x mm)	Temps (min)	Désorption	Système analytique	LD (ng/L)	Références
COV, COSV	Eau	-	10-200	10 x 0,5 - 10 x 1	30-75	DT	GC-MS	1	Baltussen <i>et al.</i> , 1999
HAP	Eau	-	10	10 x 1	60	DL	LC-FLD	0,2-2	Popp <i>et al.</i> , 2001
HAP	Eau	Hyamine, MeOH	10	10 x 0,5	210	DT	GC-MS	0,2-2	Kolahgar <i>et al.</i> , 2002
HAP	Eau	-	10	10 x 0,5	60	DL	LC-FLD	0,3-2	Popp <i>et al.</i> , 2003
HAP, PCB,...	Eau	MeOH	30	20 x 0,5	60	DL	LVI-GC-MS	-	Seródio et Nogueira, 2004
HAP	Eau	-	40	10 x 0,5	40	DL	LC-FLD	0,5-7	García-Falcón <i>et al.</i> , 2004
HAP	Eau de mer	-	200	20 x 0,5	60	DT	GC-MS	0,14-1200	Roy <i>et al.</i> , 2005
HAP, pesticides	Eau	NaCl	100	20 x 0,5	14 h	DT	GC-MS	0,1-10,7	Leòn <i>et al.</i> , 2006
HAP	Sols	MeOH	10 g	10 x 0,5	4 h	DT	GC-MS	-	De La Torre-Roche <i>et al.</i> , 2009
HAP	Eau de pluie	-	10	10 x 1	140	DL	LC-FLD	0,2-1,5	Bourdat-Deschamps <i>et al.</i> , 2007
HAP, PASH	Eau	-	50	PDMS- β CD-DVB	90	DT	GC-FID	0,19-20	Yu et Hu, 2009
HAP, PCB, PE, NP	Eau, eau de mer	NaCl, MeOH	20	10 x 0,5	12 h	DT	GC-MS	0,05-3,3	Prieto <i>et al.</i> , 2007
HAP, Pesticides,...	Eau	NaCl, MeOH	10	10 x 0,5	30	DL	LVI-GC-MS	5-60	Brossa <i>et al.</i> , 2005
Pesticides, HAP, PCB	Eau de mer	-	100	20 x 0,5	14 h	DT	GC-MS	0,1-7,5	Pérez-Carrera <i>et al.</i> , 2007
<i>n</i> -Alcanes, BTEX, HAP,...	Fluides hydrothermaux	-	10	10 x 0,5	2 h	DT	GC-MS	-	Konn <i>et al.</i> , 2012
HAP	Eaux	-	50 mL-10 L	20 x 1	30-50	DL	LC-FLD	0,03-3,75	Mao <i>et al.</i> , 2012
HAP	Eaux usées	MeOH	50	10 x 0,5	4 h	DL	GC-MS-MS	< 0,1 μ g/L	Barco-Bonilla <i>et al.</i> , 2011
Pesticides, HAP	Eau	NaCl	100	20 x 0,5	14 h	DT	GC-MS	5-50	Bonet-Domingo <i>et al.</i> , 2007
HAP	Eau de rivière	MeOH	100	-	180	DL	LC-FLD	0,6-6 pg/mL	Ishii <i>et al.</i> , 2006
NP, HAP, PCB,...	Eau de mer	MeOH	100	20 x 0,5	24 h	DT	GC-MS	0,01-37,5	Sánchez-Avila <i>et al.</i> , 2010
EDC	Eau	MeOH	10	10 x 1	60	DL	LVI-GC-MS	0,01-0,24	Peñalver <i>et al.</i> , 2003

24 substances prioritaires (WFD2000/60/EC)	Eau de mer	NaCl	100	20 x 0,5	12 h	DT	GC-MS	0,1-7,3	Heurtas <i>et al.</i> , 2007
HAP-OH	Eau	-	10	10 x 0,5	6 h	DT	GC-MS	0,27-25	Itoh <i>et al.</i> , 2005
PCB	Eau	MeOH	8	10 x 0,5	2 h	DT	GC-MS	0,05-0,15	Popp <i>et al.</i> , 2005
Phénols, CP	Eau	NaCl	10	10 x 0,5	45	DT	GC-MS	0,1-0,4 µg/L	Montero <i>et al.</i> , 2005
AP, BPA	Eau de rivière	-	10	10 x 0,5	60	DT	GC-MS	0,1-3	Nakamura et Daishima, 2004
PBDE	Eau	MeOH	100	20 x 0,5	25 h	DT	GC-MS	0,3-9,6	Llorca-Pórcel <i>et al.</i> , 2006
PBDE	Sédiments	MeOH	5 g	20 x 0,5	240	DL	LVI-GC-MS	0,3-203,4	Seródio <i>et al.</i> , 2007
Triazines	Eau	NaCl	20	10 x 0,5	60	DT	GC-MS	0,2-3,4	Sanchez-Ortega <i>et al.</i> , 2009
PE	Eau potable	-	30	20 x 0,5	60	DL	LVI-GC-MS	3-40	Seródio et Nogueira, 2006
POC	Eau de rivière	CH ₃ COCH ₃	50	20 x 0,5	3 h	DT	GCxGC-HRTOF-MS	10-44 pg/L	Ochiai <i>et al.</i> , 2011

AP : alkylphénols, BPA : biphénols-A, CP : chlorophénols, COV : composés organiques volatils, COSV : composés organique semivolatils, DL : désorption liquide, DT : désorption thermique, EDC : "endocrine disrupting chemicals", GC-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse simple, GC-MS-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse en tandem, GC-FID : chromatographie en phase gazeuse-détecteur à ionisation de flamme, HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques, HAP-OH : hydrocarbures aromatiques polycycliques hydroxylés, GCxGC-HRTOF-MS : "two-dimensional gas chromatography"- "high-resolution time of flight"-spectrométrie de masse simple, LC-FLD : chromatographie en phase liquide-détection par fluorescence, LD : limites de détection, LVI-GC-MS : "large volume injection"-chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse simple, NP : nonylphénols, PASH : "polycyclic aromatic sulfur heterocycles", PBDE : polybromodiphényléthers, PCB : polychlorobiphényles, PE : phthalate éthers, POC : pesticides organochlorés.

Tableau 11

Applications alimentaires de la SBSE.

Analytes	Matrice	Addition	Volume de l'échantillon (mL)	Dimension (mm x mm)	Temps (min)	Désorption	Système analytique	LD (ng/L)	Références
HAP	Tisane	-	10	10 x 0,5	120	DL	LC-FLD	0,1-8,9	Zuin <i>et al.</i> , 2005
HAP, POC, POP et triazines	Safran	MeOH, Na ₂ SO ₄	0,1 g	20 x 0,5	840	DT	GC-MS-MS	0,04-1,2 ng/g	Maggi <i>et al.</i> , 2008
Arômes	Vin	-	25	10 x 0,5	90	DT	GC-MS	-	Zalacain <i>et al.</i> , 2007
Fongicides	Raisins	NaCl	5 g	10 x 1	120	DL	LC-MS	10 ng/g (LQ)	Juan-Garcia <i>et al.</i> , 2004

Pesticides	Légumes, fruits, thé vert	-	25 g	10 x 0,5	60	DT	GC-MS	-	Ochiai <i>et al.</i> , 2005
Pesticides	Miel	Eau	2,5 g	10 x 1	120	DL	LC-MS	0,01-0,1 mg/kg	Blasco <i>et al.</i> , 2004
Pesticides	Vinaigre	-	40	20 x 0,5	150	DT	GC-MS	0,13-0,81 µg/L	Guerrero <i>et al.</i> , 2007
Pesticides	Feuilles de tabac et de thé	MeOH	15 g	-	60	DT	GC-MS	3,3-11,4 ng	Hou <i>et al.</i> , 2007
Pesticides	Orange	NaCl	5 g	-	120	DL	LC-MS	0,001-0,05 ng/g (LQ)	Blasco <i>et al.</i> , 2002
Pesticides	Fruit, légumes, nourriture pour bébé	-	15 g	10 x 0,5	60	DT	GC-MS	-	Sandra <i>et al.</i> , 2003
POC	Matrices végétales	Eau	30	20 x 0,5	180	DL	LVI-GC-MS	< 10 µg/g	Barriada-Pereira <i>et al.</i> , 2010
TCA, TeCA, PCA, phénols	Vin	-	10	10 x 0,5	60	DT	GC-MS	(rouge) 7,56-61,56 (blanc) 5,82-30,50 pg/L	Zalacain <i>et al.</i> , 2004
Terpénoïdes	Bière	-	30	20 x 0,5	120	DT	GC-MS	0,013-0,278 µg/g	Kishimoto <i>et al.</i> , 2005
Terpénoïdes	Carotte	-	0,2 g	-	30	DT	GC-MS	-	Hampel <i>et al.</i> , 2005
Biphénols	Boissons, Concerves végétales	MeOH, NaCl	10	10 x 0,5	4 h	DT	GC-MS	4,7-12,5 ng/L	Cacho <i>et al.</i> , 2012a
Alkylphénols, phtalates	Végétaux	NaCl	2 g	10 x 0,5	180	DT	GC-MS	12,7-105,8 pg/g	Cacho <i>et al.</i> , 2012b
COV	Cidre	NaCl	10	10 x 0,5	60	DT	GC-MS	0,01-6,37 µg/L	Fan <i>et al.</i> , 2011
COV	Raisins	-	200 g	10 x 0,5	360	DT	GC-MS	-	Salinas <i>et al.</i> , 2004
COV	Vinaigre	NaCl	25	10 x 0,5	130	DT	GC-MS	0,03-8,60 µg/L	Guerrero <i>et al.</i> , 2006

COV : composés organiques volatils, DL : désorption liquide, DT : désorption thermique, GC-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse simple, GC-MS-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse en tandem, HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques, LC-MS : chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse simple, LC-FLD : chromatographie en phase liquide-détection par fluorescence, LD : limites de détection, LQ : limites de quantification, LVI-GC-MS : "large volume injection"-chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse simple, PCA : pentachloroanisole, POC : pesticides organochlorés, POP : pesticides organophosphorés, TCA : trichloroanisole, TeCA : tétrachloroanisole.

Tableau 12
Applications pharmaceutiques et biomédicales de la SBSE.

Analytes	Matrice	Addition	Volume de l'échantillon (mL)	Dimension (mm x mm)	Temps (min)	Désorption	Système analytique	LD (ng/L)	Références
Diclofénac	Urine Pédiatrique	H3O ⁺ Cl ⁻	5	20 x 0,5	120	DL	LC-UV	12 ng/mL	Kole <i>et al.</i> , 2011
Antidépresseurs	Plasma	Tampon borate	1	10 x 0,5	45	DL	LC-UV	15-40 µg/L (LQ)	Chaves <i>et al.</i> , 2007
PCB	spermatozoïdes	H2O:MeOH	1	10 x 0,5	45	DT	GC-MS	0,1 ng/L	Benijts <i>et al.</i> , 2001
Benzophénones	Urine	β-glucuronidase, sulfatase, water	1	10 x 0,5	60	DT	GC-MS	0,05-0,1 ng/mL	Kawaguchi <i>et al.</i> , 2008a
Phtalates et métabolites	Fluides biologiques	-	5	10 x 1	60	DT	GC-MS	-	Wahl <i>et al.</i> , 2002a
Barbiturates	Urine	-	5	20 x 1	30	DT	GC-MS	-	Wahl <i>et al.</i> , 2002b
Fluoxétine	Urine humaine	Tampon borate	1	10 x 0,5	30	DL	LC-MS	3 µg/L	Fernandes <i>et al.</i> , 2006
COV	Urine	-	1	10 x 0,5	60	DT	GC-MS	-	Soini <i>et al.</i> , 2005
Hormones sexuelles	Eau, urine	NaCl	30	20 x 1	2 ou 4 h	DL	LC-DAD	0,3-1 µg/L	Almedia et Nogueira, 2006
1-Hydroxypyrene	Urine	-	10	10 x 0,5	60	DT	GC-MS	2 ng/L	Desmet <i>et al.</i> , 2003
Triclosan	Urine	β-glucuronidase, sulfatase, water	1	10 x 0,5	60	DT	GC-MS	0,05 ng/L	Kawaguchi <i>et al.</i> , 2008b
Testostérone, épitestostérone	Urine humaine	NaCl	15	-	60	DT	GC-MS	0,9-2,8 µg/L	Stopforth <i>et al.</i> , 2007
NPG, OPG	Urine humaine	β-glucuronidase, water	1	10 x 0,5	90	DT	GC-MS	0,01-0,11 µg/L	Kawaguchi <i>et al.</i> , 2007
Rifampicine	Urine	Tampon acétate de sodium	200 µL	10 x 0,5	40	DL	LC-UV	0,09 µg/L	Balbão <i>et al.</i> , 2010

COV : composés organiques volatils, DL : désorption liquide, DT : désorption thermique, GC-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse simple, LC-DAD : chromatographie en phase liquide-"diod array detector", LC-UV : chromatographie en phase liquide-détecteur ultraviolet, LD : limite de détection, LQ : limite de quantification, NPG : "nonylphenol glucuronide", OPG : "octylphenol glucuronide", PCB : polychlorobiphényles.

3. OBJECTIFS DE THÈSE

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des composés organiques sous haute surveillance du fait de leur grande toxicité et du caractère cancérigène de certains d'entre eux. Ces propriétés sont également observées chez leurs homologues soufrés (HAPS) (Andersson et Schmid, 1995; Jacob, 1990; Kropp et Fedorak, 1998; Mössner et Wise, 1999; MacFall *et al.*, 1984; Sinsheimer *et al.*, 1992).

Dans les pétroles bruts, ces molécules non ramifiées, appelées "HAP et HAPS parents", sont moins abondantes que leurs homologues substitués qui sont soupçonnés d'avoir un impact environnemental similaire (Wang et Fingas, 1999). De ce fait, les suivis environnementaux mis en place suite à un déversement accidentel en mer doivent prendre en compte l'ensemble de ces molécules, composés parents et substitués, d'autant plus que les molécules substituées semblent être plus réfractaires aux processus de biodégradation que les hydrocarbures parents (Budzinski *et al.*, 1998).

La présence de ces molécules organiques dans la phase aqueuse représente un problème environnemental sérieux mais leur quantification aux faibles teneurs s'avère difficile. En effet, leur analyse nécessite des étapes de préparation, d'extraction, de purification et de reconcentration qui, en plus d'être fastidieuses par les techniques conventionnelles telles que l'extraction liquide-liquide et l'extraction sur phase solide (temps de manipulation longs, grands volumes d'échantillons ou de solvant), ne permettent pas d'atteindre des seuils de détection très bas.

Les travaux conduits dans le cadre de cette recherche ont porté sur le développement de protocoles analytiques permettant d'abaisser les seuils de détection et de quantification des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans la matrice eau de mer ainsi que dans les produits pétroliers. La mise en place de méthodologies analytiques performantes et éprouvées devait également tenir compte de critères opérationnels comme leur facilité de mise en œuvre et la possibilité de les utiliser en routine.

Dans un premier temps, les travaux ont porté sur le développement et la validation d'un outil analytique par SBSE-TD-GC-MS pour l'extraction et l'analyse des HAPS dissous en phase aqueuse au laboratoire (WAF et WSF) et dans le milieu naturel. Par la suite, la méthodologie a été appliquée à l'ensemble des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés.

L'objectif étant de pouvoir caractériser une contamination de la matrice aqueuse par ces molécules reconnus comme étant particulièrement toxiques.

Dans un second temps, les travaux ont porté sur la mise au point d'une méthodologie d'analyse en GC-MS-MS permettant de caractériser l'ensemble des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans le fioul de l'Erika. L'objectif étant de qualifier le fioul de l'Erika comme fioul de référence pour l'analyse de l'ensemble des familles d'alkylés étudiés dans ce travail de recherche.

Dans un troisième temps, les travaux se sont axés sur la validation d'une méthodologie analytique par SPME-GC-MS et SPME-GC-MS-MS. L'objectif était la mise au point d'une technique rapide, performante, à faible coût mais également très adaptée pour la réalisation des suivis environnementaux à haute fréquence. Ces travaux visaient également à améliorer les méthodes de quantification des familles d'alkylés en simple MS.

CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. PRÉPARATION DES ANALYTES ET DES ÉCHANTILLONS

1.1. Solution de calibration pour la technique SBSE

Les solutions sont préparées à partir d'une solution étalon fournie par Ultra Scientific (North Kingstown, USA) contenant, en solution dans le méthanol, 19 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et 2 hétérocycles soufrés (HAPS). Les autres solutions étalons des aromatiques soufrés (6 parents et 8 alkylés) dans le méthanol ont été obtenues auprès du Professeur Jan T. Andersson ("Institute of Inorganic and Analytical Chemistry", Münster, Allemagne). Un mélange de solutions étalons contenant tous les analytes a été préparé dans le méthanol.

Afin de quantifier les composés aromatiques dissous dans l'eau de mer, la technique de l'étalonnage interne a été appliquée en utilisant au minimum un étalon par famille de composés à analyser. Des HAP deutérés sont ainsi ajoutés à l'échantillon avant analyse : naphthalène- d_8 , biphényle- d_{10} , phénanthrène- d_{10} , chrysène- d_{12} et benzo[*a*]pyrène- d_{12} (Tableau 13). Le mélange de composés aromatiques ainsi que les étalons internes sont ajoutés en solution dans du méthanol afin d'augmenter la solubilité de ces composés et d'éviter leur adsorption sur les parois du flacon en verre, tout en préservant une affinité préférentielle pour la phase de PDMS (teneur finale en méthanol ultra pur de l'ordre de 10%).

Tableau 13

Liste des analytes dosés en SBSE-TD-GC-MS ainsi que des étalons internes utilisés pour les quantifier.

Numéro	Analytes (Abréviation)	Étalon interne
1	Naphtalène (N)	<i>Naphtalène-d_8</i>
2	Benzo[<i>b</i>]thiophène (B[<i>b</i>]T)	<i>Naphtalène-d_8</i>
3	2-Méthylbenzothiophène (2-MBT)	<i>Naphtalène-d_8</i>
4	5-Méthylbenzothiophène (5-MBT)	<i>Naphtalène-d_8</i>
5	3-Phénylthiophène (3-PhénylT)	<i>Naphtalène-d_8</i>
6	Biphényle (B)	<i>Biphényle-d_{10}</i>
7	Acénaphtylène (Acy)	<i>Biphényle-d_{10}</i>
8	Acénaphène (Ace)	<i>Biphényle-d_{10}</i>
9	Fluorène (F)	<i>Biphényle-d_{10}</i>
10	Dibenzo[<i>b,d</i>]thiophène (DB[<i>b,d</i>]T)	<i>Phénanthrène-d_{10}</i>
11	Naphto[2,3- <i>b</i>]thiophène (N[2,3- <i>b</i>]T)	<i>Phénanthrène-d_{10}</i>
12	4-Méthylidibenzothiophène (4-MDBT)	<i>Phénanthrène-d_{10}</i>
13	2-Méthylidibenzothiophène (2-MDBT)	<i>Phénanthrène-d_{10}</i>

14	4,6-Diméthyl dibenzothiophène (4,6-DMDBT)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
15	2,7-Diméthyl dibenzothiophène (2,7-DMDBT)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
16	4,6-Diéthyl dibenzothiophène (4,6-DEDBT)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
17	2,4,6,8-Tétraméthyl dibenzothiophène (2,4,6,8-TMDBT)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
18	Phénanthrène (Phe)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
19	Anthracène (Ant)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
20	Fluoranthène (Fluo)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
21	Pyrène (Pyr)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
22	Benzo[<i>a</i>]anthracène (B[<i>a</i>]Ant)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
23	Chrysène (Chry)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
24	Benzo[<i>b</i>]naphto[2,1- <i>d</i>]thiophène (B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
25	Benzo[<i>b</i>]naphto[1,2- <i>d</i>]thiophène (B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
26	2-(2-Naphthyl)benzothiophène (2-(2-Naphthyl)BT)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
27	Benzo[<i>b</i>]fluoranthène (B[<i>b</i>]Fluo)	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrène-d₁₂</i>
28	Benzo[<i>k</i>]fluoranthène (B[<i>k</i>]Fluo)	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrène-d₁₂</i>
29	Benzo[<i>e</i>]pyrène (B[<i>e</i>]Pyr)	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrène-d₁₂</i>
30	Benzo[<i>a</i>]pyrène (B[<i>a</i>]Pyr)	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrène-d₁₂</i>
31	Pérylène (P)	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrène-d₁₂</i>
32	Benzo[<i>b</i>]phénanthro[9,10- <i>d</i>]thiophène (B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T)	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrène-d₁₂</i>
33	Indéno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrène (I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr)	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrène-d₁₂</i>
34	Benzo[<i>ghi</i>]pérylène (B[<i>ghi</i>]P)	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrène-d₁₂</i>
35	Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracène (DB[<i>a,h</i>]Ant)	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrène-d₁₂</i>

1.2. Solution de calibration pour la technique SPME

Les solutions de calibration contiennent 19 HAP parents, 18 HAP ramifiés, 8 HAPS parents et 8 HAPS ramifiés. Les HAP parents ainsi que les étalons internes ont été obtenus auprès de Cambridge Isotope Laboratory (Andover, USA). Une solution contenant les 18 HAP ramifiés (*SRM 1491a*) à des concentrations comprises entre 1 et 2 µg/mL dans le toluène a été achetée à l'institut NIST ("National Institute of standards and Technology", Gaithersburg, MD, USA). Les solutions étalons de HAPS et de leurs dérivés alkylés ont été fournies par le Professeur Jan T. Andersson ("Institute of Inorganic and Analytical Chemistry", Münster, Allemagne) à une concentration de 100 µg/mL. Un mélange contenant toutes ces solutions étalons a été préparé dans le méthanol pour les calibrations. Les noms des composés et leurs abréviations sont présentés dans le Tableau 14.

Une solution de 19 étalons internes deutérés a été préparée dans l'éthanol afin d'être ajoutée à chaque solution de calibration et lors des analyses quantitatives effectuées sur la fraction soluble (WAF) du pétrole Erika.

Tableau 14

Liste des analytes dosés en SPME-GC-MS et MS-MS ainsi que des étalons internes utilisés pour les quantifier.

Numéro	Analytes (Abréviation)	Étalon interne
1	Naphtalène (N)	<i>Naphtalène-d₈</i>
2	2-Méthylnaphtalène (2-MN)	<i>Naphtalène-d₈</i>
3	1-Méthylnaphtalène (1-MN)	<i>Naphtalène-d₈</i>
4	Benzo[<i>b</i>]thiophène (B[<i>b</i>]T)	<i>Naphtalène-d₈</i>
5	2-Méthylbenzothiophène (2-MBT)	<i>Naphtalène-d₈</i>
6	5-Méthylbenzothiophène (5-MBT)	<i>Naphtalène-d₈</i>
7	3-Phénylthiophène (3-PhénylT)	<i>Naphtalène-d₈</i>
8	2,6-Diméthylnaphtalène (2,6-DMN)	<i>Naphtalène-d₈</i>
9	1,6-Diméthylnaphtalène (1,6-DMN)	<i>Naphtalène-d₈</i>
10	1,2-Diméthylnaphtalène (1,2-DMN)	<i>Naphtalène-d₈</i>
11	Acénaphtylène (Acy)	<i>Acénaphtylène-d₈</i>
12	Acénaphène (Ace)	<i>Acénaphène-d₁₀</i>
13	Fluorène (F)	<i>Fluorène-d₁₀</i>
14	Dibenzo[<i>b,d</i>]thiophène (DB[<i>b,d</i>]T)	<i>Dibenzothiophène-d₈</i>
15	Naphto[2,3- <i>b</i>]thiophène (N[2,3- <i>b</i>]T)	<i>Dibenzothiophène-d₈</i>
16	4-Méthyl dibenzothiophène (4-MDBT)	<i>Dibenzothiophène-d₈</i>
17	2-Méthyl dibenzothiophène (2-MDBT)	<i>Dibenzothiophène-d₈</i>
18	4,6-Diméthyl dibenzothiophène (4,6-DMDBT)	<i>Dibenzothiophène-d₈</i>
19	2,7-Diméthyl dibenzothiophène (2,7-DMDBT)	<i>Dibenzothiophène-d₈</i>
20	4,6-Diéthyl dibenzothiophène (4,6-DEDBT)	<i>Dibenzothiophène-d₈</i>
21	2,4,6,8-Tétraméthyl dibenzothiophène (2,4,6,8-TMDBT)	<i>Dibenzothiophène-d₈</i>
22	Phénanthrène (Phe)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
23	3-Méthylphénanthrène (3-MPhe)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
24	2-Méthylphénanthrène (2-MPhe)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
25	9-Méthylphénanthrène (9-MPhe)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
26	1-Méthylphénanthrène (1-MPhe)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
27	1,7-Diméthylphénanthrène (1,7-DMPhe)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
28	Rétène (R)	<i>Phénanthrène-d₁₀</i>
29	Anthracène (Ant)	<i>Anthracène-d₁₀</i>
30	2-Méthylantracène (2-MAnt)	<i>Anthracène-d₁₀</i>
31	Fluoranthène (Fluo)	<i>Fluoranthène-d₁₀</i>
32-33	1/3-Méthylfluoranthène (1/3-MFluo)	<i>Fluoranthène-d₁₀</i>
34	Pyrène (Pyr)	<i>Fluoranthène-d₁₀</i>
35	4-Méthylpyrène (4-MPyr)	<i>Fluoranthène-d₁₀</i>
36	1-Méthylpyrène (1-MPyr)	<i>Fluoranthène-d₁₀</i>
37	Benzo[<i>a</i>]anthracène (B[<i>a</i>]Ant)	<i>Benzo[<i>a</i>]anthracène-d₁₂</i>
38	Chrysène (Chry)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
39	3-Méthylchrysène (3-MChry)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
40	6-Méthylchrysène (6-MChry)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
41	Benzo[<i>b</i>]naphto[2,1- <i>d</i>]thiophène (B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
42	Benzo[<i>b</i>]naphto[1,2- <i>d</i>]thiophène (B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
43	2-(2-Naphthyl)benzothiophène (2-(2-Naphthyl)BT)	<i>Chrysène-d₁₂</i>
44	Benzo[<i>b</i>]fluoranthène (B[<i>b</i>]Fluo)	<i>Benzo[<i>b</i>]fluoranthène-d₁₂</i>
45	Benzo[<i>k</i>]fluoranthène (B[<i>k</i>]Fluo)	<i>Benzo[<i>k</i>]fluoranthène-d₁₂</i>
46	Benzo[<i>e</i>]pyrène (B[<i>e</i>]Pyr)	<i>Benzo[<i>e</i>]pyrène-d₁₂</i>
47	Benzo[<i>a</i>]pyrène (B[<i>a</i>]Pyr)	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrène-d₁₂</i>
48	Pérylène (P)	<i>Pérylène-d₁₂</i>
49	Benzo[<i>b</i>]phénanthro[9,10- <i>d</i>]thiophène (B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T)	<i>Pérylène-d₁₂</i>
50	Indéno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrène (I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr)	<i>Indéno[1,2,3-<i>cd</i>]pyrène-d₁₂</i>
51	Benzo[<i>ghi</i>]pérylène (B[<i>ghi</i>]P)	<i>Benzo[<i>ghi</i>]pérylène-d₁₂</i>

1.3. Solution de calibration pour l'analyse en GC-MS-MS

Les solutions de calibration contiennent 19 HAP parents, 18 HAP ramifiés, 8 HAPS parents et 8 HAPS ramifiés. La solution de HAP parents provient de LGC Standards qui fournit des solutions de référence certifiées (Molsheim, France) : la *CUS 9306* contient 19 HAP et 2 HAPS à une concentration de 100 µg/mL dans le méthanol. Une solution contenant les 18 HAP ramifiés (*SRM 1491a*) à des concentrations comprises entre 1 et 2 µg/mL dans le toluène a été achetée à l'institut NIST ("National Institute of standards and Technology", Gaithersburg, MD, USA). Les autres solutions étalons des HAPS (6 parents et 8 alkylés) ont été fournies par le Professeur Jan Andersson ("Institute of Inorganic and Analytical Chemistry", Münster, Allemagne) à une concentration de 100 µg/mL. Un mélange contenant toutes ces solutions étalons a été préparé dans le dichlorométhane pour les calibrations.

Une solution de 5 étalons internes deutérés (Cambridge Isotope Laboratory, Andover, USA) a été préparée dans l'acétonitrile afin d'être ajoutée à chaque solution de calibration et lors des analyses quantitatives effectuées sur le pétrole de référence. Elle contient le naphthalène-*d*₈, le biphenyle-*d*₁₀, le phénanthrène-*d*₁₀, le chrysène-*d*₁₂ et le benzo[*a*]pyrène-*d*₁₂ à des concentrations comprises entre 40 et 200 µg/mL.

Le pétrole qui a été choisi en tant que matrice de référence contenant des hydrocarbures est un échantillon de fioul lourd de l'Erika prélevé en raffinerie juste après le naufrage du navire en 1999.

1.4. Préparation des fractions solubles (WAF et WSF)

Une "water accommodated fraction" (WAF) est une solution aqueuse contenant les molécules les plus solubles constitutives d'un produit pétrolier. Cette solution est préparée en déposant un pétrole à la surface d'eau de mer, en milieu fermé et dans des conditions préconisées par le CROSSERF ("Chemical Response to Oil Spills : Ecological Research Forum") (Singer *et al.*, 2000). Cette solution résulte de l'équilibre des molécules entre une nappe de pétrole, une phase gazeuse ("headspace") et une phase aqueuse (les molécules les plus solubles étant également les plus volatiles).

Comme illustré figure 13, la solution de WAF est préparée sur la base d'un protocole standardisé par le CROSSERF (Singer *et al.*, 2000). Un volume d'eau de mer (1,7 L préalablement filtré à 0,45 µm et désinfecté aux UV en provenance d'Océanopolis (Brest, Finistère, France) est introduit dans une bouteille de 2 L, le rapport volume eau/air étant de 4/1. Le pétrole est déversé doucement à la surface de l'eau, la charge pétrole/eau étant de 1/100 000 (0,017 g de pétrole pour 1,7 L d'eau). Durant 24 h, l'eau est faiblement agitée avec un agitateur magnétique pour que la nappe de pétrole reste à la surface sans former de vortex ou des gouttelettes de pétrole qui ne se disperseraient pas dans la colonne d'eau. La préparation est maintenue à l'obscurité afin d'éviter les phénomènes de photooxydation. Les échantillons destinés aux analyses chimiques sont prélevés dans la partie inférieure de la colonne d'eau dans des flacons par le robinet (Figure 13).

Une WSF "water soluble fraction" est préparée selon la même procédure mais dans un flacon ouvert. L'évaporation se fait donc dans des conditions proches de celles rencontrées dans le cas d'un déversement d'hydrocarbures dans le milieu naturel.

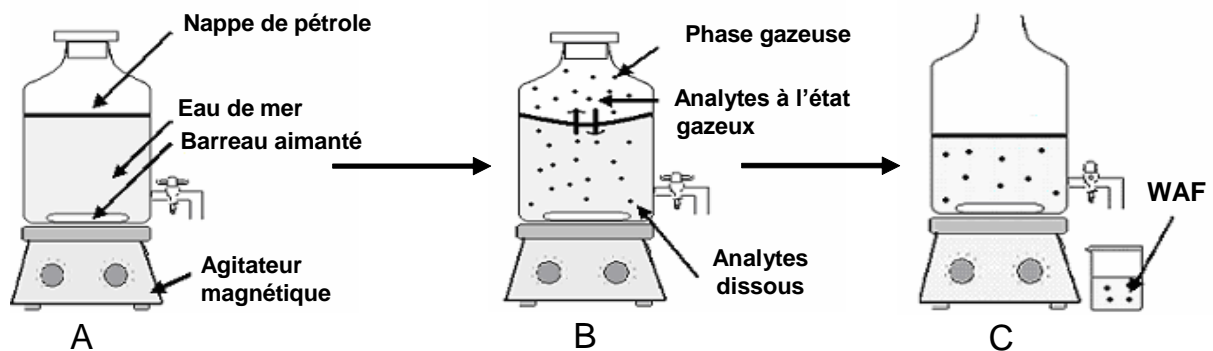


Figure 13. Schéma de préparation d'une solution de "water accommodated fraction" (WAF). A : déversement du pétrole à la surface de l'eau (rapport pétrole/eau : 1/100 000 ; rapport phase gazeuse/phase aqueuse : 1/4), B : agitation de l'échantillon durant 24 h (en évitant l'apparition de vortex ou de gouttelettes dans la colonne d'eau), C : prélèvement de la solution de WAF.

1.5. Prélèvement des échantillons naturels

Afin de compléter la procédure SBSE-TD-GC-MS développée et validée au laboratoire, les travaux ont porté sur l'application de la méthodologie à l'environnement. Des échantillons d'eau marine ont été prélevés dans le port de commerce (Brest, Finistère, France) au mois de Septembre 2010 et 2011 à marée basse. Ils ont été conservés à -20 °C jusqu'à leurs analyses selon le protocole d'extraction (SBSE) et d'analyse (TD-GC-MS) décrit dans les sections 2.2. et 2.4. Afin de doser simultanément les composés dissous et

particulaires, les analyses ont été effectuées sur des eaux brutes non filtrées. L'analyse des eaux non filtrées peut permettre éventuellement de simplifier à l'extrême l'analyse des composés et de diminuer le risque de contamination des échantillons.

2. LES TECHNIQUES ANALYTIQUES EMPLOYÉES

2.1. LLE-GC-MS

La technique habituellement employée pour l'analyse des composés aromatiques polycycliques dissous est l'extraction liquide-liquide (LLE) qui consiste à extraire 1 L d'échantillon d'eau (WAF) en ajoutant 80 mL de solvant organique, le dichlorométhane, et en agitant fortement l'ampoule pendant quelques minutes. Le processus est répété trois fois afin d'extraire l'ensemble des composés hydrophobes vers la phase organique. La phase organique est récupérée puis séchée sur du sulfate de sodium anhydre préalablement nettoyé au dichlorométhane. Après évaporation à l'évaporateur rotatif et sous flux d'azote, les extraits sont transférés dans des flacons d'injection avec insert (volume de 200 µL environ) pour analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS). Avant l'extraction, 100 mL de méthanol contenant 5 HAP deutérés (naphtalène-d₈, biphényle-d₁₀, phénanthrène-d₁₀, chrysène-d₁₂ et benzo[a]pyrène-d₁₂) ont été ajoutés.

Bien que la LLE soit une technique efficace, elle présente l'inconvénient de nécessiter de grandes quantités de solvant et des temps de manipulation très longs et n'est donc pas adaptée pour la réalisation de suivis environnementaux à grande échelle.

2.2. SBSE-TD-GC-MS

2.2.1. *Extraction des analytes*

L'extraction des analytes est réalisée par migration des composés vers la phase de polydiméthylsiloxane (PDMS) déposée sur le barreau aimanté. Pour ce faire, le barreau est introduit directement dans un flacon de 125 mL contenant 100 mL d'échantillon d'eau, dopés avec 10 mL d'une solution de méthanol contenant les HAP deutérés.

Une agitation de 6 h à la vitesse de 700 tr/min est assurée afin d'extraire les composés ciblés. Elle est réalisée à l'aide d'un agitateur magnétique multipositions (Gerstel®). Dans le but d'éviter les phénomènes de photooxydation, le flacon est maintenu dans l'obscurité. Une fois la période d'agitation achevée (6 h), le barreau est récupéré à l'aide d'un barreau aimanté classique en le faisant remonter le long de la paroi en verre du flacon. Le barreau

est alors saisi avec une pince puis rincé avec de l'eau osmosée avant d'être déposé et séché sur du papier absorbant. Il est ensuite inséré dans son tube de désorption. L'analyse est effectuée par passage du barreau (contenu dans le tube de désorption) sur l'unité de désorption thermique avant injection dans la colonne HP-5 MS (Figure 14).

Avant l'extraction, les barreaux sont conditionnés dans un tube de désorption thermique pendant 4 h à 300 °C avec un flux d'hélium de 50 mL/min. Les "twisters" utilisés, commercialisés par la société Gerstel, ont une longueur de 2 cm et sont constitués d'un barreau aimanté contenu dans une enveloppe de verre sur laquelle est déposé un film de PDMS de 0,5 mm d'épaisseur.

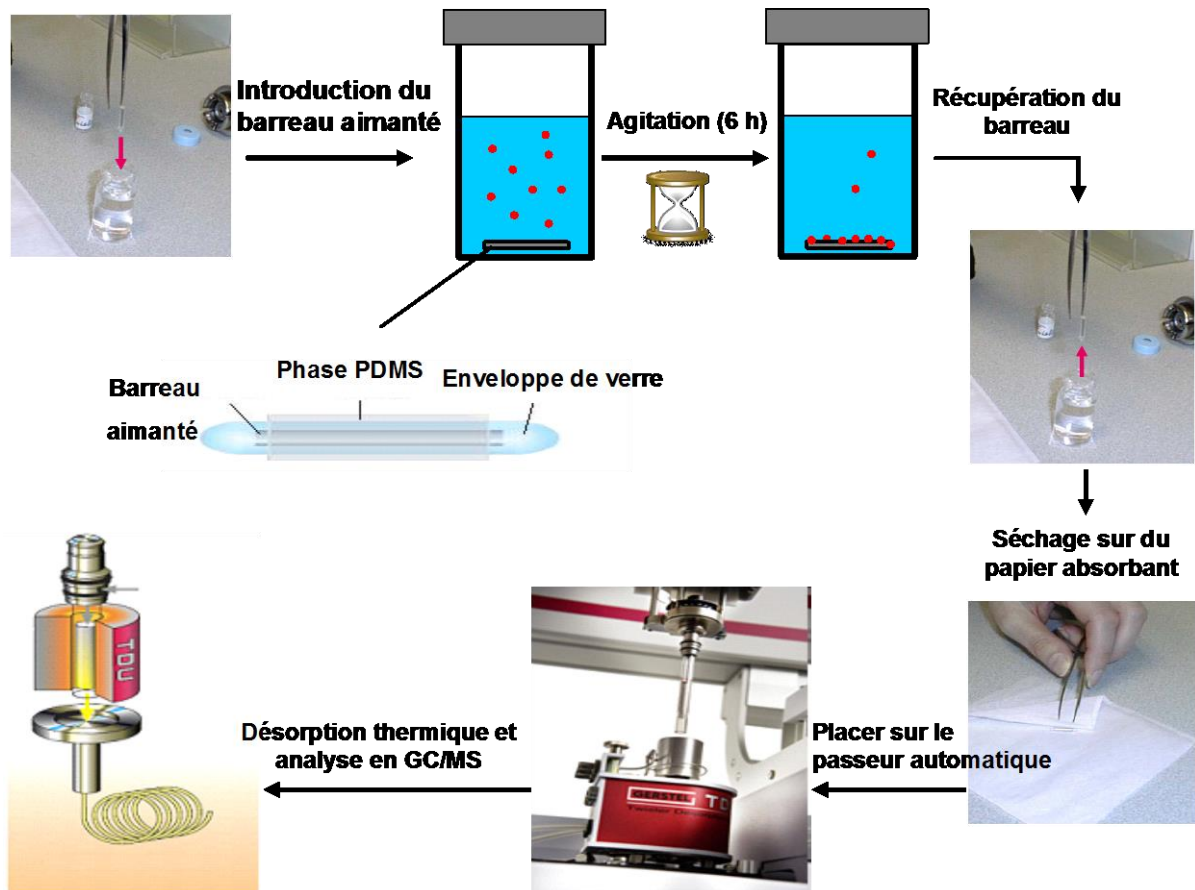


Figure 14. Protocole d'extraction et d'analyse en SBSE-TD-GC-MS.

2.2.2. Désorption thermique des barreaux

La désorption thermique des composés concentrés par la phase de PDMS permet d'introduire les analytes dans la colonne chromatographique. Cette étape est réalisée par un désorbeur thermique (TDU : "Thermal Desorption Unit") monté en série avec un injecteur à programmation de température (CIS : "Cooled Injection System") (Figure 15). Pour ce faire, le barreau est placé dans un tube étanche à l'air situé sur le passeur d'échantillon puis introduit dans le TDU maintenu à la température de 50 °C, tandis que le CIS est refroidi à 10 °C par de l'azote liquide. Le TDU est alors chauffé jusqu'à 280 °C à 115 °C/min ; la durée de désorption est fixée à 10 min. Les molécules ainsi libérées sont condensées dans un liner à chicanes disposé dans le CIS (Figure 15), avant d'être injectées, en mode "splitless", dans le couplage GC-MS par une montée en température rapide (de 10 °C à 300 °C à 12 °C/s).

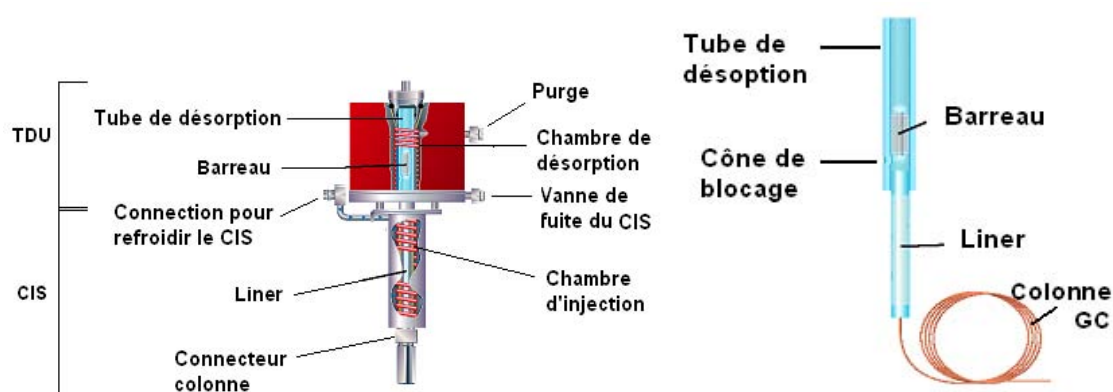


Figure 15. Schémas de l'unité de désorption thermique (TDU) montée en série avec l'injecteur à programmation de température (CIS) (à gauche) relié au dispositif d'introduction des composés dans la colonne capillaire (à droite).

2.3. SPME-GC-MS

L'extraction par SPME, est automatisée et se fait en ligne avec la chromatographie. La seringue d'injection liquide est remplacée par une fibre recouverte d'un revêtement polymérique qui est immergée dans l'échantillon aqueux. Ce revêtement est le support d'ab/adsorption des analytes s'il est de nature liquide tel que le polydiméthylsiloxane (PDMS) ou poreuse tel que le divinylbenzène (DVB) et la phase Carbowax (CAR), respectivement. Cette technique ne repose pas sur l'extraction totale des analytes de l'échantillon, mais sur leur équilibre entre l'échantillon à analyser et la phase polymérique. La quantité d'analytes extraits, et ainsi la sensibilité de la technique, est fonction de la nature et de l'épaisseur de la

phase, des conditions de température et de durée d'extraction et des conditions de désorption (Burgot et Pellerin, 2003).

L'extraction est généralement effectuée sous agitation, ce qui permet d'homogénéiser l'échantillon tout au long de l'extraction ; aucune couche statique appauvrie en analytes ne se crée ainsi autour de la phase permettant de gagner en temps pour atteindre l'équilibre ou en sensibilité en un temps donné (Burgot et Pellerin, 2003).

Les hydrocarbures polycycliques et leurs dérivés alkylés sont extraits par microextraction sur phase solide en mode immersion selon le protocole optimisé au laboratoire (LPTC) par De Perre *et al.* (2009). Pour ce faire, 8 mL de WAF sont placés dans un flacon SPME de 10 mL, auxquels une solution d'étalons internes dans l'éthanol est ajoutée. L'échantillon est incubé dans le four d'un autoéchantillonneur CombiPal (CTC Gerstel MPS2XL) pendant 3 min à 40 °C avec une agitation de 250 tr/min. Ensuite l'extraction est assurée en plongeant une fibre PDMS 100 µm de type Merlin dans l'échantillon d'eau pendant 1 h à 40 °C avec une vitesse d'agitation de 250 tr/min, période durant laquelle les analytes se partagent entre l'échantillon et la fibre. Une fois l'extraction terminée, la fibre est retirée dans son aiguille et est désorbée dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse pendant 5 min à 270 °C (Figure 16).

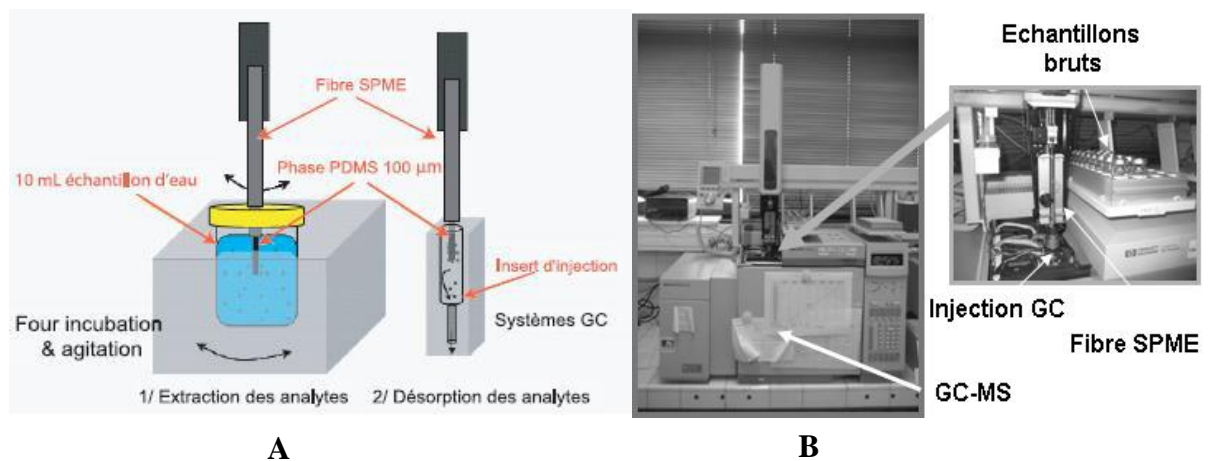


Figure 16. Extraction et analyse par SPME-GC-MS. A : représentation schématique de la SPME (d'après De Perre *et al.*, 2009). B : analyse d'un échantillon d'eau par SPME-GC-MS.

2.4. Conditions d'analyse par GC-MS

L'analyse est effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection par spectrométrie de masse (GC-MS). Le chromatographe en phase gazeuse est un 6890N Agilent équipé d'un système d'injection multifonctions Combipal MPS2 (Gerstel[®], Suisse) utilisé en mode "splitless". Le gaz vecteur est de l'hélium à débit constant de 1 mL/min. La colonne capillaire est une HP-5 MS (Agilent technologies) : 30 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm (épaisseur de film). Le chromatographe est couplé à un détecteur par spectrométrie de masse (Agilent MSD 5975) (Impact électronique : 70 eV, tension : 2000 V). L'analyse qualitative des différents composés est effectuée en mode SCAN (balayage des masses de 45 à 550 UMA), puis pour l'analyse quantitative en mode SIM ("Single ion monitoring") par le balayage des fragments m/z caractéristiques de chaque composé étudié (minimum de 1,5 cycle par seconde). Le programme de température du four est : 50 °C (1 min) à 150 °C (10 °C/min) puis 5 °C/min jusqu'à 320 °C (5 min).

2.5. Mise au point d'une méthodologie de quantification par GC-MS-MS

Différents équipements et solutions étalons ont été utilisés pour la mise au point de la méthode de quantification par GC-MS-MS des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés. Des solutions contenant des composés bien identifiés ont permis de tracer des courbes de calibration, mais celles-ci ne concernent qu'une partie des composés parents et alkylés présents dans le pétrole (certains composés alkylés ne sont pas commercialement disponibles). Elles ne permettent pas de quantifier individuellement tous les analytes d'intérêt (parents et ramifiés) présents dans le pétrole, et ne permettent pas non plus (jusqu'à présent) de quantifier de manière plus globale les familles de molécules de même niveau de ramification. Cette étude vise donc à définir un étalon contenant la quasi-totalité des molécules susceptibles d'être quantifiées. La solution qui a semblé la plus prometteuse a consisté à choisir un pétrole de référence, à le caractériser de manière la plus complète possible en s'aidant du plus grand nombre possible de composés individuels, et enfin, à l'utiliser pour quantifier de manière plus fiable l'ensemble des molécules ramifiées précédemment analysées en simple quadripôle.

Le pétrole qui a été choisi en tant qu'hydrocarbure de référence est un échantillon de fioul lourd de l'Erika prélevé en raffinerie juste après le naufrage du navire en 1999.

2.5.1. Développement de la méthode d'analyse des composés standards

Dans un premier temps, la méthode d'analyse par GC-MS-MS a été développée sur les composés standards disponibles au laboratoire (19 HAP, 2 HAPS) pour ensuite être appliquée à l'ensemble des HAP, HAPS parents et de leurs dérivés ramifiés contenus dans le pétrole Erika. La détermination des temps de rétention de chaque composé a été la première étape du développement. Pour ce faire, plusieurs solutions contenant respectivement 19 HAP parents, 18 HAP ramifiés, 8 HAPS parents ainsi que 8 HAPS ramifiés, ont été préparées puis injectées en utilisant le mode SIM en spectrométrie de masse. En mode SIM, les ions moléculaires ont été systématiquement sélectionnés car ce sont les fragments les plus abondants du fait de la stabilité de ces molécules. La figure 17 représente le chromatogramme obtenu en mode SIM d'une solution contenant tous les composés individuels analysés dans le cadre de cette étude.

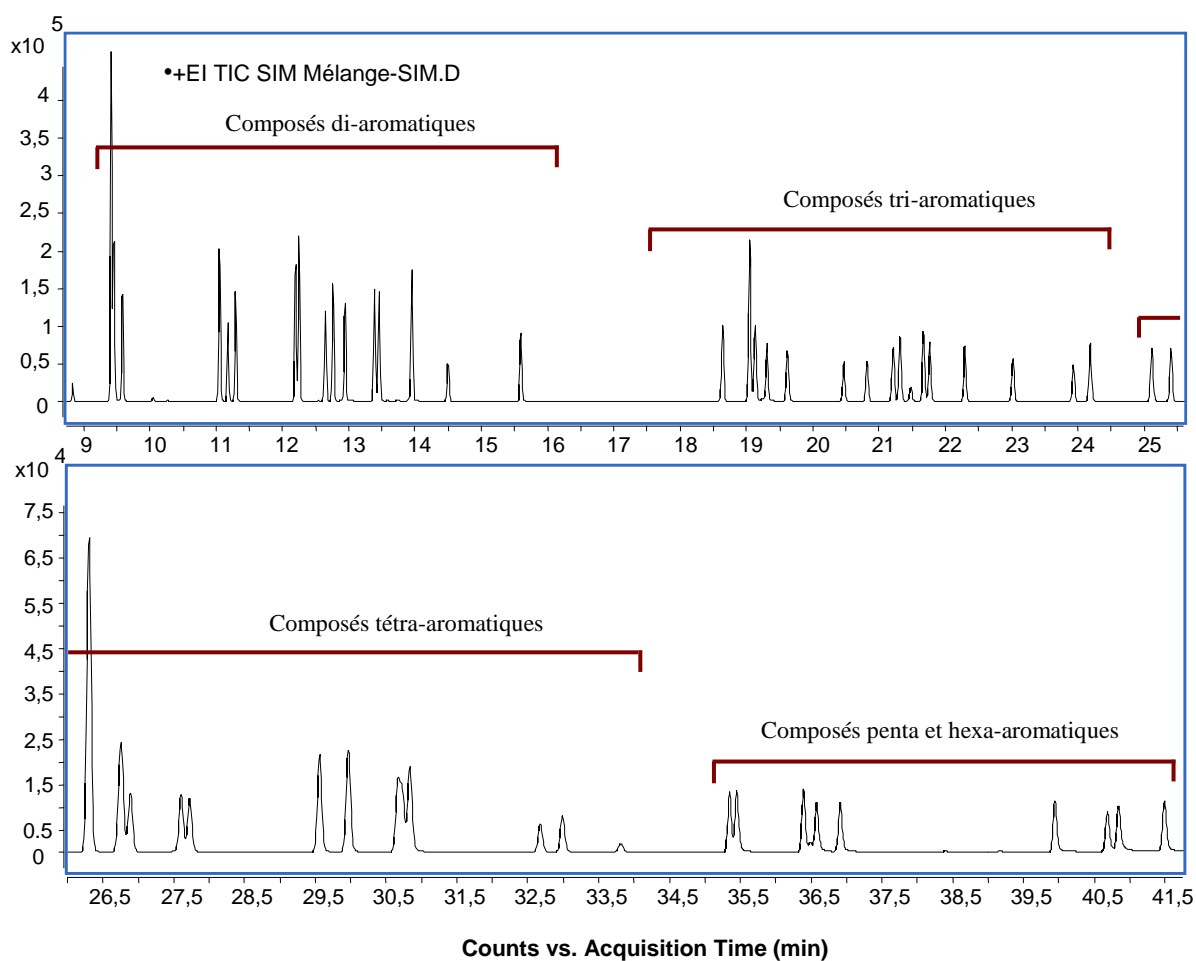


Figure 17. Chromatogramme de la solution contenant tous les composés individuels à la concentration de 100 ng/mL (injection 1 μ L, colonne HP-5MS, ionisation en impact électronique, acquisition en mode SIM).

La MS en tandem est basée sur l'étude des transitions ion parent-ion fils. L'ion parent est l'ion moléculaire. Les ions fils ont été déterminés par analyse des spectres de masse des composés obtenus en mode "Product Ion" (ions fils) en faisant varier les énergies de collision de 5 à 50 eV, par pas de 5 eV. Les différentes énergies de collision permettent d'obtenir des spectres d'ions fils différents quantitativement (abondances des fragments) mais également qualitativement (distributions et types de fragments). Deux ions fils sont recherchés : un ion utilisé pour la quantification ("quantifier ion" et un ion permettant de s'assurer de l'identité de la molécule cible ("qualifier ion"). L'ion de quantification retenu est souvent le plus abondant (et différent du précurseur) afin d'augmenter la sensibilité de l'analyse. La figure 18 présente le spectre de masse du 1-méthyl-naphtalène. Cet exemple montre que le fragment de la molécule le plus abondant est le 141. Il est donc choisi comme "quantifier ion". Le "qualifier ion" retenu est le 115 car il est plus abondant que l'ion 91.

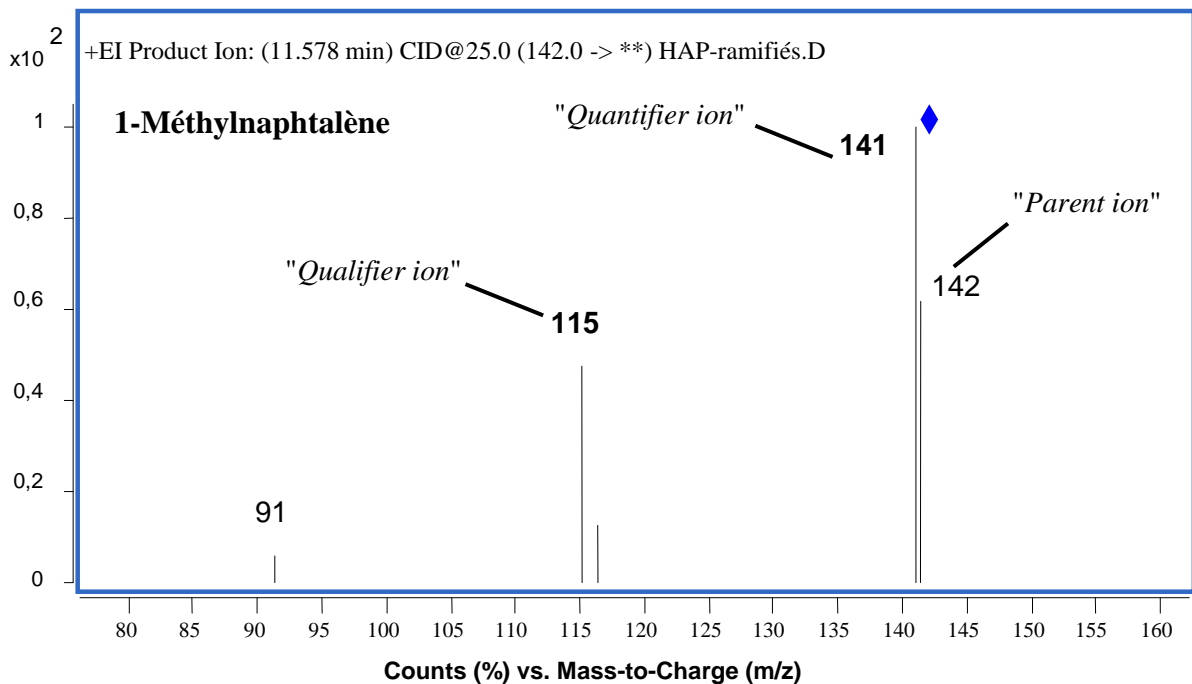


Figure 18. Choix des ions fils de quantification et de qualification ("quantifier et qualifier").

Les principaux ions des spectres de masse obtenus ainsi que les énergies de collision pour tous les composés individuels sont présentés dans le Tableau 15.

Tableau 15

Conditions MRM (transitions et énergie de collision) obtenues pour les composés étudiés.

Analytes	Ions parents (m/z)	Ions fils (Q-q) (m/z)	Énergie de collision (Q/q) (ev)
N	128	102-127	20/20
2-MN	142	141-115	20/20
1-MN	142	141-115	20/20
B[b]T	134	89-108	25/25
2-MBT	148	147-115	40/40
5-MBT	148	147-115	40/40
3-PhénylT	160	115-128	30/30
2,6-DMN	156	141-115	25/25
1,6-DMN	156	141-115	25/25
1,2-DMN	156	141-115	25/25
B	154	152-153	35/35
Acy	152	151-150	25/25
Ace	154	152-153	35/35
F	166	165-164	40/40
DB[b,d]T	184	152-139	20/20
N[2,3-b]T	184	152-139	20/20
4-MDBT	198	197-165	30/25
2-MDBT	198	197-165	30/25
4,6-DMDBT	212	211-197	30/25
2,7-DMDBT	212	211-197	30/25
4,6-DEDBT	240	239-225	35/35
2,4,6,8-TMDBT	240	239-225	35/35
Phe	178	176-152	40/15
Ant	178	176-152	40/15
3-MPhe	192	191-189	30/30
2-MPhe	192	191-189	30/30
2-MAnt	192	191-189	30/30
9-MPhe	192	191-189	30/30
1-MPhe	192	191-189	30/30
1,7-DMPhe	206	191-189	20/20
R	234	219-215	15/15
Fluo	202	201-200	20/20
Pyr	202	201-200	20/20
1/3-MFluo	216	216-215	0/20
4-MPyr	216	216-215	0/20
1-MPyr	216	216-215	0/20
B[a]Ant	228	226-227	30/30
Chry	228	226-227	30/30
3-MChry	242	241-239	30/30
6-MChry	242	241-239	30/30
B[b]N[2,1-d]T	234	202-189	25/25
B[b]N[1,2-d]T	234	202-189	25/25
2-(2-Naphthyl)BT	260	258-215	20/20
B[b]Fluo	252	250-251	25/25
B[k]Fluo	252	250-251	25/25
B[e]Pyr	252	250-251	25/25
B[a]Pyr	252	250-251	25/25
P	252	250-251	25/25
B[b]ph[9,10-d]T	284	282-252	20/20
I[1,2,3-cd]Pyr	276	274-275	35/35

B[ghi]P	276	274-275	35/35
DB[a,h]Ant	278	276-277	25/25

2.5.2. Purification sur colonne SPE

La purification de pétrole sur colonne SPE ("solid phase extraction") correspond à la séparation des molécules présentes dans celui-ci. La séparation est basée sur la propriété des hydrocarbures à être plus apolaires que les autres composés présents. La séparation se fait sur colonne silice/cyanopropyle (Si/CN) ; cette cartouche étant polaire, ce sont donc les composés polaires qui sont retenus. Les hydrocarbures étant apolaires, ils sont élués en premier et récupérés. Le solvant d'éluion est un mélange 80/20 de pentane et dichlorométhane. L'éluion est accélérée grâce à une pompe à vide.

Les colonnes utilisées sont des colonnes Si/CN-S-1.5G/9 Upti-clean SPE[®] fabriquées par la société INTERCHIM. Ces colonnes sont efficaces pour purifier les hydrocarbures polyaromatiques et les chaînes carbonées solubilisées dans un solvant apolaire issus de matrices complexes. La silice vierge permet l'élimination d'un grand nombre de composés polaires interférents. L'action du greffage cyanopropyle génère des interactions spécifiques permettant la purification sélective des chaînes carbonées aliphatiques et d'un grand nombre d'hydrocarbures polyaromatiques.

2.5.3. Quantification des composés standards dans un pétrole

Les transitions et les énergies de collision étant trouvées, la quantification de tous les composés d'intérêt présents dans le pétrole Erika a été réalisée cinq fois afin d'étudier la répétabilité de la méthode. Pour chaque standard, une courbe d'étalonnage a été établie en analysant en triplicat 7 niveaux de concentration : 1, 5, 10, 50, 100, 500 et 1000 ng/mL. Les chromatogrammes obtenus sont alors intégrés afin de tracer les courbes de calibration selon l'équation :

$$\frac{\text{Abondance (composé)}}{\text{Abondance (étalon interne)}} = C_R \times \frac{\text{Concentration (composé)}}{\text{Concentration (étalon interne)}}$$

Avec C_R : coefficient de réponse

2.5.4. Quantification des composés alkylés non calibrés

L'objectif de cette étude est de réaliser une quantification des HAP, HAPS parents et de leurs dérivés alkylés contenus dans le pétrole Erika afin que ce dernier puisse être utilisé comme référence. Cependant, les composés ramifiés, dérivés alkylés généralement regroupés suivant le nombre de carbones supplémentaires par rapport au composé parent dont ils sont issus, sont difficiles à quantifier. En effet, ces groupes de molécules se présentent sous la forme d'amas de pics qui se complexifient avec le degré de ramification et le nombre de noyaux aromatiques (voir annexe 4). De plus, seuls quelques-uns de leurs représentants sont présents dans les solutions de calibration et il s'avère donc nécessaire de trouver une alternative permettant de les quantifier globalement.

Concernant les composés alkylés, la quantification en GC-MS était généralement effectuée avec l'approximation que les composés parents et leurs dérivés ramifiés ont le même coefficient de réponse. Cependant, si cette approximation pouvait paraître raisonnable lorsqu'il s'agissait de considérer, dans tous les cas, uniquement l'ion moléculaire après une simple fragmentation, cette estimation semble plus incertaine en cas d'analyse par GC-MS-MS avec des fragments fils très divers. Afin d'évaluer la fiabilité de l'analyse par GC-MS et éventuellement les possibilités d'application à la MS-MS, une comparaison des coefficients de réponse a été réalisée au sein d'une même famille et pour différents degrés de ramification (dans la mesure du possible en fonction des composés individuels disponibles).

Autrement dit, deux questions ont été soulevées :

(i) Quelle est la variabilité des coefficients de réponses des composés au sein d'un même degré de ramification ?

(ii) Quelle est la variabilité des coefficients de réponses en fonctions du degré de ramification ?

Pour répondre à ces questions, une analyse des coefficients de réponse de tous les isomères présents dans les différentes solutions de calibration a été réalisée.

2.6. Conditions d'analyse par GC-MS-MS

Les appareils utilisés sont un chromatographe en phase gazeuse Agilent 7890A et un spectromètre de masse Agilent 7000A triple quadripôle (Agilent Technologies, Santa Clara, Californie). Les échantillons sont injectés en mode "pulsed splitless". La température de

l'injecteur est de 300 °C. L'hélium est utilisé comme gaz vecteur à un débit de 1 mL/min. La colonne utilisée est une colonne HP-5MS (30 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm) composée de 5% de diphényle et 95% de diméthylpolysiloxane (Agilent Technologies, Santa Clara, Californie). Le programme de température est le suivant : de 50 °C (1 min) à 150 °C à 10 °C/min, puis jusqu'à 320 °C (10 min) à 5 °C/min.

Pour réaliser les analyses et le traitement de données, trois logiciels ont été utilisés :

(i) Le logiciel d'acquisition "MassHunter Data Acquisition" permet de régler les paramètres de la méthode.

(ii) Le logiciel "MassHunter Data Qualitative Analysis" permet d'analyser les chromatogrammes et les spectres de masse obtenus.

(iii) Le logiciel "MassHunter Data Quantitative Analysis" permet de traiter les données afin de tracer les courbes de calibration et de quantifier les composés.

2.7. Étalonnage et validation des méthodes développées

2.7.1. Calibration par la méthode d'étalonnage interne

Afin de quantifier les composés étudiés, un étalonnage interne a été effectué. Au moins un étalon interne par famille de composés a été sélectionné en fonction de son temps de rétention et de sa cinétique d'extraction, de façon à ce qu'ils soient les plus similaires au composé étudié.

L'objectif était d'établir la courbe d'étalonnage et de calculer les limites de détection et de quantification de chaque composé étudié. Pour la technique SBSE, la régression est testée sur $n = 7$ niveaux de concentrations : 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50; 100 ng/L, et $k = 3$ répétitions par niveau sont effectuées. La concentration en étalon interne est constante et égale à 100 ng/L pour chaque niveau de concentration.

On dispose donc de vingt et un couples (x_i, y_i) d'observations de deux variables quantitatives X et Y pour chaque composé, où Y est le rapport aire composé/aire étalon interne et X est le rapport concentration composé/concentration étalon interne. Ainsi, les chromatogrammes obtenus à partir des solutions de calibration sont retraités afin de tracer les courbes de calibration selon l'équation (3) :

$$\frac{\text{Abondance (composé)}}{\text{Abondance (étalon interne)}} = C_R \times \frac{\text{Concentration (composé)}}{\text{Concentration (étalon interne)}} \quad (3)$$

Avec C_R : coefficient de réponse

Le benzo[*b*]naphto[1,2-*d*]thiophène est pris comme exemple pour illustrer cette étude. Le rapport d'aire pour ce composé est calculé relativement à son étalon interne, le chrysène- d_{12} .

Un modèle linéaire, présentant une bonne linéarité, a été obtenu pour l'ensemble des courbes de calibration comme le montre la droite d'étalonnage du benzo[*b*]naphto[1,2-*d*]thiophène (Figure 19). Les courbes d'étalonnage pour les autres composés sont présentées en annexe 1.

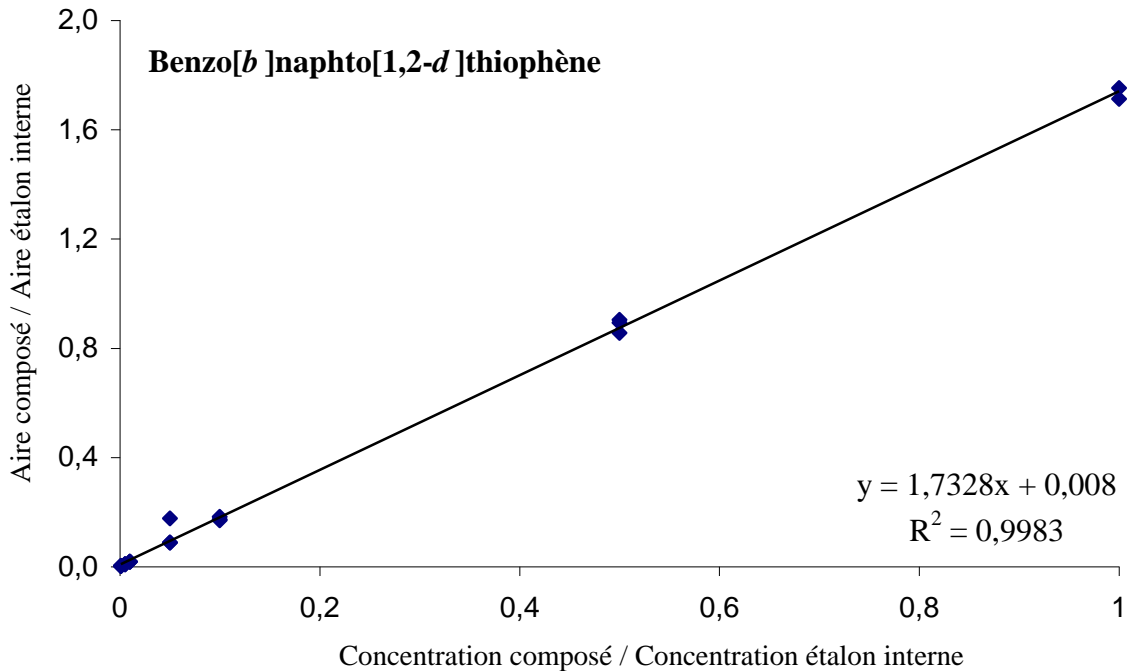


Figure 19. Courbe d'étalonnage du benzo[*b*]naphto[1,2-*d*]thiophène.

Pour la technique SPME, la régression est effectuée selon la même méthode et testée sur $n = 5$ niveaux de concentrations : 1, 5, 10, 50 et 100 ng/L. Les courbes d'étalonnage pour les composés extraits par la SPME sont présentées en annexe 2.

Pour l'analyse en GC-MS-MS, la régression est également effectuée selon la même méthode et testée sur $n = 7$ niveaux de concentrations : 1, 5, 10, 50, 100, 500 et

1000 ng/mL. Les courbes d'étalonnage pour les composés analysés par GC-MS-MS sont présentées en annexe 3.

2.6.2. Limites de détection et de quantification

La limite de quantification (LQ) est la concentration la plus basse de l'analyte qui peut être mesurée avec une fiabilité et précision satisfaisantes. Il est habituel de prendre :

$$LQ = 3,33 LD \quad (4)$$

La limite de détection (LD) est la concentration de l'analyte à doser conduisant à un signal mesuré significativement plus grand que celui qu'on obtient quand la concentration est nulle. Trois démarches sont possibles au calcul de la limite de détection :

(i) **L'estimation du bruit de fond** : elle fournit en général la limite de détection la plus faible. Cette démarche ne tient pas compte de l'étalonnage, ni des coefficients, ni de l'écart type résiduel. Elle correspond à la limite de détection liée uniquement à l'appareillage utilisé, faisant abstraction de la méthode de mesure.

(ii) **La méthode du blanc** : elle suppose connus les paramètres a_0 et a_1 de la courbe d'étalonnage. Elle tient compte de la variabilité du signal pour les concentrations voisines de zéro.

(iii) **La méthode de la droite d'étalonnage** : elle donne en général la limite de détection la plus élevée car elle tient compte de toutes les sources de dispersion y compris de la qualité du modèle d'étalonnage. Lorsque le modèle linéaire n'est pas bien ajusté, il est conseillé d'utiliser les deux premières. L'expérimentateur choisira celle qui lui semble la mieux adaptée à la méthode analytique concernée.

L'approche de calcul de LD par la méthode de la courbe d'étalonnage tient compte non seulement des valeurs a_0 et a_1 de l'équation de la droite d'étalonnage ($Y = a_0 + a_1 X$), mais aussi de la qualité de l'ajustement caractérisé par l'écart-type résiduel s_r .

Dans ce cas, la formule à retenir est :

$$LD = t_v \frac{s_r}{a_1} \sqrt{\frac{1}{k}} \quad (5)$$

t_0 , étant le t de student à (n-2) degrés de liberté, v étant égal à (n-1) ou (nk-1) degrés de liberté selon la validité du modèle, k étant le nombre de répétitions du signal pour chaque mesure.

La corrélation linéaire étant significative dans le cas du benzo[b]naphto[1,2-d]thiophène, la méthode de la courbe d'étalonnage est appliquée à ce composé à titre d'exemple. Le modèle postulé étant sans constante, la limite de détection est déterminée à l'aide de la formule (5), avec un nombre de degrés de liberté v égal à six : LD = 0,01 ng/L. On en déduit ensuite la limite de quantification à l'aide de la formule (4) : LQ = 0,04 ng/L.

Le calcul des limites de quantification et de détection pour chaque méthode (SBSE-GC-MS, SPME-GC-MS et GC-MS-MS) est également effectué pour tous les autres composés étudiés avec cette même méthode. Ces LD et LQ sont représentées dans les tableaux 16, 17 et 18.

Tableau 16

Limites de détection (LD) et de quantification (LQ) selon la méthodologie utilisant la SBSE-GC-MS. LD calculées selon la méthode de la droite d'étalonnage.

Analytes	LD (ng/L)	LQ (ng/L)	Analytes	LD (ng/L)	LQ (ng/L)
N	0,03	0,1	4,6-DEDBT	0,04	0,1
B[b]T	0,03	0,1	2,4,6,8-TMDBT	0,01	0,03
2-MBT	0,03	0,1	Fluo	0,01	0,04
5-MBT	0,03	0,1	Pyr	0,01	0,04
B	0,02	0,1	B[b]N[2,1-d]T	0,01	0,04
3-PhénylT	0,03	0,1	B[b]N[1,2-d]T	0,01	0,04
Acy	0,03	0,1	B[a]Ant	0,01	0,03
Ace	0,03	0,1	Chry	0,01	0,05
F	0,02	0,1	2-(2-Naphthyl)BT	0,01	0,04
DB[b,d]T	0,02	0,1	B[b+k]Fluo	0,02	0,1
Phe	0,03	0,1	B[e]Pyr	0,02	0,1
Ant	0,01	0,04	B[a]Pyr	0,03	0,1
N[2,3-b]T	0,02	0,1	P	0,02	0,1
2-MDBT	0,01	0,05	B[b]ph[9,10-d]T	0,02	0,1
4-MDBT	0,02	0,1	I[1,2,3-cd]Pyr	0,01	0,04
4,6-DMDBT	0,01	0,04	DB[a,h]Ant	0,01	0,03
2,7-DMDBT	0,01	0,04	B[ghi]P	0,01	0,04

Tableau 17

Limites de détection (LD) et de quantification (LQ) selon la méthodologie utilisant la SPME-GC-MS et MS-MS. LD calculées selon la méthode de la droite d'étalonnage.

Analytes	GC-MS	GC-MS-MS	GC-MS	GC-MS-MS
	LD (ng/L)	LD (ng/L)	LQ (ng/L)	LQ (ng/L)
N	0,1	0,1	0,3	0,3
2-MN	0,1	0,1	0,3	0,3

1-MN	0,1	0,1	0,3	0,3
B[b]T	0,1	0,04	0,3	0,1
2-MBT	0,1	0,03	0,2	0,1
5-MBT	0,1	0,1	0,3	0,2
3-PhénylT	0,02	0,03	0,1	0,1
2,6-DMN	0,1	0,1	0,5	0,3
1,6-DMN	0,1	0,1	0,4	0,2
1,2-DMN	0,1	0,04	0,4	0,1
Acy	0,1	0,03	0,2	0,1
Ace	0,03	0,03	0,1	0,1
F	0,1	0,04	0,3	0,1
DB[b,d]T	0,03	0,04	0,1	0,1
N[2,3-b]T	0,03	0,1	0,1	0,3
4-MDBT	0,05	0,05	0,2	0,2
2-MDBT	0,02	0,03	0,1	0,1
4,6-DMDBT	0,04	0,1	0,1	0,3
2,7-DMDBT	0,04	0,1	0,1	0,3
4,6-DEDBT	0,1	0,1	0,4	0,3
2,4,6,8-TMDBT	0,1	0,1	0,4	0,4
Phe	0,05	0,1	0,2	0,3
Ant	0,05	0,03	0,2	0,1
3-MPhe	0,01	0,03	0,03	0,1
2-MPhe	0,01	0,1	0,05	0,2
2-MAnt	0,05	0,1	0,2	0,2
9-MPhe	0,01	0,1	0,03	0,2
1-MPhe	0,02	0,1	0,1	0,2
1,7-DMPhe	0,03	0,1	0,1	0,3
R	0,1	0,1	0,3	0,4
Fluo	0,04	0,1	0,1	0,3
Pyr	0,04	0,1	0,1	0,2
1/3-MFluo	0,02	0,1	0,05	0,2
4-MPyr	0,04	0,1	0,1	0,2
1-MPyr	0,04	0,1	0,1	0,2
B[a]Ant	0,02	0,04	0,1	0,1
Chry	0,04	0,1	0,1	0,3
3-MChry	0,05	0,1	0,2	0,3
6-MChry	0,05	0,1	0,2	0,2
B[b]N[2,1-d]T	0,02	0,1	0,05	0,3
B[b]N[1,2-d]T	0,02	0,1	0,06	0,3
2-(2-Naphthyl)BT	0,1	0,1	0,3	0,3
B[b]Fluo	0,05	0,03	0,2	0,1
B[k]Fluo	0,04	0,1	0,1	0,3
B[e]Pyr	0,06	0,04	0,2	0,1
B[a]Pyr	0,04	0,03	0,1	0,1
P	0,1	0,1	0,2	0,2
B[b]ph[9,10-d]T	0,1	0,02	0,3	0,1
I[1,2,3-cd]Pyr	0,1	0,04	0,3	0,1
B[ghi]P	0,1	0,1	0,2	0,2
DB[a,h]Ant	0,1	0,1	0,2	0,3

Tableau 18

Limites de détection (LD) et de quantification (LQ) selon la méthodologie utilisant la GC-MS-MS. LD calculées selon la méthode de la droite d'étalonnage.

Analytes	LD (ng/mL)	LQ (ng/mL)	Analytes	LD (ng/mL)	LQ (ng/mL)
N	0,003	0,01	2-MAnt	0,01	0,02
2-MN	0,004	0,01	9-MPhe	0,01	0,02
1-MN	0,004	0,01	1-MPhe	0,004	0,01
B[b]T	0,004	0,01	1,7-DMPhe	0,01	0,02
2-MBT	0,01	0,02	R	0,01	0,02
5-MBT	0,01	0,02	Fluo	0,01	0,02
3-PhénylT	0,01	0,02	Pyr	0,01	0,02
2,6-DMN	0,01	0,02	1/3-MFluo	0,01	0,02
1,6-DMN	0,01	0,02	4-MPyr	0,01	0,02
1,2-DMN	0,01	0,02	1-MPyr	0,01	0,02
B	0,003	0,01	B[a]Ant	0,01	0,04
Acy	0,01	0,02	Chry	0,01	0,04
Ace	0,004	0,01	3-MChry	0,01	0,04
F	0,01	0,02	6-MChry	0,01	0,03
DB[b,d]T	0,003	0,01	B[b]N[2,1-d]T	0,003	0,01
N[2,3-b]T	0,004	0,01	B[b]N[1,2-d]T	0,01	0,02
4-MDBT	0,004	0,01	2-(2-Naphthyl)BT	0,01	0,04
2-MDBT	0,01	0,02	B[b]Fluo	0,03	0,10
4,6-DMDBT	0,01	0,02	B[k]Fluo	0,03	0,09
2,7-DMDBT	0,01	0,02	B[e]Pyr	0,03	0,10
4,6-DEDBT	0,01	0,02	B[a]Pyr	0,01	0,05
2,4,6,8-TMDBT	0,01	0,02	P	0,03	0,09
Phe	0,003	0,01	B[b]ph[9,10-d]T	0,03	0,09
Ant	0,01	0,02	I[1,2,3-cd]Pyr	0,04	0,12
3-MPhe	0,01	0,02	B[ghi]P	0,02	0,08
2-MPhe	0,01	0,02	DB[a,h]Ant	0,03	0,11

CHAPITRE III : RÉSULTATS

Ce chapitre décrit les résultats obtenus dans le cadre de ce travail de recherche sous forme de publications. Au total, six publications présentent les développements méthodologiques réalisés. La première étape a été consacrée à la mise au point d'une méthode d'extraction (SBSE) et d'analyse (TD-GC-MS) des hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS) dissous dans l'eau de mer, (publication n° 1). Le développement d'une méthodologie sensible et spécifique pour l'extraction (SBSE) et l'analyse (TD-GC-MS) des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés de façon simultanée a conduit à l'écriture des publications n°2 et 3. L'utilisation de la GC-MS-MS afin de réaliser une quantification des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans les produits pétroliers a fait l'objet d'une quatrième publication. Enfin, une méthodologie d'extraction (SPME) et d'analyse (GC-MS et GC-MS-MS) des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés, facile à mettre en œuvre et utilisable en routine est présentée dans les publications n° 5 et 6.

Liste des publications :

Publication n°1 : Identification et quantification des hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS) dissous dans l'eau de mer par "stir bar sorptive extraction" (SBSE) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC-MS).

Publication n°2 : Caractérisation des systèmes eaux-pétroles par "stir bar sorptive extraction" (SBSE) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC-MS).

Publication n°3 : Développement d'une méthodologie pour la détermination des HAP et HAPS dissous dans l'eau de mer par "stir bar sorptive extraction" (SBSE) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC-MS).

Publication n°4 : Quantification des hydrocarbures aromatiques polycycliques et leurs dérivés alkylés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS-MS) pour qualifier un pétrole de référence.

Publication n°5 : Extraction des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans l'eau de mer par la microextraction sur phase solide (SPME) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC-MS).

Publication n°6 : Intérêt de la microextraction sur phase solide (SPME) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS-MS) pour l'analyse des HAP et HAPS dans l'eau de mer.

Publication n°1 : Identification et quantification des hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS) dissous dans l'eau de mer par "stir bar sorptive extraction" (SBSE) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC-MS).

Résumé

La "stir bar sorptive extraction" (SBSE) couplée à un système TD-GC-MS a été développée dans le but d'améliorer les techniques de dosage conventionnelles généralement utilisées pour l'analyse des composés semi-volatils dans la phase aqueuse (LLE, SPE). Dans un premier temps, le travail a consisté à tester plusieurs durées d'extraction (30 min-24 h) afin de définir un temps d'extraction de référence. Puis, la méthodologie a été validée en étudiant sa linéarité et sa sensibilité. Les résultats montrent une bonne linéarité sur une gamme de concentrations allant de 0,5 à 100 ng/L, et des limites de détection et de quantification extrêmement sensibles (LD : 0,03-0,07 ng/L, LQ : 0,1-0,2 ng/L). À ce stade, la performance de cette méthodologie a été comparée à celle d'une extraction liquide-liquide conventionnelle, et enfin, elle a été utilisée pour détecter et quantifier les HAPS présents au sein d'une matrice d'eau de mer naturelle. Les résultats obtenus montrent que la technique SBSE peut être utilisée comme une approche alternative à d'autres méthodologies d'extraction telles que la LLE ou la SPE pour l'analyse des hydrocarbures polyaromatiques soufrés dans l'eau de mer.

Identification and quantification of dissolved polycyclic aromatic sulfur heterocycles in seawater by stir bar sorptive extraction and thermal desorption GC-MS.

Rami Kanan ^(1,2*), Jan T. Andersson ⁽³⁾, Julien Guyomarch ⁽¹⁾, Karyn Le Menach ⁽²⁾,
Stéphane Le Floch ⁽¹⁾ and Hélène Budzinski ⁽²⁾

⁽¹⁾ Cedre-715, Rue Alain Colas/CS 41836-29218 Brest Cedex2, France

⁽²⁾ University of Bordeaux1- EPOC-LPTC-351, cours de la Libération 33405 Talence Cedex, France

⁽³⁾ Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Muenster, Corrensstrasse 30, D-48149 Muenster, Germany

Abstract

Stir bar sorptive extraction (SBSE) using a 20 mm-long stir bar coated with 47 μ L of polydimethylsiloxane (PDMS) in combination with the thermal desorption technique and gas chromatography-mass spectrometry (TD-GC-MS) was used for determining polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs), in seawater samples. The method shows good linearity and the correlation coefficients are higher than 0.975. The LOD and LOQ of the method range between 0.03 and 0.07 ng/L and between 0.1 and 0.2 ng/L, respectively. The SBSE-TD-GC-MS procedure was validated to the analysis of PASHs in the water accommodated fraction (WAF) and the water soluble fraction (WSF) of seawater samples prepared in the laboratory from a crude oil. Then the performance of the SBSE method was compared with the traditional liquid-liquid extraction, showing good agreement. Finally, the method was successfully applied to screening of PASHs at sub-ng/L level in natural seawater sample collected in a commercial harbour (Brest, Finistere, France).

Keywords: GC-MS, Polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs), Thermal desorption (TD), Stir bar sorptive extraction (SBSE), Seawater.

* Corresponding author. Tel.: +33 540006998; fax: +33 540002267
E-mail addresses: r.kanan@epoc.u-bordeaux1.fr

1. Introduction

Polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs), a class of polycyclic aromatic compounds (PACs), which contain a sulfur atom in one of the rings, are found in coal (Thuß *et al.*, 2000), crude oils, and in products related to these fossil fuels. They occur in the environment as the result of natural or anthropogenic incomplete combustion of organic materials, discharge from industrial processes, oil spills, ballast operations, etc. They were found to be generally more acute toxic than their analogous polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (Andersson and Schmid, 1995; MacFall *et al.*, 1984; Jacob, 1990) and often exhibit a higher stability in the environment than the corresponding hydrocarbons (Paasivirta, 1991; Andersson, 1993). PASHs play a considerable role in environmental analytical chemistry (Andersson *et al.*, 2006), both as pollutants and as markers for many processes and have also been used for environmental forensic purposes (Hegazi and Andersson, 2007a). Unlike the polycyclic aromatic hydrocarbons, the sulfur analogs are not formed in pyrogenic processes so that their presence in the environment indicates petrogenic sources.

This compound class represents a serious environmental issue, particularly in cases of accidental oil pollution affecting the shoreline for a prolonged time (examples: the heavy fuel oil spills from the tankers Erika and Prestige in 1999 and 2002, respectively). This is one of the reasons why it is very important to develop analytical methods for monitoring their presence in the aquatic environment.

The determination of PACs in an aqueous matrix by means of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) has been sufficiently verified. Prior to chromatographic separation, PACs must be extracted and preconcentrated from the sample. Solid phase extraction (SPE) has been widely used for these purposes for aqueous samples (Crozier *et al.*, 2001; Li and Lee, 2001; Nirmaier *et al.*, 1996; Kiss *et al.*, 1996), replacing the traditional liquid-liquid extraction. Extraction methods are continually revised and improved, incorporating new technologies in order to reduce the laboratory staff resources, especially time for sample extraction and preparation (García-Falcón *et al.*, 2004). Solid-phase microextraction (SPME), an extraction technique developed over 20 years ago (Arthur and Pawliszyn, 1990), has gained increasing acceptance for the analysis of organic compounds. It is a fast, simple, inexpensive and solvent-free extraction. SPME has been successfully applied to extract PACs from water (Doong *et al.*, 2000; King *et al.*, 2004;

Negrão and Alpendurada, 1998; Popp *et al.*, 2000) onto a fused silica rod coated with a polymeric stationary phase, a 100 µm-polydimethylsiloxane (PDMS) being the preferred coating.

Baltussen *et al.* (1999) developed an alternative extraction technique which is known as stir bar sorptive extraction (SBSE). It is based on the same mechanisms as SPME but the sorbent, which is PDMS, is bonded onto the surface of a magnetic stir bar. SBSE exhibits better properties than SPME due to the higher volume of the PDMS phase, for the amount of analyte extracted is proportional to the coating thickness, thus improving the limit of detection during sampling (Blasco *et al.*, 2004; Bicchi *et al.*, 2002; David and Sandra, 2007; Popp *et al.*, 2003). The bar is immersed in an aqueous sample or placed in the headspace to extract analytes for a fixed period of time. Thermal desorption (TD) of analytes is used for capillary GC-MS or solvent extraction for HPLC analysis.

SBSE was applied to the determination of PAHs in aqueous samples. Leòn *et al.* (2003) developed an SBSE method for determining 35 pesticides and PAHs in water using thermal desorption-GC-MS. Popp *et al.* (2001) also developed an SBSE method for monitoring PAHs in water using solvent desorption followed by LC-GC-MS. SBSE coupled to HPLC with fluorescence detection (FD) can be used for determining PAHs in drinking waters (García-Falcón *et al.*, 2004). Barco-Bonilla *et al.* (2011) also developed a highly sensitive SBSE method for the determination of 24 PAHs in wastewater using liquid desorption-GC-MS-MS. No applications have been published using SBSE to analyze PASHs in aqueous samples. Thus, this paper proposes an extraction method using stir bar sorptive extraction (SBSE) coupled to GC-MS to determine PASHs in seawater. Extraction time profiles are recorded to establish equilibrium time. The method is validated for the analysis of PASHs in the water accommodated fraction (WAF) and the water soluble fraction (WSF) of seawater samples prepared in the laboratory from a crude oil. Then the performance of the SBSE method is compared with the traditional liquid-liquid extraction and finally the proposed method is applied to the analysis of PASHs in a natural seawater sample collected in a commercial harbour (Brest, Finistere, France).

2. Experimental set-up

2.1. Standard solutions

In this study the parent structures of some of the more commonly encountered PASHs (Fig. 1) will be our focus. The standard compounds were synthesized in one of our laboratories (Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, 2012) and a solution at a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$ in methanol was prepared. A working solution containing all compounds studied at a concentration of 1 $\mu\text{g/mL}$ in methanol was prepared. Deuterated PAHs (naphthalene- d_8 , biphenyl- d_{10} , phenanthrene- d_{10} , chrysene- d_{12} and benzo[*a*]pyrene- d_{12}), purchased from LGC Standards (Molsheim, France), were used as internal standards for the PASHs.

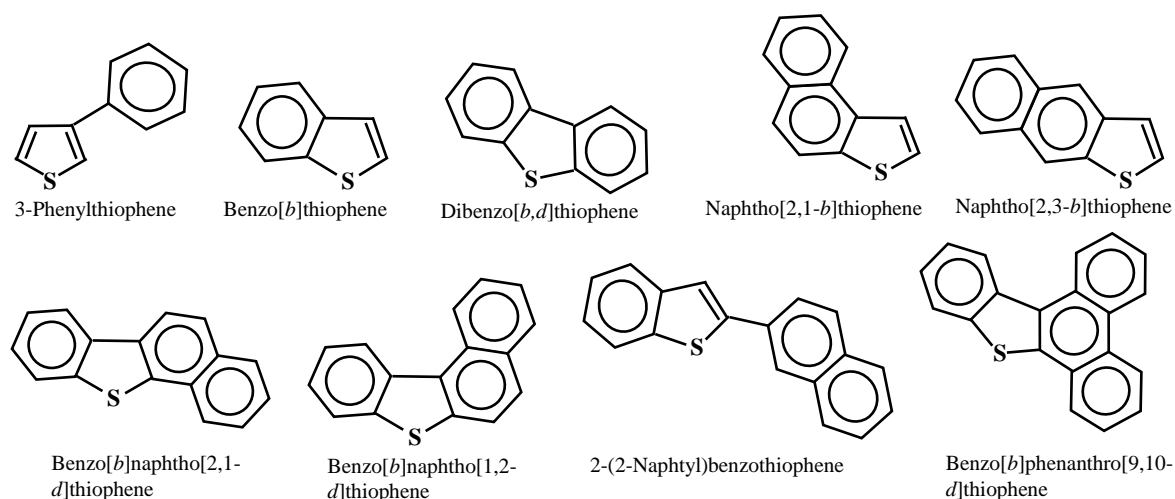


Fig. 1. Structures of PASHs mentioned in this study.

2.2. Preparation of WAF and WSF

The water accommodated fraction (WAF) was prepared according to guidelines established by the Chemical Response to Oil Spills: Ecological Research Forum (CROSSERF) (Singer *et al.*, 2000). This experiment was conducted in order to transfer compounds from the oil to the water phase by solubilization only. The principle of this experiment was to introduce oil at the water surface of a closed flask. To prevent significant transfer to the air phase, the headspace had to be less than 25% of the whole volume of the flask. The oil/water ratio was set at 1:100 000 (10 mg of oil for 1 L of seawater), and agitation was ensured using a magnetic stirrer. This agitation was set at a minimum level to prevent oil from being dispersed in the water column. The experimental device was set up in an air-conditioned room at 21 °C for 24 h to reach equilibrium. The oils used were an

Arabian Light crude oil and an Erika oil. Finally, samples were collected through a tap approximately 3 cm above the bottom of the flask. The water soluble fraction (WSF) was prepared according to the same procedure but in an open flask. Evaporation thus took place in conditions closer to those encountered in the event of an oil spill at sea.

2.3. Sample collection

Natural seawater was sampled from the commercial harbour (Brest, Finistere, France) in the month of September 2010 at mid tide. The sample was collected in an amber-glass bottle (500 mL) and placed in a refrigerator maintained at 4 °C. Prior to the extraction, the sample was divided into 3 x 100 mL. To determine the total concentrations of analytes in these samples (triplicate), including both dissolved and particulate-bound chemicals, the seawater was used directly without preliminary filtration.

2.4. SBSE procedure

The stir bars (Twister; Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Germany) coated with 20 mm in length and 0.5 mm film thickness of PDMS (47 µL), were conditioned in an empty thermal desorption tube at 300 °C for 4 h with a helium flow at a flow desorption rate of 50 mL/min. A 15 position magnetic stirrer (Gerstel) was used to perform agitation at 700 rpm over 6 h at room temperature (21 °C) in the dark. After extraction, the stir bar was removed from the sample, rinsed with a small amount of distilled water, dried with tissue paper. The stir bar was placed into an empty glass thermal desorption tube, and desorbed in a thermal desorption unit (TDU). Prior to the extraction by SBSE, 10 mL of a methanol solution containing the five perdeuterated internal standards at a concentration of 1 ng/mL was added to a 100 mL seawater sample.

2.5. LLE procedure

For LLE extraction, 1 L of water with the water soluble fraction was extracted with 3 x 80 mL of dichloromethane. The organic extracts were combined and dried with sodium sulfate and evaporated using a rotaevaporator apparatus. The extract was concentrated under a heated N₂ stream, reconstituted in 200 µL of dichloromethane and then 1 µL was injected into the GC-MS system. Before the extraction, 100 mL of methanol containing the five perdeuterated internal standards at a concentration of 1 ng/mL was added.

2.6. Thermal desorption and GC-MS conditions

Thermal desorption-GC-MS was performed on an Agilent 7890 GC equipped with a 5975 MS system (Agilent Technologies, Little Falls, DE, USA) coupled to a Gerstel TDU (thermal desorption unit) and a MPS2 autosampler (Gerstel). Desorption was carried out at 280 °C for 10 min under a helium flow of 50 mL/min in the splitless mode. The desorbed compounds were cryofocused in the cooled injection system (CIS-4, Gerstel) at 10 °C and then transferred to the HP-5 MS column (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film thickness, constant helium flow of 1 mL/min) by a rapid increase of the CIS temperature (from 10 °C to 300 °C at 12 °C/s). The temperatures of the transfer line and the ion source were 300 and 280 °C, respectively. Detection was carried out using electron impact ionisation both at the scan and selected ion monitoring (SIM) modes. The ions monitored and calculated retention indices for each compound are summarised in Table 1. Since benzo[*b*]phenanthro[2,1-*d*]thiophène, the retention index marker for 500.00 (Andersson, 1986), was not available at the time of measurement, the index values above 400 are extrapolations based on dibenzothiophene and benzo[*b*]naphtho[2,1-*d*]thiophene.

Table 1

Abbreviation, ions monitored, retention times and calculated retention indices for each compound studied.

Compound name	Abbreviation	Selected ions (m/z)	Retention index ⁽¹⁾	Rt (min)
Benzo[<i>b</i>]thiophene	B[<i>b</i>]T	134-89	200.00	9.21
3-Phenylthiophene	3-PhenylT	160-115	234.30	12.16
Dibenzo[<i>b,d</i>]thiophene	DB[<i>b,d</i>]T	184-139-152	300.00	17.81
Naphtho[2,1- <i>b</i>]thiophene	N[2,1- <i>b</i>]T	184-139-152	304.26	18.27
Naphtho[2,3- <i>b</i>]thiophene	N[2,3- <i>b</i>]T	184-139-152	308.70	18.75
Benzo[<i>b</i>]naphtho[2,1- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	234-117-232	400.00	28.61
Benzo[<i>b</i>]naphtho[1,2- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	234-117-232	404.72	29.12
2-(2-Naphtyl)benzothiophene	2-(2-Naphtyl)BT	260-258-130	439.26	32.85
Benzo[<i>b</i>]phenanthro[9,10- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	284-282-252	497.22	39.11

(1) For calculation of the retention index, see Andersson, 1986.

3. Results and Discussion

3.1. SBSE-TD-GC-MS analysis of spiked stir bar

A simplified procedure was assessed for PASHs identification purposes. Solution standards used for SBSE analyses were directly added onto the stir bar and the detection by TD-GC-MS was then performed in the scan and SIM modes. The retention time for each compound was recorded (Fig. 2).

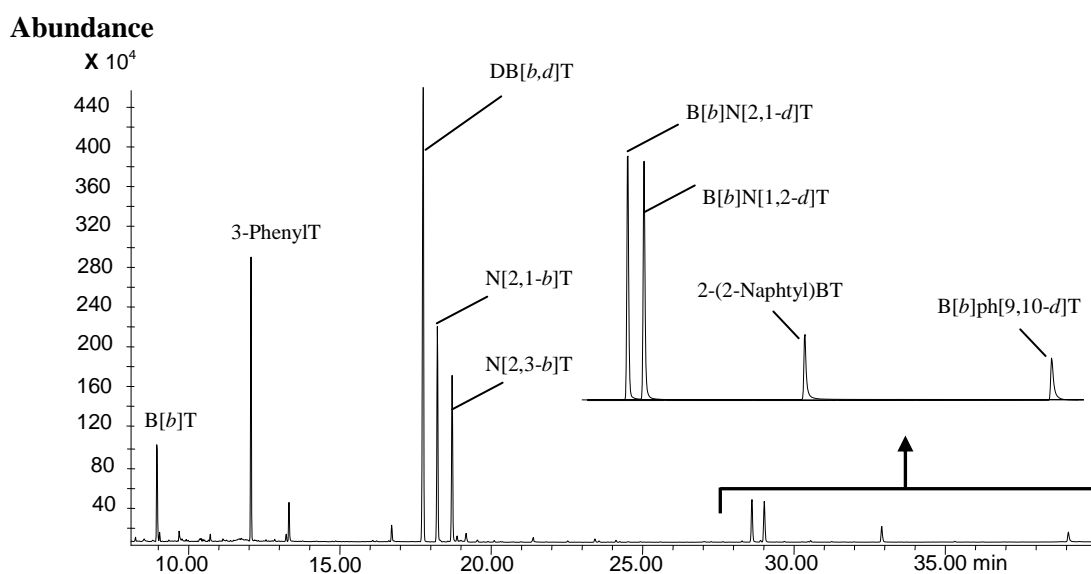


Fig. 2. Chromatogram obtained from standard PASHs (1 ng/ μ L of each) by SBSE-TD-GC-MS.

3.2. Extraction time profiles

Since SBSE is an equilibrium-extraction method, the maximum amount of analyte that can be extracted by the stir bar is reached at the equilibrium time (Prieto *et al.*, 2007). The extraction time profiles of the analytes studied were investigated by stirring spiked (100 ng/L) seawater samples for different extraction periods (30 min-24 h) under the selected conditions: a 100 mL sample volume, 20 mm \times 0.5 mm stir bar, 700 rpm and ambient temperature (21 °C). Fig. 3 demonstrates the extraction time profiles for eight compounds and it can be seen that equilibrium was reached for the more volatile compounds (and presumably more water soluble compounds) (3-phenylthiophene, benzo[*b*]thiophene) after 2 h, while a 6 h period was needed for the other compounds (Fig. 3). Taking into account the time needed for all the analytes to achieve equilibrium, a 6 h extraction period was selected for subsequent samplings.

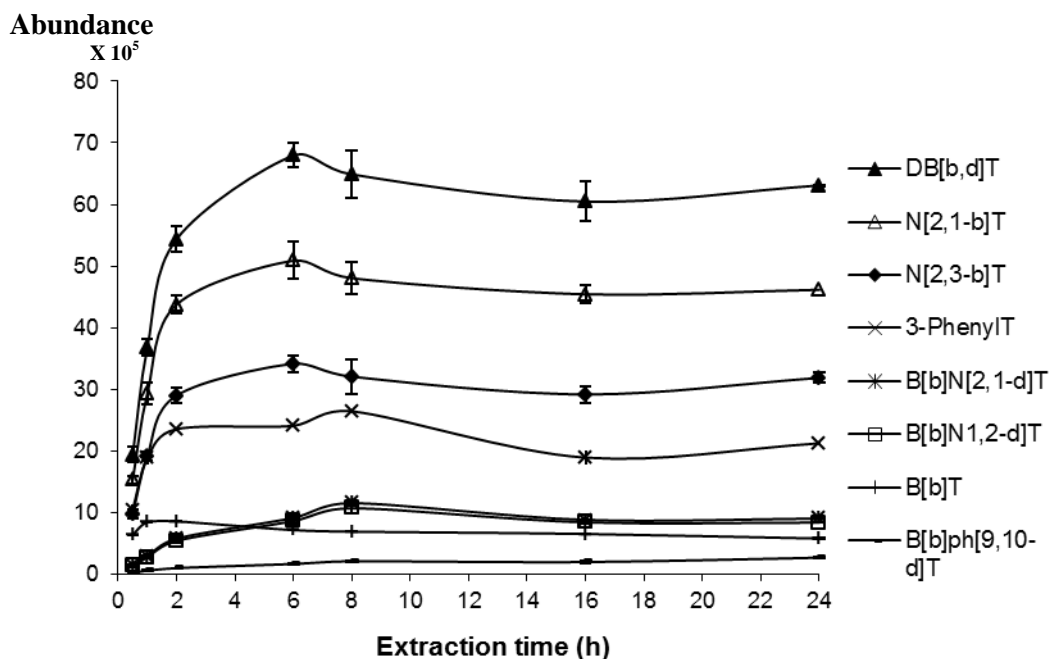


Fig. 3. Extraction time profiles for selected PASHs at 100 ng/L. Conditions: 100 mL sample, 47 μ L PDMS, stir rate 700 rpm and ambient temperature (21°C). The extract was then analyzed by TD-GC-MS. Three replicates.

3.3. Limits of detection, limits of quantification, and linearity

The validation of the complete SBSE-TD-GC-MS method was done by examining the linearity and the limits of detection. The results can be seen in Table 2. The linearity of the method was evaluated at seven levels of concentration (0.5, 1, 5, 10, 20, 50 and 100 ng/L), by extracting spiked seawater samples, and $n = 3$ replicates per level were performed. Calibration using the SBSE technique gave a satisfactory result, with a correlation coefficient (R^2) ranging between 0.975 and 0.993 for all analytes. A comparison of some works developed for monitoring PASHs in seawater shows that the detection limits for a 100 mL sample are particularly low (between 0.1 and 0.2 ng/L). Avino *et al.* (2009) used SPE in combination with GC-MS and a seawater sample of 100 mL to obtain an LOD of 0.05 and 0.06 μ g/mL for dibenzothiophene and benzo thiophene respectively. Gimeno *et al.* (2002) also used SPE coupled with HPLC-FD and a seawater sample of 25 mL to obtain an LOD between 0.001-0.1 μ g/L. Thus it seems clear that SBSE reaches considerably lower detection limits for seawater samples.

Table 2

Limits of detection and quantification (LOD and LOQ, in ng/L), and correlation coefficients (R^2) of the calibration curves (from 0.5 to 100 ng/L).

Compounds	(R^2)	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)
B[<i>b</i>]T	0.990	0.04	0.1
3-PhenylT	0.988	0.04	0.1
DB[<i>b,d</i>]T	0.989	0.04	0.1
N[2,1- <i>b</i>]T	0.988	0.05	0.1
N[2,3- <i>b</i>]T	0.986	0.05	0.1
B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	0.992	0.03	0.1
B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	0.993	0.03	0.1
2-(2-Naphtyl)BT	0.975	0.07	0.2
B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	0.977	0.07	0.2

3.4. Analysis of PASHs in the WAF and WSF

The PASHs were quantified by SBSE-TD-GC-MS in the water accommodated fractions and the water soluble fractions prepared with an oil/water ratio of 1:100 000. The analysis, in combination with the calibration solution, made it possible to identify eight of the nine compounds (Table 3) as occurring in the aqueous phase. SBSE-TD-GC-MS analyses of these analytes in the WAF and WSF have shown that there are no differences between WAF and WSF for the compounds of low volatility (3-5 rings) (Fig. 4). For 3-phenylthiophene and benzo[*b*]thiophene (2 rings) the concentration was slightly lower in the WSF.

Table 3

Concentration of PASHs in WAF and WSF of an Arabian Light crude oil after 6 h-extraction period.

No. of rings	Compounds	Water soluble fraction		Water accommodated fraction	
		[PASHs] ng/L	R.S.D. (%), $n = 3$	[PASHs] ng/L	R.S.D. (%), $n = 3$
2	B[<i>b</i>]T	139	29	181	15
2	3-PhenylT	301	3	689	4
3	DB[<i>b,d</i>]T ^a	1255	3	1238	4
3	N[2,1- <i>b</i>]T	3.58	16	3.54	2
3	N[2,3- <i>b</i>]T	1.05	10	0.84	11
4	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	9.04	2	8.28	5
4	B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	2.51	5	2.16	4
4	2-(2-Naphtyl)BT	nd	nd	nd	nd
5	B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	0.32	29	0.30	40

Nd: Not determined.

^a Coelution between DB[*b,d*]T and N[1,2-*b*]T may occur (Andersson and Schmid, 1995).

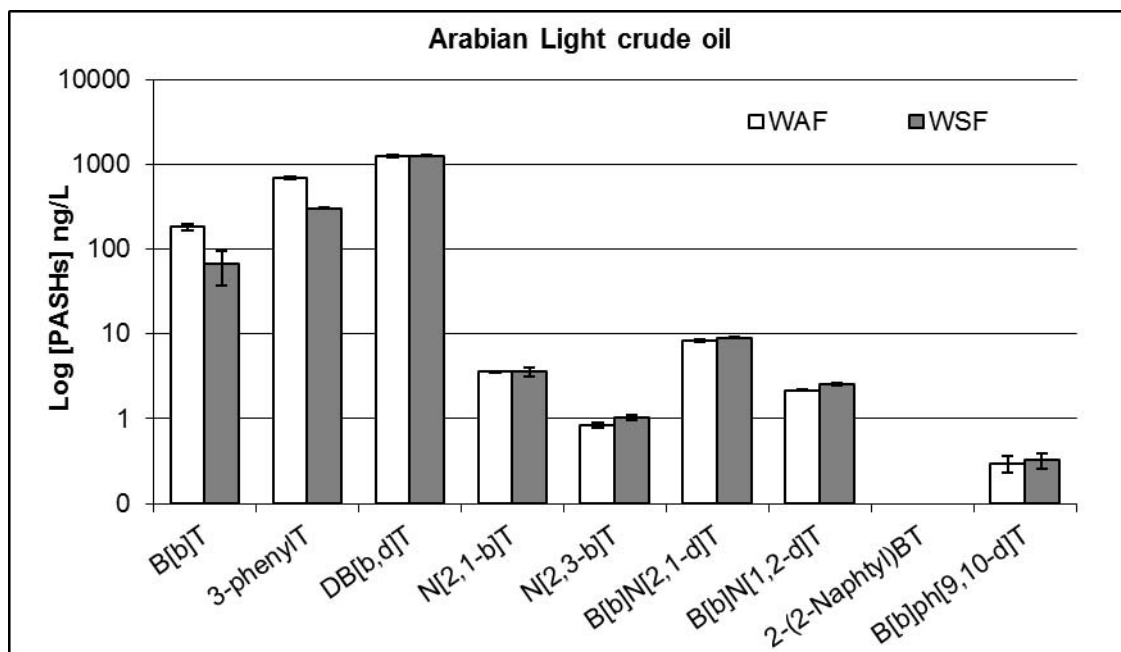


Fig. 4. Analysis of PASHs in the WAF and WSF of an Arabian Light crude oil by SBSE-TD-GC-MS. Mean of three replicates.

3.5. Analysis of PAHs in the WSF by LLE and SBSE procedures

The PAHs were quantified using the LLE and SBSE methods in the water soluble fractions (WSF) prepared with an oil/water ratio of 1:100 000. The concentrations of PAHs in the WSF are presented in Table 4. Fig. 5. shows that the two data sets obtained using two widely different extraction methods are in excellent agreement, clearly demonstrating that SBSE can be used in the case under study as an alternative approach for routine analysis of PACs in seawater samples.

Table 4

Concentration of PAHs in the WAF of Erika oil.

Analyte (Abbreviation)	Liquid-liquid extraction		Stir bar Sorptive extraction	
	[PAHs] ng/L	R.S.D. (%) $n = 3$	[PAHs] ng/L	R.S.D. (%) $n = 3$
Naphthalene (N)	2962.46	3	3513.57	1.7
Biphenyl (B)	161.38	2	182.00	2.9
Phenanthrene (Phe)	1932.72	2	2062.54	0.5
Chrysene (Chry)	59.62	9	59.94	8.7
Benzo[a]pyrene (B[a]P)	7.54	17	3.42	5.8

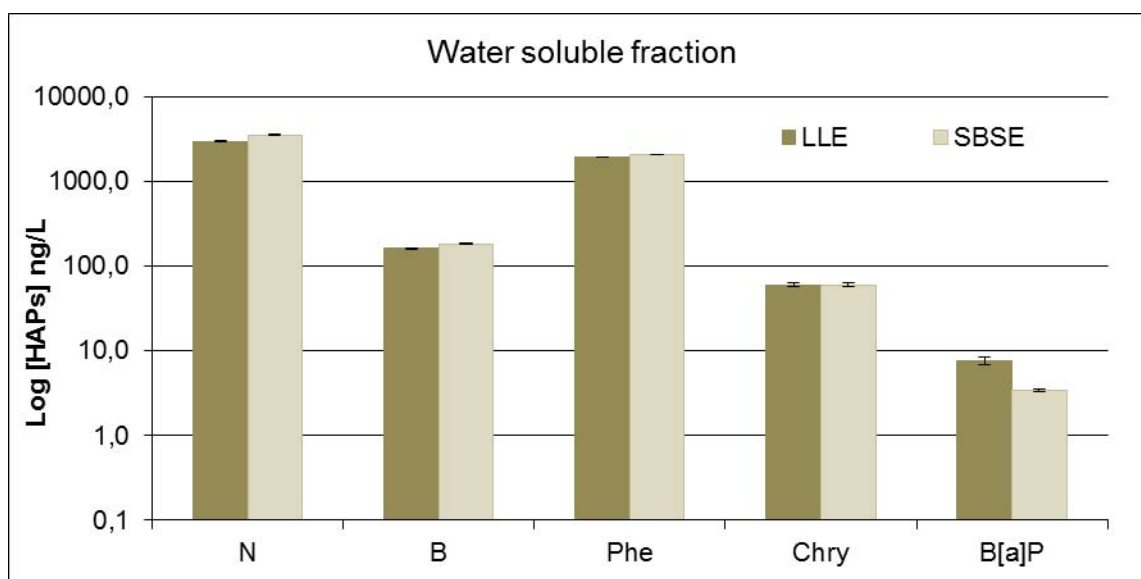


Fig. 5. Analysis of PAHs in the WSF of Erika oil by LLE-GC-MS and SBSE-TD-GC-MS methods. Mean of three replicates. N: naphthalene, B: biphenyl, Phe: phenanthrene, Chry: chrysene, B[a]P: benzo[a]pyrene.

3.6. Comparison between LLE and SBSE

The overall time for carrying out the SBSE was far less than that required for LLE for the same number of samples, which reduces the risk of contamination. The SBSE procedure is simple, fast and uses lower volumes of solvents than LLE (Table. 5). Evaporation and reconstitution steps required in LLE prior to injection to the GC-MS system are avoided in SBSE, which may be particularly desirable for the quantification of volatile compounds. However, one of the drawbacks of SBSE is related to the coating of stir-bars. The non-polar PDMS is at present the only polymer commercially available as a coating for stir-bars. Recovery of polar analytes is poor and often in situ derivatisation is needed to increase extraction yields (Bicchi *et al.*, 2009; Itoh *et al.*, 2005; Montero *et al.*, 2005; Prieto *et al.*, 2010). In addition, the coated stir bar cannot be desorbed directly in the injection port of a gas chromatograph. Hence the analytes have to be back extracted into a suitable solvent or an additional equipment (TDU) needs to be used (Prieto *et al.*, 2010; Quintana and Rodríguez, 2006; Sánchez-Rojas *et al.*, 2009).

Table 5
Comparison between SBSE and LLE.

Estimations	Liquid-liquid extraction	Stir bar sorptive extraction
Time demand	8 h for 1-5 samples	5 min for each sample
Volume of solvent	340 mL for each sample	10 mL for each sample
Time of analysis	1 h	1 h
Materials	Special gassware	Bottles 125 mL

	Drying agent (Na ₂ SO ₄)	Stir bars
	Gas (N ₂)	
Apparatus	rotaevaporator	magnetic stirrer
	GC-MS	TD-GC-MS
Advantages and drawbacks	Suitable for complex matrice	Suitable for complex matrice
	Large volume of toxic solvent	Reduced solvent consumption
	Risk of contamination	Reduced risk of contamination
	Large volume sample (1 L)	Small amount of sample (100 mL)
	No additional equipment for GC-MS	Additional equipment for GC-MS (TDU)
	Loss of volatile compounds	Reduced loss of volatile compounds
		Recovery of polar compounds is poor

3.7. Application of the developed method to a real-world sample

The SBSE-TD-GC-MS method was successfully applied to the analysis of PASHs in an environmental sample. A seawater sample collected in a harbour area (Brest, Finistere, France) was extracted, using stir bars as described above, and the concentration of the PASHs was analysed by the proposed method ($n = 3$). We also targeted the substituted dibenzothiophenes (C₁-, C₂- and C₃- DBT) because they are useful markers for both geochemical and environmental investigations (Hegazi and Andersson, 2007a, Hegazi and Andersson, 2007b; Wang and Fingas, 1997) (Table. 6).

Table 6

Identification and quantification of PASHs in natural seawater sampled in a commercial harbour.

Number	Compounds	Commercial harbour	
		[PAHs] ng/L	R.S.D. (%), $n = 3$
1	B[<i>b</i>]T	7.68	4.2
2	3-PhenylT	0.29	25.3
3	DB[<i>b,d</i>]T	4.19	2.9
4	C ₁ -DBT	7.87	5.4
5	C ₂ -DBT	5.54	5.7
6	C ₃ -DBT	2.18	10.2
7	N[2,1- <i>b</i>]T	not found	not found
8	N[2,3- <i>b</i>]T	0.03	0.0
9	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	0.14	10.7
10	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	0.05	12.4
11	2-(2-Naphtyl)BT	not found	not found
12	B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	0.15	19.9

4. Conclusions

As shown by the results presented here, stir bar sorptive extraction (SBSE) combined with TD-GC-MS analysis proved to be a powerful tool for the analysis of PASHs dissolved in seawater. The excellent limits of detection and quantification obtained from only 100 mL

sample volume, the good linearity, and simplicity make this technique a promising tool for the determination of target analytes in real seawater samples. This method can be considered as an alternative approach to other analytical methods, which employ LLE, SPE and SPME, for the routine analysis of polycyclic aromatic compounds in seawater samples. The disadvantage of SBSE with respect to the SPME technique resides in the fact that a whole automation of the extraction and analysis is not possible at the present time. Naturally the technique should be equally well suited to similar groups of compounds such as other polycyclic aromatic compounds since their physicochemical properties are similar to those of the compounds studied here.

5. Acknowledgements

This research was supported by a PhD grant from the Syrian government. Gilbert Le Lann, director of Cedre, is acknowledged for financial support. The authors thank Sally Fergusson (Alba Traduction) for reading this document.

6. References

- Andersson J.T., **1986**. Gas chromatographic retention indices for all C₁- and C₂-alkylated benzothiophenes and their dioxides on three different stationary phases. *Journal of Chromatography A* 354: 83-98.
- Andersson J.T., **1993**. Polycyclic aromatic sulfur heterocycles III. Photochemical stability of the potential oil pollution markers phenanthrenes and dibenzothiophenes. *Chemosphere* 27: 2097-2102.
- Andersson J.T., Schmid B., **1995**. Polycyclic aromatic sulfur heterocycles IV. Determination of polycyclic aromatic compounds in a shale oil with the atomic emission detector. *Journal of Chromatography A* 693: 325-338.
- Andersson J.T., Hegazi A.H., Roberz B., **2006**. Polycyclic aromatic sulphur heterocycles as information carries in environmental studies. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386: 891-905.
- Avino P., Notardonato I., Cinelli G., Russo M.V., **2009**. Aromatic sulfur compounds enrichment from seawater in crude oil contamination by solid phase extraction. *Current Analytical Chemistry* 5: 339-346.
- Arthur C.L., Pawliszyn J., **1990**. Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry* 62: 2145-2148.
- Baltussen B., Sandra P., David F., Cramers C., **1999**. Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a Novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principles. *Journal Microcolumn Separation* 11: 737-747.
- Barco-Bonilla N., Romero-González R., Plaza-Bolaños P., Fernández-Moreno J.L., Frenich A.G., Martínez Vidal J.L., **2011**. Comprehensive analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater using stir bar sorptive extraction and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 693: 62-71.

- Blasco C., Fernández M., Picó Y., Font G., **2004**. Comparison of solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction for determining six organophosphorus insecticides in honey by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1030: 77-85.
- Bicchi C., Iori C., Rubiolo P., Sandra P., **2002**. Headspace sorptive extraction (HSSE), stir bar sorptive extraction (SBSE) and solid phase microextraction (SPME) applied to the analysis of roasted Arabica coffee and coffee brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 449-459.
- Bicchi C., Schilirò T., Pignata C., Fea E., Cordero C., Canale F., Gilli G., **2009**. Analysis of environmental endocrine disrupting chemicals using the E-screen method and stir bar sorptive extraction in wastewater treatment plant effluents. *Science of The Totale Environment* 407: 1842-1851.
- Crozier P.W., Plomley J.B., Matchuk L., **2001**. Trace level analysis of PAHs in surface waters by SPE and gas chromatography-ion trap mass spectrometry (GC-ITMS). *Analyst* 126: 1974-9.
- David F., Sandra P., **2007**. Stir bar sorptive extraction for trace analysis. *Journal of Chromatography A* 1152: 54-69.
- Doong R.A., Chang S.M., Sun Y.C., **2000**. Solid-phase microextraction for determining the distribution of sixteen US Environmental Protection Agency polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Journal of Chromatography A* 879: 177-188.
- García-Falcón M.S., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J., **2004**. Stirring bar sorptive extraction in the determination of PAHs in drinking waters. *Water Research* 38: 1679-1684.
- Gimeno R.A., Altelaar A.F.M., Marce R.M., Borrull F., **2002**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic sulfur heterocycles by high-performance liquid chromatography with fluorescence and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry detection in seawater and sediment samples. *Journal of Chromatography A* 958: 141-148.
- Hegazi A.H., Andersson J.T., **2007a**. Characterization of Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles for Source Identification. In: *Oil Spill Environmental Forensics: Fingerprinting and Source Identification*. Wang Z., Stout S.A., (Eds), Elsevier, Amsterdam, 147-168.
- Hegazi A.H., Andersson J.T., **2007b**. Limitations to GC-MS Determination of Sulfur-Containing Polycyclic Aromatic Compounds in Geochemical, Petroleum, and Environmental Investigations. *Energy & Fuels* 21: 3375-3384.
- Itoh N., Tao H., Ibusuki T., **2005**. Optimization of aqueous acetylation for determination of hydroxyl polycyclic aromatic hydrocarbons in water by stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 535: 243-250.
- Institute of Inorganic and Analytical Chemistry. PASH Standard Solutions. www.pash-standards.de Accessed. 10 June, **2012**.
- Jacob J., **1990**. *Sulfur Analogues of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (Thiaarenes): Environmental Occurrence, Chemical and Biological Properties* (Cambridge Monographs on Cancer Research). Cambridge University Press. 218 pp.
- King A.J., Readman J.W., Zhou J.L., **2004**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 523: 259-267.
- Kiss G., Puchony Z.V., Hlavay J., **1996**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation using solid-phase extraction and column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 725: 261-272.
- León V.M., Álvarez B., Cobollo M.A., Muñoz S., Volar I., **2003**. Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. I. Method optimisation. *Journal of Chromatography A* 999: 91-101.

- Li N., Lee H.K., **2001**. Solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water. Negative effect of humic acid. *Journal of Chromatography A* 921: 255-263.
- MacFall T., Booth G.M., Lee M.L., Tominaga Y., Pratap R., Tedjamulia M., Castle R.N., **1984**. Mutagenic activity of methyl-substituted tri- and tetracyclic aromatic sulfur heterocycles. *Mutation Research* 135: 97-103.
- Montero L., Conradi S., Weiss H., Popp P., **2005**. Determination of phenols in lake and ground water samples by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1071: 163-169.
- Negrão M.R., Alpendurada M.F., **1998**. Solvent-free method for the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in waste water by solid-phase microextraction high performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *Journal of Chromatography A* 823: 211-218.
- Nirmaier H.P., Fischer E., Meyer A., Henze G., **1996**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples using high-performance liquid chromatography with amperometric detection. *Journal of Chromatography A* 730: 169-175.
- Paasivirta, J., **1991**. *Chemical Ecotoxicology*, Lewis Publishers, an imprint of CRC Press, Boca Raton, FL
- Popp P., Bauer C., Möder M., Paschke A., **2000**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waste water by off-line coupling of solid-phase microextraction with column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 897: 153-159.
- Popp P., Bauer C., Wennrich L., **2001**. Application of stir bar sorptive extraction in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Analytica Chimica Acta* 436: 1-9.
- Popp P., Bauer C., Hauser B., Keil P., Wennrich L., **2003**. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine compounds from water: A comparison between solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction. *Journal of Separation Sciences* 26: 961-967.
- Prieto A., Zuloaga O., Usobiaga A., Etxebarria N., Fernández L.A., **2007**. Development of a stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry method for the simultaneous determination of several persistent organic pollutants in water samples. *Journal of Chromatography A* 1174: 40-49.
- Prieto A., Basauri O., Rodil R., Usobiaga A., Fernández L.A., Etxebarria N., Zuloaga O., **2010**. Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel applications, limitations and potential solutions. *Journal of Chromatography A* 1217: 2642-2666.
- Quintana B.J., Rodríguez I., **2006**. Strategies for the microextraction of polar organic contaminants in water samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 384: 1447-1461.
- Sánchez-Rojas F., Bosch-Ojeda C., Cano-Pavón J.M., **2009**. A Review of Stir Bar Sorptive Extraction. *Chromatographia* 69: 79-94.
- Singer M.M., Aurand D., Bragin G.E., Clarks J.R., Coelho G.M., Sowby M.L., Tjeerdema R.S., **2000**. Standardization of the preparation and quantitation of water-accommodated fractions of petroleum for toxicity testing. *Marine Pollution Bulletin* 40: 1007-1016.
- Thuß U., Popp P., Ehrlich C., Kalkoff W.D., **2000**. Identification and Quantification of Thiaarenes in the Flue Gas of Lignite-Fired Domestic Heating. *Journal of High Resolution Chromatography* 23: 457-473.
- Wang Z., Fingas M., **1997**. Developments in the Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Oils, Petroleum Products and Oil-Spill-Related Environmental Samples by Gas Chromatography. *Journal of Chromatography A* 774: 51-78.

Publication n°2 : Caractérisation des systèmes eaux-pétroles par "stir bar sorptive extraction" (SBSE) couplée à la chromatographie en phase gazeuse (GC) et à la spectrométrie de masse (MS).

Résumé

Lors des derniers déversements accidentels d'hydrocarbures en mer, le besoin de connaître aussi, précisément que possible la contamination chimique de la colonne d'eau ainsi que son degré s'est fait ressentir. Ce fut particulièrement le cas lors de l'accident de la plateforme "Deepwater Horizon" notamment du fait de l'utilisation intensive de la dispersion chimique en tant que technique de lutte. Même à de très faibles niveaux de concentration les hydrocarbures, et en particulier les aromatiques polycycliques (HAP) et leurs analogues soufrés (HAPS), présentent un risque écotoxicologique important du fait de leurs propriétés cancérigènes et mutagènes. Leur présence dans le milieu marin impacte la faune et la flore, et par voie de conséquence, peut nuire à l'homme. Il s'avère donc nécessaire de mettre au point des méthodologies analytiques sensibles et spécifiques qui restent facile de mise en œuvre afin de permettre l'analyse d'un nombre important d'échantillons.

La plupart des travaux réalisés sur les HAP décrivent des outils et des protocoles analytiques qui ne portent que sur les 16 HAP décrits dans la liste de l'US-EPA. Rares sont les études qui s'intéressent à une plus large gamme de ce type de molécules. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail avec la présentation d'une méthodologie en SBSE-TD-GC-MS permettant l'identification et la quantification de 52 molécules ou groupe de molécules appartenant aux familles des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés. Le travail a consisté à qualifier la méthodologie en termes de linéarité et de limites de détection. Pour ce faire, chaque molécule a été étudiée individuellement permettant la définition de paramètres analytiques couvrant l'ensemble des HAP, HAPS et alkylés d'intérêt. Si cette méthodologie a permis de quantifier ces molécules polyaromatiques dans des WAF et des WSF réalisées au laboratoire à partir d'un pétrole brut, elle reste à être validée sur des matrices eau de mer provenant directement du milieu naturel.

Amop 2012, Vancouver

Chemical characterization of oil-water systems using stir bar sorptive extraction (SBSE)-thermal desorption (TD)-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Rami Kanan ^(1,2*), Hélène Budzinski ⁽²⁾, Karyn Le Menach ⁽²⁾, Jan T. Andersson ⁽³⁾ and
Stéphane Le Floch ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Cedre-715, Rue Alain Colas/CS 41836-29218 Brest Cedex2, France

⁽²⁾ University of Bordeaux1- EPOC-LPTC-351, cours de la Libération 33405 Talence Cedex, France

⁽³⁾ Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Muenster, Corrensstrasse 30, D-48149
Muenster, Germany

r.kanan@epoc.u-bordeaux1.fr

Abstract

The latest oil spills have shown an increasing demand for detailed assessments of the chemical contamination introduced into the water column. This is particularly true for the Deepwater Horizon incident, for which chemical dispersion of the oil was largely used as an emergency response. Even at low concentrations resulting from dilution processes, hydrocarbons are known to generate impacts, and health questions can be raised.

When spilled at sea, a crude oil is subjected to weathering processes such as evaporation, emulsification, photo-oxidation and dispersion in the water column under natural conditions. Many oil compounds are dissolved in seawater, such as the polycyclic aromatic compounds (PACs) which represent a category of compounds known as highly toxic and that can cause both short- and long-term effects. Therefore, it is of major interest to be able to characterize any contamination of the water column by this family of chemical compounds, both quantitatively and qualitatively. Several methods have been applied to the determination of PACs (from 16 to 21 compounds) in aqueous sample but no work which focuses on the analysis of a large number of dissolved PACs has been published to our knowledge. In this context, we present a new method of analysis by stir bar sorptive extraction technique and thermal desorption coupled to capillary gas chromatography-mass spectrometry (SBSE-TD-GC-MS) fully dedicated to the analysis of 52 compounds or groups of compounds. This protocol was successfully applied to the analysis of PACs in the water accommodated fraction (WAF) and water soluble fraction (WSF) of seawater samples prepared in the laboratory from a crude oil.

Keywords: Capillary GC-MS, Polycyclic aromatic compounds (PACs), Thermal desorption (TD), Stir bar sorptive extraction (SBSE), Seawater.

1. Introduction

The presence of semi-volatile contaminants in aqueous samples has been routinely determined by liquid-liquid extraction (LLE), solid phase extraction (SPE) or solid-phase microextraction (SPME). A novel approach using sorptive extraction was introduced by Baltussen *et al.* (1999). This technique uses a stir bar coated with polydimethylsiloxane (PDMS) and was named stir bar sorptive extraction (SBSE). Like the SPME method, SBSE is a solventless enrichment technique. It is based on the sorption of analytes onto a thick film of polydimethylsiloxane (PDMS) coated on a stir bar. After extraction, the analytes are generally thermally desorbed from the stir bar and immediately transferred to a capillary column of a gas chromatograph. SBSE methods have been successfully applied to the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in aqueous samples (García-Falcón *et al.*, 2004; Kolahgar *et al.*, 2002; Popp *et al.*, 2001), but no application of SBSE for the analysis of PAHs, PASHs (polycyclic aromatic sulfur heterocycles) and alkylated derivatives in seawater has been reported. Thus, this article proposes an extraction method using stir bar sorptive extraction (SBSE) coupled to GC-MS to determine polycyclic aromatic compounds (PACs) in the water accommodated fraction (WAF) and water soluble fraction (WSF) of seawater samples prepared in the laboratory from a crude oil.

2. Experimental set-up

2.1. Standard solutions

The solutions were prepared from certified reference materials purchased from LGC Standards (Molsheim, France): CUS 9305, which contains nineteen PAHs and two PASHs at a concentration of 100 µg/mL in methanol, and CUS 9207, which contains the corresponding internal standards: naphthalene-d₈, biphenyl-d₁₀, phenanthrene-d₁₀, chrysene-d₁₂ and benzo[*a*]pyrene-d₁₂ at a concentration of 1 µg/mL in acetone. In addition, six PASHs and eight alkylated derivatives were synthesized in one of our laboratories (Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, 2012) and prepared at a concentration of 100 µg/mL in methanol.

2.2. Preparation of WAF and WSF

The water accommodated fraction (WAF) was prepared according to guidelines established by CROSSERF (Singer *et al.*, 2000). This experiment was conducted in order to transfer molecules from the oil to the water phase only by solubilization. The principle of

this experiment was to introduce oil at the water surface of a closed flask. To avoid significant transfer to the air phase, the headspace had to be less than 25% of the whole volume of the flask. The oil/water ratio was set at 1:100 000 (10 mg of oil for 1 L of seawater), and agitation was ensured using a magnetic stirrer. This agitation was set at a minimum level to prevent oil from being dispersed in the water column. The experimental device was set up in an air-conditioned room at 21 °C for 24 h to reach equilibrium. The oil used was an Arabian Light crude oil. Finally, samples were collected through a tap located approximately 3 cm above the bottom of the flask. The water soluble fraction (WSF) was prepared according to the same procedure but in an open flask. Evaporation thus took place in conditions closer to those encountered in the event of an oil spill at sea.

2.3. Stir bar sorptive extraction procedure

Compounds were extracted by introducing the polymethylsiloxane coated stir bar (0.5 mm film thickness, 20 mm length, Twister, Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Germany) into 100 mL of seawater sample, to which 10 mL of methanol containing the five perdeuterated internal standards at a concentration of 1 ng/mL was added. Samples were stirred at 700 rpm at room temperature for 6 h. After extraction, the stir bar was removed with clean tweezers, dried with lint-free tissue and placed in the automatic sampler in order to thermally desorb the compounds. Prior to use, the stir bars were conditioned in an empty thermal desorption tube at 300 °C for 4 h with helium flow at a flow desorption rate of 50 mL/min.

2.4. Thermal desorption and GC-MS conditions

The PAHs and PASHs were identified and quantified using a Thermal Desorption Unit (TDU) combined with a Cooled Injection System (CIS) from Gerstel (Mülheim an der Ruhr, Germany) mounted on a 7890 Agilent GC system coupled to an Agilent 5975 mass spectrometer (Agilent Technologies, Little Falls, DE, USA). The analytical system was equipped with an automated sampler MPS2 (Gerstel). Desorption was achieved at 280 °C for 10 min under a helium flow of 50 mL/min in the splitless mode and with a transfer line maintained at 300 °C. The desorbed compounds were cryofocused in the cooled injection system (CIS-4, Gerstel) at 10 °C and then transferred to the HP-5 MS column (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film thickness, constant helium flow of 1 mL/min) by a rapid increase of the CIS temperature (from 10 °C to 300 °C at 12 °C/s). The oven temperature program was: from 50 °C (1 min) to 150 °C at 10 °C/min, and then to 320 °C (5 min) at

5 °C/min. A Selected Ion Monitoring (SIM) mode acquisition method, with two, three or four characteristic ions, was chosen for the detection of the analytes. The target compounds, the selected SIM ions and the retention times under the given experimental conditions are listed in Table 1.

Table 1

Abbreviation, retention times and selected SIM ions for the investigated compounds.

Compound name	Abbreviation	Rt (min)	Selected ions (m/z)
<i>Naphthalene-d₈</i>	<i>N-d₈</i>	9.10	136-135
Naphthalene*	N	9.13	128-127-102
Benzo[<i>b</i>]thiophene	B[<i>b</i>]T	9.26	134-89
2-Methylbenzothiophene	2-MBT	10.72	147-148-115
5-Methylbenzothiophene	5-MBT	10.84	147-148-115
<i>Biphenyl- d₁₀</i>	<i>B-d₁₀</i>	11.81	164-162
Biphenyl	B	11.87	154-153-152-76
3-Phenylthiophene	3-PhenylT	12.36	160-115
Acenaphthylene*	Acy	12.96	152-151-76
Acenaphthene*	Ace	13.51	154-153-152-76
Fluorene*	F	15.11	166-165
<i>Phenanthrene-d₁₀</i>	<i>Phe-d₁₀</i>	18.49	188-187
Dibenzo[<i>b,d</i>]thiophene	DB[<i>b,d</i>]T	18.08	184-139-152
Phenanthrene*	Phe	18.56	178-176-152
Anthracene*	Ant	18.74	178-176-152
Naphtho[2,3- <i>b</i>]thiophene	N[2,3- <i>b</i>]T	19.04	184-139-152
2-Methyldibenzothiophene	2-MDBT	20.23	198-194
4-Methyldibenzothiophene	4-MDBT	19.88	198-194
4,6-Dimethyldibenzothiophene	4,6-DMDBT	21.69	212-211
2,7-Dimethyldibenzothiophene	2,7-DMDBT	22.46	212-211
4,6-Diethyldibenzothiophene	4,6-DEDBT	24.78	225-240
2,4,6,8-Tetramethyldibenzothiophene	2,4,6,8-TMDBT	25.67	240-225
Fluoranthene*	Fluo	23.55	202-200-201
Pyrene*	Pyr	24.46	202-200-201
<i>Chrysene-d₁₂</i>	<i>Chry-d₁₂</i>	30.06	240-239
Benzo[<i>b</i>]naphtho[2,1- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	28.88	234-117-232
Benzo[<i>b</i>]naphtho[1,2- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	29.30	234-117-232
Benzo[<i>a</i>]anthracene*	B[<i>a</i>]Ant	29.99	228-206-227
Chrysene*	Chry	30.16	228-206-227
2-(2-Naphthyl)benzothiophene	2-(2-Naphthyl)BT	33.15	260-258-130
<i>Benzo[a]pyrene-d₁₂</i>	<i>B[a]Pyr-d₁₂</i>	35.80	264-263
Benzo[<i>b+k</i>]fluoranthene*	B[<i>b+k</i>]Fluo	34.65	252-250-126
Benzo[<i>e</i>]pyrene	B[<i>e</i>]Pyr	35.70	252-250-126
Benzo[<i>a</i>]pyrene*	B[<i>a</i>]Pyr	35.89	252-250-126
Perylene	P	36.22	252-250-126
Benzo[<i>b</i>]phenanthro[9,10- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	39.29	284-282-252
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene*	I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr	39.99	276-138
Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracene*	DB[<i>a,h</i>]Ant	40.17	278-276-139

Benzo[ghi]perylene*	B[ghi]P	40.80	276-138
---------------------	---------	-------	---------

Surrogates used for quantification in *italics*, corresponding to quantified compounds below.

* Priority contaminants selected by the US Environmental Protection Agency (EPA).

3. Results and discussion

3.1. Calibration curves and linearity

The linearity of the method was determined from 7 levels of concentration (0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50 and 100 ng/L) with three repetitions per level. Correlation coefficients (R^2) were higher than 0.99 for the majority of compounds studied (Table 2).

3.2. Limits of detection, limits of quantification and recovery

The limits of detection and quantification were calculated according to the calibration curve method. As shown in Table 2, detection limits were in the range from 0.01 to 0.04 ng/L and quantification limits from 0.03 to 0.1 ng/L.

Table 2

Limits of detection and quantification (LOD and LOQ, in ng/L), correlation coefficients (R^2) of the calibration curves (from 0.1 to 100 ng/L) for the investigated compounds.

Compounds	(R^2)	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)
N	0.995	0.03	0.1
B[b]T	0.994	0.03	0.1
2-MBT	0.996	0.03	0.1
5-MBT	0.996	0.03	0.1
B	0.997	0.02	0.1
3-PhenylT	0.995	0.03	0.1
Acy	0.996	0.03	0.1
Ace	0.997	0.03	0.1
F	0.996	0.02	0.1
DB[b,d]T	0.997	0.02	0.1
Phe	0.997	0.03	0.1
Ant	0.998	0.01	0.04
N[2,3-b]T	0.996	0.02	0.1
2-MDBT	0.998	0.01	0.05
4-MDBT	0.998	0.02	0.1
4,6-DMDBT	0.998	0.01	0.04
2,7-DMDBT	0.998	0.01	0.04
4,6-DEDBT	0.984	0.04	0.1
2,4,6,8-TMDBT	0.997	0.01	0.03
Fluo	0.998	0.01	0.04
Pyr	0.998	0.01	0.04
B[b]N[2,1-d]T	0.998	0.01	0.04
B[b]N[1,2-d]T	0.998	0.01	0.04
B[a]Ant	0.999	0.01	0.03
Chry	0.998	0.01	0.05
2-(2-Naphthyl)BT	0.997	0.01	0.04

B[<i>b+k</i>]Fluo	0.996	0.02	0.1
B[<i>e</i>]Pyr	0.997	0.02	0.1
B[<i>a</i>]Pyr	0.995	0.03	0.1
P	0.996	0.02	0.1
B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	0.992	0.02	0.1
I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr	0.988	0.01	0.04
DB[<i>a,h</i>]Ant	0.988	0.01	0.03
B[<i>ghi</i>]P	0.993	0.01	0.04

The absolute recovery of the internal standards using the SBSE-TD-GC-MS method was calculated by analysing pre-spiked stir bars (Table 3). Internal standards were directly added onto the stir bar, in the same quantity as with the regular protocol. The recovery of internal standards, considered as representative of the whole method, was calculated by comparing the response (area) of the equipment using the regular protocol relatively to the spiked bar, which represented 100% of the internal standards introduced at the beginning of the sample preparation.

Table 3
Recovery (%) of internal standards at 100 ng/L ($n = 3$).

Internal standards	100 ng/L	
	Recovery (%)	R.S.D. (%)
N-d ₈	66	20
B-d ₁₀	69	5
Phe-d ₁₀	70	2
Chry-d ₁₂	72	13
B[<i>a</i>]Pyr-d ₁₂	58	23

R.S.D.: Relative standard deviation.

3.3. Analysis of PACs in the WAF and WSF

The SBSE procedure was applied for determining the polycyclic aromatic compounds (PACs) in the water accommodated fraction and water soluble fraction of seawater samples. Alkylated derivatives, which are not available in the standard solutions, were quantified as groups (Fig. 1). This quantification was performed with the approximation that the response factors for alkylated homologue are equal to the response factor of the appropriate parent (Burkhardt *et al.*, 2005).

SBSE-TD-GC-MS analyses of PACs in the WAF and WSF have shown that naphthalenes and alkylated benzothiophenes are the dominant semi-volatile compounds because of their relatively high solubility in water. Higher PACs (4 rings and more) make up only a very small proportion of the WAF or WSF (Faksness *et al.*, 2008) (Fig. 1).

These results illustrate the flexibility of the method that enables the quantification of compounds from the ng/L level, characteristic of high molecular weight PACs, to around 80 000 ng/L as typical for the most abundant and soluble PACs contained in petroleum products. This linearity of the method over a very wide range of concentrations was previously demonstrated (Balcon *et al.*, 2011). The fields of applications are consequently large, from the monitoring of baseline levels to significant levels of contamination as generally observed during oil spills.

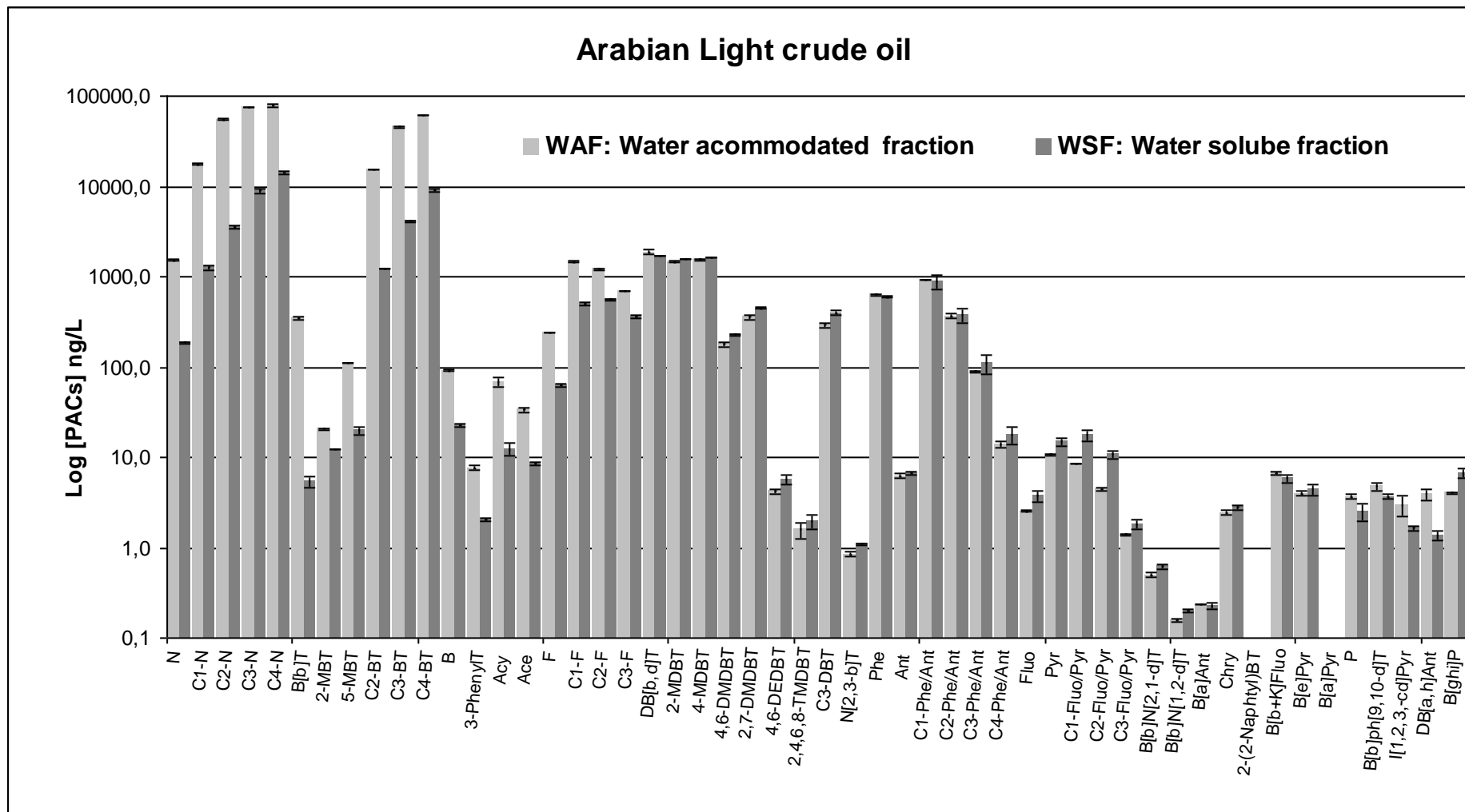


Fig. 1. Analysis of PACs and alkylated PACs in the WAF and WSF of an Arabian Light crude oil.

4. Conclusions

The proposed SBSE-TD-GC-MS method for the determination of polycyclic aromatic compounds (PACs) has been validated for the water accommodated fraction (WAF) and the water soluble fraction (WSF) of seawater samples prepared in the laboratory from a crude oil. Moreover, in addition to the PAHs commonly quantified, PASHs and alkylated compounds were investigated in this study. The good LOD, quantification (on the sub-ng level), linearity, the simplicity and automation make this technique the right tool for the analysis of these compounds in seawater.

5. Acknowledgements

This research was supported by a PhD grant from the Syrian government. Gilbert Le Lann, director of Cedre, is acknowledged for financial support.

6. References

- Balcon A.L., Kanan R., Van Ganse S., Guyomarch J., **2011**. Analysis of dissolved BTEX and PAHs in seawater following an oil spill: development of sensitive, operational methods for rapid diagnosis. *In Proceeding of the International oil spill conference*, Portland, 23-26, May 2011.
- Baltussen B., Sandra P., David F., Cramers C., **1999**. Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a Novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principles. *Journal Microcolumn Separation* 11: 737-747.
- Burkhardt M.R., Zaugg S.D., Burbank T.L., Olson M.C., Iverson J.L., **2005**. Pressurized liquid extraction using water/isopropanol coupled with solid-phase extraction cleanup for semivolatile organic compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), and alkylated PAH homolog groups in sediment. *Analytica Chimica Acta* 549: 104-116.
- Faksness L.G., Brandvik P.J., Sydnes L.K., **2008**. Composition of the water accommodated fractions as a function of exposure times and temperature. *Marine Pollution Bulletin* 56: 1746-1754.
- García-Falcón M.S., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J., **2004**. Stirring bar sorptive extraction in the determination of PAHs in drinking waters. *Water Research* 38: 1679-1684.
- Institute of Inorganic and Analytical Chemistry. PASH Standard Solutions. www.pash-standards.de Accessed 25 January, **2012**.
- Kolahgar B., Hoffmann A., Heiden A.C., **2002**. Application of stir bar sorptive extraction to the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. *Journal of Chromatography A* 963: 225-230.
- Popp P., Bauer C., Wennrich L., **2001**. Application of stir bar sorptive extraction in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Analytica Chimica Acta* 436: 1-9.
- Singer M.M., Aurand D., Bragin G.E., Clarks J.R., Coelho G.M., Sowby M.L., Tjeerdema R.S., **2000**. Standardization of the preparation and quantitation of water-accommodated fractions of petroleum for toxicity testing. *Marine Pollution Bulletin* 40: 1007-1016.

Publication n°3 : Développement d'une méthodologie pour la détermination des HAP et HAPS dissous dans l'eau de mer par "stir bar sorptive extraction" (SBSE) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC-MS).

Résumé

Cette étude détaille la mise au point d'une méthodologie d'extraction et d'analyse par SBSE-TD-GC-MS pour la détermination des hydrocarbures polyaromatiques (HAP, HAPS et de nombreux dérivés alkylés) dans l'eau de mer. Les variables influençant la réponse chromatographique, tels que le temps d'extraction, la température, le temps de désorption, le temps et la température de "cryofocusing" ont été étudiées. Sur des échantillons de 100 mL d'eau de mer dopées aux molécules d'intérêt, le travail a consisté à vérifier la linéarité ainsi que les limites de détection de la méthodologie (inférieures à 0,05 ng/L). Puis, elle a été utilisée pour rechercher et quantifier ces molécules dans des WAF et des WSF préparées avec de l'eau de mer et du pétrole brut, et ceci, pour une gamme de concentrations allant de 0,2 à 80 000 ng/L. Cette méthodologie a ensuite été appliquée avec succès lors de l'analyse d'échantillons prélevés dans le milieu naturel. Si les résultats caractérisent une contamination d'ordre chronique, elle reste des plus pertinentes dans un contexte accidentel au cours duquel les concentrations en HAP, HAPS et en leurs dérivés alkylés chutent brutalement du fait du pouvoir de dilution infini du domaine océanique.

Development of a method for the determination of dissolved PAHs and PASHs in seawater, using stir bar sorptive extraction (SBSE)-thermal desorption (TD)-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Rami Kanan ^(1,2*), Stéphane Le Floch ⁽¹⁾, Julien Guyomarch ⁽¹⁾, Karyn Le Menach ⁽²⁾, Jan T. Andersson ⁽³⁾ and Hélène Budzinski ⁽²⁾

⁽¹⁾ Cedre-715, Rue Alain Colas/CS 41836-29218 Brest Cedex2, France

⁽²⁾ University of Bordeaux I - EPOC-LPTC-351, cours de la Libération 33405 Talence Cedex, France

⁽³⁾ Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Muenster, Corrensstrasse 30, D-48149 Muenster, Germany

Abstract

A method for the determination of polycyclic aromatic compounds (polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic sulphur heterocycles) in seawater samples has been developed using stir bar sorptive extraction and thermal desorption coupled to capillary gas chromatography mass spectrometry (SBSE-TD-GC-MS). The extraction and analytical conditions, such as extraction time, desorption temperature and time and cryofocusing temperatures were optimised. Using 100 mL of seawater, the proposed method is sensitive, simple and shows good linearity and detection limits lower than 0.05 ng/L. The present SBSE-TD-GC-MS was applied for the analysis of polycyclic aromatic compounds (PACs) in three different aqueous phases: in the lab, water accommodated fraction (WAF) and water soluble fraction (WSF); in the field, natural seawater was collected in a harbour area (Brest, Finistere, France).

Keywords: Capillary GC-MS, Polycyclic aromatic compounds (PACs), Thermal desorption (TD), Stir bar sorptive extraction (SBSE), Seawater.

* Corresponding author. Tel.: +33 540006998; fax: +33 540002267

E-mail addresses: r.kanan@epoc.u-bordeaux1.fr

1. Introduction

The presence of organic contaminants in the aquatic environment has been increasing in recent decades, mainly because of increased human activities. Many of these contaminants have a tendency to bioaccumulate and present low biodegradation rates and consequently could represent a risk to the environment and human health. In this context, strict regulations for the control of contaminant concentration levels in the environment have been established. In the field of water policy, the European Union adopted the Water Framework Directive (WFD, 2000/60/EC). This Directive considers water management in a wide manner, seeking to prevent any future deterioration of water bodies, as well as the protection and improvement of the state of marine ecosystems in order to obtain a quality status of water bodies (European Parliament and Council, 2000).

Among the major chemical contaminants in our environment, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) constitute a large class of organic compounds. Their sulfur analogues are called polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs). Most PAHs are toxic but, on the basis of their occurrence and carcinogenicity, only 16 of them have been selected as priority contaminants by the US Environmental Protection Agency (EPA) (Nieva-Cano *et al.*, 2001). Like PAHs some PASHs are carcinogenic and/or mutagenic as well (Andersson and Schmid, 1995; MacFall *et al.*, 1984; Mössner and Wise, 1999). These compounds penetrate directly into the aquatic environment mainly by anthropogenic processes such as in industrial effluents or oil spills, being common in petroleum products (Andersson and Sielex, 1996).

One of the main problems for the analysis of dissolved hydrophobic organic contaminants in aqueous samples is the low concentrations at which these analytes are present. Consequently, it is necessary to use a preconcentration step prior to their analysis. Among the different preconcentration procedures found in the literature, stir bar sorptive extraction (SBSE) has proved in recent years its potential for the analysis of organic contaminants in aqueous samples. This technique consists of the sorption of nonpolar solutes present in aqueous samples onto a polydimethylsiloxane (PDMS) stir bar. It is based on the same principles as solid-phase microextraction (SPME), thus partitioning coefficients of the solutes between the sample and an extraction phase (Baltussen *et al.*, 1999; Pérez-Carrera *et al.*, 2007; Prieto *et al.*, 2007, 2010). SBSE presents advantages over liquid-liquid (LLE) and solid-phase extraction (SPE) because very small volume of organic solvent is

used and small sample volumes can be analyzed. Compared with solid-phase microextraction (SPME), lower detection limits, higher extraction capacity, and better recoveries can be achieved (Baltussen *et al.*, 2002; Blasco *et al.*, 2004; David and Sandra, 2007; Popp *et al.*, 2003).

Stir bar sorptive extraction has been applied to the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in aqueous samples (García-Falcón *et al.*, 2004; Leòn *et al.*, 2003, 2006; Liu *et al.*, 2004; Popp *et al.*, 2001, 2003, 2004; Serôdio and Nogueira, 2004) but no work which focuses on the analysis of PAHs, PASHs and corresponding alkylated homologues by SBSE has been published to our knowledge. Thus, this article proposes an extraction method using stir bar sorptive extraction (SBSE) coupled to GC-MS to determine polycyclic aromatic compounds (PACs) in seawater. Variables affecting the chromatographic response such as extraction time, desorption temperature and time and cryofocusing temperatures were optimised. The effect of other extraction conditions such as stirring rate, organic modifier addition, salting-out effect, sample and phase volumes were not optimized. They were only selected according to several published studies (Brossa *et al.*, 2005; Heurtas *et al.*, 2007; Kolahgar *et al.*, 2002; Leòn *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2005; Prieto *et al.*, 2007; Pérez-Carrera *et al.*, 2007; Quintana *et al.*, 2007; Roy *et al.*, 2005; Sánchez-Avila *et al.*, 2010; Yu and Hu, 2009; Yu *et al.*, 2009).

Finally, the method was successfully applied to the analysis of PACs in the water accommodated fraction (WAF) and water soluble fraction (WSF) of seawater samples prepared in the laboratory from a crude oil and in a natural seawater sample collected in a commercial harbour (Brest, Finistere, France).

2. Experimental set-up

2.1. Standard solutions

The solutions were prepared from certified reference materials purchased from LGC Standards (Molsheim, France): CUS 9305, which contains nineteen PAHs and two PASHs at a concentration of 100 µg/mL in methanol, and CUS 9207, which contains the corresponding internal standards: naphthalene-d₈, biphenyl-d₁₀, phenanthrene-d₁₀, chrysene-d₁₂ and benzo[a]pyrene-d₁₂ at a concentration of 1 µg/mL in acetone. In addition, six PASHs and eight alkylated derivatives were synthesized in one of our laboratories

(Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, 2012) and a solution at a concentration of 100 µg/mL in methanol was prepared. A mixture of these standard solutions containing all analytes was prepared in methanol. Compound names and abbreviations mentioned in this study are summarized in Table 1.

2.2. Preparation of WAF and WSF

The water accommodated fraction (WAF) was prepared according to guidelines established by the Chemical Response to Oil Spills: Ecological Research Forum (CROSSERF) (Singer *et al.*, 2000). This experiment was conducted in order to transfer compounds from the oil to the water phase only by solubilization. The principle of this experiment was to introduce oil at the water surface of a closed flask. To prevent significant transfer to the air phase, the headspace had to be less than 25% of the whole volume of the flask. The oil/water ratio was set at 1:100 000 (10 mg of oil for 1 L of seawater), and agitation was ensured using a magnetic stirrer. This agitation was set at a minimum level to prevent oil from being dispersed in the water column. The experimental device was set up in an air-conditioned room at 21 °C for 24 hours to reach equilibrium. The oil used was an Arabian Light crude oil. Finally, samples were collected through a tap approximately 3 cm above the bottom of the flask. The water soluble fraction (WSF) was prepared according to the same procedure but in an open flask. Evaporation thus took place in conditions closer to those encountered in the event of an oil spill at sea.

2.3. Sample collection

Natural seawater was sampled from the commercial harbour (Brest, Finistere, France) in the month of December 2010 at mid tide. The sample was collected in an amber-glass bottle (500 mL) and placed in a cooler maintained at 4 °C. Prior to the extraction, the sample was divided in 3 x 100 mL. In order to determine the total concentrations of analytes in these samples (triplicate), including both dissolved and particulate-bound chemicals, the seawater was used directly, without preliminary filtration.

2.4. Extraction of analytes

Extraction was performed with 20 mm long x 0.5 mm PDMS film thickness commercial stir bars (Twister[®]) supplied by Gerstel (Mülheim an der Ruhr, Germany). Prior to use, the stir bars were conditioned in an empty thermal desorption tube at 300°C for 4 h with helium flow at a flow desorption rate of 50 mL/min. Stirring was carried out using a 15 position magnetic stirrer (Gerstel). After the stirring period, the bars were recovered, rinsed

with distilled water, dried over paper and placed in the automatic sampler in order to thermally desorb the compounds. Prior to the extraction by SBSE, a 100 mL water sample (spiked or natural) was added with 10 mL of methanol containing the five perdeuterated internal standards at a concentration of 1 ng/mL.

2.6. Instrumentation and analytical conditions

The PAHs and PASHs were identified and quantified using a Thermal Desorption Unit (TDU) combined with a Cooled Injection System (CIS) from Gerstel (Mülheim an der Ruhr, Germany) mounted on a 7890 Agilent GC system coupled to an Agilent 5975 mass spectrometer (Agilent Technologies, Little Falls, DE, USA). The analytical system was equipped with an automated sampler MPS2 (Gerstel). Desorption was achieved at 280 °C for 10 min under a helium flow of 50 mL/min in the splitless mode and with a transfer line maintained at 300 °C. The desorbed compounds were cryofocused in the cooled injection system (CIS-4, Gerstel) at 10 °C and then transferred to the HP-5 MS column (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film thickness, constant helium flow of 1 mL/min) by a rapid increase of the CIS temperature (from 10 °C to 300 °C at 12 °C s⁻¹). The oven temperature program was: from 50 °C (1 min) to 150 °C at 10 °C/min, and then to 320 °C (5 min) at 5 °C/min. A Selected Ion Monitoring (SIM) mode acquisition method, with two, three or four characteristic ions, was chosen for the detection of the analytes (Table 1). The target compounds were quantified respectively to their perdeuterated PACs using a calibration curve established for each individual compound (from 0.1 ng/L to 100 ng/L).

3. Results and Discussion

3.1. Identification of compounds

A simplified procedure was assessed for PACs identification. Solution and internal standards used for SBSE analyses were directly added onto the stir bar. Detection by TD-GC-MS was then performed in the scan mode. The retention time for each compound and internal standard was identified. From these preliminary analyses, the analytical conditions applied in SIM (Selected Ion Monitoring) mode were optimized and each compound was characterized by two, three or four representative fragments (Table 1).

Table 1

Identification of compounds.

Number	Compound name	Abbreviation	Rt (min)	Selected ions (m/z)
1	<i>Naphthalene-d₈</i>	<i>N-d₈</i>	9.10	136-135
2	Naphthalene*	N	9.13	128-127-102
3	Benzo[<i>b</i>]thiophene	B[<i>b</i>]T	9.26	134-89
4	2-Methylbenzothiophene	2-MBT	10.72	147-148-115
5	5-Methylbenzothiophene	5-MBT	10.84	147-148-115
6	<i>Biphenyl-d₁₀</i>	<i>B-d₁₀</i>	11.81	164-162
7	Biphenyl	B	11.87	154-153-152-76
8	3-Phenylthiophene	3-PhenylT	12.36	160-115
9	Acenaphthylene*	Acy	12.96	152-151-76
10	Acenaphthene*	Ace	13.51	154-153-152-76
11	Fluorene*	F	15.11	166-165
12	<i>Phenanthrene-d₁₀</i>	<i>Phe-d₁₀</i>	18.49	188-187
13	Dibenzo[<i>b,d</i>]thiophene	DB[<i>b,d</i>]T	18.08	184-139-152
14	Phenanthrene*	Phe	18.56	178-176-152
15	Anthracene*	Ant	18.74	178-176-152
16	Naphtho[2,3- <i>b</i>]thiophene	N[2,3- <i>b</i>]T	19.04	184-139-152
17	2-Methyldibenzothiophene	2-MDBT	20.23	198-194
18	4-Methyldibenzothiophene	4-MDBT	19.88	198-194
19	4,6-Dimethyldibenzothiophene	4,6-DMDBT	21.69	212-211
20	2,7-Dimethyldibenzothiophene	2,7-DMDBT	22.46	212-211
21	4,6-Diethyldibenzothiophene	4,6-DEDBT	24.78	225-240
22	2,4,6,8-Tetramethyldibenzothiophene	2,4,6,8-TMDBT	25.67	240-225
23	Fluoranthene*	Fluo	23.55	202-200-201
24	Pyrene*	Pyr	24.46	202-200-201
25	<i>Chrysene-d₁₂</i>	<i>Chry-d₁₂</i>	30.06	240-239
26	Benzo[<i>b</i>]naphtho[2,1- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	28.88	234-117-232
27	Benzo[<i>b</i>]naphtho[1,2- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	29.30	234-117-232
28	Benzo[<i>a</i>]anthracene*	B[<i>a</i>]Ant	29.99	228-206-227
29	Chrysene*	Chry	30.16	228-206-227
30	2-(2-Naphthyl)benzothiophene	2-(2-Naphthyl)BT	33.15	260-258-130
31	<i>Benzo[<i>a</i>]pyrene-d₁₂</i>	<i>B[<i>a</i>]Pyr-d₁₂</i>	35.80	264-263
32-33	Benzo[<i>b+k</i>]fluoranthene*	B[<i>b+k</i>]Fluo	34.65	252-250-126
34	Benzo[<i>e</i>]pyrene	B[<i>e</i>]Pyr	35.70	252-250-126
35	Benzo[<i>a</i>]pyrene*	B[<i>a</i>]Pyr	35.89	252-250-126
36	Perylene	P	36.22	252-250-126
37	Benzo[<i>b</i>]phenanthro[9,10- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	39.29	284-282-252
38	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene*	I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr	39.99	276-138
39	Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracene*	DB[<i>a,h</i>]Ant	40.17	278-276-139
40	Benzo[<i>ghi</i>]perylene*	B[<i>ghi</i>]P	40.80	276-138

Surrogates used for quantification in *italics*, corresponding to quantified compounds below.

Target ion used for quantification, in first position.

* Priority contaminants selected by the US Environmental Protection Agency (EPA).

Rt: Retention time.

As regards alkylated PACs, which are not available in most standard solutions but abundant in petroleum products, particularly crude oil, SIM parameters were obtained from the qualitative analyses of the water accommodated fraction (WAF).

3.2. Selection of extraction conditions

3.2.1 Influence of main parameters

Several parameters affected the extraction step, mainly the extraction time, addition of an inert salt or an organic modifier, stirring speed, sample volume and the volume of the sorbent phase.

Inert salts such as sodium chloride (NaCl) may be added to achieve higher polar solute recoveries: NaCl reduces the solute's water solubility and increases the partitioning coefficient between the acceptor phase (PDMS) and water (Ochiai *et al.*, 2006; Quintana *et al.*, 2007). However, for nonpolar analytes ($\log K_{o,w} > 3.5$), the addition of an inert salt does not improve extraction efficiency (Heurtas *et al.*, 2007; Rodil and Moeder, 2008; Yu *et al.*, 2009; Zuin *et al.*, 2005). In accordance with several methods developed with seawater (Heurtas *et al.*, 2007; Roy *et al.*, 2005; Sánchez-Avila *et al.*, 2010), NaCl was not added in this study.

An organic modifier such as MeOH is added in order to prevent adsorption of the more hydrophobic compounds (such as PACs) on the glass walls (wall effect) and to improve recoveries. The SBSE methods developed for these types of compounds involved the addition of methanol in amounts ranging from 5% to 10%, to reduce adsorption phenomena and prevent analyte loss (Brossa *et al.*, 2005; Kolahgar *et al.*, 2002; Leòn *et al.*, 2003; Prieto *et al.*, 2007). In this study, the addition of 10% methanol was chosen.

Another key variable was the volume of the PDMS phase. Leòn *et al.* (2003) studied two different stir bars (20 mm \times 0.5 mm stir bar, 47 μ L of PDMS and 10 mm \times 0.5 mm stir bar, 24 μ L of PDMS) during the determination of 35 priority semi-volatile compounds and found that higher amounts were extracted with the 20 mm \times 0.5 mm stir bar. The sample volume is also often studied. When sample volume was not a limiting factor (i.e. with seawater), and low concentrations of pollutants were used, the recommended volume was 100 mL (Leòn *et al.*, 2003; Pérez-Carrera *et al.*, 2007).

The stirring rate is another key factor. Increasing speed will improve the efficiency of extraction by accelerating extraction and therefore increasing responses at a fixed extraction time. A higher stirring rate may however cause physical damage to the extraction phase because of the direct contact between the stir bar and the bottom of the sample vial (Liu *et al.*, 2005; Yu and Hu, 2009). Several authors (Quintana *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2009; Yu and Hu, 2009) have reported that values in the 500-800 rpm range increase responses, but that further increase in the stirring speed leads to little or no further improvement, and reduces the stir bar's lifetime. Consequently, a 700 rpm stirring speed was chosen for the following experiments.

3.2.2. Definition of the extraction time

According to the literature, extraction time is one of the most important factors that affect the extraction process (Leòn *et al.*, 2003; Pérez-Carrera *et al.*, 2007). Typically, this variable is studied once the values of the rest of the parameters have been determined, and the time profiles are studied in order to obtain the equilibration time (Leòn *et al.*, 2003; Zuin *et al.*, 2005). The extraction time profiles (30 min-24 h) were studied using spiked water containing 100 ng/L of each compound. They were studied at the selected conditions: a 100 mL sample volume, 20 mm × 0.5 mm stir bar, 700 rpm and ambient temperature (21 °C). Equilibrium was reached for the more volatile compounds (benzo[*b*]thiophene, 3-phenylthiophene) after 2 h, while a 6 h period was needed for the other compounds (Fig. 1). An extraction period of 6 h was therefore selected as a reference extraction time for further experimentation. The extraction time profiles obtained are similar to those obtained in other works for some PAHs (Kolahgar *et al.*, 2002; Leòn *et al.*, 2003; Prieto *et al.*, 2007).

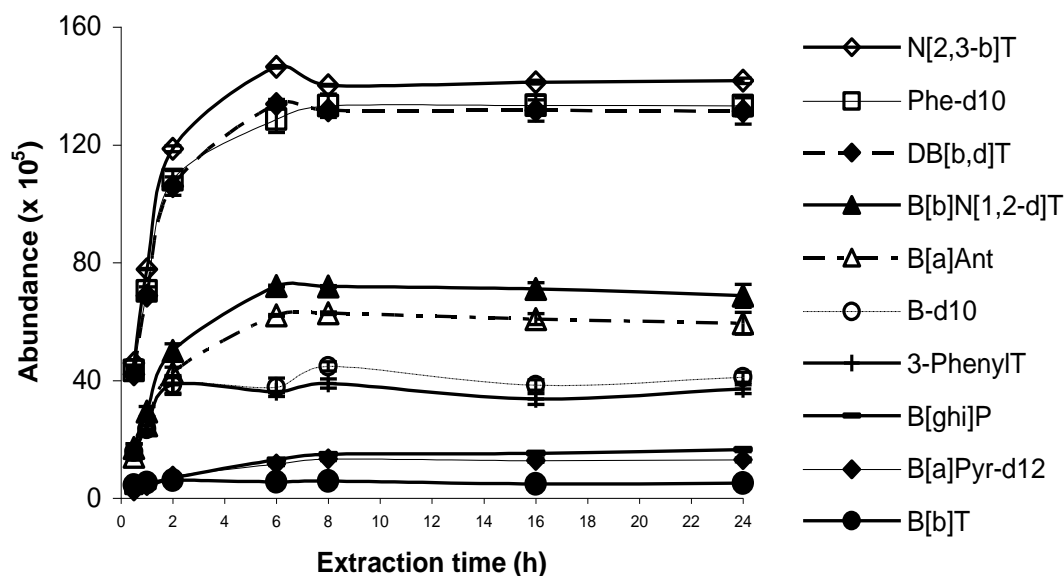


Fig. 1. Extraction time profiles of some of the compounds studied at 100 ng/L. Conditions: 100 mL sample, 47 μ L PDMS, stir rate 700 rpm and ambient temperature (21 $^{\circ}$ C). The extract was then analyzed by TD-GC-MS. Mean of three replicates.

The choice of the internal standard used for each individual compound was based on this kinetics study. Phenanthrene- d_{10} was used for phenanthrene as it showed a very similar extraction profile but could also for dibenzo[*b,d*]thiophene and naphtho[2,3-*b*]thiophene (Fig. 1). Finally, twelve compounds will be quantified based on phenanthrene- d_{10} (Table 1).

3.3. Selection of desorption conditions

For thermal desorption (TD), the desorption time, desorption temperature and cryofocusing temperature are the most studied variables but desorption flow and vent pressure have also been studied in several works (Heurtas *et al.*, 2007; Roy *et al.*, 2005; Pérez-Carrera *et al.*, 2007; Prieto *et al.*, 2007).

Prior to the study, the desorption conditions were optimised in the case of PAHs analyses in terms of desorption temperature and time and cryofocusing temperatures. The desorption temperature is normally assessed within the range 150-300 $^{\circ}$ C and a positive effect is generally observed with increasing temperature (MacNamara *et al.*, 2009; Prieto *et al.*, 2007). However, tests performed on PAHs did not show a significant increase in sensitivity for temperatures greater than 280 $^{\circ}$ C. Consequently, in order to increase the lifetime of the stir bars, a 280 $^{\circ}$ C temperature was selected. An experimental design was

chosen involving three desorption times (8, 10 and 12 min) and four cryofocusing temperatures, from -25 °C to +25 °C with a 25 step. Finally, the optimum was found for the combination 8 min/10 °C. However, in the case of PASHs, as some target compounds appeared to be slightly less volatile, a desorption time of 10 min was adopted.

Following the analysis performed for quantification purposes, each stir bar was desorbed a second time at 300 °C for 10 min to ensure a minimum carry-over. The amount of target compounds remaining on the stir bar was assessed by performing analyses in regular conditions after the cleaning step. No peak appeared in the resulting GC chromatogram at a level close to the limit of detection, thus confirming that the 10 min desorption period followed by a cleaning step was sufficient to ensure negligible carry-over.

3.4. SBSE method validation

Once the extraction and desorption conditions had been selected, the complete SBSE-TD-GC-MS method was validated based on quality criteria such as limits of detection (LOD), limits of quantification (LOQ), linearity and absolute recovery.

The limits of detection and quantification were calculated according to the calibration curve method. The limits of quantification for all compounds were below 0.2 ng/L (Table 2). These results demonstrate the extremely high sensitivity of SBSE-TD-GC-MS. The limits of detection, in the range of sub-ng/L, were particularly low and corresponded to the concentrations frequently met in coastal seawater (Roy *et al.*, 2005). The linearity of the method was studied in the range 0.1-100 ng/L considering seven concentration levels (0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50 and 100 ng/L), thus allowing a wide range of applications, from baseline levels to significant levels of contamination. Correlation coefficients (R^2) were higher than 0.984 for all compounds studied (Table 2). Fig. 2 shows a chromatogram of the calibration level 100 ng/L.

Table 2

Limits of detection and quantification (LOD and LOQ, in ng/L), correlation coefficients (R^2) of the calibration curves (from 0.1 to 100 ng/L) for the investigated compounds.

Compounds	(R^2)	LOD (ng L ⁻¹)	LOQ (ng L ⁻¹)
N	0.995	0.03	0.1
B[b]T	0.994	0.03	0.1
2-MBT	0.996	0.03	0.1
5-MBT	0.996	0.03	0.1

B	0.997	0.02	0.1
3-PhenylT	0.995	0.03	0.1
Acy	0.996	0.03	0.1
Ace	0.997	0.03	0.1
F	0.996	0.02	0.1
DB[<i>b,d</i>]T	0.997	0.02	0.1
Phe	0.997	0.03	0.1
Ant	0.998	0.01	0.04
N[2,3- <i>b</i>]T	0.996	0.02	0.1
2-MDBT	0.998	0.01	0.05
4-MDBT	0.998	0.02	0.1
4,6-DMDBT	0.998	0.01	0.04
2,7-DMDBT	0.998	0.01	0.04
4,6-DEDBT	0.984	0.04	0.1
2,4,6,8-TMDBT	0.997	0.01	0.03
Fluo	0.998	0.01	0.04
Pyr	0.998	0.01	0.04
B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	0.998	0.01	0.04
B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	0.998	0.01	0.04
B[<i>a</i>]Ant	0.999	0.01	0.03
Chry	0.998	0.01	0.05
2-(2-Naphthyl)BT	0.997	0.01	0.04
B[<i>b+k</i>]Fluo	0.996	0.02	0.1
B[<i>e</i>]Pyr	0.997	0.02	0.1
B[<i>a</i>]Pyr	0.995	0.03	0.1
P	0.996	0.02	0.1
B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	0.992	0.02	0.1
I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr	0.988	0.01	0.04
DB[<i>a,h</i>]Ant	0.988	0.01	0.03
B[<i>ghi</i>]P	0.993	0.01	0.04

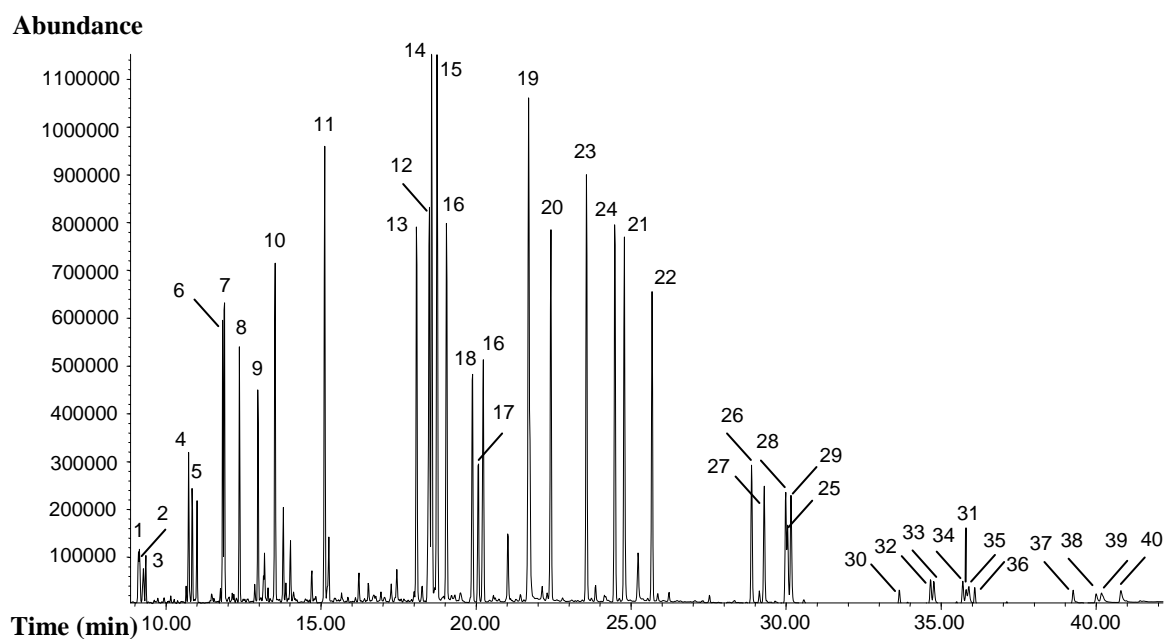


Fig. 2. Chromatogram of 100 ng/L spiked seawater using SBSE from a 100 mL sample. For peak identity, see Table 1.

The absolute recovery of the internal standards using the SBSE-TD-GC-MS method was calculated by analysing pre-spiked stir bars (Table 3). Internal standards were directly added onto the stir bar, in the same quantity in comparison with the regular protocol. The recovery of internal standards, considered as representative of the whole method, was calculated by comparing the response (area) of the peaks from extractions when using the regular protocol relative to the peaks obtained from the spiked bar, which represented 100% of the internal standards introduced at the beginning of the sample preparation.

Table 3Recovery (%) of internal standards at 100 ng/L ($n = 3$).

Internal standards	100 ng L ⁻¹	
	Recovery (%)	R.S.D. (%)
N-d ₈	66	20
B-d ₁₀	69	5
Phe-d ₁₀	70	2
Chry-d ₁₂	72	13
B[a]Pyr-d ₁₂	58	23

R.S.D.: Relative standard deviation.

3.5. Analysis of PACs in the WAF and WSF

The PACs were quantified by SBSE-TD-GC-MS in the water accommodated fractions (WAF) and water soluble fractions (WSF) prepared with an oil/water ratio of 1:100 000. The analysis, in combination with calibration solutions extended to 35 compounds, identified 51 compounds or groups of compounds (Table 4). It must be noted that alkylated derivatives could not be quantified directly using the calibration curves; it was assumed that the sensitivity of the method was similar for alkylated compounds and corresponding parents PACs.

Table 4

Concentration of PACs in the WAF and WSF of an Arabian Light crude oil after a 6 h-extraction period.

Number of rings	Compounds	Logk _{ow}	WSF		WAF	
			[PACs] ng/L	R.S.D. (%), $n = 3$	[PACs] ng/L	R.S.D. (%), $n = 3$
2	N	3.4 ⁽¹⁾	187	3	1505	4
2	C ₁ -N		1255	8	17398	4
2	C ₂ -N		3606	7	54658	3
2	C ₃ -N		8852	10	74350	1
2	C ₄ -N ^a		14152	9	79403	6
2	B[b]T	3.17 ⁽¹⁾	5	24	349	6
2	2-MBT	3.71 ⁽¹⁾	12	3	21	4
2	5-MBT ^b	3.54	20	17	112	1

2	C ₂ -BT		1229	3	15367	2
2	C ₃ -BT		4090	4	45395	3
2	C ₄ -BT		8987	8	61440	1
2	B	4.32 ⁽²⁾	22	8	92	3
2	3-PhenylT	3.58	2	6	8	11
3	Acy	3.61 ⁽³⁾	12	28	69	21
3	Ace	3.77 ⁽³⁾	9	5	34	10
3	F	3.96 ⁽³⁾	63	8	240	1
3	C ₁ -F		498	5	1461	2
3	C ₂ -F		558	5	1202	3
3	C ₃ -F		365	7	700	2
3	DB[<i>b,d</i>]T ^c	4.36 ⁽¹⁾	1697	1	1871	11
3	Phe ^d	4.60 ⁽¹⁾	596	1	627	2
3	Ant	5.34 ⁽⁴⁾	7	6	6	13
3	N[2,3- <i>b</i>]T	4.50 ⁽¹⁾	1	3	1	12
3	C ₁ -Phe/Ant		1201	23	923	3
3	C ₂ -Phe/Ant		512	23	368	10
3	C ₃ -Phe/Ant		141	9	89	5
3	C ₄ -Phe/Ant		23	14	14	12
3	2-MDBT ^e	4.84	1562	1	1470	5
3	4-MDBT	4.84	1646	1	1540	3
3	4,6-DMDBT	5.39	227	4	179	9
3	2,7-DMDBT ^f	5.26	451	2	356	9
3	4,6-DEDBT	6.37	6	19	4	11
3	C ₃ -DBT		400	10	290	13
3	2,4,6,8-TMDBT	6.36	2	31	2	38
4	Fluo	4.50 ⁽³⁾	4	26	3	3
4	Pyr	4.77 ⁽¹⁾	15	19	11	2
4	C ₁ -Fluo/Pyr		18	25	9	0
4	C ₂ -Fluo/Pyr		11	18	4	7
4	C ₃ -Fluo/Pyr		2	19	1	5
4	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	5.35 ⁽¹⁾	0.61	9	0.50	11
4	B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	5.90 ⁽¹⁾	0.20	9	0.16	6
4	B[<i>a</i>]Ant	5.10 ⁽³⁾	0.23	12	0.23	1
4	Chry ^g	5.78 ⁽¹⁾	3	9	2	11
4	2-(2-Naphtyl)BT		nd	nc	nd	nc
5	B[<i>b+k</i>]Fluo	5.78-6.11	6	19	7	6
5	B[<i>e</i>]Pyr	6.44 ⁽⁵⁾	4	26	4	11
5	B[<i>a</i>]Pyr	5.81 ⁽³⁾	nd	nc	nd	nc
5	P	6.50 ⁽¹⁾	3	40	4	10
5	B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	6.52	4	9	5	17
6	I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr	6.58 ⁽⁶⁾	2	10	3	46
5	DB[<i>a,h</i>]Ant ^h	7.11 ⁽³⁾	1	21	4	22
6	B[<i>ghi</i>]P	6.09 ⁽⁵⁾	7	22	4	2

(1): Andersson and Schrader, 1999; (2): Tandlich and Balaz, 2002; (3): Sahu and Pandit, 2003; (4): Donovan and Pescatore, 2002; (5): De Voogt *et al.*, 1990; (6): Meharg *et al.*, 1998.

WSF: Water soluble fraction, WAF: Water accommodated fraction, nd: not detected, nc: not concerned
R.S.D.: Relative standard deviation.

^a Coelution between C₄-N and DB[*b,d*]T may occur.

^b Coelution between 5- and 6-MBT may occur.

^c Coelution between DB[*b,d*]T and N[1,2-*b*]T may occur.

^d Coelution between Phe and N[2,1-*b*]T may occur.

^e Coelution between 2- and 3-MDBT may occur.

^f Coelution between 2,7-2,8- and 3,7-DMBT may occur.

^g Coelution between Chry and Triphenylene may occur.

^h Coelution between DB[*a,h*]Ant and DB[*a,c*]Ant may occur.

SBSE-TD-GC-MS analyses of these analytes in the WAF and WSF have shown that naphthalenes and alkylated benzothiophenes are the dominant semi-volatile compounds because of their relatively high solubility in water. Higher PACs (4 rings and more) make up only a very small proportion of the WAF or WSF (Faksness *et al.*, 2008) (Fig. 3).

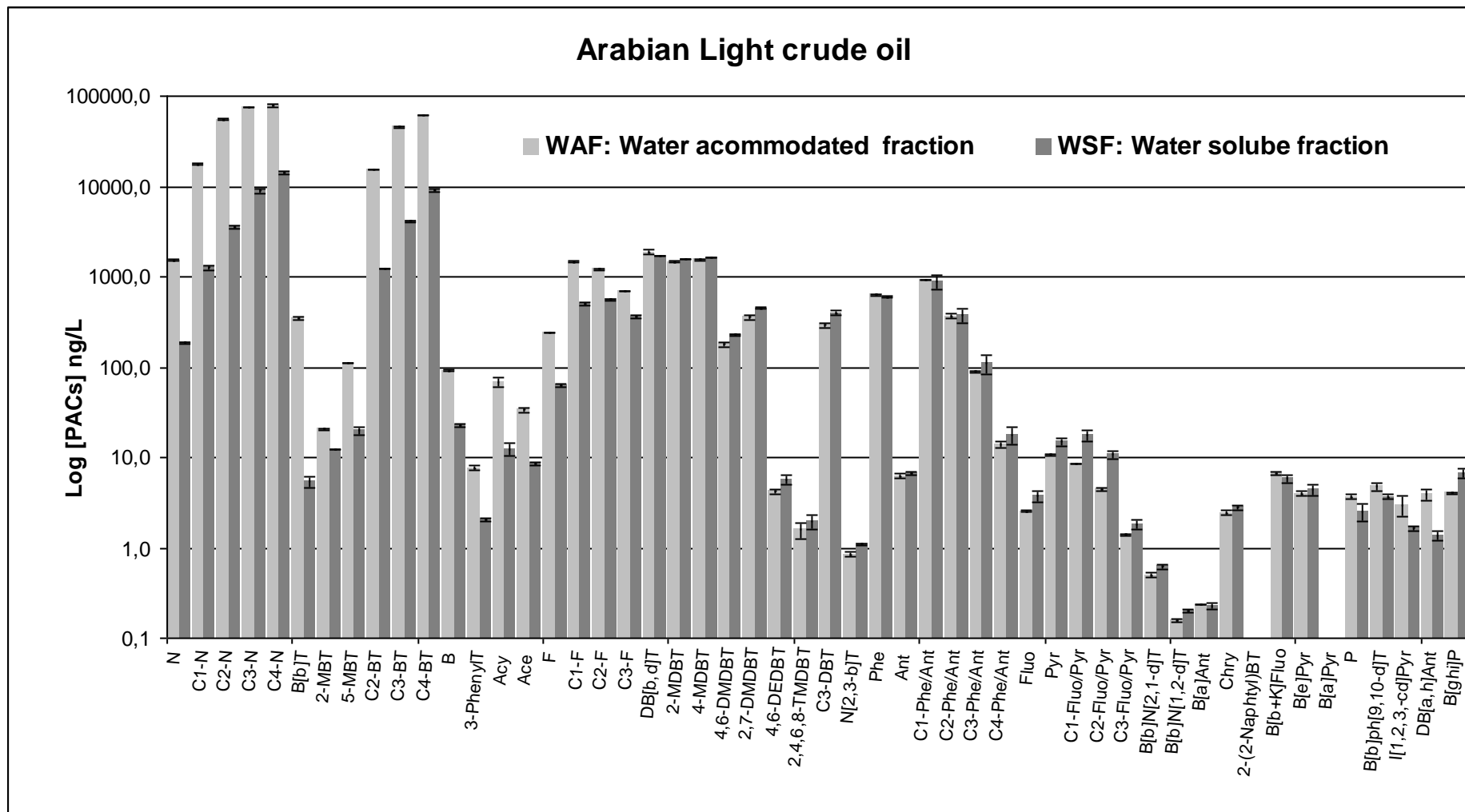


Fig. 3. Analysis of PACs and alkylated PACs in the WAF and WSF of an Arabian Light crude oil.

These results illustrate the flexibility of the method which makes it possible to quantify compounds from the ng/L level, characteristic of high molecular weight PACs, to around 80 000 ng/L as typical for the most abundant and soluble PAHs contained in petroleum products. This linearity of the method over a very wide range of concentrations was previously demonstrated (Balcon *et al.*, 2011). The fields of applications are consequently large, from the monitoring of baseline levels to the risk assessment following a large oil spill.

3. 6. Application of the developed method to a real-world sample

The SBSE procedure was applied successfully to determine polycyclic aromatic compounds (PACs) in an environmental sample. One seawater sample collected in a harbour area (Brest, Finistere, France) was extracted, using stir bars, and its contamination content was analysed by the proposed method ($n = 3$). A blank was performed before each extraction with the same stir bar to make sure that there was no residual contamination. Nearly all the target compounds were detected and could also be quantified (Table 5).

Table 5
Identification and estimation of PACs in natural seawater sampled in a commercial harbour.

Number	Compounds	Commercial harbour	
		[PACs] ng/L	R.S.D. (%), $n = 3$
1	N	27	18
2	C ₁ -N	35	13
3	C ₂ -N	615	14
4	C ₃ -N	491	16
5	C ₄ -N	257	28
6	B[<i>b</i>]T	3.7	11
7	2-MBT	12	8
8	5-MBT	59	8
9	C ₂ -BT	176	25
10	C ₃ -BT	117	7
11	C ₄ -BT	95	38
12	B	11	3
13	3-PhenylT	0.4	37
14	Acy	2.3	15
15	Ace	3.5	12
16	F	5	4
17	C ₁ -F	12.4	11
18	C ₂ -F	18.5	12
19	C ₃ -F	18.2	20
20	DB[<i>b,d</i>]T	1.60	14
21	Phe	9.70	5
22	Ant	0.50	14
23	N[2,3- <i>b</i>]T	nd	nc
24	C ₁ -Phe/Ant	14.4	4
25	C ₂ -Phe/Ant	9.5	10

26	C ₃ -Phe/Ant	3.9	2
27	C ₄ -Phe/Ant	1	12
28	2-MDBT	1.5	22
29	4-MDBT	2.6	16
30	4,6-DMDBT	1	28
31	2,7-DMDBT	0.5	0.5
32	4,6-DEDBT	0.2	7
33	C ₃ -DBT	1.4	3
34	2,4,6,8-TMDBT	0.2	24
35	Fluo	1.3	4
36	Pyr	1.7	3
37	C ₁ -Fluo/Pyr	0.5	15
38	C ₂ -Fluo/Pyr	0.3	5
39	C ₃ -Fluo/Pyr	nd	nc
40	B[b]N[2,1- <i>d</i>]T	- ^a	nc
41	B[b]N[1,2- <i>d</i>]T	- ^a	nc
42	B[a]Ant	0.24	34
43	Chry	0.3	8
44	2-(2-Naphthyl)BT	nd	nc
45-46	B[b+k]Fluo	2.6	40
47	B[e]Pyr	0.2	42
48	B[a]Pyr	0.4	25
49	P	nd	nc
50	B[b]ph[9,10- <i>d</i>]T	0.2	40
51	I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr	0.5	23
52	DB[a,h]Ant	0.4	29
53	B[ghi]P	0.4	0.2

Extraction procedure: 100 mL sample volume, 20 mm long stir bar and 6 h extraction time, nd: not detected, nc: not concerned ^a The compound was detected but quantification was not possible since the concentration was below the limit of quantification, R.S.D.: Relative standard deviation.

Fig. 4 presents some of the PACs and alkylated PACs which can be analyzed by SBSE in a seawater sample. This chromatogram shows that peaks can be easily detected and separated, and no interferences with compounds generated by the PDMS desorption were observed.

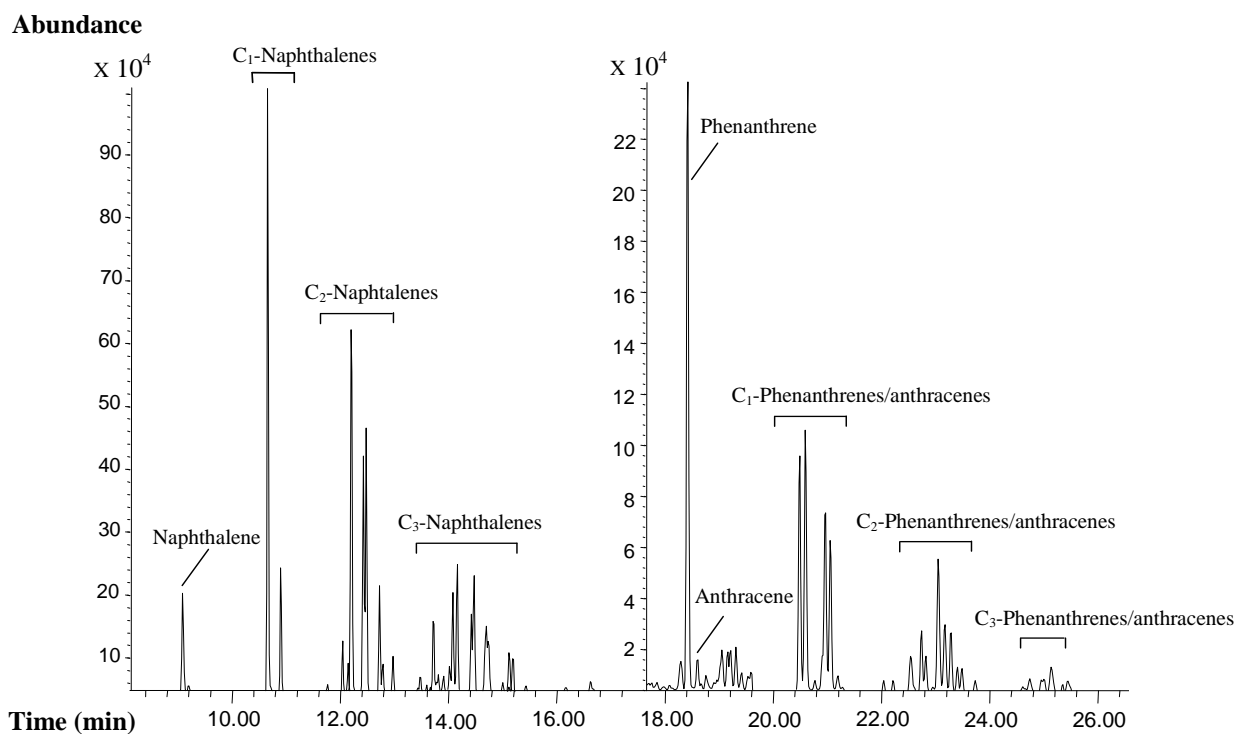


Fig. 4. SBSE-TD-GC-MS reconstructed chromatogram obtained from the analysis of natural seawater sample.

The natural seawater was mainly polluted with naphthalenes and alkylated compounds. Moreover, the samples were characterized by the dominance of the alkylated compounds over their corresponding unsubstituted compounds and the dominance of the low-molecular mass 2-3-ring PACs over the high-molecular mass 4-6 ring PACs (Fig. 5). Thus, PAC distribution was typical of a petrogenic contaminant (Wang *et al.*, 1999) which would also be suspected due to the high level of contamination. Such a presence of PACs in the port was attributed to the presence of maritime transport vessels using petroleum-based products and fuels (Valavanidis *et al.*, 2008).

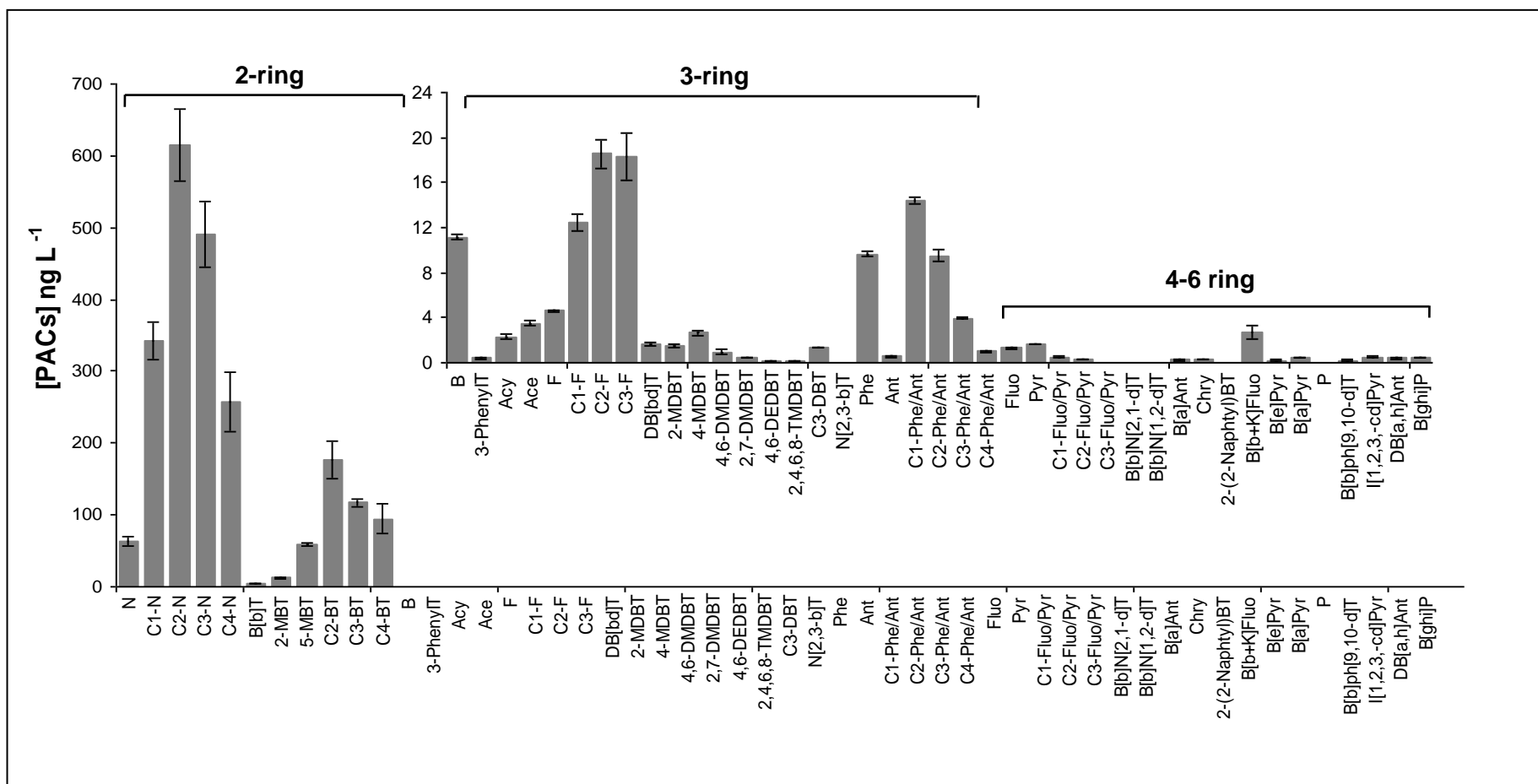


Fig. 5. Analysis of PACs in natural seawater sampled in a commercial harbour.

4. Conclusions

The SBSE technique, in combination with a subsequent GC-MS analysis, proved to be a powerful tool for the quantification of PACs, either at trace levels (in the sub-ng/L level) or for significant contamination of the water column as generally observed during oil spills. Moreover, in addition to the PAHs commonly quantified, sulfur-containing and alkylated compounds were investigated in this study, and the method was finally developed to obtain a reliable assessment of compounds likely to be dissolved in seawater when petroleum products are involved. Taking into account the high toxicity of PAHs, and the ongoing studies dealing with PASHs, even at low levels, SBSE represents an interesting solution for monitoring studies which should be carried out following an oil spill. Moreover, the limits of quantification were in agreement with the sensitivity required to assess contamination in accordance with the Environmental Quality Standards (EQS) for priority substances and certain other pollutants, in inland surface waters and coastal waters, established within the European Water Framework Directive (European Parliament and Council, 2008). Over and above its analytical performances, this technique proved to be quite flexible as the extraction could be performed directly in the field by non-specialists provided care was taken to avoid contamination. The possibilities of field applications, or even automation, are enhanced by the possibility to preserve the analytes on the stir bars for long periods before analysis, up to at least one month according to previous studies (Balcon *et al.*, 2011).

5. Acknowledgements

This research was supported by a PhD grant from the Syria government. Gilbert Le Lann, director of Cedre, is acknowledged for financial support. The authors thank Sally Fergusson (Alba Traduction) for reading this document.

6. References

- Andersson J.T., Schmid B., **1995**. Polycyclic aromatic sulphur heterocycles. IV. Determination of polycyclic aromatic compounds in a shale oil with the atomic emission detector. *Journal of Chromatography A* 693: 325-338.
- Andersson J.T., Sielex K., **1996**. Dimethylbenzothiophenes and methylidibenzothiophenes in crude oils from different sources. *Journal of High Resolution Chromatography* 19: 49-53.
- Andersson J.T., Schrader W., **1999**. A method for measuring octanol-water partition coefficients. *Analytical Chemistry* 71: 3610-3614.

- Balcon A.L., Kanan R., Van Ganse S., Guyomarch J., **2011**. Analysis of dissolved BTEX and PAHs in seawater following an oil spill: development of sensitive, operational methods for rapid diagnosis. *In Proceeding of the International oil spill conference*, Portland, 23-26, May 2011.
- Baltussen B., Sandra P., David F., Cramers C., **1999**. Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a Novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principles. *Journal Microcolumn Separations* 11: 737-747.
- Baltussen E., Cramers C.A., Sandra P.J.F., **2002**. Sorptive sample preparation: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 373: 3-22.
- Blasco C., Fernández M., Picó Y., Font G., **2004**. Comparison of solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction for determining six organophosphorus insecticides in honey by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1030: 77-85.
- Brossa L., Marcé R.M., Borrull F., Pocurull E., **2005**. Determination of Endocrine Disruptors in Environmental Water Samples by Stir Bar Sorptive Extraction-Liquid Desorption-Large Volume Injection-Gas Chromatography. *Chromatographia* 61: 61-65.
- David F., Sandra P., **2007**. Stir bar sorptive extraction for trace analysis. *Journal of Chromatography A* 1152: 54-69.
- Donovan S.F., Pescatore M.C., **2002**. Method for measuring the logarithm of the octanol-water partition coefficient. *Journal of Chromatography A* 952: 47-61.
- De Voogt P., Van Zijl G.A., Govers H., Brinkman U.A.T., **1990**. Reversed-phase TLC and structure-activity relationships of polycyclic (hetero) aromatic hydrocarbons". *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC* 3: 24-33.
- European Parliament and Council, **2000**. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Union* L327: 1-72.
- European Parliament and Council, **2008**. Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standard in the field of water policy, amending and subsequently Council Directives 82/176/EEC, 83/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC the European Parliament and of the Council. *Official Journal of the European Union* L348: 84-97.
- García-Falcón M.S., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J., **2004**. Stirring bar sorptive extraction in the determination of PAHs in drinking waters. *Water Research* 38: 1679-1684.
- Heurtas C., Morillo J., Usero J., Gracia-Manarillo I., **2007**. Validation of stir bar sorptive extraction for the determination of 24 priority substances from the European Water Framework Directive in estuarine and seawater. *Talanta* 72: 1149-1156.
- Institute of Inorganic and Analytical Chemistry. PASH standard solutions. www.pash-standards.de Accessed 11 January, **2012**.
- Kolahgar B., Hoffmann A., Heiden A.C., **2002**. Application of stir bar sorptive extraction to the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. *Journal of Chromatography A* 963: 225-230.
- Leòn V.M., Álvarez B., Cobollo M.A., Muñoz S., Volar I., **2003**. Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. I. Method optimisation. *Journal of Chromatography A* 999: 91-101.
- Leòn V.M., Llorca-Pórcel J., Álvarez B., Cobollo M.A., Muñoz S., Volar I., **2006**. Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. Part II: Method validation. *Journal of Chromatography A* 558: 261-266.

- Liu W., Hu Y., Zhao J., Xu Y., Guan Y., **2005**. Determination of organophosphorus pesticides in cucumber and potato by stir bar sorptive extraction. *Journal of Chromatography A* 1095: 1-7.
- Liu W., Wang H., Guan Y., **2004**. Preparation of stir bars sorptive extraction using sol-gel technology. *Journal of Chromatography A* 1045: 15-22.
- MacNamara K., Leardi R., McGuigan F., **2009**. Comprehensive investigation and optimisation of the main experimental variables in stir-bar sorptive extraction (SBSE)-thermal desorption-capillary gas chromatography (TD-CGC). *Analytica Chimica Acta* 636: 190-197.
- MacFall T., Booth G.M., Lee M.L., Tominaga Y., Pratap R., Tedjamulia M., Castle R.N., **1984**. Mutagenic activity of methyl-substituted tri- and tetracyclic aromatic sulfur heterocycles. *Mutation Research* 135: 97-103.
- Meharg A.A., Wright J., Dyke H. Osborn D., **1998**. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dispersion and deposition to vegetation and soil following a large scale chemical fire. *Environmental Pollution* 99: 29-36
- Mössner S.G., Wise S.A., **1999**. Determination of Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles in Fossil Fuel-Related Samples. *Analytical Chemistry* 71, 58-69.
- Nieva-Cano M.J., Rubio-Barroso S., Santos-Delgado M.J., **2001**. Determination of PAH in food samples by HPLC with fluorimetric detection following sonication extraction without sample clean-up. *Analyst* 126: 1326-1331.
- Ochiai N., Sasamoto K., Kanda H., Nakamura S., **2006**. Fast screening of pesticide multiresidues in aqueous samples by dual stir bar sorptive extraction-thermal desorption-low thermal mass gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1130: 83-90.
- Pérez-Carrera E., León León V.M., Parra A.G., González-Mazo E., **2007**. Simultaneous determination of pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyl in seawater and interstitial marine water samples, using stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1170: 82-90.
- Popp P., Bauer C., Wennrich L., **2001**. Application of stir bar sorptive extraction in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Analytica Chimica Acta* 436: 1-9.
- Popp P., Bauer C., Paschke A., Montero L., **2004**. Application of a polysiloxane-based extraction method combined with column liquid chromatography to determine polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. *Analytica Chimica Acta* 504: 307-312.
- Prieto A., Zuloaga O., Usobiaga A., Etxebarria N., Fernández L.A., **2007**. Development of a stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry method for the simultaneous determination of several persistent organic pollutants in water samples. *Journal of Chromatography A* 1174: 40-49.
- Prieto A., Basauri O., Rodil R., Usobiaga A., Fernández L.A., Etxebarria N., Zuloaga O., **2010**. Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel applications, limitations and potential solutions. *Journal of Chromatography A* 1217: 2642-2666.
- Quintana J.B., Rodil R., Muniategui-Lorenzo S., López-Mahía P., Prada-Rodríguez D., **2007**. Multiresidue analysis of acidic and polar organic contamination in waters samples by stir-bar sorptive extraction-liquid desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1174: 27-39.
- Rodil R., Moeder M., **2008**. Development of a method for the determination of UV filters in water samples using stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1179: 81-88.

- Roy G., Vuillemin R., Guyomarch J., **2005**. On-site determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in seawater by stir bar sorptive extraction (SBSE) and thermal desorption GC-MS. *Talanta* 66: 540-546.
- Sánchez-Avila J., Quintana J., Ventura F., Tauler R., Duarte C.M., Lacorte S., **2010**. Stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry: An effective tool for determining persistent organic pollutants and nonylphenol in coastal waters in compliance with existing Directives. *Marine Pollution Bulletin* 60: 103-112.
- Sahu S.K., Pandit G.G., **2003**. Estimation of octanol-water partition coefficients for polycyclic aromatic hydrocarbons using reverse-phase HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 26: 135-146.
- Serôdio P., Nogueira J.M.F., **2004**. Multi-residue screening of endocrine disrupters chemicals in water samples by stir bar sorptive extraction-liquid desorption-capillary gas chromatography-mass spectrometry detection. *Analytica Chimica Acta* 517: 21-32.
- Singer M.M., Aurand D., Bragin G.E., Clarks J.R., Coelho G.M., Sowby M.L., Tjeerdema R.S., **2000**. Standardization of the preparation and quantitation of water-accommodated fractions of petroleum for toxicity testing. *Marine Pollution Bulletin* 40: 1007-1016.
- Tandlich R., Balaz S., **2002**. Biphenyl behavior in octanol-water system, Prepr. Ext. Abstr., ACS Natl. Meeting, *ACS Division of Environmental Chemistry* 42: 33-38.
- Wang Z., Fingas M., Page D.S., **1999**. Oil spill identification. *Journal of Chromatography A* 843: 369-411.
- Valavanidis A., Vlachogianni Th., Triantafillaki S., Dassenakis M., Androutsos F., Scoullou M., **2008**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface seawater and in indigenous mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from coastal areas of the Saronikos Gulf (Greece). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 79: 733-739.
- Yu C., Hu B., **2009**. Sol-gel polydimethylsiloxane/poly(vinylalcohol)-coated stir bar sorptive extraction of organophosphorus pesticides in honey and their determination by large volume injection GC. *Journal of Separation Science* 32: 147-153.
- Yu C., Yao Z., Hu B., **2009**. Preparation of polydimethylsiloxane/ β cyclodextrin/divinylbenzene coated dumbbell-shaped stir bar and its application to the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic sulfur heterocycles compounds in lake water and soil by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 641: 75-82.
- Zuin V.G., Montero L., Bauer C., Popp P., **2005**. Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. *Journal of Chromatography A* 1091: 2-10.

Publication n°4 : Quantification des hydrocarbures aromatiques polycycliques et de leurs dérivés alkylés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS-MS) pour qualifier un pétrole de référence.

Résumé

Lors des pollutions faisant suite à un déversement accidentel de pétrole, les hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés ou non (HAP et HAPS) sont connus pour leurs effets néfastes sur l'environnement à l'instar de leurs homologues substitués. Par conséquent, il est nécessaire de développer des méthodes d'analyse permettant de les identifier et de les quantifier, et ceci, pour des matrices complexes comme celle de l'eau de mer qui montre à l'analyse des amas de pics. En effet, les alkylés des HAP et HAPS se présentent sous la forme d'amas de pics qui se complexifient avec le degré de ramifications et le nombre de noyaux aromatiques. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS-MS), si elle se révèle particulièrement adaptée car elle apporte un degré de sélectivité supplémentaire, n'en reste pas moins une technique délicate à mettre en œuvre, notamment lorsque les alkylés sont non disponibles dans des solutions de calibration commerciales. Une solution alternative, apparaissant comme très prometteuse, est de choisir un fioul de référence contenant l'ensemble des analytes d'intérêt puis de les quantifier grâce à plusieurs solutions de calibration disponibles au laboratoire. Pour les composés non calibrés, des approximations ont été effectuées par MS simple après analyse comparée des coefficients de réponse en mode MRM et SIM. La méthodologie ainsi développée a permis de caractériser le fioul de l'Erika avec une bonne répétabilité des résultats et de bonnes limites de détection et de quantification ($0,01 < LD < 0,1$ ng/mL et $0,1 < LQ < 0,5$ ng/mL). Ce produit servira donc de référence en routine pour l'analyse quantitative de l'ensemble des familles d'alkylés identifiés dans ce travail.

Amop 2012, Vancouver

Quantification of polycyclic aromatic compounds (PACs), and alkylated derivatives by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS-MS) to qualify a reference oil.

Rami Kanan ^(1,2*), Jan T. Andersson, ⁽³⁾ Justine Receveur ⁽¹⁾, Julien Guyomarch ⁽¹⁾, Stéphane Le Floch ⁽¹⁾ and Hélène Budzinski ⁽²⁾

⁽¹⁾ Cedre-715, Rue Alain Colas/CS 41836-29218 Brest Cedex2, France

⁽²⁾ University of Bordeaux1- EPOC-LPTC-351, cours de la Libération 33405 Talence Cedex, France

⁽³⁾ Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Muenster, Corrensstrasse 30, D-48149 Muenster, Germany

r.kanan@epoc.u-bordeaux1.fr

Abstract

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are organic compounds listed as priority pollutants by international environmental protection agencies due to their carcinogenic, mutagenic, and toxic effects. Several studies have indicated that some polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs) are also carcinogenic and/or mutagenic. Gas chromatography-tandem-mass spectrometry (GC-MS-MS) has been used in the analysis of PAHs in complex matrices. However, no GC-MS-MS studies have focused on the determination of PAHs and PASHs. Moreover, previous MS-MS studies were not targeted toward alkylated derivatives, which are significant contributors in the composition of crude oils. In the present work, a simple methodology has been developed for the analysis of PAHs, PASHs and alkylated derivatives in the Erika fuel oil using solid-phase extraction (SPE) coupled to gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS-MS). The LOD and LOQ of the method range between 0.01 and 0.1 ng/mL and between 0.1 and 0.5 ng/mL, respectively. The calibration curves showed a good linearity for most of the compounds.

Keywords: Alkylated derivatives, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), Polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs), Tandem mass spectrometry.

1. Introduction

Each case of spill entails a series of questions as regards the potential toxicity of the oil, and generally preliminary information is provided by the quantification of the 16 PAHs of the US EPA list. Like PAHs, some of their analogues, such as polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs), are also mutagenic and carcinogenic (Andersson and Schmid, 1995; Mössner and Wise, 1999). However, when dealing with petrogenic products, the parents (PAHs and PASHs) are less abundant than their alkylated analogues, whereas their effect on the environment is liable to be similar. Moreover, oils remaining at the sea or water surface are affected by weathering process such as emulsification, natural dispersion, evaporation, and especially dissolution. Even if solubility decreases as the number of alkyl substituent carbons increases, the resulting water soluble fractions are strongly dominated by alkylated compounds. Finally, contamination of the fauna, either due to dispersed oil droplets or dissolved contaminants, is also liable to predominantly come from these compounds.

The quantification of alkylated homologous groups in GC-MS has generally been performed using the response factor of the respective unsubstituted compounds (Burkhardt *et al.*, 2005). However, new techniques such as GC-MS-MS, useful to get a more reliable chromatogram of these complex groups of peaks, can deal with very different transitions from one compound to the other, and this kind of approximation can no longer be used. On the other hand, only few alkylated analogues can be obtained from commercial solutions (Burkhardt *et al.*, 2005), hence the necessity of using a petroleum product containing the whole profiles of alkylated homologous groups and their corresponding parents (PAHs and PASHs), and completely characterized in order to represent a reliable reference. Thus, this paper describes a method for the determination of PAHs, PASHs and alkylated homologous groups in the Erika oil, using purification with solid-phase extraction (SPE) and GC-MS-MS detection.

2. Experimental Set-up

2.1. Standards and Reagents

The solutions were prepared from certified reference materials purchased from LGC Standards (Molsheim, France): CUS 9305, which contains nineteen PAHs and two PASHs at a concentration of 100 µg/mL in methanol, and CUS 9207, which contains the corresponding internal standards: naphthalene-d₈, biphenyl-d₁₀, phenanthrene-d₁₀, chrysene-

d_{12} and benzo[*a*]pyrene- d_{12} at a concentration of 1 $\mu\text{g/mL}$ in acetone. A solution containing eighteen alkylated PAHs (SRM 1491a) at concentrations in the range 1-2 $\mu\text{g/mL}$ in toluene was purchased from NIST (Gaithersburg, MD, USA). In addition, six PASHs and eight alkylated derivatives were synthesized in one of our laboratories (Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, 2012) and prepared at a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$ in methanol. A mixture of standard solutions containing all analytes was prepared in dichloromethane. Compound names and abbreviations mentioned in this study are summarized in Table 1. A batch of the oil that was loaded inside the tanker Erika was sent to Cedre by the refinery and received on the 12th of December 1999. Pentane (95%), dichloromethane and acetonitrile (HPLC quality) were purchased from SDS (Peypin, France).

2.2. Purification of the oil sample

The purification of the oil sample is performed by solid phase extraction (SPE). The cartridges used are polar columns Si/CN-S-1.5G/9 Upti-clean SPE[®] manufactured by the company Interchim (Montlucon, France). The cartridge was conditioned with a mixture of pentane/dichloromethane (80/20, v/v) and compounds were eluted using 5 mL of pentane/dichloromethane (80/20, v/v) as mobile phase. The elution is accelerated through a vacuum pump. The extract obtained is then concentrated using an evaporator Büchi Syncore (Lille, France).

2.3. Instrumentation and GC-MS-MS conditions

The analysis of compounds was achieved using a 7890A Agilent GC system coupled to an Agilent 7000A Triple quadrupole (Agilent Technologies, Santa Clara, California). Splitless injections of 1 μL of the sample were carried out. The injector temperature was kept at 300 °C. Chromatographic separations were performed using a fused-silica HP-5MS capillary column (length 30 m, i.d. 0.25 mm, film thickness 0.25 μm ; J&W Scientific, Agilent, Folsom, CA, USA). Helium was used as carrier gas at a flow of 1 mL/min. The oven program of temperature was: from 50 °C (1 min) to 150 °C at 10 °C/min, and then to 320 °C (5 min) at 5 °C/min. The temperatures of the transfer line and ion source were 300 and 280 °C, respectively. Electron ionization (EI) was operated at 70 eV. Compounds were detected and quantified by monitoring two specific transitions. Table 2 gives the monitored transitions for each compound.

3. Resultats and discussion

3.1. Identification of compounds

The analysis in Scan and SIM (Selected Ion Monitoring) modes of different solutions of PAHs and PASHs and their corresponding alkylated, coupled with a literature research (Wang *et al.*, 2007), allowed the identification of each compound and confirmation of its retention time (Table 1).

Table 1
Identification of compounds.

Number	CAS number	Compound name	Abbreviation	Rt (min)
1	[1146-65-2]	<i>Naphthalene-d₈</i>	<i>N-d₈</i>	9.17
2	[91-20-3]	Naphthalene	N	9.22
3	[95-15-8]	Benzo[<i>b</i>]thiophene	B[<i>b</i>]T	9.34
4	[91-57-6]	2-Methylnaphthalene	2-MN	10.80
5	[1195-14-8]	2-Methylbenzothiophene	2-MBT	10.82
6	[14315-14-1]	5-Methylbenzothiophene	5-MBT	10.93
7	[90-12-0]	1-Methylnaphthalene	1-MN	11.05
8	[1486-01-7]	<i>Biphenyl-d₁₀</i>	<i>B-d₁₀</i>	11.92
9	[92-52-4]	Biphenyl	B	11.98
10	[581-42-0]	2,6-Dimethylnaphthalene	2,6-DMN	12.36
11	[2404-87-7]	3-Phenylthiophene	3-PhenylT	12.48
12	[575-43-9]	1,6-Dimethylnaphthalene	1,6-DMN	12.65
13	[208-96-8]	Acenaphthylene	Acy	13.09
14	[573-98-8]	1,2-Dimethylnaphthalene	1,2-DMN	13.15
15	[83-32-9]	Acenaphthene	Ace	13.63
16	[86-73-7]	Fluorene	F	15.26
17	[1517-22-2]	<i>Phenanthrene-d₁₀</i>	<i>Phe-d₁₀</i>	18.66
18	[132-65-0]	Dibenzo[<i>b,d</i>]thiophene	DB[<i>b,d</i>]T	18.25
19	[85-01-8]	Phenanthrene	Phe	18.74
20	[120-12-7]	Anthracene	Ant	18.92
21	[268-77-9]	Naphtho[2,3- <i>b</i>]thiophene	N[2,3- <i>b</i>]T	19.23
22	[31317-07-4]	4-Methyldibenzothiophene	4-MDBT	20.07
23	[20928--02-3]	2-Methyldibenzothiophene	2-MDBT	20.41
24	[832-71-3]	3-Methylphenanthrene	3-MPhe	20.8
25	[2531-84-2]	2-Methylphenanthrene	2-MPhe	20.91
26	[613-12-7]	2-Methylanthracene	2-MAnt	21.07
27	[883-20-5]	9-Methylphenanthrene	9-MPhe	21.25
28	[832-69-9]	1-Methylphenanthrene	1-MPhe	21.36
29	[1207-12-1]	4,6-Dimethyldibenzothiophene	4,6-DMDBT	21.89
30	[31317-19-8]	2,7-Dimethyldibenzothiophene	2,7-DMDBT	22.60
31	[483-87-4]	1,7-Dimethylphenanthrene	1,7-DMPhe	23.51
32	[206-44-0]	Fluoranthene	Fluo	23.76
33	[129-00-0]	Pyrene	Pyr	24.68
34	[132034-91-4]	4,6-Diethyldibenzothiophene	4,6-DEDBT	24.95
35	[31317-09-6]	2,4,6,8-Tetramethyldibenzothiophene	2,4,6,8-TMDBT	25.87
36-37	[25889-60-5]/[1706-01-0]	1/3-Methylfluoranthene	1/3-MFluo	26.32
38	[483-65-8]	Retene	R	26.44

39	[3353-12-6]	4-Methylpyrene	4-MPyr	27.15
40	[2381-21-7]	1-Methylpyrene	1-MPyr	27.28
41	[239-35-0]	Benzo[<i>b</i>]naphtho[2,1- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	29.12
42	[205-43-6]	Benzo[<i>b</i>]naphtho[1,2- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	29.52
43	[1719-03-5]	<i>Chrysene-d</i> ₁₂	<i>Chry-d</i> ₁₂	30.22
44	[56-55-3]	Benzo[<i>a</i>]anthracene	B[<i>a</i>]Ant	30.27
45	[218-01-9]	Chrysene	Chry	30.39
46	[3351-31-3]	3-Methylchrysene	3-MChry	32.20
47	[1705-85-7]	6-Methylchrysene	6-MChry	32.53
48	[17164-77-1]	2-(2-Naphthyl)benzothiophene	2-(2-Naphtyl)BT	33.35
49	[63466-71-7]	<i>Benzo[a]pyrene-d</i> ₁₂	<i>B[a]Pyr-d</i> ₁₂	36.03
50-51	[205-99-2]+[207-08-9]	Benzo[<i>b+k</i>]fluoranthene	B[<i>b+k</i>]Fluo	34.94
52	[192-97-2]	Benzo[<i>e</i>]pyrene	B[<i>e</i>]Pyr	35.93
53	[50-32-8]	Benzo[<i>a</i>]pyrene	B[<i>a</i>]Pyr	36.11
54	[198-55-0]	Perylene	P	36.45
55	[201-96-4]	Benzo[<i>b</i>]phenanthro[9,10- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	39.44
56	[193-39-5]	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene	I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr	40.22
57	[53-70-3]	Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracene	DB[<i>a,h</i>]Ant	40.38
58	[191-24-2]	Benzo[<i>ghi</i>]perylene	B[<i>ghi</i>]P	41.02

Internal standards used as surrogates in *italic*. CAS: chemical abstracts service registry number.

As regards alkylated compounds, not available in the standards solutions, the analysis of an oil Erika in SCAN and SIM mode allowed the identification of characteristic profiles for each alkylated homologue group.

3.2. Selection of MS-MS transitions

Full scan mass spectra for all of the compounds showed basically the molecular ion, with little fragmentation. Thus, the molecular ions were selected as the precursor ions for the development of the multiple reaction monitoring (MRM) method. Then, product ion spectra were acquired by collision induced dissociation (CID) with helium gas. Collision energies (CEs) from 5 to 50 eV were applied and the most intense product ions were selected for each precursor. In general, the collision energy (CE) that gave the most intense response was chosen for each MRM transition. For example, the transitions *m/z* 184-152 and 184-139 at CE 20 eV for the DB[*b,d*]T were selected (Fig. 1). In most cases, the losses from the molecular ion of one, two or three hydrogen atoms were chosen as the quantitative and /or confirmative transitions for the determination of compounds with improved selectivity and sensitivity.

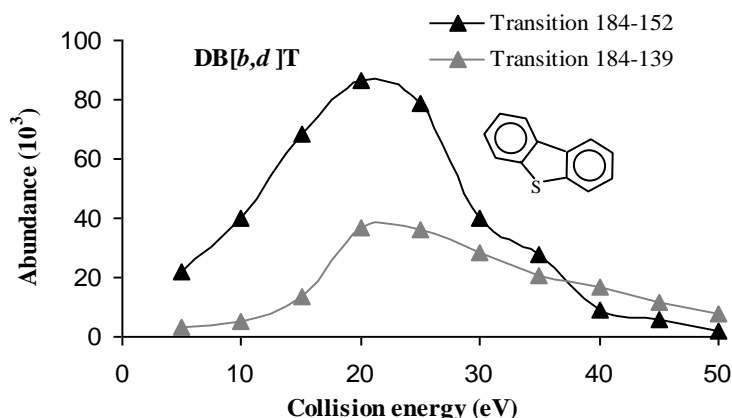


Fig. 1. Abundance of quantitative and qualitative transitions according to the collision energies (eV) for the dibenzo[b,d]thiophene.

In some cases, for example, 4-methylpyrene and 1-methylpyrene, the molecular ion was selected as the quantitative transition due to the lack of other suitable ions. For the deuterated internal standards, the chosen transitions are parent ion-parent ion, at collision energy 0 eV. These conditions have been verified experimentally in the case of matrices loaded by injection of extracts of biological tissues spiked with deuterated internal standards which were not affected by the presence of interfering compounds. The MS-MS parameters for determination of the target compounds are summarised in Table 2.

Table 2

Selection of the main parameters for the GC-MS-MS analysis of PACs.

Compounds	Precursor ion (m/z)	Product ion-quantifier (Q) (m/z)	Product ion-qualifier (q) (m/z)	Collision energy Q/q (ev)
N	128	102	127	20/20
2-MN	142	141	115	20/20
1-MN	142	141	115	20/20
B[b]T	134	89	108	25/25
2-MBT	148	147	115	40/40
5-MBT	148	147	115	40/40
3-PhenylT	160	115	128	30/30
2,6-DMN	156	141	115	25/25
1,6-DMN	156	141	115	25/25
1,2-DMN	156	141	115	25/25
B	154	152	153	35/35
Acy	152	151	150	25/25
Ace	154	152	153	35/35
F	166	165	164	40/40
DB[b,d]T	184	152	139	20/20
N[2,3-b]T	184	152	139	20/20
4-MDBT	198	197	165	30/25
2-MDBT	198	197	165	30/25

4,6-DMDBT	212	211	197	30/25
2,7-DMDBT	212	211	197	30/25
4,6-DEDBT	240	239	225	35/35
2,4,6,8-TMDBT	240	239	225	35/35
Phe	178	176	152	40/15
Ant	178	176	152	40/15
3-MPhe	192	191	189	30/30
2-MPhe	192	191	189	30/30
2-MAnt	192	191	189	30/30
9-MPhe	192	191	189	30/30
1-MPhe	192	191	189	30/30
1,7-DMPhe	206	191	205	20/20
R	234	219	205	15/15
Fluo	202	201	200	20/20
Pyr	202	201	200	20/20
1/3-MFluo	216	216	215	0/20
4-MPyr	216	216	215	0/20
1-MPyr	216	216	215	0/20
B[a]Ant	228	226	227	30/30
Chry	228	226	227	30/30
3-MChry	242	241	239	30/30
6-MChry	242	241	239	30/30
B[b]N[2,1-d]T	234	202	189	25/25
B[b]N[1,2-d]T	234	202	189	25/25
2-(2-Naphthyl)BT	260	258	215	20/20
B[b]Fluo	252	250	251	25/25
B[k]Fluo	252	250	251	25/25
B[e]Pyr	252	250	251	25/25
B[a]Pyr	252	250	251	25/25
P	252	250	251	25/25
B[b]ph[9,10-d]T	284	282	252	20/20
I[1,2,3-cd]Pyr	276	274	275	35/35
DB[a,h]Ant	278	276	277	25/25
B[ghi]P	276	274	275	35/35

3.3. Limits of detection, limits of quantification and linearity

Calibration curves were calculated using linear regression on seven concentrations (1, 5, 10, 50, 100, 500 and 1000 ng/mL). Good correlation coefficients were obtained for the most of the target compounds, however calibration curves for some of compounds were not linear ($R^2 < 0.960$). The limits of detection and quantification were calculated according to the calibration curve method (Kanan *et al.*, 2012) and values for each compound examined are shown in Table 3.

Table 3

Correlation coefficients (R^2), limits of detection and quantification (LOD and LOQ) obtained for the compounds studied.

Compounds	(R^2)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
N	0.972	0.003	0.01
2-MN	0.977	0.004	0.01
1-MN	0.977	0.004	0.01
B[b]T	0.973	0.004	0.01
2-MBT	0.979	0.01	0.02
5-MBT	0.968	0.01	0.02
3-PhenylT	0.990	0.01	0.02
2,6-DMN	0.977	0.01	0.02
1,6-DMN	0.976	0.01	0.02
1,2-DMN	0.976	0.01	0.02
B	0.994	0.003	0.01
Acy	0.987	0.01	0.02
Ace	0.993	0.004	0.01
F	0.984	0.01	0.02
DB[b,d]T	0.985	0.003	0.01
N[2,3-b]T	0.983	0.004	0.01
4-MDBT	0.980	0.004	0.01
2-MDBT	0.974	0.01	0.02
4,6-DMDBT	0.971	0.01	0.02
2,7-DMDBT	0.965	0.01	0.02
4,6-DEDBT	0.942	0.01	0.02
2,4,6,8-TMDBT	0.967	0.01	0.02
Phe	0.977	0.003	0.01
Ant	0.955	0.01	0.02
3-MPhe	0.962	0.01	0.02
2-MPhe	0.977	0.01	0.02
2-MAnt	0.965	0.01	0.02
9-MPhe	0.972	0.01	0.02
1-MPhe	0.985	0.004	0.01
1,7-DMPhe	0.970	0.01	0.02
R	0.970	0.01	0.02
Fluo	0.972	0.01	0.02
Pyr	0.967	0.01	0.02
1/3-MFluo	0.976	0.01	0.02
4-MPyr	0.970	0.01	0.02
1-MPyr	0.979	0.01	0.02
B[a]Ant	0.986	0.01	0.04
Chry	0.989	0.01	0.04
3-MChry	0.974	0.01	0.04
6-MChry	0.981	0.01	0.03
B[b]N[2,1-d]T	0.990	0.003	0.01
B[b]N[1,2-d]T	0.992	0.01	0.02
2-(2-Naphthyl)BT	0.967	0.01	0.04
B[b]Fluo	0.950	0.03	0.10
B[k]Fluo	0.953	0.03	0.09
B[e]Pyr	0.956	0.03	0.10
B[a]Pyr	0.980	0.01	0.05

P	0.957	0.03	0.09
B[b]ph[9,10-d]T	0.950	0.03	0.09
I[1,2,3-cd]Pyr	0.930	0.04	0.12
DB[a,h]Ant	0.945	0.03	0.11
B[ghi]P	0.954	0.02	0.08

From the calibration curves, quantification of all individual compounds was performed on Erika oil with five repetitions. This first characterization of the oil was used to check the variability of quantitative analysis for compounds well identified, and thus confirm the possibility of using this oil as reference product.

3.4. Analysis of response factors and definition of the method

For the use of a reference oil, it should determine the concentration of alkylated derivatives. However, these alkylated compounds are difficult to quantify. Indeed, only a few of alkylated isomers are present in the standards solutions (Burkhardt *et al.*, 2005).

The quantification of alkylated derivatives in GC-MS has generally been performed with the approximation that response factors for alkylated compounds are equal to the response factor of the respective unsubstituted (parent) compound (Burkhardt *et al.*, 2005). However, if this approximation might seem reasonable when considering only the molecular ion after a simple fragmentation, this estimate seemed more uncertain in case of the analysis by GC-MS-MS. To assess the reliability of the analysis by GC-MS and the applicability to the MS-MS, a comparison of response factors was conducted.

The study of the response factors of individual compounds in MRM mode showed that the response factors of the alkylated compounds are very different from those of parent compounds (Fig. 2). Therefore, it is not possible to quantify the alkylated homologous groups using the response factors of their appropriate parents.

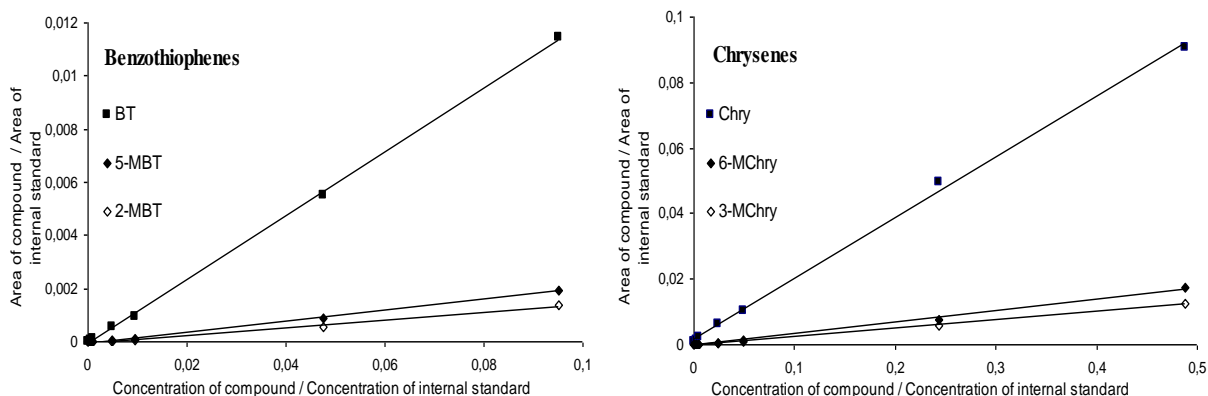


Fig. 2. Calibration curves of benzothiophenes and chrysenes in MRM mode.

A comparison of response factors of the isomers within the same homologue group was conducted, and generally no significant differences were observed between the response factors of isomers belonging to the same group (Fig. 3). Thus, in the case of groups for which some alkylated isomers are available in standard solutions, the hypothesis to apply the average response factors to quantify all the isomers of each group of alkylated compounds is possible (Palanas *et al.*, 2006). As an example, for C₁-benzothiophenes, the average response factors of two calibrated isomers (2-MBT and 5-MBT) were used to quantify the whole profile of C₁-benzothiophenes.

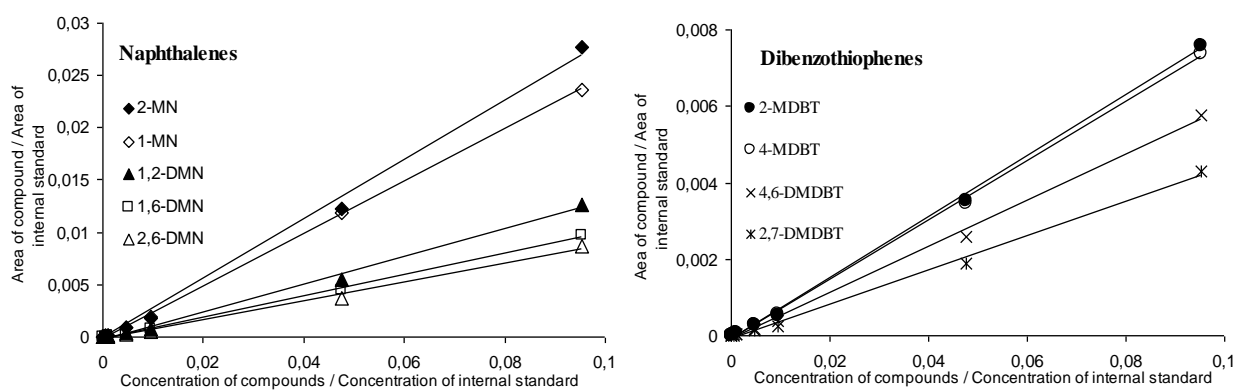


Fig. 3. Calibration curves of naphthalenes and dibenzothiophenes in MRM mode.

An additional study was conducted to better understand the possibilities to quantify the other groups for which we do not have any alkylated isomer (for example, this is the case of C₃-phe/Ant, C₃- and C₄-naphthalenes). Fig. 4. shows the response factors of the alkylated derivatives obtained in MRM and SIM modes.

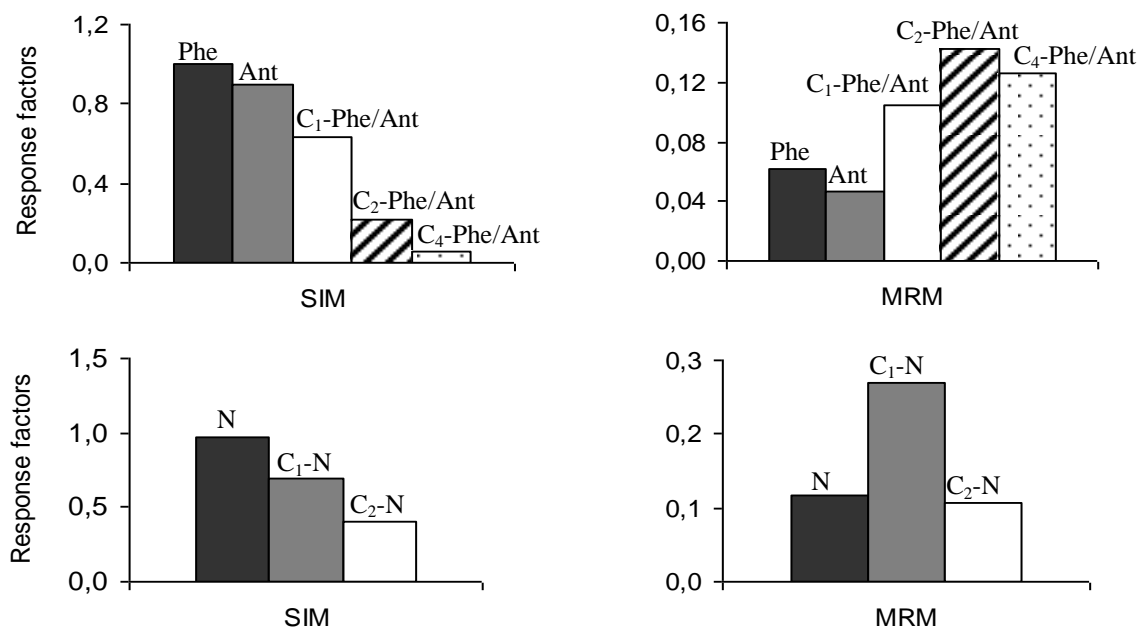


Fig. 4. Comparison of the response factors of the groups of phenanthrenes/anthracenes and naphthalenes in SIM and MRM modes.

In MRM mode, the selected transitions for each compound are not all based on the same mass loss. For example, for the C₁-Phe/Ant, the transition is 192-191 (molecular mass-1) while for the C₄-Phe/Ant, the transition 234-219 (molecular mass-15) was chosen. Thus, unlike the SIM mode, where we consider only the molecular ions, the MRM analysis showed no changes in the response factors related to the number of alkyl substituent carbons, especially when the mass loss of transitions were different.

Thus, the groups, for which alkylated isomers are not available in standard solutions, were quantified in SIM mode. The groups (C₂-, C₃- and C₄-benzothiophenes, C₃-, C₄-naphthalenes, C₂-, C₃-fluoranthenes/pyrenes, C₂- and C₃-chrysenes), were quantified using the average response factors obtained from methylbenzothiophenes, dimethynaphthalenes, methylpyrenes and methylchrysenes, respectively. The average response factors of dimethyldibenzothiophenes (C₂-DBT) and tetramethyldibenzothiophene (C₄-DBT) were used for quantification of C₃-DBT. The average response factors of 1,7-dimethylphenanthrene (C₂-phe/Ant) and retene (C₄-phe/Ant) were used for quantification of C₃-Phe/Ant.

In the case of fluorene, no alkylated compounds were available in the standards solutions. An estimation of response factor was carried out by considering the ratios between the response factors of the parents and their C₁ alkylated homologues for each PACs group. This study showed that this ratio lies between 0.4 and 0.6 (Fig. 5.). So the response factor of C₁-fluorenes is estimated at the half of the response factor of the appropriate parent. The higher alkylated derivatives (C₂- and C₃-fluorenes) were quantified using the same response factor.

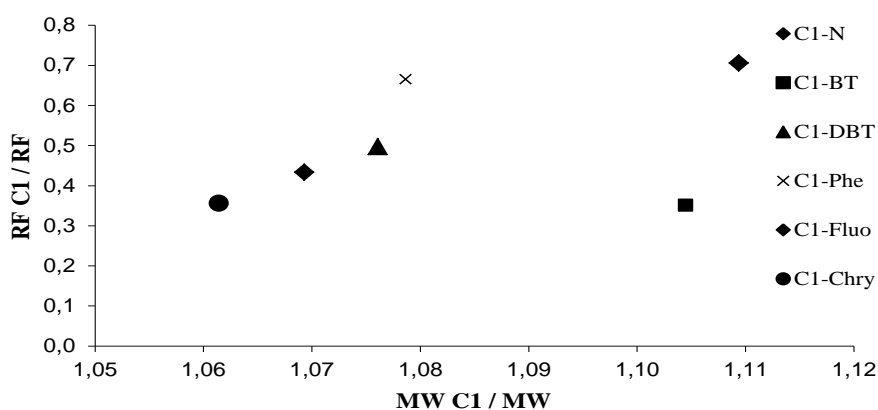


Fig. 5. Estimation of the response factor of C₁-fluorenes. (RF C₁/RF: response factors of C₁ alkylated homologues/response factors of the appropriate parents. MW C₁/MW: Molecular weight of C₁ alkylated homologues/molecular weight of the appropriate parents).

3.5. Validation of the Erika oil

The analysis of the response factors made it possible to define, for each group of alkylated compounds, a quantification method adapted to the number of compounds present in the calibration solutions. The proposed method (SPE-GC-MS-MS) was then applied to analysis the Erika fuel oil, which provides a reference product containing all the compounds that can be quantified in any sample of oil or contaminated with a petroleum product. To verify the relevance of this reference in routine analysis, 5 repetitions, with five sample preparations, were performed during this characterization to estimate the variability of the measurements (Fig. 6). Table 4 presents the quantifications of all families analyzed, and the associated relative standard deviations, which range from 5 to 10% in almost all cases.

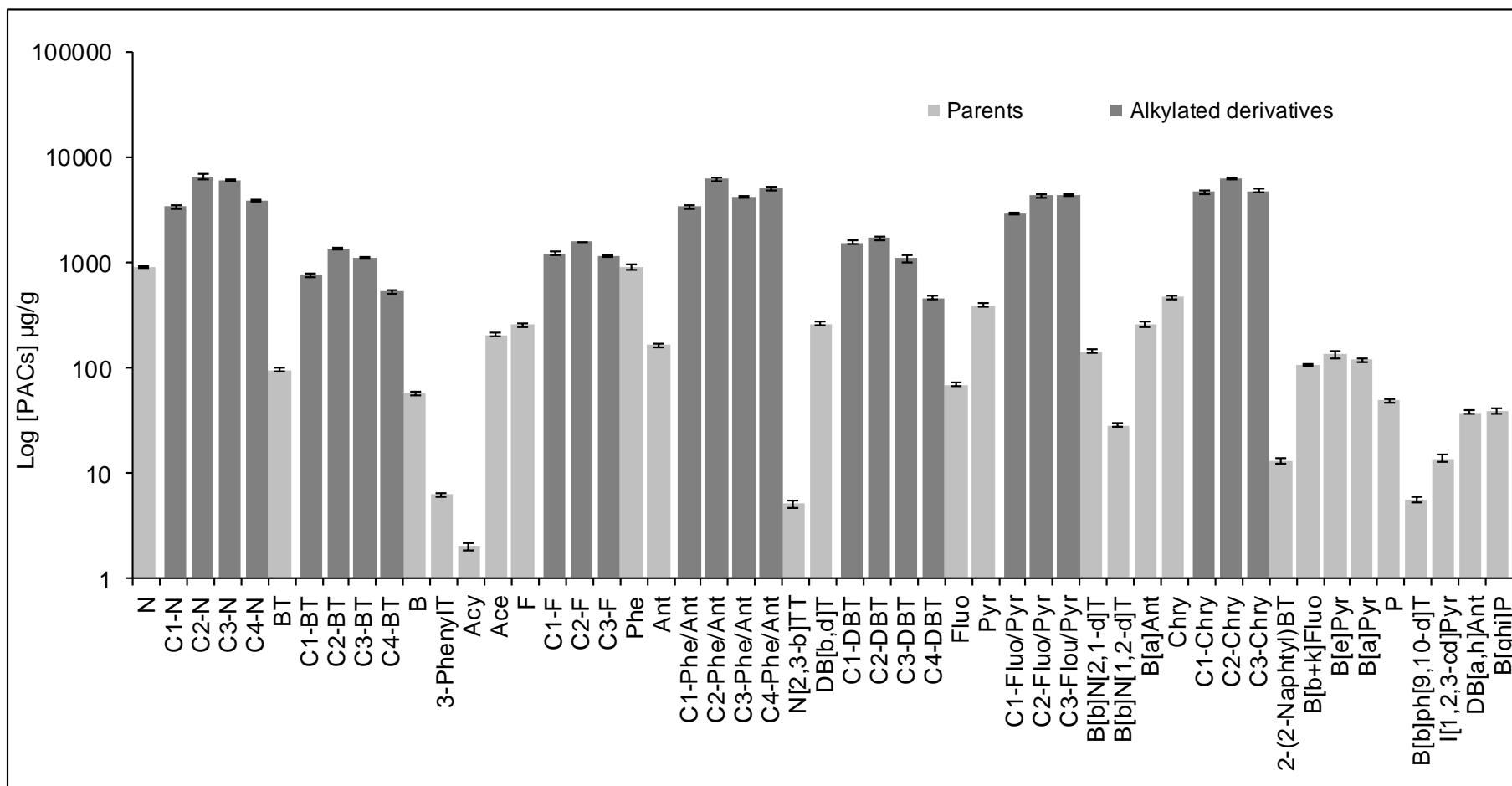


Fig. 6. Distribution of compounds in the Erika oil (µg/g).

Table 4
Concentration of PACs and alkylated derivatives in the Erika oil.

Compounds	[PACs] (µg/g)	R.S.D. (%) <i>n</i> = 5	Compounds	[PACs] (µg/g)	R.S.D. (%) <i>n</i> = 5
N	908.15	9.9	C ₁ -DBT	1552.98	8.5
C ₁ -N	3416.27	7.5	C ₂ -DBT	1725.95	10.3
C ₂ -N	6664.10	11.5	C ₃ -DBT	1090.29	8.3
C ₃ -N	6109.93	7.6	C ₄ -DBT	464.36	7.9
C ₄ -N	3906.80	6.9	Fluo	68.94	10.9
B[<i>b</i>]T	94.86	9.9	Pyr	392.94	10.0
C ₁ -BT	762.77	10.5	C ₁ -Fluo/Pyr	2943.53	7.7
C ₂ -BT	1367.60	6.4	C ₂ -Fluo/Pyr	4344.33	8.4
C ₃ -BT	1111.68	5.9	C ₃ -Fluo/Pyr	4387.36	7.5
C ₄ -BT	526.45	8.2	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	143.36	9.8
B	57.40	9.7	B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	28.21	10.5
3-PhenylT	6.14	10.1	B[<i>a</i>]Ant	259.70	10.2
Acy	1.98	14.3	Chry	467.83	12.2
Ace	203.59	9.3	C ₁ -Chry	4745.13	8.8
F	254.02	9.9	C ₂ -Chry	6367.30	6.4
C ₁ -F	1221.29	10.9	C ₃ -Chry	4825.38	9.1
C ₂ -F	1567.87	2.0	2-(2-Naphtyl)BT	12.85	12.5
C ₃ -F	1169.08	2.8	B[<i>b+k</i>]Fluo	106.46	8.8
Phe	907.48	11.9	B[<i>e</i>]Pyr	133.73	16.4
Ant	163.37	11.2	B[<i>a</i>]Pyr	118.44	10.1
C ₁ -Phe/Ant	3444.52	8.7	P	48.89	8.3
C ₂ -Phe/Ant	6239.04	8.7	B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	5.65	14.2
C ₃ -Phe/Ant	4279.82	4.0	I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr	13.74	16.4
C ₄ -Phe/Ant	5105.50	11.5	DB[<i>a,h</i>]Ant	37.42	8.6
N[2,3- <i>b</i>]T	5.06	16.9	B[<i>ghi</i>]P	38.63	15.7
DB[<i>b,d</i>]T	261.15	7.5			

R.S.D.: Relative standard deviation.

4. Conclusions

The results of this study showed that it was reasonable to quantify in MRM mode the alkylated PACs homologues group for which we have some of alkylated isomers. Thus, the analysis of 53 individual compounds made it possible to quantify 10 of the 25 groups of alkylated compounds. For the other groups of alkylated compounds, approximations were made in SIM mode in view of the comparative analysis of the response factors in MRM and SIM modes. Finally, the proposed method permitted the characterization of the Erika fuel oil with a low variability of results. So this product will be used as reference in routine for the quantitative analysis of the whole groups of compounds identified in this study. Moreover, the data obtained during the various tests developed have shown the inadequacy of approximations in SIM mode. If the MS-MS now offers an attractive alternative, it remains to improve the methods of quantification in simple MS, particularly in the context of automated sample preparation such as the SBSE (Stir bar sorptive extraction) or the SPME (solid-phase microextraction) in the case of water samples (Kanan *et al.*, 2012).

5. Acknowledgement

This research was supported by a PhD grant from the Syrian government. Gilbert Le Lann, director of Cedre, is acknowledged for financial support.

6. References

- Andersson J.T., Schmid B., **1995**. Polycyclic aromatic sulphur heterocycles. IV. Determination of polycyclic aromatic compounds in a shale oil with the atomic emission detector. *Journal of Chromatography A* 693: 325-338.
- Burkhardt M.R., Zaugg S.D., Burbank T.L., Olson M.C., Iverson J.L., **2005**. Pressurized liquid extraction using water/isopropanol coupled with solid-phase extraction cleanup for semivolatile organic compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), and alkylated PAH homolog groups in sediment. *Analytica Chimica Acta* 549: 104-116.
- Institute of Inorganic and Analytical Chemistry. PASH Standard Solutions. www.pash-standards.de Accessed. 25 January, **2012**.
- Kanan R., Le Floch S., Andersson J.T., Le Menach K., Budzinski H., **2012**. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs) and alkylated derivatives from seawater using solid-phase microextraction (SPME)-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). In *Proceedings of the Thirty-Five AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response*, Environment Canada, Ottawa, June 2012.
- Mössner S.G., Wise S.A., **1999**. Determination of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in fossil fuel-related samples. *Analytical Chemistry* 71: 58-69.
- Palanas C., Puig A., Rivera J., Caixach J., **2006**. Analysis of alkyl and 2-6-ringed polycyclic aromatic hydrocarbons by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry Quality assurance and determination in Spanish River sediments. *Journal of Chromatography A* 1113: 220-230.
- Wang Z., Li K., Lambert P., Yang C., **2007**. Identification, characterization and quantitation of pyrogenic aromatic hydrocarbons and other organic compounds in tire fire products. *Journal of Chromatography A* 1139: 14-26.

Publication n° 5 : Extraction des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans l'eau de mer par la microextraction sur phase solide (SPME) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC-MS).

Résumé

Cette étude a porté sur la mise au point d'une méthodologie d'extraction et d'analyse par SPME-GC-MS pour la détermination des hydrocarbures polyaromatiques (HAP, HAPS et de nombreux dérivés alkylés) dans l'eau de mer. La validation de la méthodologie a porté sur sa linéarité, ses limites de détection et de quantification ainsi que sur sa performance pour le dosage des analytes d'intérêt effectué sur des fractions solubles (WAF) préparées au laboratoire. Pour des concentrations allant de 1 à 100 ng/L, la SPME montre une bonne linéarité. Sa sensibilité pour tous les composés étudiés est très satisfaisante. Les limites de détection sont comprises entre 0,01 et 0,1 ng/L. Les analyses des WAF en combinaison avec les solutions de calibration étendues à 51 composés ont permis de quantifier 50 composés et 23 familles d'alkylés. Les résultats obtenus lors de cette étude ont permis d'une part, de mettre en évidence les nombreux avantages de la SPME (rapide, performante et à faible coût) la faisant apparaître comme très prometteuse pour des suivis environnementaux à haute fréquence, et d'autre part d'améliorer les méthodes de quantification des familles d'alkylés en MS simple.

Amop 2012, Vancouver

Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs) and alkylated derivatives from seawater using solide-phase microextraction (SPME)-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Rami Kanan ^(1,2*), Stéphane Le Floch ⁽¹⁾, Jan T. Andersson ⁽³⁾, Karyn Le Menach ⁽²⁾ and Hélène Budzinski ⁽²⁾

⁽¹⁾ Cedre-715, Rue Alain Colas/CS 41836-29218 Brest Cedex2, France

⁽²⁾ University of Bordeaux1- EPOC-LPTC-351, cours de la Libération 33405 Talence Cedex, France

⁽³⁾ Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Muenster, Corrensstrasse 30, D-48149 Muenster, Germany

r.kanan@epoc.u-bordeaux1.fr

Abstract

Polycyclic aromatic compounds (PACs) represent a category of compounds known as highly toxic and can cause both short-and long-term effects. Therefore, it is of major interest to be able to characterize any contamination of the water column by this family of chemical compounds, both quantitatively and qualitatively. Many analytical developments have been applied to the determination of 14, 16 or 24 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in aqueous samples but no work which focuses on the analysis of a large number of dissolved PACs has been published to our knowledge. In this context, a solid-phase microextraction (SPME) coupled to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method has been applied to the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs) and alkylated derivatives from seawater. With an 8 mL sample volume the present method showed good linearity for concentrations ranging from 1 to 100 ng/L with correlation coefficients between 0.971 and 0.997. The limits of detection (LOD) are below 0.2 ng/L and ranged from 0.01 ng/L for 3-methylphenanthrene to 0.1 ng/L for naphthalene. The SPME-GC-MS procedure was applied to the analysis of PAHs, PASHs and alkylated derivatives in the water accommodated fraction (WAF) of seawater samples prepared in the laboratory from a crude oil.

Keywords: Capillary GC-MS, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PASHs), Polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs), Solid-phase microextraction (SPME).

1. Introduction

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) form a large group of environmental contaminants and some of them exhibit a carcinogenic or mutagenic potential. Some analogues of these compounds, such as polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs), are also potentially mutagenic and carcinogenic (Andersson and Schmid, 1995; MacFall *et al.*, 1984, Mössner and Wise, 1999). They were detected in several environmental samples: urban dust (Mostafa *et al.*, 2009), sediments (Brack and Schirmer, 2003), coal flue gas (Thuß *et al.*, 2000). They were also analyzed in fossil materials (Mössner and Wise, 1999; Moustafa and Andersson, 2011). Moreover, PASHs can be potential indicators of the origin and maturity of crude oils (Budzinski *et al.*, 1993; Hegazi *et al.*, 2003). In view of their importance in environmental chemistry, toxicology and organic geochemistry etc., there is increasing interest in the isolation, identification and quantification of these compounds (Becker and Colmsjö, 1998; Hegazi and Andersson, 2007; Liang *et al.*, 2006; Schade and Andersson, 2006).

The detection of polycyclic aromatic compounds PACs in aqueous samples requires very selective and sensitive methods. The classical methods for the extraction of analytes from aqueous samples are liquid-liquid extraction (LLE) and solid-phase extraction (SPE) techniques. Although these conventional extraction methods offer precise results, they are generally time-consuming and require large amounts of organic solvents.

In recent years, the introduction of solid-phase microextraction (SPME) as a rapid extraction technique by Arthur and Pawliszyn in 1990 (Arthur and Pawliszyn, 1990), has gained increasing acceptance for a wide range of applications. It is a fast, simple, inexpensive, and solvent-free extraction technique (Pawliszyn, 1997). SPME has been successfully used for the analysis of PACs in water (Cortazar *et al.*, 2002; Doong *et al.*, 2000; González *et al.*, 2007; King *et al.*, 2004; Rainawati and Balasubramanian, 2009; Popp *et al.*, 2000) but in these works only PAHs were analyzed. Thus, in this paper we propose a totally automated extraction procedure that uses SPME followed by GC-MS to determine PAHs, PASHs and alkylated derivatives in the water accommodated fraction (WAF) of seawater samples prepared in the laboratory from a crude oil.

2. Experimental set-up

2.1. Analytical Standards

Reference PAHs (eighteen compounds) and deuterated internal standards were obtained from Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (Andover, USA). A solution containing eighteen alkylated PAHs (SRM 1491a) at concentrations in the range 1-2 $\mu\text{g/mL}$ in toluene was purchased from NIST (Gaithersburg, MD, USA). In addition, eight PASHs and eight alkylated derivatives were synthesized in one of our laboratories (Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, 2012) and a solution at a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$ in methanol was prepared. A list of the investigated chemicals and relative internal standards and abbreviations for each compound is reported in Table 1.

2.2. Preparation of water accommodated fraction (WAF)

The water accommodated fraction (WAF) was prepared according to guidelines established by CROSSERF (Singer *et al.*, 2000). This experiment was conducted in order to transfer compounds from the oil to the water phase only by solubilization. The principle of this experiment was to introduce oil at the water surface of a closed flask. To avoid significant transfer to the air phase, the headspace had to be lower than 25% of the whole volume of the flask. The oil/water ratio was set at 1:100 000 (10 mg of oil for 1 L of seawater), and agitation was ensured by using a magnetic stirrer. The experimental device was set in an air-conditioned room at 21 °C for 24 h to reach the equilibrium (Fig. 1). The oil used was Erika oil. Finally, samples were collected through a tap located approximately at the bottom of the flask.

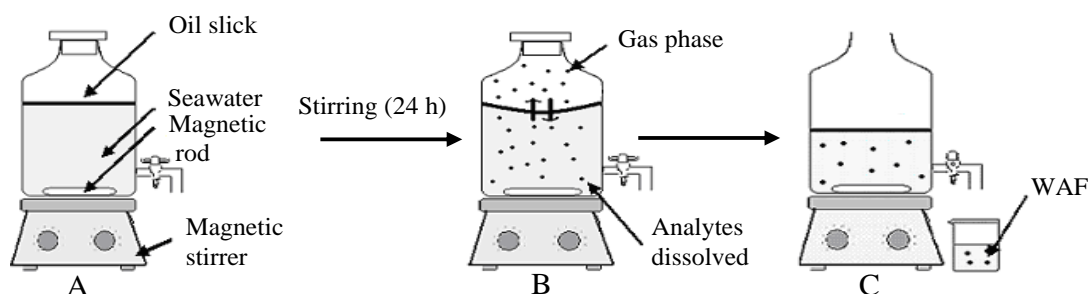


Fig. 1. Preparation of water accommodated fraction (A: Oil was poured onto the water surface, B: Agitation during 24 h, C: Sampling of the WAF).

2.3. Solid-phase microextraction procedure

The SPME polydimethylsiloxane fibers (100 μm film thickness) were obtained from Supelco (Sigma-Aldrich, South Africa). Prior to extraction, the fibers were conditioned in the injection port of the gas chromatograph for 3 h at 270 $^{\circ}\text{C}$. The entirely automated extractions were performed by a commercial auto-sampler Multipurpose Sampler (GERSTEL[®]) mounted on the GC-MS system. The SPME procedure was performed by placing 8 mL of seawater sample in 10 mL vials capped with PTFE-coated septa. The fibers were immersed into the seawater with agitation at 250 rpm for 60 min. After extraction, the fiber was thermally desorbed for 10 min into the GC-MS injector port in splitless mode at 270 $^{\circ}\text{C}$. Blank desorptions of the fiber were carried out to ensure that no contamination was present both before and during use.

2.4. Apparatus and analytical conditions

The analysis of compounds was achieved using a 7890A Agilent GC (Agilent Technologies, Santa Clara, California). Chromatographic separations were performed on a fused-silica HP-5MS capillary column (length 30 m, i.d. 0.25 mm, film thickness 0.25 μm ; J&W Scientific, Agilent, Folsom, CA, USA). Helium was used as carrier gas at a flow of 1 mL/min. The oven temperature program was: from 50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min) to 150 $^{\circ}\text{C}$ at 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, and then to 320 $^{\circ}\text{C}$ (5 min) at 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. The temperatures of the transfer line and the ion source were 300 and 280 $^{\circ}\text{C}$, respectively. Electron ionization (EI) was operated at 70 eV. Compounds were quantified in the selected ion monitoring (SIM) mode.

3. Results and discussion

3.1. Identification of compounds

The analysis in scan and SIM modes of Milli-Q water spiked by different solutions of PAHs, PASHs and their corresponding alkylated compounds allowed the identification of each compound and confirmation of its retention time (Table 1).

Table 1
Identification of compounds.

Number	Cas number	Compound name	Abbreviation	Rt (min)
1	[1146-65-2]	<i>Naphthalene-d₈</i>	<i>N-d₈</i>	8.68
2	[91-20-3]	Naphthalene	N	8.72
3	[91-57-6]	2-Methylnaphthalene	2-MN	10.32
4	[90-12-0]	1-Methylnaphthalene	1-MN	10.54

5	[95-15-8]	Benzo[<i>b</i>]thiophene	B[<i>b</i>]T	8.85
6	[1195-14-8]	2-Methylbenzothiophene	2-MBT	10.34
7	[14315-14-1]	5-Methylbenzothiophene	5-MBT	10.43
8	[2404-87-7]	3-Phenylthiophene	3-PhenylT	11.95
9	[581-42-0]	2,6-Dimethylnaphthalene	2,6-DMN	11.84
10	[575-43-9]	1,6-Dimethylnaphthalene	1,6-DMN	12.10
11	[573-98-8]	1,2-Dimethylnaphthalene	1,2-DMN	12.57
12	[93951-97-4]	Acenaphthylene- <i>d</i> ₈	Acy- <i>d</i> ₈	12.47
13	[208-96-8]	Acenaphthylene	Acy	12.51
14	[15067-26-2]	Acenaphthene- <i>d</i> ₁₀	Ace- <i>d</i> ₁₀	12.94
15	[83-32-9]	Acenaphthene	Ace	13.04
16	[81103-79-9]	Fluorene- <i>d</i> ₁₀	<i>F-d</i> ₁₀	14.40
17	[86-73-7]	Fluorene	F	14.58
18	[33262-29-2]	Dibenzothiophene- <i>d</i> ₈	DBT- <i>d</i> ₈	17.40
19	[132-65-0]	Dibenzothiophene	DB[<i>b,d</i>]T	17.47
20	[268-77-9]	Naphtho[2,3- <i>b</i>]thiophene	N[2,3- <i>b</i>]T	18.41
21	[31317-07-4]	4-Methyldibenzothiophene	4-MDBT	19.24
22	[20928-02-3]	2-Methyldibenzothiophene	2-MDBT	19.60
23	[1207-12-1]	4,6-Dimethyldibenzothiophene	4,6-DMDBT	21.01
24	[31317-19-8]	2,7-Dimethyldibenzothiophene	2,7-DMDBT	21.73
25	[132034-91-4]	4,6-Diethyldibenzothiophene	4,6-DEDBT	24.08
26	[31317-09-6]	2,4,6,8-Tetramethyldibenzothiophene	2,4,6,8-TMDBT	24.98
27	[1517-22-2]	Phenanthrene- <i>d</i> ₁₀	<i>Phe-d</i> ₁₀	17.86
28	[85-01-8]	Phenanthrene	Phe	17.95
29	[832-71-3]	3-Methylphenanthrene	3-MPhe	19.96
30	[2531-84-2]	2-Methylphenanthrene	2-MPhe	20.07
31	[883-20-5]	9-Methylphenanthrene	9-MPhe	20.41
32	[832-69-9]	1-Methylphenanthrene	1-MPhe	20.50
33	[483-87-4]	1,7-Dimethylphenanthrene	1,7-DMPhe	22.62
34	[483-65-8]	Retene	R	25.49
35	[1719-06-8]	Anthracene- <i>d</i> ₁₀	<i>Ant-d</i> ₁₀	18.05
36	[120-12-7]	Anthracene	Ant	18.12
37	[613-12-7]	2-Methylantracene	2-MAnt	20.22
38	[93951-69-0]	Fluoranthene- <i>d</i> ₁₀	<i>Fluo-d</i> ₁₀	22.79
39	[206-44-0]	Fluoranthene	Fluo	22.86
40	[25889-60-5]/[1706-01-0]	1/3-Methylfluoranthene	1/3-MFluo	25.44
41	[1718-52-1]	Pyrene- <i>d</i> ₁₀	<i>Pyr-d</i> ₁₀	23.69
42	[129-00-0]	Pyrene	Pyr	23.76
43	[3353-12-6]	4-Methylpyrene	4-MPyr	26.22
44	[2381-21-7]	1-Methylpyrene	1-MPyr	26.35
45	[1718-53-2]	Benzo[<i>a</i>]anthracene- <i>d</i> ₁₂	B[<i>a</i>]Ant- <i>d</i> ₁₂	29.17
46	[56-55-3]	Benzo[<i>a</i>]anthracene	B[<i>a</i>]Ant	29.25
47	[1719-03-5]	Chrysene- <i>d</i> ₁₂	<i>Chry-d</i> ₁₂	29.32
48	[218-01-9]	Chrysene	Chry	29.42
49	[3351-31-3]	3-Methylchrysene	3-MChry	31.21
50	[1705-85-7]	6-Methylchrysene	6-MChry	31.57
51	[239-35-0]	Benzo[<i>b</i>]naphtho[2,1- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	28.15
52	[205-43-6]	Benzo[<i>b</i>]naphtho[1,2- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	28.57
53	[17164-77-1]	2-(2-Naphthyl)benzothiophene	2-(2-Naphthyl)BT	32.39
54	[93951-98-5]	Benzo[<i>b</i>]fluoranthene- <i>d</i> ₁₂	B[<i>b</i>]Fluo- <i>d</i> ₁₂	33.80
55	[205-99-2]	Benzo[<i>b</i>]fluoranthene	B[<i>b</i>]Fluo	33.83
56	[93952-01-3]	Benzo[<i>k</i>]fluoranthene- <i>d</i> ₁₂	B[<i>k</i>]Fluo- <i>d</i> ₁₂	33.90
57	[207-08-9]	Benzo[<i>k</i>]fluoranthene	B[<i>k</i>]Fluo	33.92
58	[205440-82-0]	Benzo[<i>e</i>]pyrene- <i>d</i> ₁₂	B[<i>e</i>]Pyr- <i>d</i> ₁₂	34.83

59	[192-97-2]	Benzo[<i>e</i>]pyrene	B[<i>e</i>]Pyr	34.93
60	[63466-71-7]	Benzo[<i>a</i>]pyrene- <i>d</i> ₁₂	B[<i>a</i>]Pyr- <i>d</i> ₁₂	35.03
61	[50-32-8]	Benzo[<i>a</i>]pyrene	B[<i>a</i>]Pyr	35.10
62	[1520-96-3]	Perylene- <i>d</i> ₁₂	P- <i>d</i> ₁₂	35.35
63	[198-55-0]	Perylene	P	35.44
64	[201-96-4]	Benzo[<i>b</i>]phenanthro[9,10- <i>d</i>]thiophene	B[<i>b</i>]ph[9,10- <i>d</i>]T	38.46
65	[203578-33-0]	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene- <i>d</i> ₁₂	I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr- <i>d</i> ₁₂	39.11
66	[193-39-5]	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene	I[1,2,3- <i>cd</i>]Pyr	39.13
67	[93951-66-7]	Benzo[<i>ghi</i>]perylene- <i>d</i> ₁₂	B[<i>ghi</i>]P- <i>d</i> ₁₂	39.90
68	[191-24-2]	Benzo[<i>ghi</i>]perylene	B[<i>ghi</i>]P	39.94
69	[13250-98-1]	Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracene- <i>d</i> ₁₄	DB[<i>a,h</i>]Ant- <i>d</i> ₁₄	39.26
70	[53-70-3]	Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracene	DB[<i>a,h</i>]Ant	39.36

Surrogates used for quantification in *italic*, corresponding quantified compounds below.

CAS: chemical abstract service registry number.

Rt: Retention time.

3.2. Calibration and SPME method validation

3.2.1. Calibration curves and linearity

An internal calibration procedure was carried out for the quantification of the targets compounds. The objective was to establish the calibration curve and calculate the limits of detection and quantification of each compound studied. The linearity of the method was evaluated at five levels of concentration (1, 5, 10, 50 and 100 ng/L), by extracting spiked Milli-Q water samples, and $k = 3$ replicates per level were performed. The concentration of internal standard was constant and equal to 80 ng/L for each level of concentration. Fifteen pairs (x_i, y_i) of observations of two quantitative variables X and Y for each compound were obtained, where: $X = \text{area of compound/area of internal standard (A/A}_d)$ and $Y = \text{concentration of compounds/concentration of internal standard (C/C}_d)$. Thus, the chromatograms obtained from five levels of calibration are quantified to plot the calibration curves using the following equation:

$$A/A_d = f(C/C_d) \quad (1)$$

The naphtho[2,3-*b*]thiophene was taken as an example to illustrate this study. The area ratio for this compound is calculated with respect to its internal standard, phenanthrene-*d*₁₀. A linear model, with good linearity, was obtained for all calibration curves as shown in the calibration curve of naphtho[2,3-*b*]thiophene (Fig. 2) ($R^2 > 0.99$). The regression coefficients are between 0.971 and 0.997 for all the compounds studied (Table 2).

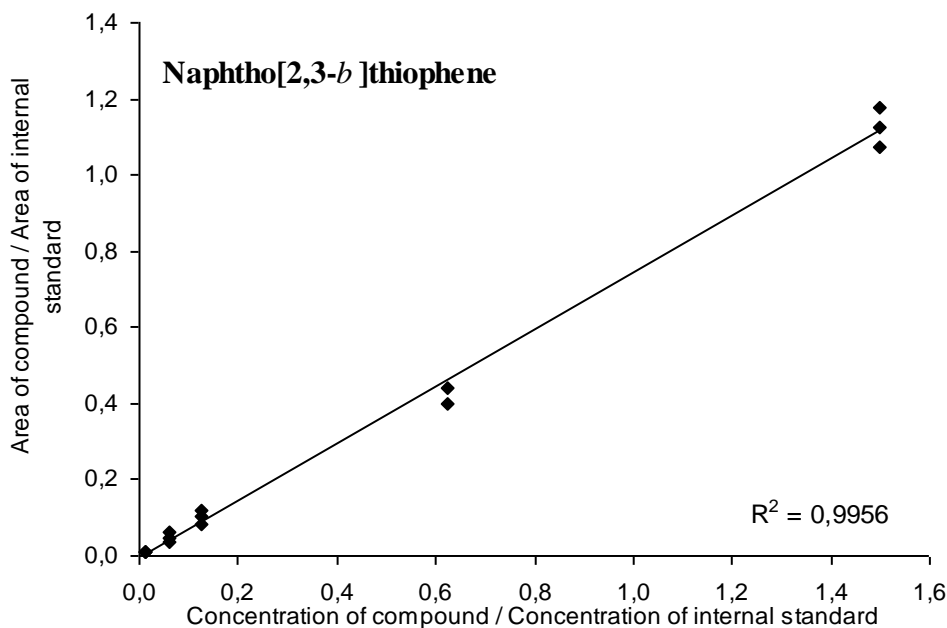


Fig. 2. Calibration curve of naphtho[2,3-*b*]thiophene.

3.2.2. Limits of detection and quantification

The limit of quantification (LOQ) is the lowest amount of analyte in a sample that can be quantitatively determined with suitable precision and accuracy. The following value is commonly used:

$$\text{LOQ} = 3.33 \text{ LOD} \quad (2)$$

The limit of detection (LOD) is the analyte concentration that results in a significantly higher measured signal than that obtained when the concentration is nil.

The limits of detection (LOD) were calculated according to the calibration curve method. Calculation of the LOD by this method takes into account not only the values a_0 and a_1 of the calibration straight line ($Y = a_0 + a_1 X$), but also the quality of the adjustment characterised by the residual standard deviation SD_r .

In this case, the formula used is:

$$\text{LOD} = t_v \frac{SD_r}{a_1} \sqrt{\frac{1}{k}} \quad (3)$$

where t_v is Student's *t* at $(n-2)$ degrees of freedom, v is equal to $(n-1)$ or $(nk-1)$ degrees of freedom according to the validity of the model, k is the number of repetitions of the signal for each measurement.

As the linear model was validated in the case of naphtho[2,3-*b*]thiophene, the calibration curve method was applied to this compound as an example. As the model proposed has no constant, the limit of detection is determined using the formula (3), with a number of degrees of freedom ν equal to four:

$$\text{LOD} = 0.02 \text{ ng/L}$$

The limit of quantification can then be deduced from this using the formula (2):

$$\text{LOQ} = 0.1 \text{ ng/L}$$

The limits of quantification and detection were calculated for all the other components studied using the same method. Table 2 shows the results for the PACs investigated. The detection limits for all compounds are below 0.2 ng/L. A comparison with some papers for the determination of PAHs in water shows that the detection limits for a 8 mL sample are particularly low (between 0.02 and 0.1 ng/L). Popp *et al.* (2000) used the SPME coupled to liquid chromatography- fluorescence detection (LC-FLD) and a water sample of 5 mL to obtain LOD between 1 and 6 ng/L. King *et al.* (2004) used the SPME with a 100 μm PDMS fiber in combination with GC-MS and calculated an LOD between 1 and 29 ng/L for 16 PAHs for a 30 mL water sample.

Table 2

Limits of detection and quantification (LOD and LOQ, in ng/L), selected ions for quantification (m/z) and correlation coefficients (R^2) of the calibration curves (from 1 to 100 ng/L) for the investigated compounds.

Compounds	Selected ions (m/z)	(R^2)	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)
N	128-127-102	0.985	0.1	0.3
2-MN	142-141	0.986	0.1	0.3
1-MN	142-141	0.985	0.1	0.3
B[<i>b</i>]T	134-89	0.978	0.1	0.3
2-MBT	147-148-115	0.992	0.1	0.2
5-MBT	147-148-115	0.987	0.1	0.3
3-PhenylT	160-115	0.993	0.02	0.1
2,6-DMN	156-141	0.971	0.1	0.5
1,6-DMN	156-141	0.977	0.1	0.4
1,2-DMN	156-141	0.971	0.1	0.4
Acy	152-151-76	0.993	0.1	0.2
Ace	154-153-152-76	0.992	0.03	0.1
F	166-165	0.989	0.1	0.3
DB[<i>b,d</i>]T	184-139-152	0.992	0.03	0.1
N[2,3- <i>b</i>]T	184-139-152	0.995	0.03	0.1
4-MDBT	198-194	0.994	0.05	0.2
2-MDBT	198-194	0.996	0.02	0.1
4,6-DMDBT	212-211	0.992	0.04	0.1
2,7-DMDBT	212-211	0.991	0.04	0.1
4,6-DEDBT	225-240	0.978	0.1	0.4

2,4,6,8-TMDBT	240-225	0.977	0.1	0.4
Phe	178-176-152	0.990	0.05	0.2
Ant	178-176-152	0.987	0.05	0.2
3-MPhe	192-191	0.996	0.01	0.03
2-MPhe	192-191	0.997	0.01	0.05
2-MAnt	192-191	0.989	0.05	0.2
9-MPhe	192-191	0.992	0.01	0.03
1-MPhe	192-191	0.996	0.02	0.1
1,7-DMPhe	206	0.995	0.03	0.1
R	234	0.990	0.1	0.3
Fluo	202-200-201	0.990	0.04	0.1
Pyr	202-200-201	0.995	0.04	0.1
1/3-MFluo	216	0.997	0.02	0.05
4-MPyr	216	0.993	0.04	0.1
1-MPyr	216	0.994	0.04	0.1
B[a]Ant	228-227	0.996	0.02	0.1
Chry	228-227	0.995	0.04	0.1
3-MChry	242	0.993	0.05	0.2
6-MChry	242	0.991	0.05	0.2
B[b]N[2,1-d]T	234-232	0.995	0.02	0.05
B[b]N[1,2-d]T	234-232	0.995	0.02	0.06
2-(2-Naphthyl)BT	260	0.988	0.1	0.3
B[b]Fluo	252-250-126	0.995	0.05	0.2
B[k]Fluo	252-250-126	0.993	0.04	0.1
B[e]Pyr	252-250-126	0.994	0.06	0.2
B[a]Pyr	252-250-126	0.979	0.04	0.1
P	252-250-126	0.993	0.1	0.2
B[b]ph[9,10-d]T	284-282-252	0.989	0.1	0.3
I[1,2,3-cd]Pyr	276-138	0.995	0.1	0.3
B[ghi]P	276-138	0.995	0.1	0.2
DB[a,h]Ant	278-276-139	0.997	0.1	0.2

3.3. Quantification of PACs and alkylated PACs in the WAF

The PACs were quantified by SPME-GC-MS in the water accommodated fraction (WAF) prepared with an oil/water ratio of 1:100 000. Nearly all the target compounds were detected and could also be quantified (Table 3). Alkylated PACs, for which we do not have all alkylated PACs isomer available as standards, were quantified as groups, as it shown in Fig. 3.

Table 3
Concentration of PACs in the WAF of an Erika oil.

Compounds	[PACs] ng/L	R.S.D. (%) <i>n</i> = 2	Compounds	[PACs] ng/L	R.S.D. (%) <i>n</i> = 2
N	6215	121	3-MPhe	468	9
2-MN	9004	30	2-MPhe	470	9
1-MN	7690	8	2-MAnt	162	13
2,6-DMN	3022	26	9-Mphe	348	9
1,6-DMN	2153	5	1-Mphe	333	7

1,2-DMN	1060	23	1,7-DMPhe	55	9
C ₂ -N	14318	9	C ₂ -Phe/Ant	823	5
C ₃ -N	7627	9	C ₃ -Phe/Ant	208	7
C ₄ -N	1335	10	R	nd	-
B[b]T	1505	38	C ₄ -Phe/Ant	127	8
2-MBT	2008	6	Fluo	53	10
5-MBT	1570	50	Pyr	161	8
C ₁ -BT	7723	29	1/3-MFluo	42	6
C ₂ -BT	8470	6	4-MPyr	93	8
C ₃ -BT	5414	16	1-MPyr	89	3
C ₄ -BT	1425	21	C ₁ -Fluo/Pyr	263	7
3-PhenylT	1051	130	C ₂ -Fluo/Pyr	98	0
Acy	18	7	C ₃ -Fluo/Pyr	39	1
Ace	1145	3	B[b]N[2,1- <i>d</i>]T	33	11
F	865	1	B[b]N[1,2- <i>d</i>]T	11	17
C ₁ -F	1342	5	B[a]Ant	30	14
C ₂ -F	969	8	Chry	82	10
C ₃ -F	510	10	C ₁ -Chry	69	13
DB[<i>b,d</i>]T	601	10	C ₂ -Chry	31	3
2-MDBT	449	8	C ₃ -Chry	13	6
4-MDBT	349	11	2-(2-Naphtyl)BT	0	47
4,6-DMDBT	35	12	3-MChry	26	2
2,7-DMDBT	52	9	6-MChry	6	2
4,6-DEDBT	1	20	B[b]Fluo	3	2
2,4,6,8-TMDBT	2	16	B[<i>k</i>]Fluo	1	26
C ₁ -DBT	1192	12	B[<i>e</i>]Pyr	4	7
C ₂ -DBT	576	8	B[<i>a</i>]Pyr	2	13
C ₃ -DBT	161	6	P	1	29
C ₄ -DBT	46	2	B[<i>b</i>]Ph[9,10- <i>d</i>]T	1	27
Phe	2290	10	In[1,2- <i>cd</i>]Pyr	1	48
Ant	228	13	DB[<i>a,h</i>]Ant	2	49
N[2,3- <i>b</i>]T	16	8	B[<i>ghi</i>]P	1	25

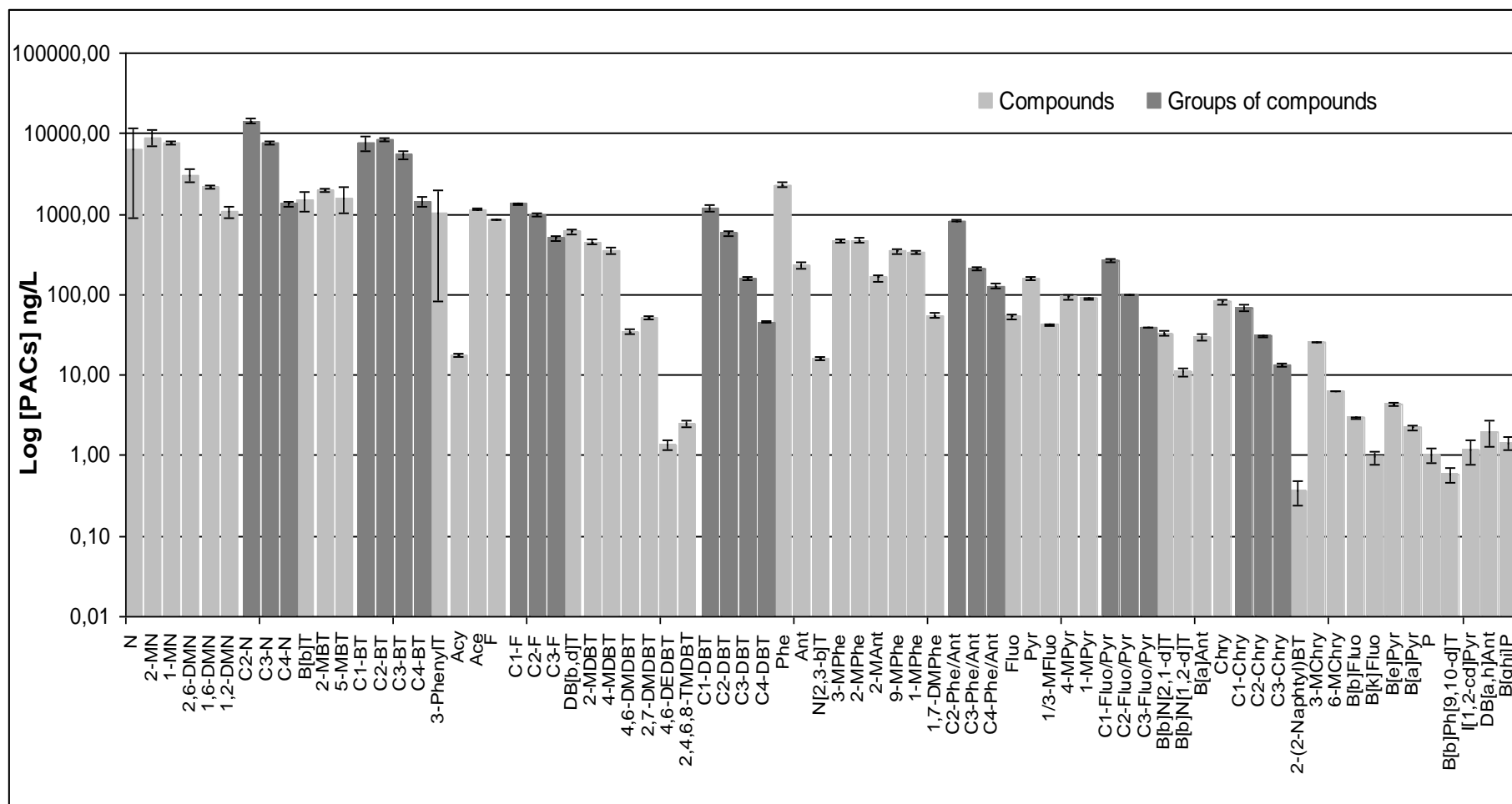


Fig. 3. Analysis of PACs and alkylated derivatives in the WAF of Erika oil by SPME-GC-MS.

Because standards are not commercially available for every alkylated PAC, the quantification of alkylated PAC homologues was generally performed with the approximation that the response factors for alkylated homologues are equal to the response factor of the respective unsubstituted (parent) compound (Burkhardt *et al.*, 2005). The study of the response factors of individual compounds showed that no significant differences were observed between the response factors of isomers within the same homologue group (Fig. 4). For these reasons, and in accordance with the literature (Planas *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 1994), in this study, average response factors were used to quantify all the isomers of each group. As an example, average response factors of dimethylnaphthalenes was used to quantify the whole profile of C₂-naphthalenes.

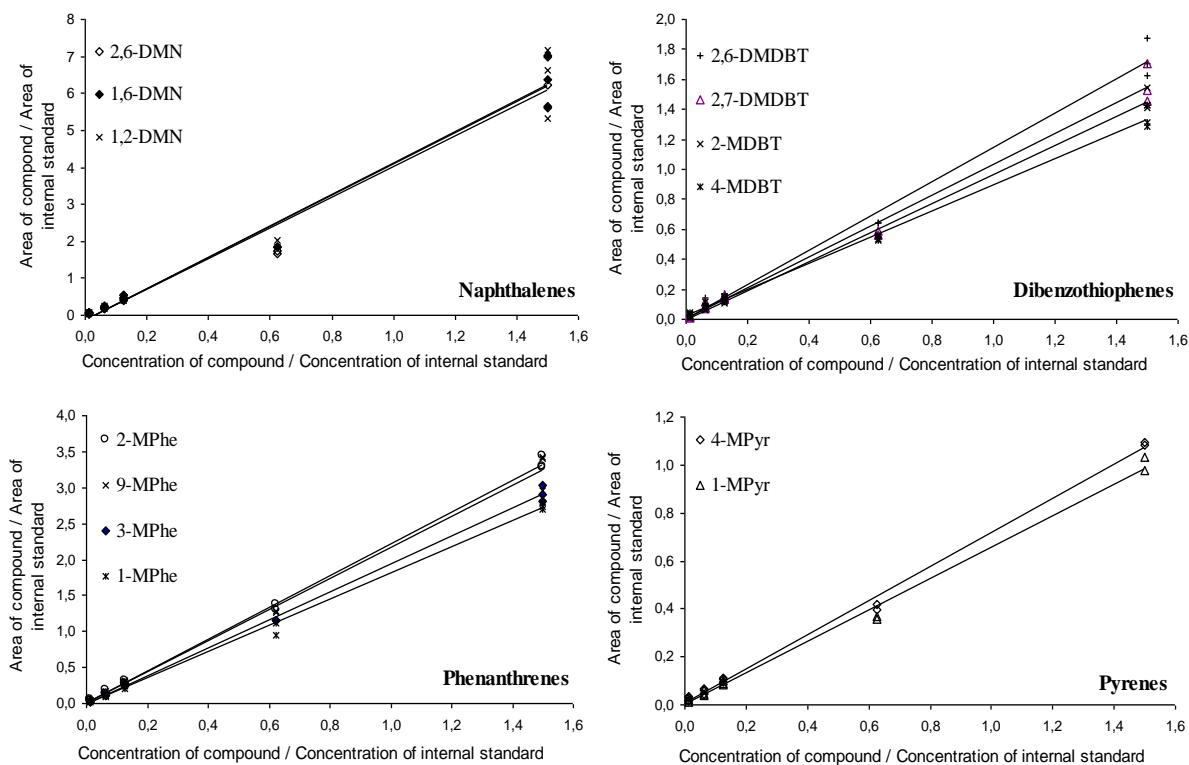


Fig. 4. Calibration curves of alkylated derivatives.

The other groups, for which we do not have any alkylated PACs isomer (C₂-, C₃- and C₄-benzothiophenes, C₃-, C₄-naphthalenes, C₂-, C₃-fluoranthenes/pyrenes and C₂-, C₃-chrysenes), were quantified using average response factors obtained from methylbenzothiophenes, dimethylnaphthalenes, methylpyrenes and methylchrysenes, respectively (Kanan *et al.*, 2012). The average response factors of dimethyldibenzothiophenes (C₂-DBT) and tetramethyldibenzothiophene (C₄-DBT) were used for quantification of C₃-DBT. The average response factors of 1,7-dimethylphenanthrene (C₂-phe/Ant) and retene (C₄-phe/Ant)

were used for quantification of C₃-Phe/Ant (Kanan *et al.*, 2012). In the case of fluorene, no alkylated compounds were available in standard solutions, the whole profiles of C₁-, C₂-and C₃-fluorenes were quantified using the response factor of the appropriate parent (Burkhardt *et al.*, 2005).

4. Conclusions

The SPME-GC-MS method was applied successfully to determine polycyclic aromatic compounds and alkylated derivatives in the water accommodated fraction (WAF) of seawater samples prepared in the laboratory from a crude oil. With a sample volume of only 8 mL of seawater, the proposed method is sensitive, simple and shows good linearity and detection limits lower than 0.2 ng/L. SPME has practical advantages such as not requiring any preliminary sample preparation step, since it combines sampling and preconcentration in one step, and avoiding the use of expensive and toxic solvents. Because standards are not commercially available for every alkylated PAC isomer, the concentration of the alkylated groups is reported as generally semiquantitative.

5. Acknowledgements

This research was supported by a PhD grant from the Syrian government. Gilbert Le Lann, director of Cedre, is acknowledged for financial support.

6. References

- Andersson J.T., Schmid B., **1995**. Polycyclic aromatic sulphur heterocycles. IV. Determination of polycyclic aromatic compounds in a shale oil with the atomic emission detector. *Journal of Chromatography A* 693: 325-338.
- Arthur C.L., Pawliszyn J., **1990**. Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry* 62: 2145-2148.
- Becker G., Colmsjö A., **1998**. Gas chromatography-atomic emission detection for quantification of polycyclic aromatic sulfur heterocycles. *Analytica Chimica Acta* 376: 265-272.
- Brack W., Schirmer A., **2003**. Effect-directed identification of oxygen and sulfur heterocycles as major polycyclic aromatic cytochrome P4501A-inducers in contaminated sediment. *Environmental Science & Technology* 37: 3062-3070.
- Budzinski H., Garrigues P., Connan J., Bellocq J., **1993**. Identification of alkylated dibenzothiophenes: Application to organic geochemistry, in Garrigues P. and Lamotte M. (Editors), *Polycyclic Aromatic Compounds-Synthesis, Properties, Analytical Measurements, Occurrence, and Biological Effects; PAH XIII*, Gordon & Breach, London, pp. 611- 620.

- Burkhardt M.R., Zaugg S.D., Burbank T.L., Olson M.C., Iverson J.L., **2005**. Pressurized liquid extraction using water-isopropanol coupled with solid-phase extraction cleanup for semivolatile organic compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), and alkylated PAH homolog groups in sediment. *Analytica Chimica Acta* 549: 104-116.
- Cortazar E., Zuloaga O., Sanz J., Raposo J.C., Etxebarria N., Fernández L.A., **2002**. MultiSimplex optimisation of the solid-phase microextraction-gas chromatographic-mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls and phthalates from water samples. *Journal of Chromatography A* 978: 165-175.
- Doong R.A., Chang S.M., Sun Y.C., **2000**. Solid-phase microextraction for determining the distribution of sixteen US environmental protection agency polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Journal of Chromatography A* 879: 177-188.
- González V.F., Graña E.C., Lorenzo S., Mahía P.L., Rodríguez D.P., **2007**. Solid-phase microextraction-gas chromatographic-tandem mass spectrometric analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons towards the European Union water directive 2006/0129 EC. *Journal of Chromatography A* 1176: 48-56.
- Hegazi A.H., Andersson J.T., El-Gayar M.Sh., **2003**. Application of gas chromatography with atomic emission detection to the geochemical investigation of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in Egyptian crude oils *Fuel Processing Technology* 85: 1-19.
- Hegazi A.H., Andersson J.T., **2007**. Limitations to GC-MS determination of sulfur-containing polycyclic aromatic compounds in geochemical, petroleum, and environmental investigations. *Energy & Fuels* 21: 3375-3384.
- Institute of Inorganic and Analytical Chemistry. PASH Standard Solutions. www.pash-standards.de Accessed. 25 January, **2012**.
- Kanan R., Andersson J.T., Receveur J., Guyomarch J., Le Floch S., Budzinski H., **2012**. Quantification of polycyclic aromatic compounds (PACs) and alkylated derivatives by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS-MS) to qualify a reference oil. In *Proceedings of the Thirty-Five AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response*, Environment Canada, Ottawa, June 2012.
- King A.J., Readman J.W., Zhou J.L., **2004**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 523: 259-267.
- Liang F., Lu M., Birch M.E., Keener T.C., Liu Z., **2006**. Determination of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in diesel particulate matter and diesel fuel by gas chromatography with atomic emission detection. *Journal of Chromatography A* 1114: 145-153.
- MacFall T., Booth G.M., Lee M.L., Tominaga Y., Pratap R., Tedjamulia M., Castle R.N., **1984**. Mutagenic activity of methyl-substituted tri- and tetracyclic aromatic sulfur heterocycles. *Mutation Research* 135: 97-103.
- Merlin F., **2008**. *Essence sans plomb: Guide pratique. Information, décision, intervention*. Brest : Cedre. 56 p. (Guide d'intervention chimique).
- Mössner S.G., Wise S.A., **1999**. Determination of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in fossil fuel-related samples. *Analytical Chemistry* 71: 58-69.
- Mostafa A.R., Hegazi A.H., El-Gayar M.Sh., Andersson J.T., **2009**. Source characterization and the environmental impact of urban street dusts from Egypt based on hydrocarbon distributions. *Fuel* 88: 95-104.
- Moustafa N.E., Andersson J.T., **2011**. Analysis of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in Egyptian petroleum condensate and volatile oils by gas chromatography with atomic emission detection. *Fuel Processing Technology* 92: 547-555.

- Palanas C., Puig A., Rivera J., Caixach J., **2006**. Analysis of alkyl and 2-6-ringed polycyclic aromatic hydrocarbons by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry quality assurance and determination in Spanish River sediments. *Journal of Chromatography A* 1113: 220-230.
- Pawliszyn J., **1997**. *Solid-Phase Microextraction: Theory and Practice*, Wiley-VCH: New York, 227 p.
- Popp P., Bauer C., Möder M., Paschke A., **2000**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waste water by off-line coupling of solid-phase microextraction with column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 897: 153-159.
- Rianawati E., Balasubramanian R., **2009**. Optimization and validation of solid phase micro-extraction (SPME) method for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater and stormwater. *Physics and Chemistry of the Earth* 34: 857-865.
- Schade T., Andersson J.T., **2006**. Speciation of alkylated dibenzothiophenes through correlation of structure and gas chromatographic retention indexes. *Journal of Chromatography A* 1117: 206-213.
- Singer M.M., Aurand D., Bragin G.E., Clarks J.R., Coelho G.M., Sowby M.L., Tjeerdema R.S., **2000**. Standardization of the preparation and quantitation of water-accommodated fractions of petroleum for toxicity testing. *Marine Pollution Bulletin* 40: 1007-1016.
- Thuß U., Popp P., Ehrlich C., Kalkoff W.-D., **2000**. Identification and quantification of thiaarenes in the flue gas of lignite-fired domestic heating. *Journal of High Resolution Chromatography* 23: 457-473.
- Wang Z., Fingas M., Li K., **1994**. Fractionation of a light crude oil and identification and quantification of aliphatic, aromatic, and biomarker compounds by GC-FID and GC-MS, Part I. *Journal of Chromatography Science* 32: 361-366.

Publication n° 6 : Intérêt de la microextraction sur phase solide (SPME) couplée à la GC-MS-MS pour l'analyse des HAP et HAPS dans l'eau de mer.

Résumé

Ce travail décrit l'application de la microextraction sur phase solide (SPME) couplée à la GC-MS et à la GC-MS-MS pour l'identification et la quantification des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans l'eau de mer. Pour des concentrations allant de 1 à 100 ng/L, une bonne linéarité a été établie avec des coefficients de corrélation supérieurs à 0,980 dans la majorité des cas. Les limites de détection sont de l'ordre ou inférieures à 0,1 ng/L. La performance de la méthodologie est démontrée pour l'extraction des analytes d'intérêt des fractions solubles (WAF) préparées au laboratoire. Les résultats obtenus lors de cette étude ont montré tout l'intérêt de la technique SPME couplée à la GC-MS-MS pour l'analyse simultanée des HAP et HAPS dans les matrices complexes telles que des eaux marines artificiellement contaminées (WAF).

Benefit of solid phase microextraction followed by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the analysis of PAHs and PASHs in seawater

Rami Kanan ^(1,2*), Jan T. Andersson ⁽³⁾, Stéphane Le Floch ⁽¹⁾, Karyn Le Menach ⁽²⁾ and Hélène Budzinski ⁽²⁾

⁽¹⁾ *Cedre-Brest Cedex2, France*

⁽²⁾ *University of Bordeaux 1-EPOC-LPTC-Talence Cedex, France*

⁽³⁾ *Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Muenster, Corrensstrasse 30, D-48149 Muenster, Germany*

Abstract

This work describes the application of solid phase microextraction (SPME) coupled to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and tandem mass spectrometry (MS-MS) for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polycyclic aromatic sulphur heterocycles (PASHs) in seawater. A 100 µm polydimethylsiloxane fiber was used to extract the analytes directly from seawater and then thermal desorption was carried out in the hot injector of a gas chromatograph. A good linearity was established in the range between 1 and 100 ng/L, with $R^2 > 0.980$ for most of the compounds studied. Detection limits were between 0.01 and 0.1 ng/L for all of the target compounds. The SPME-GC-MS and MS-MS procedures were applied to the determination of PAHs and PASHs in the water accommodated fraction (WAF) prepared in the laboratory from a crude oil. The results obtained from WAF analysis have demonstrated the benefit of SPME-GC-MS-MS for the simultaneous analysis of PAHs and PASHs in complex matrices.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), Polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs), Solid phase microextraction (SPME), Tandem mass spectrometry, Water accommodated fraction (WAF).

1. Introduction

Solid phase microextraction (SPME) coupled to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), when compared to other sample preparation methods, offers considerable advantages including simplicity, rapidity, less sample manipulation and solvent-free extraction. However, despite the selectivity of mass selective detection, it comes with some interference problems which can occur between polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and some polycyclic aromatic sulphur heterocycles (PASHs) (Hegazi and Andersson, 2007; Chiaberge *et al.*, 2011). For example, dibenzothiophene (DBT), methyl dibenzothiophenes (MDBT) and benzonaphthothiophenes (BNTs) have molecular masses of 184, 198 and 234, respectively. The same nominal masses are exhibited by C₄-naphthalenes (C₄-N), C₅-naphthalenes (C₅-N) and C₄-phenanthrenes/anthracenes (C₄-Phe/Ant) which furthermore have a similar retention time. Therefore, in GC-MS analysis, interferences between DBT and C₄-N, MDBT and C₅-N, and between BNTs and C₄-Phe/Ant may occur (Hegazi and Andersson, 2007; Chiaberge *et al.*, 2011).

Thus, to improve the selectivity of the MS analysis, in the present work, a method for the analysis of PAHs and PASHs by gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry was developed. The results obtained from WAF analysis demonstrate the advantages of SPME-GC-MS-MS for the simultaneous analysis of PAHs and PASHs in complex environmental matrices.

2. Experimental set-up

2.1. Standard solutions

Reference PAHs (eighteen compounds) and deuterated internal standards were obtained from Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (Andover, USA). A solution containing eighteen alkylated PAHs (SRM 1491a) at concentrations in the range 1-2 µg/mL in toluene was purchased from NIST (Gaithersburg, MD, USA). In addition, eight PASHs and eight alkylated derivatives were synthesized in one of our laboratories (Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, 2012) and prepared at a concentration of 100 µg/mL in methanol.

2.2. Preparation of WAF

The water accommodated fraction (WAF) of a crude oil was prepared according to guidelines established by CROSSERF (Singer *et al.*, 2000). This experiment was conducted

in order to transfer compounds from the oil to the water phase only by solubilization. The principle of this experiment was to introduce oil at the water surface of a closed flask. To prevent significant transfer to the air phase, the headspace had to be less than 25% of the whole volume of the flask. The oil/water ratio was set at 1:100 000 (10 mg of oil for 1 L of seawater), and the liquids were stirred using a magnetic stirrer. This movement was set to a minimum level to prevent oil from being dispersed in the water column. The experimental device was set up in an air-conditioned room at 21 °C for 24 h to reach equilibrium. The oil used was similar to that of the Erika spill. Finally, samples were collected through a tap located approximately 3 cm above the bottom of the flask.

2.3. SPME extraction procedure

The SPME polydimethylsiloxane fibers (100 µm film thickness) were obtained from Supelco (Sigma-Aldrich, South Africa). Prior to extraction, the fibers were conditioned in the injection port of the gas chromatograph for 3 h at 270 °C. The entirely automated extractions were performed by a commercial auto-sampler Multipurpose Sampler (GERSTEL®) mounted on the GC-MS system. The SPME procedure was performed by placing 8 mL of seawater sample in 10 mL vials capped with PTFE-coated septa. The fibers were immersed into the seawater with agitation at 250 rpm for 60 min. After extraction, the fiber was thermally desorbed for 10 min into the GC-MS injector port in splitless mode at 270 °C. Blank desorptions of the fiber were carried out to ensure that no contamination was present both before and during use.

2.4. Apparatus and analytical conditions

2.4.1. GC-MS analysis

The analysis of compounds was achieved using a 7890A Agilent GC (Agilent Technologies, Santa Clara, California). Chromatographic separations were performed on a fused-silica HP-5MS capillary column (length 30 m, i.d. 0.25 mm, film thickness 0.25 µm; J&W Scientific, Agilent, Folsom, CA, USA). Helium was used as carrier gas at a flow of 1 mL/min. The oven temperature program was: from 50 °C (1 min) to 150 °C at 10 °C /min, and then to 320 °C (5 min) at 5 °C /min. The temperatures of the transfer line and the ion source were 300 and 280 °C, respectively. Electron ionization (EI) was operated at 70 eV. Compounds were quantified in the selected ion monitoring (SIM) mode. The target compounds and selected SIM ions under the given experimental conditions are listed in Table 1.

2.4.2. GC-MS-MS analysis

The same GC parameters as previously detailed with SPME-GC-MS were also applied with GC-MS-MS. Compounds were detected and quantified by monitoring two specific transitions (Kanan *et al.*, 2012a). Table 1 gives the monitored transitions and optimal collision energies for each compound.

Table 1

GC-MS and MS-MS conditions for the studied compounds. The deuterated compounds in italics are the internal standards used for quantifying the compounds that are listed following the standards.

Compound name	Abbreviation	Rt (min)	MS	MS-MS	
			Quantification ions	Quantifier/qualifier (Q/q)	Collision energy (ev)
<i>Naphthalene-d₈</i>	<i>N-d₈</i>	8.68	136	136/136	0/0
Naphthalene	N	8.72	128	102/127	20/20
2-Methylnaphthalene	2-MN	10.32	142	141/115	20/20
1-Methylnaphthalene	1-MN	10.54	142	141/115	20/20
Benzo[<i>b</i>]thiophene	B[<i>b</i>]T	8.85	134	89/108	25/25
2-Methylbenzothiophene	2-MBT	10.34	147	147/115	40/40
5-Methylbenzothiophene	5-MBT	10.43	147	147/115	40/40
3-Phenylthiophene	3-PhenylT	11.95	160	115/128	30/30
2,6-Dimethylnaphthalene	2,6-DMN	11.84	156	141/115	25/25
1,6-Dimethylnaphthalene	1,6-DMN	12.10	156	141/115	25/25
1,2-Dimethylnaphthalene	1,2-DMN	12.57	156	141/115	25/25
<i>Acenaphthylene-d₈</i>	<i>Acy-d₈</i>	12.47	160	160/160	0/0
Acenaphthylene	Acy	12.51	152	151/150	25/25
<i>Acenaphthene-d₁₀</i>	<i>Ace-d₁₀</i>	12.94	164	164/164	0/0
Acenaphthene	Ace	13.04	154	152/153	35/35
<i>Fluorene-d₁₀</i>	<i>F-d₁₀</i>	14.40	176	176/176	0/0
Fluorene	F	14.58	166	165-164	40/40
<i>Dibenzothiophene-d₈</i>	<i>DBT-d₈</i>	17.40	192	192/192	0/0
Dibenzothiophene	DB[<i>b,d</i>]T	17.47	184	152/139	20/20
Naphtho[2,3- <i>b</i>]thiophene	N[2,3- <i>b</i>]T	18.41	184	152/139	20/20
4-Methyldibenzothiophene	4-MDBT	19.24	198	197/165	30/25
2-Methyldibenzothiophene	2-MDBT	19.60	198	197/165	30/25
4,6-Dimethyldibenzothiophene	4,6-DMDBT	21.01	212	211/197	30/25
2,7-Dimethyldibenzothiophene	2,7-DMDBT	21.73	212	211/197	30/25
4,6-Diethyldibenzothiophene	4,6-DEDBT	24.08	225	239/225	35/35
2,4,6,8-Tetramethyldibenzothiophene	2,4,6,8-TMDBT	24.98	240	239/225	35/35
<i>Phenanthrene-d₁₀</i>	<i>Phe-d₁₀</i>	17.86	188	188/188	0/0
Phenanthrene	Phe	17.95	178	176/152	40/15
3-Methylphenanthrene	3-MPhe	19.96	192	191/189	30/30
2-Methylphenanthrene	2-MPhe	20.07	192	191/189	30/30
9-Methylphenanthrene	9-MPhe	20.41	192	191/189	30/30
1-Methylphenanthrene	1-MPhe	20.50	192	191/189	30/30
1,7-Dimethylphenanthrene	1,7-DMPhe	22.62	206	191/205	20/20
Retene	R	25.49	234	219/205	15/15
<i>Anthracene-d₁₀</i>	<i>Ant-d₁₀</i>	18.05	188	188/188	0/0
Anthracene	Ant	18.12	178	176/152	40/15
2-Methylantracene	2-MAnt	20.22	192	191/189	30/30

<i>Fluoranthene-d₁₀</i>	<i>Fluo-d₁₀</i>	22.79	212	212/212	0/0
Fluoranthene	Fluo	22.86	202	201/200	20/20
1/3-Methylfluoranthene	1/3-MFluo	25.44	216	216/215	0/20
<i>Pyrene-d₁₀</i>	<i>Pyr-d₁₀</i>	23.69	212	212/212	0/0
Pyrene	Pyr	23.76	202	201/200	20/20
4-Methylpyrene	4-MPyr	26.22	216	216/215	0/20
1-Methylpyrene	1-MPyr	26.35	216	216/215	0/20
<i>Benzo[a]anthracene-d₁₂</i>	<i>B[a]Ant-d₁₂</i>	29.17	240	240/240	0/0
Benzo[a]anthracene	B[a]Ant	29.25	228	226/227	30/30
<i>Chrysene-d₁₂</i>	<i>Chry-d₁₂</i>	29.32	240	204/240	0/0
Chrysene	Chry	29.42	228	226/227	30/30
3-Methylchrysene	3-MChry	31.21	242	241/239	30/30
6-Methylchrysene	6-MChry	31.57	242	241/239	30/30
Benzo[b]naphtho[2,1-d]thiophene	B[b]N[2,1-d]T	28.15	234	202/189	25/25
Benzo[b]naphtho[1,2-d]thiophene	B[b]N[1,2-d]T	28.57	234	202/189	25/25
2-(2-Naphthyl)benzothiophene	2-(2-Naphthyl)BT	32.39	260	258-215	20/20
<i>Benzo[b]fluoranthene-d₁₂</i>	<i>B[b]Fluo-d₁₂</i>	33.80	264	264/264	0/0
Benzo[b]fluoranthene	B[b]Fluo	33.83	252	250/251	25/25
<i>Benzo[k]fluoranthene-d₁₂</i>	<i>B[k]Fluo-d₁₂</i>	33.90	264	264/264	0/0
Benzo[k]fluoranthene	B[k]Fluo	33.92	252	250/251	25/25
<i>Benzo[e]pyrene-d₁₂</i>	<i>B[e]Pyr-d₁₂</i>	34.83	264	264/264	0/0
Benzo[e]pyrene	B[e]Pyr	34.93	252	250/251	25/25
<i>Benzo[a]pyrene-d₁₂</i>	<i>B[a]Pyr-d₁₂</i>	35.03	264	264/264	0/0
Benzo[a]pyrene	B[a]Pyr	35.10	252	250/251	25/25
<i>Perylene-d₁₂</i>	<i>P-d₁₂</i>	35.35	264	264/264	0/0
Perylene	P	35.44	252	250/251	25/25
Benzo[b]phenanthro[9,10-d]thiophene	B[b]ph[9,10-d]T	38.46	284	282/252	20/20
<i>Indeno[1,2,3-cd]pyrene-d₁₂</i>	<i>I[1,2,3-cd]Pyr-d₁₂</i>	39.11	288	288/288	0/0
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	I[1,2,3-cd]Pyr	39.13	276	274/275	35/35
<i>Benzo[ghi]perylene-d₁₂</i>	<i>B[ghi]P-d₁₂</i>	39.90	288	288/288	0/0
Benzo[ghi]perylene	B[ghi]P	39.94	276	274/275	35/35
<i>Dibenzo[a,h]anthracene-d₁₄</i>	<i>DB[a,h]Ant-d₁₄</i>	39.26	292	292/292	0/0
Dibenzo[a,h]anthracene	DB[a,h]Ant	39.36	278	276/277	25/25

3. Results and discussion

3.1. Identification of compounds

The analysis in scan and SIM modes of Milli-Q water spiked by different solutions of PAHs, PASHs and their corresponding alkylated compounds allowed the identification of each compound and confirmation of its retention time (Table 1).

3.2. Linearity, limits of detection and limits of quantification

The linearity of the method was evaluated by GC-MS in SIM and MRM modes by extracting spiked Milli-Q water samples with increasing concentrations in the range between 1 and 100 ng/L. Correlation coefficients (R^2) were between 0.971 and 0.997 for the two detection modes (Table 2). The limits of detection and limits of quantification were

calculated according to the calibration curve method (Kanan *et al.*, 2012b). They were calculated both for the SIM mode and the MS-MS detection (Table 2).

Table 2

Analytical performance parameters for standar substances by SPME-GC-MS and SPME-GC-MS-MS methods.

Compounds	GC-MS	GC-MS-MS	GC-MS	GC-MS-MS	GC-MS	GC-MS-MS
	(R ²)	(R ²)	LOD (ng/L)	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)	LOQ (ng/L)
N	0.985	0.991	0.1	0.1	0.3	0.3
2-MN	0.986	0.990	0.1	0.1	0.3	0.3
1-MN	0.985	0.981	0.1	0.1	0.3	0.3
B[b]T	0.978	0.992	0.1	0.04	0.3	0.1
2-MBT	0.992	0.983	0.1	0.03	0.2	0.1
5-MBT	0.987	0.986	0.1	0.1	0.3	0.2
3-PhenylT	0.993	0.980	0.02	0.03	0.1	0.1
2,6-DMN	0.971	0.987	0.1	0.1	0.5	0.3
1,6-DMN	0.977	0.985	0.1	0.1	0.4	0.2
1,2-DMN	0.971	0.985	0.1	0.04	0.4	0.1
Acy	0.993	0.984	0.1	0.03	0.2	0.1
Ace	0.992	0.977	0.03	0.03	0.1	0.1
F	0.989	0.982	0.1	0.04	0.3	0.1
DB[b,d]T	0.992	0.987	0.03	0.04	0.1	0.1
N[2,3-b]T	0.995	0.981	0.03	0.1	0.1	0.3
4-MDBT	0.994	0.986	0.05	0.05	0.2	0.2
2-MDBT	0.996	0.987	0.02	0.03	0.1	0.1
4,6-DMDBT	0.992	0.980	0.04	0.1	0.1	0.3
2,7-DMDBT	0.991	0.979	0.04	0.1	0.1	0.3
4,6-DEDBT	0.978	0.988	0.1	0.1	0.4	0.3
2,4,6,8-TMDBT	0.977	0.980	0.1	0.1	0.4	0.4
Phe	0.990	0.983	0.05	0.1	0.2	0.3
Ant	0.987	0.983	0.05	0.03	0.2	0.1
3-MPhe	0.996	0.988	0.01	0.03	0.03	0.1
2-MPhe	0.997	0.981	0.01	0.1	0.05	0.2
2-MAnt	0.989	0.977	0.05	0.1	0.2	0.2
9-MPhe	0.992	0.982	0.01	0.1	0.03	0.2
1-MPhe	0.996	0.983	0.02	0.1	0.1	0.2
1,7-DMPhe	0.995	0.975	0.03	0.1	0.1	0.3
R	0.990	0.976	0.1	0.1	0.3	0.4
Fluo	0.990	0.982	0.04	0.1	0.1	0.3
Pyr	0.995	0.984	0.04	0.1	0.1	0.2
1/3-MFluo	0.997	0.984	0.02	0.1	0.05	0.2
4-MPyr	0.993	0.985	0.04	0.1	0.1	0.2
1-MPyr	0.994	0.986	0.04	0.1	0.1	0.2
B[a]Ant	0.996	0.990	0.02	0.04	0.1	0.1
Chry	0.995	0.986	0.04	0.1	0.1	0.3
3-MChry	0.993	0.983	0.05	0.1	0.2	0.3
6-MChry	0.991	0.989	0.05	0.1	0.2	0.2
B[b]N[2,1-d]T	0.995	0.984	0.02	0.1	0.05	0.3
B[b]N[1,2-d]T	0.995	0.985	0.02	0.1	0.06	0.3
2-(2-Naphthyl)BT	0.988	0.984	0.1	0.1	0.3	0.3
B[b]Fluo	0.995	0.990	0.05	0.03	0.2	0.1
B[k]Fluo	0.993	0.980	0.04	0.1	0.1	0.3

B[e]Pyr	0.994	0.990	0.06	0.04	0.2	0.1
B[a]Pyr	0.979	0.990	0.04	0.03	0.1	0.1
P	0.993	0.990	0.1	0.1	0.2	0.2
B[b]ph[9,10-d]T	0.989	0.990	0.1	0.02	0.3	0.1
I[1,2,3-cd]Pyr	0.995	0.989	0.1	0.04	0.3	0.1
B[ghi]P	0.995	0.986	0.1	0.1	0.2	0.2
DB[a,h]Ant	0.997	0.983	0.1	0.1	0.2	0.3

LOD: limits of detection, LOQ: limits of quantification, R^2 : correlation coefficients.

3.3. Application to WAF samples

The applicability of the proposed SPME method coupled to GC-MS and GC-MS-MS was evaluated through determining the target compounds in the water accommodated fraction (WAF), prepared with an oil/water ratio of 1:100 000. Nearly all the target compounds were detected and could also be quantified (Fig. 1).

A comparison of the SPME-GC-MS and MS-MS analyses of PACs in the WAF showed the main advantage of the MRM mode. Using tandem mass spectrometry for the detection reduces the background noise and provides an additional degree of selectivity. Fig. 2 shows the improvement in background noise for WAF when using the MRM mode. Thus, although SPME extracts interfering compounds from the matrix, these are nearly completely eliminated by the MRM mode.

MRM mode brings additional selectivity to the simultaneous analysis of PAHs and PASHs in the WAF (Fig. 3). In the SIM mode, the dibenzothiophene (DBT) peak is found in a cluster of a large number of isomers of C₄-naphthalenes (C₄-N) which share the molecular weight of 184 with dibenzothiophene. Unlike the situation in the SIM mode, the naphthalene interferences disappear when GC-MS-MS analysis is used since they do not show any fragments at m/z 152. Naphtho[1,2-*b*]thiophene, isomeric with dibenzothiophene, also has the mass of 184, so interferences between DBT and N[1,2-*b*]T may occur (Schmid and Andersson, 1997). However, this interference is not dramatic since naphthothiophenes are rare in crude oils although they may occur in significant concentrations in other fossil materials like coal tar (Schmid and Andersson, 1997).

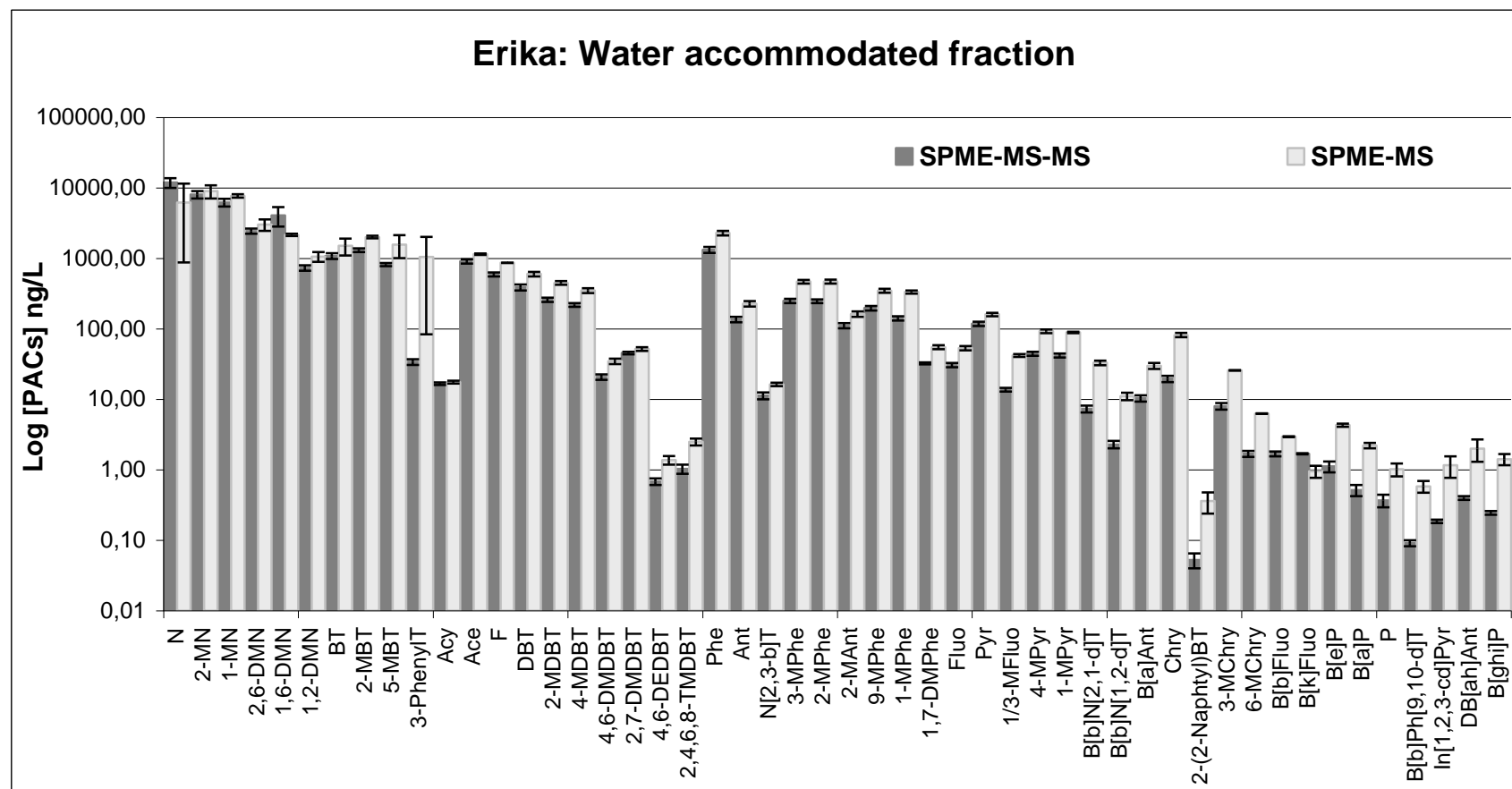


Fig. 1. Analysis of PACs and alkylated derivatives in the WAF of Erika oil by SPME-GC-MS and GC-MS-MS.

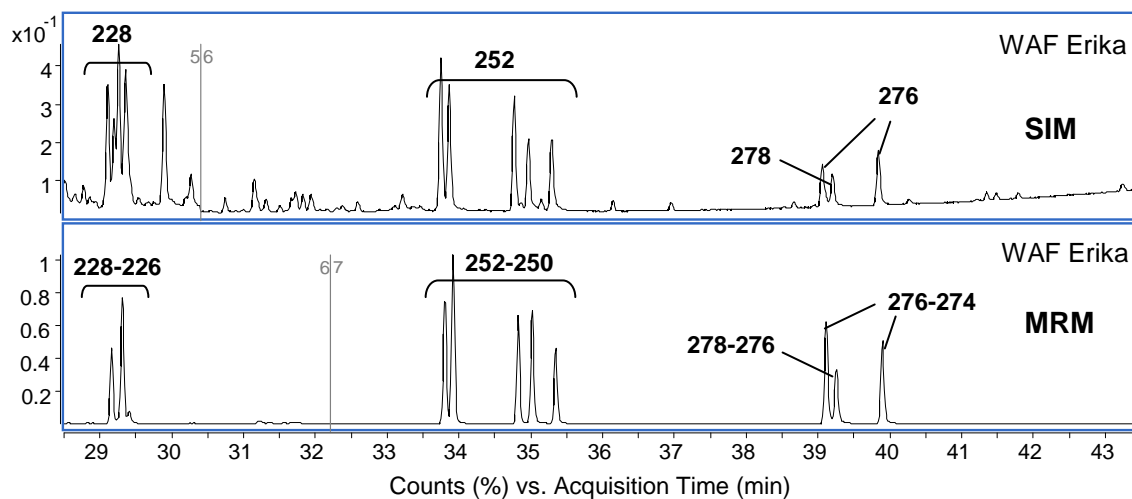


Fig. 2. Comparison illustrating the benefit of analysis in MRM mode in the case of complex matrices.

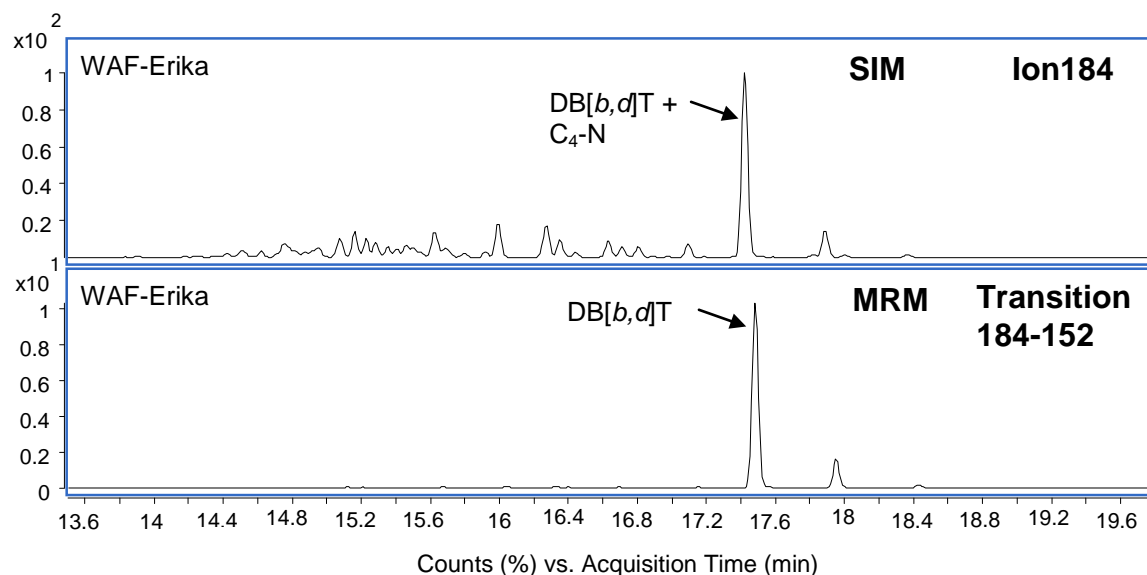


Fig. 3. Comparison illustrating the benefit of analysis in MRM mode in the case of simultaneous analysis of PAHs and PASHs.

4. Conclusions

The results obtained in this study clearly demonstrate the great advantage of SPME coupled to GC-MS-MS analysis. The use of this highly selective methodology allows interferences which are found between PASHs and some PAHs in GC-MS analysis to be eliminated and thus correct quantification to be performed.

5. Acknowledgement

This research was supported by a PhD grant from the Syrian government. Gilbert Le Lann, director of Cedre, is acknowledged for financial support.

6. References

- Chiaberge S., Fiorani T., Cesti p., **2011**. Methyl dibenzothiophene isomer ratio in crude oils: Gas chromatography tandem mass spectrometry analysis. *Fuel Processing Technology* 92: 2196-2201.
- Hegazi A.H., Andersson J.T., **2007**. Limitations to GC-MS determination of sulfur-containing polycyclic aromatic compounds in geochemical, petroleum, and environmental investigations. *Energy & Fuels* 21: 3375-3384.
- Institute of Inorganic and Analytical Chemistry. PASH Standard Solutions. www.pash-standards.de Accessed. 25 January, **2012**.
- Kanan R., Andersson J.T., Receveur J., Guyomarch J., Le Floch S., Budzinski H., **2012a**. Quantification of polycyclic aromatic compounds (PACs), and alkylated derivatives by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS-MS) to qualify a reference oil. In *Proceedings of the Thirty-Five AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response*, Environment Canada, Ottawa, June 2012.
- Kanan R., Le Floch S., Andersson J.T., Le Menach K., Budzinski H., **2012b**. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs) and alkylated derivatives from seawater using solid-phase microextraction (SPME)-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). In *Proceedings of the Thirty-Five AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response*, Environment Canada, Ottawa, June 2012.
- Singer M.M., Aurand D., Bragin G.E., Clarks J.R., Coelho G.M., Sowby M.L., Tjeerdema R.S., **2000**. Standardization of the preparation and quantitation of water-accommodated fractions of petroleum for toxicity testing. *Marine Pollution Bulletin* 40: 1007-1016.
- Schmid B., Andersson J.T., **1997**. Critical examination of the quantification of aromatic compounds in three standard reference materials. *Analytical Chemistry* 69: 17-3476.

CHAPITRE IV : SYNTHÈSE

Chapitre IV : Synthèse

1. Contexte

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), leurs homologues soufrés (HAPS) ainsi que leurs dérivés alkylés sont considérés comme des contaminants préoccupants des écosystèmes tant terrestres qu'aquatiques du fait de leurs caractères cancérogènes et mutagènes.

Pour cette principale raison, certains HAP ont été classés comme substances dangereuses prioritaires lors de l'établissement de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Cette catégorisation est également reprise outre Atlantique puisque l'agence américaine pour la protection de l'environnement ("United States-Environmental Protection Agency", US-EPA) reconnaît 7 HAP comme étant cancérogènes probables pour l'homme, et que l'agence internationale de recherche sur le cancer ("International Agency for Research on Cancer") fait le même constat. Le caractère prioritaire est renforcé par la multiplicité des voies empruntées par ces molécules pour pénétrer dans l'environnement, et ainsi, potentiellement contaminer les êtres vivants. Cependant, leur destination finale reste l'océan, réceptacle final de toute contamination, avec la possibilité de contaminer les organismes marins, et ceci, même à de très faibles doses. L'actualité rattrape également les HAPS qui deviennent des molécules préoccupantes du fait de leur toxicité avérée (caractère cancérogène et mutagène) et de leur détection et quantification dans un nombre croissant de matrices. En plus d'être présents dans les matières fossiles, d'où leur utilisation en géochimie pour décrire la maturation d'un pétrole, ces molécules se retrouvent dans de nombreux échantillons environnementaux attirant ainsi l'attention des écotoxicologues. Les dérivés alkylés de ces hydrocarbures aromatiques, systématiquement présents en quantités variables au sein d'un pétrole brut, semblent également présenter des risques en termes d'écotoxicité.

Ainsi, en cas de déversement accidentel de pétrole en mer, il apparaît indispensable de disposer de méthodologies analytiques performantes et éprouvées permettant de procéder à un suivi intensif de la diffusion de ces contaminants dans le compartiment aqueux. Ce besoin impose d'améliorer la sensibilité des méthodologies existantes, voire de les mettre en adéquation avec les seuils des normes en matière de surveillance du milieu qui ont des exigences de l'ordre du ng/L, et surtout, de les étendre à un plus grand nombre de molécules appartenant aux familles des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés, molécules de toxicité

avérée. Cet objectif a été suivi dans le cadre de ce travail de recherche notamment au travers d'études visant à caractériser les protocoles d'extraction et d'analyse de ces composés directement dans des produits pétroliers ainsi que dans la matrice eau de mer. En termes d'extraction, nous nous sommes intéressés aux techniques SBSE et SPME, et pour l'analyse, la détection a été réalisée en GC-MS et GC-MS-MS. Ce travail a été réalisé en collaboration entre le *Cedre* (Centre de documentation, de recherche et d'expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux, Brest, France) et le laboratoire de physico-et toxico-chimie de l'environnement de l'université de Bordeaux 1.

2. Développements analytiques

2.1. Mise au point d'une méthode d'extraction (SBSE) et d'analyse (GC-MS) des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans l'eau de mer (publications n° 1, 2, 3)

Si les techniques d'extraction des HAP dans la phase aqueuse ont fait l'objet de nombreuses études, en revanche, peu de travaux sont publiés quant aux dosages simultanés des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés, soit environ une cinquantaine de molécules ou groupe de molécules. Ainsi, cette étude présente le développement d'une méthodologie d'extraction (SBSE) et d'analyse (TD-GC-MS) pour les quantifier dans une eau de mer.

Dans un premier temps, la méthodologie SBSE-TD-GC-MS a été développée sur les hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS). Les paramètres les plus susceptibles d'affecter le processus SBSE ont été sélectionnés, il s'agissait notamment du temps d'extraction. Pour montrer sa performance, la méthodologie a été comparée à l'extraction liquide-liquide classique pour le dosage des HAP dans la fraction soluble d'une WSF préparée au laboratoire en utilisant un rapport pétrole/eau, de l'ordre de 1/100 000. Les résultats obtenus ne montrent pas de différence significative dans les concentrations obtenues entre les deux techniques d'extraction (Figure 20). Ces résultats indiquent que la SBSE peut être utilisée comme une approche alternative à la LLE pour l'analyse des hydrocarbures aromatique polycycliques dissous dans l'eau de mer.

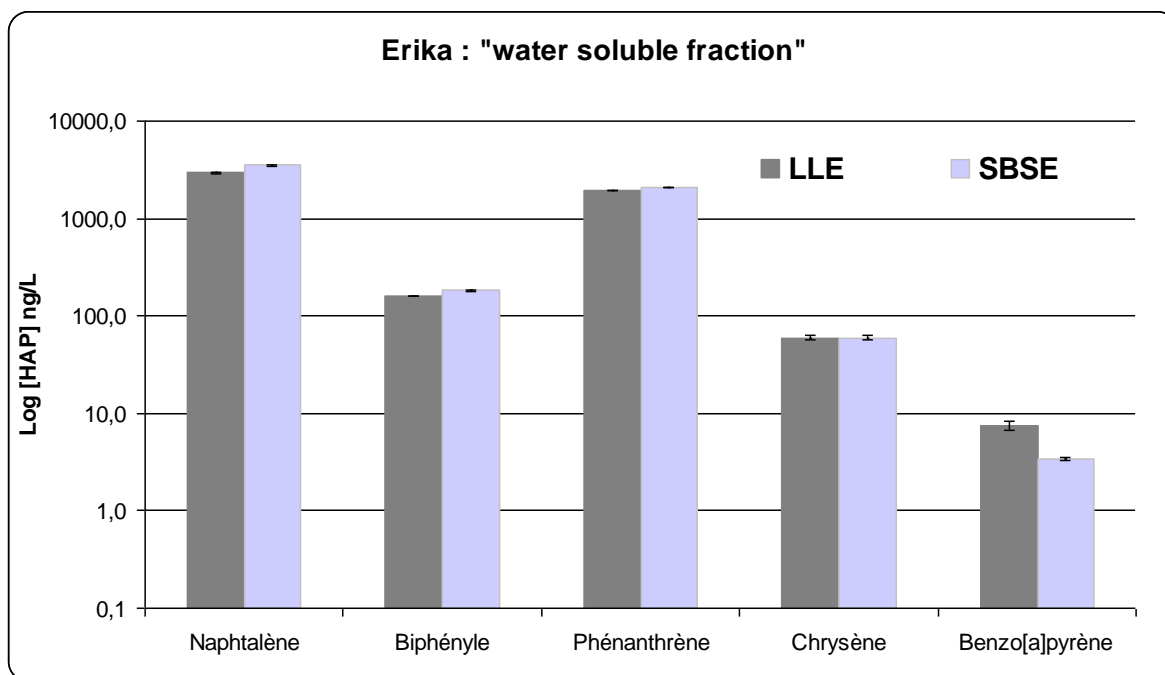


Figure 20. Dosage des HAP dans la fraction soluble du fioul de l'Erika par SBSE-TD-GC-MS et LLE-GC-MS ($n = 3$).

Par la suite la méthodologie a été appliquée à l'ensemble des HAP, HAPS et de leurs dérivés ramifiés. Le temps d'extraction étant l'un des paramètres les plus influents sur le rendement de l'extraction, il a été caractérisé pour plusieurs molécules. Différentes durées d'agitation ont été testées (30 min-24 h) à la concentration de 100 ng/L. La figure 21 montre qu'une extraction de 6 h semble correspondre à un optimum, avant ce délai les variations sont trop importantes. Ainsi, une durée de 6 h a été définie pour la suite des expérimentations comme un temps de référence d'extraction. La validation de la SBSE a porté sur sa linéarité et sa sensibilité. Les limites de détection et de quantification déterminées sont de l'ordre de 0,04 ng/L à 0,1 ng/L et, elles répondent bien à un contexte accidentel, voire chronique.

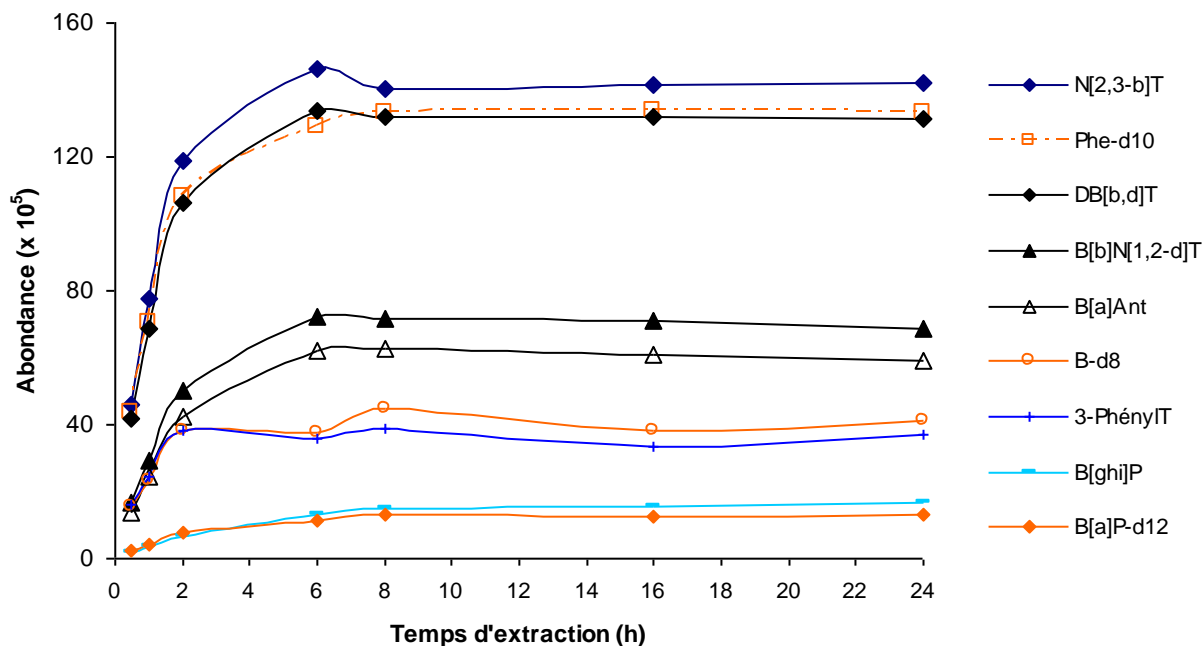


Figure 21. Cinétiques d'extraction de quelques composés en fonction du temps d'extraction. Conditions : 100 mL d'eau de mer, un film PDMS de 0,5 mm d'épaisseur, vitesse d'agitation (700 tr/min), température (21°C). L'extrait est ensuite analysé par TD-GC-MS ($n = 3$).

La performance de la méthodologie est démontrée pour l'extraction des composés d'intérêt des fractions solubles (WAF et WSF) préparées au laboratoire. L'analyse des WAF et des WSF, en combinaison avec les solutions de calibration étendues à 35 composés, a permis de quantifier 33 composés et 18 familles d'alkylés. Une méthode de quantification a pu ainsi être développée en assimilant les coefficients de réponse des composés ramifiés à ceux des composés parents dont ils dérivent. La méthodologie SBSE ainsi développée répond bien aux exigences fixées au départ de ce travail, notamment en permettant la quantification des analytes d'intérêt dans le milieu naturel à des seuils équivalents, voire inférieurs à ceux imposés par la réglementation (Figure 22).

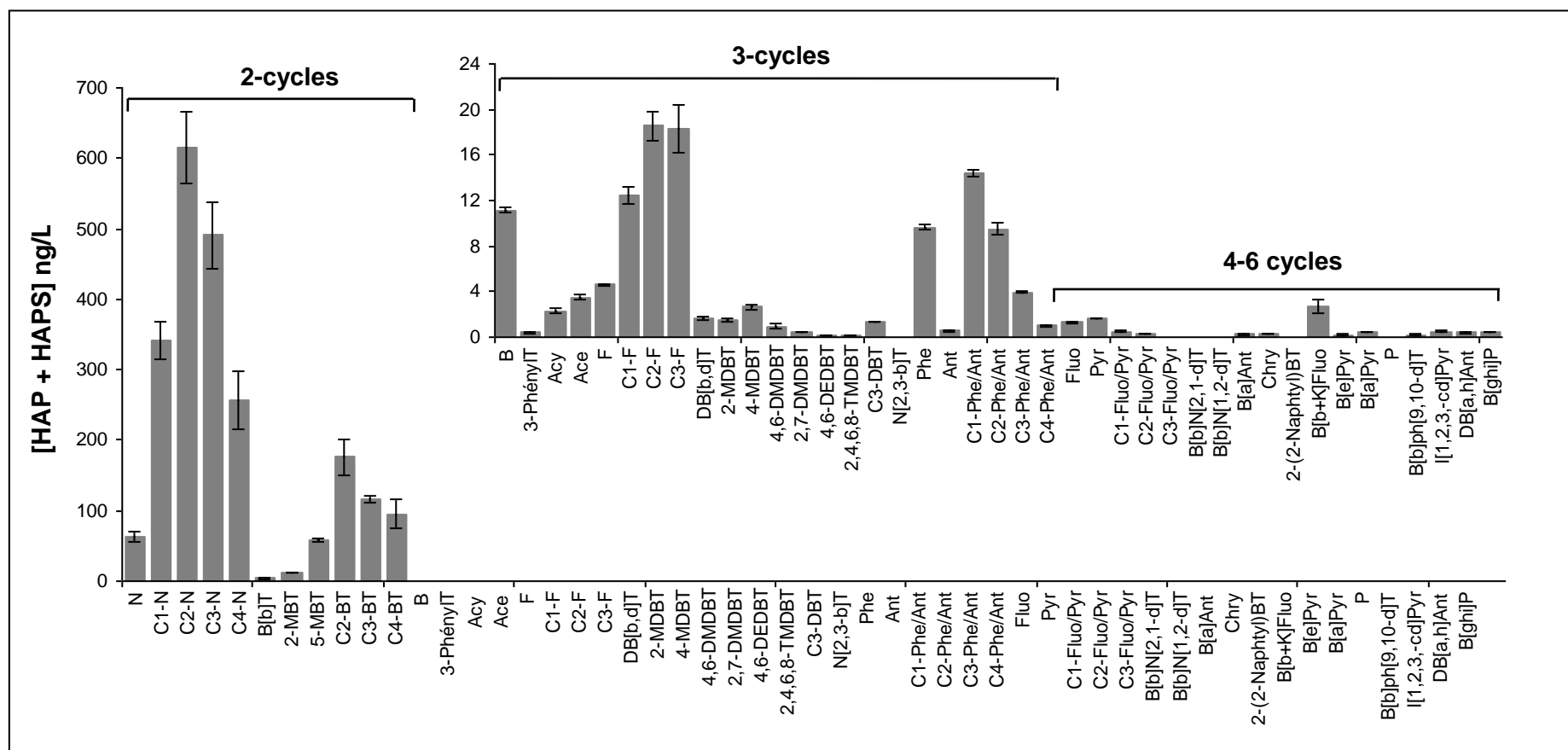


Figure 22. Extraction et analyse des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans un échantillon d'eau de mer par SBSE-TD-GC-MS ($n = 3$).

2.2. Mise au point d'une méthode de dosage (GC-MS-MS) des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans les produits pétroliers (publications n° 4)

La difficulté dans la recherche ou l'identification d'une contamination par des produits pétroliers réside bien souvent dans l'absence de matériel de référence couvrant une gamme suffisamment large de molécules. Ceci est d'autant plus vrai que l'on s'intéresse aux hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés ou non et à leurs dérivés alkylés. L'objectif de cette étude est de pallier ce problème via une caractérisation du fioul de l'Erika en vue de son utilisation future comme fioul de référence. La détermination des temps de rétention de chaque composé a été la première étape de ce travail. La seconde étape du développement de la méthodologie a consisté en la détermination des transitions et des énergies de collision. Ces dernières étant trouvées, la quantification de tous les composés individuels d'intérêt présents le fioul de l'Erika a été réalisée.

Concernant les composés alkylés, absents dans les solutions étalons, leur quantification en GC-MS est généralement effectuée en posant le postulat que les composés parents et leurs dérivés substitués ont le même coefficient de réponse. Cependant, si cette approximation pouvait paraître raisonnable lorsqu'il s'agissait de considérer uniquement l'ion moléculaire après une simple fragmentation en GC-MS, cette estimation semble plus incertaine en cas d'analyse par GC-MS-MS avec des transitions très différentes. Afin d'évaluer la fiabilité de l'analyse par GC-MS et éventuellement les possibilités d'application à la GC-MS-MS, les coefficients de réponse des 52 composés individuels ont été étudiés : en MRM, les coefficients de réponse des composés alkylés sont très différents des composés parents dont ils dérivent (Figure 23), il n'était pas donc envisageable de quantifier les composés alkylés en appliquant les coefficients de réponse des composés parents.

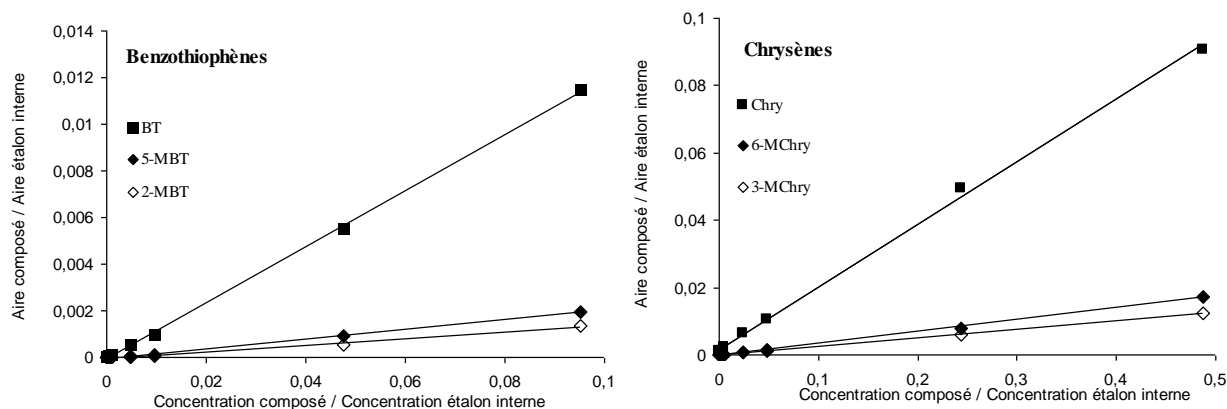


Figure 23. Courbes de calibration des benzothiophènes et chrysènes en mode MRM.

Autrement dit, les approximations qu'on utilise en mode SIM pour quantifier les familles d'alkylés, à savoir une assimilation des alkylés à leurs homologues parents, semblent moins incertaines en MRM. Une comparaison des coefficients de réponse réalisée au sein d'une même famille, et pour différents degrés de ramification, a montré qu'au sein d'un même degré de ramification, les coefficients de réponse des isomères sont très proches (Figure 24). Ainsi, l'hypothèse d'utiliser la moyenne des coefficients de réponse de quelques isomères disponibles pour quantifier tout le profil d'une famille d'alkylés était envisageable. À titre d'exemple, pour les C₂-naphtalènes la moyenne des coefficients de réponse de 3 isomères a été utilisée pour quantifier tout le profil de C₂-naphtalènes.

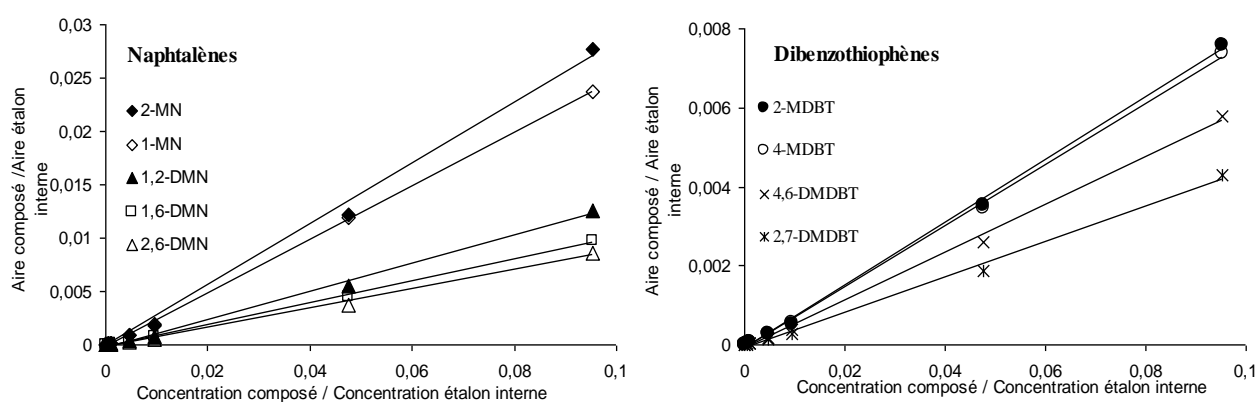


Figure 24. Courbes de calibration des naphtalènes et dibenzothiophènes en mode MRM.

Une étude supplémentaire a été menée afin de mieux appréhender les possibilités de quantifier les autres familles dont aucun isomère n'était disponible au laboratoire, (ce qui était le cas, par exemple, des C₃-phénanthrènes/anthracènes, C₃- et C₄-naphtalènes). La figure 25 présente l'évolution des coefficients de réponse des dérivés alkylés obtenus en mode MRM et en mode SIM. En mode MRM, les transitions choisies pour chaque composé ne sont pas toutes basées sur la même perte de masse. Par exemple, pour les C₁-phénanthrènes/anthracènes, la transition est 192-191 soit (masse moléculaire-1) alors que pour les C₄-phénanthrènes/anthracènes, la transition 234-219 a été choisie (masse moléculaire-15). Ainsi, contrairement au mode SIM où l'on ne considère que des ions moléculaires, les analyses en MRM n'ont parfois pas montré d'évolutions des coefficients de réponse liées au niveau de ramification, en particulier lorsque les pertes de masses des transitions étaient différentes.

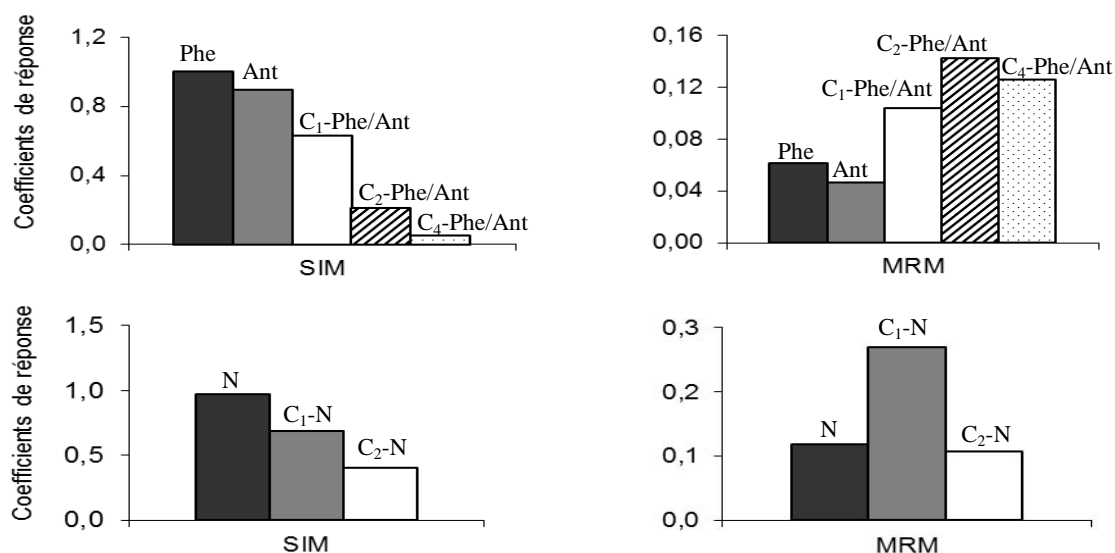


Figure 25. Comparaison des coefficients de réponse des familles de phénanthrènes/anthracènes et naphthalènes en modes SIM et MRM.

Ainsi, pour définir les coefficients de réponse des familles dont aucun isomère n'était disponible, la stratégie adoptée a été la suivante :

- Les approximations sont réalisées à partir des résultats acquis en mode SIM.
- Pour les niveaux encadrés par deux degrés de ramifications calibrés (exemple des C₃-phénanthrènes/anthracènes) la moyenne des coefficients de réponse (C₂- et C₄-phénanthrènes/anthracènes) est calculée.
- Pour les niveaux qui suivent (immédiatement ou non) un degré calibré (exemple des C₃- et C₄-naphthalènes), on applique le coefficient de réponse du niveau précédent (C₂-naphthalènes).
- Dans le cas du fluorène pour lequel on ne dispose d'aucun dérivé ramifié, une estimation des coefficients de réponse a été réalisée en considérant les rapports entre les réponses des parents et de leurs dérivés en C₁ pour l'ensemble des familles. Ainsi, il apparaît que ce rapport est compris entre 0,4 et 0,6 (Figure 26).

Il est à noter que ces approximations concernent 15 des 25 familles d'alkylés, 10 d'entre-elles étant directement calibrés et quantifiés en mode MRM.

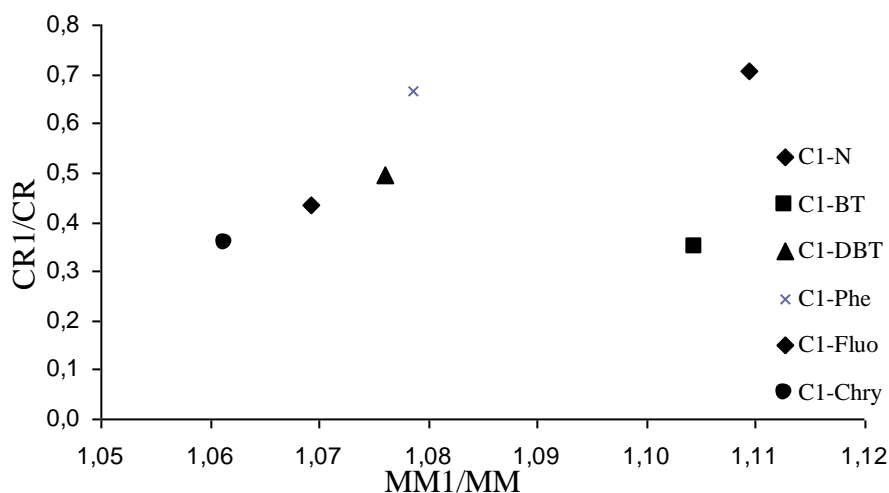


Figure 26. Estimation du coefficient de réponse des C₁-fluorènes (MM₁/MM : masse molaire des C₁/masse molaire des parents. CR₁/CR : coefficients de réponse des C₁/coefficients de réponse des parents).

L'application de la méthode ainsi mise au point a permis de caractériser le fioul de l'Erika avec une faible variabilité des résultats. Le tableau 19 présente les quantifications de l'ensemble des familles analysées, ainsi que les écarts types relatifs associés, de l'ordre de 5 à 10% dans la quasi-totalité des cas.

Tableau 19 Concentration des analytes d'intérêt dans le fioul de l'Erika.

Analytes	Concentration (µg/g)	Écart-type relatif (%) <i>n</i> = 5	Analytes	Concentration (µg/g)	Écart-type relatif (%) <i>n</i> = 5
N	908,15	9,9	C ₁ -DBT	1552,98	8,5
C ₁ -N	3416,27	7,5	C ₂ -DBT	1725,95	10,3
C ₂ -N	6664,1	11,5	C ₃ -DBT	1090,29	8,3
C ₃ -N	6109,93	7,6	C ₄ -DBT	464,36	7,9
C ₄ -N	3906,8	6,9	Fluo	68,94	10,9
B[<i>b</i>]T	94,86	9,9	Pyr	392,94	10
C ₁ -BT	762,77	10,5	C ₁ -Fluo/Pyr	2943,53	7,7
C ₂ -BT	1367,6	6,4	C ₂ -Fluo/Pyr	4344,33	8,4
C ₃ -BT	1111,68	5,9	C ₃ -Fluo/Pyr	4387,36	7,5
C ₄ -BT	526,45	8,2	B[<i>b</i>]N[2,1- <i>d</i>]T	143,36	9,8
B	57,4	9,7	B[<i>b</i>]N[1,2- <i>d</i>]T	28,21	10,5
3-PhénylT	6,14	10,1	B[<i>a</i>]Ant	259,7	10,2
Acy	1,98	14,3	Chry	467,83	12,2
Ace	203,59	9,3	C ₁ -Chry	4745,13	8,8
F	254,02	9,9	C ₂ -Chry	6367,3	6,4
C ₁ -F	1221,29	10,9	C ₃ -Chry	4825,38	9,1
C ₂ -F	1567,87	2	2-(2-Naphtyl)BT	12,85	12,5
C ₃ -F	1169,08	2,8	B[<i>b+k</i>]Fluo	106,46	8,8

Phe	907,48	11,9	B[e]Pyr	133,73	16,4
Ant	163,37	11,2	B[a]Pyr	118,44	10,1
C ₁ -Phe/Ant	3444,52	8,7	P	48,89	8,3
C ₂ -Phe/Ant	6239,04	8,7	B[b]ph[9,10-d]T	5,65	14,2
C ₃ -Phe/Ant	4279,82	4	I[1,2,3-cd]Pyr	13,74	16,4
C ₄ -Phe/Ant	5105,5	11,5	DB[a,h]Ant	37,42	8,6
N[2,3-b]T	5,06	16,9	B[ghi]P	38,63	15,7
DB[b,d]T	261,15	7,5			

2.3. Mise au point d'une méthode d'extraction (SPME) et d'analyse (GC-MS et MS-MS) des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dans l'eau de mer (publications n° 5 et 6)

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques contenus dans des échantillons d'eau sont généralement extraits par les techniques dites d'extraction liquide-liquide (LLE) ou d'extraction sur phase solide (SPE). Si le rendement de ces extractions est jugé satisfaisant, ces techniques sont consommatrices de temps et elles nécessitent des volumes conséquents de solvant. Or, suite à un déversement accidentel ou tout simplement afin de contrôler la bonne qualité d'un environnement, il est nécessaire de disposer de techniques rapides permettant de réaliser un grand nombre d'analyses. En effet, les temps de préparation, d'extraction et d'analyse peuvent constituer un frein. Dans ce contexte, la microextraction sur phase solide (SPME) couplée à la GC-MS et à la GC-MS-MS a été évaluée. Cette technique réduit de manière significative la durée et le coup d'une analyse en regroupant, l'extraction, la désorption et l'injection en un processus unique.

La validation de la méthodologie a porté sur sa linéarité, ses limites de détection et de quantification ainsi que sur sa performance pour le dosage des analytes d'intérêt effectué sur des fractions solubles (WAF) préparées au laboratoire. Pour des concentrations allant de 1 à 100 ng/L, la SPME montre une bonne linéarité. Sa sensibilité pour tous les composés étudiés est très satisfaisante. Les limites de détection sont de l'ordre ou inférieures à 0,1 ng/L. L'analyse des WAF en combinaison avec les solutions de calibration étendues à 51 composés a permis de quantifier 50 composés et 23 familles d'alkylés (Figure 27). L'étude des coefficients de réponse des composés individuels (51), ainsi que l'analyse comparée des coefficients de réponse en mode MRM et SIM, effectuée dans la publication n°4, ont permis de définir, pour chaque niveau de ramification, une méthode de quantification adaptée au nombre de molécules présentes dans les solutions de calibration. Ainsi, pour les familles dont quelques-uns de leurs représentants sont disponibles, la moyenne des coefficients de réponse a été utilisée. À titre d'exemple, les C₁-

benzothiophènes ont été quantifiés en un seul groupe en prenant la moyenne des coefficients de réponse des deux C₁-BT calibrés. Les autres familles dont aucun représentant n'était disponible (exemple des C₂-, C₃- et C₄-benzothiophènes, C₃-, C₄-naphtalènes, C₂-, C₃-fluoranthènes/pyrènes et C₂-, C₃-chrysènes), ont été quantifiées en appliquant la moyenne des coefficients de réponse des méthylbenzothiophènes, diméthylnaphtalènes, méthylpyrènes et méthylchrysènes, respectivement. La moyenne des coefficients de réponse des diméthylbenzothiophènes (C₂-DBT) et tétraméthylbenzothiophène (C₄-DBT) a été utilisée pour quantifier les C₃-DBT. La moyenne des coefficients de réponse de 1,7-diméthylphénanthrène (C₂-phe/Ant) et rétène (C₄-phe/Ant) a été utilisée pour quantifier les C₃-Phe/Ant.

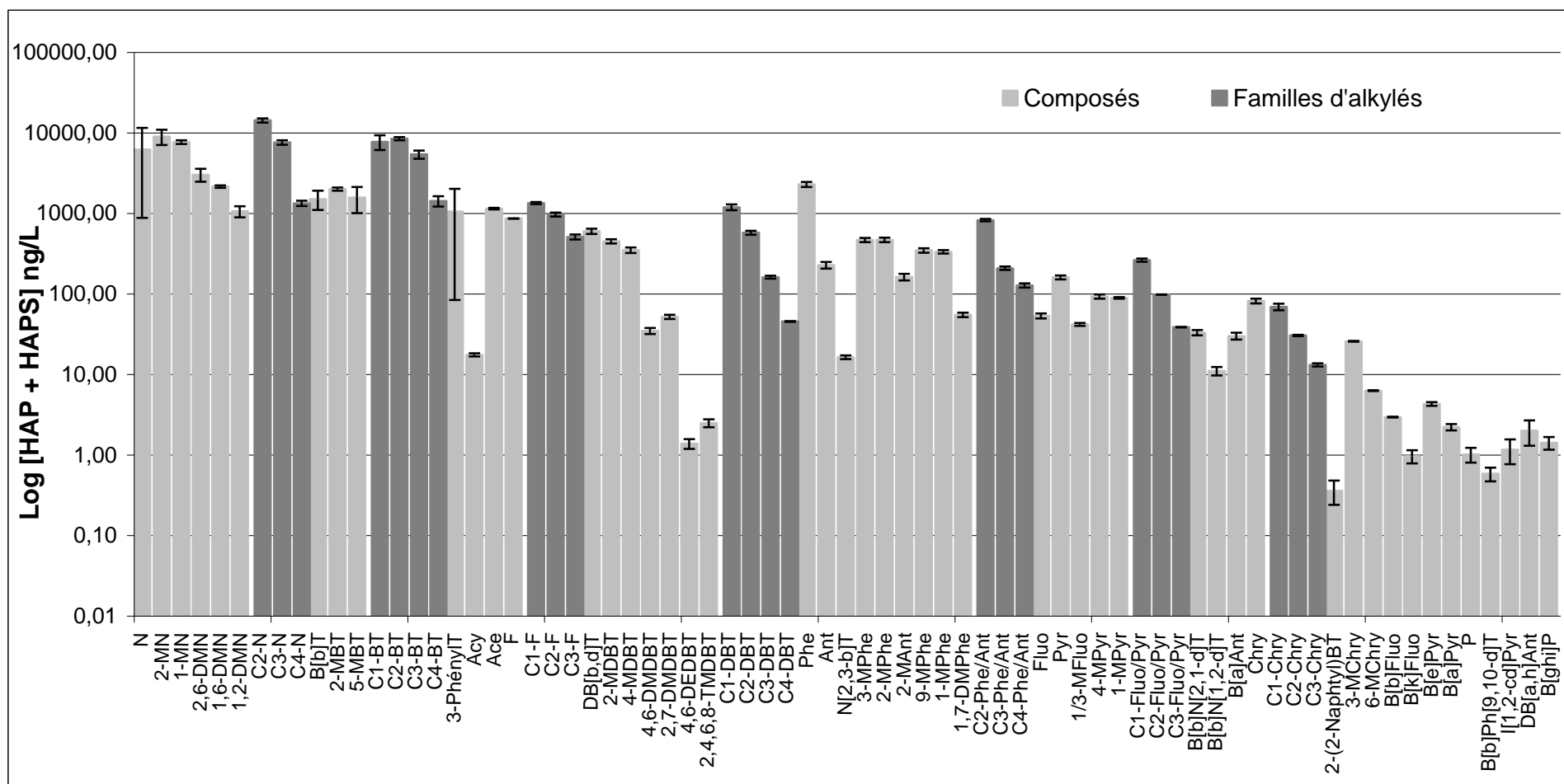


Figure 27. Extraction et analyse des composés d'intérêt dans la WAF de l'Erika par SPME-GC-MS ($n = 3$).

Enfin, le développement de la méthodologie d'analyse par GC-MS-MS a permis d'atteindre un degré de certitude élevé et d'éliminer des difficultés analytiques liées à des interférences. Ainsi, des interférents des HAPS et des HAP ont pu être éliminés en mode MRM. La figure 28 montre que la présence de ces interférents peut entraîner une surestimation du dibenzothiophène lors de sa quantification en GC-MS.

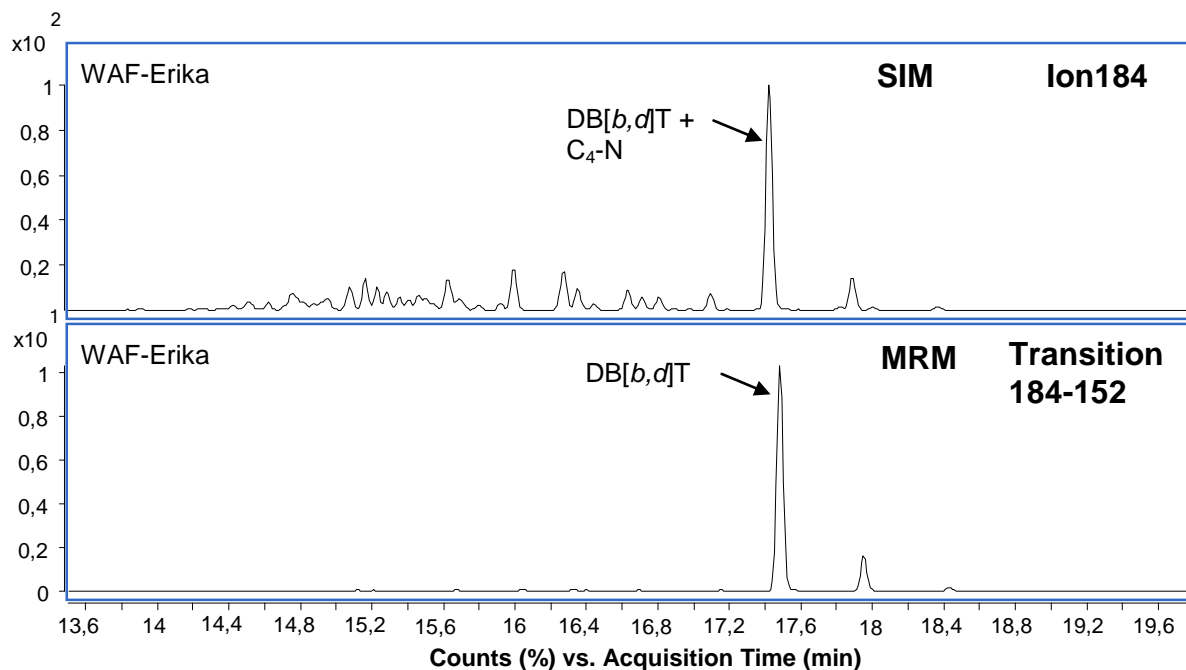


Figure 28. Intérêt de la SPME-GC-MS-MS dans le cas de l'analyse simultanée des HAP et HAPS.

Les développements analytiques présentés ici ont permis de mettre au point des méthodologies analytiques rapides, sensibles et fiables. Ces méthodologies devraient être appliquées dans de multiples situations (suivis environnementaux, expérimentations en laboratoire, pollutions accidentelles majeures,...). L'absence ou la rareté des travaux utilisant ces techniques pour l'extraction et l'analyse simultanées des HAP, HAPS et de leurs dérivés substitués justifient et appuient les développements mis en œuvre au cours de cette thèse.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion générale

L'objectif de cette thèse était de développer des méthodologies analytiques permettant l'identification et la quantification d'une gamme étendue d'hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS) ou non (HAP) et de leurs dérivés alkylés présents dans les produits pétroliers ou dissous dans de l'eau de mer.

La première étape de ce travail a consisté à développer une méthodologie d'extraction (SBSE : "Stir bar sorptive extraction") et d'analyse (TD-GC-MS) pour la détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS) dans une matrice eau de mer. Les taux de récupération ont été qualifiés par rapport à ceux obtenus en extraction liquide-liquide traditionnelle (LLE). L'analyse en GC-MS donne des résultats comparables pour les deux techniques d'extraction soulignant la performance de l'extraction en SBSE. Cette méthodologie a ensuite été étendue à l'ensemble des HAP, HAPS ainsi qu'à leurs dérivés alkylés. Après identification des paramètres susceptibles d'influencer le processus SBSE et leur caractérisation, cette méthodologie a été validée en étudiant sa linéarité et sa sensibilité. Une limite de détection de l'ordre de 0,04 ng/L, voire inférieure, a été obtenue pour chaque composé. Dès lors, la méthodologie SBSE-TD-GC-MS a pu être qualifiée sur des fractions solubles de pétrole brut préparées selon les protocoles WAF et WSF. Les molécules d'intérêt ont été détectées et quantifiées pour des concentrations allant du bruit de fond naturel observable *in situ*, de l'ordre du sub ng/L, aux concentrations mesurées en cas de déversement accidentel majeur, de l'ordre de 80 à 100 000 ng/L. La dernière phase du développement de cette méthodologie a consisté à l'appliquer sur des échantillons prélevés directement dans le milieu naturel, c'est-à-dire sur des échantillons d'eau prélevés dans le port de commerce de la ville de Brest, Finistère, France. La possibilité de détecter et de quantifier cette panoplie de molécules ouvre de nouvelles perspectives en termes de suivi de la qualité environnementale que ce soit afin de répondre aux exigences de la réglementation ou dans le cadre d'un suivi post déversement accidentel de pétrole en mer.

Cependant, si l'analyse en GC-MS-MS, soit une détection MS-MS en mode MRM, est des plus performantes pour l'analyse de composés bien définis, notamment grâce à une atténuation du bruit de fond, c'est-à-dire un degré de certitude plus élevé, cette technique reste délicate à mettre en œuvre pour l'analyse de composés dont les équivalents étalons ne sont pas disponibles commercialement, ce qui est le cas pour la majorité des composés

alkylés des hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés ou non. En effet, les approximations utilisées en GC-MS en mode SIM, à savoir une assimilation des alkylés à leurs homologues non substitués, ne sont plus pertinentes lorsqu'une seconde fragmentation est réalisée, c'est-à-dire en mode MS-MS. Pour pallier cette difficulté, un produit pétrolier renfermant l'ensemble des analytes d'intérêt a été choisi et ces analytes y ont été quantifiés à l'aide de solutions de calibration. Les résultats obtenus montrent qu'il est raisonnable de quantifier en MRM l'ensemble des composés d'un même niveau de ramification à l'aide d'au moins un représentant connu de cette famille. Ainsi, l'analyse des 52 composés individuels a permis de quantifier directement 10 des 25 familles d'alkylés. Les autres familles ont été quantifiées par approximation en mode SIM en comparant les coefficients de réponse de ce mode à ceux du mode MRM. Ce travail a permis une caractérisation du fioul de l'Erika avec une bonne répétabilité des résultats, et donc, par extension l'utilisation de ce fioul en tant que pétrole de référence. De plus, il a également souligné l'insuffisance des approximations réalisées jusqu'ici en mode SIM lors d'une analyse en GC-MS. Il a donc été intéressant d'y pallier notamment pour la quantification des hydrocarbures dissous en routine via l'utilisation de systèmes semi ou automatisés de préparation de l'échantillon tels que la SBSE ou la SPME.

L'analyse en routine des HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés dissous dans une matrice aqueuse est des plus actuelles du fait de l'évolution de la réglementation en termes de suivi de la qualité des eaux environnementales. Le travail a consisté à développer une méthodologie basée sur la microextraction sur phase solide (SPME) couplée à une analyse en GC-MS et en GC-MS-MS. La validation de la technique a montré sa linéarité (les coefficients de corrélation sont compris entre 0,971 et 0,997), sa sensibilité (les limites de détection sont de l'ordre ou inférieures à 0,1 ng/L), sa performance pour l'analyse des composés d'intérêt dans les WAF et sa sélectivité pour l'analyse simultanée des HAP soufrés ou non dans une matrice complexe comme l'eau de mer. De plus, l'analyse des coefficients de réponse de 51 composés individuels a permis d'améliorer les méthodes de quantification des familles d'alkylés en simple MS. Ces critères ajoutés à la rapidité, à la simplicité de mise en œuvre ainsi que la possibilité d'automatisation sont particulièrement intéressants et font de cette technique un outil de choix dans les suivis environnementaux à haute fréquence.

L'analyse des hydrocarbures polycycliques aromatiques est un sujet ancien qui a déjà fait l'objet de nombreux développements. Cependant, si leur caractérisation dans le pétrole brut ne cesse d'évoluer, peu de travaux portent sur l'analyse et la caractérisation d'une gamme étendue de HAP, HAPS et de leurs dérivés alkylés au sein d'une matrice aussi complexe que l'eau de mer. Le travail réalisé dans le cadre de cette recherche répond à cette problématique en présentant des développements analytiques qui ont abouti à la définition de méthodologies analytiques rapides, sensibles et fiables permettant le dosage en phase aqueuse de HAP soufrés ou non et de leurs dérivés alkylés. Ces méthodologies pouvant être utilisées en routine permettent le suivi d'un plus grand nombre de molécules aussi bien dans un contexte réglementaire (suivi de la qualité des eaux littorales...) que dans un contexte accidentel.

Cependant, cette recherche nécessite d'être élargie à d'autres composés polycycliques aromatiques, actuellement non suivis bien que présents dans le pétrole et pouvant être soupçonnés d'écotoxicité du fait de leur structure chimique, ainsi qu'à d'autres matrices complexes comme, par exemple, les tissus biologiques. En effet, les extractions SBSE et SPME pourraient être évaluées pour la détection et la quantification de molécules anthropiques ou leurs métabolites dans la bile ou l'urine prouvant ainsi l'exposition d'organismes marins ou non. Ces techniques d'extraction permettraient ainsi l'analyse d'un plus grand nombre d'échantillons, et de ce fait, une meilleure compréhension de l'étendue de la pollution et de l'ampleur de ses effets.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abrams M.A., Dahdah N.F., Francu E., **2009**. Development of methods to collect and analyze gasoline range (C5-C12) hydrocarbons from seabed sediments as indicators of subsurface hydrocarbon generation and entrapment. *Applied Geochemistry* 24: 1951-1970.
- Abilleira E., Renobales M.D., Nájera A.I., Virto M., Ruiz de Gordo J.C., Pérez-Elortondo F.J., Albisu M., Barron L.J.R., **2010**. An accurate quantitative method for the analysis of terpenes in milk fat by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry* 120: 1162-1169.
- Achouri A., Boye J.I., Zamani Y., **2006**. Identification of volatile compounds in soymilk using solid-phase microextraction-gas chromatography. *Food Chemistry* 99: 759-766.
- ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie), **1995**. Fiche n°4, convention Ademe /IRH environnement, contrat n°2750008.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), **1995**. Toxicological profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). *U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, Georgia*.
- Aguinaga N., Campillo N., Viñas P., Córdoba M.H., **2007**. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and related products using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 596: 285-290.
- Aguinaga N., Campillo N., Córdoba, M.H., Viñas, P., **2008**. A headspace solid-phase microextraction procedure coupled with gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile polycyclic aromatic hydrocarbons in milk samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 391-753-758.
- Aguilar C., Penálver S., Pocurull E., Borrull F., Marce R.M., **1998**. Solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection for the determination of pesticides in aqueous samples. *Journal of Chromatography A* 795: 105-115.
- Aizenshtat Z., **1973**. Perylene and its geochemical significance. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 37: 559-567.
- Allard S., Charrois J.W.A., Joll C.A., Heitz A., **2012**. Simultaneous analysis of 10 trihalomethanes at nanogram per liter levels in water using solid-phase microextraction and gas chromatography mass-spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1238: 15-21.
- Almedia C., Nogueira J.M.F., **2006**. Determination of steroid sex hormones in water and urine matrices by stir bar sorptive extraction and liquid chromatography with diode array detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41: 303-11.
- Álvarez I., Bermejo A.M., Tabernero M.J., Fernández P., López P., **2007**. Determination of cocaine and cocaethylene in plasma by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 845: 90-94.
- Amat A., Pfohl-Leszkowicz A., Castegnaro M., **2004**. Genotoxic activity of thiophenes on liver human cell line(HepG 2). *Polycyclic Aromatic Compounds*, vol. 24, n°4-5, pp. 733-742.
- Andreoli R., Manini R., Bergamaschi E., Brustolin B., Mutti A., **1999**. Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry for Determination of MonoaromaticHydrocarbons in Blood and Urine: Application to People Exposed to Air Pollutants. *Chromatographia* 50: 167-172.
- Andersson J.T., Schmid B., **1995**. Polycyclic aromatic sulphur heterocycles. IV. Determination of polycyclic aromatic compounds in a shale oil with the atomic emission detector. *Journal of Chromatography A* 693: 325-338.

- Andersson J.T., Sielex K., **1996**. Dimethylbenzothiophene and Methylbenzothiophenes in Crude Oils from Different Sources. *Journal of High Resolution Chromatography* 19: 49-53.
- Andersson J.T., Schrader W., **1999**. A method for measuring octanol-water partition coefficients. *Analytical Chemistry* 71: 3610-3614.
- Araujo L., Wild J., Villa N., Camargo N., Cubillan D., Prieto A., **2008**. Determination of anti-inflammatory drugs in water samples, by in situ derivatization, solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta* 75: 111-115.
- Aresta A., Monaci L., Zambonin G.C., **2002**. Determination of delorazepam in urine by solid-phase microextraction coupled to high performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 28: 965-972.
- Aresta A., Calvano C.D., Palmisano F., Zambonin C.G., **2008**. Determination of clenbuterol in human urine and serum by solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 47: 641-645.
- Aresta A., Bianchi D., Calvano C.D., Zambonin C.G., **2010**. Solid phase microextraction-Liquid chromatography (SPME-LC) determination of chloramphenicol in urine and environmental water samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 53: 440-444.
- Arthur C.L., Pawliszyn J., **1990**. Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. *Analytical Chemistry* 62: 2145-2148.
- Asia L., Mazouz S., Guiliano M., Doumenq P., Mille G., **2008**. Occurrence and distribution of hydrocarbons in surface sediments from Marseille Bay (France). *Marine Pollution Bulletin* 58: 424-455.
- Atlas R.M., **1981**. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbial Reviews* 45: 180-209.
- Atlas R.M., Bartha R., **1992**. Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. *Advances in Microbial Ecology* 12: 287-338.
- Aumatell M.R., Castellari M., Tamames E.L., Galassi S., Buxaderas S., **2004**. Characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS. *Food Chemistry* 87: 627-637.
- Azimi S., Rocher V., Muller M., Moilleron R., Thevenot D.R., **2005**. Sources, distribution and variability of hydrocarbons and metals in atmospheric deposition in an urban area (Paris, France). *Science of the Total Environment* 337: 223-239.
- Balme S., Gülarar F.O., **2012**. Rapid screening of phytosterols in orange juice by solid-phase microextraction on polyacrylate fibre derivatisation and gas chromatographic-mass spectrometric. *Food Chemistry* 132: 613-618.
- Bagheri H., Es-haghi A., Khalilian F., Rouini M.R., **2007**. Determination of fentanyl in human plasma by head-space solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 43: 1763-1768.
- Bakes M.J., Nichols P.D., **1995**. Lipid, fatty acid and squalene composition of liver oil from six species of deep-sea sharks collected in southern Australian waters. *Comparative Physiology and Biochemistry* 110B: 267-275.
- Balbão M.S., Bertucci C., Bergamaschi M.M., Costa Queiroz R.H., Malfará W.R., Carvalho Dreossi S.A., Melloc L. de P., Costa Queiroz M.E., **2010**. Rifampicin determination in plasma by stir bar-sorptive extraction and liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 5: 1078-1083.
- Baltussen B., Sandra P., David F., Cramers C., **1999**. Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a Novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principles. *Journal Microcolumn Separation* 11: 737-747.

- Bahri M., Driss M.R., **2010**. Development of solid-phase microextraction for the determination of trihalomethanes in drinking water from Bizerte, Tunisia. *Desalination* 250: 414-417.
- Barco-Bonilla N., Romero-González R., Plaza-Bolaños P., Fernández-Moreno J.L., Frenich A.G., Martínez Vidal J.L., **2011**. Comprehensive analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater using stir bar sorptive extraction and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 693: 62-71.
- Barriada-Pereira M., Serôdio P., González-Castro M.J., Nogueira J.M.F., **2010**. Determination of organochlorine pesticides in vegetable matrices by stir bar sorptive extraction with liquid desorption and large volume injection-gas chromatography-mass spectrometry towards compliance with European Union directives. *Journal of Chromatography A* 1217: 119-126.
- Baumard P., **1997**. *Biogéochimie des composés aromatiques dans l'environnement marin*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 1, France.
- Baumard P., Budzinski H., Garrigues P., Sorbe J.C., Burgeot T., Bellocq J., **1998**. Concentrations of PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediment and to trophic level. *Marine Pollution Bulletin* 36: 951-960.
- Baumard P., Budzinski H., Garrigues P., Narbonne J.-F., Burgeot T., Michel X., Bellocq J., **1999**. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus* sp) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination, and bioavailability. *Marine Environmental Research* 47: 415-439.
- Barroso M., Gallardo E., Margalho C., Ávila S., Marques E.P., Vieira D.N., Rivadulla M.L., **2005**. Application of solid phase microextraction to the determination of strychnine in blood. *Journal of Chromatography B* 816: 29-34.
- Benijts T., Vercammen J., Dams R., Tuan H.P., Lambert W., Sandra P., **2001**. Stir bar sorptive extraction-thermal desorption-capillary gas chromatography-mass spectrometry applied to the analysis of polychlorinated biphenyls in human sperm. *Journal of Chromatography B* 755: 137-142.
- Bertrand J.C., Mille G., **1989**. Devenir de la matière organique exogène. Un modèle: les Hydrocarbures. *Microorganismes dans les écosystèmes océaniques*. Bianchi M., Marty D., Bertrand J.C., Caumette P., Gauthier M.J. et al.éds. Masson publ., Paris: 343-385.
- Bertrand J.C., Bianchi M., Al Mallah M., Acquaviva M., Mille G., **1993**. Hydrocarbon Biodegradation and hydrocarbonoclastic bacterial communities composition grown in seawater as a function of sodium chloride concentration. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 168: 125-138.
- Bertrand J.C., Guillerme M., **1999**. Groupement de Recherche (GDR) « HYCAR ». *Origines, devenir et effets des hydrocarbures dans les sédiments marins* : 139 pp.
- Bertrand J.C., Doumenq P., Guyoneaud R., Benoît Marrot B., Laurent F.M., Matheron R., Moulin Ph., Soulas G., **2011**. ÉCOLOGIE MICROBIENNE APPLIQUÉE ET DÉPOLLUTION *LES MICRO-ORGANISMES ACTEURS MAJEURS DE L'ÉLIMINATION DES POLLUTIONS QUI AFFECTENT L'ENVIRONNEMENT*. Chapitre 16. *Écologie des milieux naturels anthropisés*. Bertrand J.C., Caumette P., Leberon Ph., Matheron R., Normand Ph., 2011. 981 P.
- Berthe-Corti L., Höpner T., **2005**. Geo-biological aspects of coastal oil pollution. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 219: 171-189.
- Betlej K.L., Popp P., Janoszka B., Paschke H., **2001**. Solid-phase microextraction of phthalates from water. *Journal of Chromatography A* 938: 93-101.
- Beyera J., Jonsson G., Porte C., Krahn M.M., Ariese F., **2010**. Analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollutants in fish bile: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 30: 224-244.

- Bianchin J.N., Nardini G., Merib J., Dias A.N., Martendal E., Caraseka E., **2012**. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and benzene, toluene, ethylbenzene and xylene in water samples using a new sampling strategy combining different extraction modes and temperatures in a single extraction solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry procedure. *Journal of Chromatography A* 1233: 22-29.
- Bicchi C., Iori C., Rubiolo P., Sandra P., **2002**. Headspace Sorptive Extraction (HSSE), Stir Bar Sorptive Extraction (EBSE), Solide Phase Microextraction (SPME) applied to the Analysis of roasted Arabica coffee and coffee brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 449-459.
- Bicchi C., Cordero C., Liberto E., Rubiolo P., Sgorbini B., David F., Pat Sandra P., **2005**. Dual-phase twistors: A new approach to headspace sorptive extraction and stir bar sorptive extraction. *Journal of Chromatography A* 1094: 9-16.
- Bi X., Sheng G., Peng P., Chen Y., Zhang Z., Fu J., **2003**. Distribution of particulate- and vapor-phase n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in urban atmosphere of Guangzhou, China. *Atmospheric Environment* 37: 289-298.
- Blasco C., Font G., Y. Picó Y., **2002**. Comparison of microextraction procedures to determine pesticides in oranges by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 970: 201-212.
- Blasco C., Fernández M., Picó Y., Font G., **2004**. Comparaison of solid-phase microextraction ans stir bar sorptive extraction for determination six organophosphorus insecticides in honey by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1030: 77-85.
- Blumer M., Thomas D.W., **1965**. Phytadienes in zooplankton. *Science* 147: 1148-1149.
- Blumer M., **1976**. Polycyclic aromatic compounds in nature. *Scientific American* 234: 35-45.
- Bojko B., Vuckovic D., Cudjoe E., Hoque M.E., Mirnaghi F., Wąsowicz M., Jerath A., Pawliszyn J., **2011**. Determination of tranexamic acid concentration by solid phase microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry: First step to in vivo analysis. *Journal of Chromatography B* 879: 3781-3787.
- Bonet-Domingo E., Grau-González S., Martín-Biosca Y., Medina-Hernández M.J., Sagrado S., **2007**. Harmonized internal quality aspects of a multi-residue method for determination of forty-six semivolatile compounds in water by stir-bar-sorptive extraction-thermal desorption gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387: 2537-2545.
- Boehm P.D., Douglas G.S., Burns W.A., Mankiewicz P.J., Page D.S., Bence A.E., **1997**. Application of petroleum hydrocarbon chemical fingerprinting and allocation techniques after the Exxon Valdez oil spill. *Marine Pollution Bulletin* 34: 599-613.
- Bouchez M., Blanchet D., Haeseler F., Vandecasteele J.P., **1996**. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement. 1ère partie : Propriétés, origines, devenir. *Oil & Gas Science and Technology-Revue de l'IFP* 51: 407-419.
- Boukir A., Guillano M., Doumenq P., El hallaoui A., Mille G., **1998**. Caractbrisation structurale d'asphaltènes pétroliers par spectroscopic infrarouge (IRTF). Application à la photo-oxydation. *Electrochimie et Photochimie*. C. R. Acad. Sci. Paris, t. 1, Série II c, p. 597-602.
- Bourdat-Deschamps M., Daudin J.-J., Barriuso E., **2007**. An experimental design approach to optimize the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons from rainfall water using stir bar sortpive extraction and high performance liquid chromatography-fluorescence. *Journal of Chromatography A* 1167: 143-153.
- Brack W., Schirmer A., **2003**. Effect-Directed Identification of Oxygen and Sulfur Heterocycles as Major Polycyclic Aromatic Cytochrome P4501A-Inducers in Contaminated Sediment. *Environmental Science & Technology* 37: 3062-3070.

- Braun P., Moeder M., Schrader St., Popp P., Kusch P., Engewald W., **2003**. Trace analysis of technical nonylphenol, bisphenol A and 17 α -ethinylestradiol in wastewater using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 988: 41-51.
- Bray E.E., Evans E.D., **1961**. Distribution of n-paraffins as a clue to recognition of source beds. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 22: 2-15.
- Brossa L., Marcé R.M., Borrull F., Pocurull E., **2005**. Determination of Endocrine Disruptors in Environmental Water Samples by Stir Bar Sorptive Extraction-Liquid Desorption-Large Volume Injection-Gas Chromatography. *Chromatographia* 61: 61-65.
- Budzinski H., Garrigues P., Connan J., Bellocq J., **1993**. Identification of alkylated dibenzothiophenes: Application to organic geochemistry, in Garrigues P. and Lamotte M. (Editors), *Polycyclic Aromatic Compounds-Synthesis, Properties, Analytical Measurements, Occurrence, and Biological Effects; PAH XIII*, Gordon & Breach, London, pp. 611- 620.
- Budzinski H., **1993**. *Les composés aromatiques alkylés dans les échantillons pétroliers: Aspects physico-chimiques et thermodynamiques*. Thèse de Doctorat, Université Bordeaux1, Bordeaux, France. 306p.
- Budzinski H., Jones I., Bellocq J., Pierard C., Garrigues P., **1997**. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry* 58: 85-97.
- Budzinski H., Raymond N., Nadalig T., Gilewicz M., Garrigues P., Bertrand J.C., Caumette P., **1998**. Aerobic biodegradation of alkylated aromatic hydrocarbons by a bacterial community. *Organic Geochemistry* 28: 337-348.
- Budzinski H., Mazéas O., Tronczynski J., Désaunay Y., Bocquené G., Claireaux G., **2004**. Link between exposure of fish (*Solea solea*) to PAHs and metabolites: Application to the “Erika” oil spill. *Aquatic Living Resources* 17: 329-334.
- Budavari S., O'Neil M.J., Smith T.A., Heckelman P.E., Kinneary J.F., **1996**. *The Merck Index: An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Twelfth edition*. USA: Merck & Co., Inc. 1741 p.
- Burgot G., Pellerin F., **2003**. Micro-extraction sur phase solide. *Technique de l'Ingénieur*.
- Cacho J.I., Campillo N., Viñas P., Córdoba M.H., **2012a**. Stir bar sorptive extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the determination of bisphenols in canned beverages and filling liquids of canned vegetables. *Journal of Chromatography A* 1247: 146-153.
- Cacho J.I., Campillo N., Viñas P., Córdoba M.H., **2012b**. Determination of alkylphenols and phthalate esters in vegetables and migration studies from their packages by means of stir bar sorptive extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1241: 21-27.
- Campo L., Mercadante R., Rossella F., Fustinoni S., **2009**. Quantification of 13 priority polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine by headspace solid-phase microextraction gas chromatography-isotope dilution mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 631: 196-205.
- Canosa P., Rodriguez I., Rubi E., Cela R., **2005**. Optimization of solid-phase microextraction conditions for the determination of triclosan and possible related compounds in water samples. *Journal of Chromatography A* 1072: 107-115.
- Canosa P., Rodriguez I., Rubi E., Bollain M.H., Cela R., **2006**. Optimisation of a solid-phase microextraction method for the determination of parabens in water samples at the low ng per litre level. *Journal of Chromatography A* 1124: 3-10.
- Carpinteiro J., Quintana J.B., Martínez E., Rodríguez I., Lorenzo R.A., Carro A.M., Cela R., **2004**. Application of strategic sample composition to the screening of anti-inflammatory drugs in water samples using solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta* 524: 63-71.

- Cavaliere B., Monteleone M., Naccarato A., Sindona G., Tagarelli A., **2012**. A solid-phase microextraction-gas chromatographic approach combined with triple quadrupole mass spectrometry for the assay of carbamate pesticides in water samples. *Journal of Chromatography A* 1257: 149-157.
- Castells P., Santos F.J., Galceran M.T., **2003**. Solid-phase microextraction for the analysis of short-chain chlorinated paraffins in water samples. *Journal of Chromatography A* 984:1-8.
- Cervera M.I., Beltran J., Lopez F.J., Hernandez F., **2011**. Determination of volatile organic compounds in water by head space-solid-phase microextraction gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry with triple quadrupole analyzer. *Analytica Chimica Acta* 704: 87-97.
- Chang B.V., Shiung L.C., Yuan S.Y., **2002**. Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil. *Chemosphere* 48: 717-724.
- Chang S.M., Doong R.A., **2006**. Concentration and fate of persistent organochlorine pesticides in estuarine sediments using headspace solid-phase microextraction. *Chemosphere* 62: 1868-1878.
- Chia K.J., Huang S.D., **2005**. Simultaneous derivatization and extraction of amphetamine-like drugs in urine with headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 539: 49-54.
- Chai M.K., Guan T.H., **2009**. Validation of a headspace solid-phase microextraction procedure with gas chromatography-electron capture detection of pesticide residues in fruits and vegetables. *Food Chemistry* 117: 561-567.
- Chai M.K., Guan T.H., **2010**. Headspace solid-phase microextraction for the evaluation of pesticide residue contents in cucumber and strawberry after washing treatment. *Food Chemistry* 123: 760-764.
- Chai Q., Wu B., Liu W., Wang L., Yang C., Wang Y., Fang J., Liu Y., Li S., **2012**. Volatiles of plums evaluated by HS-SPME with GC-MS at the germplasm level. *Food Chemistry* 130: 432-440.
- Chaves A.R., Silva S.M., Costa Queiroz R.H., Lanças F.M., Costa Queiroz M.E., **2007**. Stir bar sorptive extraction and liquid chromatography with UV detection for determination of antidepressants in plasma samples. *Journal of Chromatography B* 850: 295-302.
- Chen J., Pawliszyn J.B., **1995**. Solid phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography. *Analytical Chemistry* 67: 2530-2533.
- Cho D.H., Kong S.H., Oh S.G., **2003**. Analysis of trihalomethanes in drinking water using headspace-SPME technique with gas chromatography. *Water Research* 37: 402-408.
- Chuang J.C., Mack G.A., Kuhlman M.R., Wilson N.K., **1991**. Polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives in indoor and outdoor air in an eight-home study. *Atmospheric Environment B* 25: 369-380.
- Chou C.C., Lee M.R., **2005**. Determination of organotin compounds in water by headspace solid phase microextraction with gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1064: 1-8.
- Clark B.J., Parsons C., Yen B., Ahier J., Alexander D., Mackay **1987**. A STUDY OF FACTORS INFLUENCING OIL SUBMERGENCE, Report EE-90 prepared for Conservation and Protection, Environment Canada.
- Commendatore M.G., Nieves M.L., Amin O., Esteves J.L., **2012**. Sources and distribution of aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in coastal sediments from the Ushuaia Bay (Tierra del Fuego, Patagonia, Argentina). *Marine Environmental Research* 74: 20-31.
- Cortazar E., Zuloaga O., Sanz J., Raposo J.C., Etxebarria N., Fernández L.A., **2002**. MultiSimplex optimisation of the solid-phase microextraction-gas chromatographic-mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls and phthalates from water samples. *Journal of Chromatography A* 978: 165-175.

- Colombo J.C., Pelletier E., Brochu C., Khalil M., Catoggio J.A., **1989**. Determination of hydrocarbon sources using n-alkane and polyaromatic hydrocarbon distribution indexes. Case study: Rio de La Plata estuary, Argentina. *Environmental Science & Technology* 23: 888-894.
- Commendatore M.G., Esteves J.L., **2004**. Natural and anthropogenic hydrocarbons in sediments from the Chubut River (Patagonia, Argentina). *Marine Pollution Bulletin* 48: 910-918.
- Cupples A.M., **2011**. The use of nucleic acid based stable isotope probing to identify the microorganisms responsible for anaerobic benzene and toluene biodegradation. *Journal of Microbiological Methods* 85: 83-91.
- Da Huang S., Cheng C.P., Sung Y.H., **1997**. Determination of benzene derivatives in water by solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta* 343: 101-108.
- Darias J.L., Pino V., Meng Y., Anderson J.L., Afonso A.M., **2010**. Utilization of a benzyl functionalized polymeric ionic liquid for the sensitive determination of polycyclic aromatic hydrocarbons; parabens and alkylphenols in waters using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-flame ionization detection. *Journal of Chromatography A* 1217:7189-7197.
- David F., Tienpont B., Sandra P., **2003**. Stir-bar sorptive extraction of trace organic compounds from aqueous matrices. *LCGC Europe* 21: 108-121.
- David F., Sandra P., **2007**. Stir bar sorptive extraction for trace analysis. *Journal of Chromatography A* 1152: 54-69.
- De Cesare F., Pantalei S., Zampetti E., Antonella Macagnano A., **2008**. Electronic nose and SPME techniques to monitor phenanthrene biodegradation in soil. *Sensors and Actuators* 131: 63-70.
- De Perre C., Crespo A., Abou Mrad N., Le Menach K., Jaber F, Parlanti E., Budzinski H. **2009**. Interest of solid phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of polycyclic aromatic compound contamination in water samples. *Spectra Analyse* 266: 28-35.
- De Kruif C.G., **1980**. Enthalpies of sublimation and vapour pressures of 11 polycyclic hydrocarbons. *Journal of chemical Thermodynamics* 12: 243-248.
- De Luca G., Furesi A., Leardi R., Micera G., Panzanelli A., Piu P.C., Sanna G., **2005**. Nature, distribution and origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the sediments of Olbia harbor (Northern Sardinia, Italy). *Marine Pollution Bulletin* 50: 1223-1232.
- De Martinis B.S., Martins Ruzzene M.A., Santos Martin C.C., **2004**. Determination of ethanol in human blood and urine by automated headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography. *Analytica Chimica Acta* 522: 163-168.
- De La Torre-Roche R.J., Lee W.Y., Diaz Sandra I.C., **2009**. Soil-borne Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in El Paso, Texas: Analysis of a Potential Problem in the United States/Mexico Border Region. *Journal of Hazardous Material* 163: 946-958.
- Deprez P.P., Volkman J.K., Davenport, S.R., **1990**. Squalene content and neutral lipids composition of Livers from Deep-sea sharks caught in Tasmanian waters. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 41: 375-387.
- Desmet K., Tienpont B., Sandra P., **2003**. Analysis of 1-Hydroxypyrene in Urine as Pall Exposure Marker Using in-situ Derivatisation Stir Bar Sorptive Extraction-Thermal Desorption-Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Chromatographia* 57: 681-685.
- Derouiche A., Driss M.R., Morizur J.P., Taphanel M.H., **2007**. Simultaneous analysis of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in water by headspace solid-phase microextraction with gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1138: 231-243.

- Doorn H.V., Grabanski C.B., Miller D.J., Hawthorne S.B., **1998**. Solid-phase microextraction with pH adjustment for the determination of aromatic acids and bases in water. *Journal of Chromatography A* 829: 223–233.
- Doong R.A., Chang S.M., Sun Y.C., **2000**. Solid-phase microextraction for determining the distribution of sixteen US environmental protection agency polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Journal of Chromatography A* 879: 177-188.
- Doumenq P., Guiliano M., Beaulieu J.L.D., Bertrand J.C., **2005**. Origines, devenir et effets des hydrocarbures dans les sédiments marins. Présentation des travaux du GDR Hycar. *Natures Sciences Sociétés* 13: 76-80.
- Dou J., Liu X., Hu Z., Deng D., **2008**. Anaerobic BTEX biodegradation linked to nitrate and sulfate reduction. *Journal of Hazardous Materials* 151: 720-729.
- Dutta T.K., Harayama S., **2000**. Fate of Crude Oil by the Combination of Photooxidation and Biodegradation. *Environmental Science & Technology* 34: 1500-1505.
- Edwards N.T., **1983**. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the terrestrial environment. A review. *Journal of Environmental Quality* 12: 427-441.
- Eriksson M., Fäldt J., Dalhammar G. Karlson A.K.B., **2001**. Determination of hydrocarbons in old creosote contaminated soil using headspace solid phase microextraction and CG-MS. *Chemosphere* 44: 1641-1648.
- Escobar M., Márquez G., Azuaje V., Da Silva A., Tocco R., **2012**. Use of biomarkers, porphyrins, and trace elements to assess the origin, maturity, biodegradation, and migration of Alturitas oils in Venezuela. *Fuel* 97: 186-196.
- Fan W., Xu Y., Han Y., **2011**. Quantification of Volatile Compounds in Chinese Ciders by Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). *Journal of the Institute of Brewing* 117: 61-66.
- Fernandes C., Jiayu P., Sandra P., Lancas F.M., **2006**. Stir bar sorptive extraction-LC-MS for the analysis of fluoxetine in plasma. *Chromatographia* 64: 517-521.
- Fernández Ó., Vázquez L., Reglero G., Torres C.F., **2012**. Discrimination against diacylglycerol ethers in lipase-catalysed ethanolysis of shark liver oil. *Food Chemistry*, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.004>.
- Filho A.M., Neves dos Santos F., Afonso de P. Pereira P., **2010**. Development, validation and application of a method based on DI-SPME and GC-MS for determination of pesticides of different chemical groups in surface and groundwater samples. *Microchemical Journal* 96: 139-145.
- Fingas M., **1995**. Water-in-oil emulsion formation: A review of physics and mathematical modelling. *Spill Science & Technology. Bulletin* 2: 55-59.
- Fraser, M.P., Yue, Z.W., Tropp, R.J., Kohl, S.D., Chow, J.C., **2002**. Molecular composition of organic fine particulate matter in Huston, TX. *Atmospheric Environment* 36: 5751-5758.
- Freeman D.J., Cattell C.R., **1990**. Woodburning as a source of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science & Technology* 24: 1581-1585.
- Fucci N., De Giovanni N., Chiarotti M., **2003**. Simultaneous detection of some drugs of abuse in saliva samples by SPME technique. *Forensic Science International* 134: 40-45.
- Gallardo E., Barroso M., Margalho C., Cruz A., Vieira D.N., Rivadulla M.L., **2006**. Determination of quinalphos in blood and urine by direct solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 832: 162-168.

- García-Falcón M.S., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J., **2004**. Stirring bar sorptive extraction in the determination of PAHs in drinking waters. *Water Research* 38: 1679-1684.
- Gao X., Chen S., **2008**. Petroleum pollution in surface sediments of Daya Bay, South China, revealed by chemical fingerprinting of aliphatic and alicyclic hydrocarbons. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 80: 95-102.
- Garrigues P., Budzinski H., Manitz M.P., Wise S.A., **1995**. Pyrolytic and petrogenic inputs in recent sediments: a definitive signature through phenanthrene and chrysene compound distribution. *Polycyclic Aromatic Compounds* 7: 275-284.
- Gilbert F., Stora G., Bertrand J.C., **1996**. In situ bioturbation and hydrocarbon fate in an experimental contaminated mediterranean coastal ecosystem. *Chemosphere* 33: 1449-1458.
- Gilbert F., Stora G., Desrosiers G., Deflandre B., Bertrand J.C., Poggiale J.C., Gagné J.P., **2001**. Alteration and release of aliphatic compounds by the polychaete *Nereis virens* (Sars) experimentally fed with hydrocarbons. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 256: 199-213.
- Globig D., Weickhardt C., **2005**. Fully automated in-tube solid-phase microextraction for liquid samples coupled to gas chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381: 656-659.
- Gmeiner G., Krassnig C., Schmid E., Tausch H., **1998**. Fast Screening Method for the Profile Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Metabolites in Urine, Using Derivatization-SPME. *Journal of chromatography B* 705: 132-138.
- Gonçalves C., Alpendurada M.F., **2002**. Multiresidue method for the simultaneous determination of four groups of pesticides in ground and drinking waters, using solid-phase microextraction-gas chromatography with electron-capture and thermionic specific detection. *Journal of Chromatography A* 968: 177-190.
- Grossi V., Baas M., Schogt N., Klein Breteler W.C.M., De Leeuw J.W., Rontani J.-F., **1996**. Formation of phytadienes in the water column: myth or reality? *Organic Geochemistry* 24: 833-839.
- Grossi V., Raphel D., Hirschler-Réa A., Gilewicz M., Mouzdahir A., Bertrand J.C., Rontani J.-F., **2000**. Anaerobic biodegradation of pristane by a marine sedimentary bacterial and/or archaeal community. *Organic Geochemistry* 31: 769-772.
- Gokbulut I., Karabulut I., **2012**. SPME-GC-MS detection of volatile compounds in apricot varieties. *Food Chemistry*. 132: 1098-1102.
- González V.F., Graña E.C., Lorenzo S.M., Mahía P.L., Rodríguez D.P., **2007a**. Solid-phase microextraction-gas chromatographic-tandem mass spectrometric analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons Towards the European Union water directive 2006/0129 EC. *Journal of Chromatography A* 1176: 48-56.
- González E.B., Graña E.C., Guimaraes A., Gonçalves C., Lorenzo S.M., Alpendurada M.F., **2007b**. Optimisation and validation of a solid-phase microextraction method for simultaneous determination of different types of pesticides in water by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1141: 165-173.
- González V.F., Graña E.C., Lorenzo S.M., Mahía P.L., Rodríguez D.P., **2008**. Pressurized hot water extraction coupled to solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. *Journal of Chromatography A* 1196-1197: 65-72.
- Guan W., Wang Y., Xu F., Guan Y., **2008**. Poly (phthalazine ether sulfone ketone) as novel stationary phase for stir bar sorptive extraction of organochlorine compounds and organophosphorus pesticides. *Journal of Chromatography A* 1177: 28-25.

- Guerrero E.D., Marin R.N., Mejias R.C., Barroso, C.G., **2006**. Optimisation of stir bar sorptive extraction applied to the determination of volatile compounds in vinegars. *Journal of Chromatography A* 1104: 47-53.
- Guerrero E.D., Castro Mejias R., Marin R.N., Barroso C.G., **2007**. Optimization of stir bar sorptive extraction applied to the determination of pesticides in vinegars. *Journal of Chromatography A* 1165: 144-50.
- Guillén M.D., Sopelana P., **2005**. Headspace Solid-Phase Microextraction as a Tool to Estimate the Contamination of Smoked Cheeses by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Journal of Dairy Science* 1: 13-20.
- Guide d'intervention chimique. Essence sans plomb. Cedre. Edition: Décembre 2008.
- Hampel D., Armin Mosandl A., Wüst M., **2005**. Biosynthesis of mono- and sesquiterpenes in carrot roots and leaves (*Daucus carota* L.): metabolic cross talk of cytosolic mevalonate and plastidial methylerythritol phosphate pathways. *Phytochemistry* 66: 305-311.
- Harms G., Rabus R., Widdel F., **1999**. Anaerobic oxidation of the aromatic plant hydrocarbon pcymentene by newly isolated denitrifying bacteria. *Archives of Microbiology* 172: 303-312.
- Harris S.A., Whiticar M.J., Eek M.K., **1999**. Molecular and isotopic analysis of oils by solid phase microextraction of gasoline range hydrocarbons. *Organic Geochemistry* 30: 721-737.
- Havenga W.J., Rohwer E.R., **1999**. Chemical characterization and screening of hydrocarbon pollution in industrial soils by headspace solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A* 848: 279-295.
- Hawthorne S.B., Grabanski C.B., Miller D.J., Kreitinger J.P., **2005**. Solid-phase microextraction measurement of parent and alkyl polycyclic aromatic hydrocarbons in milliliter sediment pore water samples and determination of K(DOC) values. *Environmental Science & Technology* 39: 2795-803.
- Heininger P., Claus E., **1995**. Determination of organic sulphur compounds in of the river Elbe using gas chromatography with flame photometric detection. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 353: 88-92.
- Hegazi A.H., Andersson J.T., El-Gayar M.Sh., **2003**. Application of gas chromatography with atomic emission detection to the geochemical investigation of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in Egyptian crude oils *Fuel Processing Technology* 85: 1-19.
- Hegazi A.H., Andersson J.T., **2007**. Characterization of Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles for Source Identification. In *Environmental forensics: spill oil fingerprinting and source identification*, (Z. Wang, S. Stout, Eds.), Elsevier, Amsterdam, p. 147-168.
- Heurtas C., Morillo J., Usero J., Manarillo I.G., **2007**. Validation of stir bar sorptive extraction for the determination of 24 priority substances from the European Water Framework Directive in estuarine and seawater. *Talanta* 72: 1149-1156.
- Hill P.G., Smith R.M., **2000**. Determination of sulphur compounds in beer using headspace solid phase microextraction and gas chromatographic analysis with pulsed flame photometric detection. *Journal of Chromatography A* 872: 203-213.
- Holliger C., Zehander A.J.B., **1996**. Anaerobic biodegradation of hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology* 7: 326-330.
- Ho T.Y., Rogers M.A., Drushel H.V., Koons C.B., **1974**. Evolution of sulfur compounds in crude oils. *The American Association of Petroleum Geologists Bulletin* 56: 2338-2348.
- Hornafius J.S., Quigley D., Luyendyk B.P., **1999**. The world's most spectacular marine hydrocarbon seeps (Coal Oil Point, Santa Barbara Channel, California): Quantification of emissions. *Journal of Geophysical Research-Oceans* 104: 20703-20711.

- Houya V., Jaffrezo J.L., Garrigues P., Clain M.P., Masclet P., **1996**. Deposition of aerosol in polar regions- Contamination of the ice sheet by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Polycyclic Aromatic Compounds* 8: 35-44.
- Hou Y., Cao Q., Xie X., Wang B., Xu J., Yang L., Yang Y., Yang Yo., **2007**. Determination of Pyrethroid Pesticide Residues in Tobacco Leaves and Tea Using Stir Bar Sorptive Extraction-Thermal Desorption and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Chinese Journal of Chromatography* 25: 25-29.
- Huang X., Yuan D., Huang B., **2008**. Determination of steroid sex hormones in urine matrix by stir bar sorptive extraction based on monolithic material and liquid chromatography with diode array detection. *Journal of Chromatography A* 1194: 134-138.
- Huang W., Wang Z., Yan W., **2012**. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Zhanjiang Bay and Leizhou Bay, South China. *Marine Pollution Bulletin* 64: 1962-1969.
- Huseby B., Barth T., Ocampo R., **1996**. Porphyrins in Upper Jurassic source rocks and correlations with other source rock descriptors. *Organic Geochemistry* 25: 273-274.
- Iglesias J., Gallardo J.M., Medina I., **2010**. Determination of carbonyl compounds in fish species samples with solid-phase microextraction with on-fibre derivatization. *Food Chemistry* 123: 771-778.
- INERIS, **2003**. Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs). Évaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérigènes : Approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique -FET) et approche par mélanges - Évaluation de la relation dose-réponse pour des effets non cancérigènes : Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR). Rapport final (DOORNAERT B et PICHARD A). <http://chimie.ineris.fr/fr/lespdf/haps.pdf>.
- Institute of Inorganic and Analytical Chemistry. PASH Standard Solutions. www.pash-standards.de Accessed. 10 June, **2012**.
- Ishii Y., Kawaguchi M., Ito R., Iwasak Y., Saito K., Nakazawa H., **2006**. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in River Water by HPLC after Stir Bar Sorptive Extraction. *BUNSEKI KAGAKU* 55: 949-954.
- Itoh N., Tao H., Ibusuki T., **2005**. Optimization of aqueous acetylation for determination of hydroxyl polycyclic aromatic hydrocarbons in water by stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 535: 243-250.
- ITOPF. **1987**. *La lutte contre la pollution*. Londres: International Tanker Owners Pollution Federation (ITOPF).
- Jacquot F., Le Dreau Y., Doumenq P., Munoz D., **1999**. The origins of hydrocarbons trapped in the lake of Berre sediments. *Chemosphere* 39: 1407-1419.
- Jacob J., **1990**. *Sulfur Analogues of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (Thiaarenes)*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, pp. 1-281.
- Jaraula C.M.B., Kenig F., Doran P.T., Priscu J.C., Welch K.A., **2008**. SPME-GCMS study of the natural attenuation of aviation diesel spilled on the perennial ice cover of Lake Fryxell. Antarctica. *Science of The Total Environment* 407: 250-262.
- Jia F., Cui X., Wang W., Moreno L.D., Gan J., **2012**. Using disposable solid-phase microextraction (SPME) to determine the freely dissolved concentration of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in sediments. *Environmental Pollution* 167: 34-40.
- Jiang X., Xia Z., Deng L., Wei W., Chen J., Xu J., Li H., **2012**. Evaluation of accuracy for the measurement of octanol-water partition coefficient by MEEKC. *Chromatographia* 75: 347-352.

- Júnior J.L.R., Poppi N.R., **2007**. Determination of organochlorine pesticides in ground water samples using solid-phase microextraction by gas chromatography-electron capture detection. *Talanta* 72: 1833-1841.
- Juan-Garcia A., Manes J., Font G., Pico Y., **2004**. Evaluation of solid-phase extraction and stir-bar sorptive extraction for the determination of fungicide residues at low mg/kg levels in grapes by liquid chromatography-mass spectrometry *Journal of Chromatography A* 1050: 119-127.
- Kanally R.A., Harayama S., **2000**. Biodegradation of high-molecular-weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by bacteria. *Journal of Bacteriology* 182: 2059-2067
- Karcher W., Nelen A., Depaus R., Van Eijk J., Claude P., JACOB J., **1981**. New results in the detection, identification and mutagenic testing of heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. IN: *Chemical Analysis and Biological Fate: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, 5th Int Symp. Battelle-Press, Columbus, Ohio, USA*. pp. 317-32.
- Karcher W., Devillers J., Garrigues P., Jacob J., **1991**. Spectral atlas of polycyclic aromatic compounds. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, p21.
- Karcher W., **1988**. Spectral atlas of polycyclic aromatic compounds, Vol. 2. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, pp16-18, 55.
- Kawaguchi M., Ito R., Honda H., Endo N., Okanouchi N., Saito K., Seto Y., Nakazawa H., **2008a**. Measurement of Benzophenones in Human Urine Samples by Stir Bar Sorptive Extraction and Thermal Desorption-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *ANALYTICAL SCIENCES* 24: 1509-1512.
- Kawaguchi M., Ito R., Honda H., Endo N., Okanouchi N., Saito K., Seto Y., Nakazawa H., **2008b**. Determination of urinary triclosan by stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 875: 577-80.
- Kawaguchi M., Ito R., Sakui N., Okanouchi N., Saito K., Seto Y., Nakazawa H., **2007**. Stir-bar-sorptive extraction, with in-situ deconjugation, and thermal desorption with in-tube silylation, followed by gas chromatography-mass spectrometry for measurement of urinary 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol glucuronides. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 388: 391-398.
- King, A.J., Readman, J.W., Zhou, J.L., **2004**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 523: 259-267.
- Kishimoto T., Wanikawa A., Kagami N., Kawatsura K., Agric J., **2005**. Analysis of hop-derived terpenoids in beer and evaluation of their behavior using the stir bar-sorptive extraction method with GC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4701-7.
- Klein D.R., Flannelly D.F., Schultz M.M., **2010**. Quantitative determination of triclocarban in wastewater effluent by stir bar sorptive extraction and liquid desorption-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217: 1742-1747.
- Koster E.H.M., Wemes C., Morsink J.B., de Jong G.J., **2000**. Determination of lidocaine in plasma by direct solid-phase microextraction combined with gas chromatography. *Journal of Chromatography B* 739:175-182.
- Konn C., Charlou J.L., Donval J.P., Holm N.G., **2012**. Characterisation of dissolved organic compounds in hydrothermal fluids by stir bar sorptive extraction - gas chromatography - mass spectrometry. Case study: the Rainbow field (36°N, Mid-Atlantic Ridge). *Geochemical Transactions* 13:8 doi:10.1186/1467-4866-13-8.
- Kolahgar B., Hoffmann A., Heiden A.C., **2002**. Application of stir bar sorptive extraction to the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. *Journal of Chromatography A* 963: 225-230.

- Kole P.L., Millership J., McElnay J.C., **2011**. Stir bar sorptive extraction of diclofenac from liquid formulations: A proof of concept study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 54: 701-710.
- Koide I., Noguchi O., Okada K., Yokoyama A., Oda H., Yamamoto S., Kataoka H., **1998**. Determination of amphetamine and methamphetamine in human hair by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography with nitrogen–phosphorus detection. *Journal of Chromatography B* 707: 99-104.
- Kreck M., Scharrer A., Bilke S., Mosandl A., **2002**. Enantioselective analysis of monoterpene compounds in essential oils by stir bar sorptive extraction (SBSE)-enantio-MDGC-MS. *Flavour and Fragrance Journal* 17: 32-40.
- Kristiana I., Joll C., Heitz A., **2012**. Analysis of halonitriles in drinking water using solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1225: 45-54.
- Kropp K.G., Fedorak P.M., **1998**. A review of the occurrence, toxicity, and biodegradation of condensed thiophenes found in petroleum. *Canadian Journal of Microbiology* 44: 605-622.
- Lambropoulou D.A., Konstantinou I.K., Albanis T.A., **2000**. Determination of fungicides in natural waters using solid-phase microextraction and gas chromatography coupled with electron-capture and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 893: 143-156.
- Lambropoulou D.A., Albanis T.A., **2001**. Optimization of headspace solid-phase microextraction conditions for the determination of organophosphorus insecticides in natural Waters. *Journal of Chromatography A* 922: 243-255.
- Lambropoulou D.A., Sakkas V.A., Albanis T.A., **2003**. Determination of antifouling compounds in marine sediments by solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1010: 1-8.
- Laflamme R.E., Hites R.A., **1979**. Tetra- and pentacyclic, naturally-occurring aromatic hydrocarbons in recent sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43: 1687-1691.
- Lasekan O., **2012**. Headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) determination of volatile compounds in roasted plantains (French sombre and Dwarf Kalapua). *LWT - Food Science and Technology* 46: 536-541.
- Le Dréau Y., Gilbert P., Doumenq P., Asia L., Bertrand J.C., Mille G., **1997a**. The use of hopanes to track *in situ* variations in petroleum composition in surface sediments. *Chemosphere* 34: 1663-1672.
- Le Dréau Y., Jacquot F., Doumenq P., Guillano M., Bertrand J.C., Mille G., **1997b**. Hydrocarbon Balance of a Site which had been Highly and Chronically Contaminated by Petroleum Wastes of a Refinery (from 1956 to 1992). *Marine Pollution Bulletin* 34: 456-468.
- Le Floch S., Merlin F.X., Guillerme M., Dalmazzone C., Le Corre P., **1999**. A field experimentation on bioremediation: Bioren. *Environmental Technology* 20: 897-907.
- Le Floch S., Guyomarch J., Merlin F., Stoffyn-Egli P., Dixon J., Lee K., **2002a**. The influence of salinity on oil-mineral aggregate formation. *Spill Science & Technology Bulletin* 8: 65-71.
- Le Floch S., **2002b**. *Etude expérimentale de la biorestauration in situ de sédiments contaminés par du pétrole brut*. Thèse soutenue à l'université de Bretagne Occidentale. 219p.
- Lefebvre G., 1978. *Chimie des hydrocarbures*. Publication de l'Institut Français du Pétrole. 284 p.
- Leòn V.M., Álvarez B., Cobollo M.A., Muñoz S., Volar I., **2003**. Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. I. Method optimisation. *Journal of Chromatography A* 999: 91-101.

- León V.M., Llorca-Pórcel J., Álvarez B., Cobollo M.A., Muñoz S., Volar I., **2006**. Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. Part II: Method validation. *Journal of Chromatography A* 558: 261-266.
- Lee R.F., **1980**. Processes affecting the fate of oil in the sea. In: Geyer, R.A. (Ed.), *Marine Environmental Pollution*, vol. 1, Elsevier, Amsterdam, pp. 337-351.
- Lee R.F., **2003**. Photo-oxidation and Photo-toxicity of Crude and Refined Oils. *Spill Science & Technology Bulletin* 8: 157-162.
- Lee M.R., Chang C.M., Dou J., **2007**. Determination of benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes in water at sub-ng l⁻¹ levels by solid-phase microextraction coupled to cryo-trap gas chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere* 69: 1381-1387.
- Lee X.P., Kumazawa T., Kondo K., Furuta S., Sato K., **1999**. Improved extraction of thinner components from human body fluids by headspace solid-phase microextraction with a Carboxen/polydimethylsiloxane-coated fiber. *Legal Medicine* 1: 231-7.
- Lin J.J., Lee L.C., **2004**. Characterization of n-alkanes in urban submicron aerosol particles (PM₁). *Atmospheric Environment* 38: 2983-2991.
- Liu W., Hu Y., Zhao J., Xu Y., Guan Y., **2005**. Determination of organophosphorus pesticides in cucumber and potato by stir bar sorptive extraction. *Journal of Chromatography A* 1095: 1-7.
- Liu X., Korenaga T., **2001**. Dynamics Analysis for the Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Rice. *Journal of Health Science*. 47: 446-451.
- Li W.H., Tian Y.Z., Shi G.L., Guo C.S., Li X., Feng Y.C., **2012a**. Concentrations and sources of PAHs in surface sediments of the Fenhe reservoir and watershed, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 75 198-206.
- Li B., Zeng F., Dong Q., Cao Y., Fan H., Deng C., **2012b**. Rapid Determination Method for 12 Pyrethroid Pesticide Residues in Tea by Stir Bar Sorptive Extraction-Thermal Desorption-Gas Chromatography. *Physics Procedia* 25: 1776-1780.
- Liang F., Lu M., Eileen Birch er T.C., Liu Z., **2006**. Determination of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in diesel particulate matter and diesel fuel by gas chromatography with atomic emission detection. *Journal of Chromatography A* 1114: 145-153.
- Llompart M., Li K., Fingas M., **1998**. Headspace solid-phase microextraction for the determination of volatile and semi-volatile pollutants in water and air. *Journal of Chromatography A* 824: 53-61.
- Llorca-Pórcel J., Martínez-Sánchez G., Álvarez B., Cobollo M.A., Valor I., **2006**. Analysis of nine polybrominated diphenyl ethers in water samples by means of stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 569: 113-118.
- Lord H., Pawliszyn J., **2000**. Evolution of solid-phase microextraction technology. *Journal of Chromatography A* 885: 153-193.
- Luan T., Fang S., Zhong Y., Lin L., Chan S.M.N., Lan C., Tam N.F.Y., **2007**. Determination of hydroxy metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons by fully automated solid-phase microextraction derivatization and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1173: 37-43.
- Lübcke-von Varel U., Streck G., Brack W., **2008**. Automated fractionation procedure for polycyclic aromatic compounds in sediment extracts on three coupled normal-phase high-performance liquid chromatography columns. *Journal of Chromatography A* 1185: 21-42.

- Lucas A.C.S., Bermejo A.M., Tabernero M.J., Fernández P., Strano-Rossi S., **2000**. Use of solid-phase microextraction (SPME) for the determination of methadone and EDDP in human hair by GC-MS. *Forensic Science International* 107: 225-232.
- Mackay D., Shiu W.Y., Ma K.C., **1992**. *Illustrated Handbook of Physico-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals*, Part 3. Lewis, Chelsea, MI, USA.
- MacFall T., Booth G.M., Lee M.L., Tominaga Y., Pratap R., Tedjamulia M., Castle R. N., **1984**. Mutagenic activity of methyl-substituted tri- and tetracyclic aromatic sulfur heterocycles. *Mutation Research* 135: 97-103.
- MacNamara K., Leardi R., McGuigan F., **2009**. Comprehensive investigation and optimisation of the main experimental variables in stir-bar sorptive extraction (SBSE)-thermal desorption-capillary gas chromatography (TD-CGC). *Analytica Chimica Acta* 636: 190-197.
- Madsen S.D., Forbes T.L., Forbes V.E., **1997**. Particle mixing by the polychaete *Capitella* species 1: coupling fate and effect of a particle-bound organic contaminant (fluoranthene) in marine sediment. *Marine Ecology Progress Series* 147: 129-142.
- Mao X., Hu B., He M., Fan W., **2012**. Stir bar sorptive extraction approaches with a home-made portable electric stirrer for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in environmental water. *Journal of Chromatography A* 1260: 16-24.
- Magdic S., Pawliszyn J.B., **1996**. Analysis of organochlorine pesticides using solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A* 723:111-122.
- Maggi L., Carmona M., Del Campo C.P., Zalacain A., de Mendoza J.H., Mocholi F.A., Alonso G.L., **2008**. Multi-residue contaminants and pollutants analysis in saffron spice by stir bar sorptive extraction and gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1209: 55-60.
- Malecky M., Broudiscou A., Broudiscou L.P., **2012**. Optimisation of headspace solid-phase microextraction for quantitative analysis of monoterpenes in caprine blood. *Animal Feed Science and Technology* 173: 261-267.
- Maki H., Sasaki T.S., Harayama S., **2001**. Photo-oxidation of biodegraded crude oil and toxicity of the photo-oxidized products. *Chemosphere* 44: 1145-1151.
- Martin D., Ruiz J., **2007**. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in solid matrixes by solid-phase microextraction coupled to a direct extraction device. *Talanta* 71: 751-757.
- Marin M., Pedregosa A., Rios S., Laborda F., **1996**. Study of factors influencing the degradation of heating oil by *Acinetobacter calcoaceticus* MM5. *International Biodeterioration and Biodegradation* 27: 69-75.
- Mastrogianni O., Theodoridis G., Spagou K., Violante D., Henriques T., Pouliopoulos A., Psaroulis K., Tsoukali H., Raikos, **2012**. Determination of venlafaxine in post-mortem whole blood by HS-SPME and GC-NPD. *Forensic Science International* 215: 105-109.
- Massias D., Grossi V., Bertrand J.C., **2003**. In situ anaerobic degradation of petroleum alkanes in marine sediments: preliminary results. *C. R. Geoscience* 335: 435-439.
- Martins J., Esteves C., Faria A.L., Barros P., Ribeiro N., Simões T., Correia M., Matos C.D., **2012**. Analysis of six fungicides and one acaricide in still and fortified wines using solid-phase microextraction-gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Food Chemistry* 132: 630-636.
- Martínez R.C., Hermida C.G., Gonzalo E.R., Bravo F.E.S., Méndez J.H., **2003**. Determination of herbicides, including thermally labile phenylureas, by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1002: 1-12.
- Marzi R., Torkelson B.E., Olson R.K., **1993**. A revised carbon reference index. *Organic Geochemistry* 20: 1303-1306.

- Mau S., Valentine D.L., Clark J.F., Reed J., Camilli R., Washburn L., **2007**. Dissolved methane distributions and air-sea flux in the plume of a massive seep field, Coal Oil Point, California, *Geophysical Research Letters*, 34, L22603, doi: 10.1029/GL031344.
- McElroy A.E., Sisson J.D., **1989**. Trophic transfer of benzo[a]pyrene metabolites between benthic marine organisms. *Marine Environmental Research* 28: 265-269.
- Melo A., Aguiar A., Mansilha C., Pinho O., Ferreira I.M.P.L.V.O., **2012**. Optimisation of a solid-phase microextraction/HPLC/Diode Array method for multiple pesticide screening in lettuce. *Food Chemistry* 130: 1090-1097.
- Menzie C.A., Potocki B.B., Santodonato J., **1992**. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environmental Science and Technology* 26: 1278-1284.
- Mekiki D., Kalogerakis N., Psillakis E., **2006**. Application of Solid-Phase Microextraction for the Analysis of Nitropolycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water. *Chromatographia* 63: 85-89.
- Mille G., Guiliano M., Asia L., Malleret L., Jalaluddin N., **2006**. Sources of hydrocarbons in sediments of the Bay of Fort de France (Martinique). *Chemosphere* 64: 1062-1073.
- Mille, G., Asia, L., Guiliano, M., Malleret, L., Doumenq, P., **2007**. Hydrocarbons in coastal sediments from the Mediterranean Sea (Gulf of Fos area, France). *Marine Pollution Bulletin* 54: 566-575.
- Mirales G., **2007**. *Devenir d'une contamination pétrolière dans des sédiments côtiers infralittoraux et son impact sur les communautés bactériennes*. Thèse de Doctorat, Université de la Méditerranée (Aix-marseille II), Marseille, France. 231p.
- Mitra S., Ray B., **1995**. Patterns and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives in indoor air. *Atmospheric Environment* 29: 3345-3356.
- Mmualefe L.C., Torto N., Huntsman-Mapila P., Mbongwe B., **2009**. Headspace solid phase microextraction in the determination of pesticides in water samples from the Okavango Delta with gas chromatography-electron capture detection and time-of-flight mass spectrometry. *Microchemical Journal* 91: 239-244.
- Moreno E., Fita A., González-Mas M.C., Burruezo A.R., **2012**. HS-SPME study of the volatile fraction of Capsicum accessions and hybrids in different parts of the fruit. *Scientia Horticulturae* 135: 87-97.
- Montero L., Conradi S., Weiss H., Popp P., **2005**. Determination of phenols in lake and ground water samples by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1071: 163-169.
- Mostafa A.R., Hegazi A.H., El-Gayar M.Sh., Andersson J.T., **2009**. Source characterization and the environmental impact of urban street dusts from Egypt based on hydrocarbon distributions. *Fuel* 88: 95-104.
- Mössner S.G., Wise S.A., **1999**. Determination of Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles in Fossil Fuel-Related Samples. *Analytical Chemistry* 71: 58-69.
- Moustafa N.E., Andersson J.T., **2011**. Analysis of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in Egyptian petroleum condensate and volatile oils by gas chromatography with atomic emission detection. *Fuel Processing Technology* 92: 547-555.
- Nakamura S., Daishima S., **2004**. Simultaneous determination of alkylphenols and bisphenol A in river water by stir bar sorptive extraction with in situ acetylation and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1038: 291-4.
- Nagasawa N., Yashiki M., Iwasaki Y., Harab K., Kojima T., **1996**. Rapid analysis of amphetamines in blood using headspace-solid phase microextraction and selected ion monitoring. *Forensic Science International* 78: 95-102.

- National Research Council (NRC), **2003**. Oil in the sea III: Inputs, Fates and Effects. National Academy of science, Washington, D.C. 265 p.
- Neff J.M., **1979**. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the aquatic Environment: Sources, Fates and Biological Effects*. London, Applied Science Publishers Ltd. 262 P.
- Nguyen K.T.N., Scapolla C., Carro M.D., Magi E., **2011**. Rapid and selective determination of UV filters in seawater by liquid chromatography–tandem mass spectrometry combined with stir bar sorptive extraction. *Talanta* 85: 2375-2384.
- Nicolaou K., Masclet P., Mouvier G., **1984**. Sources and chemical reactivity of polynuclear aromatic hydrocarbons in the atmosphere. A critical review. *The science of the total environment* 32: 103-123.
- Ochiai N., Ieda T., Sasamoto K., Takazawa Y., Hashimoto S., Fushimi A., Tanabe K., **2011**. Stir bar sorptive extraction and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to high-resolution time-of-flight mass spectrometry for ultra-trace analysis of organochlorine pesticides in river water. *Journal of Chromatography A* 1218: 6851-6860.
- Ochiai N., Sasamoto K., Kanda H., Yamagami T., David F., Tienpont B., Sandra P., **2005**. Optimization of a multi-residue screening method for the determination of 85 pesticides in selected food matrices by stir bar sorptive extraction and thermal desorption GC-MS. *Journal of Separation Sciences* 28: 1083-1092.
- Ochiai N., Sasamoto K., Kanda H., Nakamura S., **2006**. Fast screening of pesticide multiresidues in aqueous samples by dual stir bar sorptive extraction-thermal desorption-low thermal mass gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1130: 83-90.
- Ochiai N., Sasamoto K., Daishima S., Heiden A.C., Hoffmann A., **2003**. Determination of stale-flavor carbonyl compounds in beer by stir bar sorptive extraction with in-situ derivatization and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 986: 101-110.
- Ong B.T., Nazimah S.A.H., Tan C.P., Mirhosseini H., Osman A., Mat Hashim D., Rusul G., **2008**. Analysis of volatile compounds in five jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) cultivars using solid-phase microextraction (SPME) and gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC-TOFMS). *Journal of Food Composition and Analysis* 21: 416- 422.
- Oros D.R., Ross J.R.M., **2004**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in San Francisco Estuary sediments. *Marine Chemistry* 86: 169-184.
- O'Rourke D., Conolly S., **2003**. Juste Oil? The distribution of environmental and social impacts of oil production and consumption. *Annual Review Of environment and resources* 28: 587-617.
- Ouyang G., Pawliszyn J., **2006**. SPME in environmental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386: 1059-1073.
- Pawliszyn J., **1997**. *Solid-phase microextraction-Theory and practice*. Wiley-VCH, New York.
- Panseri S., Soncin S., Chiesa L.M., Biondi P.A., **2011**. A headspace solid-phase microextraction gas-chromatographic mass-spectrometric method (HS-SPME-GC/MS) to quantify hexanal in butter during storage as marker of lipid oxidation. *Food Chemistry* 127: 886-889.
- Peñalver A., Pocurull E., Borrull F., Marcé R.M., **2000**. Determination of phthalate esters in water samples by solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 572: 191-201.
- Peñalver A., E. Pocurull E., Borrull F., Marcé R.M., **2001**. Comparison of different fibers for the solid-phase microextraction of phthalate esters from water. *Journal of Chromatography A* 922: 377-384.
- Peñalver A., Pocurull E., Borrull F., Marcé R.M., **2002**. Solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography to determine phenolic compounds in water. *Journal of Chromatography A* 953: 79-87.

- Peñalver A., García V., Pocurull E., Borrull F., Marcé R.M., **2003**. Stir bar sorptive extraction and large volume injection gas chromatography to determine a group of endocrine disrupters in water samples. *Journal of Chromatography A* 1007: 1-9.
- Pearlman R.S., Yalkowsky S.H., Banerjee S., **1984**. Water solubility of polynuclear aromatic and heteroaromatic compounds. *Journal of Physical and Chemical Reference Dat.* 13: 555-562.
- Pelory R.A., Steward D.L., Tominaga Y., Iwao M., Castle R.N., Lee M.L., **1983**. Microbial mutagenicity of 3- and 4-ring polycyclic aromatic sulfur heterocycles. *Mutation Research.* 117: 31-40.
- Pérez-Carrera E., León León V.M., Parra A.G., Mazo E.G., **2007**. Simultaneous determination of pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyl in seawater and interstitial marine water samples, using stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1170: 82-90.
- Pino J.A., Queris O., **2010**. Analysis of volatile compounds of pineapple wine using solid-phase microextraction techniques. *Food Chemistry* 122: 1241-1246.
- Piazza F., Barbieri A., Violante F.S., Roda A., **2001**, A rapid and sensitive method for methyl tert-butyl ether analysis in water samples by use of solid phase microextraction and gas chromatography-mass-spectrometry. *Chemosphere* 44: 539-544.
- Pizarro C., Pérez-del-Notario N., González-Sáiz J.M., **2010**. Optimisation of a simple and reliable method based on headspace solid-phase microextraction for the determination of volatile phenols in beer. *Journal of Chromatography A* 1217: 6013-6021.
- Plutowska B., Chmiel T., Dymerski T., Wardencki W., **2011**. A headspace solid-phase microextraction method development and its application in the determination of volatiles in honeys by gas chromatography. *Food Chemistry* 126: 1288-1298.
- Polo M., Llompart M., Garcia-Jares C., Cela R., **2005**. Multivariate optimization of a solid-phase microextraction method for the analysis of phthalate esters in environmental waters. *Journal of Chromatography A* 1072: 63-72.
- Polo M., Gómez-Noya G., Quintana J.B., Llompart M., García-Jares C., Cela R., **2004**. Development of a Solid-Phase Microextraction Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry Method for Polybrominated Diphenyl Ethers and Polybrominated Biphenyls in Water Samples. *Analytical Chemistry* 76: 1054-1062.
- Popp P., Möder M., McCann I., **1999**. Determination of sulfur-containing compounds in wastewater *in Application of solid phase microextraction* (J. Pawliszyn, Ed.), Royal Society of Chemistry, London.
- Popp P., Bauer C., Möder M., Paschke A., **2000**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waste water by off-line coupling of solid-phase microextraction with column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 897: 153-159.
- Popp P., Bauer C., Wennrich L., **2001**. Application of stir bar sorptive extraction in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Analytica Chimica Acta* 436: 1-9.
- Popp P., Bauer C., Hauser B., Keil P., Wennrich L., **2003**. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine compounds from water: A comparison between solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction. *Journal of Separation Science* 26: 961-967.
- Popp P., Keil P., Montero L., Rückert M., **2005**. Optimized method for the determination of 25 polychlorinated biphenyls in water samples using stir bar sorptive extraction followed by thermodesorption-gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1071: 155-162.

- Potter D.W., Pawliszyn J., **1994**. Rapid determination of polyaromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in water using solid-phase microextraction and GC/MS. *Environmental Science & Technology*. 28: 298-305.
- Portella G., Poater J., Sola M., **2005**. Assessment of Clar's aromatic pi-sextet rule by means of PDI, NICS and HOMA indicators of local aromaticity. *Journal of Physical Organic Chemistry* 18: 785-791.
- Prieto A., Zuloaga O., Usobiaga A., Etxebarria N., Fernández L.A., **2007**. Development of a stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry method for the simultaneous determination of several persistent organic pollutants in water samples. *Journal of Chromatography A* 1174: 40-49.
- Prieto A., Basauri O., Rodil R., Usobiaga A., Fernández L.A., Etxebarria N., Zuloaga O., **2010**. Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel applications, limitations and potential solutions. *Journal of Chromatography A* 1217: 2642-2666.
- Purcaro G., Morrison P., Moret S., Conte L.S., Marriott P.G., **2007a**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils using solid-phase microextraction-comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1161: 284-291.
- Purcaro G., Moret S., Lanfranco S., Conte L.S., **2007b**. Rapid validated method for the analysis of benzo[a]pyrene in vegetable oils by using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1176: 231-235.
- Quintana J.B., Rodil R., Lorenzo S.M., Mahía P.L., Rodríguez D.P., **2007**. Multiresidue analysis of acidic and polar organic contamination in waters samples by stir-bar sorptive extraction-liquid desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1174: 27-39.
- Rabus R., Nordhaus R., Ludwig W., Widdel F., **1993**. Complete oxidation of toluene under strictly anoxic conditions by a new sulphate-reducing bacterium. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 1444-1451.
- Raikos N., Christopoulou K., Theodoridis G., Tsoukali H., Psaroulis D., **2003**. Determination of amphetamines in human urine by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatography B* 789: 59-63.
- Regueiro J., Llompert M., Jares C.G., Cela R., **2009**. Development of a solid-phase microextraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the analysis of chlorinated toluenes in environmental waters. *Journal of Chromatography A* 1216: 2816-2824.
- Rianawati E., Balasubramanian R., **2009**. Optimization and validation of solid phase micro-extraction (SPME) method for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater and stormwater. *Physics and Chemistry of the Earth* 34: 857-865.
- Rodil R., Moeder M., **2008**. Development of a method for the determination of UV filters in water samples using stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1179: 81-88.
- Rodríguez I., Carpinteiro J., Quintana J.B., Carro A.M., Lorenzo R.A., Cela R., **2004**. Solid-phase microextraction with on-fiber derivatization for the analysis of anti-inflammatory drugs in water samples. *Journal of Chromatography* 1024: 1-8.
- Rodríguez I., Rubí E., González R., Quintana J.B., Cela R., **2005**. *On-fibre* silylation following solid-phase microextraction for the determination of acidic herbicides in water samples by gas chromatography. *Analytica Chimica Acta* 537: 259-266.
- Rocha C., Pappas E.A., Huang C.H., **2008**. Determination of trace triazine and chloroacetamide herbicides in tile-fed drainage ditch water using solid-phase microextraction coupled with GC-MS. *Environmental Pollution* 152: 239-244.

- Rontani J.F., Giusti G., **1987**. Photosensitized oxidation of pristane in sea water: effect of photochemical reactions on tertiary carbons. *Journal of Photochemistry and Photobiology A* 40: 107-120.
- Rontani J.F., Bonin P., **2011**. Production of pristane and phytane in the marine environment: role of prokaryotes. *Research in Microbiology* 162: 923-933.
- Roy G., Vuillemin R., Guyomarch J., **2005**. On-site determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in seawater by stir bar sorptive extraction (SBSE) and thermal desorption GC-MS. *Talanta* 66: 540-546.
- Sablier M., **2010**. Couplage CG/SM/SM. *Techniques de l'ingénieur*.
- Sabik H., Fortin J., Martin N., **2012**. Identification of pyrazine derivatives in a typical maple syrup using headspace solid-phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry* 133: 1006-1010.
- Sahu S.K., Pandit G.G., **2003**. Estimation of octanol-water partition coefficients for polycyclic aromatic hydrocarbons using reverse-phase HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 26: 135-146.
- Sagratiní G., Mānes J., Giardiná D., Damiani P., Picó Y., **2007**. Analysis of carbamate and phenylurea pesticide residues in fruit juices by solid-phase microextraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1147: 135-143.
- Samanta S.K., Singh O.V., Jain R.K., **2002**. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends in Biotechnology* 20: 243-248.
- Sakamoto M., Tsutsumi T., **2004**. Applicability of headspace solid-phase microextraction to the determination of multi-class pesticides in waters. *Journal of Chromatography A* 1028: 63-74.
- Salinas R., Zalacain A., Pardo F., Alonso G.L. **2004**. Stir bar sorptive extraction applied to volatile constituents evolution during *Vitis vinifera* ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4821-4827.
- Salafranca J., Domeño C., Fernández C., Nerín C., **2003**. Experimental design applied to the determination of several contaminants in Duero River by solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta* 477: 257-267.
- Sánchez-Avila J., Quintana J., Ventura F., Tauler R., Duarte C.M., Lacorte S., **2010**. Stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry: An effective tool for determining persistent organic pollutants and nonylphenol in coastal waters in compliance with existing Directives. *Marine Pollution Bulletin* 60: 103-112.
- Sanchez-Ortega A., Unceta N., Gómez-Caballero A., Sampedro M.C., Akesolo U., Goicolea M.A., Barrio R.J., **2009**. Sensitive determination of triazines in underground waters using stir bar sorptive extraction directly coupled to automated thermal desorption and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 641: 110-116.
- Sandra P., Tienpont B., David F., **2003**. Multi-residue screening of pesticides in vegetables, fruits and baby food by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1000: 299-309.
- Santos F.J., Sarrión M.N., Galceran M.T., **1997**. Analysis of chlorobenzenes in soils by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 771: 181-189.
- Santos M.S.D., Martendal E., Carasek E., **2011**. Determination of THMs in soft drink by solid-phase microextraction and gas chromatography. *Food Chemistry* 127: 290-295.

- Sarrión M.N., Santos F.J., Galceran M.T., **2002**. Determination of chlorophenols by solid-phase microextraction and liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography A* 947: 155-165.
- Sauer T.C., Michel J., Hayes M.O., Aurand D.V., **1998**. Hydrocarbures Characterization and Weathering of Oiled Intertidal Sediments Along the Saudi Arabian Coast Two Years After the Gulf War Oil Spill. *Environmental International* 24:43-60.
- Scascighini N., Mattiacci L., D'Alessandro M., Hern A., Rott A.S., Dorn S., **2005**. New insights in analysing parasitoid attracting synonomes: early volatiles emission and use of stir bar sorptive extraction. *Chemoecology* 12: 169-175.
- Schmeltz I., Hoffmann D., **1976**. Formation of polynuclear aromatic hydrocarbons from combustion of organic matter. In *Carcinogenesis-A comprehensive survey. Vol. 1. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. Chemistry, Metabolism, and Carcinogenesis*. Raven Press, New York. 225-240.
- Schwarzenbach R.P., Gschwend P.M., Imboden D.M., **2003**. *Environmental organic chemistry. Second edition*. Hoboken : John Wiley and Sons.1313 p.
- Serôdio P., Nogueira J.M.F., **2006**. Considerations on ultra-trace analysis of phthalates in drinking water. *Water Research* 40: 2572-2582.
- Serôdio P., Nogueira J.M.F., **2005**. Development of stir-bar-sorptive extraction-liquid desorption-large-volume injection capillary gas chromatographic-mass spectrometric method for pyrethroid pesticides in water samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 382: 1141-1151.
- Serôdio P., Nogueira J.M.F., **2004**. Multi-residue screening of endocrine disrupters chemicals in water samples by stir bar sorptive extraction-liquid desorption-capillary gas chromatography-mass spectrometry detection. *Analytica Chimica Acta* 517: 21-32.
- Serôdio P., Salomé Cabral M., Nogueira J. M. F., **2007**. Use of experimental design in the optimization of stir bar sorptive extraction for the determination of polybrominated diphenyl ethers in environmental matrices. *Journal of Chromatography A* 1141: 259-270.
- Seki O., Yoshikawa C., Nakatsuka T., Kawamura K., Wakatsuchi M., **2006**. Fluxes, source and transport of organic matter in the western Sea of Okhotsk: stable carbon isotopic ratios of n-alkanes and total organic carbon. *Deep-Sea Research I* 53: 253-270.
- Sérot T., Lafficher C., **2003**. Optimisation of solid-phase microextraction coupled to gas chromatography for determination of phenolic compounds in smoked herring. *Food Chemistry* 82: 513-519.
- Sewenig S., Bullinger D., Hener U., Mosandl A., **2005**. Comprehensive authentication of (E)- α (β)-ionone from raspberries, using constant flow MDGC-C/P-IRMS and Enantio-MDGC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 838-844.
- Sha Y.F., Shen S., Duan G.L., **2005**. Rapid determination of tramadol in human plasma by headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 37: 143-147.
- Shumer B., Pawliszyn J., **2000**. Determination of distribution constants between a liquid polymeric coating and water by a solid-phase microextraction technique with a flow-through standard water system. *Analytical Chemistry* 72: 3660-3664.
- Shu Y.Y., Wang S.S., Tardif M., Huang Y., **2003**. Analysis of polychlorinated biphenyls in aqueous samples by microwave-assisted headspace solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A* 1008: 21-33.
- Singer M.M., Aurand D., Bragin G.E., Clarks J.R., Coelho G.M., Sowby M.L. Tjeerdema R.S., **2000**. Standardization of the preparation and quantitation of water-accommodated fractions of petroleum for toxicity testing. *Marine Pollution Bulletin* 40: 1007-1016.

- Silva D.A.M., Bicego M.C., **2010**. Polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum biomarkers in São Sebastião Channel, Brazil: Assessment of petroleum contamination. *Marine Environmental Research* 69: 277-286.
- Simões N.G., Cardoso V.V., Ferreira E., Benoliel M.J., Almeida C.M.M., **2007**. Experimental and statistical validation of SPME-GC-MS analysis of phenol and chlorophenols in raw and treated water. *Chemosphere* 68: 501-510.
- Sinsheimer J.E., Hooberman B.H., Das S.K. Savla, P.M., Ashe A.J., III **1992**. Genotoxicity of chryseno[4,5-bcd]thiophene and its sulfone derivative. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 19: 259-64.
- Soini H.A., Bruce K.E., Wiesler D., David F., Sandra P., Novotny M.V., **2005**. Stir Bar Sorptive Extraction: A New Quantitative and Comprehensive Sampling Technique for Determination of Chemical Signal Profiles from Biological Media. *Journal of Chemical Ecology* 31: 377-392.
- Soncin S., Panseri S., Rusconi M., Mariani M., Chiesa L.M., Biondi P.A., **2012**. Improved determination of 2-dodecylcyclobutanone in irradiated ground beef patties by gas-chromatography–mass-spectrometry (GC/MS) coupled with solid-phase microextraction (SPME) technique. *Food Chemistry* 134: 440-444.
- Souza D.B.D., Machado K.S., Froehner S., Scapulatempo C.F., Bleninger T., **2011a**. Distribution of n-alkanes in lacustrine sediments from subtropical lake in Brazil. *Chemie der Erde* 71: 171-176.
- Souza D.Z., Boehlb P.O., Comiranb E., Mariottib K.C., Pechanskyc F., Duarted P.C.A.V., De Bonic R., Froehlichb P.E., Limbergerb R.P., **2011b**. Determination of amphetamine-type stimulants in oral fluid by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 696: 67-76.
- Sporkert F., Pragst F., **2000**. Use of headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) in hair analysis for organic compounds. *Forensic Science International* 107: 129-148.
- Stopforth A., Grobbelaar C.J., Crouch A.M., Sandra P., **2007**. Quantification of testosterone and epitestosterone in human urine samples by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography/mass spectrometry: Application to HIV- positive urine samples. *Journal of Separation Science* 30: 257-265.
- Stiles R., Yang I., Lippincott R.L., Murphy E., Buckley B., **2008**. Measurement of drinking water contaminants by solid phase microextraction initially quantified in source water samples by the USGS. *Environmental Science & Technology* 42: 2976-2981.
- Suess M.J., **1976**. The environmental load and cycle of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Science of The Total Environment* 6: 239-250.
- Su P.G., Huang S.D., **1997**. Determination of organophosphorus pesticides in water by solid-phase microextraction. *Talanta* 49: 393-402.
- Swartz C.D., King L.C., Nesnow S., Umbach D.M., Kumar S., DeMarini D.M., **2009**. Mutagenicity, Stable DNA Adducts, and Abasic Sites Induced in Salmonella by Phenanthro[3,4-b]- and Phenanthro[4,3-b]thiophenes, Sulfur Analogs of Benzo[c]phenanthrene. *Mutation Research* 661: 47-56.
- Thalhamer B., Buchberger W., Waser M., **2011**. Identification of thymol phase I metabolites in human urine by headspace sorptive extraction combined with thermal desorption and gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 56: 64- 69.
- Thuß U., Popp P., Ehrlich C., Kalkoff W.-D., **2000**. Identification and Quantification of Thiaarenes in the Flue Gas of Lignite-Fired Domestic Heating. *Journal of High Resolution Chromatography* 23: 457-473.
- Thominette F., Verdu J., **1984**. Photo-oxidative behaviour of crude oils relative to sea pollution. Part II. Photo-induced phase separation. *Marine Chemistry* 15: 105-115.
- Tissot B.P., Welte D.H., **1984**. *Petroleum formation and occurrence*. 2nd edition.(eds.: Springer Verlag Berlin). 359 p.

- Tissot B., **1997**. La genèse du pétrole. *La Recherche* 77:326-334.
- Toledo E.G., Prat M.D., Alpendurada M.F., **2001**. Solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography for the analysis of phenolic compounds in water. *Journal of Chromatography A* 923: 45-52.
- Tomkins B.A., Barnard A.R., **2002**. Determination of organochlorine pesticides in ground water using solid-phase microextraction followed by dual-column gas chromatography with electron-capture detection. *Journal of Chromatography A* 964: 21-33.
- Unceta N., Caballero A.G., Sánchez A., Millán S., Sampedro M.C., Goicolea M.A., Sallés J., Barrio R.J., **2008**. Simultaneous determination of citalopram, fluoxetine and their main metabolites in human urine samples by solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 46: 763-770.
- Used N.F., Centineo G., González E.B., Medel A.S., **2003**. Solid-phase microextraction as a clean-up and preconcentration procedure for organochlorine pesticides determination in fish tissue by gas chromatography with electron capture detection. *Journal of Chromatography A* 1017: 35-44.
- Vandecasteele J.P., **2005**. *Microbiologie pétrolière (2 vol.). Concepts, implications environnementales, applications industrielles*. Edition Technip, Paris. 796 p.
- Van Hamme J.D., Singh A., Ward O.P., **2003**. Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67: 503-549.
- Vaz J.M., **2003**. Screening direct analysis of PAHS in atmospheric particulate matter with SPME. *Talanta* 60: 687-693.
- Vas G., Vékey K., **2004**. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry* 39: 233-254.
- Vatinno R., Aresta A., Zambonin C.G., Palmisano F., **2007**. Determination of ochratoxin A in human urine by solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 44: 1014-1018.
- Venkatesen M.I., **1998**. Occurrence and possible sources of perylene in marine sediments- a review. *Marine Chemistry* 25: 1-27.
- Viñas P., Campillo N., Aguinaga N., Cánovas E.P., Córdoba M.H., **2007**. Use of headspace solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea infusions. *Journal of Chromatography A* 1164: 10-17.
- Volkman J.K., Maxwell J.R., **1986**. Acyclic isoprenoids as biological markers. In: Johns, R.B. (Ed.), *Biological Markers in the Sedimentary Record*. Elsevier, New York, pp. 1-42.
- Volkman J., Holdsworth D., Neill G., Bavor H., **1992**. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. *The Science of the Total Environment* 112: 203-219.
- Wakeham S.G., Schaffner C., Giger W., **1980**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent lake sediments-II. Compounds derived from biogenic precursors during early diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44: 415-429.
- Wahl H.G., Werner R., Peterfi C., Liebich H.M, **2002a**. Analysis of di(2-ethylhexyl) phthalate and other plasticizers in body fluids and infusates by Stir Bar Sorptive Extraction and Thermal Desorption GC-MS. *Clinical Chemistry* 48, B10.
- Wahl H.G., Werner R., Peterfi C., Liebich H.M, **2002b**. Analysis of barbiturates in urine by Stir Bar Sorptive Extraction and Thermal Desorption GC-MS. *Clinical Chemistry*.48, B9.

- Wammer K.H., Peters C.A., **2005**. Polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation rates: a structure-based Study. *Environmental Science and Technology* 39: 2571-2578.
- Wang Z., Fingas M., **1995**. Use of Methylthiophenes as Markers for Differentiation and Source Identification of Crude and Weathered Oils. *Environmental Science & Technology* 29: 2842-2849.
- Wang Z., Fingas M., **1997**. Developments in the Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Oils, Petroleum Products and Oil-Spill-Related Environmental Samples by Gas Chromatography. *Journal of Chromatography A* 774: 51-78.
- Wang Z., Fingas M., Page D.S., **1999**. Oil spill identification. *Journal of Chromatography A* 843: 369-411.
- Wang Z., Fingas M., **1999**. Identification of the Source(s) of Unknown Spilled Oils (Review). In *Proceedings of the 22nd Arctic and Marine Oil Spill Program (AMOP) Technical Seminar*, Environment Canada, Ottawa, ON, 1999, 69-106.
- Waidyanatha S., Zheng Y., Rappaport S.M., **2003**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine of coke oven workers by headspace solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Chemico-Biological Interactions* 145: 165-174.
- Weldegergis B.T., Villiers A.D., McNeish C., Seethapathy S., Mostafa A., Górecki T., Andrew M. Crouch, **2011**. Characterisation of volatile components of Pinotage wines using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry (GC × GC-TOFMS). *Food Chemistry* 129:188-199.
- Widdel F., Rabus R., **2001**. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology* 12: 259-276.
- Winkler M., Headley J.V., Peru K.M., **2000**. Optimization of solid-phase microextraction for the gas chromatographic-mass spectrometric determination of synthetic musk fragrances in water samples. *Journal of Chromatography A* 903: 203-210.
- Xiao L., Zhu L.P., wang Y., Wang J., Xie M.P., Ju J.T., Mausbacher R., Schwalb A., **2008**. Environmental changes reflected by n-alkanes of lake Core in Nam Co on the Tibetan Plateau since 8.4 ka. *Chinese Science Bulletin* 53: 3051-3057.
- Xie W., Chavez-Eng C.M., Fang W., Constanzer M.L., Matuszewski B.K., Mullett W.M., Pawliszyn J., **2011**. Quantitative liquid chromatographic and tandem mass spectrometric determination of vitamin D3 in human serum with derivatization: A comparison of in-tube LLE, 96-well plate LLE and in-tip SPME. *Journal of Chromatography B* 879: 1457-1466.
- Xu X., Yang H., Wang L., Han B., Wang X., Chun Lee F.S., **2007**. Analysis of chloroacetanilide herbicides in water samples by solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 591: 87-96.
- Yassaa N., Meklati B.Y., Cecinato A., Marino F., **2001**. Organic aerosols in urban and waste landfill of Algiers metropolitan area: occurrence and sources. *Environmental Science and Technology* 35: 306-311.
- Yang Y., Miller D.J., Hawthorne S.B., **1998**. Solid-phase microextraction of polychlorinated biphenyls. *Journal of Chromatography A* 800: 257-266.
- Yazdi A.S., Abbasian M., Amiri A., **2012**. Determination of furan in food samples using two solid phase microextraction fibers based on sol-gel technique with gas chromatography-flame ionisation detector. *Food Chemistry* 131: 698-704.
- Yim U.H., Yong Ha S., Geon An J., Ho Won J., Myung Han G., Hee Hong S., Kim M., Jung J.H., Shim W.J., **2011**. Fingerprint and weathering characteristics of stranded oils after the Hebei Spirit oil spill. *Journal of Hazardous Materials* 197: 60-69.

- Youngblood W.W., Blumer M., **1975**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment: homologous series in soils and recent marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 39: 1303-1314.
- Younes M.A., Hegazi A.H., El-Gayar M. Sh., Andersson J.T., **2007**. Petroleum Biomarkers as Environment and Maturity Indicators for Crude Oils from the Central Gulf of Suez, Egypt. *Oil Gas European Magazin* 33: 15-21.
- Yunker M.B., Macdonald R.W., Vingarzan R., Mitchell R.H., Goyette D., Sylvestre S., **2002**. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry* 33: 489-515.
- Yu C., Yao Z., Hu B., **2009**. Preparation of polydimethylsiloxane/ β -cyclodextrin/divinylbenzene coated "dumbbell-shaped stir bar and its application to the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic sulfur heterocycles compounds in lake water and soil by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 641: 75-82.
- Yu C., Hu B., **2009**. Sol-gel polydimethylsiloxane/poly(vinylalcohol)-coated stir bar sorptive extraction of organophosphorus pesticides in honey and their determination by large volume injection GC. *Journal of Separation Sciences* 32: 147-153.
- Yu J., Taob R., Yu K., **2012**. Anaerobic biodegradation of benzene in salt marsh sediment of the Louisiana Gulf coast. *Ecological Engineering* 40: 6-10.
- Zalacain A., Marín J., Alonso G.L., Salinas M.R., **2007**. Analysis of wine primary aroma compounds by stir bar sorptive extraction. *Talanta* 71: 1610-1615.
- Zalacain A., Alonso G.L., Lorenzo C., Iñiguez M., Salinas M.R., **2004**. Stir bar sorptive extraction for the analysis of wine cork taint. *Journal of Chromatography A* 1033:173-178.
- Zambonin C.G., Quinto M., De Vietro N., Palmisano F., **2004**. Solid-phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry: A fast and simple screening method for the assessment of organophosphorus pesticides residues in wine and fruit juices. *Food Chemistry* 86: 269-274.
- Zeng E.Y., Vista C.L., **1997**. Organic pollutants in the coastal environment off San Diego, California.1. Source identification and assessment by compositional indices of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16: 179-188.
- Zheng M., Fang M., Wang F., To K.L., **2000**. Characterization of the solvent extractable organic compounds in PM_{2.5} aerosols in Hong Kong. *Atmospheric Environment* 34: 2691-2702.
- Zhou Y., Jiang Q., Peng Q., Xuan D., Qu W., **2007**. Development of a solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of pentachlorophenol in human plasma using experimental design. *Chemosphere* 70: 256-262.
- Zuin V.G., Montero L., Bauer C., Popp P., **2005**. Stir bar sorptive extraction and high performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. *Journal of Chromatography A* 1091: 2-10.

ANNEXES

Liste des Annexes

Annexe 1 : Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et HAPS (SBSE-GC-MS)

Annexe 2 : Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et HAPS (SPME-GC-MS)

Annexe 3 : Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et HAPS (GC-MS-MS)

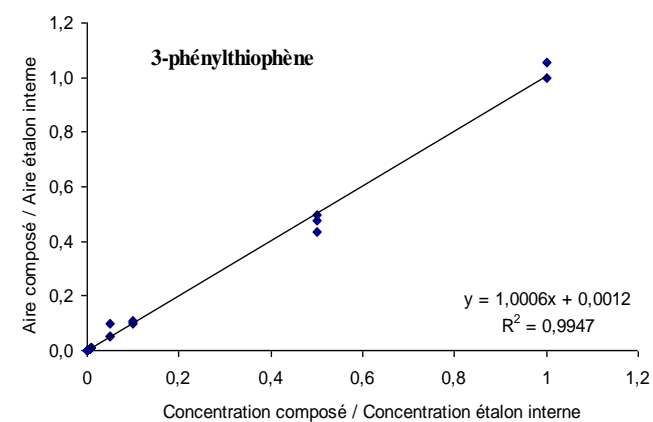
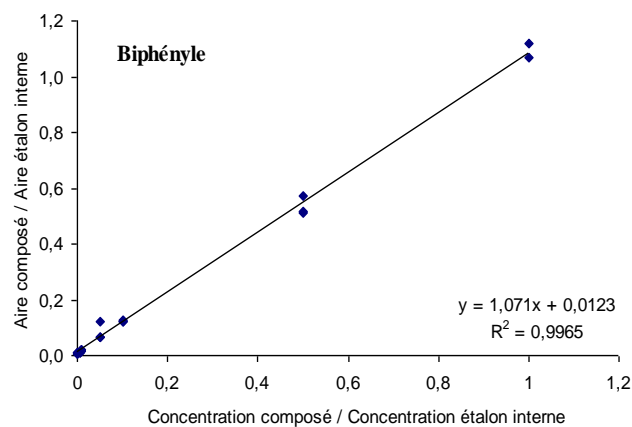
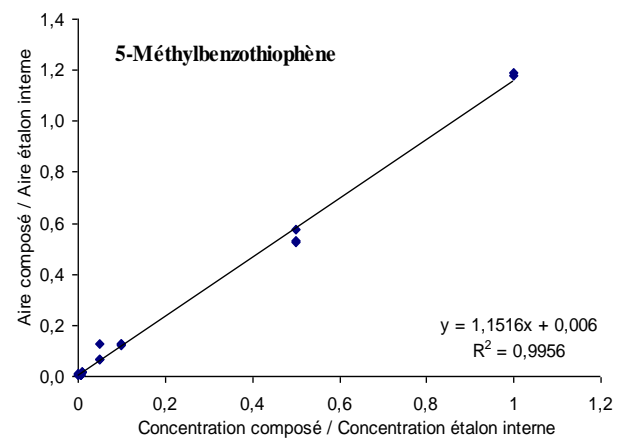
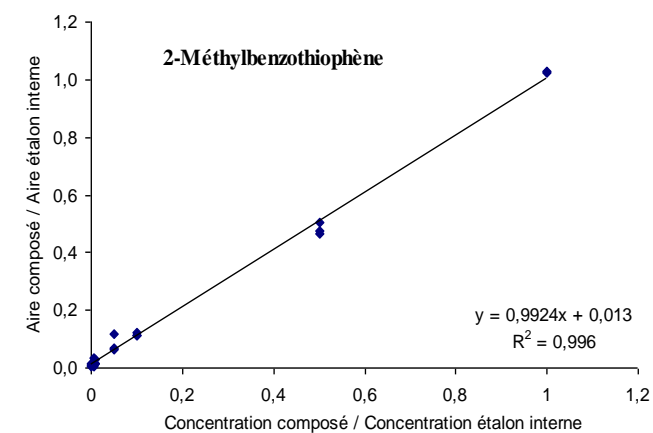
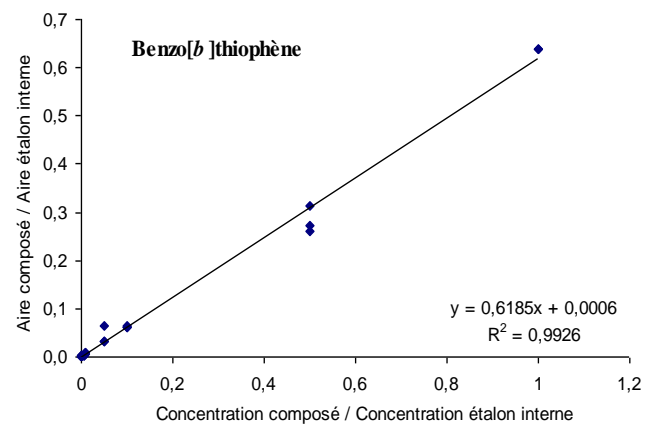
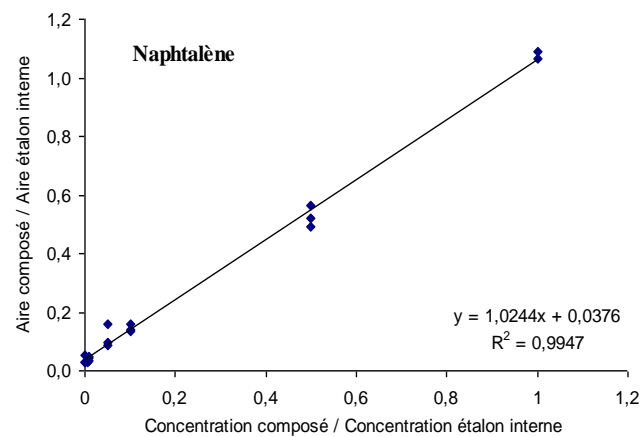
Annexe 4 : Chromatogrammes des composés d'intérêt dans l'analyse en GC-MS

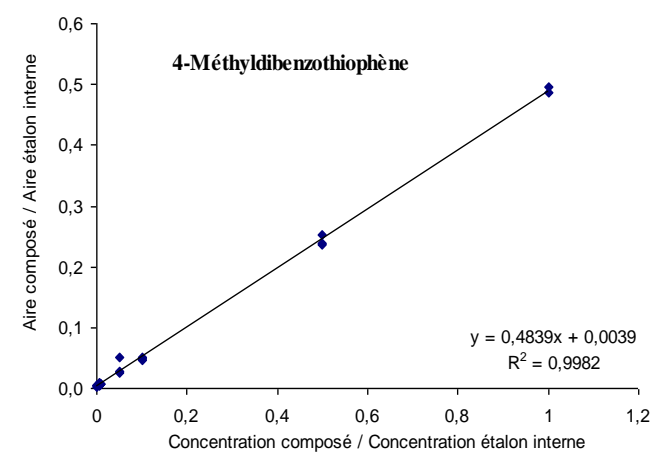
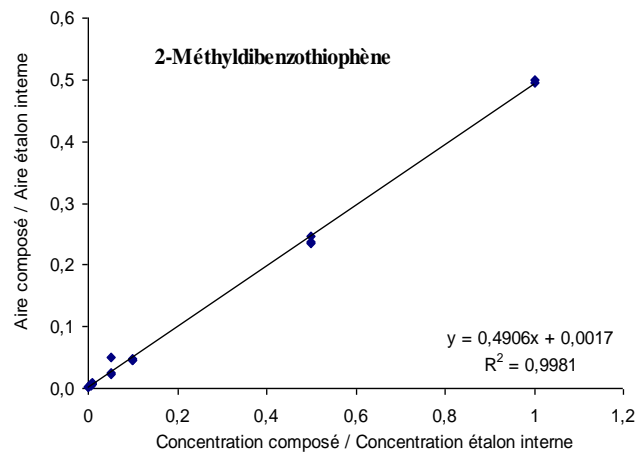
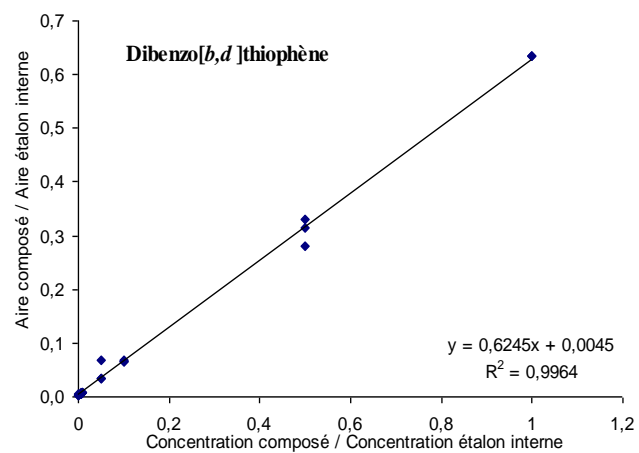
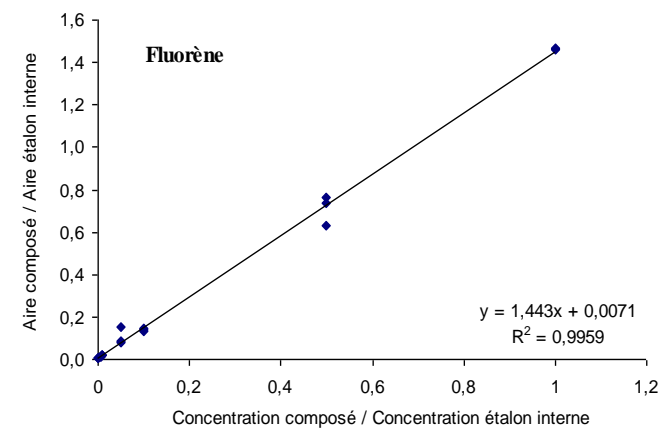
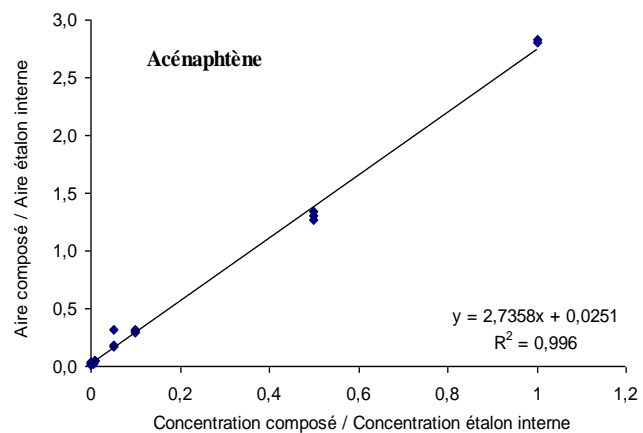
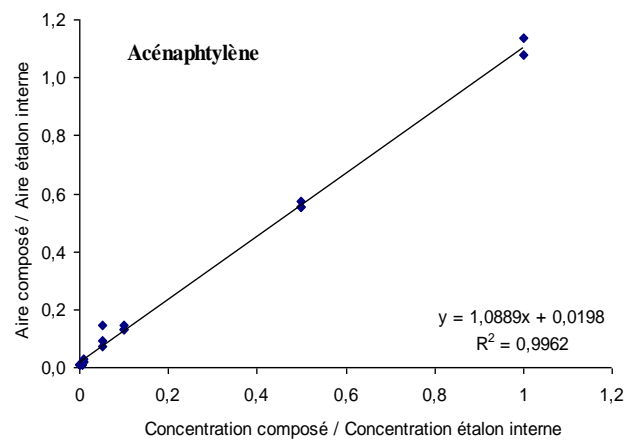
Annexe 5 : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse simple et en tandem

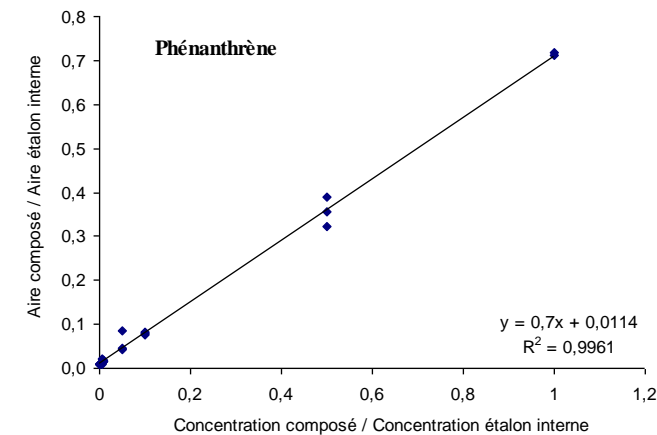
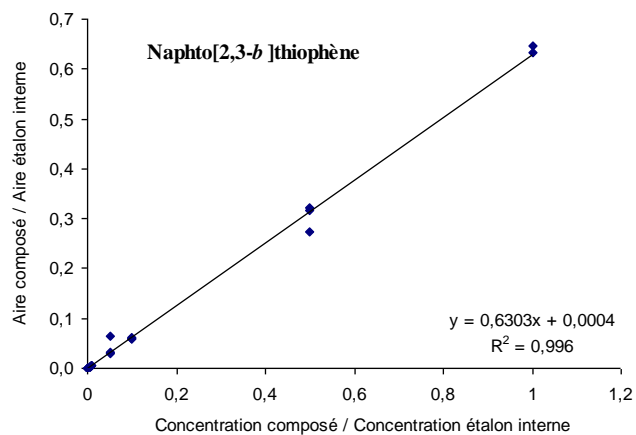
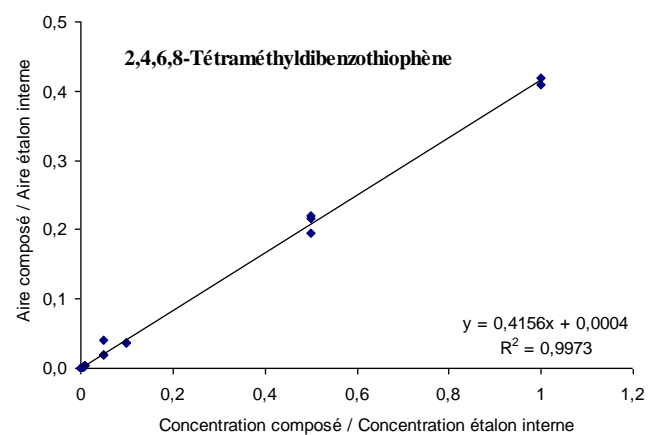
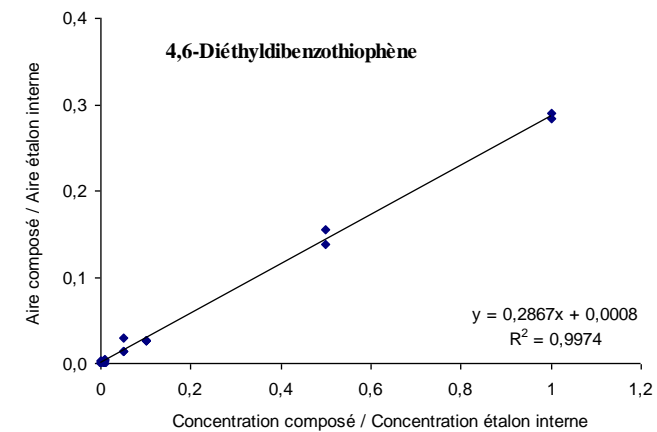
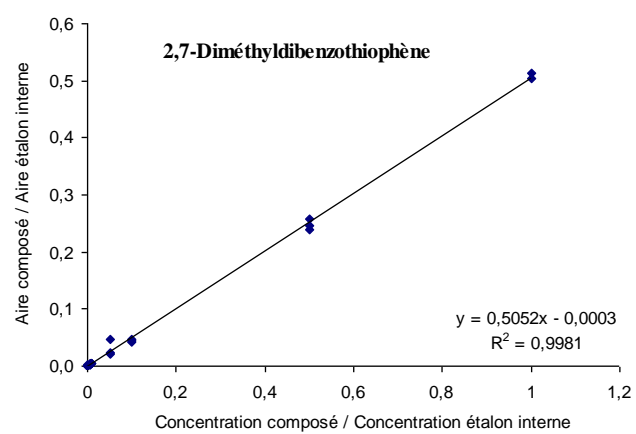
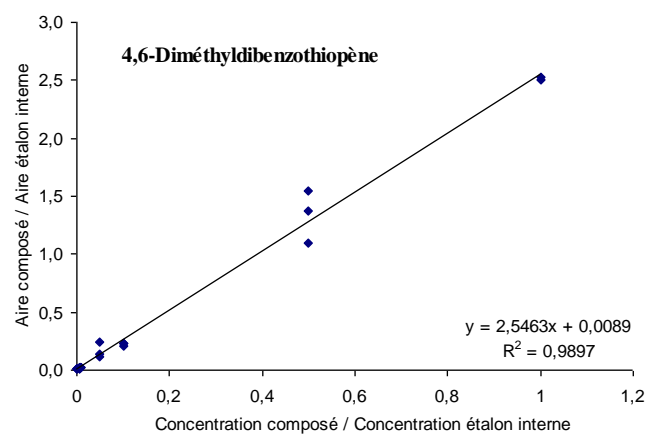
Annexe 6 : Curriculum Vitae

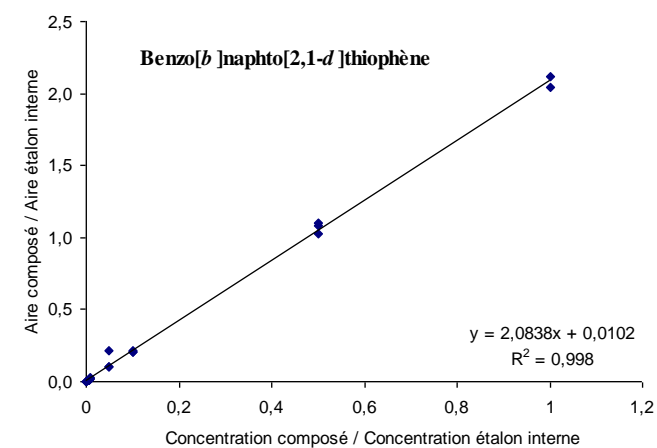
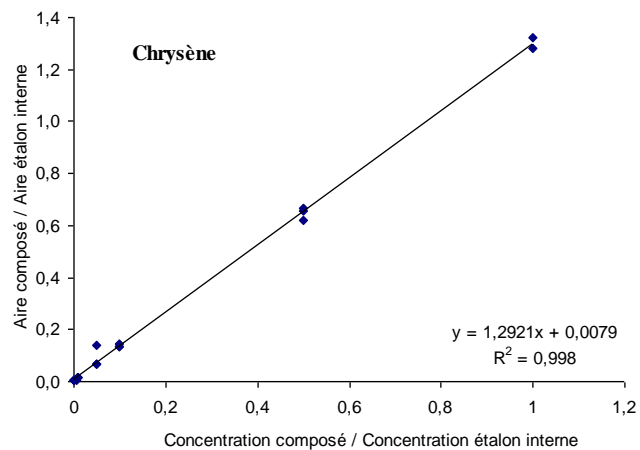
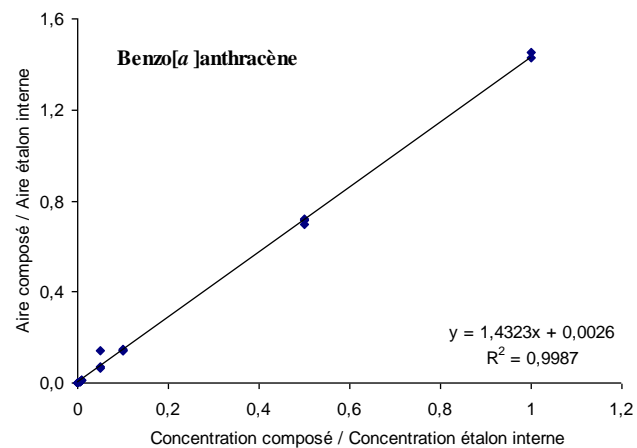
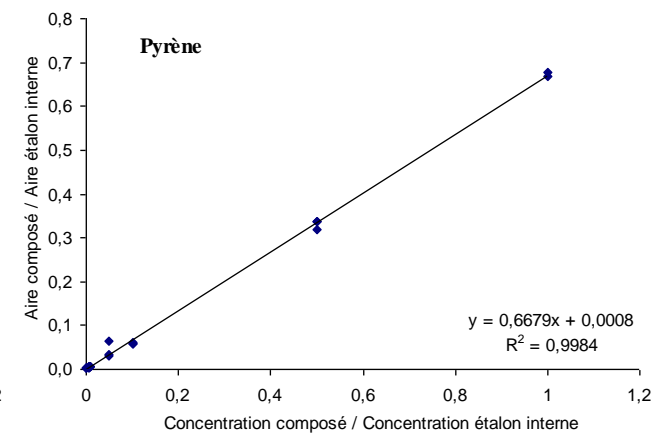
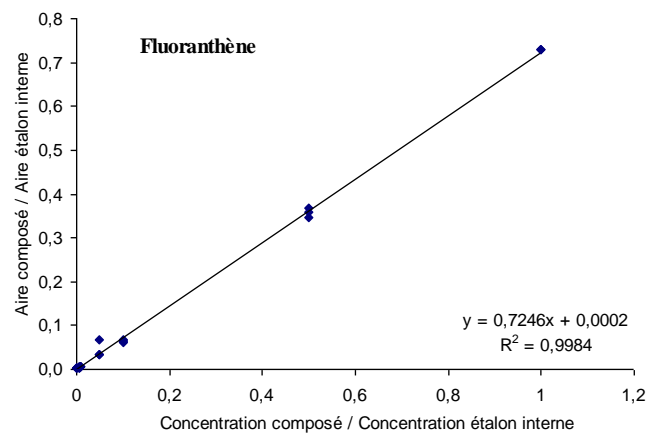
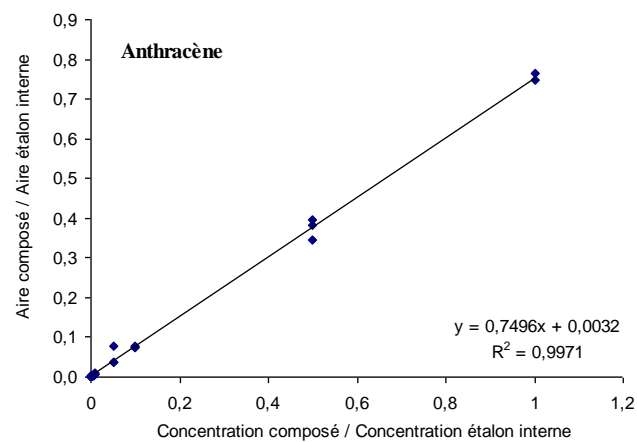
Annexe 1 : Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et HAPS (SBSE-GC-MS)

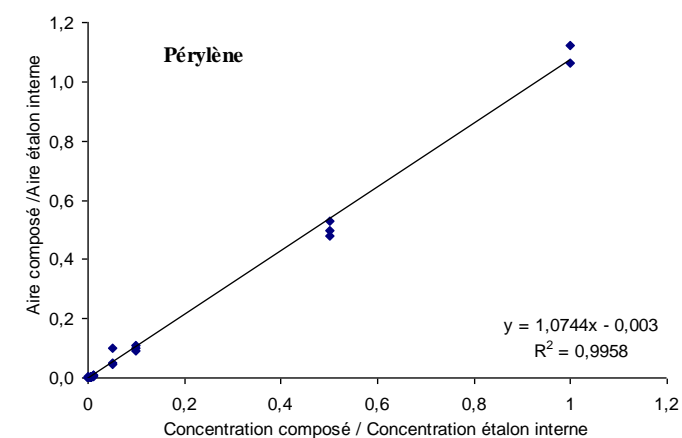
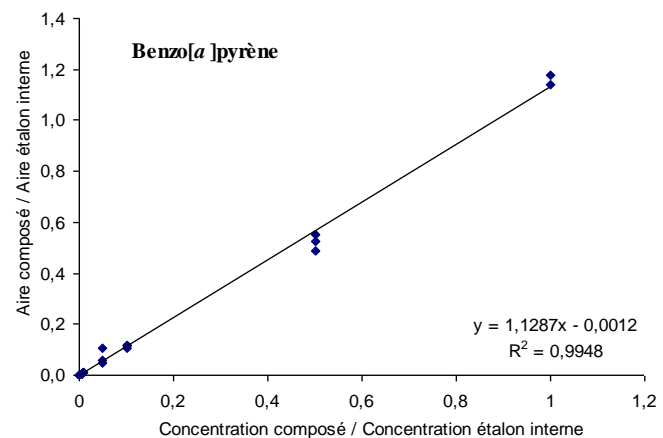
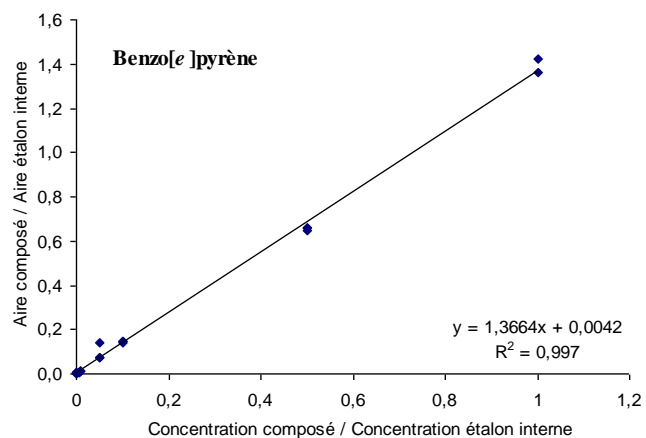
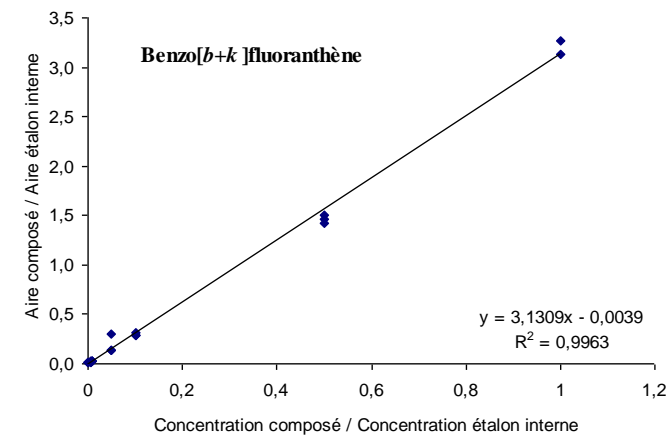
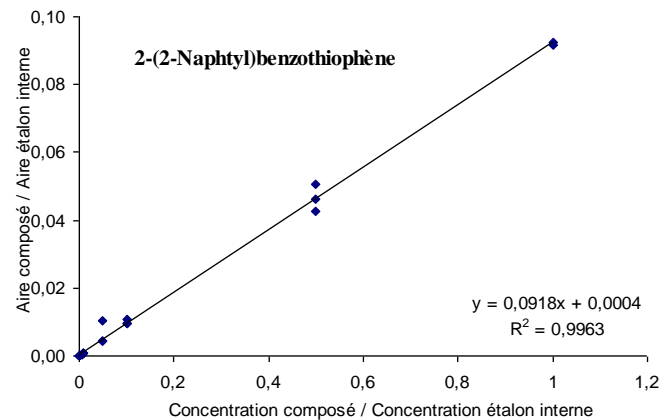
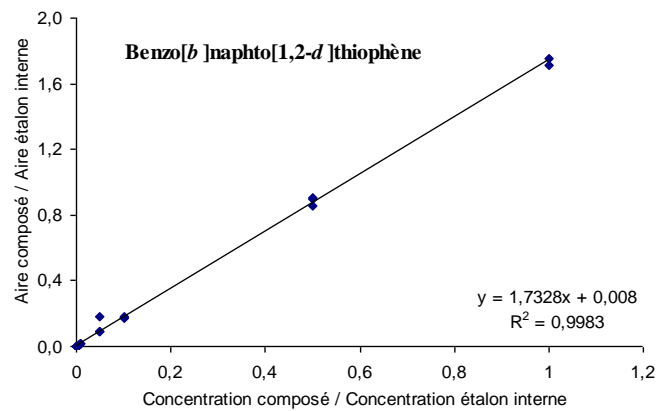
**Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et
HAPS (SBSE-GC-MS)**

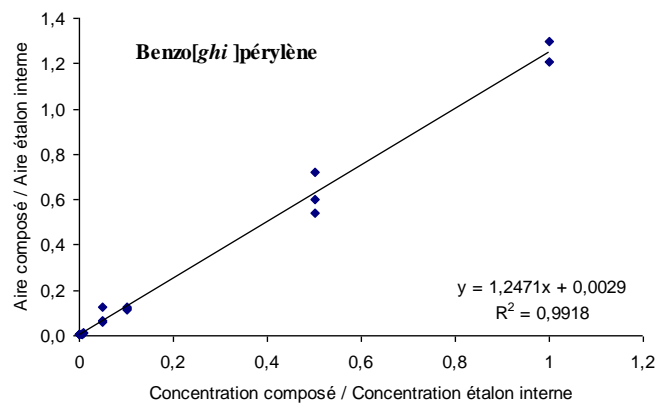
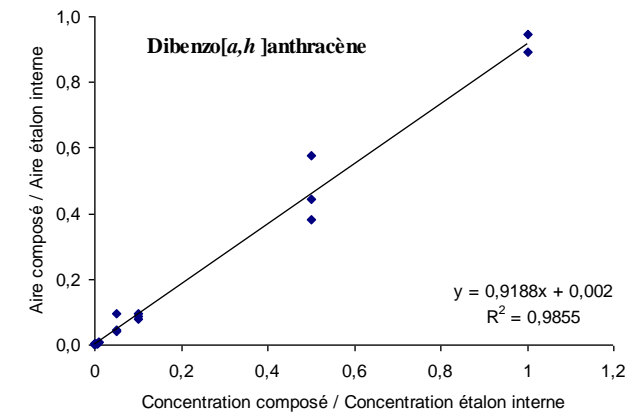
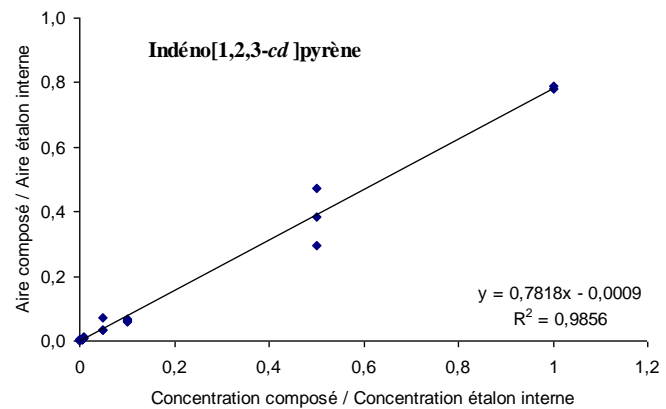
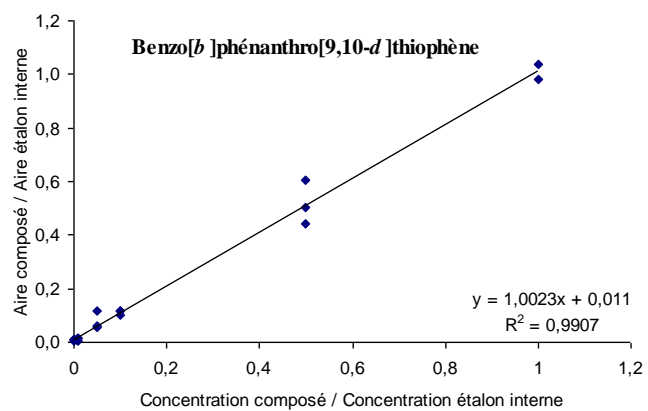






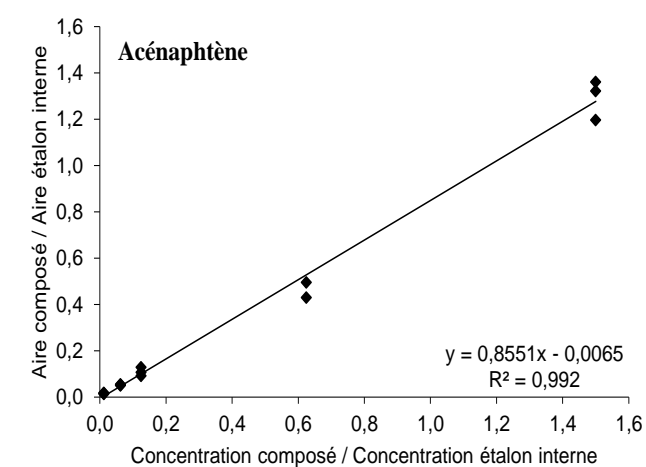
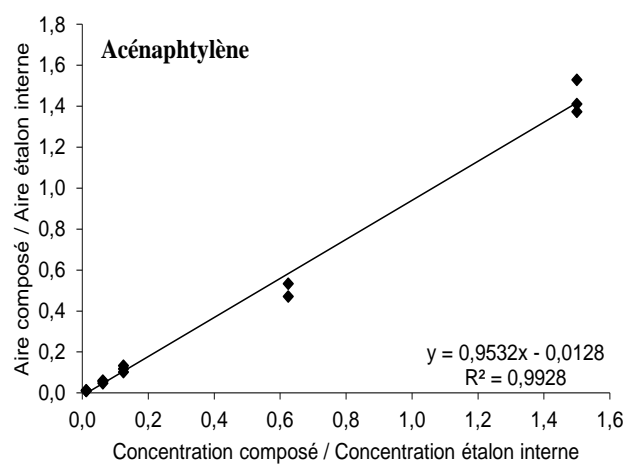
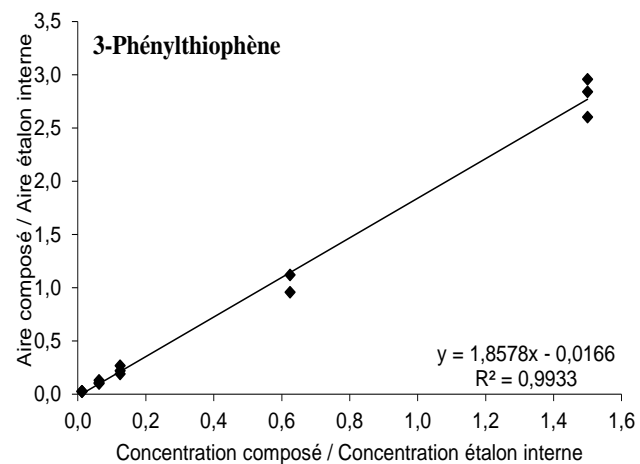
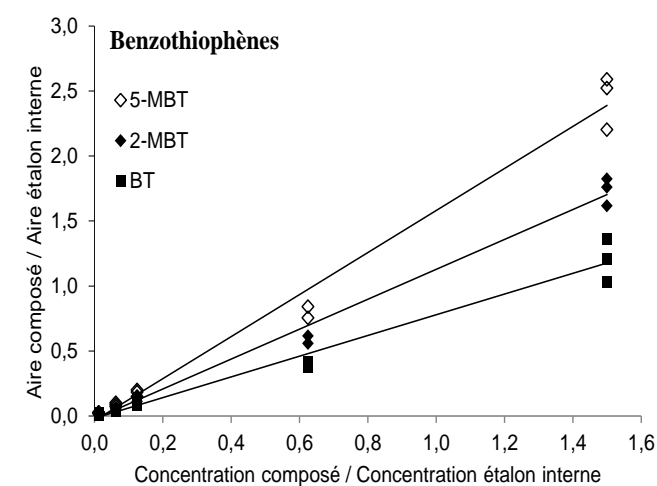
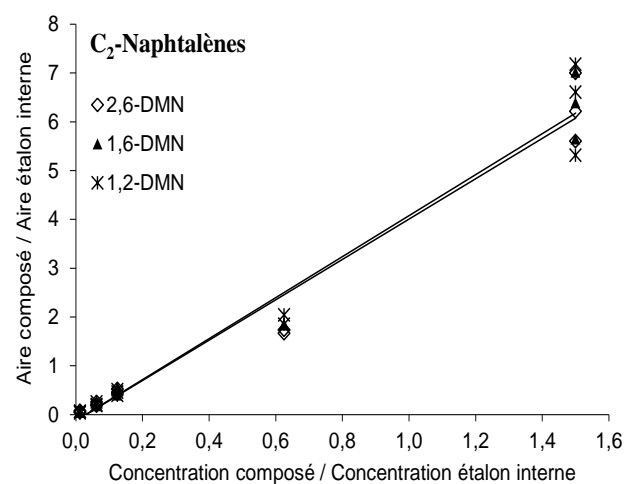
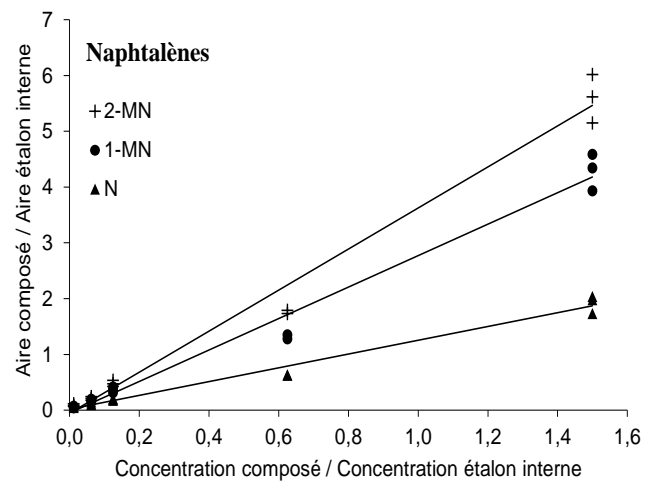


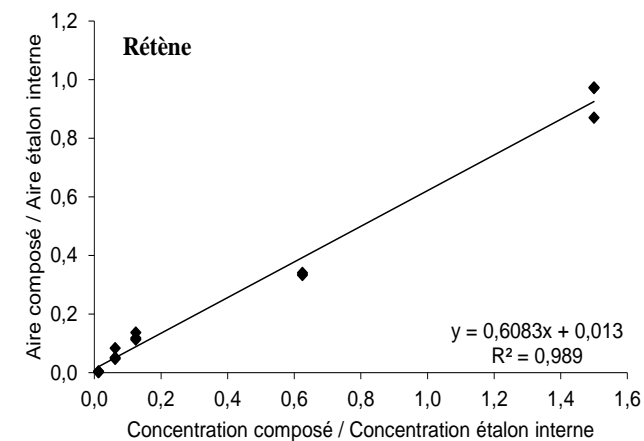
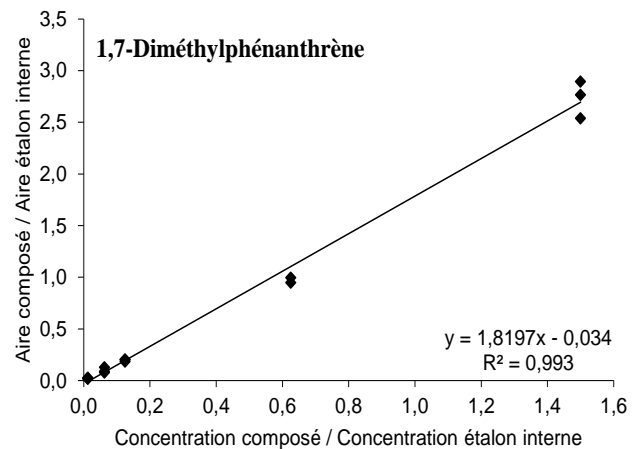
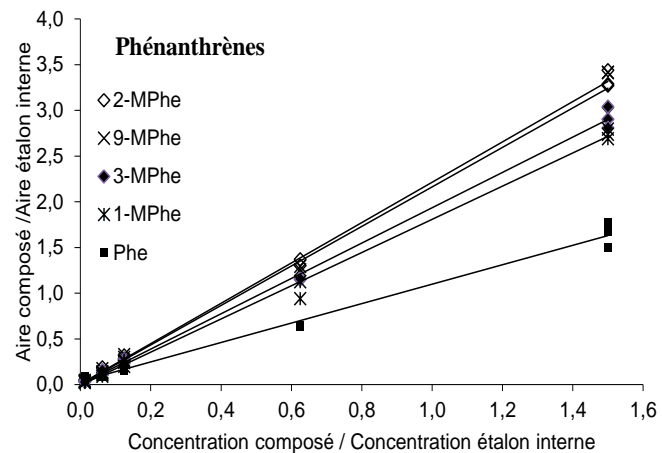
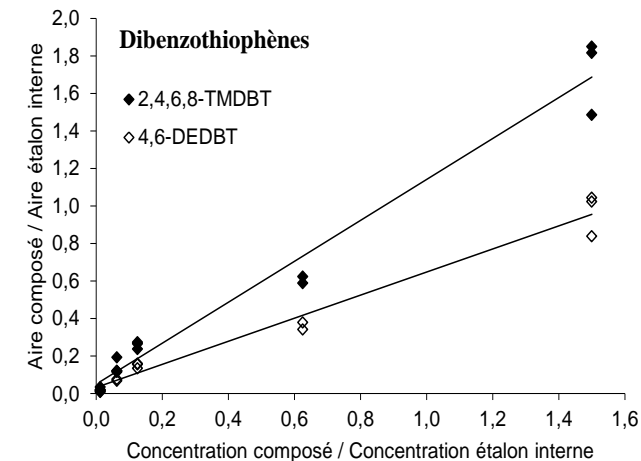
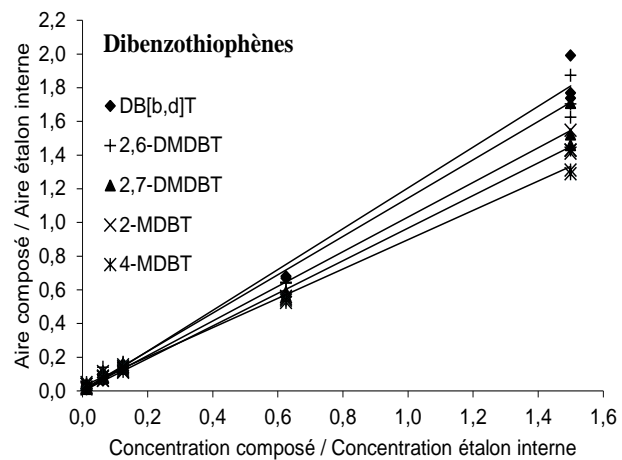
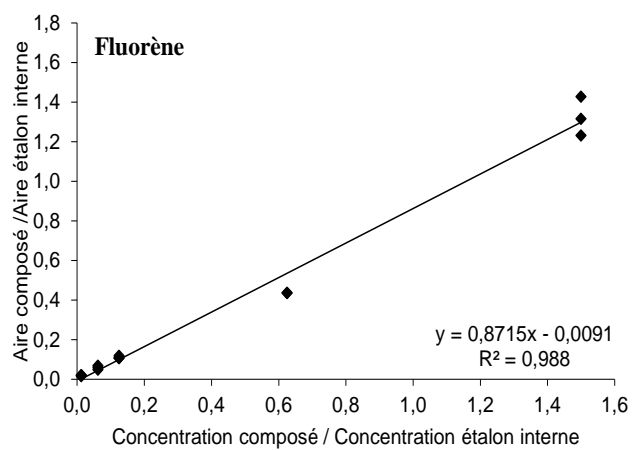


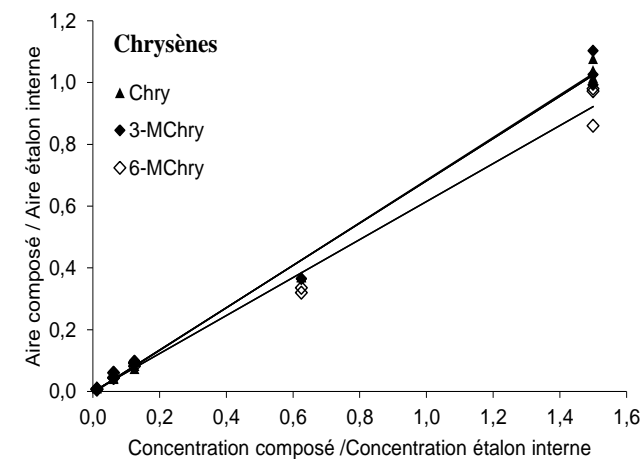
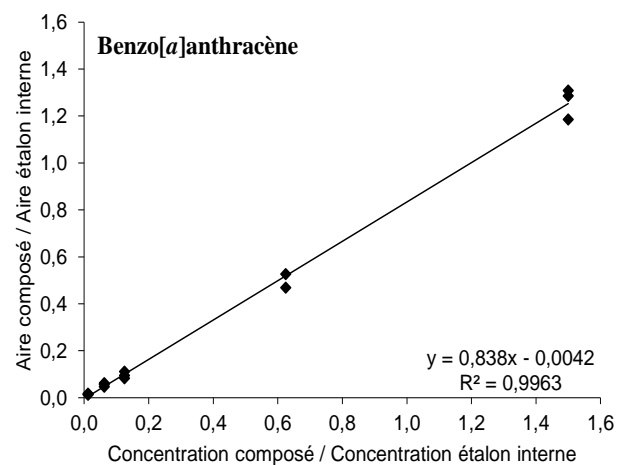
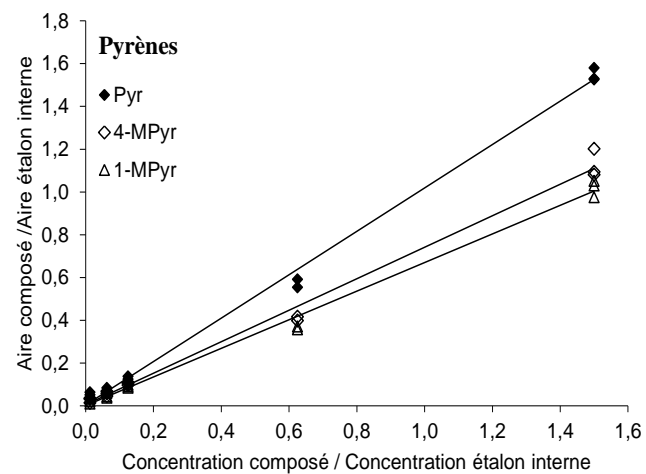
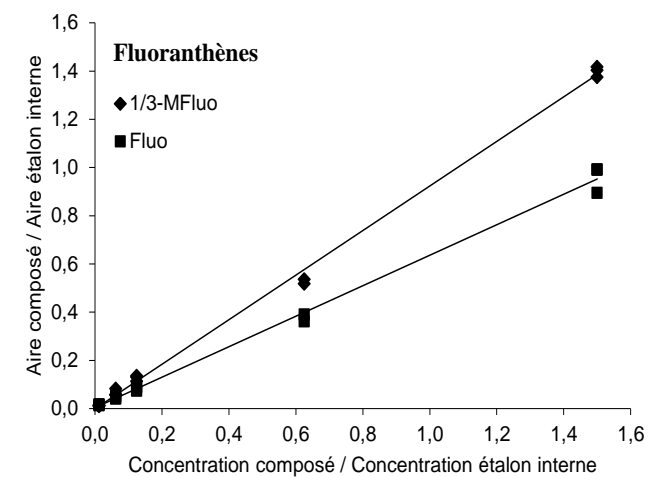
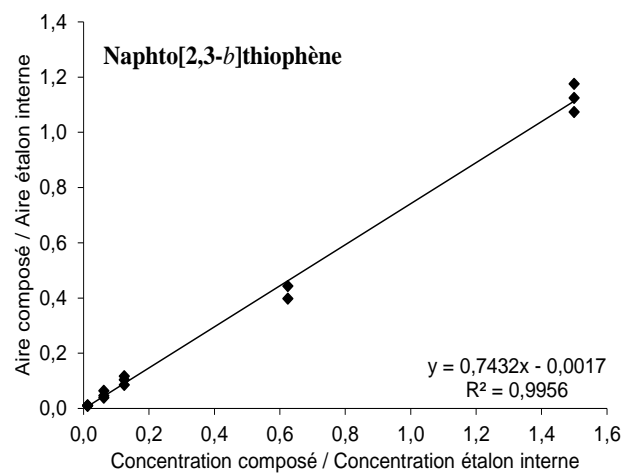
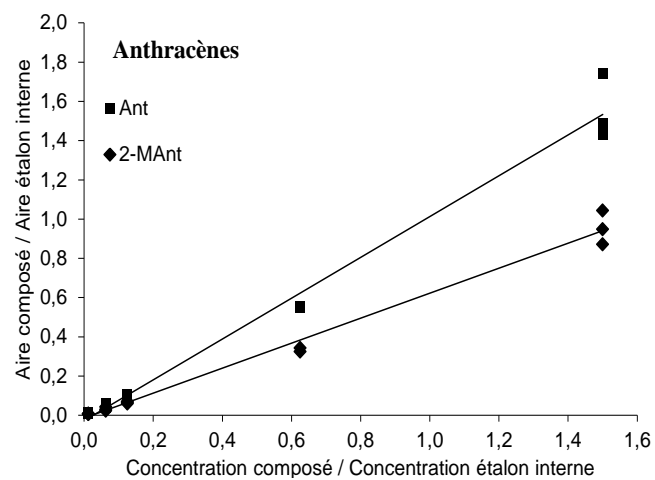


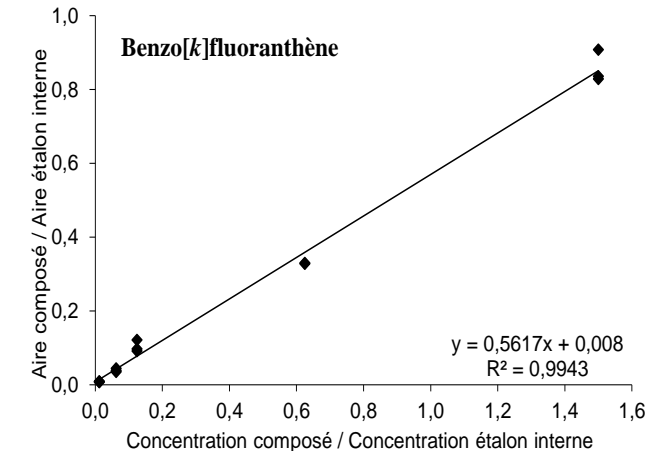
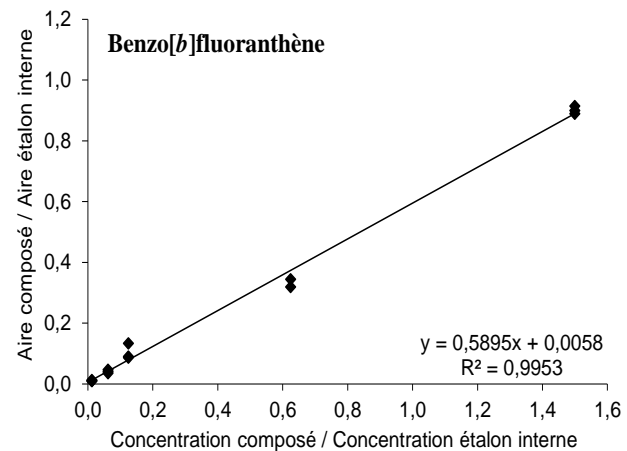
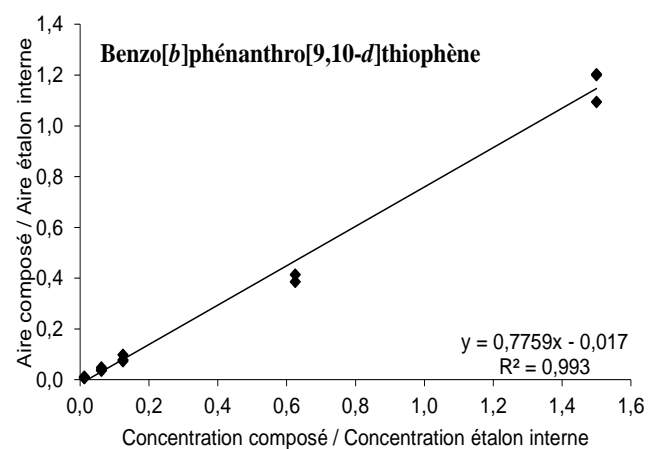
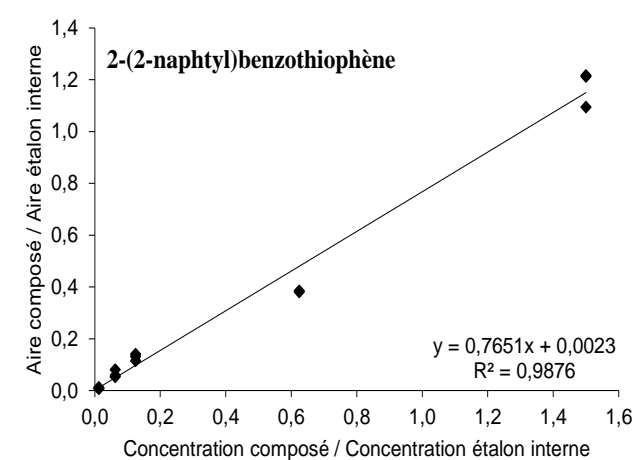
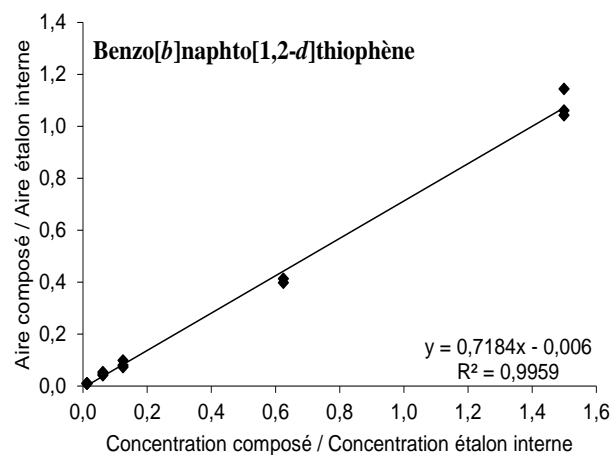
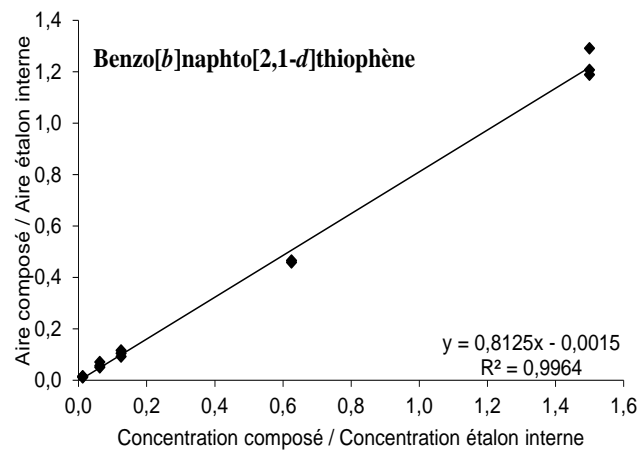
Annexe 2 : Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et HAPS (SPME-GC-MS)

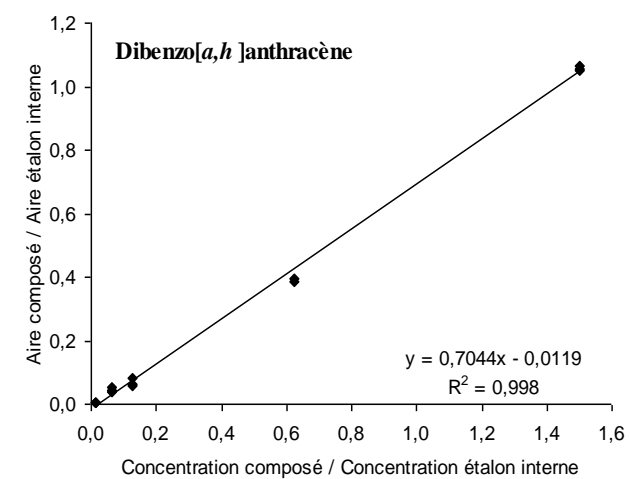
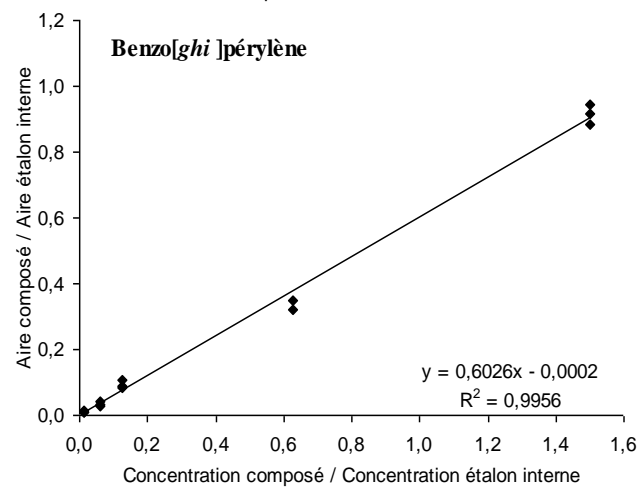
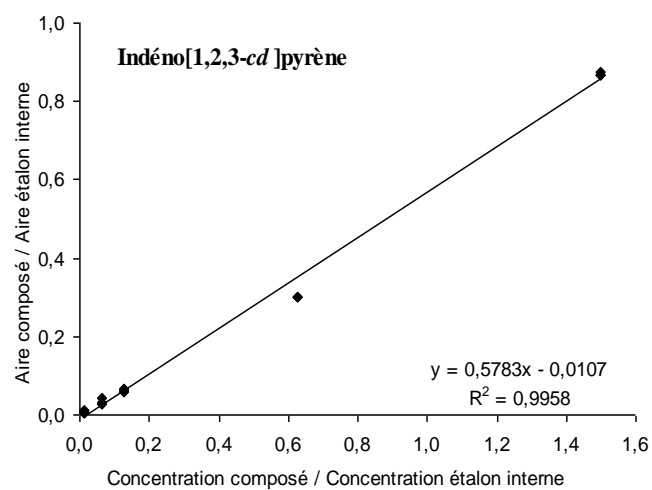
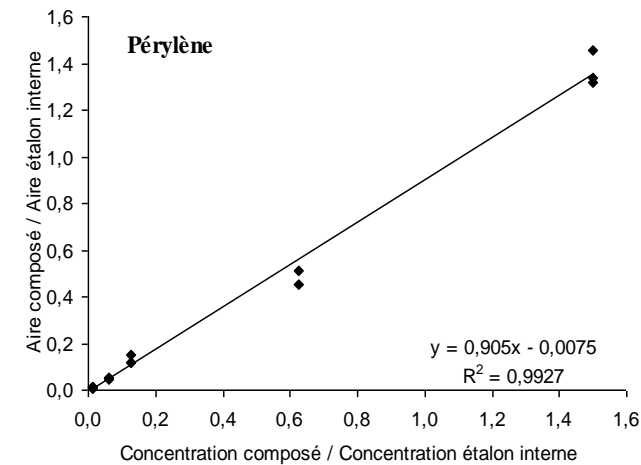
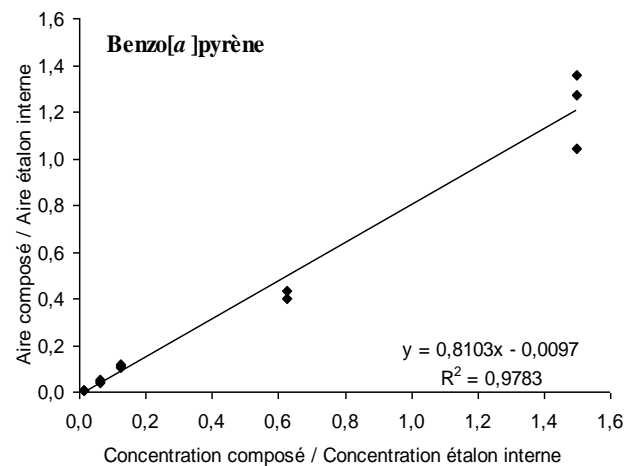
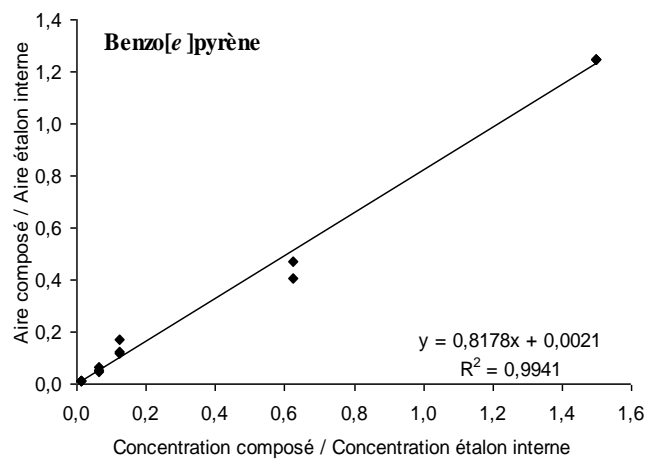
**Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et
HAPS (SPME-GC-MS)**





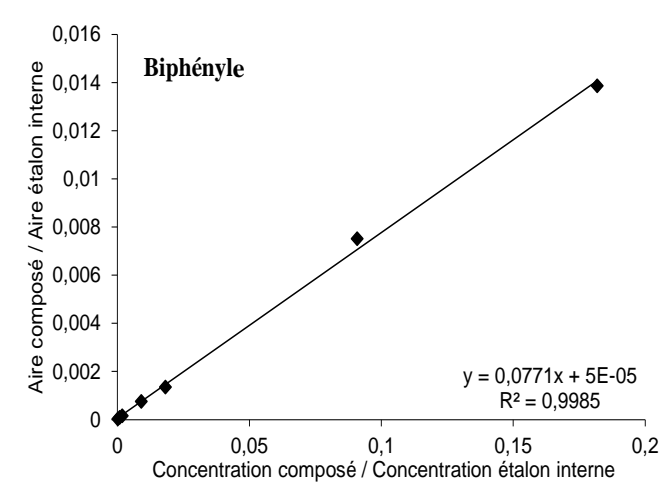
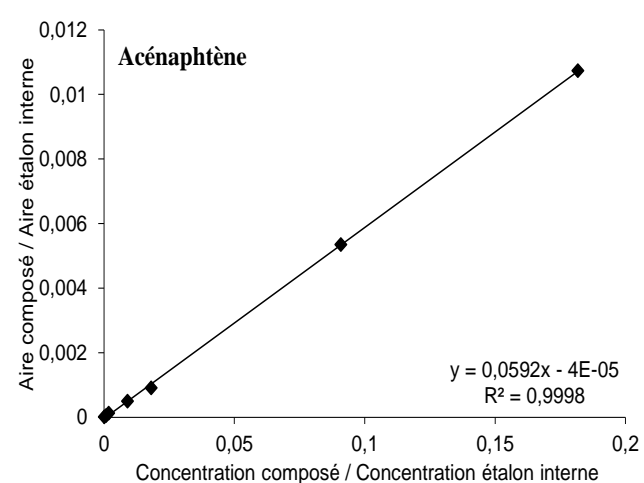
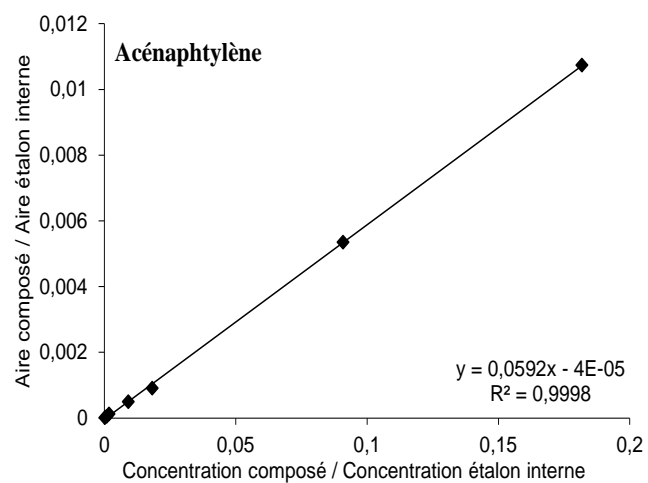
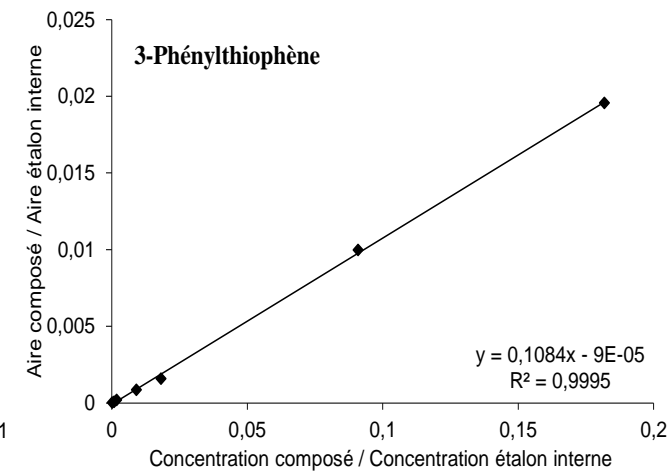
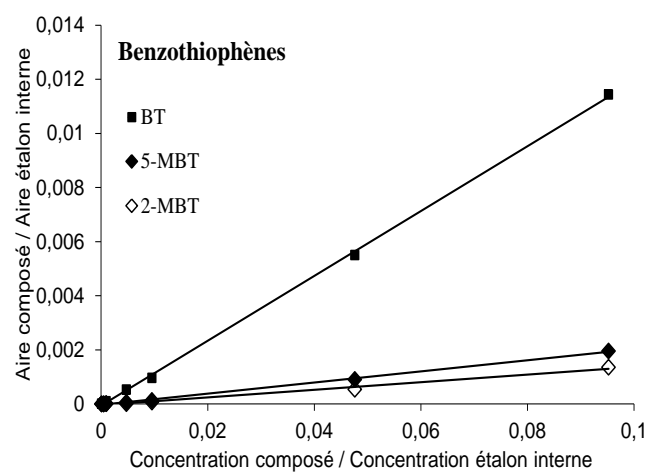
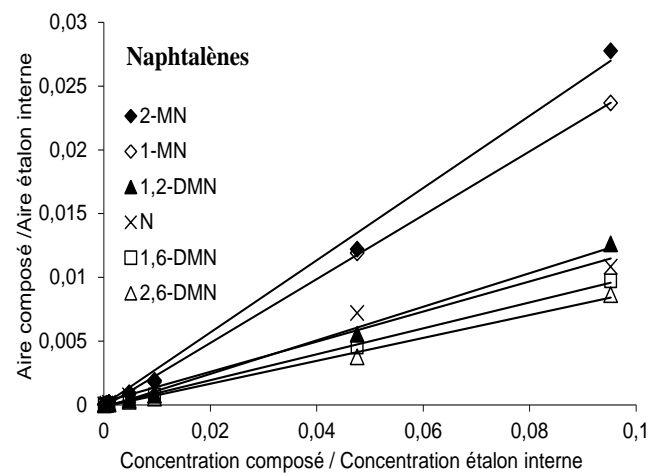


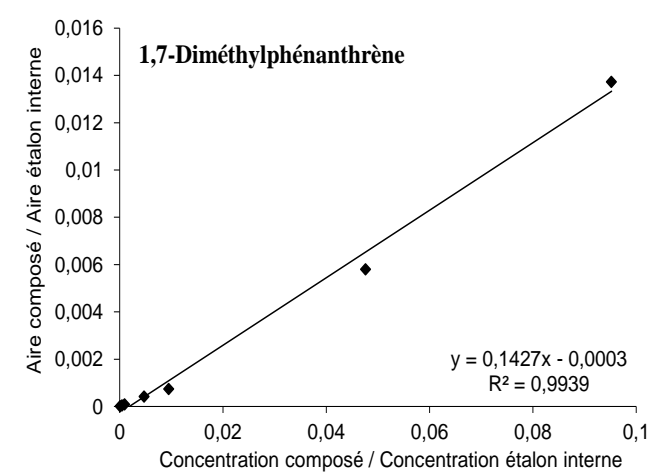
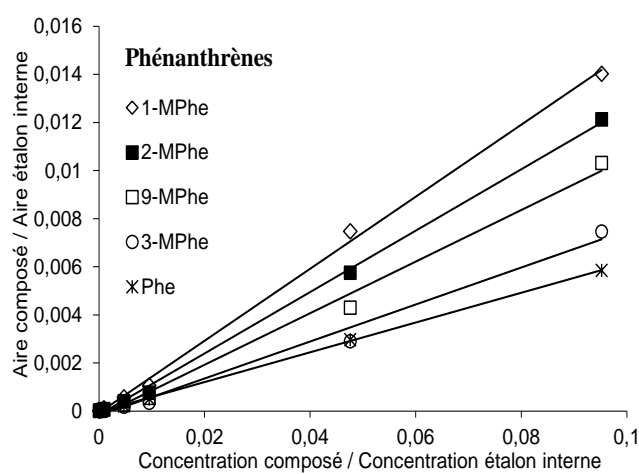
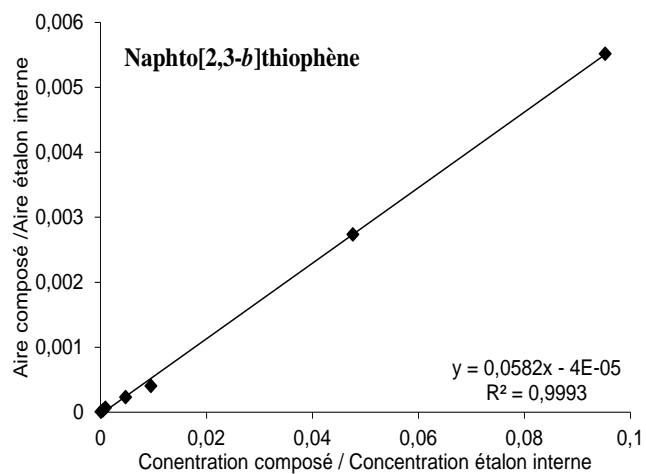
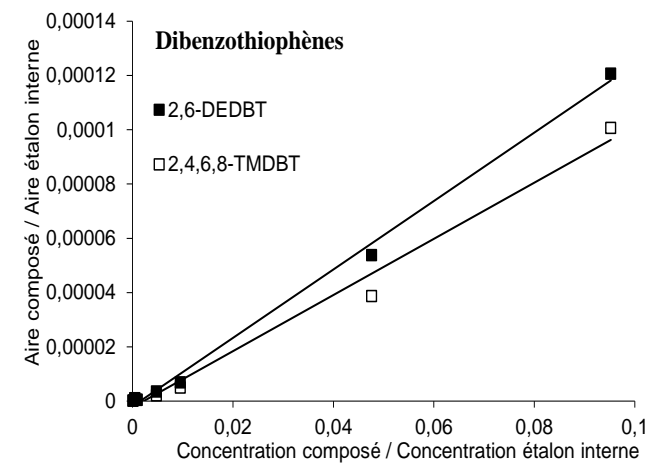
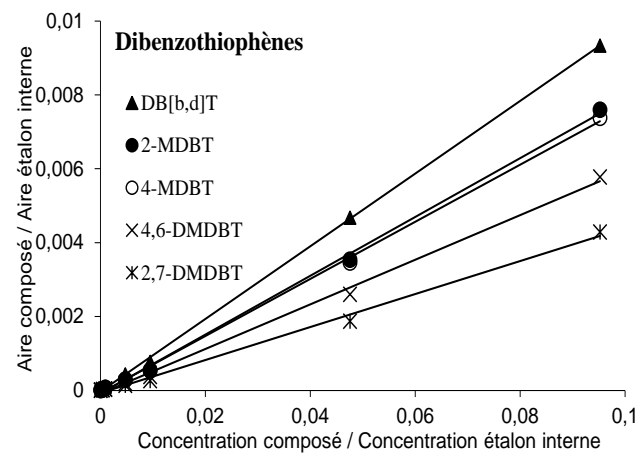
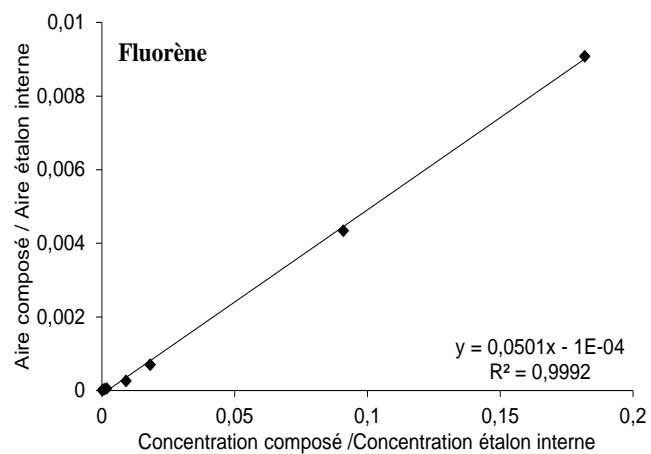


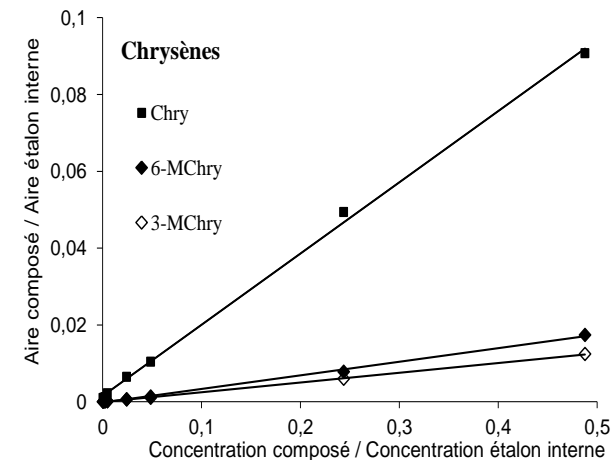
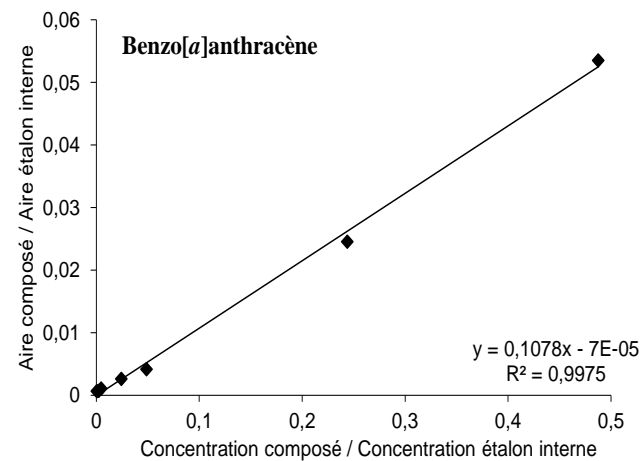
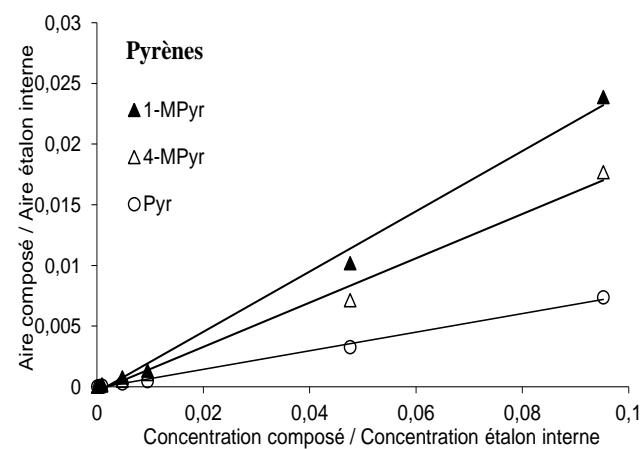
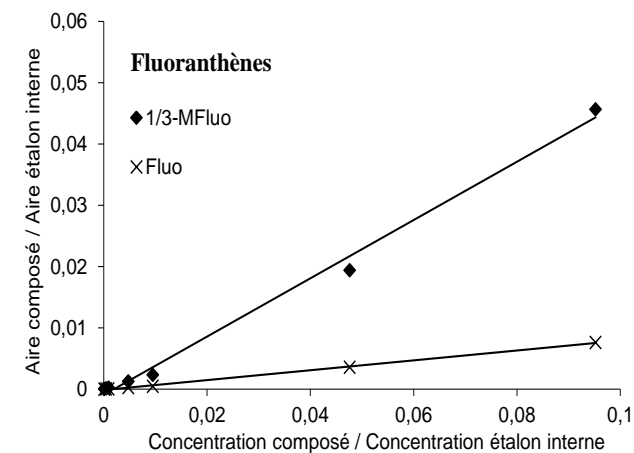
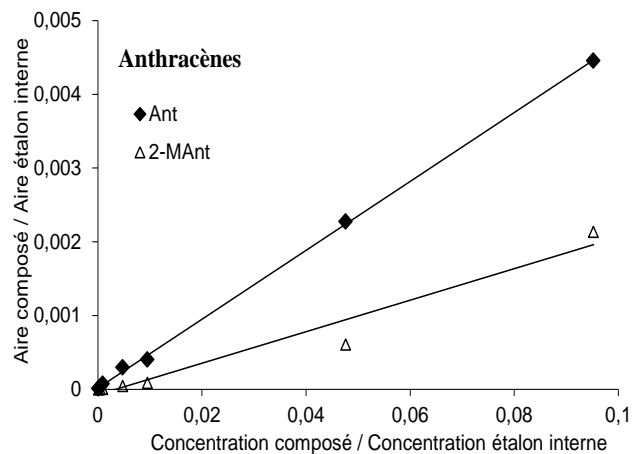
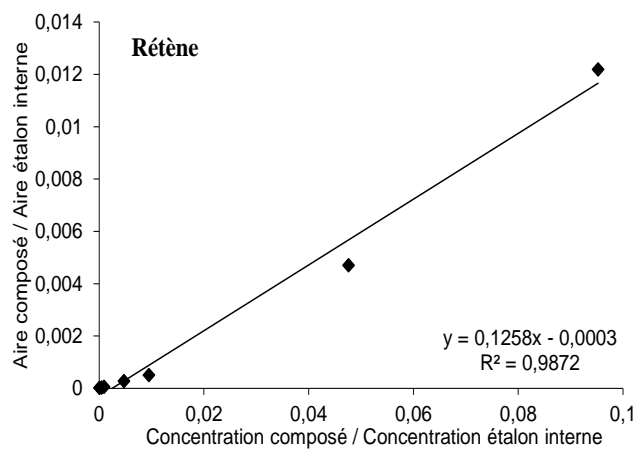


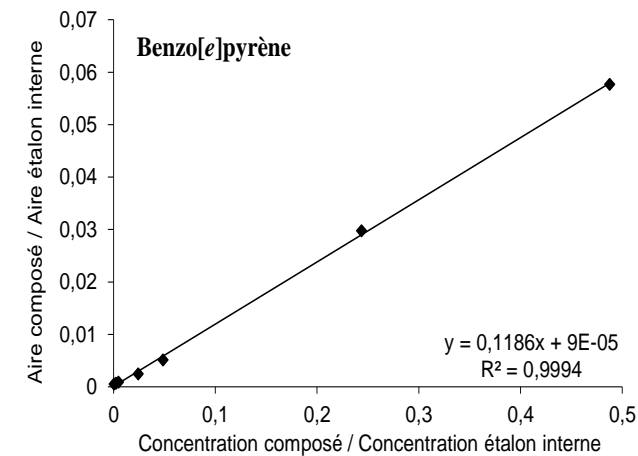
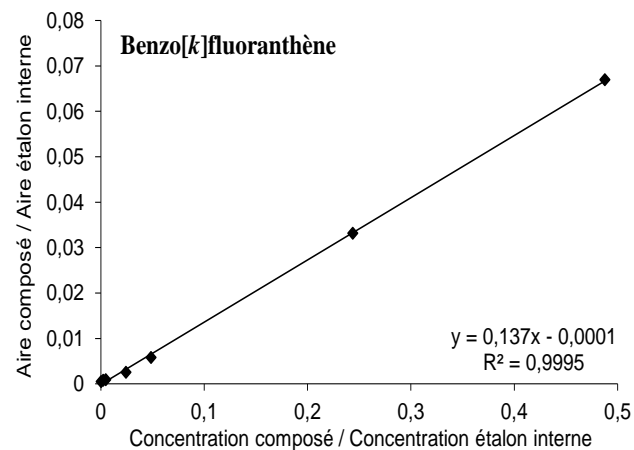
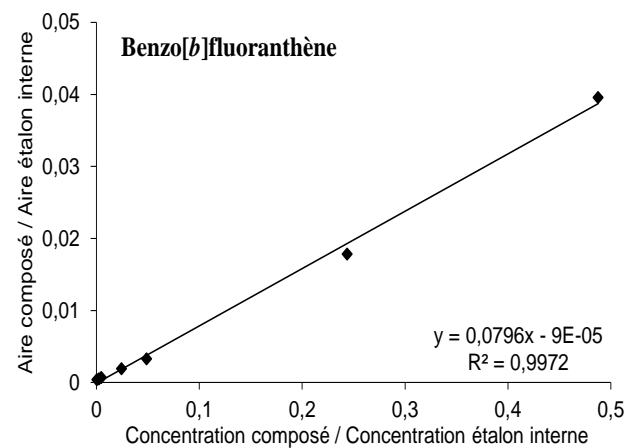
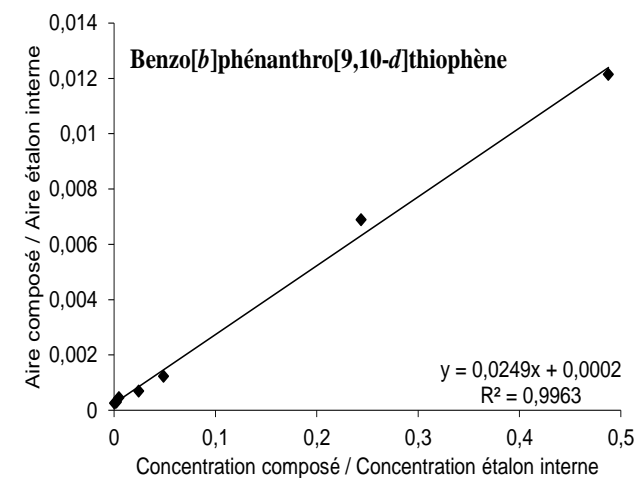
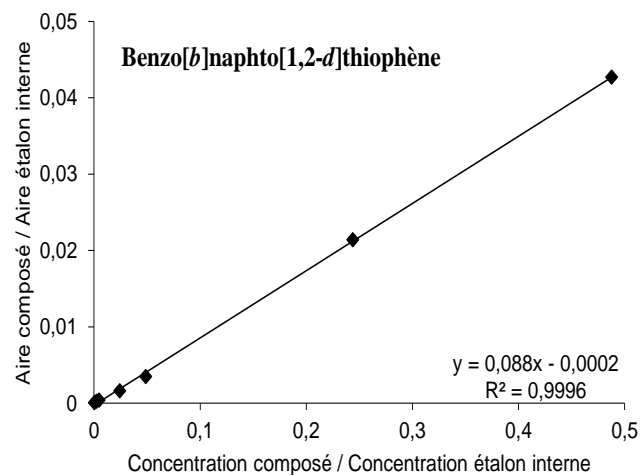
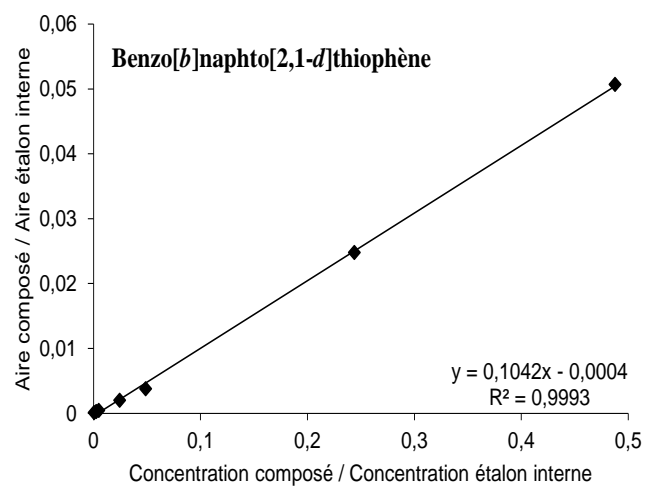
Annexe 3 : Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et HAPS (GC-MS-MS)

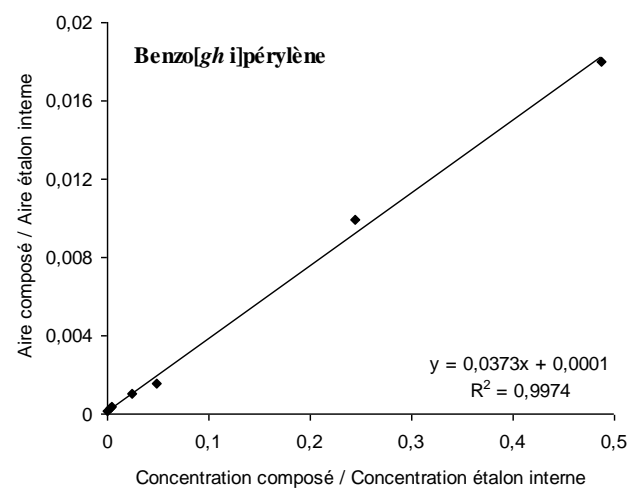
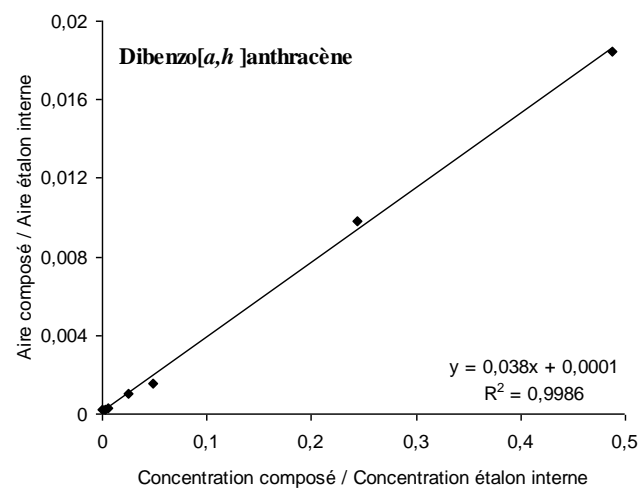
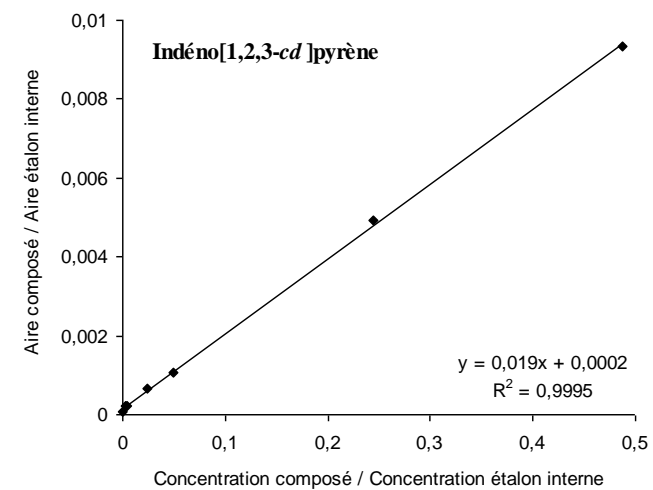
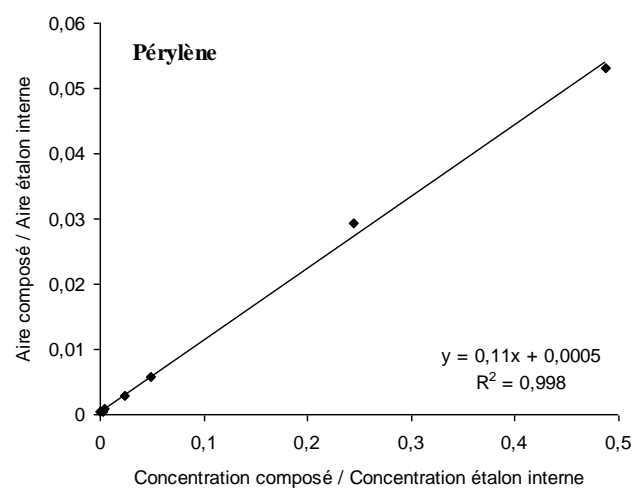
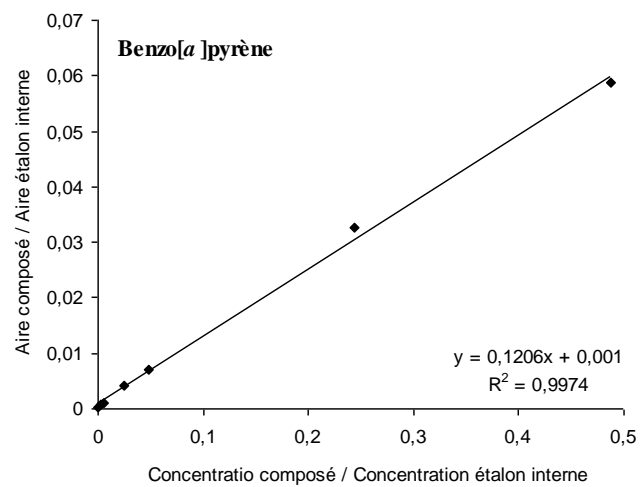
**Courbes d'étalonnages pour la mesure des HAP et
HAPS (GC-MS-MS)**





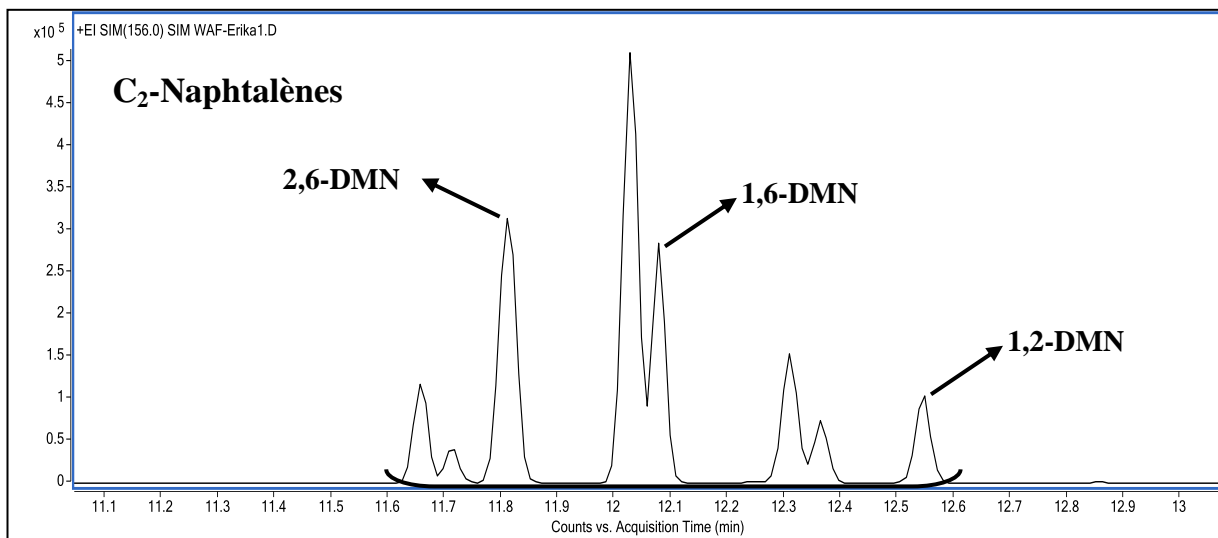
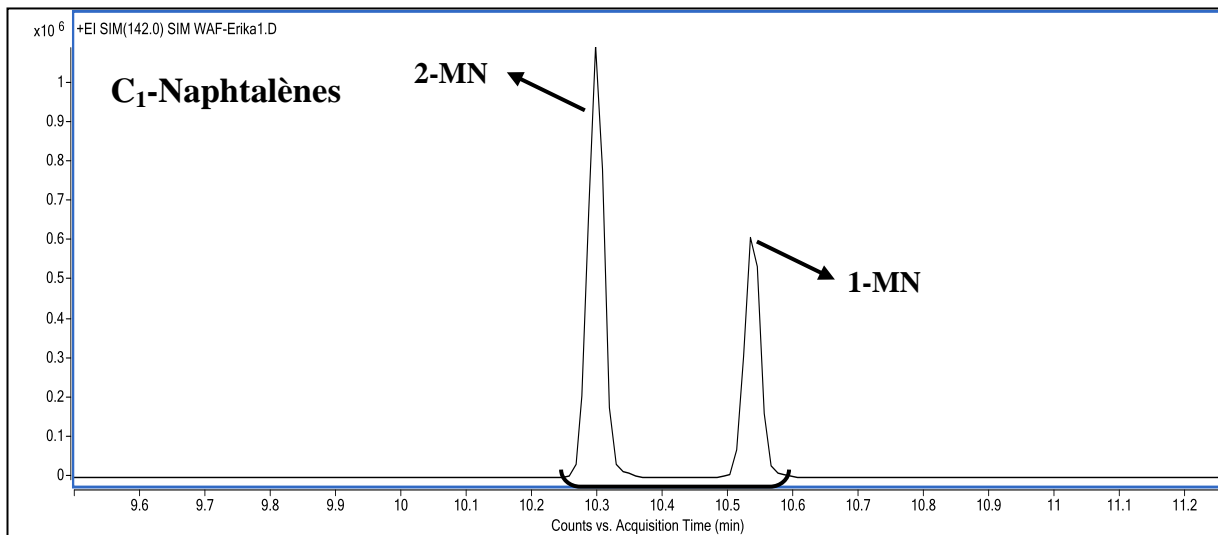
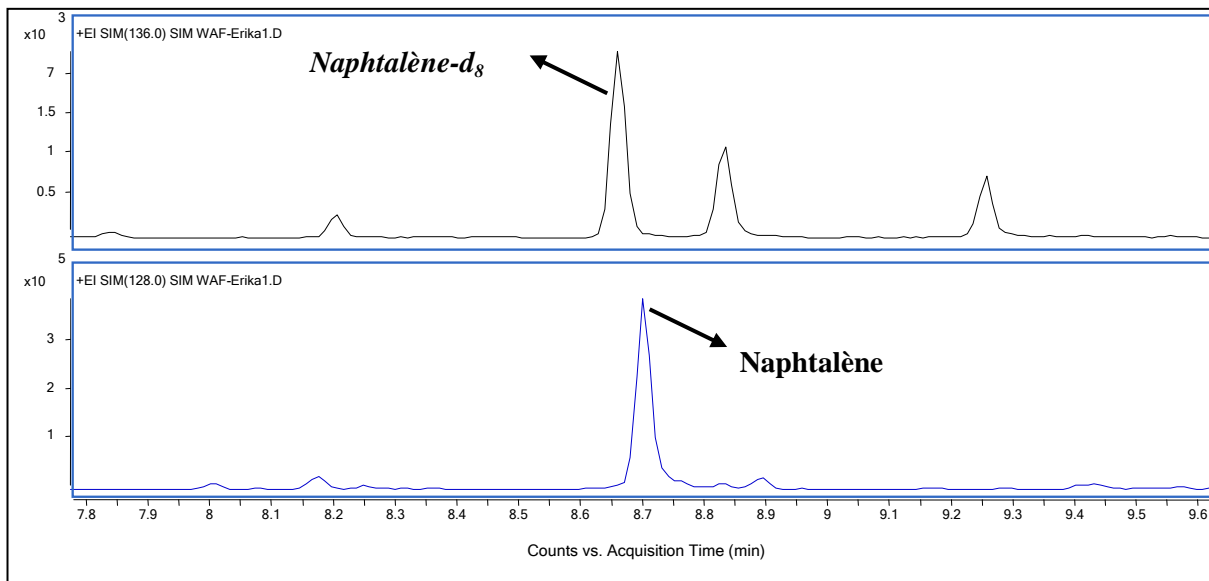


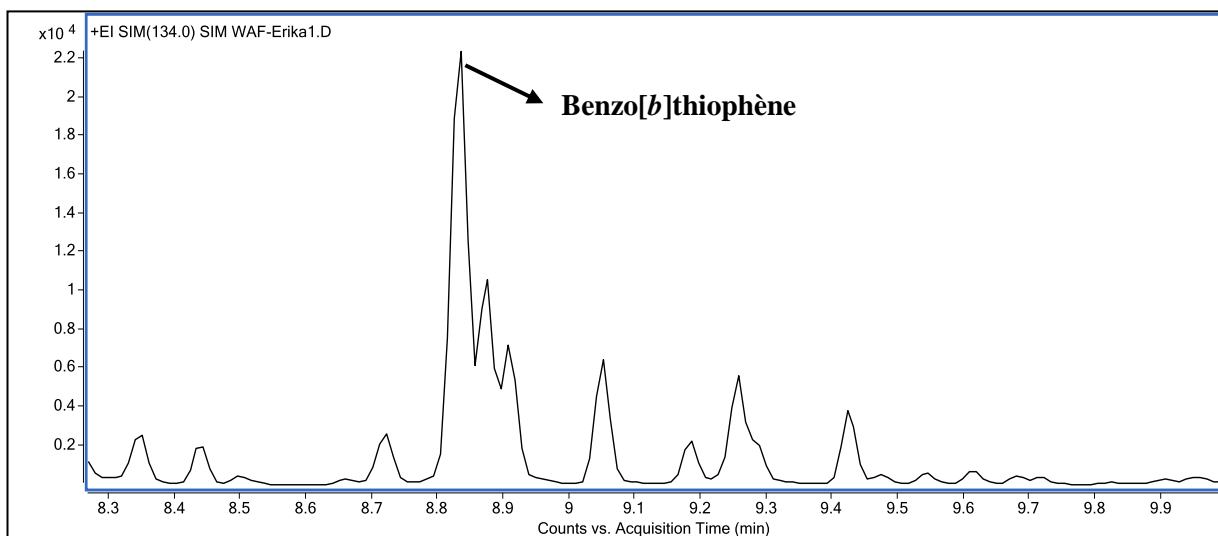
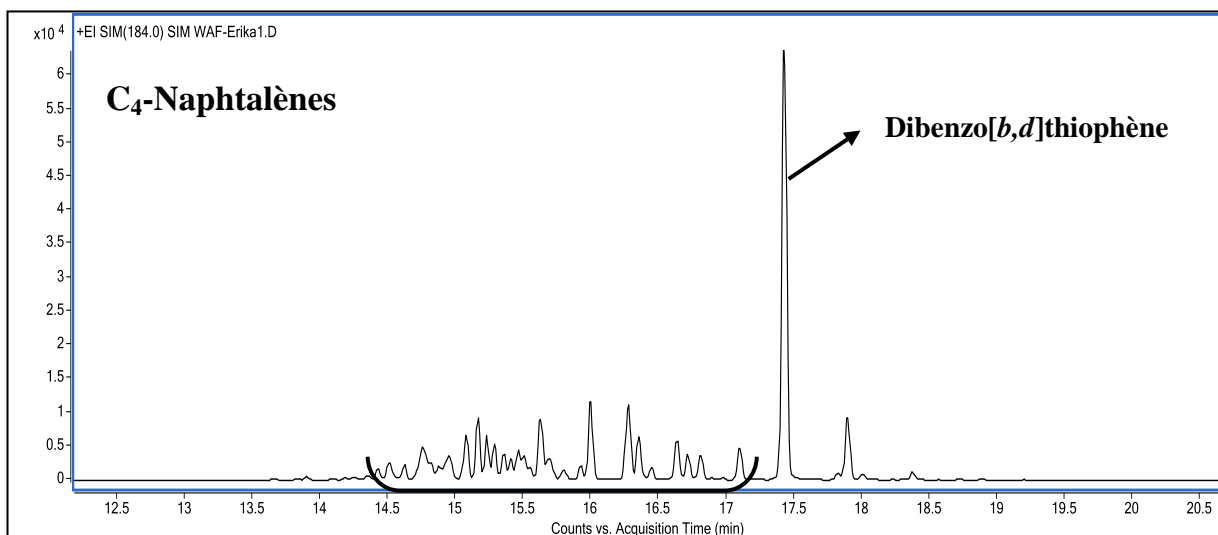
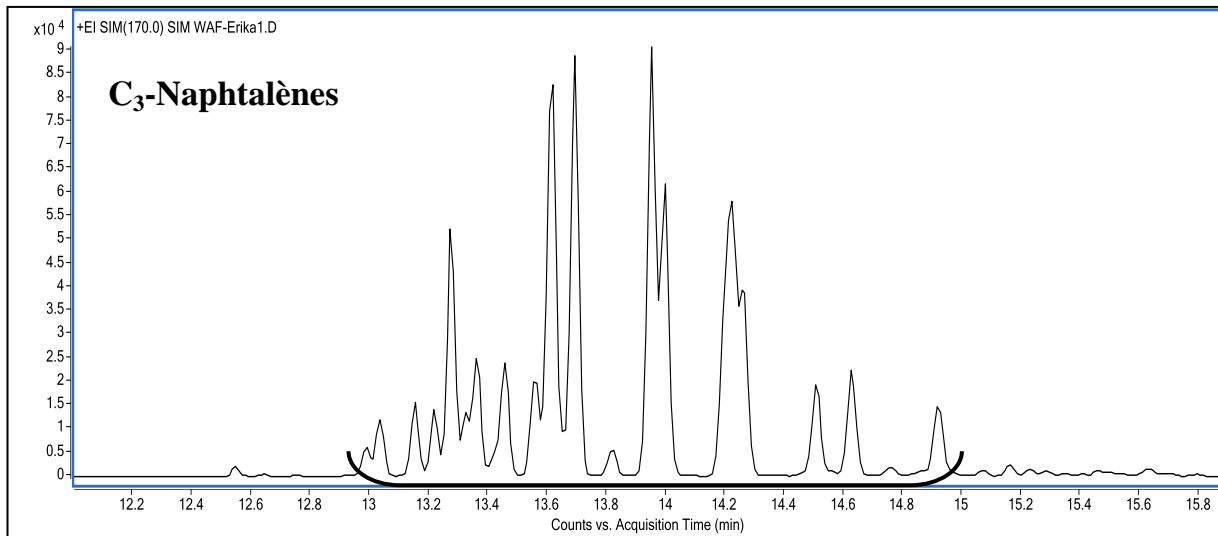


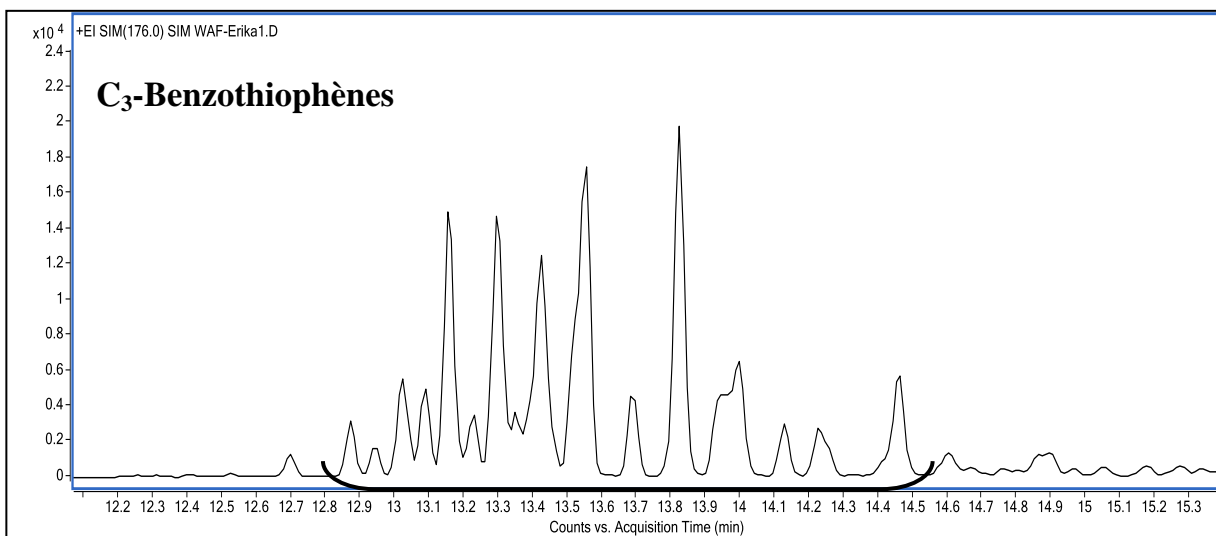
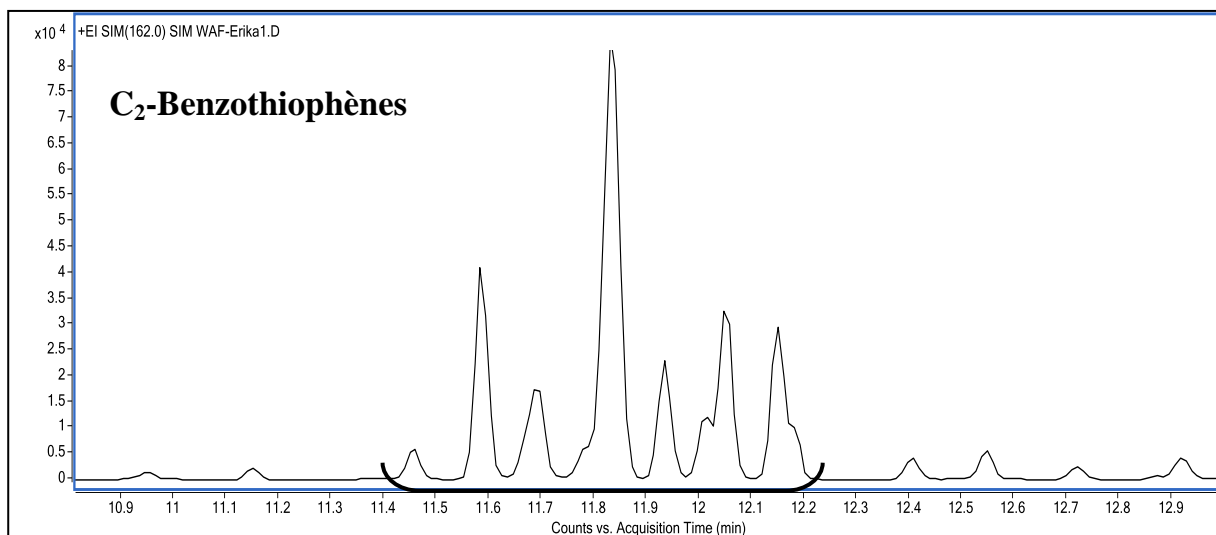
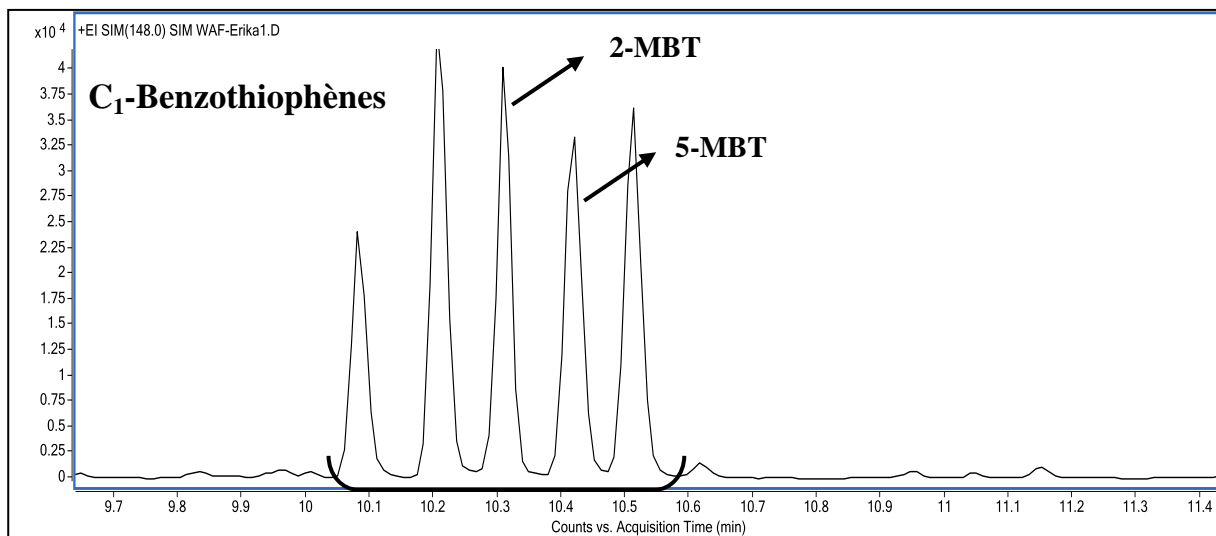


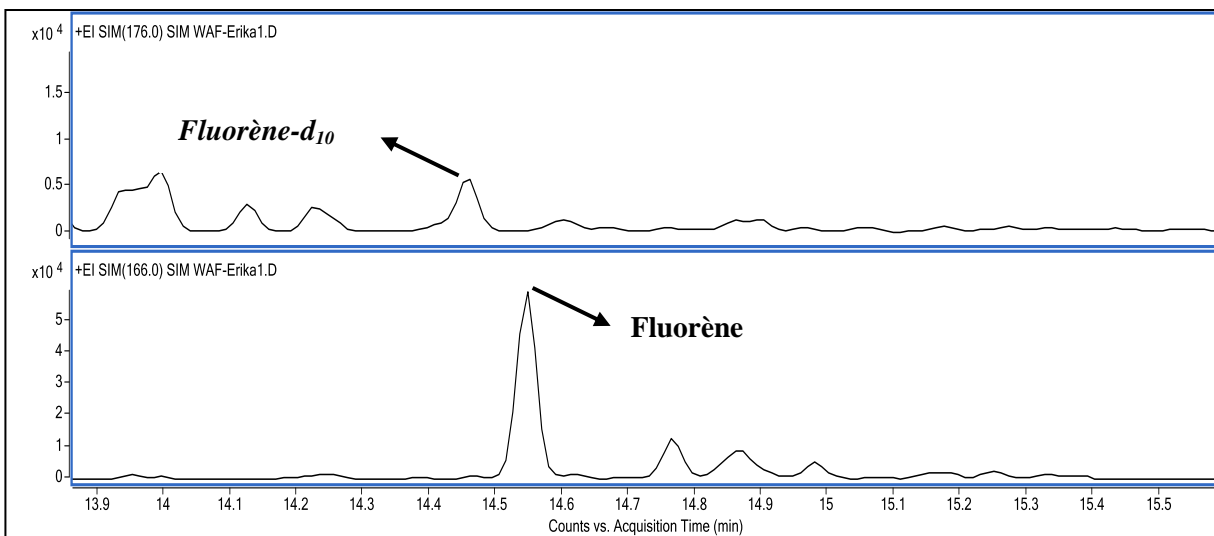
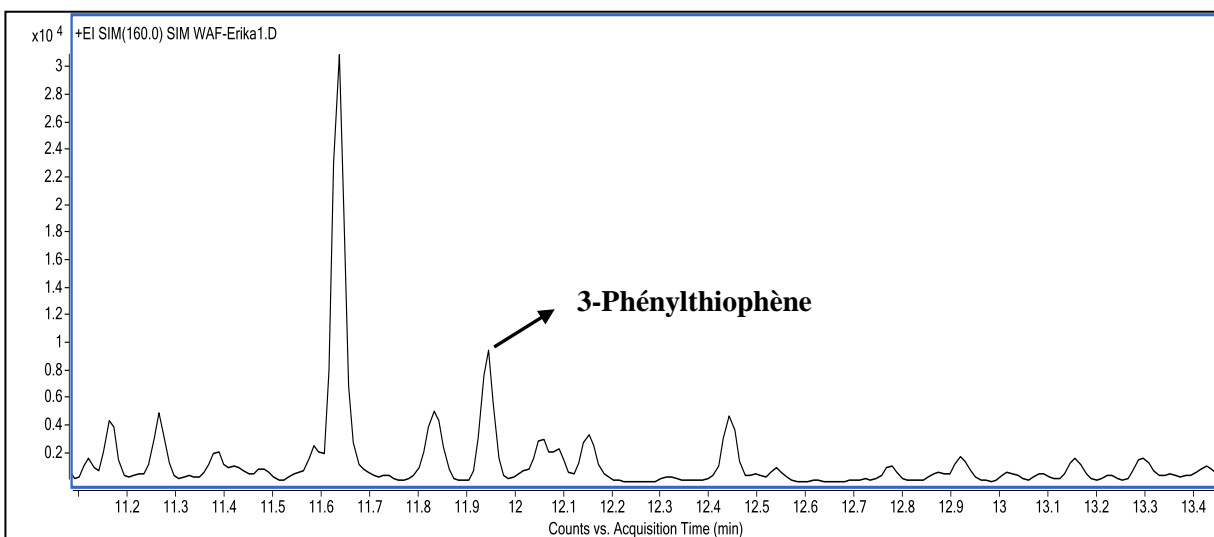
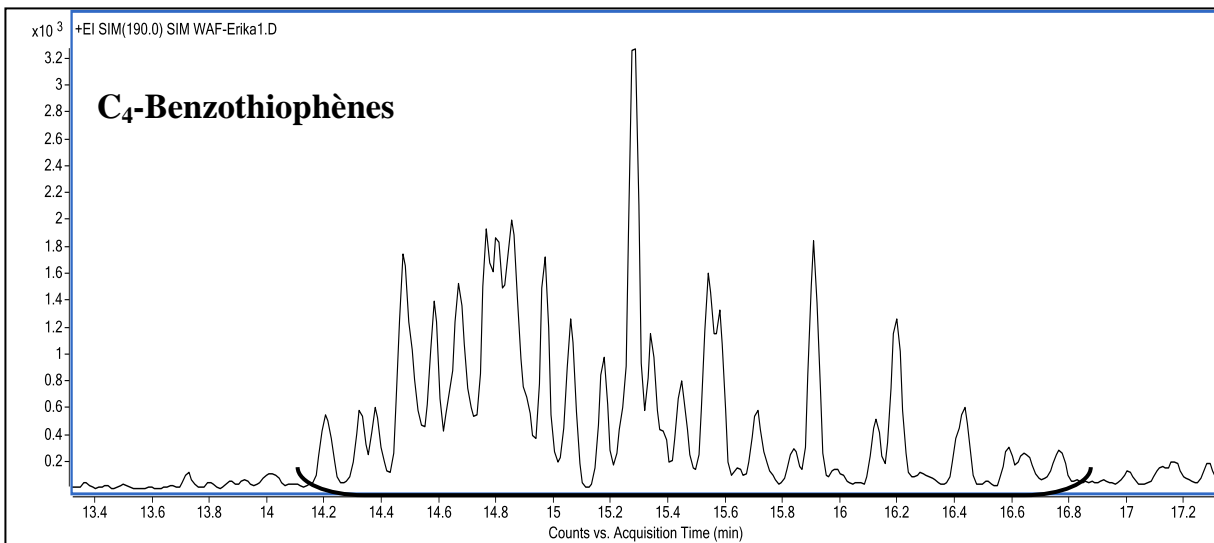
Annexe 4 : Chromatogrammes des composés d'intérêt dans l'analyse en GC-MS

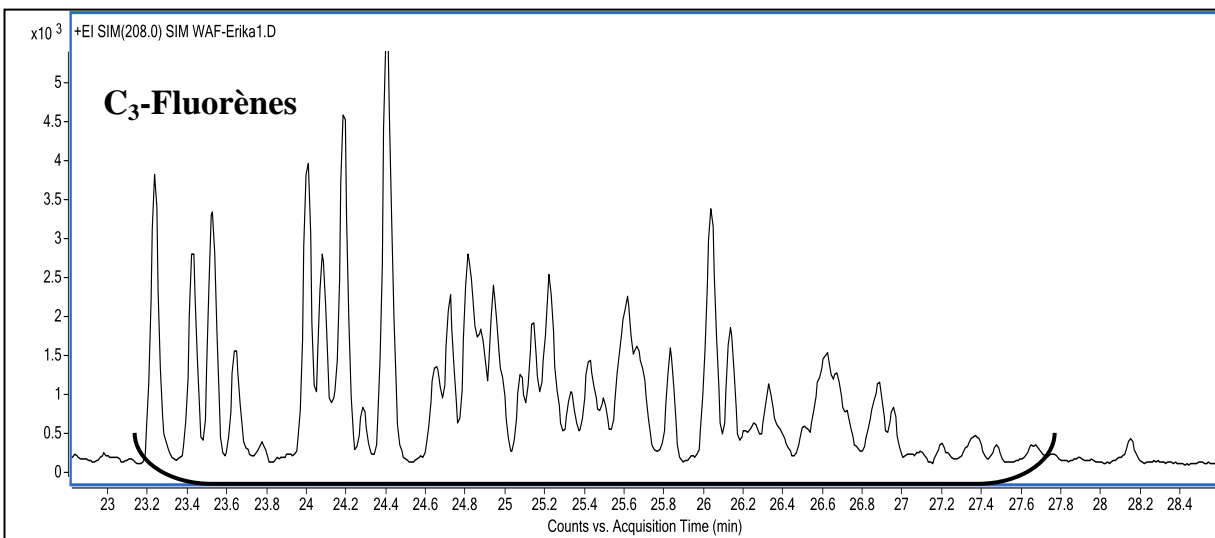
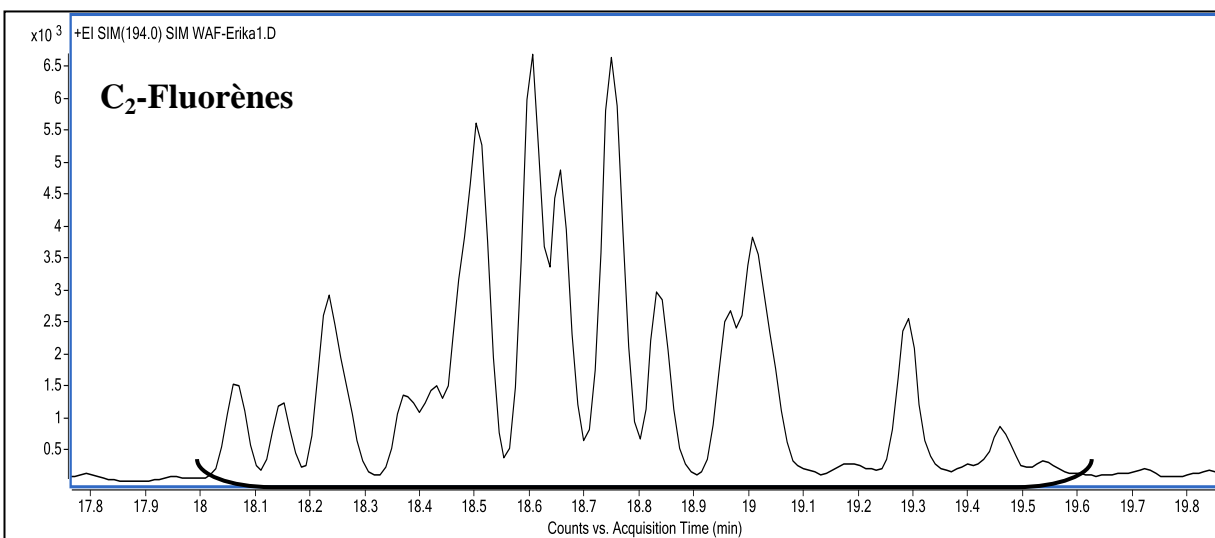
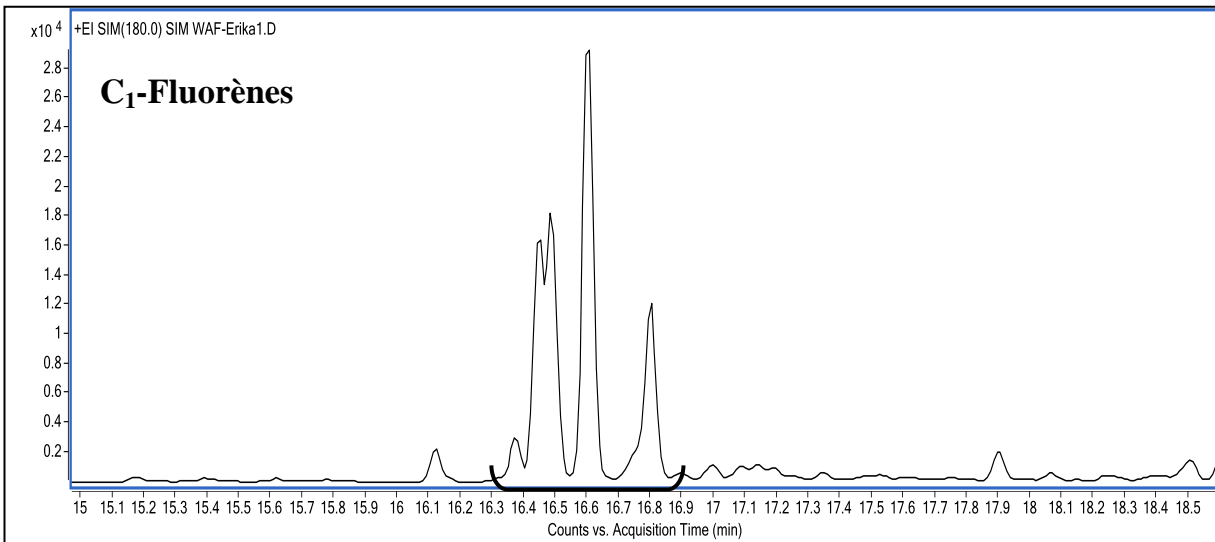
**Chromatogrammes des composés d'intérêt dans
l'analyse en GC-MS**

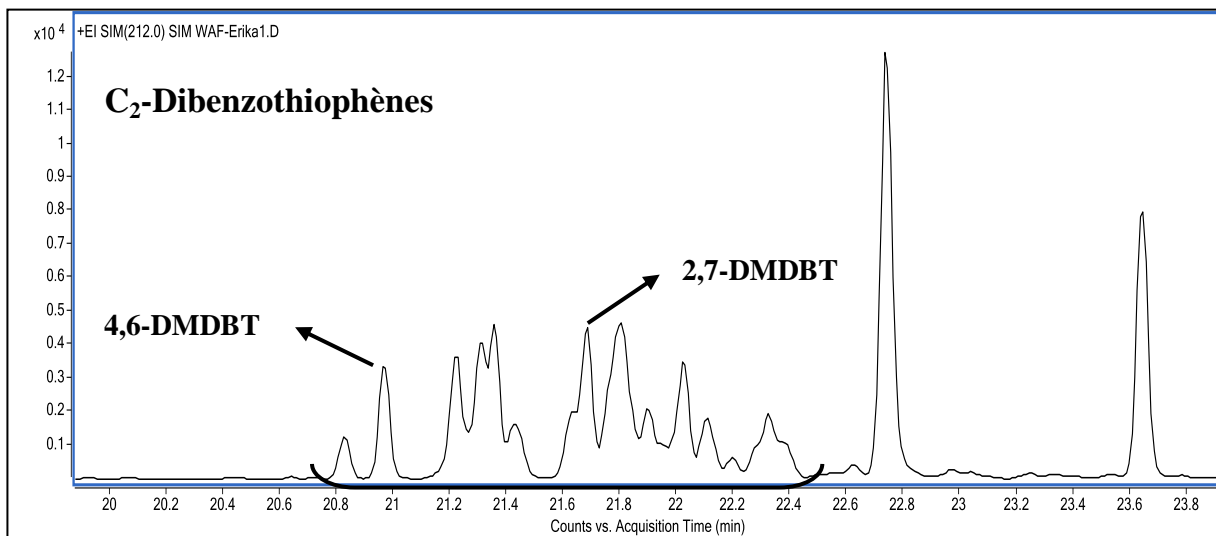
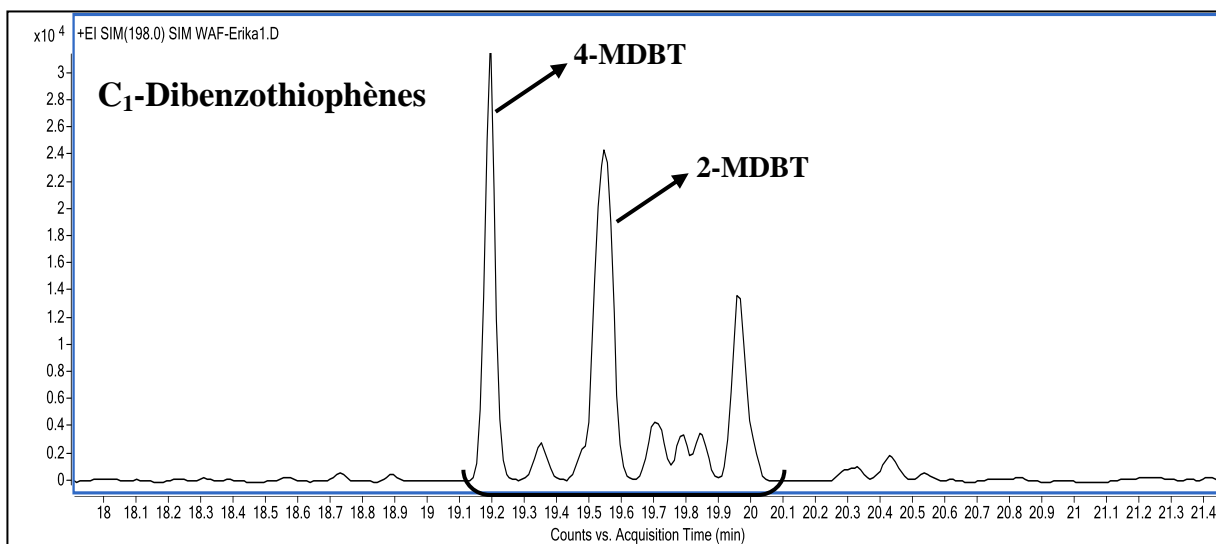
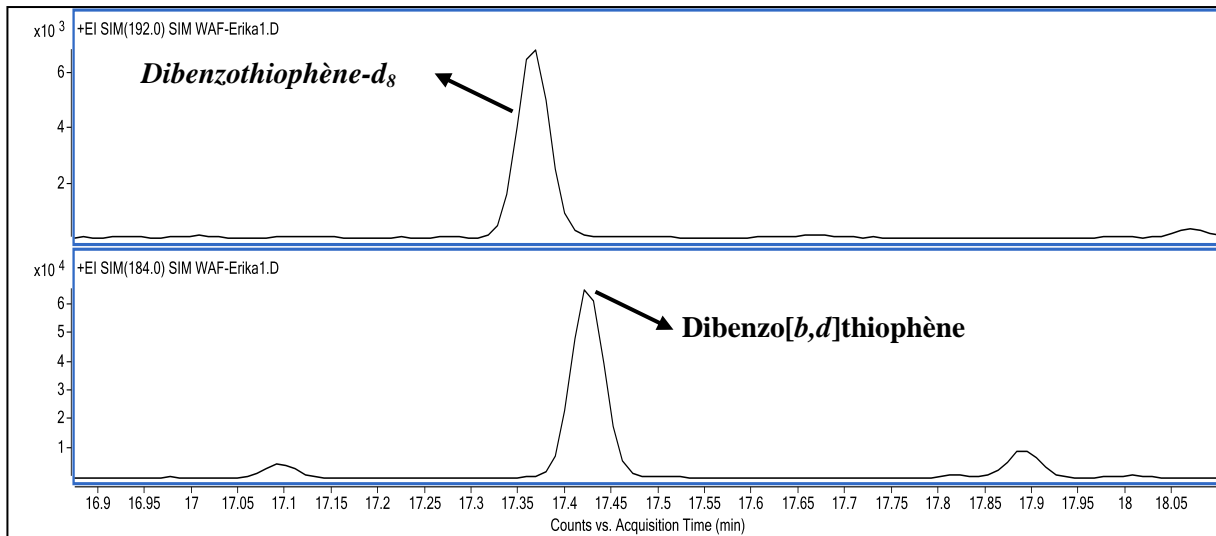


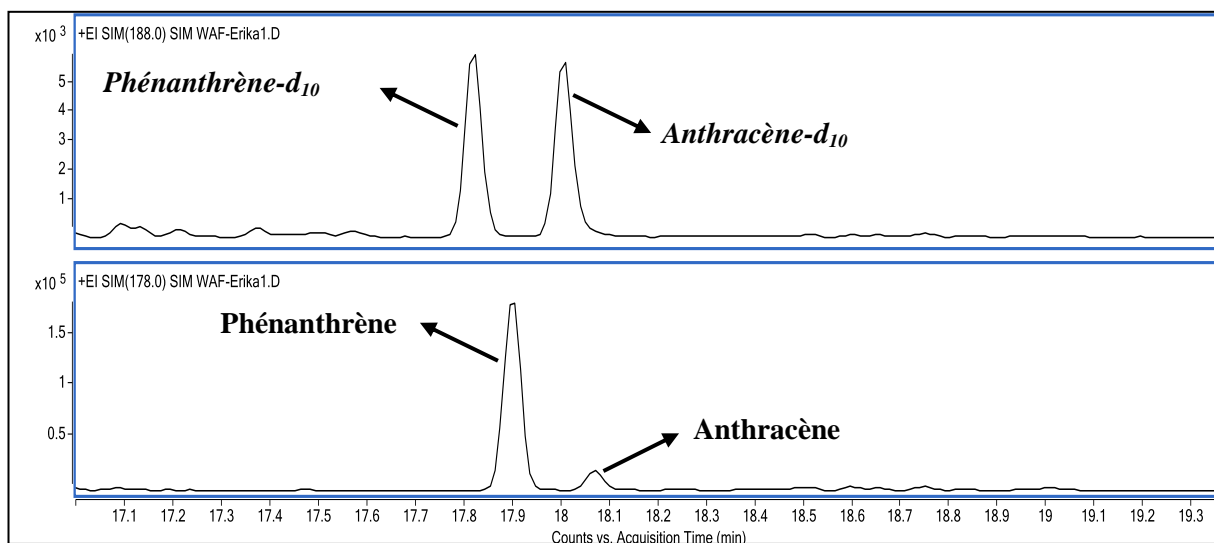
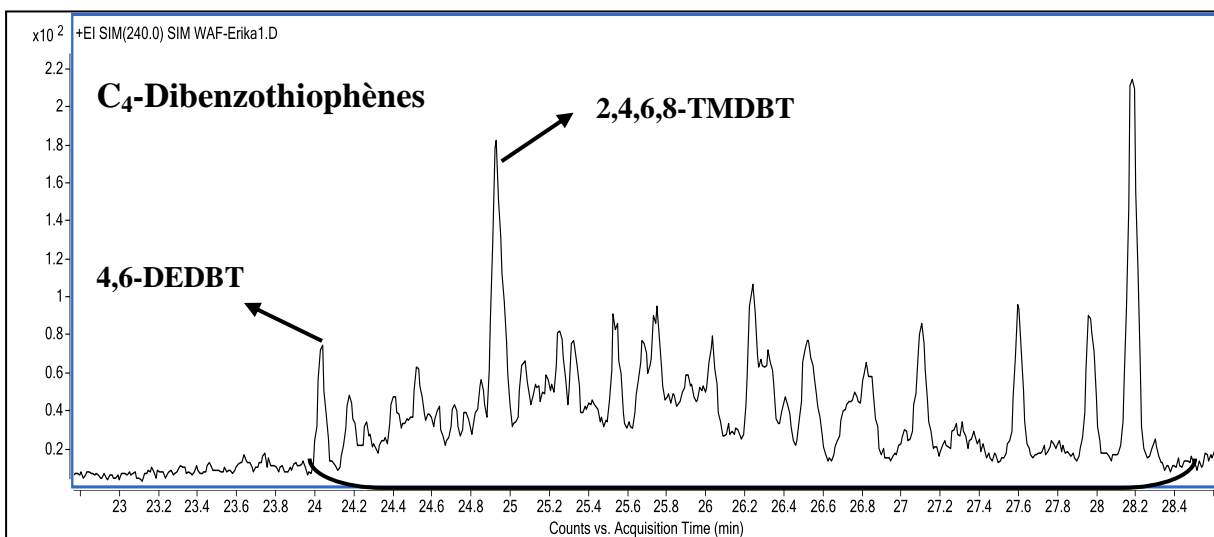
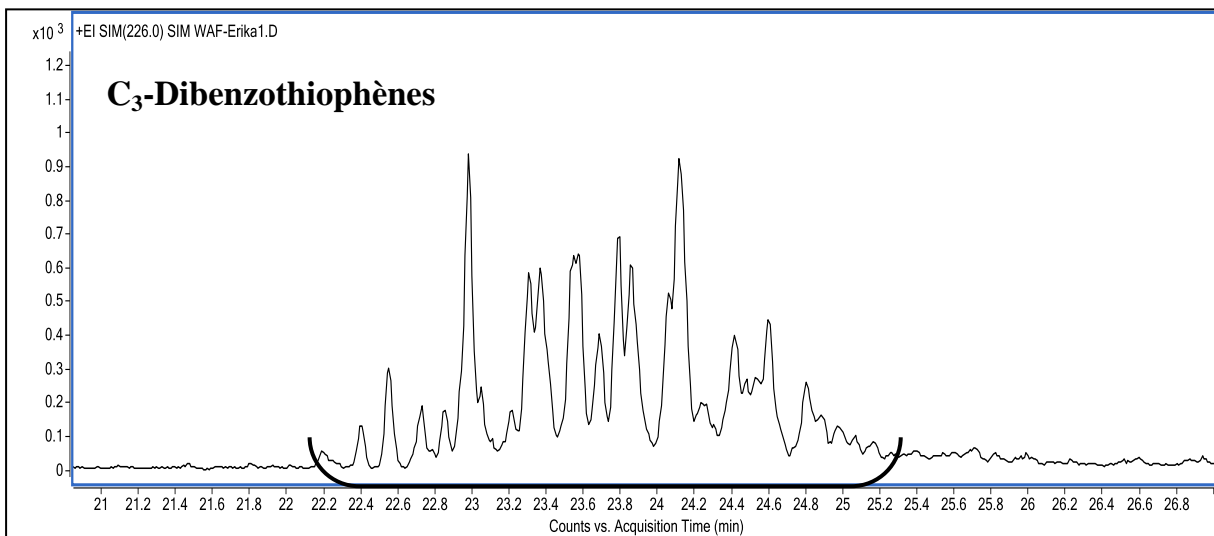


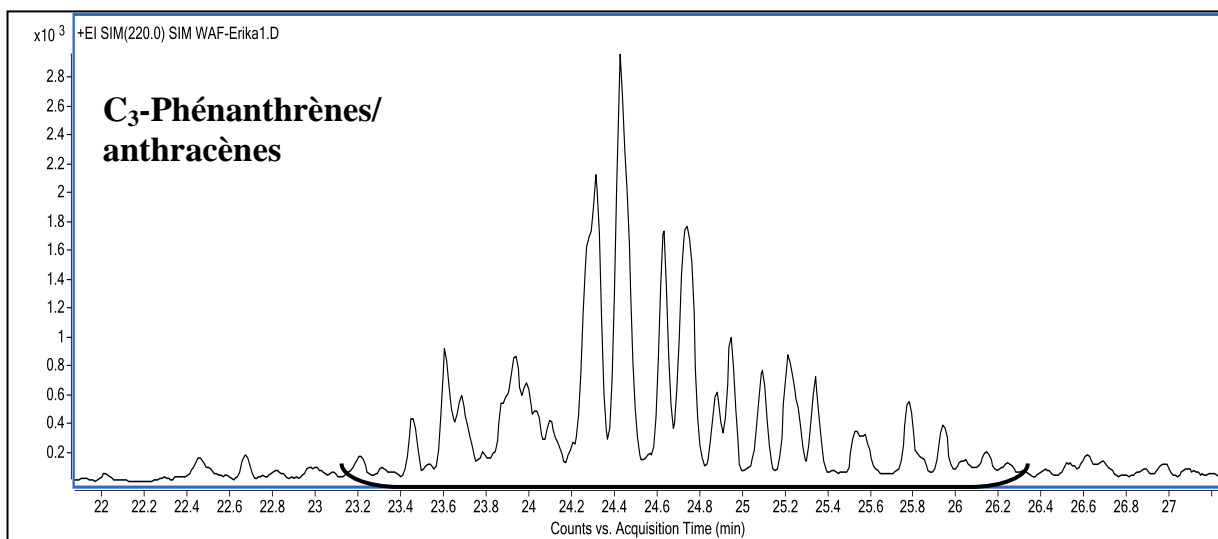
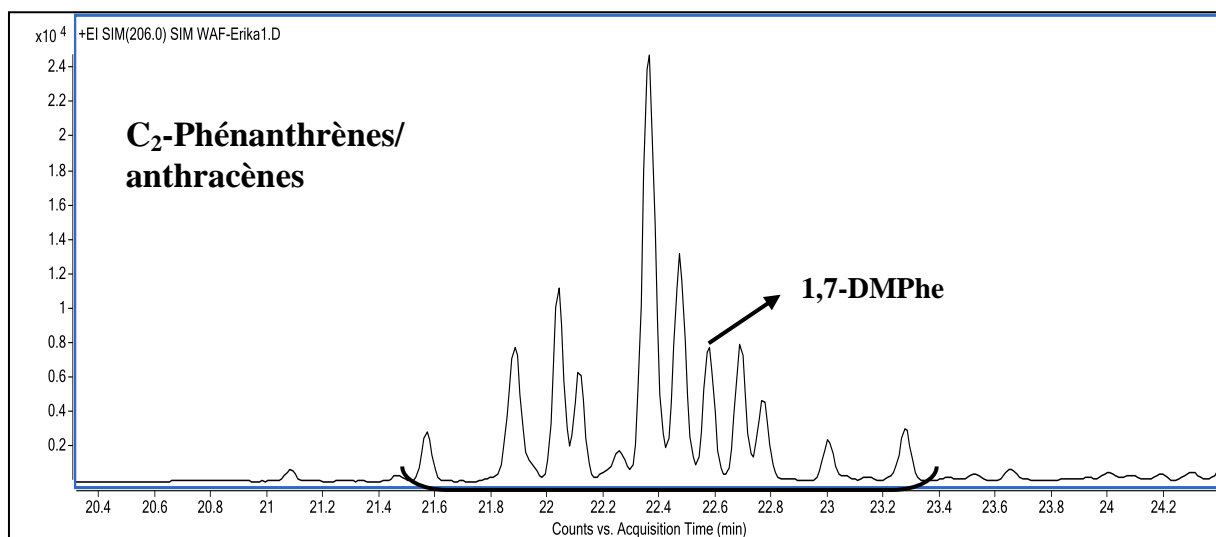
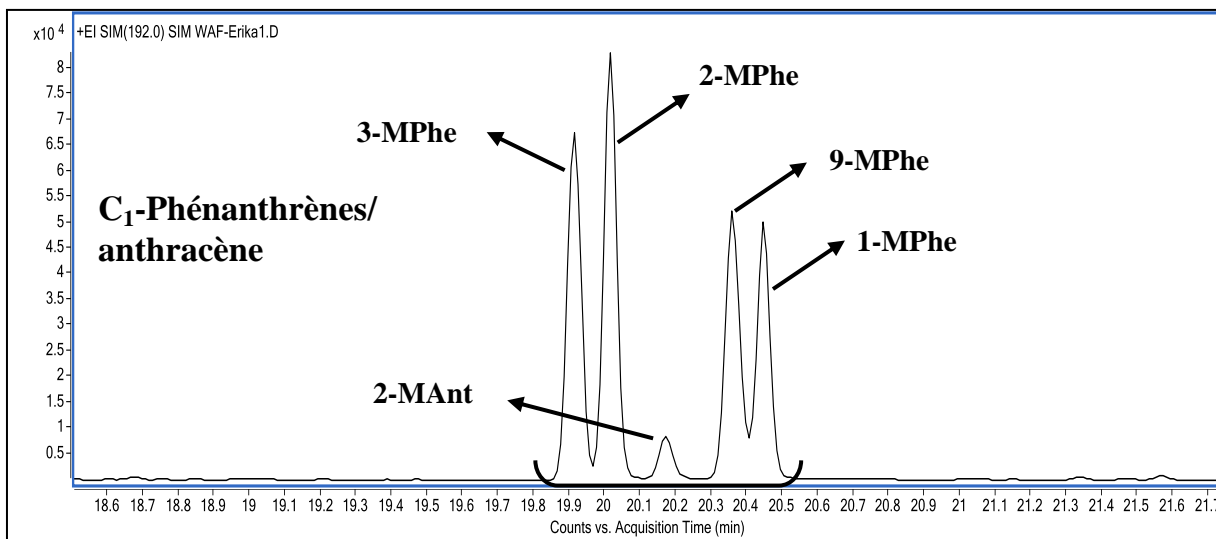


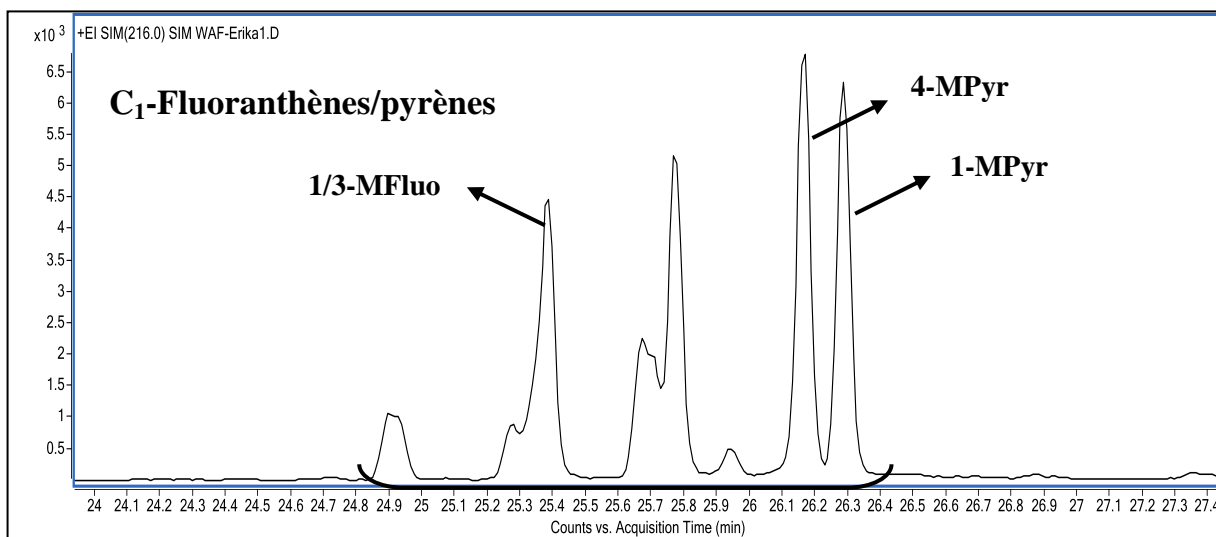
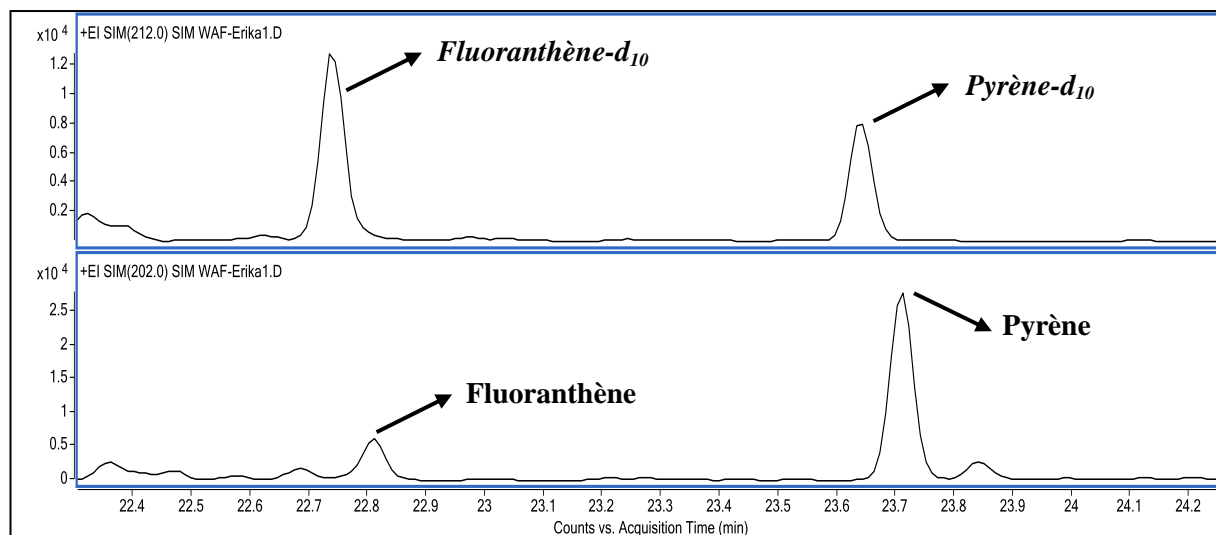
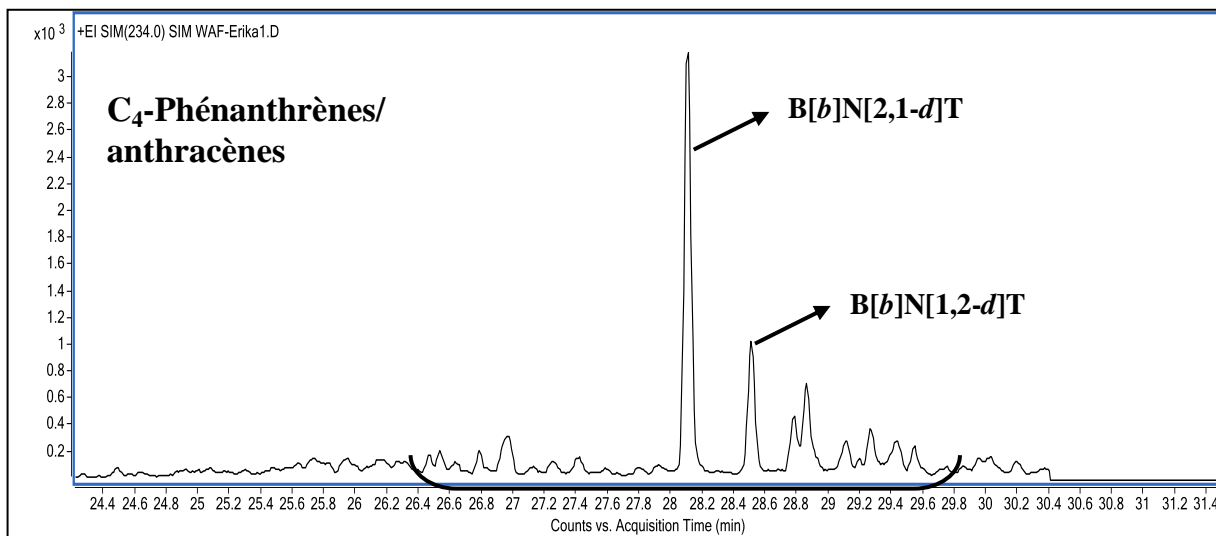


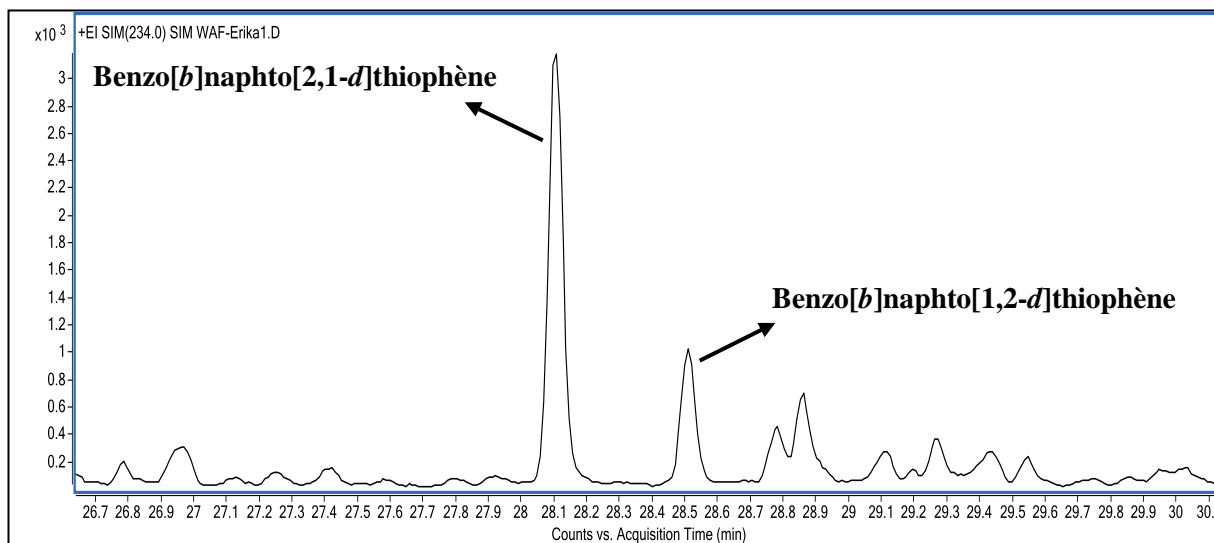
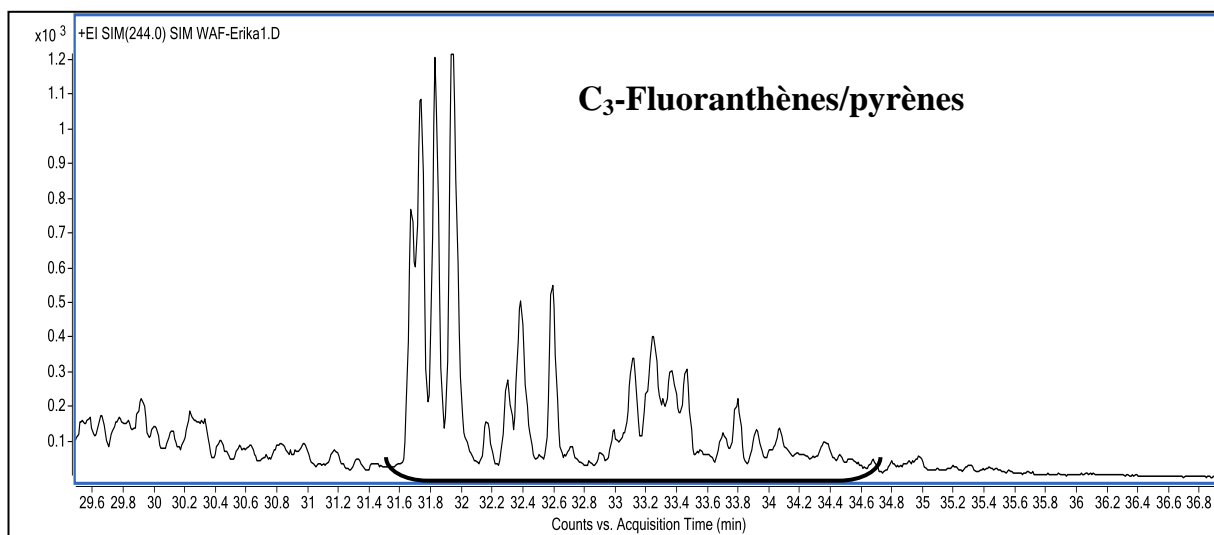
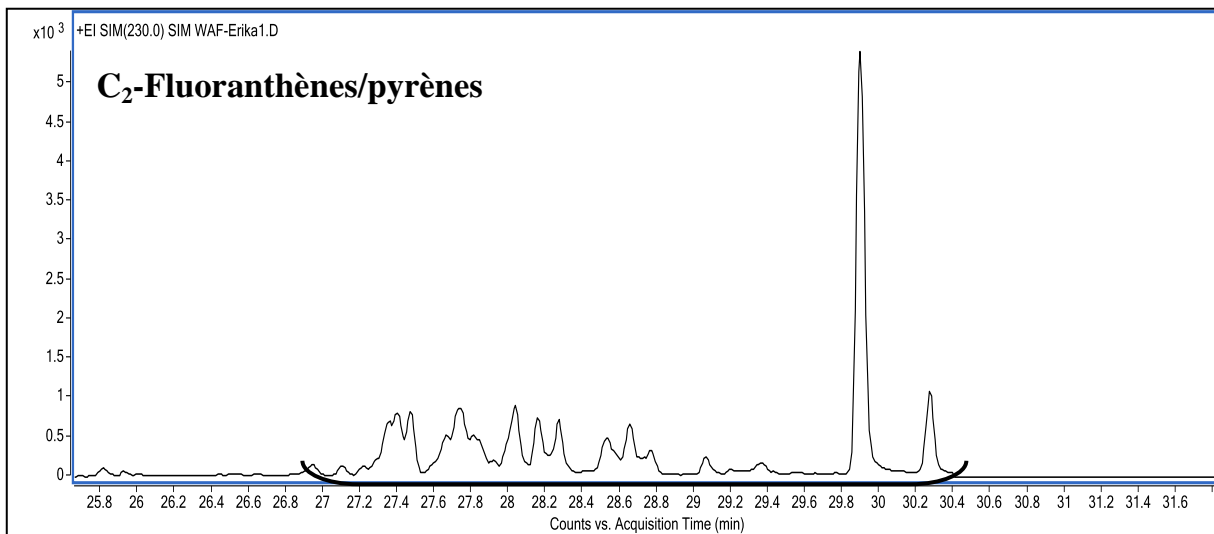


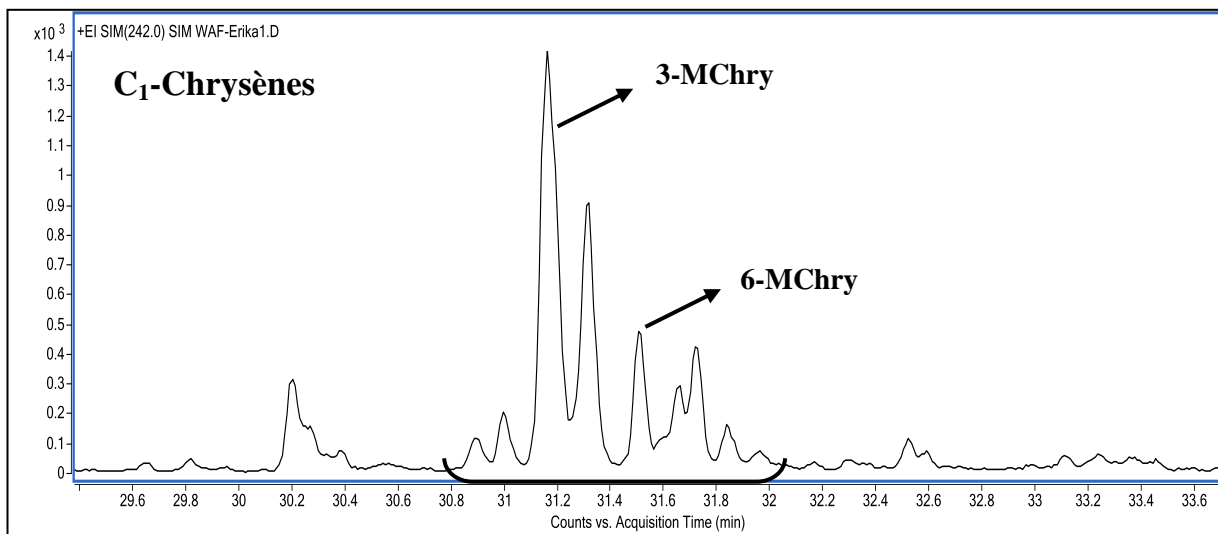
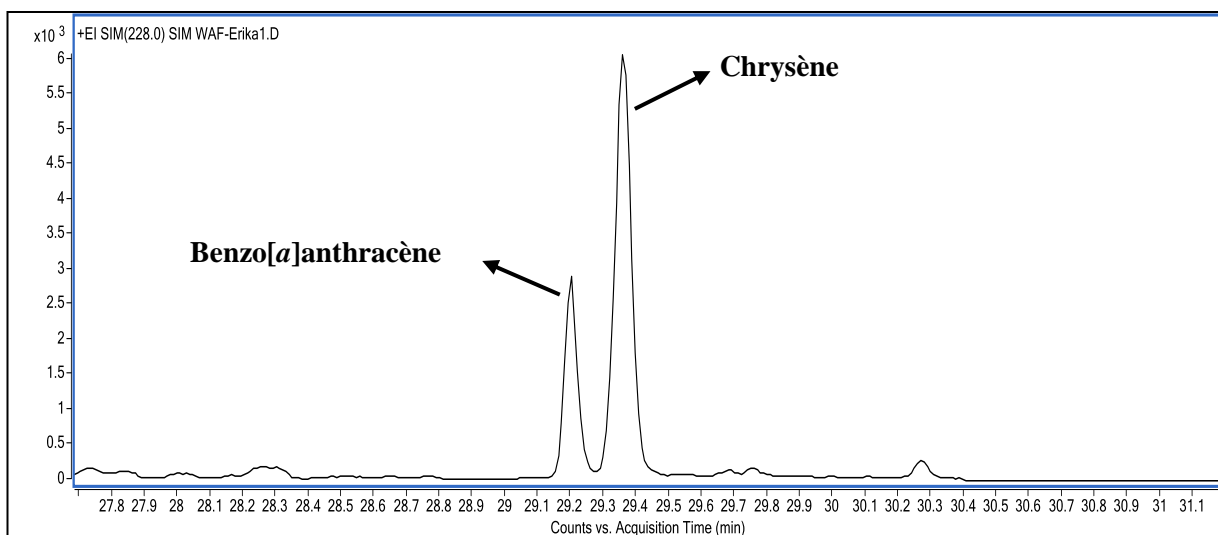
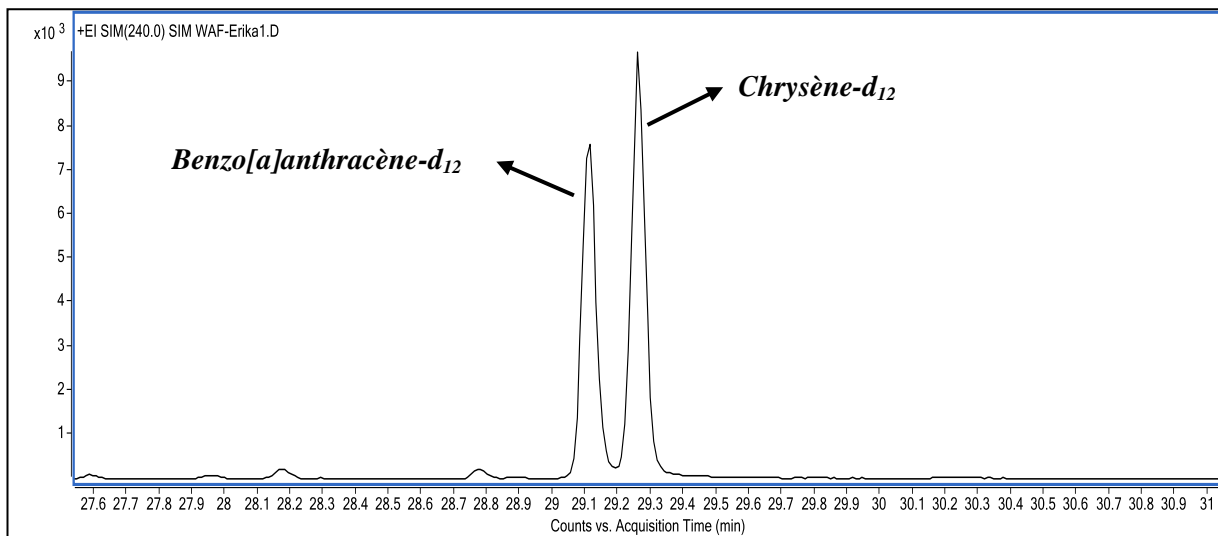


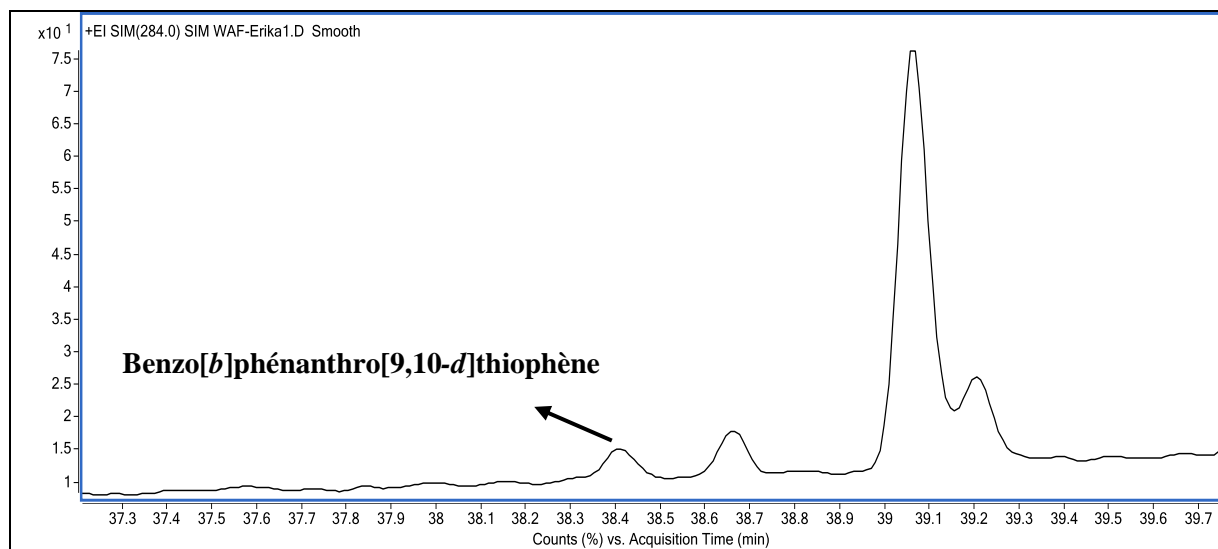
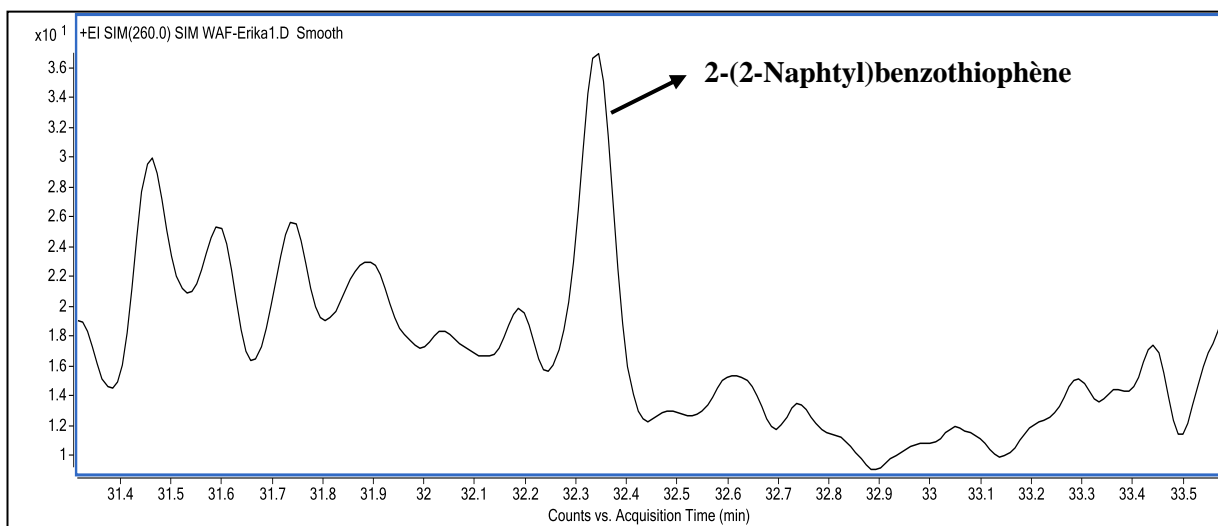
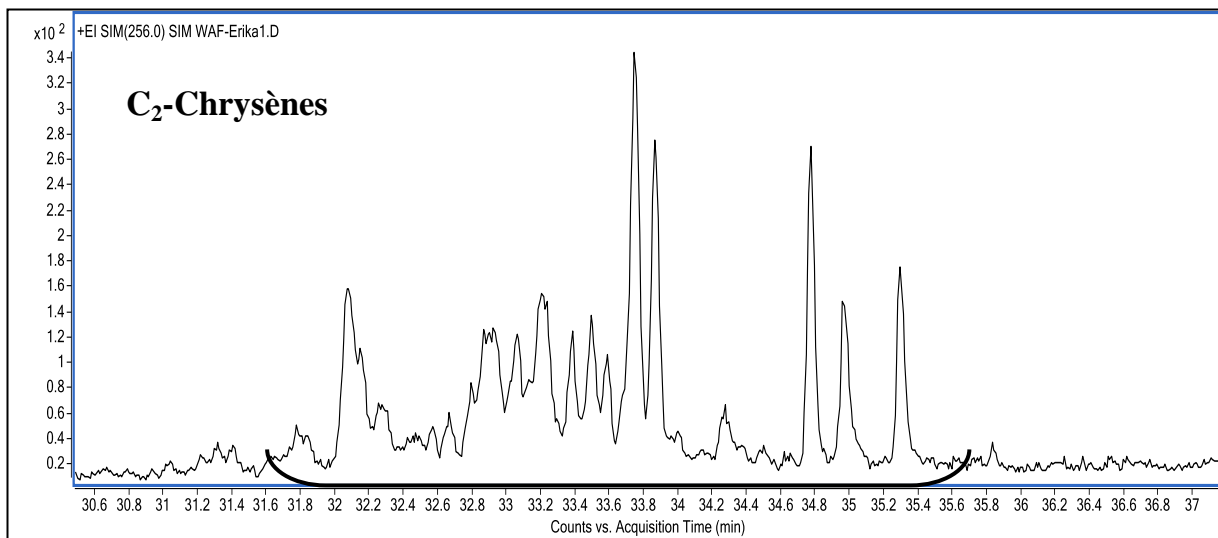


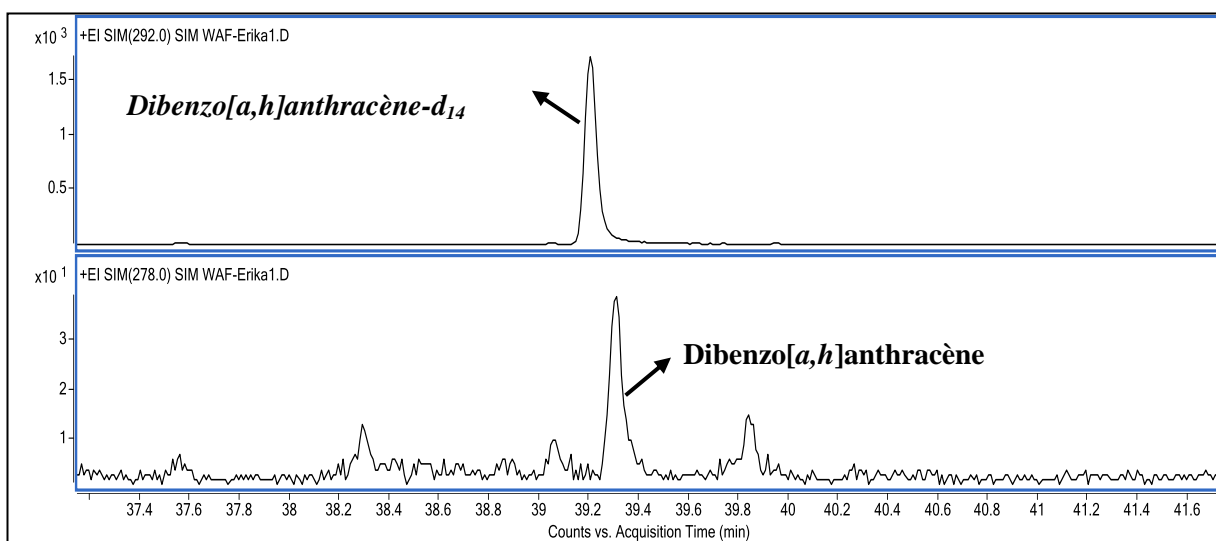
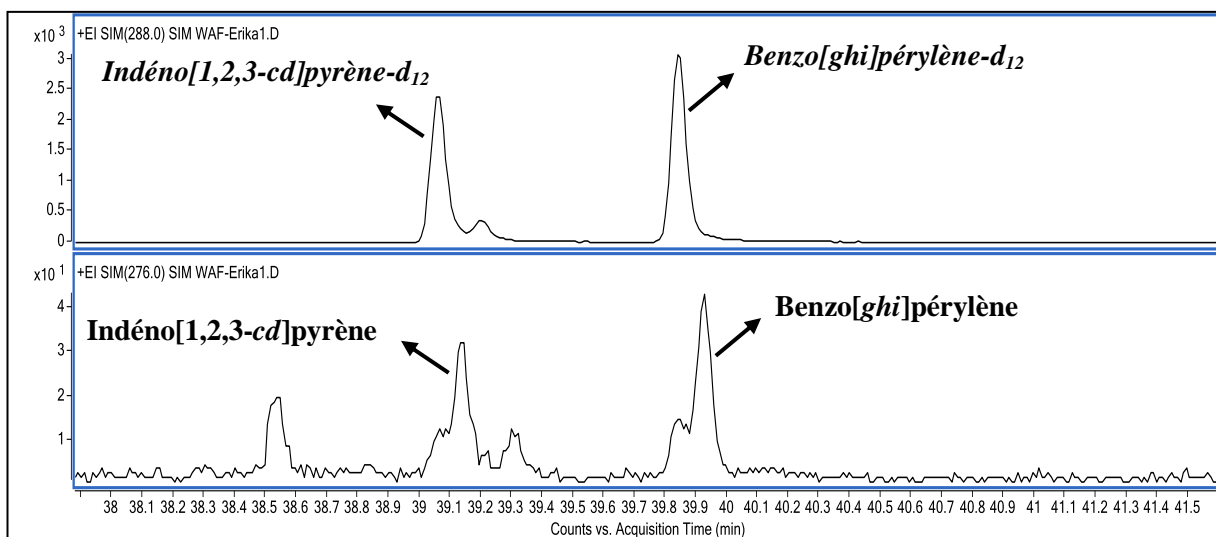
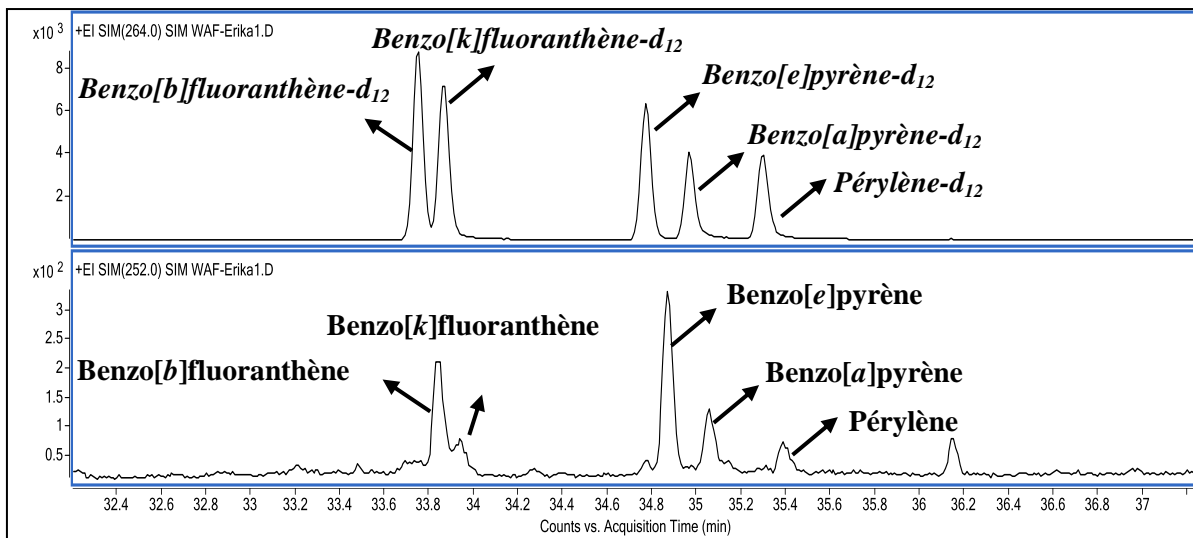












Annexe 5 : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse simple et en tandem

GC-MS et GC-MS-MS

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la MS

La GC-MS permet de détecter et d'identifier des composés à partir de leur temps de rétention et de leur spectre de masse qui découle d'un processus de fragmentation spécifique à chaque composé. C'est une méthode d'analyse sensible, ce qui la rend particulièrement adaptée à la quantification de traces.

Un système d'analyse par GC-MS est composé de deux appareils : un chromatographe gazeux, qui sépare les composés, couplé à un spectromètre de masse, qui les détecte. Plus précisément, il effectue 6 actions successives lors d'une analyse : *(i)* séparation des composés par chromatographie en phase gazeuse. *(ii)* Transfert des composés séparés dans la chambre d'ionisation du spectromètre de masse. *(iii)* Ionisation. *(iv)* Analyse de masse. *(v)* Détection des ions par un multiplicateur d'électron. *(vi)* Acquisition et affichage des données.

Une seringue est utilisée pour injecter, selon le type d'injection choisi ("split, splitless, pulsed split ou pulsed splitless"), une quantité connue d'échantillon dans l'injecteur du chromatographe maintenu à haute température. L'échantillon est alors vaporisé et mélangé à un gaz vecteur inerte (de l'hélium) et est envoyé dans une colonne capillaire dont l'intérieur est recouvert de silice. Cette colonne est placée dans un four auquel on applique un gradient de température. La température initiale du four est inférieure à la température de l'injecteur, ce qui permet une recondensation des composés en début de colonne. Lorsque la température augmente, les composés se vaporisent progressivement et sont élués. La séparation des composés est basée à la fois sur leur température d'ébullition et leur affinité avec la phase stationnaire. En optimisant le programme de température, il est possible de séparer une grande partie des composés avant leur entrée dans le spectromètre de masse.

À la sortie de la colonne, les composés sont transférés dans la chambre d'ionisation du spectromètre de masse où ils sont ionisés positivement en interagissant avec un faisceau d'électrons (ce type d'ionisation est appelé "Electron impact ionization"). L'ion moléculaire formé (molécule initiale qui a perdu un électron) peut alors subir des fragmentations et former d'autres ions ainsi que des molécules neutres et des radicaux, mais seules les espèces chargées sont détectées par le spectromètre. Les ions obtenus sont ensuite focalisés et envoyés vers l'analyseur de masse. L'analyseur est composé d'un simple quadripôle qui sélectionne les ions en fonction de leur rapport masse/charge en combinant des courants alternatifs et des courants continus. Seuls les ions de rapport masse/charge choisis traversent

le quadripôle et sont envoyés vers le détecteur. Le détecteur est composé d'une dynode qui au contact des ions, émet des électrons qui sont ensuite multipliés dans le multiplicateur d'électrons. Un signal électrique proportionnel au nombre d'ions qui ont frappé la dynode est alors émis par le détecteur. Les résultats sont obtenus sous la forme de chromatogrammes et de spectres de masse.

En GC-MS simple, deux types d'analyses peuvent être mise en œuvre : le mode SCAN, qui enregistre tous les ions dans une gamme de masses données et le mode SIM, ("Selected Ion Monitoring"), qui ne détecte et enregistre que les ions sélectionnés.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la MS-MS

Le système d'analyse GC-MS-MS est constitué de deux parties: le chromatographe gazeux, qui permet la séparation des composés en fonction de leur température d'ébullition et de leur affinité pour la phase stationnaire de la colonne, et un détecteur par spectrométrie de masse (Figure 29) qui permet la détection des composés. Ce dernier est composé de : *(i)* une source qui permet l'ionisation des composés par impact électronique. *(ii)* Un analyseur triple quadripôle. *(iii)* Un détecteur multiplicateur d'électron.

L'analyseur triple quadripôle est constitué de deux filtres de masse alors que l'analyseur simple quadripôle n'en possède qu'un seul.

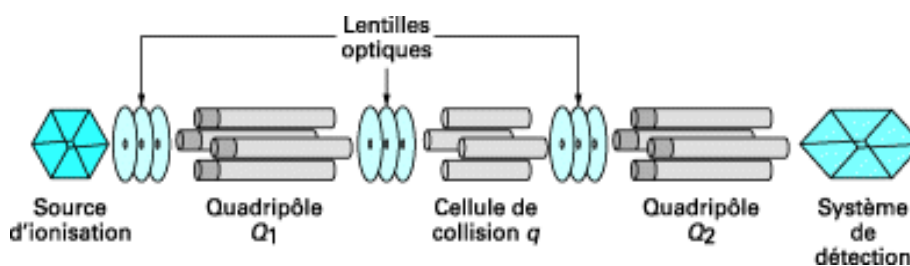


Figure 29. Spectromètre de masse en tandem (Sablier, 2010).

L'analyseur de masse est constitué de deux quadripôles et d'une cellule de collision. Le principe de cette technique repose sur le choix d'un ion précurseur caractéristique de chaque molécule cible, sélectionné par le premier quadripôle Q_1 (cet ion provient d'une première fragmentation au niveau de la source par impact électronique). L'ion précurseur est alors à nouveau fragmenté dans la cellule de collision, dispositif qui permet d'ajuster l'énergie et donc de faire varier les fragmentations qui sont alors analysées dans le deuxième quadripôle Q_2 .

La spectrométrie de masse en tandem permet plusieurs types d'analyses :

(i) Analyse en "product ion" (ion fils) : après l'ionisation de l'échantillon dans la source, un ion précurseur est choisi dans le premier quadripôle Q_1 . Il est ensuite fragmenté dans la cellule de collision. Tous les ions fils produits sont analysés dans le quadripôle Q_2 .

(ii) Analyse en "precursor ion" (ion précurseur) : Q_1 filtre plusieurs ions précurseurs afin d'identifier un ion fils donné (on cherche à partir d'un ion fils connu, tous les ions parents qui le produisent).

(iii) Analyse en "Multiple Reaction Monitoring" (MRM) (suivi de transition) : un ou plusieurs ions précurseurs sont sélectionnés successivement dans Q_1 . La cellule de collision génère des ions fragments qui sont analysés par Q_2 . Lorsque les méthodes d'analyse ont été développées, deux fragments sont généralement détectés pour chaque ion précurseur: un ion dit "quantifier" (transition de quantification) et un "qualifier" (transition de confirmation). Ces fragments doivent être autant que possible abondants et spécifiques des molécules cibles.

(iv) Analyse en "Neutral Loss ion" (pertes de neutres) : cette technique permet d'étudier les molécules perdant un fragment neutre de masse donnée.

Intêret de la GC-MS-MS

Le principal avantage de la spectrométrie de masse en tandem (en mode MRM) par rapport à la spectrométrie de masse simple quadripôle (notamment en mode SIM : "Single ion Monitoring") pour les analyses quantitatives est d'apporter un degré de sélectivité supplémentaire. La résolution des quadripôles est de l'ordre de 0,5 uma (unité de masse atomique), ce qui signifie que le fragment analysé ne provient pas nécessairement de la molécule cible mais peut provenir pour partie, voire en totalité, d'un composé interférent. Cette possibilité est d'autant plus probable que la matrice est complexe. Aussi, en mode MRM, l'ion identifié et sélectionné est à nouveau fragmenté : la probabilité que l'interférent produise des ions fragments de poids moléculaires très proches de ceux du composé cible est alors très faible. La deuxième fragmentation permet ainsi d'éliminer le signal de l'interférent, et d'une manière générale, de réduire le bruit de fond de la méthode d'analyse. Ainsi, en mode MRM, les signaux étudiés sont généralement moins abondants que lors d'une analyse en SIM, car ils ont subi deux "sélections" suite à des fragmentations. Cependant, le rapport signal/bruit est considérablement augmenté, ce qui permet d'abaisser les limites de détection et de quantification, particulièrement dans le cas de mélanges complexes.

Annexe 6 : Curriculum Vitae

Curriculum Vitae

Curriculum Vitae – **KANAN Rami** – **DOCTEUR en chimie analytique**



Date de naissance 5 /01/1977 à Lattaquié, Syrie

Adresse professionnelle

Université Bordeaux 1
Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux
EPOC - UMR 5805 CNRS
Laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'environnement (LPTC)
Bâtiment A12
351 crs de la Libération
33405 Talence
France
Téléphone : 00 33 (0)5 40 00 69 98
Portable : 07 87 22 43 33
Mail : r.kanan@epoc.u-bordeaux1.fr

Formations et expériences professionnelles

2013-2014 : POST-DOCTORANT en chimie analytique au sein de l'équipe EPOC-LPTC de l'Université Bordeaux 1.

2009-2012 : DOCTORAT en chimie analytique. Travaux réalisés au *Cedre* (Centre de documentation, de recherche et d'expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux, Brest, France) et à l'EPOC-LPTC de l'Université Bordeaux1. *Sujet de recherche* : Développements méthodologiques pour l'extraction et l'analyse des polluants organiques d'intérêt pour l'environnement marin : Application aux hydrocarbures aromatiques polycycliques. Directrice de recherche : **Hélène BUDZINSKI**, Responsable scientifique : **Stéphane LE FLOCH**.

2007-2008 : MASTER SCIENCES, à finalité Recherche. Mention : OCÉANOGRAPHIE, Spécialité : Biologie et écologie marine. Université Aix-Marseille II.

Janvier 2008 : STAGE MASTER à l'AD2EM (Analyse, Développement durable, Environnement, Méthodologie). Europôle de l'Arbois. *Sujet de recherche* : Étude de l'origine des hydrocarbures dans des sédiments côtiers Méditerranéens. Responsable de stage : Gilbert Mille.

2006-2007 : MAÎTRISE SCIENCES, Mention : OCÉANOGRAPHIE. Université Aix-Marseille II.

2003-2005 : ENSEIGNANT (Sciences naturelles), Lycée Jol Jammal, Lattaquié, Syrie.

1999-2002 : SCIENCES NATURELLES, Sciences biochimies, Université Tichrine, Lattaquié, Syrie.

1997-1999 : BACCALAURÉAT, Lycée Jol Jammal, Lattaquié, Syrie.

Compétences

Polluants organiques : Hydrocarbures monoaromatiques (BTEX), hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS), pesticides, alkylphénols polyéthoxylés, substances pharmaceutiques et hormones.

Techniques d'extraction : Extraction liquide-liquide (**LLE**), extraction sur phase solide (**SPE**), échantillonneurs passifs intégratifs : **SPMD** ("Semi-Permeable Membrane Device"), **POCIS** ("Polar Organic Integrative Sampler"), extraction accélérée par solvant (**ASE**), extraction micro-ondes, la microextraction sur phase solide (**SPME**) et l'extraction par "stir bar sorbtive extraction" (**SBSE**).

Outils analytiques : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse simple et en tandem (GC/MS, GC/MS/MS), chromatographie en phase liquide (LC/MS, LC/MSMS).

Matrices : Eau de mer, eau douce, sédiments, tissus biologiques (muscles, bille, plasma...).

Encadrement : Co-encadrement des stagiaires de Master 1 et 2.

Publications

(1) Thomas Milinkovitch, **Rami Kanan**, Hélène Thomas-Guyon and Stéphane Le Floch, **2011**. Effects of dispersed oil exposure on the bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and the mortality of juvenile *Liza ramada*. *Science of The Total Environment* 409: 1643-1650.

(2) Andrea Luna-Acosta, **Rami Kanan**, Stéphane Le Floch, Valérie Huet, Phillippe Pineau, Paco Bustamante and Hélène Thomas-Guyon, **2011**. Enhanced immunological and detoxification responses in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, exposed to chemically dispersed oil. *Water Research* 45: 4103-4118.

(3) Morgane Danion, Stéphane Le Floch, **Rami Kanan**, François Lamour, and Claire Quentel, **2011**. Effects of in vivo chronic exposure to hydrocarbons on sanitary status and immune system in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquatic Toxicology* 105: 300-311.

(4) Morgane Danion, Stéphane Le Floch, **Rami Kanan**, François Lamour, and Claire Quentel, **2012**. Effects of in vivo chronic exposure to pendimethalin/Prowl 400® on sanitary status and

immune system in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Sciences of The Total Environment* 424: 143-152.

Communications orales

(1) **Rami Kanan**, Jan T. Andersson, Stéphane Le Floch and Hélène Budzinski. Determination of PACs in Seawater by Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) and Thermal Desorption. *23 International Symposium on Polycyclic Aromatic Compounds (ISPAC 23)*, Muenster (Germany), 4-8 September **2011**.

(2) **Rami Kanan**, Jan T. Andersson, Justine Receveur, Julien Guyomarch, Stéphane Le Floch and Hélène Budzinski. Quantification of Polycyclic Aromatic compounds (PACs) and Alkylated Derivatives by Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (GC-MS-MS) to Qualify a Reference Oil. *In Proceedings of the Thirty-Five AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response*, Environment Canada, Ottawa, June **2012**.

(3) **Rami Kanan**, Hélène Budzinski, Karyn Le Menach, Jan T. Andersson and Stéphane Le Floch. Chemical Characterization of Oil-Water Systems using Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)-Thermal Desorption (TD)-Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). *In Proceedings of the Thirty-Five AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response*, Environment Canada, Ottawa, June **2012**.

(4) **Rami Kanan**, Stéphane Le Floch, Jan T. Andersson, Karyn Le Menach and Hélène Budzinski. Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles (PASHs) and Alkylated Derivatives from Seawater using Solide-Phase Microextraction (SPME)-Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). *In Proceedings of the Thirty-Five AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response*, Environment Canada, Ottawa, June **2012**.

(5) Anne-Laure Balcon, **Rami Kanan**, Sophie Vanganse and Julien Guyomarch. Analysis of Dissolved BTEX and PAHs in Seawater Following an Oil Spill: Development of Sensitive, Operational Methods for Rapid Diagnosis. *In Proceeding of the International oil spill conference (IOSC)*, Portland, 23-26 May **2011**.

(6) Morgane Danion, Stéphane Le Floch, **Rami Kanan**, François Lamour, Julien Guyomarch and Claire Quentel. Bioconcentration and Immunotoxicity in Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) After a Chronic Exposure to Hydrocarbons. *11th European Meeting on Environmental Chemistry*. Portoroz (Slovenie), 8-11 December **2010**.

(7) Morgane Danion, Stéphane Le Floch, **Rami Kanan**, François Lamour, and Claire Quentel. Bioconcentration and Immunotoxicity of a Chronically Exposure in vivo to Pendimethalin in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *15th International Conference of the European Association of Fish Pathologist (EAFP)*. Split (Croatie), 11-16 September **2011**.

(8) Morgane Danion, Stéphane Le Floch, **Rami Kanan**, François Lamour, Julien Guyomarch and Claire Quentel. Impact de Polluants sur les Écosystèmes Aquatiques - Évaluation des Effets d'une Exposition sur l'État Sanitaire des Poissons et Mise en Perspective avec les Seuils de Qualité Environnementale. 1ère partie: Effets Des hydrocarbures sur le Bar Commun. *Journées des doctorants de l'Afssa*. Paris, 21-22 Janvier **2010**.

(9) Morgane Danion, Stéphane Le Floch, **Rami Kanan**, François Lamour, and Claire Quentel. Impact de Polluants sur les Écosystèmes Aquatiques - Évaluation des Effets d'une Exposition sur l'État Sanitaire des Poissons et Mise en Perspective avec les Seuils de Qualité Environnementale. 2ème partie: Effets de la Pendiméthaline sur la Truite Arc-En-Ciel. *Journées des doctorants de l'Anses*. Paris, 27-28 Janvier **2011**.

(10) Morgane Danion, Stéphane Le Floch, **Rami Kanan**, François Lamour, and Claire Quentel. Immunotoxicité d'une Exposition Chronique in vivo en Pendiméthaline chez la Truite Arc-En-Ciel (*Oncorhynchus mykiss*). *41ème congrès du Groupe Français des Pesticides (GFP)*. Orléans, 24-28 Mai **2011**.

Communications par affiches

(1) **Rami Kanan**, Jan T. Andersson, Julien Guyomarch, Stéphane Le Floch and Hélène Budzinski. Identification and Quantification of Dissolved Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles (PASHs) in Seawater by Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) and Thermal Desorption GC-MS. *Twelfth International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analysers (HTC-12) and Second International Symposium on Hyphenated Techniques for Sample Preparation (HTSP-2)*, Bruges (Belgium), 31 January to 3 February **2012**.

(2) **Rami Kanan**, Hélène Budzinski, Karyn Le Menach, Jan T. Andersson and Stéphane Le Floch. Chemical Characterization of Oil-Water Systems using Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)-Thermal Desorption (TD)-Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). *16th Interspill*, London, 13-15 March, **2012**.

Référence

(1) **Hélène Budzinski** (DR), Université Bordeaux 1, EPOC-LPTC UMR CNRS 5805, 351 cours de la Libération, 33405 Talence, Tél : +33 (0)5-40-00-69-98, h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

(2) **Jan T. Andersson** (Prof), Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Muenster, Corrensstrasse 30, D-48149 Muenster, Germany. Tel: (+049) 251-833 31 02, anderss@uni-muenster.de

(3) **Stéphane Le Floch** (Dr.), Centre de documentation, de recherche et d'expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux, Brest, France. 715 Rue Alains Colas-CS 41836-29218 Brest Cedex 2-France. Tél : + 33 (0) 2 98 33 10 10 Stephane.Le.Floch@cedre.fr

(4) **Pierre Doumenq** (Prof), Université d'Aix Marseille. Laboratoire de Chimie de l'Environnement – CNRS FRE 3416 Batiment Villemin Europôle de l'Arbois – BP 80 13545 Aix en Provence Cedex 4. Tél : + 33 (0) 4 42 90 84 03 pierre.doumenq@univ-amu.fr

Résumé

La présence d'hydrocarbures dans l'environnement que ce soit suite à un déversement accidentel de pétrole en mer ou suite à des apports chroniques, est une préoccupation majeure en raison de leur écotoxicité et de leur potentiel à être bioaccumulés, et ainsi, pénétrer la chaîne alimentaire. Par conséquent, ces molécules sont sous haute surveillance et il est nécessaire de disposer de méthodes analytiques permettant de les identifier et de les quantifier, et ceci, pour des concentrations allant du mg/L au ng/L. Cependant et dans la plupart des cas, les analyses en laboratoire des hydrocarbures, notamment aromatiques, se limitent à la quantification des 16 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) identifiés par l'Agence américaine de Protection Environnementale (US-EPA) comme étant dangereux pour l'environnement du fait de leur caractère cancérigène. Or, les hydrocarbures aromatiques polycycliques soufrés (HAPS) ainsi que leurs homologues substitués sont, sur le plan chimique, structurellement proches des HAP, et peuvent donc présenter des risques environnementaux similaires, à savoir être cancérigènes ou mutagènes. Le travail de recherche réalisé s'inscrit dans ce contexte avec pour objectif des développements méthodologiques permettant l'extraction et l'analyse d'une gamme plus large de HAP, des HAPS et leurs dérivés alkylés directement dans les produits pétroliers ou dissous en phase aqueuse. Des protocoles d'extraction par "stir bar sorptive extraction" (SBSE) et par microextraction sur phase solide (SPME), et des méthodes d'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse simple (GC-MS) et en tandem (GC-MS-MS) ont été développés. Les résultats obtenus plaident en faveur de ces méthodologies aussi bien en termes de linéarité de la réponse qu'en termes de sensibilité, méthodologies qui ont été appliquées avec succès pour la détermination des analytes d'intérêt dans des fractions solubles préparées au laboratoire (WAF et WSF). Pour la GC-MS-MS, si elle se révèle particulièrement adaptée car elle apporte un degré de certitude élevé, elle n'en reste pas moins une technique délicate à mettre en œuvre, notamment dans le cas des composés alkylés pour lesquels des solutions étalons ne sont pas disponibles. Pour pallier cette difficulté, un produit de référence contenant l'ensemble des analytes d'intérêt a été caractérisé. Pour les composés alkylés non disponibles commercialement, des approximations ont été effectuées par MS simple en se basant sur une analyse comparée des coefficients de réponse en mode MRM et SIM. La méthodologie ainsi mise au point a permis de caractériser le fioul de l'Erika avec une faible variabilité des résultats. Ce produit peut servir de référence pour l'analyse quantitative de l'ensemble des familles de composés identifiés dans cette étude.

Mot-clés : Eau de mer, GC-MS, GC-MS-MS, HAP, HAPS, SBSE, SPME, WAF.

Abstract

The presence of hydrocarbons in the environment either as a result of oil spills at sea or due to chronic discharge is a major concern because of their ecotoxicity and their potential to bioaccumulate and thus enter the food chain. Therefore, these molecules are closely monitored and reliable analytical methods are required to identify and quantify them, for concentrations ranging from mg/L to ng/L. However, in most cases, laboratory analyses of hydrocarbons, especially aromatic hydrocarbons, are limited to the quantification of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) identified by the U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA) as hazardous to the environment due to their carcinogenic nature. However, polycyclic aromatic sulphur heterocycles (PASHs) and their substituted homologs are, in chemical terms, structurally similar to PAHs, and therefore can pose similar environmental risks, i.e. they can be carcinogenic or mutagenic. In this context, the research work carried out aims to develop methodologies for the extraction and analysis of a wider range of PAHs, PASHs and their alkyl derivatives directly in oil or dissolved in the aqueous phase. Extraction protocols by stir bar sorptive extraction (SBSE) and solid phase microextraction (SPME), and methods of analysis by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) and with tandem mass spectrometry (GC-MS-MS) have been developed. The results argue in favor of these methodologies both in terms of linearity of the response and in terms of sensitivity. These methodologies that have been successfully applied for the determination of analytes of interest in the water accommodated fraction and water soluble fraction prepared in the laboratory (WAF and WSF). For GC-MS-MS, while it is particularly suitable because it provides an additional level of selectivity, it is a difficult technique to implement, in particular in the case of molecules for which no calibration solutions are available. To overcome this difficulty, a reference oil containing all the target molecules was characterized. For alkylated compounds that are not commercially available, approximations were made by simple MS, based on comparative analysis of response coefficients in MRM (Multiple Reaction Monitoring) and SIM (Single Ion Monitoring) modes. The finalized method was used to characterize the Erika fuel oil, with low variability in the results. This product can be used as a reference for the quantitative analysis of all the families of molecules identified in this study.

Keywords: GC-MS, GC-MS-MS, PAHs, PASHs, SBSE, SPME, WAF, Seawater