

Développement d'une méthode de quantification des microplastiques par Pyr-GC-MS pour l'analyse de sédiments de la Seine

Nadia Bouzid^{1*}, Rachid Dris¹, Christelle Anquetil², Bruno Tassin¹, Johnny Gasperi³,
Sylvie Derenne²

¹ Leesu, Ecole des Ponts, Univ Paris Est Creteil, Marne-la-Vallee, France

² UMR 7619 METIS, Sorbonne Université, 4 place Jussieu – 75252 Paris

³ Laboratoire Eau et Environnement (LEE), Université Gustave Eiffel, Allée des Ponts et Chaussées – 44344 Bouguenais

* nadia.bouzid@enpc.fr

Résumé

La pyrolyse-GC-MS est de plus en plus utilisée pour quantifier les microplastiques (MP) dans les matrices environnementales, même si des développements méthodologiques sont encore requis. Cette méthode donne accès à une concentration de MP en masse de polymères et peut ainsi être utilisée en complément des méthodes en spectroscopie micro-IRTF et Raman qui apportent en plus une information sur le nombre et la forme des particules. Dans la littérature, plusieurs composés indicateurs sont proposés en Pyr-GC-MS comme marqueurs des polymères plastiques. Ce rapport propose un examen et une sélection de ces composés indicateurs en fonction des interactions potentielles avec les substances présentes dans les matrices environnementales pour les polymères les plus courants : PE, PP, PS, PET et PVC. Les éléments qui ont étayé le choix d'un protocole pour les sédiments sont détaillés et le protocole est appliqué à un échantillon de sédiment de la Seine. Après traitement par séparation densimétrique suivie d'une digestion de la matière organique, un résiduel de matrice organique et inorganique a été observé dans l'échantillon. Les effets de matrice dus à la fraction minérale résiduelle ont été mis en évidence pour les composés indicateurs sélectionnés pour la quantification des MP. La démonstration de ces effets de matrice appuie le développement et la validation d'une quantification par étalonnage interne dans les sédiments.

Points clefs

- ✓ Sélection d'un protocole d'isolement des MP dans les sédiments
- ✓ Sélection de composés indicateurs pour cinq polymères : PP, PS, PET, PVC
- ✓ Démonstration de l'effet de matrice lors de la pyrolyse

Abstract

Pyrolysis-GC-MS is increasingly used to quantify microplastics and can be applied to the analysis of environmental samples, although methodological developments are still required. This method gives access to a concentration of MP in polymer mass and can thus be used as a complement to micro-IRTF and Raman spectroscopy methods which provide information on the number and shape of particles. In the literature, several indicator compounds are proposed in Pyr-GC-MS as markers of plastic polymers. This report proposes a review and selection of these indicator compounds based on potential interactions with substances present in environmental matrices for the most common polymers: PE, PP, PS, PET and PVC. The elements that supported the choice of a protocol for sediments are detailed and the protocol is applied to a sediment sample from the Seine river. After treatment by density separation followed by digestion of the organic matter, an organic and inorganic matrix residue was observed in the sample. Matrix effects due to the residual mineral fraction were demonstrated for the indicator compounds selected for MP quantification. Demonstration of these matrix effects supports the development and validation of an internal calibration quantification in sediments.

Key points

- ✓ Selection of a protocol for the isolation of MP in sediments
- ✓ Selection of indicator compounds for five polymers: PP, PS, PET, PVC
- ✓ Demonstration of the matrix effect during pyrolysis

Introduction

Ces dernières années, on observe un intérêt croissant pour l'étude de la pollution plastique, en particulier la contamination des milieux aquatiques par les microplastiques (MP). Les MP sont définis comme des particules de polymères synthétiques de taille inférieure à 5 mm (Arthur et al., 2008). Ces particules résultent de l'exposition des déchets plastiques dans l'environnement à des facteurs d'altération physico-chimique, mécaniques et de biodégradation (Cole et al., 2011). Les MP peuvent également être directement rejetés sous la forme de particules de taille milli- ou submilli- métrique. Par exemple, les stations de traitement des eaux usées représentent une source non négligeable de fibres synthétiques (Browne et al., 2011).

Les travaux de recherche engagés par le LEESU en 2013 ont apporté de premiers éléments de connaissance sur l'état de contamination plastique de la Seine. Du fait de leur proximité avec les sources d'émission anthropiques, les milieux aquatiques continentaux sont très exposés à la contamination par les matières plastiques (Dris et al., 2018). De plus, les temps de résidence élevés des déchets plastiques dans les cours d'eau favorisent la formation de MP et leur accumulation dans les sédiments (Tramoy et al., 2020). L'étude des sédiments permettrait ainsi de mieux évaluer l'hétérogénéité de l'imprégnation des hydrosystèmes par les MP. Cependant, les protocoles appliqués à ce jour n'ont pas été développés pour l'analyse de matrices complexes tels que les sédiments cohésifs et ne permettent pas d'étudier les MP sur une large gamme de taille.

Dans la plupart des études, les microspectroscopies Raman ou infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) sont utilisées pour analyser les MP. Ces méthodes permettent d'obtenir, au-dessus d'une limite de taille de 1 à 25 μm , une estimation du nombre de particules par unité de surface ou de volume. La masse de MP est parfois déterminée indirectement à partir de calculs intégrant le nombre, la forme et la densité des particules (Hermabessiere et al., 2018; Simon et al., 2018). Cependant, ces approximations ne permettent pas d'établir des bilans de masse précis. Pour répondre à ces limites, la pyrolyse couplée à la chromatographie gazeuse et à la spectrométrie de masse (Pyr-GC-MS) peut être utilisée pour l'analyse qualitative et quantitative des MP les plus retrouvés dans l'environnement : polyéthylène (PE), polypropylène (PP), polystyrène (PS), polytéréphtalate d'éthylène (PET), polyméthacrylate de méthyle (PMMA), polyamide 66 (PA 66), polychlorure de vinyle (PVC) et polycarbonate (PC) (Fischer et al., 2017). Les polymères synthétiques qui constituent les MP étant des molécules de haut poids moléculaire qui ne sont pas volatiles, seuls leurs produits de pyrolyse peuvent être analysés en GC-MS (Dümichen et al., 2015). Ces produits sont pour la plupart spécifiques de leurs polymères source ce qui permet leur identification sans limite de taille. La Pyr-GC-MS a récemment été proposée pour la quantification massique des MP par le biais de gammes de calibration externes (Fischer and Scholz-Böttcher, 2019; Gomiero et al., 2019). Cependant, la quantification dans les matrices environnementales solides demeure délicate, notamment en raison de l'hétérogénéité des échantillons (Möller et al., 2020) et/ou de possibles interférences ou interactions avec la matrice (Dierkes et al., 2019; Lam, 2019; Okoffo et al., 2020).

Les travaux réalisés conjointement dans le cadre du PIREN-Seine et du projet ANR Sedi-PLAST visent à mieux comprendre les relations entre environnements de dépôt sédimentaires et la teneur, la nature et la distribution de taille des MP retrouvés dans les sédiments. Pour répondre à cet objectif, ce travail (thèse de Nadia Bouzid), initié en 2020, s'intéresse (i) à la mise au point et à l'optimisation d'une méthode de quantification des MP dans les sédiments par Pyr-GC-MS, (ii) à l'évaluation de la pertinence du couplage de Pyr-GC-MS avec l'analyse par spectroscopie micro-IRTF et enfin (iii) à la caractérisation de la contamination et la distribution des MP dans les sédiments du bassin de la Seine.

Ce document résume les premiers résultats obtenus concernant les développements méthodologiques. Le choix d'un protocole d'isolement des MP et les limites de ces traitements seront d'abord présentés. Puis, la sélection de produits de pyrolyse spécifiques est détaillée pour cinq polymères : PE, PP, PS, PET et PVC. Les tests effectués sur les échantillons de sédiment ont permis de mettre en évidence un effet de matrice dû à la présence d'un résidu de fraction minérale dans l'échantillon après isolement des MP. En considérant cet effet de matrice, nous verrons quelles stratégies peuvent être envisagées pour effectuer une quantification fiable des MP par Pyr-CG-MS.

1. Matériel et méthodes

1.1. Prélèvement des échantillons de sédiment

Une première campagne de prélèvement sur la Seine a été effectuée en juillet 2020 au niveau du site de Bouafles, à l'aval de l'agglomération parisienne à proximité du barrage de Poses. Les points de prélèvement sélectionnés correspondent à des environnements de dépôt sédimentaire variés dus à des fréquences de crue variables. Au total, 10 échantillons d'environ 1 kg de sédiment ont été prélevés, sur lesquels les tests de développements méthodologiques ont été appliqués.

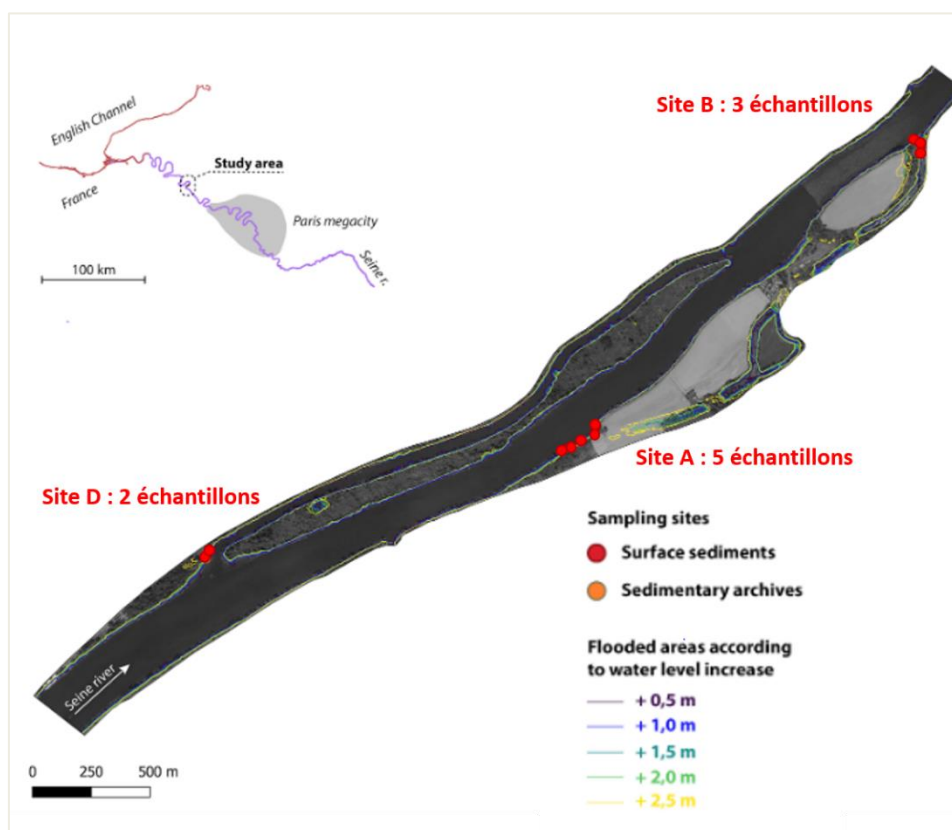


Figure 1. Campagne d'échantillonnage réalisée en juillet 2020 à Bouafles.

1.2. Isolement des MP de la matrice

Afin de limiter les contaminations, toutes les étapes d'échantillonnage, d'isolement et de traitement ont été réalisées en évitant l'utilisation de matériel en plastique. La verrerie a été calcinée à 500 °C pour éliminer les MP potentiellement présents. Pour le matériel qui ne pouvait pas être calciné, un rinçage à l'éthanol filtré sur filtre en fibre de verre de porosité 2,7 µm (GF/D) a été effectué avant utilisation. Pour éviter la contamination aérienne, les manipulations ont été effectuées sous hotte à flux laminaire.

Les échantillons ont été homogénéisés par mélange avec une spatule en inox et lyophilisés. Ensuite, un broyage manuel avec un mortier-pilon a été effectué pour dissocier les agrégats. Les premiers tests ont été réalisés avec une prise d'essai de 30 g de sédiment préalablement tamisés avec un tamis en inox de maille 5 mm.

Les MP contenus dans les matrices solides doivent être concentrés pour obtenir un signal en Pyr-GC-MS. Plusieurs méthodes ont été proposées dans la littérature pour isoler les MP de la fraction minérale des échantillons de sols et de sédiment : tamisage et tri visuel (Norén, 2007), séparation densimétrique (Thompson, 2004), élutriation (Kedzierski et al., 2016), séparation électrostatique (Felsing et al., 2018) ou extraction avec une huile (Crichton et al., 2017). La séparation densimétrique est la méthode la plus souvent utilisée pour isoler

les MP des sédiments (Hanvey et al., 2017). L'échantillon est mélangé avec une solution saline dense, les plastiques et autres matières de faible densité se retrouvent dans le surnageant et les matières minérales décantent (Crawford and Quinn, 2017). Plusieurs solutions salines peuvent être utilisées : chlorure de sodium NaCl ($d : 1,2 \text{ g.cm}^{-3}$) (Thompson et al., 2004), bromure de sodium NaBr ($d : 1,46 \text{ g.cm}^{-3}$) (Fischer et Scholz-Böttcher, 2019), iodure de sodium NaI ($d : 1,6-1,8 \text{ g.cm}^{-3}$) (Claessens et al., 2013; Crawford and Quinn, 2017) ou chlorure de zinc ZnCl_2 ($d : 1,8 \text{ g.cm}^{-3}$) (Gomiero et al., 2019). La solution de NaCl ne permet pas d'obtenir une densité au-dessus de $1,2 \text{ g.cm}^{-3}$, ce qui n'est pas suffisant pour analyser les polymères denses tels que le PET et le PVC ($1,4$ et $1,6 \text{ g.cm}^{-3}$). L'utilisation de ZnCl_2 ou de ZnBr_2 doit être évitée car il s'agit de solutions acides de Lewis qui peuvent réagir avec les carbonates présents dans certains échantillons, la mousse formée par le dégagement de CO_2 pouvant piéger des particules minérales et empêcher leur décantation (Zobkov et Esiukova, 2017). Par ailleurs, ce sont des produits irritants et corrosifs par inhalation et contact cutané (INRS). Pour l'isolement des MP, nous avons donc choisi d'effectuer une séparation densimétrique avec une solution de NaI, car ce sel n'a pas de propriétés acides, ne présente pas de toxicité aiguë et permet d'obtenir une densité de $1,6 \text{ g.cm}^{-3}$.

La séparation densimétrique est parfois effectuée dans un bécher, mais cela rend la récupération du surnageant délicate (Mausra and Foster, 2015). En effet, après décantation, lorsque le surnageant est versé dans un autre bécher, les particules se collent aux parois et le sédiment est remis en suspension. Dans ce cas, la séparation doit être répétée pour que la récupération du surnageant soit efficace (Hidalgo-Ruz et al., 2012). La séparation peut aussi être effectuée dans des ampoules à décanter, mais cette méthode n'est efficace que pour traiter quelques grammes de sédiment, car le culot ne peut pas être correctement éliminé et une fraction minérale importante se retrouve dans le surnageant. Pour faciliter la récupération du surnageant, certaines équipes de recherche ont développé des dispositifs à valve (MPSS *Munich Plastic Sediment Separator* Imhof et al., 2012 ; SMI *Sediment-Microplastics Isolation* Coppock et al., 2017). Cependant, ces dispositifs à valve sont complexes à fabriquer et nécessitent des procédures de nettoyage contraignantes. Pour éliminer la matière minérale dans les échantillons de sédiment, nous avons opté pour l'utilisation du dispositif JAMSS (*JAMSTEC Microplastic Sediment Separator*). Ce dispositif a été fabriqué sur mesure à partir des plans fournis par Nakajima et al., 2019. Le dispositif est constitué de deux plaques en verre de même dimension – une plaque inférieure à laquelle est fixée un contenant et une plaque supérieure avec un tube de même diamètre. Initialement le tube est placé en face du contenant (*Figure 2a*), environ 100 ml de solution de NaI sont versés et 30 g de sédiment sont ajoutés. Après 24 h, la plaque supérieure est coulissée pour isoler le tube du contenant et ainsi récupérer le surnageant (*Figure 2b*). L'ajout de graisse de silicone permet d'améliorer l'étanchéité entre les deux plaques et facilite le glissement entre les deux parties du dispositif. Un blanc de contrôle du protocole est en cours d'analyse pour évaluer la contamination, notamment due à l'ajout de graisse.



Figure 2. Récupération du surnageant après isolement des MP de 30 g de sédiment avec le dispositif de séparation JAMSS a) décantation, b) séparation.

Le surnageant récupéré est dans un premier temps filtré à $500 \mu\text{m}$. Cette filtration permet d'analyser les fractions inférieures et supérieures à $500 \mu\text{m}$ selon différentes méthodes. En effet, la fraction supérieure à $500 \mu\text{m}$ ne peut pas être analysée par microspectroscopie IRTF en mode transmission et représente un volume d'échantillon trop important pour être analysé en Pyr-GC-MS. Afin d'éliminer le NaI, la fraction inférieure à $500 \mu\text{m}$ est filtrée sur un filtre métallique de diamètre 47 mm et de $10 \mu\text{m}$ de porosité. Le filtrat qui contient

la fraction inférieure à 10 µm pourra être filtré sur un filtre en fibre de quartz ou en alumine pour être directement analysé en Pyr-GC-MS.

Une séparation densimétrique seule ne permet pas de séparer les MP de la matière organique (MO) naturelle qui a une densité autour de 1,14 g.cm⁻³ (Bläsing et Amelung, 2018). Par conséquent, la MO doit être éliminée des échantillons car elle génère des interférences lors de l'analyse (Zhao et al., 2017). Plusieurs approches ont été proposées pour dégrader la MO : traitements acides (Cole et al., 2015) ou basiques (Dehaut et al., 2016), oxydations (Hurley et al., 2018) et digestions enzymatiques (Löder et al., 2017). Ces traitements peuvent être effectués seuls ou successivement. Nous avons fait le choix d'appliquer une seule étape de digestion de la MO pour limiter les risques de contamination et de perte d'échantillon dus aux traitements successifs (Hurley et al., 2018). La fraction entre 10 et 500 µm du surnageant a été traitée avec 100 ml d'une solution de H₂O₂ à 30 % pendant 24h. Selon Liebezeit and Dubaish, 2012, ce protocole n'affecte pas les particules de plastiques et permet d'obtenir une élimination efficace de la MO pour des échantillons de sédiment (Figure 3).

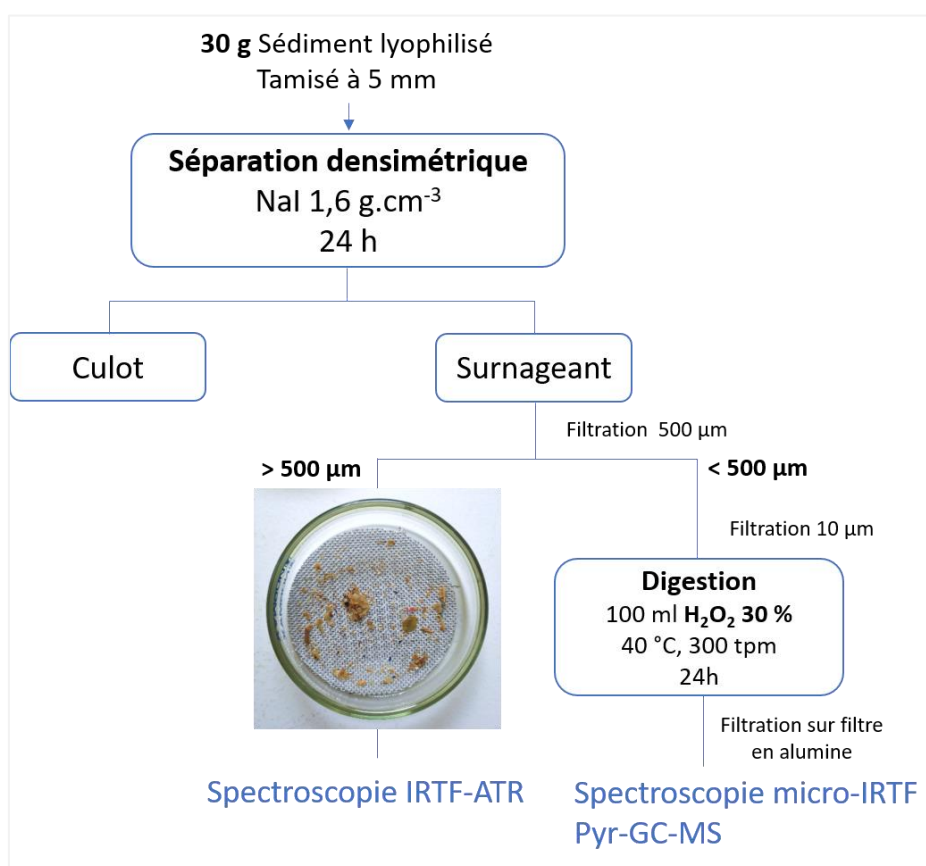


Figure 3. Protocole d'isolement des MP des échantillons de sédiment.

1.3. Caractérisation par spectroscopie micro-IRTF

Les filtres obtenus ont été analysés par spectroscopie micro-IRTF (Nicolet iN10 MX, Thermo Fischer Scientific) pour évaluer la nature des particules résiduelles. Le nombre de particules sur un des filtres a été estimé à l'aide de l'option Particle Wizard du logiciel OMNIC Picta™. Le logiciel SiMPle (Primpke et al., 2020) a été utilisé pour traiter les données obtenues à partir de l'analyse d'imagerie µFTIR.

1.4. Pyrolyse GC-MS

Les mesures ont été effectuées avec un pyrolyseur (*Pyroprobe 6250*, CDS) couplé à un chromatographe en phase gazeuse (*7890B*, Agilent) et à un spectromètre de masse (*5977B*, Agilent). Les échantillons ont été pyrolysés à 650°C pendant 10 s sous atmosphère d'hélium et en présence de TMAH (hydroxyde de tetraméthylammonium 25% dans du méthanol) ajouté en excès comme agent de dérivation. Le TMAH permet de méthyler les groupements polaires des produits de pyrolyse du PET et d'améliorer leur détection en GC-MS. Après une injection en mode *split* (1:50), les molécules sont séparées en GC avec une

colonne apolaire *Rxi5Sil MS* (30m x 0.25mm x 0.5µm, *Restek*), une température initiale de 50°C maintenue pendant 1 min, montée à 3°C/min jusqu'à 310 °C, température finale, maintenue pendant 10 min. Le spectromètre de masse fonctionne avec une source d'ionisation à impact électronique (70 eV) et l'acquisition des spectres est effectuée en mode *full scan*.

1.4.1.Sélection des composés indicateurs

Des gammes de calibration ont été effectuées avec un mélange de PP, PS, PVC et PET pour identifier les produits de pyrolyse spécifiques des polymères purs. La sélection des composés indicateurs s'est appuyée sur les publications de Fischer and Scholz-Böttcher, 2017 et Tsuge et al., 2011 qui détaillent les produits de pyrolyse de 165 polymères. Compte tenu du manque d'élément pour le choix d'ions indicateurs pour le PE, il a été choisi de ne pas l'inclure dans cette étude préliminaire.

1.4.2.Mise en évidence des effets de matrice

Dix nacelles de pyrolyse ont été préparées avec 1 à 30 µg de PP et de PS pesés avec une microbalance (précision 1 µg *Mettler Toledo XPE26*) et de la laine de quartz considérée comme matrice inerte. En parallèle, dix autres nacelles ont été préparées avec 1 à 30 µg de PP et de PS auxquelles on a ajouté 8 mg de matrice sédimentaire issue du culot de la séparation densimétrique (*Figure 2*). Ces quelques mg de matrice sédimentaire permettent de représenter le résidu minéral observé dans le rétentat final.

Pour évaluer si la masse de fraction minérale modifie l'intensité de l'effet de matrice, des tests ont été effectués sur le PVC et le PET. Des nacelles ont été préparées avec une masse fixe de polymère, environ 20 µg pour le PET et 500 µg pour le PVC auxquelles on a ajouté des quantités croissantes de matrice sédimentaire (1 à 10 mg). 20 µl de TMAH sont ajoutés dans chaque nacelle.

2. Résultats

1.1. Caractérisation par spectroscopie micro-IRTF

Après les étapes de séparation densimétrique et de digestion de la matière organique, le résidu obtenu a été analysé par imagerie µFTIR. Sur les 2 340 particules comptées, 51 ont été identifiées comme étant des polymères plastiques. Il reste donc un nombre significatif de particules non plastiques, même après purification de l'échantillon. Ces particules non plastiques peuvent être composées de matériaux inorganiques et organiques qui, comme détaillé ci-dessous, génèrent des interférences avec les produits de pyrolyse des polymères ciblés.

1.2. Analyse par Pyrolyse GC-MS

2.1.1.Sélection des composés indicateurs

Parmi les produits de pyrolyse proposés dans les différentes études qui s'intéressent à la quantification des MP par Pyr-GC-MS, certains peuvent ne pas être spécifiques des polymères ciblés. Le Tableau 1 liste les produits de pyrolyse utilisés pour l'identification et la quantification des polymères les plus retrouvés dans l'environnement : PE, PP, PS, PET et PVC.

Pour la quantification du PE, les triplets d'alcane, d'alcène et d'alcadiène de C₁₀ à C₂₀ sont proposés comme composés indicateurs (Dierkes et al., 2019; Fischer and Scholz-Böttcher, 2017; Funck et al., 2020; Okoffo et al., 2020; Steinmetz et al., 2020). Cependant, ces composés peuvent être produits lors de la pyrolyse de nombreuses matrices environnementales telles que les végétaux supérieurs (Nip et al., 1986), les sédiments (Han et al., 1999), la matière organique particulaire et les substances humiques (Saiz-Jimenez, 1992). Compte tenu de l'élimination incomplète de la matière organique dans les échantillons après traitement, il a été choisi d'écarter la quantification du PE dans cette étude préliminaire.

Tableau 1. Composés indicateurs proposés dans la littérature pour l'identification et la quantification des cinq principaux polymères retrouvés dans l'environnement.

*composés obtenus avec ajout de TMAH ; gras : ions retenus pour la quantification.

Polymères	Composés indicateurs	Abréviation	Ions indicateurs (m/z)		Références
			Identification	Quantification	
PE	Déc-1-ène (C ₁₀)		83, 97, 111, 140	83	Okoffo et al., 2020
	1, 12-tridécadiène (C ₁₃)		55, 81, 67, 95	Non spécifié	Funck, 2020
	1, 13-tétradécadiène (C ₁₄)		81, 95, 109	Non spécifié	Funck, 2020
	1-pentadécène (C ₁₅)		97	97	Dierkes et al., 2019
	1,14-pentadécadiène (C ₁₅)		81	81	Dierkes et al., 2019
			55, 81, 95, 109	Non spécifié	Funck, 2020
	1,16-heptadécadiène (C ₁₇)		82, 95	Non spécifié	Steinmetz et al., 2020
	1,17-octadécadiène (C ₁₈)		82, 95	Non spécifié	
	1-tétradécène (C ₁₄)		83	83	Gomiero et al., 2019
	Alcanes (e.g. C ₂₀)		99, 85	85	Fischer and Scholz-Böttcher, 2019, 2017
	alc-1-ènes (e.g. C ₂₀)		97, 83	83	
α , ω -alcadiènes (e.g. C ₂₀)		95, 82	82		
PP	2,4-diméthyl-1-hept-1-ène	PP-P1	70, 83, 126	126	Okoffo et al., 2020
			126		Dierkes et al., 2019
		126, 70	70	Fischer and Scholz-Böttcher, 2019, 2017	
			Non spécifié	Steinmetz et al., 2020	
	2,4,6,8-tetraméthyl-1-undécène	PP-P2	111, 69	n.c.	Fischer and Scholz-Böttcher, 2019, 2017
69, 210			69	Gomiero et al., 2019	
PS	Styrène	PS-P1	51, 78, 104	104	Funck, 2020
			104	104	Fabbri et al., 2000, 1998, Dierkes et al., 2019
			78, 104	Non spécifié	Steinmetz et al., 2020
	3-buten-1,3-diyl dibenzène (Dimère de styrène)	PS-P2	91 , 208	208	Gomiero et al., 2019
				n.c.	Fischer and Scholz-Böttcher, 2019, 2017
			91, 104, 130, 208	Non spécifié	Funck, 2020
	5-hexen-1,3,5-triyltribenzène (Trimère de styrène)	PS-P3	117, 194, 91, 312	91	Okoffo et al., 2020
			207, 91		Fischer and Scholz-Böttcher, 2019, 2017
91, 117, 194, 207			Non spécifié	Funck, 2020	
PVC	Benzène	PVC-P1	78, 74, 52	78	Okoffo et al., 2020
			78		Fischer and Scholz-Böttcher, 2019, 2017
		Fabbri et al., 2000			
1-methylnaphthalene	PVC-P2	142	142	Gomiero et al., 2019	
Chlorobenzène	PVC-P3	112 , 77	n.c.	Fischer and Scholz-Böttcher, 2019, 2017	
PET	Diméthyltéréphtalate*	PET-T1	194, 163	163	Fischer and Scholz-Böttcher, 2019, 2017; Gomiero et al., 2019
	Benzoate de vinyle	PET-D1	105, 77, 148, 51	105	Okoffo et al., 2020

Pour le PP, le 2,4-diméthyl-1-heptène (PP-P1, *Tableau 1*) et le 2,4,6,8-tetraméthyl-undécène (PP-P2, *Tab. 1*) sont les produits de pyrolyse les plus abondants et sont proposés comme composés indicateurs dans plusieurs études (Dierkes et al., 2019; Fischer and Scholz-Böttcher, 2017; Gomiero et al., 2019; Okoffo et al., 2020). Du fait de la position spécifique des groupements méthylés, ces composés ne peuvent pas être formés lors de la pyrolyse de la matière organique naturelle, ce qui en fait des composés fiables pour la quantification du PP. Il faut toutefois noter que le 2,4- diméthyl-1-heptène étant plus abondant, il sera privilégié comme composé indicateur.

Dans le cas du PS, le styrène (PS-P1, *Tableau 1*) est le produit de pyrolyse le plus abondant et il a été utilisé comme composé indicateur dans plusieurs études (Fabbri et al., 1998; Steinmetz et al., 2020). Cependant, le styrène est retrouvé dans la pyrolyse de nombreux échantillons environnementaux : il s'agit notamment d'un produit de pyrolyse de la phénylalanine (Gallois et al., 2007; Tsuge and Matsubara, 1985). D'autres composés formés en plus faible quantité sont spécifiques du PS, le dimère et le trimère de styrène (PS-P2 et PS-P3, *Tableau 1*), ce sont des composés fiables pour la quantification du PS et ils sont utilisés dans plusieurs études (Dierkes et al., 2019; Fischer and Scholz-Böttcher, 2019; Funck et al., 2020).

Le benzène (PVC-P1, *Tableau 1*) est le produit formé en plus grande quantité lors de la pyrolyse du PVC. Ce composé ubiquiste dans la pyrolyse de matière organique est pourtant utilisé comme composé indicateur dans certaines études (Fabbri et al., 2000; Fischer and Scholz-Böttcher, 2019; Okoffo et al., 2020). De la même manière, le méthyl-1-naphtalène (PVC-P2, *Tableau 1*), qui est un composé non-spécifique, a été utilisé pour la quantification du PVC (Gomiero et al., 2019). Bien que le benzène et le méthyl-1-naphtalène soient parfois proposés, il est essentiel d'utiliser le chlorobenzène (PVC-P3, *Tableau 1*) pour la quantification du PVC, car il s'agit d'un composé très spécifique de la pyrolyse du PVC.

L'acide benzoïque et le benzoate de vinyle (PET-D1, *Tableau 1*) sont les produits de pyrolyse majoritaires du PET (Dimitrov et al., 2013). Ce sont des produits de pyrolyse polaires qui ont une faible résolution en raison des paramètres d'analyse de la GC-MS. L'utilisation du TMAH comme agent de dérivation limite la formation de ces produits de pyrolyse polaires (Challinor, 1996). En présence de TMAH, le 1,4-diméthyltéréphtalate (PET-T1, *Tableau 1*) est le produit le plus abondant et il peut être utilisé pour la quantification (Fischer and Scholz-Böttcher, 2019, 2017; Gomiero et al., 2019).

2.1.2.Évaluation des effets de matrice

La comparaison des gammes préparées avec une matrice inerte et avec quelques milligrammes de matrice sédimentaire ont permis de démontrer une atténuation du signal en présence de sédiment. Cette atténuation pourrait résulter de l'adsorption des produits de pyrolyse formés sur les argiles présentes dans la matrice minérale qui est restée associée aux MP. La droite de calibration du PP avec le 2,4-diméthyl-1-heptène présente une pente trois fois plus faible en présence de matrice sédimentaire (*Figure 4*). Quant au 2,4,6,8-tetraméthyl-1-undécène, également retenu comme composé indicateur du PP, il n'est pas détecté en présence de matrice sédimentaire. Il est donc préférable d'utiliser le 2,4-diméthyl-1-heptène pour la quantification du PP, car il est formé en plus grande quantité.

Cette atténuation est également observée sur les produits de pyrolyse du PS. Les deux composés indicateurs présentent une droite de calibration de pente plus faible en présence de matrice sédimentaire (*Figure 5*). Par ailleurs, pour le trimère de styrène (5-hexène-1,3,5-triyltribenzène), le coefficient de corrélation de la droite est plus faible que pour le dimère de styrène en présence de matrice sédimentaire. Par conséquent, il est préférable d'utiliser le dimère de styrène pour la quantification du PS dans les échantillons de sédiment.

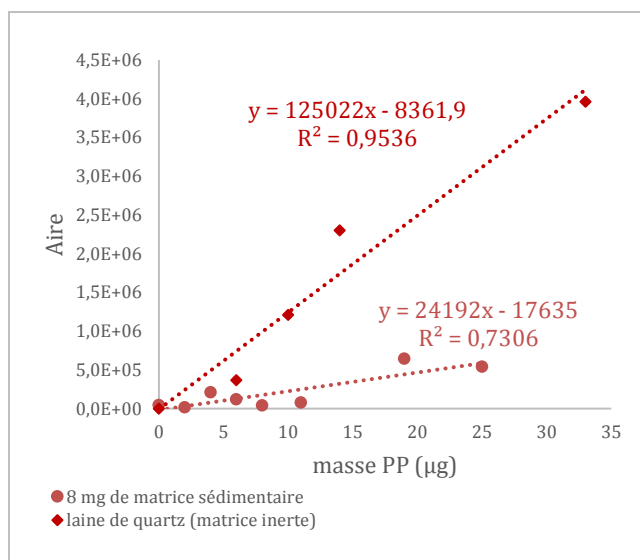


Figure 4. Droites de calibration obtenues avec les principaux produits de pyrolyse du PP en présence de matrice inerte et avec 8 mg de matrice sédimentaire.

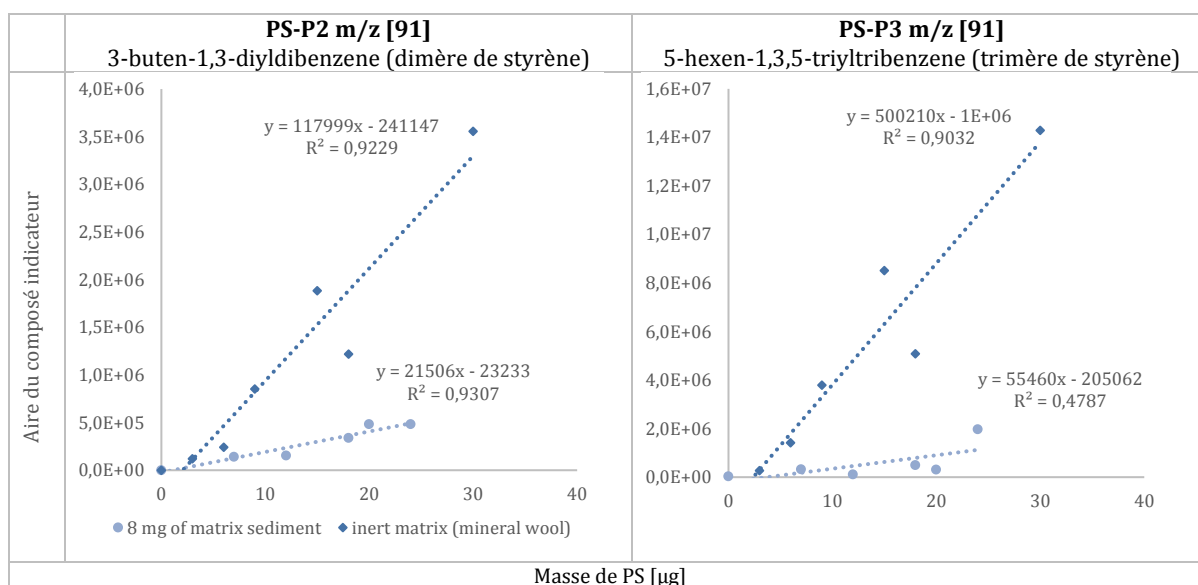


Figure 5. Droites de calibration obtenues avec les principaux produits de pyrolyse du PS en présence de matrice inerte et avec 8 mg de matrice sédimentaire.

Un effet de matrice a également pu être démontré sur le chlorobenzène qui a été sélectionné comme composé indicateur du PVC. On observe ainsi une atténuation du signal similaire pour les nacelles préparées avec ajout de 1 à 10 mg de matrice sédimentaire (Figure 6). Pour le PET, on observe à l'inverse que le diméthyltéréphtalate présente un signal faible dans la matrice inerte (Figure 7). L'augmentation du signal en présence de matrice sédimentaire pourrait être expliquée par le fait qu'il reste du PET dans le culot après séparation densimétrique. Cependant, cette augmentation n'est pas proportionnelle à la quantité de matrice ajoutée. Par conséquent, cette atténuation résulterait d'une catalyse de la réaction de dépolymérisation en présence de matrice sédimentaire.

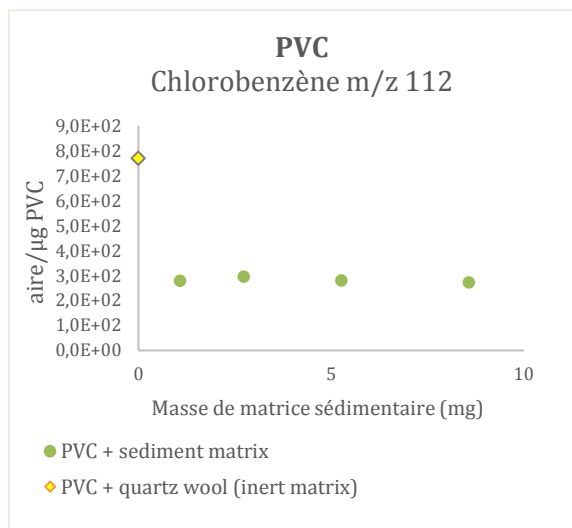


Figure 6. PVC pyrolysé dans une matrice inerte et avec des quantités croissantes de matrice sédimentaire (1 à 10 mg).

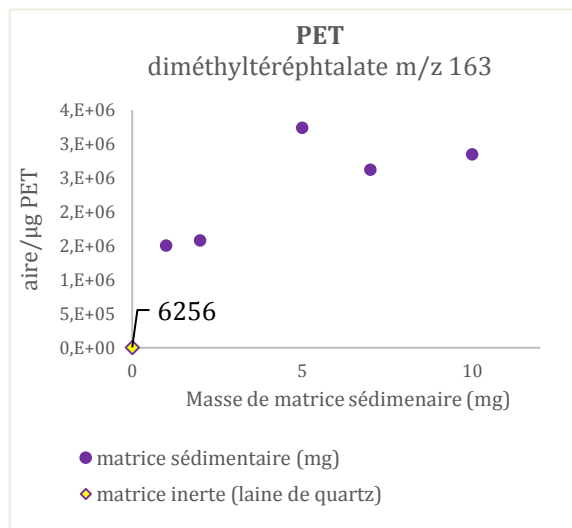


Figure 7. PET pyrolysé dans une matrice inerte et avec des quantités croissantes de matrice sédimentaire (1 à 10 mg).

2.1.3. Calibration

Les effets de matrice associés à la fraction minérale résiduelle indiquent que l'utilisation de courbes d'étalonnage externes pour la quantification n'est pas appropriée pour les échantillons de sédiments. Pour prendre en compte les interactions au cours de la pyrolyse, l'utilisation d'un standard interne dans les échantillons environnementaux peut améliorer la fiabilité de la méthode analytique.

Fischer et Scholz-Böttcher 2019 ont effectué l'analyse avec l'androstane, l'anthracène deutéré, le 9-dodécyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro anthracène et l'acide cholinique comme standard interne de pyrolyse. Cependant, la nature volatile de ces molécules utilisées comme standards internes pourrait entraîner des comportements différents pendant la pyrolyse par rapport aux polymères ciblés. Un étalon interne doit avoir des propriétés physiques et chimiques similaires aux composés étudiés. Ainsi, les polymères enrichis en deutérium sont parfois utilisés comme standard interne (Dierkes et al., 2019 ; Gomiero et al., 2021 ; Goßmann, 2021 ; Unice et al., 2012). En particulier, le PS-d5 est de plus en plus utilisé comme étalon interne de pyrolyse. Ce standard interne semble fournir des résultats prometteurs pour le PS, le PP et le PE, bien qu'il soit nécessaire de travailler sur la pertinence de son utilisation pour une plus grande variété de polymères. De plus, compte tenu des traitements importants de purification des échantillons avant analyse, il serait intéressant d'introduire un étalon interne au début du protocole afin de valider l'ensemble de la procédure.

Conclusion

La Pyr-GC-MS a récemment été proposée pour l'analyse quantitative des MP dans les matrices environnementales et les premiers développements pour l'application aux sédiments sont encourageants.

Les protocoles d'isolement des MP de la matrice sont de plus en plus performants, incluant notamment l'utilisation d'un nouveau dispositif qui améliore l'étape de séparation densimétrique pour les sédiments. Cependant, bien que les protocoles de purification des échantillons deviennent plus efficaces dans le traitement des échantillons solides, la présence de matrice minérale et organique résiduelle reste une limite pour obtenir une quantification fiable. En effet, l'établissement de courbes d'étalonnage en présence de matrice sédimentaire a mis en évidence une atténuation du signal qui est attribuée à l'adsorption des produits de pyrolyse sur la phase argileuse du résidu minéral.

La sélection de composés indicateurs tenant compte des substances interférentes potentielles dans les échantillons environnementaux a été examinée pour le PE, le PP, le PS, le PET et le PVC. Selon les polymères,

la sélection des composés indicateurs apparaît plus ou moins délicate en raison de la spécificité de leurs produits de pyrolyse et de la proportion dans laquelle ils sont formés.

Malgré les limites discutées dues aux interférences et effets de matrice, l'utilisation d'un standard interne permettrait de prendre en compte ces paramètres. Les prochains travaux porteront sur la validation d'une méthode par étalonnage interne, incluant l'utilisation d'un polymère deutéré pour corriger les effets de matrice.

Bibliographie

- Bläsing, M., Amelung, W., 2018. Plastics in soil: Analytical methods and possible sources. *Sci. Total Environ.* 612, 422–435. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.086>
- Browne, M.A., Crump, P., Niven, S.J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., Thompson, R., 2011. Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks. *Environ. Sci. Technol.* 45, 9175–9179. <https://doi.org/10.1021/es201811s>
- Challinor, J.M., 1996. A rapid simple pyrolysis derivatisation gas chromatography-mass spectrometry method for profiling of fatty acids in trace quantities of lipids. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 37, 185–197. [https://doi.org/10.1016/0165-2370\(96\)00946-1](https://doi.org/10.1016/0165-2370(96)00946-1)
- Claessens, M., Van Cauwenberghe, L., Vandegehuchte, M.B., Janssen, C.R., 2013. New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms. *Mar. Pollut. Bull.* 70, 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.03.009>
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T.S., 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2588–2597. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>
- Cole, M., Webb, H., Lindeque, P.K., Fileman, E.S., Halsband, C., Galloway, T.S., 2015. Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Sci. Rep.* 4, 4528. <https://doi.org/10.1038/srep04528>
- Coppock, R.L., Cole, M., Lindeque, P.K., Queirós, A.M., Galloway, T.S., 2017. A small-scale, portable method for extracting microplastics from marine sediments. *Environ. Pollut.* 230, 829–837. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.017>
- Crawford, C.B., Quinn, B., 2017. Microplastic separation techniques, in: *Microplastic Pollutants*. Elsevier, pp. 203–218. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809406-8.00009-8>
- Crichton, E.M., Noël, M., Gies, E.A., Ross, P.S., 2017. A novel, density-independent and FTIR-compatible approach for the rapid extraction of microplastics from aquatic sediments. *Anal. Methods* 9, 1419–1428. <https://doi.org/10.1039/C6AY02733D>
- Dehaut, A., Cassone, A.-L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Rivière, G., Lambert, C., Soudant, P., Huvet, A., Duflos, G., Paul-Pont, I., 2016. Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environ. Pollut.* 215, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.018>
- Dierkes, G., Lauschke, T., Becher, S., Schumacher, H., Földi, C., Ternes, T., 2019. Quantification of microplastics in environmental samples via pressurized liquid extraction and pyrolysis-gas chromatography. *Anal. Bioanal. Chem.* <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02066-9>
- Dimitrov, N., Kratofil Krehula, L., Ptiček Siročić, A., Hrnjak-Murgić, Z., 2013. Analysis of recycled PET bottles products by pyrolysis-gas chromatography. *Polym. Degrad. Stab.* 98, 972–979. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2013.02.013>
- Dris, R., Gasperi, J., Tassin, B., 2018. Sources and Fate of Microplastics in Urban Areas: A Focus on Paris Megacity, in: Wagner, M., Lambert, S. (Eds.), *Freshwater Microplastics*. Springer International Publishing, Cham, pp. 69–83. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_4
- Dümichen, E., Barthel, A.-K., Braun, U., Bannick, C.G., Brand, K., Jekel, M., Senz, R., 2015. Analysis of polyethylene microplastics in environmental samples, using a thermal decomposition method. *Water Res.* 85, 451–457. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.002>
- Fabbri, D., Tartari, D., Trombini, C., 2000. Analysis of poly(vinyl chloride) and other polymers in sediments and suspended matter of a coastal lagoon by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 9.
- Fabbri, D., Trombini, C., Vassura, I., 1998. Analysis of Polystyrene in Polluted Sediments by Pyrolysis--Gas Chromatography--Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* 36, 600–604. <https://doi.org/10.1093/chromsci/36.12.600>
- Felsing, S., Kochleus, C., Buchinger, S., Brennholt, N., Stock, F., Reifferscheid, G., 2018. A new approach in separating microplastics from environmental samples based on their electrostatic behavior. *Environ. Pollut.* 234, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.013>
- Fischer, M., Goßmann, I., Scholz-Böttcher, B.M., 2019. Fleur de Sel—An interregional monitor for microplastics mass load and composition in European coastal waters? *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 144, 104711. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2019.104711>

- Fischer, M., Scholz-Böttcher, B.M., 2019. Microplastics analysis in environmental samples-recent pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry method improvements to increase the reliability of mass-related data. *Anal. Methods* 11, 2489–2497. <https://doi.org/10.1039/c9ay00600a>
- Fischer, M., Scholz-Böttcher, B.M., 2017. Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 51, 5052–5060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06362>
- Funck, M., 2020. Identification of microplastics in wastewater after cascade filtration using Pyrolysis-GCMS 8.
- Funck, M., Yildirim, A., Nickel, C., Schram, J., Schmidt, T.C., Tuerk, J., 2020. Identification of microplastics in wastewater after cascade filtration using Pyrolysis-GC–MS. *MethodsX* 7, 100778. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.100778>
- Gallois, N., Templier, J., Derenne, S., 2007. Pyrolysis-gas chromatography–mass spectrometry of the 20 protein amino acids in the presence of TMAH. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 80, 216–230. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2007.02.010>
- Gomiero, A., Øysæd, K.B., Agustsson, T., van Hoytema, N., van Thiel, T., Grati, F., 2019. First record of characterization, concentration and distribution of microplastics in coastal sediments of an urban fjord in south west Norway using a thermal degradation method. *Chemosphere* 227, 705–714. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.096>
- Han, Z., Kruge, M.A., Crelling, J.C., Bensley, D.F., 1999. Classification of torbanite and cannel coal: I. Insights from petrographic analysis of density fractions. *Int. J. Coal Geol.* 38, 181–202. [https://doi.org/10.1016/S0166-5162\(98\)00013-5](https://doi.org/10.1016/S0166-5162(98)00013-5)
- Hanvey, J.S., Lewis, P.J., Lavers, J.L., Crosbie, N.D., Pozo, K., Clarke, B.O., 2017. A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. *Anal. Methods* 9, 1369–1383. <https://doi.org/10.1039/C6AY02707E>
- Hermabessiere, L., Himber, C., Boricaud, B., Kazour, M., Amara, R., Cassone, A.-L., Laurentie, M., Paul-Pont, I., Soudant, P., Dehaut, A., Duflos, G., 2018. Optimization, performance, and application of a pyrolysis-GC/MS method for the identification of microplastics. *Anal. Bioanal. Chem.* 410, 6663–6676. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1279-0>
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R.C., Thiel, M., 2012. Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification. *Environ. Sci. Technol.* 46, 3060–3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>
- Hurley, R.R., Lusher, A.L., Olsen, M., Nizzetto, L., 2018. Validation of a Method for Extracting Microplastics from Complex, Organic-Rich, Environmental Matrices. *Environ. Sci. Technol.* 52, 7409–7417. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01517>
- Imhof, H.K., Schmid, J., Niessner, R., Ivleva, N.P., Laforsch, C., 2012. A novel, highly efficient method for the separation and quantification of plastic particles in sediments of aquatic environments: Novel plastic particle separation method. *Limnol. Oceanogr. Methods* 10, 524–537. <https://doi.org/10.4319/lom.2012.10.524>
- Kedzierski, M., Le Tilly, V., Bourseau, P., Bellegou, H., César, G., Sire, O., Bruzard, S., 2016. Microplastics elutriation from sandy sediments: A granulometric approach. *Mar. Pollut. Bull.* 107, 315–323. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.03.041>
- Liebezeit, G., Dubaish, F., 2012. Microplastics in Beaches of the East Frisian Islands Spiekeroog and Kachelotplate. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 89, 213–217. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0642-7>
- Mausra, B., Foster, A., n.d. Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment 39.
- Möller, J.N., Löder, M.G.J., Laforsch, C., 2020. Finding Microplastics in Soils: A Review of Analytical Methods. *Environ. Sci. Technol.* 54, 2078–2090. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b04618>
- Nakajima, R., Tsuchiya, M., Lindsay, D.J., Kitahashi, T., Fujikura, K., Fukushima, T., 2019. A new small device made of glass for separating microplastics from marine and freshwater sediments. *PeerJ* 7, e7915. <https://doi.org/10.7717/peerj.7915>
- Nip, M., Tegelaar, E.W., Brinkhuis, H., De Leeuw, J.W., Schenck, P.A., Holloway, P.J., 1986. Analysis of modern and fossil plant cuticles by Curie point Py-GC and Curie point Py-GC-MS: Recognition of a new, highly aliphatic and resistant biopolymer. *Org. Geochem.* 10, 769–778. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(86\)80014-6](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(86)80014-6)
- Norén, F., 2007. Small plastic particles in Coastal Swedish waters. *KIMO Rep.* 1–11.
- Okoffo, E.D., Ribeiro, F., O'Brien, J.W., O'Brien, S., Tschärke, B.J., Gallen, M., Samanipour, S., Mueller, J.F., Thomas, K.V., 2020. Identification and quantification of selected plastics in biosolids by pressurized liquid extraction combined with double-shot pyrolysis gas chromatography–mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* 136924. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136924>
- Saiz-Jimenez, C., 1992. Applications of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry to the study of humic substances: evidence of aliphatic biopolymers in sedimentary and terrestrial humic acids. *Sci. Total Environ., Advances in Humic Substances Research* 117–118, 13–25. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(92\)90069-5](https://doi.org/10.1016/0048-9697(92)90069-5)
- Simon, M., van Alst, N., Vollertsen, J., 2018. Quantification of microplastic mass and removal rates at wastewater treatment plants applying Focal Plane Array (FPA)-based Fourier Transform Infrared (FT-IR) imaging. *Water Res.* 142, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.019>
- Steinmetz, Z., Kintzi, A., Muñoz, K., Schaumann, G.E., 2020. A simple method for the selective quantification of polyethylene, polypropylene, and polystyrene plastic debris in soil by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 147, 104803. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2020.104803>

- Thompson, R.C., 2004. Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* 304, 838–838. <https://doi.org/10.1126/science.1094559>
- Tramoy, R., Gasperi, J., Colasse, L., Tassin, B., 2020. Transfer dynamic of macroplastics in estuaries — New insights from the Seine estuary: Part 1. Long term dynamic based on date-prints on stranded debris. *Mar. Pollut. Bull.* 152, 110894. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110894>
- Tsuge, S., Matsubara, H., 1985. High-resolution pyrolysis-gas chromatography of proteins and related materials. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 8, 49–64. [https://doi.org/10.1016/0165-2370\(85\)80014-0](https://doi.org/10.1016/0165-2370(85)80014-0)
- Tsuge, S., Ohtani, H., Watanabe, C., 2011. *Pyrolysis - GC/MS Data Book of Synthetic Polymers: Pyrograms, Thermograms and MS of Pyrolyzates*. Elsevier.
- Zhao, S., Danley, M., Ward, J.E., Li, D., Mincer, T.J., 2017. An approach for extraction, characterization and quantitation of microplastic in natural marine snow using Raman microscopy. *Anal. Methods* 9, 1470–1478. <https://doi.org/10.1039/C6AY02302A>
- Zinc et composés minéraux (FT 75). Généralités - Fiche toxicologique - INRS [WWW Document], n.d. URL http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_75 (accessed 2.23.20).
- Zobkov, M.B., Esiukova, E.E., 2017. Evaluation of the Munich Plastic Sediment Separator efficiency in extraction of microplastics from natural marine bottom sediments: *Munich Plastic Sediment Separator efficiency*. *Limnol. Oceanogr. Methods* 15, 967–978. <https://doi.org/10.1002/lom3.10217>