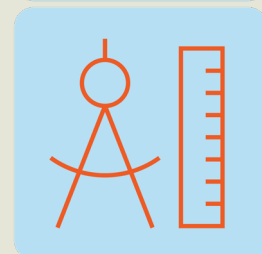


Développement de méthodes analytiques pour les composés organiques volatils microbiens (COVM) dans les matrices biologiques : vers l'évaluation des COVM comme biomarqueurs d'exposition aux moisissures

Badr El Aroussi¹, Sarah Tabbal¹,
Wissam Berkane¹, Michèle Bouchard¹, Geneviève
Marchand², Sami Haddad¹

R-1188-fr





NOS RECHERCHES travaillent pour vous!

Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.

Mission

Dans l'esprit de la *Loi sur la santé et la sécurité du travail* (LSST) et de la *Loi sur les accidents du travail et les maladies professionnelles* (LATMP), la mission de l'IRSST est de : Contribuer à la santé et à la sécurité des travailleuses et travailleurs par la recherche, l'expertise de ses laboratoires, ainsi que la diffusion et le transfert des connaissances, et ce, dans une perspective de prévention et de retour durables au travail.

Pour en savoir plus

Visitez notre site Web! Vous y trouverez une information complète et à jour. De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement. www.irsst.qc.ca

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement :

- au magazine *Prévention au travail*, publié conjointement par l'Institut et la CNESST (preventionautravail.com)
- au bulletin électronique InfoIRSST

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2023
978-2-89797-276-9 (PDF)

© Institut de recherche Robert-Sauvé en santé
et en sécurité du travail, 2023

IRSST — Service des communications
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec) H3A 3C2
Téléphone : 514 288-1551
publications@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca

Cadre de référence pour la recherche en SST



Prévention des atteintes à l'intégrité physique et psychique



Réadaptation, retour et maintien au travail



Surveillance et prospection des données en SST



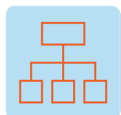
Identification des dangers, estimation et évaluation des risques



Élimination des dangers et maîtrise des risques



Métrologie appliquée à la SST



Organisation du travail



Santé mentale et psychologique



Population, société et SST

REMERCIEMENT

Les auteurs de ce rapport tiennent à exprimer leur gratitude à l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) pour son appui financier, sans lequel ce travail n'aurait pas vu le jour.

SOMMAIRE

La présence de moisissures à l'intérieur peut affecter la santé des travailleurs exposés, entraînant de nombreux malaises et même des maladies graves. Les méthodes classiques de surveillance de ces microorganismes souffrent d'inconvénients tels que la nécessité d'un nombre élevé d'échantillons et de longs délais pour les analyses. Une nouvelle approche pour évaluer les contaminations des lieux intérieurs par les moisissures a été antérieurement proposée. Cette approche est basée sur la mesure des composés organiques volatils microbiens (COVM) dans les matrices biologiques des travailleurs avant et après leur quart de travail. Ces substances, pouvant être facilement absorbées par inhalation, pourraient s'accumuler dans le corps des travailleurs, c'est-à-dire dans les tissus ou les matrices biologiques des travailleurs durant leur quart de travail.

Préalablement, vingt composés organiques volatils microbiens (COVM), avec un potentiel d'être utilisés comme biomarqueurs de contamination et d'exposition aux moisissures en milieu de travail, avaient été identifiés, en considérant plusieurs paramètres, comprenant l'intérêt pour la santé des espèces de moisissures, l'occurrence d'émission ainsi que les paramètres physicochimiques et pharmacocinétiques.

Dans la présente étude, de nouvelles méthodes analytiques, pour mesurer simultanément 21 COVM incluant ceux identifiés préalablement dans les matrices biologiques et l'air ambiant, en se basant sur les techniques H-SPME-GC-MS/MS (sang et urine) et TD-GC-MS/MS (exhalât et air ambiant), ont été développées et validées. Celles-ci ont exhibé des performances analytiques remarquables en termes de sélectivité, linéarité, limite de détection, limite de quantification, exactitude, précision et effet de matrice, le cas échéant, permettant de manière simultanée l'identification et quantification de ces potentiels biomarqueurs de contamination et d'exposition fongique des lieux, présents à des niveaux relativement faibles dans les différentes matrices. D'autre part, ont été mesurés les coefficients de partage sang:air, plasma:air et urine:air pour ces COVM, paramètres très informatifs sur la toxicocinétique et le choix de la matrice biologique la plus appropriée pour le développement de biomarqueurs.

Les résultats obtenus dans la présente étude seront exploités dans un futur projet visant l'étude de l'applicabilité dans des conditions réelles, en milieux professionnels, de l'utilisation de ces COVM comme biomarqueurs de contamination et d'exposition fongique des lieux. La nouvelle technique de biosurveillance, par sa facilité et sa rapidité d'exécution, pourra servir d'outil capable de donner un indice de la contamination fongique dans un lieu de travail, complémentaire à l'approche classique, plus complexe et onéreuse.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
1. ÉTAT DES CONNAISSANCES	4
2. OBJECTIF DE RECHERCHE.....	9
3. MÉTHODOLOGIE	10
3.1 Identification massive et séparation chromatographique.....	10
3.2 Optimisation de l'extraction par H-SPME	10
3.3 Optimisation de l'extraction au moyen des tubes de désorption thermique (TD)	11
3.4 Validation analytique des méthodes.....	13
3.5 Mesure des coefficients de partages.....	14
4. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	16
4.1 Séparation chromatographique et choix de la colonne capillaire	16
4.2 Résultats de l'optimisation de l'extraction par H-SPME.....	17
4.3 Résultats de l'optimisation de l'extraction au moyen des tubes de désorption thermique.....	23
4.4 Résultats de la validation analytique des méthodes	25
4.4.1 Méthode H-SPME-GC-MS/MS	25
4.4.2 Méthode TD-GC-MS/MS	29
4.5 Résultats de la mesure des coefficients de partages	31
CONCLUSION.....	35
BIBLIOGRAPHIE	37
ANNEXE A	48
A.I Figures supplémentaires.....	48
A.II Tableaux supplémentaires	58

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Paramètres optimisés pour l'extraction au moyen de la H-SPME.....	11
Tableau 2	Résultats de la validation analytique pour la matrice urinaire	27
Tableau 3	Résultats de la validation analytique pour la matrice sanguine (sang dans l'eau).....	28
Tableau 4	Effet de matrice dans l'urine et le sang	29
Tableau 5	Résultats de la validation analytique pour l'air ambiant	30
Tableau 6	Pourcentage de récupération dans l'air exhalé	31
Tableau 7	Coefficients de partage déterminés à 37 °C.....	33
Tableau A 1	Pourcentage de la réponse dans le tube adsorbant de rattrapage/recouvrement par rapport à la somme des réponses dans les deux tubes (introduction de 1 µL d'une solution contenant les 21 COVM à 800-1000 mg/L)	58
Tableau A 2	Pourcentage de la réponse dans le tube adsorbant de rattrapage/recouvrement par rapport à la somme des réponses dans les deux tubes (introduction de 1 µL d'une solution contenant les 21 COVM à 40-50 mg/L)	59
Tableau A 3	Résultats de la validation analytique pour l'eau (H-SPME-GC-MS/MS)	60

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Chromatogramme en mode MRM pour les 21 COVM ciblés.....	16
Figure 2	Capacité d'extraction des différentes fibres SPME pour les 21 COVM (35-40 µg/L).	18
Figure 3	Intensité des signaux pour les 21 COVM en fonction du volume de l'espace de tête avec un rapport eau:sel constant avec 300 s (temps d'incubation), 50 °C (température d'extraction), 600 s (temps d'extraction), 270 °C (température d'injection), 10 s (temps de désorption) et injection en mode <i>splitless</i>	21
Figure 4	Comparaison entre les chromatogrammes (dMRM) obtenus à la suite de l'extraction H-SPME des 21 COVM à partir des trois matrices dans les mêmes conditions : 300 s (temps d'incubation), 50 °C (température d'extraction), 600 s (temps d'extraction), 270 °C (température d'injection), 10 s (temps de désorption) et injection en mode <i>splitless</i>	22
Figure 5	Influence du type de matériau de revêtements des tubes sur l'extraction des 21 COVM.	24
Figure 6	Corrélation entre P_{wa} (coefficient de partage eau : air) et P_{ua} (urine : air) ; P_{ba} (sang : air) et P_{pa} (plasma : air).	34
Figure 7	Corrélation entre P_{ba} estimé antérieurement (El Aroussi <i>et al.</i> , 2018) et P_{ba} déterminé expérimentalement dans la présente étude.	34
Figure A 1	Chromatogramme présentant la séparation des 21 COVM dans le méthanol.....	48
Figure A 2	Forme des pics chromatographiques pour 5 COVM en fonction du type de fibre.....	49
Figure A 3	Aire des signaux pour les 21 COVM en fonction du temps d'incubation (s) avec : 250 s (temps d'extraction), 50 °C (température d'extraction), 10 s (temps de désorption), 270 °C (température d'injection) et injection en « <i>splitless</i> »	50
Figure A 4	Aire des signaux pour les 21 COVM en fonction de la température d'extraction (°C) avec : 300 s (temps d'incubation), 600 s (temps d'extraction), 10 s (temps de désorption), 270 °C (température d'injection) et injection en « <i>splitless</i> »	51
Figure A 5	Aire des signaux pour les 21 COVM en fonction du temps d'extraction (s) avec : 300 s (temps d'incubation), 50 °C (température d'extraction), 10 s (temps de désorption), 270 °C (température d'injection) et injection en « <i>splitless</i> »	52

Figure A 6	Aire des signaux pour les 21 COVM en fonction du temps de désorption (s) avec : 300 s (temps d'incubation), 50 °C (température d'extraction), 600 s (temps d'extraction), 270 °C (température d'injection) et injection en « splitless »	53
Figure A 7	Aire des signaux pour les 21 COVM en fonction de la température de désorption (°C) avec : 300 s (temps d'incubation), 50 °C (température d'extraction), 600 s (temps d'extraction), 10 s (temps de désorption) et injection en « splitless »	54
Figure A 8	Forme du signal pour le nonan-2-one en fonction de la température d'injection (désorption) : 260 (haut) et 270 °C (bas)	55
Figure A 9	Chromatogramme montrant la très faible réponse de l'acétate d'éthyle (1) et du butan-2-one (2) relativement aux autres analytes après l'introduction dans le premier tube de 1 µL d'une solution contenant les 21 COVM à 800-1000 mg/L.....	56
Figure A 10	Chromatogramme montrant l'Influence du débit de prélèvement sur l'extraction des 21 COVM	57

LISTE DES ACRONYMES, SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Acronyme	Définition
COV	Composés organiques volatils
COVM	Composés organiques volatils microbiens
CP	Coefficient de partage
CSLR	<i>Calibration Solution Loading Rig</i>
EM	Effet de matrice
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à spectrométrie de masse
GC-MS/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à spectrométrie de masse bidimensionnelle
H-SPME	Microextraction sur phase solide en espace de tête
H-SPME-GC-MS/MS	Microextraction sur phase solide en espace de tête couplée à la chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à spectrométrie de masse bidimensionnelle
LOD	limite de détection
LOQ	limite de quantification
MRM	<i>Multiple Reaction Monitoring</i>
NIST	National Institute of Standards and Technology
Pba	CP sang : air
Ppa	CP plasma : air
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
Pua	CP urine : air
PBPK	modèle mathématique construit pour prédire l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion biologique de substances chimiques
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
Pwa	CP eau : air
Q/q	Ions de quantification Q et qualification q
R ²	Coefficient de détermination
SPME	Microextraction sur phase solide

IRSST ■ Développement de méthodes analytiques pour les composés organiques volatils microbiens (COVM) dans les matrices biologiques : vers l'évaluation des COVM comme biomarqueurs d'exposition aux moisissures

TD-GC-MS/MS

Désorption thermique couplée à la chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à spectrométrie de masse bidimensionnelle

UHP

Ultra High Purity

IRSST ■ Développement de méthodes analytiques pour les composés organiques volatils microbiens (COVM) dans les matrices biologiques : vers l'évaluation des COVM comme biomarqueurs d'exposition aux moisissures

INTRODUCTION

Dans la grande majorité des pays industrialisés, incluant le Québec, les gens tendent à passer plus de 90 % de leur temps à l'intérieur (United States Environmental Protection Agency [U. S. EPA], 1989). Selon l'Organisation mondiale de la Santé, un risque considérable pour la santé des personnes dans les lieux fermés serait attribué à un contrôle inadéquat de la qualité de l'air (World Health Organization [WHO], 2010) de plus, certaines études vont jusqu'à estimer que près de la moitié des symptômes serait attribuable à une mauvaise qualité de l'air intérieur (Commonwealth of Massachusetts, 1989), qui revêt ainsi une importance particulière, voire majeure, en santé et sécurité au travail (Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail [CCHST], 2016).

Les moisissures occupent une catégorie importante dans la classification des contaminants pouvant détériorer la qualité de l'air intérieur. Malgré des données déficitaires relativement à l'ampleur de la contamination fongique et l'atteinte par l'humidité des habitations et des bâtiments privés et publics au Québec, l'augmentation du nombre de demandes relatives soumises aux organismes publics porte à croire que cette problématique est en croissance (d'Halewyn *et al.*, 2002). Au Canada, le nombre de personnes prédisposées à faire une réaction à la suite d'une exposition aux moisissures est estimé à 8 % de la population (Institut canadien de conservation, 2020). L'ampleur de ces réactions ou anomalies de santé — allant de gênes modérées à des problèmes beaucoup plus sévères — est fonction entre autres de l'espèce de moisissure, des particules impliquées dans l'exposition et de la dose de celle-ci. Par ailleurs, la prévalence de ces problèmes peut s'avérer d'une grande ampleur, considérant le temps passé à l'intérieur (Brambilla et Sangiorgio, 2020). Les affections de santé impliquant les moisissures sont subdivisées en quatre groupes : immunologique (moisissures et sous-produits, p. ex. spores), irritatif (COVM), toxique et cancérigène (mycotoxines), infectieux (pathogènes fongiques) (d'Halewyn *et al.*, 2002 ; Marchand, G., 2021). Bien que cette problématique se voie complexifiée davantage par le fait que ces affections de santé puissent également être engendrées par d'autres facteurs dans les airs intérieurs, le lien de causalité est bien établi pour certains problèmes de santé (Borchers *et al.*, 2017 ; Hurraß *et al.*, 2017 ; Reboux *et al.*, 2010 ; Tischer et Heinrich, 2013).

La part des habitations présentant des moisissures visibles en Amérique du Nord a été estimée à 38 % (d'Halewyn *et al.*, 2002 ; Moularat *et al.*, 2008), indiquant la contamination probable d'une part importante de lieux professionnels. De plus, la majorité des secteurs d'activités pourraient être concernés en raison de la capacité qu'ont les moisissures de se développer sur des substrats multiples et variés (produits alimentaires, matériaux de construction, habits à base de produits animaux, etc.) (d'Halewyn *et al.*, 2002). La contamination fongique n'est pas toujours visible mais peut parfois, voire souvent, être subtilement cachée comme dans les systèmes CVCA (chauffage, ventilation,

conditionnement de l'air) qui contiennent certaines composantes propices à la croissance des moisissures (p. ex. les contenants de condensation).

La surveillance de la contamination fongique dans les lieux de travail fermés, au Québec, n'est ni suffisamment réglementée ni soutenue, ce qui réduit considérablement, voire entièrement dans certains cas, les données sur l'exposition professionnelle et le nombre de travailleurs touchés. Quelques études sur le terrain dans certains secteurs font néanmoins état de constatations sur le sujet. Par exemple, des concentrations en moisissures supérieures à celle de l'extérieur ont été mesurées dans des centres québécois de traitement des eaux usées, un domaine qui emploie plus de 4000 personnes (Lavoie *et al.*, 1997). Une augmentation des concentrations de microorganismes a également été décelée dans des centres de compostage, parmi les soixante-dizaines de lieux qui existent dans la province (Marchand, G. *et al.*, 2017).

Au Québec, 10 000 personnes travaillent dans les 1 890 bâtiments d'élevage porcins recensés et y sont quotidiennement exposées à d'importantes concentrations de bioaérosols (Girard *et al.*, 2019). Quelques 4877 fermes laitières et 111 usines de transformation du fromage (Les producteurs de lait du Québec, 2020), où les produits laitiers sont inoculés de champignons, sont également recensées. En 2001, à la suite de l'exposition à de fortes concentrations de moisissures dans une usine de fabrication de produits en bois, 3 diagnostics de pneumopathie d'hypersensibilité ont été établis (Dion *et al.*, 2008), ce qui n'est pas étonnant, comme peut le montrer une étude analysant l'air dans 17 scieries, où 1700 souches de moisissures ont été isolées (Duchaine et Mériaux, 2000). D'autre part, 39 % des classes mobiles, pour deux commissions scolaires québécoises, présentaient une contamination fongique selon l'étude de Frenette (2001). Par conséquent, les travailleurs des milieux non industriels, comme les bureaux, peuvent également être à risque lorsque par exemple les systèmes d'air conditionné sont mal conçus et/ou mal entretenus, les systèmes de ventilation contaminés ou les locaux surisolés. Des pathologies, telles que la pneumopathie d'hypersensibilité et le syndrome toxique associé aux poussières organiques (ODTS), peuvent de ce fait aussi apparaître chez cette catégorie de travailleurs (d'Halewyn *et al.*, 2002), qui comme aux États-Unis, peuvent représenter jusqu'à 70 % de l'ensemble des travailleurs (Mendell *et al.*, 2002).

L'exposition des travailleurs aux moisissures entraînerait des conséquences économiques et sociales comme l'absentéisme, l'hospitalisation, la baisse de rendement au travail, etc., voire la baisse de la qualité de vie des individus touchés, en raison de la détérioration de leur état de santé global (Mendell *et al.*, 2002 ; Mudarri, 2016). De ce fait, et puisque cette problématique concerne un grand nombre de secteurs d'activités (un nombre conséquent de travailleurs), les coûts économiques relatifs peuvent se chiffrer à des dizaines de millions, voire de milliards de dollars, comme dans les États-Unis en 2014 (Mudarri, 2016).

« La surveillance classique de la présence fongique se base sur des méthodes d'évaluation directe de la flore mycologique ou sur l'exploitation de la méthode PCR quantitative. Ces approches requièrent néanmoins le recours à une procédure minutieuse d'échantillonnage et à l'intervention de personnel hautement expérimenté. Elles exigent aussi l'accès aux lieux contaminés pendant de longues durées, à des moyens techniques coûteux, et entraînent des délais relativement longs » (El Aroussi *et al.*, 2018). De plus, ces méthodes dans la plupart des cas ne permettent pas de remédier à la problématique des moisissures cachées (p. ex. dans les contenants de condensation des systèmes CVCA).

La mesure des composés organiques volatils microbiens (COVM) libérés uniquement par les moisissures peut représenter une alternative facile d'exécution et rapide, capable de fournir un signe préalable de la contamination fongique dans un lieu de travail, voire une confirmation de celle-ci grâce au calcul de l'indice chimique de contamination fongique (ICF), sur la base de la présence ou l'absence d'une série spécifique de composés organiques volatils (Moularat *et al.*, 2012). La détection des COVM dans les matrices biologiques (sang, urine et air exhalé) des individus travaillant dans les lieux contaminés (El Aroussi *et al.*, 2018; Tabbal *et al.*, 2022a, 2022b) pourrait permettre de contourner également les inconvénients — presque les mêmes inconvénients que l'approche classique basée sur l'évaluation de la flore fongique dans l'air — de la mesure directe de ces composés dans l'air.

1. ÉTAT DES CONNAISSANCES

Parmi les contaminants pouvant détériorer la qualité de l'air intérieur, et donc constituer un risque réel pour la santé, les moisissures doivent être considérées avec un grand intérêt. En effet, en raison de leurs effets néfastes et multiples sur la santé humaine (d'Halewyn *et al.*, 2002), le lien de causalité de certaines affections a été bien établi (Borchers *et al.*, 2017 ; Hurraß *et al.*, 2017 ; Reboux *et al.*, 2010 ; Tischler et Heinrich, 2013), ces microorganismes sont généralement traqués et proscrits dans les espaces occupés (lieux industriels et non-industriels).

La présence des moisissures dans des lieux industriels comme non industriels est due à leur habilité de croître sur des substrats divers et variés (produits alimentaires, matériaux de construction, habits à base de produits animaux, etc.). Ces microorganismes produisent de ce fait une multitude de produits comprenant entre autres les glucanes, les mycotoxines, mais surtout les COVM. Outre leur nocivité, ces composés, produits lors des métabolismes primaire et secondaire des moisissures (Korpi *et al.*, 2009), possèdent une particularité bien intéressante : leurs profils d'émissions pourraient être caractéristiques de l'espèce fongique ainsi que de son stade de développement (Fiedler *et al.*, 2001 ; Hussain *et al.*, 2010 ; Lemfack *et al.*, 2018 ; Lemfack *et al.*, 2014), ce qui traduit une sorte de spécificité, pouvant être exploitée dans le cadre d'investigations de la qualité de l'air intérieur.

Actuellement l'investigation d'une contamination fongique repose principalement sur l'inspection des lieux (Huppé *et al.*, 2016). Les méthodes classiques d'évaluation de l'exposition aux moisissures dans les espaces intérieurs se concentrent principalement sur les examens visuels ou microscopiques, le comptage des spores et/ou les cultures dans des milieux spécifiques, tandis que d'autres approches émergentes utilisent la PCR quantitative (Borchers *et al.*, 2017 ; Mensah-Attipoe et Täubel, 2017 ; Shorter *et al.*, 2016). Ces méthodes souffrent du nombre d'inconvénients cités préalablement et peuvent même être inefficaces (El Aroussi *et al.*, 2018). Par exemple, une inspection destructive (p. ex. retrait d'un mur) s'avère indispensable lorsque certains symptômes se manifestent chez les travailleurs sans être en mesure de trouver les traces de la présence microbienne (moisissures dissimulées). Dans de tels cas, il serait utile d'exploiter plutôt des indicateurs (Kuske *et al.*, 2005 ; Wilkins et Larsen, 1995) qui sont capables de pénétrer et de franchir les matières poreuses présentes dans les milieux intérieurs. Étant donné leur nature gazeuse et leur spécificité précitées, les COVM peuvent se diffuser, occuper l'air intérieur et ainsi remplir ce rôle (Schleibinger *et al.*, 2008). Par ailleurs, un procédé, exploitant la présence ou l'absence d'une vingtaine de composés organiques volatils précis pour le calcul d'un indice de contamination aux moisissures, a été breveté en 2007 (Moullarat *et al.*, 2012). Toutefois, en raison des méthodes de sélection, seuls le 3-méthyl-1-butanol et

1-octen-3-ol sont en commun entre la liste exploitée dans le brevet et celle choisie comme empreinte de présence microbienne dans l'étude de El Aroussi *et al.* (2018).

Une nouvelle approche capable de contourner les problèmes potentiels liés à l'échantillonnage direct des COVM dans l'air a été suggérée (El Aroussi *et al.*, 2018). Cette approche propose l'utilisation des COVM comme biomarqueurs, c'est-à-dire des substances chimiques mesurées dans des matrices biologiques (p. ex. : la matrice sanguine et l'urine) de personnes actuellement ou ayant été préalablement exposées à ces volatils — permettant donc de détecter une exposition voire une contamination probable du milieu par les moisissures. Ces substances, pouvant être facilement absorbées par inhalation, pourraient s'accumuler dans le corps des travailleurs, c'est-à-dire dans les tissus ou les matrices biologiques des travailleurs durant leur quart de travail. Les niveaux de xénobiotiques dans le corps humain, c'est-à-dire dans les tissus et matrices biologiques, s'équilibrent en fonction de leurs propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques (Heinrich-Ramm *et al.*, 2000). Des études ont rapporté que les concentrations de COVM mesurées en milieu de travail intérieur peuvent atteindre des niveaux relativement élevés (>10 µg/m³) (Garcia-Alcega *et al.*, 2018 ; Kim, J. L. *et al.*, 2007 ; Ryan et Beaucham, 2013).

Afin d'exploiter cette approche, les données publiées dans la littérature scientifique ont été antérieurement recensées à travers une recherche exhaustive pour colliger les COVM de sources fongiques (El Aroussi *et al.*, 2018). Des 548 COVM colligés, seulement vingt composés chimiques ont été choisis (baisse de 96 %) sur la base d'un organigramme décisionnel constitué de cinq niveaux de discrimination, comprenant l'intérêt pour la santé des espèces de moisissures, l'occurrence d'émission ainsi que les paramètres physicochimiques et pharmacocinétiques (El Aroussi *et al.*, 2018). Les COVM ciblés sont : acétate d'éthyle, 2-butanone, chalcogran, cyclohexanone, cyclopentanone, décanal, hexanoate de pentyle, hexan-4-olide, 3-méthyl-1-butanol, 2-nonanone, 3-nonen-1-ol, 2-octanol, 3-pentanol, 1-penten-3-ol, 2-penten-1-ol, 1-octanol, 1-propanol, 2-pentanol, 2-pentanone, 6-undécanone. Dans cette liste, certains COVM ont été choisis en tenant également compte de l'absence de sources émettrices non microbiennes connues, dans le but de mettre en exergue la spécificité des associations « COVM – moisissures ». Cette spécificité a été abordée dans plusieurs travaux, comme dans l'étude de Zhang *et al.* qui ont pu observer un profil d'émission de COVM spécifique pour une souche d'*Aspergillus carbonarius* (Zhang *et al.*, 2017). Par ailleurs, à la suite d'une analyse critique des données relatives aux COVM (Lemfack *et al.*, 2014), des chercheurs ont rapporté des associations plus spécifiques entre moisissures et COVM émis (Garcia-Alcega *et al.*, 2017).

L'accumulation sanguine de certains ou de tous ces 20 composés lors d'un quart de travail pourrait indiquer la présence de moisissures dans les lieux professionnels et les niveaux mesurés seraient aussi un indicateur de l'ampleur de celle-ci, aboutissant ainsi à

une inspection plus approfondie des lieux. Lorsque l'affinité d'un COVM donné est plus grande pour le sang que pour l'air (c'est-à-dire, lorsque son coefficient de partage sang:air $P_{ba} > 1$), l'exposition humaine à l'air pendant une durée suffisante à une concentration donnée de ce composé augmente son taux sanguin jusqu'à atteindre un état d'équilibre où sa concentration va être équivalente à P_{ba} multiplié par la concentration dans l'air ambiant inspiré. Ainsi, l'absorption par inhalation augmentera proportionnellement au P_{ba} . Tous ces 20 COVM possèdent un $P_{ba} \geq 100$. Il s'agit toutefois de valeurs estimées et non pas expérimentales (El Aroussi *et al.*, 2018). Les coefficients de partage sang:air, plasma:air et urine:air peuvent fournir des informations sur l'absorption, la distribution et l'élimination des produits chimiques dans le corps, et donc sur le choix de la matrice biologique à privilégier (Heinrich-Ramm *et al.*, 2000). À ces 20 composés sélectionnés, deux autres composés ont été ajoutés, pour leur occurrence élevée dans les études sur les associations COVM/moisissures (El Aroussi *et al.*, 2018), et pour le fait qu'ils appartiennent à une liste d'indicateurs potentiels de la contamination fongique (Schleibinger *et al.*, 2008) : 3-octanone et 1-octen-3-ol. Certains de ces produits chimiques ont été étudiés et rapportés dans les matrices biologiques (Drabińska *et al.*, 2021), mais jusqu'à présent les 22 COVM sélectionnés n'ont jamais été quantifiés simultanément par la même méthode dans le sang humain, l'urine ou l'air. Récemment, Wazeerud-Din *et al.* (2021) ont optimisé une méthode pour l'analyse de sept composés volatils (comprenant le 3-octanone et le 1-octen-3-ol) dans le sérum humain, mais aucune mesure réelle chez l'homme n'a été présentée jusqu'à présent.

Les matrices biologiques envisagées pour la présente approche comprennent le sang, l'urine et l'air expiré. L'investigation du cas de la matrice sanguine a permis de connaître l'exposition aux composés organiques volatils (COV) en conditions réelles dans la population générale (Aranda-Rodriguez *et al.*, 2015 ; Blount *et al.*, 2006 ; Lemire *et al.*, 2004) et chez les travailleurs (Maule *et al.*, 2016 ; Romieu *et al.*, 1999). À noter que les concentrations mesurées dans cette matrice, ayant le désavantage de nécessiter un prélèvement invasif, tendent à être considérablement corrélées avec la cinétique d'élimination correspondant à chaque COV particulier (Janasik *et al.*, 2010). Les métabolites des COVM dans l'urine peuvent être exploités pour évaluer l'exposition aux composés parents au moyen d'une modélisation toxicocinétique (Marchand *et al.*, 2016). Cependant, certains chercheurs considèrent la mesure des composés volatils urinaires parents non métabolisés comme une approche plus fiable (Antonucci *et al.*, 2016 ; Hakkola *et al.*, 2001 ; Imbriani et Ghittori, 2005 ; Janasik *et al.*, 2010 ; Saarinen *et al.*, 1998 ; Vainiotalo *et al.*, 2006 ; Vainiotalo *et al.*, 1998), car de cette façon sont évitées les interférences provenant des processus physiologiques naturels ou de la digestion des additifs alimentaires qui peuvent affecter la spécificité ou la sensibilité de la mesure des biomarqueurs urinaires (Janasik *et al.*, 2010). De plus, l'urine est considérée comme une matrice non invasive, du moins physiquement (Kim, J. H. *et al.*, 2011). Lorsque la détection des COV est effectuée dans l'air expiré (Amann *et al.*, 2014 ; Cao et Duan, 2006 ; Caro et Gallego, 2009 ; Castellanos *et al.*, 2016 ; Storer *et al.*, 2015 ; Tang *et al.*,

2015) ou dans la salive — cette dernière matrice pourrait être envisagée dans des études ultérieures — (Amann *et al.*, 2014 ; Milanowski *et al.*, 2017) il faut pouvoir différencier la source exogène d'un COV particulier de sa source endogène (Cao et Duan, 2006 ; Pleil *et al.*, 2013 ; Tang *et al.*, 2015). De plus, la matrice de l'air expiré souffre de deux inconvénients majeurs : (i) l'absence de procédures standardisées et (ii) la forte teneur en eau contenue dans la matrice (Cao et Duan, 2006 ; Tang *et al.*, 2015).

La mesure des substances volatiles dans l'air intérieur et dans les matrices biologiques a été réalisée dans de multiples études, en suivant des protocoles relativement simples (Antonucci *et al.*, 2016; de Sousa Mesquita *et al.*, 2020; Garcia-Alcega *et al.*, 2017; Kim, K.-H. *et al.*, 2012; Maule *et al.*, 2016; Mochalski *et al.*, 2013; Monedeiro *et al.*, 2019; Song *et al.*, 2017; Töreyn *et al.*, 2020). Pour la plupart, ils utilisent la technique, communément répandue et utilisée, de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) pour la séparation/détection des composés chimiques. L'argument de ce choix repose sur le fait que cette technique est très spécifique, sensible, et permet d'obtenir des résultats dans des délais courts et à un coût relativement faible (Garcia-Alcega *et al.*, 2017). Les méthodes d'analyses par GC-MS permettent généralement d'analyser plusieurs analytes par échantillon et cela devrait être privilégié dans une approche destinée à associer la présence de COVM dans les fluides corporels des travailleurs à celle des moisissures en milieu de travail. Plus le nombre, la spécificité et les concentrations des COVM dans les matrices biologiques sont importants, plus la confiance en la présence fongique sera importante.

L'extraction des composés volatils à partir des matrices biologiques (sang, urine et salive) est le plus souvent réalisée au moyen de la microextraction en phase solide en espace de tête (H-SPME). La méthode est efficace et sensible comme le montrent de nombreuses études, y compris pour l'extraction d'un nombre de nos COVM cibles (Antonucci *et al.*, 2016 ; de Sousa Mesquita *et al.*, 2020 ; Kim, K.-H. *et al.*, 2012 ; Maule *et al.*, 2016 ; Mochalski *et al.*, 2013 ; Monedeiro *et al.*, 2019 ; Song *et al.*, 2017 ; Töreyn *et al.*, 2020). Bien que bon nombre de ces COVM aient été étudiés séparément, nous pensons qu'il serait possible de les combiner dans une seule méthode analytique basée à la fois sur la H-SPME et GC-MS. L'extraction des COVM se fait sur une fibre par introduction dans l'espace de tête de la matrice. Le choix de la fibre et de son revêtement est crucial pour obtenir une extraction efficace. La sélection de la fibre repose sur la polarité et le poids moléculaire des composés (Schmidt et Podmore, 2015). La technique H-SPME ne nécessite aucune étape de préparation avant l'injection/analyse dans le chromatographe gazeux, et permet de réduire considérablement l'injection de composés indésirables et moins volatils, ce qui rend la technique plus propre pour l'instrument d'analyse par rapport aux autres méthodes d'injection (Schmidt et Podmore, 2015). Il faut toutefois garder à l'esprit que certains COV pourraient être délogés de la fibre (effet de déplacement) lorsque notamment les concentrations de certains composés sont trop élevées par rapport

à d'autres (Hernandes *et al.*, 2019 ; Risticovic et Pawliszyn, 2013 ; Schmidt et Podmore, 2015).

L'extraction des COVM aériens (air ambiant ou exhalé) peut être réalisée à l'aide de méthodes utilisant du charbon actif, des tubes de désorption thermique, des nez électroniques, des impacteurs, des cyclones ou des canisters (Garcia-Alcega *et al.*, 2017 ; Lawal *et al.*, 2017). Néanmoins, grâce à ses avantages, la technique qui se base sur la collecte avec des tubes de désorption thermique est généralement la technique de choix. Les tubes adsorbants sont réutilisables, faciles à conditionner, transporter et stocker (Schieweck *et al.*, 2018). Outre sa rapidité et sa grande sensibilité, cette méthode permet de supprimer l'étape préalable de préparation de l'échantillon (Garcia-Alcega *et al.*, 2017), permettant ainsi la détection des composés par désorption directe dans le GC-MS (Kozicki *et al.*, 2019). En effet, après l'adsorption des COV dans les tubes, leur transfert vers le chromatographe gazeux pour analyse se fait simplement au moyen d'un instrument de désorption thermique, une technique grandement répandue actuellement. Dépendamment des propriétés des COV cibles (polarité, volatilité, masse moléculaire, etc.) et conditions d'échantillonnage (p. ex. humidité), les phases adsorbantes couramment proposées par les fabricants et utilisées dans ces tubes peuvent comprendre les polymères (p. ex. : Tenax TA, Chromosorb 102), le charbon actif (p. ex. Anasorb R 747), les noirs de carbone de type graphite (p. ex. : Carbograph, Carbopack B) ou une combinaison de ces différentes phases permettant ainsi de piéger une gamme considérable de volatils.

2. OBJECTIF DE RECHERCHE

L'objectif global de la présente recherche est de démontrer la validité d'un groupe de 22 COVM, incluant les COVM précédemment ciblées selon leur potentiel de biosurveillance lors d'une étude antérieure (El Aroussi *et al.*, 2018), comme biomarqueurs de contamination et d'exposition fongique des lieux. Être capable de déterminer les niveaux de ces COVM dans les matrices biologiques et dans l'air ambiant est essentiel pour la mesure des coefficients de partage entre les différentes matrices biologiques et l'air, et pour le développement de modèles PBPK, servant à choisir la matrice biologique la plus appropriée pour l'application de la nouvelle approche de biosurveillance. La démarche de la présente étude, dont les résultats seront exploités dans un projet ultérieur dans le but de démontrer expérimentalement sur le terrain la validité de la nouvelle approche, consistait en :

1. Le développement de méthodes de chromatographie gazeuse couplées à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS), avec extraction par (i) H-SPME (sang et urine) et (ii) tube de désorption thermique (air ambiant et exhalé), pour l'analyse simultanée des 21 COVM inchangés (parents).
2. La validation de ces méthodes en termes de sélectivité, linéarité, limite de détection (LOD), limite de quantification (LOQ), exactitude, précision et effet de matrice.
3. La mesure des coefficients de partage sang:air (P_{ba}), plasma:air (P_{pa}) et urine:air (P_{ua}) pour ces COVM.

3. MÉTHODOLOGIE

Afin d'atteindre les objectifs fixés, la méthodologie a été subdivisée en plusieurs étapes secondaires : (i) l'identification et séparation analytiques des 22 COVM présents simultanément à l'aide du GC-MS/MS ; (ii) l'optimisation de l'extraction par H-SPME (sang et urine) et à l'aide des tubes de désorption thermique (air ambiant et exhalé) ; (iii) la validation des méthodes analytiques ; (iv) la mesure des coefficients de partages.

3.1 Identification massique et séparation chromatographique

L'identification massique des composés a été réalisée en effectuant des injections de solutions standards, contenant les 22 COVM dans le méthanol, dichlorométhane ou acétonitrile, à des concentrations de 15-20 mg/L, dans un chromatographe gazeux (GC Agilent série 7890A) couplé à un spectromètre de masse en tandem (QQQ 7000 triple quadripôle ; Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) muni d'un injecteur automatique CTC-CombiPal (CTC, Suisse), situé au Pavillon Roger-Gaudry de l'Université de Montréal dans le laboratoire du Dr Haddad. Les solutions injectées ont été préparées à partir de produits de pureté allant de 95 à 99,9 %, achetées chez différents fournisseurs selon leur disponibilité. La présence de ces composés a été confirmée qualitativement, en comparant le temps de rétention chromatographique de chaque analyte et le rapport entre les deux transitions de qualification et de quantification (ion précurseur → ions produits Q/q) qui doivent être en accord avec les mêmes paramètres correspondant aux composés injectés individuellement et dont les transitions Q/q (mode MRM) avaient été optimisées préalablement (Tabbal *et al.*, 2022a). Une vérification à l'aide de la librairie de spectres de masse NIST a également été effectuée.

L'étape de séparation chromatographique dans un système GC-MS/MS s'effectue au niveau de la colonne capillaire dont les caractéristiques dépendent des propriétés des composés. Pour achever une résolution adéquate, les paramètres du chromatographe gazeux (température d'injection, débit du gaz porteur, mode d'injection [*split/splitless*], programme de température du four, etc.) ont été optimisés pour deux colonnes, généralement employées pour des composés polaires à moyennement polaires : DB-624 (60 m × 0,32 mm, épaisseur de film 1,8 µm) et DB-wax (30 m × 0,32 mm, 0,5 µm d'épaisseur de film). La colonne qui a permis de fournir la meilleure résolution des pics ainsi que le temps d'analyse le plus court a été choisie (Tabbal *et al.*, 2022a).

3.2 Optimisation de l'extraction par H-SPME

L'extraction des COVM des matrices sanguine et urinaire au moyen de la H-SPME est une étape préalable à l'injection dans le GC-MS/MS pour analyse. L'optimisation de cette extraction se fait en choisissant un type de fibre, puis en variant un nombre de paramètres : volume d'échantillon, son acidité, sa salinité, temps et température

d'incubation de l'échantillon, temps d'extraction, temps de désorption et température d'injection dans le GC-MS/MS (Tabbal *et al.*, 2022a). Pour favoriser le passage des COVM dans l'espace de tête du liquide, l'addition de sel s'avère essentielle. Celui-ci modifie la force ionique, ce qui diminue la solubilité principalement des composés relativement hydrophobes (Schmidt et Podmore, 2015). Le but de l'optimisation est d'obtenir des pics bien résolus avec une bonne sensibilité (surface/hauteur de pic la plus élevée possible).

Pour nos COVM l'optimisation a premièrement été réalisée pour des échantillons préparés dans l'eau pure avant d'appliquer les paramètres obtenus aux échantillons sanguins et urinaires, en optimisant davantage si nécessaire. Les échantillons ont été préparés comme suit. Un flacon en verre de 20 mL a été additionné d'un volume de matrice (eau, sang ou urine) et une quantité de sel avant d'être fermé hermétiquement avec un septum et agité pendant 10 min à 50 °C. À noter que pour économiser sur la consommation de sang, un mélange de 0,5 mL de ce dernier avec 2,5 mL d'eau a été préparé et utilisé à la place de la matrice biologique seule. Vient ensuite l'étape d'addition de 30 µL d'une solution dans l'acétonitrile contenant les COVM (ou d'acétonitrile pur dans le cas des blancs), à travers le septum du bouchon à l'aide d'une seringue, pour assurer une concentration finale de 35 à 40 µg/L dans l'échantillon à extraire.

L'optimisation a été conduite en ne variant qu'un paramètre à la fois (Tabbal *et al.*, 2022a). L'ensemble des paramètres testés est résumé dans le tableau qui suit (Tableau 1).

Tableau 1 Paramètres optimisés pour l'extraction au moyen de la H-SPME

Paramètre	Éléments testés
Volume d'échantillon (mL)	3, 12
Type de sel	NaCl, KCl, K ₂ CO ₃
Quantité de sel (g)	3, 5, 7
Types de fibre	50/30 µm DVB/CAR/PDMS; 85 µm CAR/PDMS ; 75 µm CAR/PDMS ; 65 µm PDMS/DVB
Temps d'incubation (s)	10, 120, 300, 600, 900
Température d'incubation (°C)	37, 50, 60, 70
Temps d'extraction (s)	250, 600, 900, 1200
Temps de désorption (s)	10, 20, 30, 60, 120
Température de désorption (°C)	240, 250, 260, 270

3.3 Optimisation de l'extraction au moyen des tubes de désorption thermique (TD)

Dans cette méthode, l'extraction des COVM aériens (air ambiant et exhalé) se fait en prélevant un échantillon d'air à travers un tube contenant un matériau adsorbant capable de retenir les composés d'intérêt. Cette opération n'est pas de toute banalité et il faut

évidemment tenir compte de deux choses : (i) la compatibilité de la phase adsorbante avec la nature des composés ciblés et (ii) le volume maximal d'échantillon aérien qu'il est possible de passer à travers le tube sans causer de claquage (déplacement des composés vers la sortie du tube). Le but étant de maximiser la sensibilité en maximisant le volume d'échantillon.

Les trois types de tubes testés dans cette étude comprennent deux types contenant une seule phase, Tenax TA (35/60 mesh), Tenax TA (60/80 mesh) (Markes International, Llantrisant, UK), et un troisième type contenant une combinaison de deux phases, Tenax TA/Carbograph 1 TD (Agilent Technologies, Mississauga, Canada). Afin de déterminer le volume de claquage deux tubes adsorbants, préalablement conditionnés à 250 °C pendant 1 h en passant de l'azote (de pureté UHP) à 80 mL/min, ont été connectés en série avec un raccord Swagelok contenant des joints en PTFE. Puis, à l'aide d'une seringue, un volume de 1 µL d'une solution dans le méthanol contenant les COVM (solution de dopage) a été introduit dans le premier tube en passant des volumes différents d'azote à des débits différents, au moyen d'une unité d'introduction (« Calibration Solution Loading Rig » [CSLR] [Markes International, Llantrisant, UK]). Pour évaluer l'effet sur le claquage de la quantité de composés introduite, deux solutions de dopage de faibles et hautes concentrations ont été testées : (i) 40-50 mg/L et (ii) 800-1000 mg/L. Quant aux débits et volumes d'azote, ont été testés : (i) 50 mL/min, 2 L ; (ii) 50 mL/min, 3 L ; (iii) 100 mL/min, 2 L ; (iv) 100 mL/min, 3 L ; (v) 100 mL/min, 6 L ; (vi) 100 mL/min, 10 L ; (vii) 150 mL/min, 3 L ; (viii) 150 mL/min, 6 L ; (ix) 150 mL/min, 10 L pour le cas de la solution à faibles concentrations et (i) 50 mL/min, 3 L ; (ii) 100 mL/min, 3 L ; (iii) 150 mL/min, 3 L ; (iv) 150 mL/min, 10 L pour le cas de la solution à hautes concentrations.

Ces tubes sont par la suite désorbés au moyen d'un désorbiteur thermique automatique (TD100-xr, Markes International, Llantrisant, UK) qui permet d'introduire les COVM dans le GC-MS/MS pour analyse. Un pourcentage de la réponse dans le tube deux (de rattrapage/recouvrement) par rapport à la somme des réponses dans les deux tubes inférieurs à 5 % garantit l'absence de claquage au volume d'échantillonnage testé (U. S. EPA, 1999).

Une fois dans le désorbiteur thermique automatique, les tubes sont d'abord prépurés pendant 3 min (He [UHP] à 20 mL/min) pour se débarrasser des traces d'eau piégées avec les COVM. Puis, une première désorption à 250 °C pendant 3 min (He à 20 mL/min sans application de *split* de flux) concentre les COVM dans une *trap* composée de carbone graphitisé. Cette dernière est ensuite purgée pendant 1 min à 40 °C à 20 mL/min d'He avant d'être rapidement chauffée à 320 °C (puis maintenue pendant 3 min) à 100 °C/s pour permettre l'injection des analytes dans la colonne du GC-MS/MS avec un *split* de 20 ml/min.

Afin d'étudier l'air expiré, des sacs Tedlar sont remplis d'air en l'y soufflant, puis un volume de 3 L de chaque sac est transféré dans un deuxième sac, à l'aide d'une pompe de prélèvement. Ce volume a été ensuite dopé avec 1 µL d'une solution contenant les COVM et agité pour homogénéiser les analytes dans le sac, avant de transférer le contenu du sac dans un tube adsorbant au moyen de la pompe de prélèvement en appliquant un débit de 150 mL/min pendant 20 minutes.

3.4 Validation analytique des méthodes

Après l'optimisation de la séparation chromatographique et l'extraction des COVM, les deux méthodes (H-SPME-GC-MS/MS et TD-GC-MS/MS) ont été validées en termes de sélectivité, linéarité, limites de détection (LOD), limites de quantification (LOQ), exactitude et précision et effet de matrice, le cas échéant (Tabbal *et al.*, 2022a).

La sélectivité a été évaluée en évaluant la présence d'interférence dans les matrices étudiées tout en confirmant l'identité d'analytes en faisant une vérification à l'aide de la librairie de spectres de masse NIST, puis en confirmant l'exactitude du temps de rétention et des deux transitions de qualification et de quantification (ion précurseur → ions produits Q/q), déterminées expérimentalement.

Des courbes de calibration interne avec au moins cinq niveaux de solutions standards, en triplicata pour chaque COVM, ont été construites pour évaluer la linéarité. Les échantillons de calibration ont été préparés comme préalablement décrit pour l'extraction des COVM (sections 3.2 et 3.3), et additionnés d'une solution contenant quatre standards internes deutérés avant l'analyse : nonan-2-one-d5, pentan-2-one-d5, octan-1-ol-d17 et 3-methylbutan-1-ol-d4. Pour chaque analyte, c'est le standard interne offrant la meilleure linéarité parmi les quatre qui a été considéré (Tabbal *et al.*, 2022a).

La linéarité était acceptable lorsque les coefficients de détermination (R^2) correspondant aux courbes et l'exactitude de la courbe de calibration, déterminée en calculant le rapport entre les réponses obtenues par la courbe d'étalonnage et les valeurs réelles des concentrations correspondant au niveau de calibration, étaient en adéquation avec les valeurs communément acceptées >0,995 et 80-120 %, respectivement).

L'exactitude de la méthode a été examinée au moyen du pourcentage de récupération (rapport entre la réponse obtenue par la courbe d'étalonnage et les valeurs réelles pour des standards préparés indépendamment de ceux utilisés pour la courbe de calibration) pour différents niveaux de concentration : (faible à élevé, soit environ 0,097, 0,38, 6 et 24 ng par tube [TD] ; 14, 55, 110, 440 ng/L pour le groupe 1 des COVM [H-SPME] et 140, 550, 1100, 4400 ng/L pour le groupe 2 [H-SPME]). Le critère d'acceptation typique pour les mesures de récupération impose un pourcentage qui se situe entre 80-120 % (ICH, 2005).

La précision a été déterminée en termes de répétabilité (précision intrajournalière) et de précision intermédiaire (précision interjournalière pour des semaines différentes) pour des niveaux de concentration faibles et élevés en triplicata en calculant le coefficient de variation (CV %) à chaque niveau, comme le pourcentage de la concentration moyenne par rapport à l'écart type des triplicatas (Tabbal *et al.*, 2022a).

La LOD et LOQ ont été déterminées pour chaque COVM en divisant par la pente de la courbe le produit de l'écart type de l'ordonnée à l'origine de la courbe d'étalonnage par 3,3 et 10 respectivement (Konieczka et Namieśnik, 2018).

L'effet de matrice a été évalué pour chaque analyte comme le pourcentage du signal correspondant à la matrice enrichie par rapport au signal obtenu pour le solvant (H-SPME) à la même concentration (EM %) (Rogatsky et Stein, 2005). L'effet de matrice est important pour évaluer la présence d'interférences ou d'une élution simultanée, pouvant affecter la quantification de la méthode suppression ou amélioration du signal. Un EM % inférieur à 100 % indique une suppression du signal. Un EM % supérieur à 100 % indique une amplification du signal.

3.5 Mesure des coefficients de partages

Les coefficients de partages dans l'eau, urine, sang et plasma ont été déterminés à l'aide d'une méthode GC-MS/MS en espace de tête, où l'injection des COVM dans le chromatographe gazeux se fait en prélevant, au moyen d'une seringue de 2,5 mL (Agilent CrossLab, Australia) pilotée par l'injecteur automatique CTC-CombiPal, une portion de la phase gazeuse située au-dessus de l'échantillon contenu dans un flacon de 20 mL fermé hermétiquement. La méthode développée par Gargas *et al.* (Gargas *et al.*, 1989) a été suivie, mais en introduisant les COVM dans les flacons d'équilibre sous forme de solution dans le méthanol (Batterman *et al.*, 2002) plutôt qu'en phase gazeuse.

Avant de prélever et injecter les COVM dans le chromatographe, les flacons de test ont été chargés avec la matrice (0,5 mL d'eau, urine, sang ou plasma) et 2 µL d'une solution de COVM dans le méthanol (correspondant à 1,5 - 2,01 µg de COVM). Ils ont ensuite été incubés à 37 °C (température corporelle) pendant 1 heure (durée jugée suffisante pour atteindre l'équilibre à la suite de tests préliminaires) en agitant à 300 tours/min pour permettre aux composés volatils de s'équilibrer entre la phase liquide et son espace de tête. Pour chaque flacon contenant la matrice, un flacon sans la matrice (seulement les 2 µL de la solution de COVM) a été également préparé pour servir de référence. Après optimisation, un volume de 500 µL pris de l'espace de tête de chacun des flacons, à l'aide de la seringue opérée à 41 °C, est ensuite injecté dans le chromatographe pour analyse selon les paramètres préalablement optimisés, comme décrit dans la section 3.1 (Tabbal *et al.*, 2022a), à la différence que le *split* et la température d'injection ont été réduits à 1 h 20 et 230 °C, respectivement.

Les coefficients de partage entre matrices et air ont été calculés à l'aide de l'équation (1) de Gargas et al (1989), où P_{ma} est le coefficient de partage entre matrice liquide (eau, urine, sang ou plasma) et air, C_{ref} correspond à la concentration de COVM dans la phase gazeuse du flacon de référence de volume V , C_{tot} correspond à la concentration de COVM dans la phase gazeuse du flacon de test, V_{flacon} égale le volume total du flacon vide (20 ml) et V_t égale le volume de la matrice liquide (0,5 ml).

$$P_{ma} = \frac{C_{ref} V_{flacon} - C_{tot} (V_{flacon} - V_t)}{C_{tot} V_t} \quad (1)$$

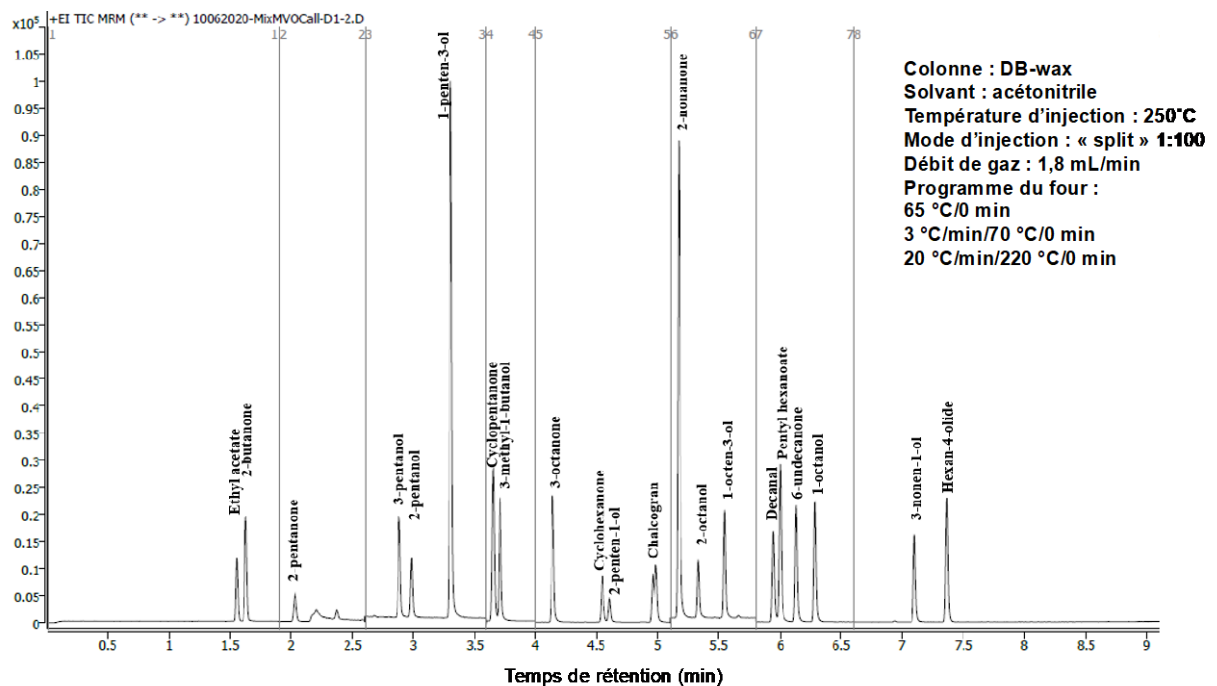
4. RÉSULTATS ET DISCUSSION

4.1 Séparation chromatographique et choix de la colonne capillaire

Les deux colonnes testées DB-624 (mi-polaire) et DB-wax (hautement polaire), fréquemment utilisées pour la séparation des COV (Beck *et al.*, 2008 ; Rux *et al.*, 2019 ; Schieweck *et al.*, 2018), ont permis initialement une résolution satisfaisante de 21 COVM, avec un avantage pour la DB-wax en raison de deux points : (i) sa plus grande polarité qui lui confère une plus grande affinité pour nos COVM, relativement polaires (Harvey, 2016) et (ii) sa plus courte longueur, permettant de considérablement réduire le temps d'analyse par rapport à la DB-624. Il est connu que le choix du solvant d'injection dans le chromatographe gazeux a un effet sur la résolution des pics, et que sa polarité doit être modulée en fonction de celle des composés et de la phase stationnaire. Dans notre cas, deux des composés (éthyle acétate et butan-2-one) qui n'ont pas pu être séparés ni en effectuant des injections dans le méthanol (Figure A 1) ni dans le dichlorométhane ont pu l'être finalement dans l'acétonitrile (Figure 1).

Figure 1 Chromatogramme en mode MRM pour les 21 COVM ciblés.

De A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, page 5. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.



IRSST ■ Développement de méthodes analytiques pour les composés organiques volatils microbiens (COVM) dans les matrices biologiques : vers l'évaluation des COVM comme biomarqueurs d'exposition aux moisissures

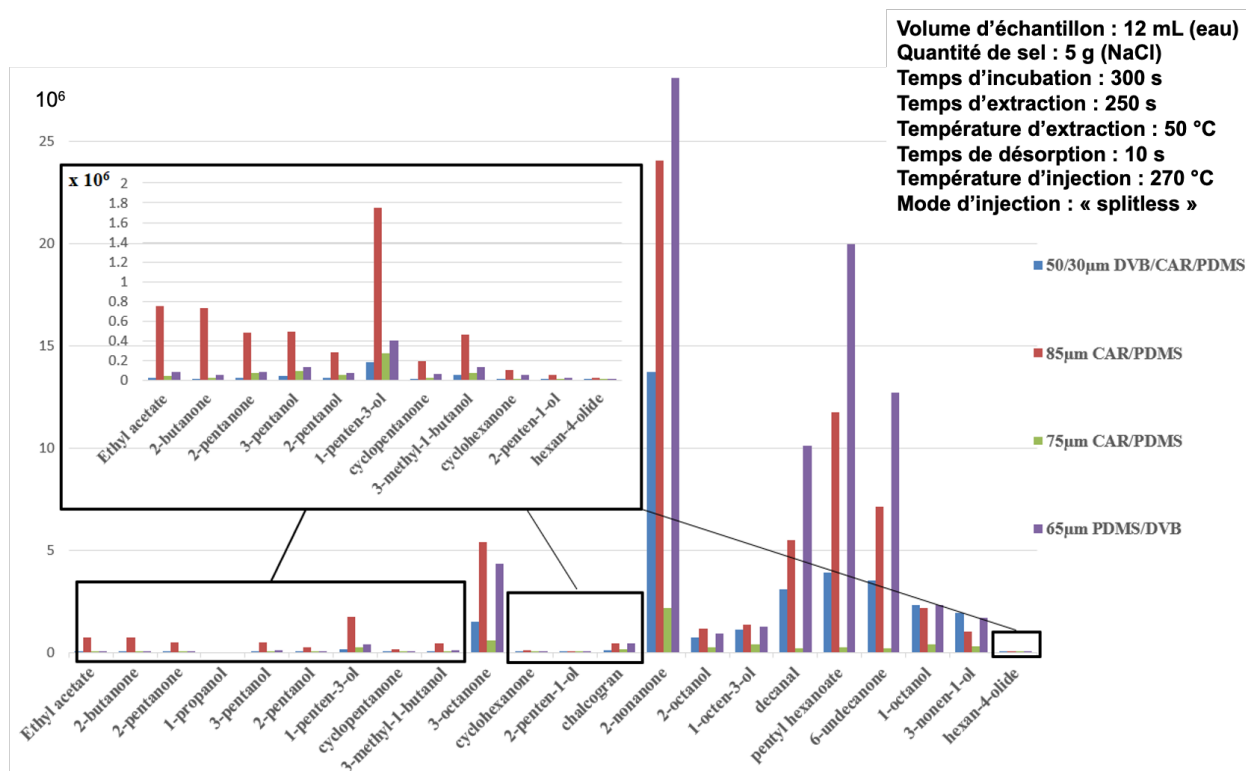
La Figure 1 montre des pics avec une résolution satisfaisante, correspondant à 21 COVM cibles, identifiés comme indiqué auparavant, et résume les paramètres optimisés du chromatographe gazeux (température d'injection, débit du gaz porteur, mode d'injection [*split/splitless*], programme de température du four, etc.). Le 1-propanol, étant le 22^e COVM, n'a pu être détecté dans ces conditions et a été abandonné pour faciliter l'avancement de l'optimisation. Dans le chromatogramme, le pic du 2-éthyl-1, 6-dioxaspiro [4,4] nonane (Chalcogran) apparaît comme 2 pics incomplètement résolus ce qui est attribué à la présence de ce composé sous forme d'un mélange de deux stéréoisomères (E et Z) (Gunnar et Bergström, 2008).

4.2 Résultats de l'optimisation de l'extraction par H-SPME

Une recherche de la littérature scientifique a permis de révéler le potentiel de quatre fibres, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS ; 85 µm CAR/PDMS ; 75 µm CAR/PDMS ; 65 µm PDMS/DVB, pour l'extraction de nos COVM. Ces fibres, contenant divers matériaux de revêtement, pour pouvoir extraire des composés avec une grande gamme de polarité (voire des substances non polaires : PDMS), ont été étudiées et montré une importante capacité d'extraction simultanée des 21 composés (Figure 2). Toutefois, contrairement aux résultats obtenus en faisant des injections liquides (Figure 1), deux groupes de COVM se distinguent l'un de l'autre par une différence notable d'intensité : groupe 1 (hautes intensités) composé de l'octan-3-one, nonan-2-one, octan-2-ol, oct-1-en-3-ol, décanal, hexanoate de pentyle, undecan-6-one, octan-1-ol, non-3-en-1-ol ; groupe 2 (basses intensités) composé de l'acétate d'éthyle, butan-2-one, pentan-2-one, pentan-3-ol, pentan-2-ol, pent-1-en-3-ol, cyclopentanone, 3-méthylbutan-1-ol, cyclohexanone, pent-2-en-1-ol, 2-éthyl-1, 6-dioxaspiro [4,4] nonane, 5-éthylloxolan-2-one. Cette discrimination pourrait être le résultat d'une compétition pour l'adsorption sur la fibre (Roberts *et al.*, 2000). La Figure 2 présente le profil d'extraction des 21 COVM en fonction du type de fibre. Bien que la fibre 85 µm CAR/PDMS exhibe une sensibilité globale intéressante, l'analyse de près des signaux révèle la présence de pics asymétriques et élargis (Figure A 2), une anomalie déjà observée dans le passé pour cette fibre (Roberts *et al.*, 2000). Ainsi, en se basant sur la sensibilité de la fibre et la symétrie des pics, il en résulte une préférence pour la fibre 65 µm PDMS/DVB (Tabbal *et al.*, 2022a), qui a été choisie pour continuer le développement de la méthode.

Figure 2 Capacité d'extraction des différentes fibres SPME pour les 21 COVM (35-40 µg/L).

De A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, page 6. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.



Après la sélection de la fibre SPME, l'étape suivante consiste à étudier et choisir les paramètres d'extraction optimaux, en ne variant qu'un paramètre à la fois de sorte à obtenir la plus grande sensibilité et une forme adéquate des signaux. Ces paramètres peuvent être classés dans trois catégories : les paramètres liés à (i) l'extraction elle-même (temps et température d'incubation de l'échantillon, temps d'extraction), (ii) la désorption (temps de désorption et température d'injection dans le GC-MS/MS) et (iii) l'échantillon/matrice (volume de l'échantillon et son acidité, sel additionné, etc.).

En variant le temps d'incubation (Tableau 1), les signaux montrent des résultats légèrement meilleurs pour 300 s pour la majorité de COVM (Figure A 3), à l'exception de 5 analytes du groupe 1 (nonan-2-one, hexanoate de pentyle, undécane-6-one, décanal et octan-3-one) qui expérimentent une baisse conséquente. Néanmoins, ce temps a été choisi pour poursuivre l'optimisation, étant donné que les COVM du groupe 2 y dévoilent leur meilleur résultat (bien que cela soit pour seulement deux des COVM), ce qui permet d'équilibrer légèrement les intensités entre les deux groupes de composés. Similairement,

dans le cas de la température d'incubation, 50 °C permet au groupe 2 de produire de meilleures intensités (Figure A 4). Il faut garder à l'esprit, lorsqu'un grand nombre de composés est extrait par H-SPME, qu'une augmentation suffisante de la température peut provoquer une compétition entre les molécules pour l'adsorption sur la fibre et que même le solvant (l'eau dans les matrices ici) peut déloger les composés d'intérêt (Antonucci *et al.*, 2016), entraînant ainsi une diminution de la sensibilité, puisque l'équilibre pourrait être atteint plus rapidement alors que la quantité de composés extraite serait plus faible (Risticovic *et al.*, 2010 ; Schmidt et Podmore, 2015). Le temps d'extraction sélectionné est 600 s, qui offre le meilleur compromis entre (i) l'intensité des signaux (Figure A 5) — qui ne semble exhiber qu'une légère variation au-delà de cette valeur pour la plupart des COVM, (ii) le risque de surcharger la fibre et (iii) le temps total d'analyse. Dans une étude, deux de nos composés (3-octanone et 1-octen-3-ol) ont également été extraits en sélectionnant ce même temps (Wazeerud-Din *et al.*, 2021).

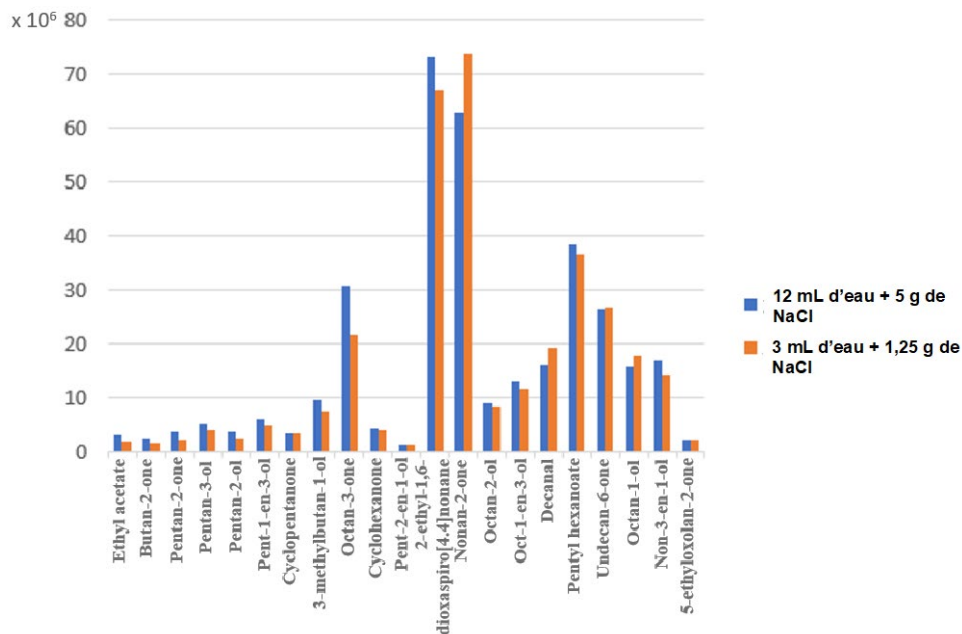
En examinant l'évolution de l'intensité des signaux en fonction du temps de désorption dans l'injecteur du chromatographe gazeux, il a été constaté que pour la majorité des COVM l'intensité expérimentait une variation très minime, voire plutôt une baisse notable en augmentant la durée dans l'injecteur (Figure A 6). Trois des composés du groupe 2 (pentan-2-one, pentan-3-ol, pent-1-en-3-ol) ont néanmoins montré une légère augmentation relative de l'intensité à 30 s. Comme il a été rapporté dans l'étude d'Antonucci *et al.* (2016), l'augmentation de la durée de désorption peut induire à une perte de résolution des pics, ce qui est également le cas ici en passant de 10 à 30 s. Étant donné qu'aucun gain significatif d'intensité n'avait été observé entre ces deux temps, la durée de 10 s a été choisie sur la base de la résolution des signaux. L'exposition de la fibre dans l'injecteur à des températures de désorption allant de 240 à 270 °C (de sorte à ne pas dépasser la température recommandée par le fabricant) permet de conclure à une variation non significative de l'intensité des signaux pour la majorité des COVM et notamment pour ceux du groupe 2 (Figure A 7). Seules quatre substances du groupe 1 ont exhibé une augmentation notable de leurs signaux à 260 °C. Cependant, certains signaux subissent un élargissement (p. ex. nonan-2-one) à cette température par rapport à 270 °C (Figure A 8). Ceci est synonyme probablement d'une vitesse de désorption insuffisante (Lord et Pawliszyn, 2000 ; Risticovic *et al.*, 2010), et par conséquent, la température maximale étudiée (270 °C) a été sélectionnée pour la suite de l'optimisation.

Le passage des COVM dans l'espace de tête du liquide est favorisé au moyen de l'addition de sel. Si celui-ci peut principalement diminuer la solubilité des composés relativement hydrophobes (Schmidt et Podmore, 2015), il peut également interagir avec les composés à travers des forces électrostatiques et causer l'effet contraire de ce qui est voulu lorsque sa quantité devient suffisamment élevée (Drabińska *et al.*, 2018 ; Schmidt et Podmore, 2015). Le chlorure de sodium (NaCl) est le sel le moins cher et le plus utilisé dans les études publiées (Antonucci *et al.*, 2016 ; Cozzolino *et al.*, 2014 ; Drabińska *et al.*,

2018 ; Saber *et al.*, 2019 ; Silva *et al.*, 2011). Une quantité de 1,25 ou 5 g de NaCl dans 3 ou 12 mL d'eau (matrice), respectivement, a offert un bon compromis permettant de produire des signaux avec une intensité conséquente et exempts d'interférences (Tabbal *et al.*, 2022a). Pour un bon nombre d'analytes du présent travail, et surtout pour le groupe 1, il n'y avait pas de différence probante entre ces deux volumes testés (Figure 3). Dans le cas du groupe 2 (basses intensités) de COVM une augmentation relativement légère peut être observée avec 12 mL d'eau. Néanmoins, celle-ci n'est pas suffisamment conséquente pour justifier le choix d'un volume d'échantillon plus grand. En effet, ce choix a été porté sur le volume d'échantillon le plus petit pour faire des économies sur la consommation de matrices biologiques et notamment le sang (étant acheté relativement cher pour ce travail). L'acidification de la matrice est généralement réalisée pour convertir les substances en analytes neutres ayant plus d'affinité pour les revêtements neutres des fibres SPME (Drabińska *et al.*, 2018 ; Schmidt et Podmore, 2015). Néanmoins, nos COVM étant déjà neutres à pH ~ 7 (p. ex. : sang, urine) (El Aroussi *et al.*, 2018), davantage de diminution d'acidité (HCl ; pH ~ 2) n'a pas eu d'effet notable sur les résultats déjà obtenus, ce qui va dans le sens des constatations de Drabińska *et al.* (2018).

Figure 3 Intensité des signaux pour les 21 COVM en fonction du volume de l'espace de tête avec un rapport eau:sel constant avec 300 s (temps d'incubation), 50 °C (température d'extraction), 600 s (temps d'extraction), 270 °C (température d'injection), 10 s (temps de désorption) et injection en mode *splitless*.

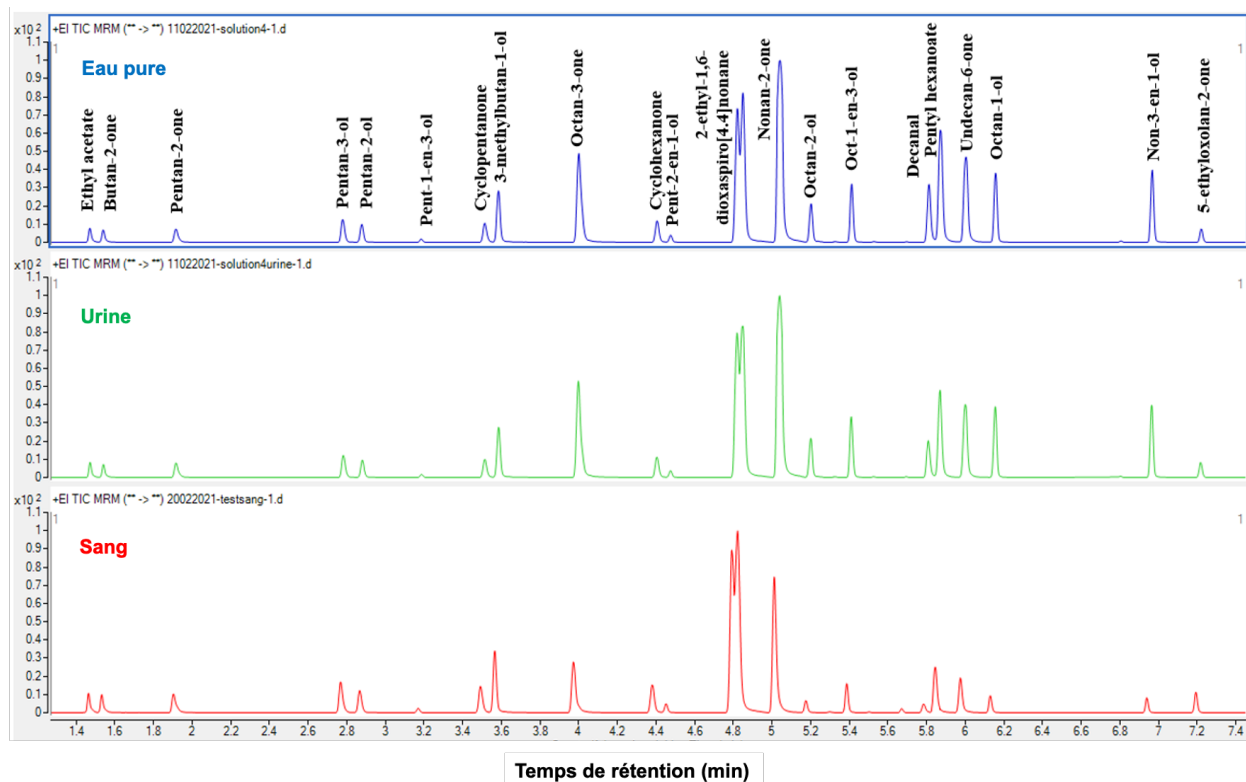
De A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, Appendix A. Supplemental data page 6. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.



La Figure 4 montre des résultats satisfaisants pour l'extraction des analytes à partir des matrices sanguine (eau additionnée de sang) et urinaire en appliquant les paramètres optimisés pour l'eau pure. Sans davantage d'affinement, ces paramètres ont été utilisés pour la validation analytique de la méthode dans les deux matrices.

Figure 4 Comparaison entre les chromatogrammes (dMRM) obtenus à la suite de l'extraction H-SPME des 21 COVM à partir des trois matrices dans les mêmes conditions : 300 s (temps d'incubation), 50 °C (température d'extraction), 600 s (temps d'extraction), 270 °C (température d'injection), 10 s (temps de désorption) et injection en mode *splitless*.

De A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, Appendix A. Supplemental data page 7. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.

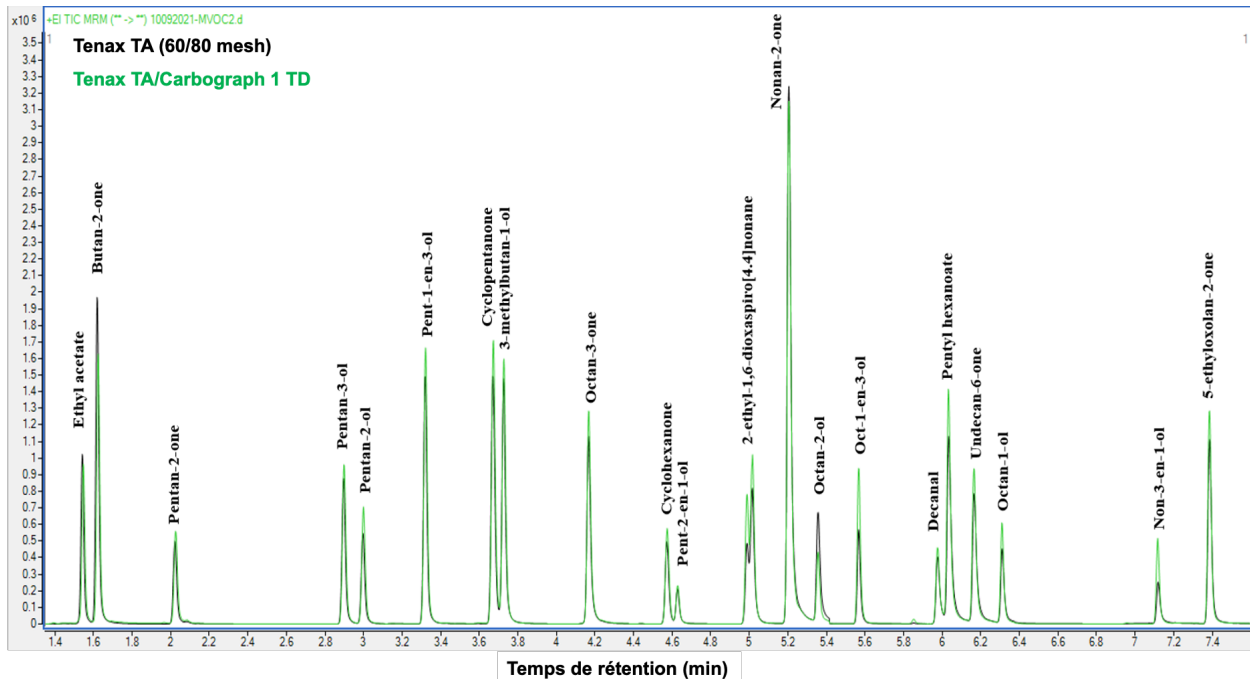


4.3 Résultats de l'optimisation de l'extraction au moyen des tubes de désorption thermique

Les tubes de désorption thermique doivent contenir un matériau adsorbant efficace (grande affinité) pour la capture des analytes, mais de force moyenne pour permettre leur désorption et doivent être exempts d'artéfacts (Firoz Khan *et al.*, 2018). Le polymère Tenax TA est connu pour son utilisation dans la quantification des composés apolaires à légèrement polaires de tailles entre C6 (n-hexane) et C16 (n-hexadécane) (Schieweck *et al.*, 2018 ; Woolfenden, 1997). Toutefois, des études ont rapporté la collecte avec ce matériau de composés plus petits et/ou volatils (Beck *et al.*, 2008 ; Klein *et al.*, 2018). De plus, les niveaux d'artéfacts dans ce polymère sont très bas (0,1-1 ng) comparativement à d'autres résines (Woolfenden, 2010). Compte tenu de ces faits, deux types de Tenax TA ont été étudiés : 35/60 et 60/80 mesh. Néanmoins, dans le but d'augmenter l'efficacité de rétention des substances une combinaison de matériaux, plus forts que le Tenax TA seul, a également été considérée : Tenax TA/Carboglyph 1 TD (Ras-Mallorquí *et al.*, 2007). Les matériaux de test sont tous hydrophobes et réduisent ainsi considérablement la capture d'eau qui peut endommager la colonne analytique et entraîner des problèmes tels que le déplacement des temps de rétention et l'affaiblissement du matériau adsorbant (Wu *et al.*, 2004). Les résultats obtenus à l'aide du Tenax TA seul n'ont montré aucune influence significative de la taille des particules de ce matériau, ce qui est en accord avec les résultats d'autres études (Patil et Lonkar, 1992 ; Schieweck *et al.*, 2018). En revanche, Tenax TA/Carboglyph 1TD offre une légère augmentation de la sensibilité par rapport au Tenax TA seul (Figure 5), et a donc été choisi pour la suite de l'optimisation.

Figure 5 Influence du type de matériau de revêtements des tubes sur l'extraction des 21 COVM.

Adapté de *Development and validation of a method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in ambient and exhaled air par thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry*, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Boucharde, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Atmosphere*, 13(9), article 1432, p. 9. ©MDPI, 2022.



Des tests d'évaluation du claquage des tubes, aux conditions de volume et de débit mentionnées ci-haut (section 3.3), ont permis d'obtenir les résultats présentés dans les Tableaux A 1 et A 2 (Annexe A) (Tabbal *et al.*, 2022b). À basse concentration, 40-50 mg/L, aucun analyte ne subit de claquage (réponse dans le tube 2 inférieure à 1 % pour tous les composés) pour tous les volumes et débits testés. En travaillant à une concentration aussi élevée que 800-1000 mg/L, les résultats montrent une bonne capacité de rétention pour quasiment tous les COVM (claquage inférieur à 1 %) à l'exception de l'acétate d'éthyle et du butan-2-one qui subissent un claquage relativement important aux débit et volume maximaux (10 L et 150 mL/min), 7,44 et 26,13 %, respectivement. En revanche, à un volume de collecte de 3 L, ces deux analytes ne souffrent que d'un claquage léger (à 800-1000 mg/L), voire très acceptable, comme au débit d'échantillonnage de 50 mL/min où il est de 5,53 et 5,37 %, respectivement. Il est à noter que les signaux obtenus pour ces deux composés (à 800-1000 mg/L) sont considérablement moins intenses que les signaux du reste des analytes (Figure A 9). Ceci pourrait être expliqué par la grande présence de ces derniers, qui par leur meilleure affinité pour la résine pourraient causer un effet de déplacement de l'acétate d'éthyle et

du butan-2-one. De ce fait, cette méthode devrait être utilisée pour la quantification de ces deux analytes en adaptant les conditions de prélèvement (50 mL/min ; 3L) ou, à contrario, à titre seulement indicatif de leur présence. Il est important dans ce cas de rappeler que ces deux composés ont de nombreuses sources non microbiennes connues (El Aroussi *et al.*, 2018), ce qui limite leur importance par rapport aux autres composés de sources fongiques. L'intensité des signaux correspondant aux 21 COVM (Figure A 10) ne montrait pas une différence notable pour le débit de 50 mL/min (3 L prélevé) par rapport à 150 mL/min (3 L). De ce fait, et compte tenu du gain de temps important qui sera accompli en effectuant des prélèvements à 150 mL/min, ce dernier débit a été retenu pour la validation de la méthode.

4.4 Résultats de la validation analytique des méthodes

Les méthodes analytiques (H-SPME-GC-MS/MS et TD-GC-MS/MS) ont été validées dans l'eau, sang et urine (H-SPME) et pour l'air ambiant et exhalé (TD). Afin d'assurer une quantification adéquate des analytes d'intérêt, les paramètres suivants ont été évalués : sélectivité, linéarité, limites de détection (LOD), limites de quantification (LOQ), exactitude et précision et effet de matrice (Tabbal *et al.*, 2022a).

La méthode d'étalonnage interne est employée. Le recours aux étalons internes était crucial pour corriger les fluctuations occasionnées (mauvaise reproductibilité et écart par rapport à la linéarité) lors des différentes étapes d'analyse. En raison de la grande diversité des structures chimiques étudiées et l'importante variabilité des temps de rétention correspondants, quatre standards de calibration internes différents ont été ajoutés, à la même concentration et dans tous les échantillons, y compris les blancs. Les standards internes, équivalents deutérés de nos COVM, ont été choisis de sorte à être représentatifs de l'entièreté du chromatogramme : nonan-2-one-d5, pentan-2-one-d5, octan-1-ol-d17 et 3-methylbutan-1-ol-d4.

4.4.1 Méthode H-SPME-GC-MS/MS

La méthode a montré une bonne sélectivité, confirmée par l'exactitude du temps de rétention et des deux transitions de qualification et de quantification (ion précurseur → ions produits Q/q) pour chaque substance. Néanmoins, la présence d'interférences dans les matrices (blancs) a gêné la quantification de certains COVM d'intérêt, ce qui a nécessité le recours à la méthode des additions standards (Moosavi et Ghassabian, 2018) pour corriger cet effet de matrice. Les courbes d'étalonnage interne ont été construites avec au moins 5 niveaux de concentration pour chaque analyte. Compte tenu du fait de l'existence de deux groupes de COVM de différentes intensités, deux domaines de calibration (linéarité) ont été nécessaires. Ces derniers ont d'abord été déterminés pour l'eau pure avant d'être appliqués pour le sang et l'urine, permettant ainsi de réaliser des économies sur la consommation des matrices biologiques. Les résultats de la validation analytique (Tabbal *et al.*, 2022a) sont affichés dans les Tableaux 2, 3 et A 3 (Annexe A).

La linéarité a été confirmée sur la base du coefficient de détermination (R^2) lorsque l'exactitude de la courbe d'étalonnage a été prouvée. Dans toutes les matrices et pour tous les analytes le R^2 était ici supérieur à 0,995, voire à 0,999 pour la majorité des COVM.

La LOD variait entre 0,7 (undecan-6-one) et 417 ng/L (pentan-2-one) pour l'urine et entre 1 (hexanoate de pentyle) et 507 ng/L (acétate d'éthyle) pour le sang. De plus, et comme attendu, les analytes du groupe 1 (intensités élevées des signaux) ont engendré des LOD considérablement plus faible que le groupe 2. Cette grande variabilité dans les valeurs de LOD et LOQ pour une même matrice peut être expliquée par (i) l'affinité variable des composés pour la fibre et la matrice, (ii) l'abondance des ions formés lors de l'ionisation des analytes au niveau du spectromètre de masse ou (iii) la combinaison de ces facteurs. Les LOD obtenues ici sont relativement faibles et soulignent la grande sensibilité de la présente méthode. Une recherche dans la littérature a permis de comparer ses performances pour certains analytes. Par exemple, Wazeerud-Din *et al.* (2021) ont obtenu des LOD, dans le sérum pour l'octan-3-one et l'oct-1-en-3-ol, 100 fois moins sensibles aux nôtres (0,188 et 2,77 $\mu\text{g/L}$, respectivement). La sensibilité pour l'acétate d'éthyle dans le sang était de 20 fois supérieure à celle déterminée par Ojanperä *et al.* (10 $\mu\text{g/L}$) (Ojanperä *et al.*, 1998). De plus, les limites de détection obtenues dans l'urine pour le butane-2-one (0,16 $\mu\text{g/L}$) et le 3-méthylbutan-1-ol (0,05 $\mu\text{g/L}$) étaient inférieures à celle obtenues par O'Lenick *et al.* (0,61 et 0,24 $\mu\text{g/L}$, respectivement) (O'Lenick *et al.*, 2019). Néanmoins, le pentan-2-one présentait une LOD légèrement plus élevée (0,42 contre 0,29 $\mu\text{g/L}$) (O'Lenick *et al.*, 2019).

Tableau 2 Résultats de la validation analytique pour la matrice urinaire

COVM	Domaine de linéarité	R ²	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	Basse concentration			Haute concentration			Sensibilité
					% de récupération	Répétabilité (CV %)	Précision intermédiaire (CV %)	% de récupération	Répétabilité (CV %)	Précision intermédiaire (CV %)	
Acétate d'éthyle	0,31-9,73	0,999	0,0565	0,1713	93	1,20	0,91	102	1,13	0,68	0,48
2-butanone	0,53-16,99	0,999	0,1567	0,4748	100	0,37	0,34	98	0,47	0,29	0,43
2-pentanone	LOQ-16,67	0,999	0,4170	1,2637	101	0,41	0,49	99	0,03	0,20	1,12
3-pentanol	0,13-4,24	0,999	0,0224	0,0678	94	1,71	1,24	104	0,88	0,62	0,91
2-pentanol	LOQ-8,38	0,999	0,0422	0,1280	101	0,92	1,14	101	1,35	0,71	0,83
1-penten-3-ol	0,58-18,41	0,999	0,1074	0,3253	100	2,09	1,26	101	0,54	1,22	0,13
Cyclopentanone	0,16-10,05	0,999	0,0274	0,0830	102	0,99	1,79	102	0,21	0,23	0,90
3-méthyl-1-butanol	LOQ-8,82	0,999	0,0486	0,1472	87	2,63	1,40	103	0,42	0,26	1,92
3-octanone	LOQ-0,44	0,999	0,0062	0,0187	116	1,03	0,70	104	0,38	0,97	2,75
Cyclohexanone	0,32-10,14	0,999	0,0567	0,1717	102	0,19	0,61	103	0,69	0,63	0,64
2-penten-1-ol	0,28-8,85	0,999	0,0343	0,1039	100	4,40	6,55	105	0,12	0,39	0,21
Chalcogran	0,08-2,42	0,999	0,0102	0,0310	95	2,19	1,53	120	0,56	0,59	18,09
2-nonanone	0,06-1,79	0,999	0,0094	0,0284	96	0,34	0,34	101	0,07	0,20	14,84
2-octanol	LOQ-0,22	0,998	0,0035	0,0106	120	1,43	2,45	104	1,15	0,76	6,80
1-octen-3-ol	0,01-0,23	0,999	0,0021	0,0064	94	0,25	3,20	101	0,33	0,20	9,44
Décanal	0,06-1,77	0,999	0,0079	0,0240	111	3,12	3,70	103	0,10	0,24	0,93
Hexanoate de pentyle	0,008-0,24	0,999	0,0012	0,0037	95	0,63	0,90	120	0,21	1,58	1,40
6-undecanone	0,004-0,22	0,999	0,0007	0,0021	116	8,99	8,58	108	0,20	0,35	3,14
1-octanol	LOQ-0,22	0,998	0,0051	0,0153	93	0,08	0,50	94	0,99	0,64	13,22
3-nonen-1-ol	LOQ-0,22	0,998	0,0043	0,0129	105	6,77	0,46	108	0,90	0,80	6,76
Hexan-4-olide	LOQ-10,98	0,999	0,1116	0,3381	99	0,11	0,11	100	0,56	0,57	0,51

L'exactitude de la méthode était très satisfaisante pour tous les COVM, comme montré par le pourcentage de récupération qui variait entre : 87-120 % (urine) et 83-114 % (sang) à faibles concentrations ; 94-120 % (urine) et 93-118 % (sang) à hautes concentrations. La précision de la méthode était également très satisfaisante pour tous les COVM et toutes les matrices, comme montré par le coefficient de variation. Dans le cas de la répétabilité, il était inférieur à 13 et 6 % pour les basses et hautes concentrations, respectivement. Dans le cas de la précision intermédiaire, il était inférieur à 11 et 6 % pour les basses et hautes concentrations, respectivement.

Tableau 3 Résultats de la validation analytique pour la matrice sanguine (sang dans l'eau)

COVM	Domaine de linéarité	R ²	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	Basse concentration			Haute concentration			Sensibilité
					% de récupération	Répétabilité (CV %)	Précision intermédiaire (CV %)	% de récupération	Répétabilité (CV %)	Précision intermédiaire (CV %)	
Acétate d'éthyle	LOQ-19,22	0,999	0,5068	1,5358	100	0,06	0,11	102	0,15	0,26	0,58
2-butanone	LOQ-8,46	0,999	0,0792	0,2399	98	0,29	0,24	101	0,28	0,24	0,52
2-pentanone	LOQ-16,71	0,999	0,2284	0,6922	100	0,16	0,30	97	0,38	0,37	0,90
3-pentanol	0,07-4,18	0,999	0,0109	0,0331	87	0,22	0,72	106	0,46	0,42	0,94
2-pentanol	0,13-8,24	0,999	0,0293	0,0889	100	0,13	0,08	104	0,72	0,46	0,89
1-penten-3-ol	0,07-4,53	0,999	0,0145	0,0439	107	0,82	0,45	105	0,63	0,80	1,58
Cyclopentanone	0,08-4,95	0,999	0,0222	0,0674	105	1,09	0,66	106	1,24	0,77	1,15
3-méthyl-1-butanol	0,14-8,80	0,999	0,0210	0,0635	104	1,67	1,06	102	0,62	0,61	1,87
3-octanone	0,007-0,43	0,999	0,0015	0,0046	109	2,42	1,31	105	0,63	1,08	11,23
Cyclohexanone	0,16-10,12	0,999	0,0384	0,1162	101	0,24	0,23	102	0,95	1,01	0,73
2-penten-1-ol	0,14-8,83	0,999	0,0224	0,0679	97	0,32	0,29	101	0,59	0,56	0,18
Chalcogran	0,04-2,46	0,999	0,0076	0,0232	109	0,24	0,21	110	0,97	0,93	16,49
2-nonanone	0,03-1,79	0,999	0,0051	0,0155	102	0,66	0,55	101	0,22	0,50	31,69
2-octanol	LOQ-0,22	0,999	0,0026	0,0080	101	0,02	0,05	104	0,40	0,53	10,80
1-octen-3-ol	LOQ-1,78	0,999	0,0351	0,1064	104	0,04	0,04	103	0,08	0,15	24,89
Décanal	LOQ-1,77	0,999	0,0917	0,2778	114	0,01	0,01	93	0,10	0,12	6,96
Hexanoate de pentyle	0,007-0,23	0,999	0,0011	0,0035	100	0,35	1,65	118	0,50	0,51	2,33
6-undecanone	0,01-0,44	0,999	0,0017	0,0051	83	1,15	1,06	106	0,42	0,64	4,63
1-octanol	LOQ-0,22	0,999	0,0031	0,0095	103	0,12	0,09	104	0,66	0,57	11,25
3-nonen-1-ol	0,03-0,86	0,999	0,0064	0,0194	102	0,61	0,84	108	0,56	0,55	5,55
Hexan-4-olide	0,08-5,41	0,999	0,0221	0,0670	110	0,12	0,90	107	0,85	0,50	0,42

L'effet de matrice était acceptable (EM % entre 80 et 120 %) pour la majorité des analytes, dans les deux matrices biologiques (Tableau 4) (Tabbal *et al.*, 2022a). Cependant, pour certains composés, un effet de matrice relativement important a pu être décelé. Une suppression du signal a été observée dans l'urine pour le butan-2-one (46 %), pentan-2-one (63 %) et octan-2-ol (60 %) et dans le sang pour l'acétate d'éthyle (54 %), cyclopentanone (61 %) et 5-éthylloxolan-2-one (64 %). Une amplification importante du signal a été notée dans le sang pour l'oct-1-en-3-ol (303 %) et le décanal (350 %). Pour remédier à ces effets, certaines approches comme l'utilisation d'étalons internes marqués isotopiquement et la méthode des additions standards peuvent être exploitées (Kruve et Leito, 2013 ; Risticovic *et al.*, 2010), comme nous l'avons fait ici.

Tableau 4 Effet de matrice dans l'urine et le sang

COVM	EM %	
	Urine	Sang dans l'eau
Acétate d'éthyle	83	54
2-butanone	46	95
2-pentanone	63	79
3-pentanol	84	94
2-pentanol	97	93
1-penten-3-ol	97	78
Cyclopentanone	88	61
3-méthyl-1-butanol	79	99
3-octanone	89	91
Cyclohexanone	99	70
2-penten-1-ol	98	100
Chalcogran	97	96
2-nonanone	98	93
2-octanol	60	117
1-octen-3-ol	91	303
Décanal	97	350
Hexanoate de pentyle	74	87
6-undecanone	89	97
1-octanol	86	93
3-nonen-1-ol	99	96
Hexan-4-olide	87	64

4.4.2 Méthode TD-GC-MS/MS

La méthode a montré une bonne sélectivité dans l'air, confirmée par l'exactitude du temps de rétention et des deux transitions de qualification et de quantification (ion précurseur → ions produits Q/q) pour chaque substance. Des courbes d'étalonnage interne ont été construites avec au moins 5 niveaux de concentration pour chaque analyte. La concentration (ng/m³) équivalente à celle dans l'air ambiant a été calculée en considérant la quantité de substance injectée (quantité en ng contenue dans 1 µL de la solution standard) et le volume total passé dans le tube (3 L). Les résultats de la validation analytique (Tabbal *et al.*, 2022b) sont affichés dans le Tableau 5.

La linéarité a été confirmée sur la base du coefficient de détermination (R²) lorsque l'exactitude de la courbe d'étalonnage a été prouvée. Le R² était ici supérieur ou égal à 0,999 pour tous les COVM. La LOD variait entre 1,76 (pentan-2-ol) et 108,37 ng/m³ (décanal). La présente méthode est relativement sensible, comme souligné pour certains analytes. Par exemple, la LOD du butane-2-one (75,30 ng/m³) était environ six fois inférieure à la valeur obtenue par Peng et Batterman, (434 ng/m³) (Peng et Batterman,

2000). De plus, la LOD pour l'octane-1-ol (7 et 14 ng dans le tube), déterminée pour deux ions de quantification (Ribes *et al.*, 2007), était 200 à 400 fois supérieure à celle obtenue dans cette étude (10,53 ng/m³ correspondant à 0,031 ng dans le tube). L'acétate d'éthyle, quant à lui, a engendré ici une LOD (26 ng/m³ équivalent à 0,078 ng dans le tube) inférieure à la valeur obtenue pour un ion de quantification (0,5 ng dans le tube) mais légèrement supérieure à la valeur obtenue pour le deuxième ion (0,02 ng en tube) par Ribes *et al.*, (2007). À noter que la procédure suivie pour la détermination des LOD était différente d'une étude à l'autre et qu'il n'est pas envisageable ici de baser les comparaisons sur autre chose que le résultat.

Tableau 5 Résultats de la validation analytique pour l'air ambiant

COVM	Domaine de linéarité (ng/m ³)	R ²	LOD (ng/m ³)	LOQ (ng/m ³)	Basse concentration			Haute concentration		
					% de récupération	Répétabilité (CV %)	Précision intermédiaire (CV %)	% de récupération	Répétabilité (CV %)	Précision intermédiaire (CV %)
Acétate d'éthyle	30-8070	0,999	26	78,78	90	0,69	0,52	102	0,56	0,59
2-butanone	120-14250	0,999	75,30	228,19	96	0,22	0,21	95	0,54	0,47
2-pentanone	120-13890	0,999	72,04	218,31	96	0,14	0,11	96	0,25	0,37
3-pentanol	4-1860	0,999	2,09	6,34	87	0,16	1,14	107	0,27	0,34
2-pentanol	4-1790	0,999	1,76	5,32	80	0,16	0,49	107	0,23	0,44
1-penten-3-ol	8-2010	0,999	6,58	19,93	110	0,23	0,55	104	0,19	0,48
Cyclopentanone	4-2090	0,999	2,16	6,54	94	0,18	0,58	107	0,14	0,34
3-méthyl-1-butanol	4-1750	0,999	3,04	9,22	90	0,07	0,86	108	0,52	0,42
3-octanone	4-1760	0,999	3,34	10,12	107	0,25	0,56	105	0,48	0,84
Cyclohexanone	30-8160	0,999	11,52	34,90	92	0,27	0,71	105	0,29	0,55
2-penten-1-ol	30-6990	0,999	25,11	76,08	104	0,60	2,04	104	0,38	0,48
Chalcogran	30-7880	0,999	26,43	80,08	84	0,32	0,85	110	0,32	0,76
2-nonanone	30-6950	0,999	22,65	68,65	92	0,43	0,40	110	0,20	0,28
2-octanol	7-1770	0,999	2,40	7,26	80	1,16	0,25	118	0,13	0,23
1-octen-3-ol	7-1770	0,999	4,98	15,11	113	0,71	0,61	113	0,23	0,48
Décanal	120-13800	0,999	108,37	328,39	80	4,35	0,61	102	0,16	0,22
Hexanoate de pentyle	120-14490	0,999	55,71	168,83	93	0,21	0,37	106	0,21	0,35
6-undecanone	30-6970	0,999	25,07	75,97	95	0,16	0,41	105	0,62	0,47
1-octanol	30-6960	0,999	10,53	31,90	92	0,21	0,39	108	0,27	0,54
3-nonen-1-ol	120-13880	0,999	70,95	214,99	82	0,60	1,38	94	0,71	0,58
Hexan-4-olide	40-8820	0,999	9,59	29,06	87	0,27	0,29	110	0,22	0,25

L'exactitude de la méthode était très satisfaisante pour tous les COVM, comme montré par le pourcentage de récupération qui variait entre 80-113 % à faibles concentrations et 94-118 % à hautes concentrations. La répétabilité ainsi que la précision intermédiaire de la méthode étaient également très satisfaisantes comme montré par le coefficient de variation qui était inférieur à 5 % pour tous les COVM à basses et hautes concentrations.

Afin de valider l'applicabilité de cette méthode pour l'analyse de l'air exhalé, des sacs Tedlar ont été remplis avec 3 L de cette matrice et dopés avec des concentrations de COVM, correspondants aux niveaux bas et élevé de la courbe de calibration de chaque analyte. Après adsorption dans les tubes et analyse au moyen de la méthode validée ci-haut, le pourcentage de récupération a été calculé (Tableau 6) (Tabbal *et al.*, 2022b). Ces

derniers variaient entre 84-118 % à faibles concentrations et entre 83-119 % à concentrations élevées. Le critère d'acceptation typique pour les mesures de récupération impose un pourcentage qui se situe entre 80-120 % (ICH, 2005). Ces résultats suggèrent un effet de matrice non significatif, voire son absence pour un bon nombre d'analytes, et indiquent l'applicabilité de cette méthode à cette matrice biologique.

Tableau 6 Pourcentage de récupération dans l'air exhalé

COVM	% de récupération à basse concentration	% de récupération à haute concentration
Acétate d'éthyle	118	118
2-butanone	103	119
2-pentanone	107	105
3-pentanol	97	93
2-pentanol	102	93
1-penten-3-ol	103	83
Cyclopentanone	108	117
3-méthyl-1-butanol	84	96
3-octanone	104	117
Cyclohexanone	107	118
2-penten-1-ol	87	100
Chalcogran	106	109
2-nonanone	111	115
2-octanol	102	102
1-octen-3-ol	100	99
Décanal	85	93
Hexanoate de pentyle	94	102
6-undecanone	105	109
1-octanol	96	107
3-nonen-1-ol	90	110
Hexan-4-olide	101	117

4.5 Résultats de la mesure des coefficients de partages

Les coefficients de partage P_{wa} déterminés dans le présent travail s'étaient de 16 à 2210 (Tableau 7). Pour certains de nos COVM, les coefficients de partage ont été rapportés dans la littérature. Kaneko *et al.* (1994) ont obtenu pour l'acétate d'éthyle une valeur de 71,5, légèrement inférieure à la valeur trouvée ici (77). Pour le butan-2-one (183) et de Pentan-2-one (127) des valeurs environ 39 et 31 % supérieures ont été rapportées par Sato et Nakajima (1979), 254 et 166, respectivement. Dans le cas de l'urine, les coefficients variaient entre 14 et 3586, indiquant une affinité supérieure pour l'eau et urine relativement à l'air. De plus, à l'exception du pent-2-en-1-ol et 2-éthyl-1, 6-dioxaspiro [4,4] nonane, il existe une forte corrélation entre P_{wa} et P_{ua} pour les autres COVM (Figure 6). Ceci pourrait suggérer que les composants de l'urine n'auraient pas d'effet conséquent

sur la solubilité de ces COVM dans cette matrice composée majoritairement d'eau. En revanche, ces composants pourraient interagir différemment avec les deux composés pent-2-en-1-ol et 2-éthyl-1, 6-dioxaspiro [4,4] nonane et augmenter par conséquent leur solubilité dans la matrice urinaire ($P_{ua} \gg P_{wa}$).

Les coefficients de partage P_{ba} déterminés dans le présent travail s'étaient de 78 à 4721. Ainsi, l'exposition humaine à l'air pendant une durée suffisante à une concentration donnée de ces substances augmentera le taux sanguin jusqu'à atteindre un état d'équilibre où la concentration sera de 78 (acétate d'éthyle) à 4721 (hexanoate de pentyle) fois celle dans l'air ambiant inspiré. Dans la littérature publiée, Kaneko *et al.* (1994) ont obtenu pour l'acétate d'éthyle une valeur de $P_{ba} = 77,9$, très en accord avec la valeur trouvée ici (78). Pour le butan-2-one (158) et de Pentan-2-one (125) des valeurs environ 28 et 20 % supérieures ont été rapportées par Sato et Nakajima (1979), 202 et 150, respectivement. Perbellini *et al.* (1984), quant à eux, ont rapporté une valeur de 183 pour le P_{ba} correspondant au butan-2-one, environ 16 % plus élevée. Contrairement à la méthodologie suivie ici, l'introduction des COVM dans les flacons d'analyse dans ces études a été accomplie dans l'eau au lieu du méthanol, ce qui pourrait pousser davantage le partage en faveur des matrices liquides (augmentation du P_{ba}) (Batterman *et al.*, 2002 ; Fiserova-Bergerova et Diaz, 1986 ; Gargas *et al.*, 1989). Par ailleurs, il y a des disparités considérables (Figure 7) entre un bon nombre de valeurs déterminées ici pour P_{ba} et celles préalablement estimées (El Aroussi *et al.*, 2018). Ceci serait attribué dans ces estimations (i) au manque de fiabilité dans l'établissement des propriétés physicochimiques pour ces composés. En effet, certains paramètres nécessaires pour ces estimations (p. ex. : P_{ow} et Constante de Henry) ont été eux-mêmes estimés en utilisant les méthodes du logiciel « *Estimation Program Interface version 4.1* » produisant très probablement des valeurs qui s'écarteraient des valeurs réelles, et (ii) au fait de ne pas tenir assez compte des interactions avec les composantes sanguines (p. ex. liaisons protéiques).

Tableau 7 Coefficients de partage déterminés à 37 °C

COVM	P _{wa}	P _{ua}	P _{ba}	P _{pa}
Acétate d'éthyle	76,9 ± 3,35	72,7 ± 1,78	77,9 ± 2,2	64,1 ± 2,50
2-butanone	183 ± 4,44	158 ± 0,32	158 ± 0,76	190 ± 2,89
2-pentanone	127 ± 3,62	113 ± 1,14	125 ± 4,29	122 ± 4,28
3-pentanol	590 ± 4,29	651 ± 16,8	575 ± 5,63	633 ± 35,5
2-pentanol	694 ± 6,82	753 ± 23,4	719 ± 1,19	759 ± 20,3
1-penten-3-ol	867 ± 7,55	955 ± 14,8	808 ± 9,22	833 ± 25,9
Cyclopentanone	965 ± 32,9	982 ± 31	1148 ± 18,9	1329 ± 24,9
3-méthyl-1-butanol	865 ± 25,7	870 ± 35,7	949 ± 3,19	1120 ± 18,3
3-octanone	34,8 ± 0,82	34,2 ± 1,42	129 ± 2,61	151 ± 8,44
Cyclohexanone	783 ± 34,2	591 ± 11,8	1173 ± 30	ND
2-penten-1-ol	2210 ± 28,6	3586 ± 116	3065 ± 40	2120 ± 44,3
2-éthyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonane	1210 ± 53,8	1546 ± 131	1433 ± 14	1359 ± 8,95
2-nonanone	21,1 ± 2,86	20,2 ± 3,51	444 ± 11	434 ± 17,3
2-octanol	186 ± 1,74	188 ± 8,74	1227 ± 9,68	960 ± 25,53
1-octen-3-ol	392 ± 30,8	430 ± 42,8	1280 ± 12,7	1411 ± 27,7
Décanal	ND	ND	ND	ND
Hexanoate de pentyle	16 ± 1,30	13,6 ± 2,19	4721 ± 136	2622 ± 96,3
6-undecanone	17,4 ± 4,18	16,4 ± 3,11	804 ± 20,9	1174 ± 24,6
1-octanol	311 ± 10,9	368 ± 10,1	3945 ± 85,2	2627 ± 19,9
3-nonen-1-ol	593 ± 25,6	528 ± 29	4404 ± 181	5604 ± 21,1
5-éthylloxolan-2-one	ND	ND	ND	ND

ND : non déterminé pour des raisons analytiques.

Les coefficients de partage P_{pa} variaient entre 64 et 5604. Une corrélation relativement bonne a été observée entre P_{ba} et P_{pa} pour tous les COVM, sauf pour trois substances (le pent-2-en-1-ol, le pentyl hexanoate et l'octan-1-ol) dont P_{ba} >>> P_{pa} (Figure 6). L'influence de l'hémoglobine des cellules sanguines serait en cause, comme suspecté dans la littérature (Mochalski *et al.*, 2012).

Figure 6 Corrélation entre P_{wa} (coefficient de partage eau : air) et P_{ua} (urine : air) ; P_{ba} (sang : air) et P_{pa} (plasma : air).

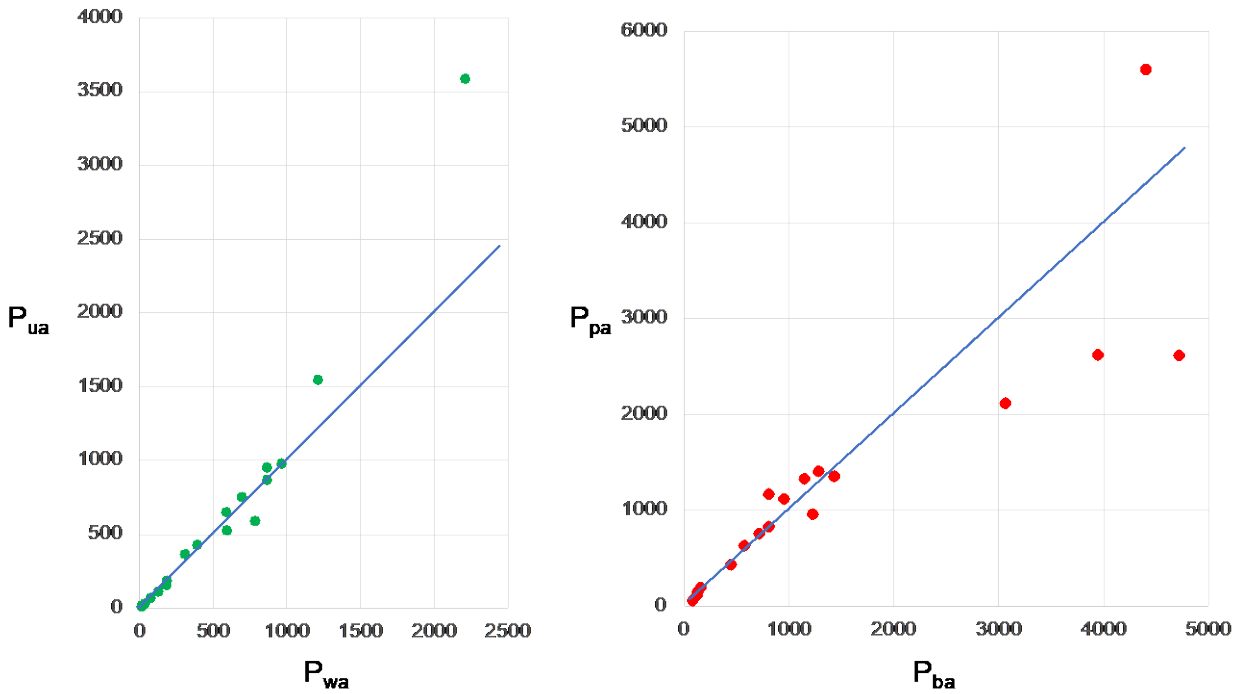
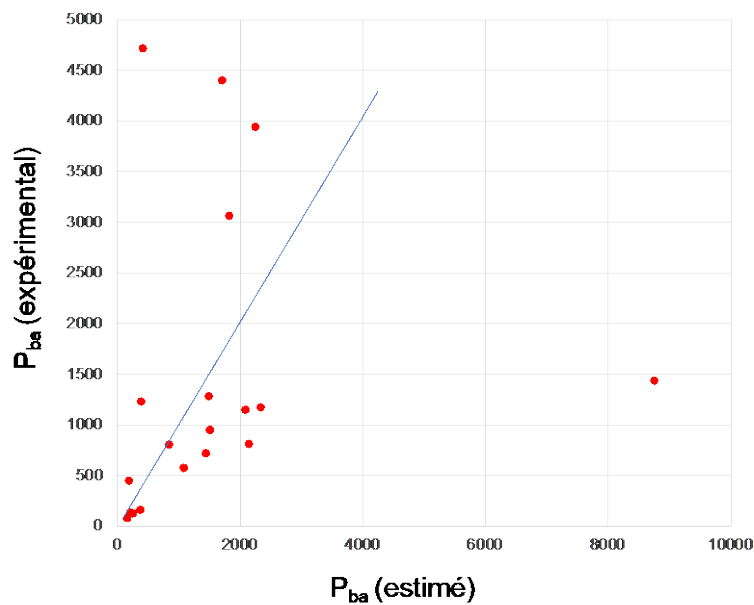


Figure 7 Corrélation entre P_{ba} estimé antérieurement (El Aroussi *et al.*, 2018) et P_{ba} déterminé expérimentalement dans la présente étude.



CONCLUSION

Ce travail représente une étape cruciale d'une stratégie globale visant à démontrer la validité d'un groupe de 21 COVM, incluant une liste de composés précédemment ciblées selon leur potentiel de biosurveillance lors d'une étude antérieure (El Aroussi *et al.*, 2018), comme biomarqueurs de contamination des lieux et d'exposition des travailleurs aux moisissures.

La présente recherche a permis de développer et valider de nouvelles méthodes analytiques, pour mesurer simultanément ces COVM dans les matrices biologiques (matrice sanguine, urine, exhalât) et l'air ambiant, ainsi que de mesurer les coefficients de partage sang:air, plasma:air et urine:air pour ces COVM, paramètres très informatifs sur la toxicocinétique.

Les méthodes développées, se basant sur la H-SPME-GC-MS/MS (sang et urine) et la TD-GC-MS/MS (exhalât et air ambiant), ont exhibé des performances analytiques remarquables (une bonne linéarité, ainsi qu'une grande sensibilité et précision pour tous les composés), permettant de ce fait d'identifier et quantifier simultanément ces potentiels biomarqueurs de contamination et d'exposition à des niveaux relativement faibles dans les différentes matrices.

Les coefficients de partage déterminés ici ont montré une affinité supérieure pour les matrices biologiques relativement à l'air, pour tous les composés. D'autre part, la comparaison entre les valeurs déterminées ici pour le coefficient de partage sang:air et celles préalablement estimées (El Aroussi *et al.*, 2018) a permis de souligner certaines limitations des méthodes estimatives. Ces paramètres sont essentiels pour le développement de modèles toxicocinétiques et le choix de la matrice biologique la plus appropriée pour le développement de biomarqueurs.

Les résultats obtenus dans la présente étude seront exploités ultérieurement pour l'étude de l'applicabilité dans des conditions réelles de l'utilisation de ces COVM comme biomarqueurs de contamination et d'exposition fongique des lieux. Ce projet se veut une étape cruciale pour démontrer la relation entre les niveaux de contamination fongique, les niveaux atmosphériques de ces COVM en milieu de travail et les niveaux biologiques correspondants. Certaines limitations découlant de cette méthode avaient préalablement été discutées lors de l'étude de faisabilité (El Aroussi *et al.*, 2018). Des recommandations y ont été dressées pour faciliter l'affinement de l'approche, relativement (i) à l'absence de certaines données pharmacocinétiques pour ces COVM, (ii) au niveau de concentrations réelles rencontrées dans les lieux de travail et (iii) à l'émanation de ces COVM à partir de sources non microbiennes pouvant être potentiellement présentes dans les lieux. Lors du futur projet, le choix initial des biomarqueurs sera ainsi confirmé et la matrice biologique la

plus adéquate sera définie. De nouveaux composés volatils fongiques pourront aussi être ciblés sur la base des émissions réelles dans les lieux professionnels contaminés.

À travers les mesures des niveaux de concentration dans les différentes matrices biologiques et dans l'air, il sera possible de valider les suppositions formulées dans l'étude de faisabilité publiée antérieurement, soit la tendance à se concentrer dans le sang et la capacité de bioaccumulation (El Aroussi *et al.*, 2018). Dans le cas contraire, il sera question d'une meilleure compréhension du comportement toxicocinétique de cette série de COVM, ce qui sera utile lorsqu'il s'agira d'étudier la biodistribution d'autres composés similaires.

La nouvelle technique de biosurveillance, par sa facilité et sa rapidité d'exécution, pourra servir d'outil capable de donner un indice de la contamination fongique dans un lieu de travail, avant tout recours à l'approche classique, plus complexe et onéreuse. Par ailleurs, une application préliminaire de la présente approche (qui sort du cadre de l'étude présentée ici) a pu montrer des concentrations plus élevées dans l'air exhalé pour plus de la moitié des 21 COVM dans un lieu contaminé par des moisissures visibles par rapport à d'autres endroits qui n'avaient aucune trace évidente de moisissures (Tabbal *et al.*, 2022b).

BIBLIOGRAPHIE

- Amann, A., Costello, B. d. L., Miekisch, W., Schubert, J., Buszewski, B., Pleil, J., . . . Risby, T. (2014). The human volatilome: Volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva. *Journal of Breath Research*, 8(3), article 034001. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/8/3/034001>
- Antonucci, A., Vitali, M., Avino, P., Manigrasso, M. et Protano, C. (2016). Sensitive multiresidue method by HS-SPME/GC-MS for 10 volatile organic compounds in urine matrix: A new tool for biomonitoring studies on children. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(21), 5789-5800. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9682-x>
- Aranda-Rodriguez, R., Cabecinha, A., Harvie, J., Jin, Z., Marchand, A., Tardif, R., . . . Haddad, S. (2015). A method for quantification of volatile organic compounds in blood by SPME-GC-MS/MS with broader application: From non-occupational exposure population to exposure studies. *Journal of Chromatography B*, 992, 76-85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.04.020>
- Batterman, S., Zhang, L., Wang, S. et Franzblau, A. (2002). Partition coefficients for the trihalomethanes among blood, urine, water, milk and air. *Science of the Total Environment*, 284(1), 237-247. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00890-7](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00890-7)
- Beck, J. J., Higbee, B. S., Merrill, G. B. et Roitman, J. N. (2008). Comparison of volatile emissions from undamaged and mechanically damaged almonds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(8), 1363-1368. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3224>
- Blount, B. C., Kobelski, R. J., McElprang, D. O., Ashley, D. L., Morrow, J. C., Chambers, D. M. et Cardinali, F. L. (2006). Quantification of 31 volatile organic compounds in whole blood using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 832(2), 292-301. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.01.019>
- Borchers, A. T., Chang, C. et Gershwin, M. E. (2017). Mold and human health: A reality check. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 52(3), 305-322. <https://doi.org/10.1007/s12016-017-8601-z>
- Brambilla, A. et Sangiorgio, A. (2020). Mould growth in energy efficient buildings: Causes, health implications and strategies to mitigate the risk. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 132, article 110093. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110093>
- Cao, W. et Duan, Y. (2006). Breath analysis: Potential for clinical diagnosis and exposure assessment. *Clinical Chemistry*, 52(5), 800-811. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.063545>
- Caro, J. et Gallego, M. (2009). Environmental and biological monitoring of volatile organic compounds in the workplace. *Chemosphere*, 77(3), 426-433. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.06.034>
- IRSST ■ Développement de méthodes analytiques pour les composés organiques volatils microbiens (COVM) dans les matrices biologiques : vers l'évaluation des COVM comme biomarqueurs d'exposition aux moisissures

- Castellanos, M., Xifra, G., Fernandez-Real, J. M. et Sanchez, J. M. (2016). Breath gas concentrations mirror exposure to sevoflurane and isopropyl alcohol in hospital environments in non-occupational conditions. *Journal of Breath Research*, 10(1), article 016001. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/10/1/016001>
- Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail. (2016). *Qualité de l'air intérieur : généralités*. CCHST. http://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/iaq_intro.html
- Commonwealth of Massachusetts. (1989). *Indoor air pollution in Massachusetts* (Publication n° TI0089-1330). Commonwealth of Massachusetts
- Cozzolino, R., De Magistris, L., Saggese, P., Stocchero, M., Martignetti, A., Di Stasio, M., . . . Malorni, L. (2014). Use of solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry for determination of urinary volatile organic compounds in autistic children compared with healthy controls. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(19), 4649-4662. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7855-z>
- d'Halewyn, M.-A., Leclerc, J.-M., King, N., Bélanger, M., Legris, M. et Frenette, Y. (2002). *Les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur : rapport scientifique*. INSPQ.
- de Sousa Mesquita, A., Zamora-Obando, H. R., Neves dos Santos, F., Schmidt-Filho, J., Cordeiro de Lima, V., D'Almeida Costa, F., . . . Colnaghi Simionato, A. V. (2020). Volatile organic compounds analysis optimization and biomarker discovery in urine of Non-Hodgkin lymphoma patients before and during chemotherapy. *Microchemical Journal*, 159, article 105479. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105479>
- Dion, G., Duchaine, C., Mériaux, A. et Cormier, Y. (2008). Prévention de la pneumopathie d'hypersensibilité (PH) : bénéfices de la collaboration entre l'industrie et la recherche. *Canadian Respiratory Journal*, 15, article 289857. <https://doi.org/10.1155/2008/289857>
- Drabińska, N., Azeem, H. A. et Krupa-Kozak, U. (2018). A targeted metabolomic protocol for quantitative analysis of volatile organic compounds in urine of children with celiac disease. *RSC Advances*, 8(64), 36534-36541. <https://doi.org/10.1039/C8RA07342B>
- Drabińska, N., Flynn, C., Ratcliffe, N., Belluomo, I., Myridakis, A., Gould, O., . . . Costello, B. (2021). A literature survey of all volatiles from healthy human breath and bodily fluids: The human volatilome. *Journal of Breath Research*, 15(3), article 034001. <https://doi.org/10.1088/1752-7163/abf1d0>
- Duchaine, C. et Mériaux, A. (2000). Airborne microfungi from eastern Canadian sawmills. *Canadian Journal of Microbiology*, 46(7), 612-616. <https://doi.org/10.1139/w00-035>
- El Aroussi, B., Marchand, G., Aubin, S., Bouchard, M. et Haddad, S. (2018). *Utilisation des composés organiques volatils microbiens comme biomarqueurs de l'exposition aux moisissures en milieu de travail : étude de faisabilité* (Rapport n° R-1037). IRSST.

- Fiedler, K., Schütz, E. et Geh, S. (2001). Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 204(2-3), 111-121.
- Firoz Khan, M., Sahani, M., Shahrul Mohd Nadzir, M., Chin Yik, L., Mohammad Syedul Hoque, H., Hafizal Abd Hamid, H., . . . Ismail, A. (2018). Volatile organic compound analysis by sorbent tube-thermal desorption-gas chromatography: A review. *International Journal of Engineering & Technology*, 7(3.14), 165-175. <https://doi.org/10.14419/ijet.v7i3.14.16878>
- Fiserova-Bergerova, V. et Diaz, M. L. (1986). Determination and prediction of tissue-gas partition coefficients. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 58(1), 75-87. <https://doi.org/10.1007/bf00378543>
- Frenette, Y. (2001). Les moisissures dans les classes mobiles : un examen s'impose. *Travail et santé*, 17(3), 6-10.
- Garcia-Alcega, S., Nasir, Z. A., Ferguson, R., Noel, C., Cravo-Laureau, C., Whitby, C., . . . Coulon, F. (2018). Can chemical and molecular biomarkers help discriminate between industrial, rural and urban environments? *Science of the Total Environment*, 631-632, 1059-1069. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.062>
- Garcia-Alcega, S., Nasir, Z. A., Ferguson, R., Whitby, C., Dumbrell, A. J., Colbeck, I., . . . Coulon, F. (2017). Fingerprinting outdoor air environment using microbial volatile organic compounds (MVOCs): A review. *Trends in Analytical Chemistry*, 86, 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.10.010>
- Gargas, M. L., Burgess, R. J., Voisard, D. E., Cason, G. H. et Andersen, M. E. (1989). Partition coefficients of low-molecular-weight volatile chemicals in various liquids and tissues. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 98(1), 87-99.
- Girard, M., Duchaine, C., Godbout, S., Lévesque, A., Létourneau, V. et Lemay, S. P. (2019). *Réduire l'exposition des travailleurs aux gaz, odeurs, poussières et agents pathogènes humains présents dans les bâtiments porcins* (Rapport n° R-1074). IRSST.
- Gunnar, L. et Bergström, W. (2008). Chemical communication by behaviour-guiding olfactory signals. *Chemical Communications*, (34), 3959-3979. <https://doi.org/10.1039/B712681F>
- Hakkola, M., Saarinen, L. et Pekari, K. (2001). Exposure to gasoline vapour during offloading of tankers and railway wagons and biological multicomponent monitoring. *Journal of Occupational Health*, 43(5), 287-290. <https://doi.org/10.1539/joh.43.287>
- Harvey, D. (2016). *Analytical chemistry 2.1. L'auteur*. http://dpuadweb.depauw.edu/harvey_web/eTextProject/AC2.1Files/AnalChem2.1.pdf
- Heinrich-Ramm, R., Jakubowski, M., Heinzow, B., Christensen, J. M., Olsen, E. et Hertel, O. (2000). Biological monitoring for exposure to volatile organic compounds (VOCs). *Pure and Applied Chemistry*, 72(3), 385-436. <https://doi.org/10.1351/pac200072030385>

- Hernandes, K. C., Souza-Silva, É. A., Assumpção, C. F., Zini, C. A. et Welke, J. E. (2019). Matrix-compatible solid phase microextraction coating improves quantitative analysis of volatile profile throughout brewing stages. *Food Research International*, 123, 75-87. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.048>
- Huppé, V., Leclerc, J. — M., Legris, M. et Marchand, G. (2016). *Outil d'aide à l'interprétation de rapports d'investigation de la contamination fongique*. INSPQ.
- Hurraß, J., Heinzow, B., Aurbach, U., Bergmann, K.-C., Bufe, A., Buzina, W., . . . Wiesmüller, G. A. (2017). Medical diagnostics for indoor mold exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220(2, Part B), 305-328. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.11.012>
- Hussain, A., Tian, M.-Y., He, Y.-R. et Lei, Y.-Y. (2010). Differential fluctuation in virulence and VOC profiles among different cultures of entomopathogenic fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*, 104(3), 166-171. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2010.03.004>
- Imbriani, M. et Ghittori, S. (2005). Gases and organic solvents in urine as biomarkers of occupational exposure: a review. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 78(1), 1-19. <https://doi.org/10.1007/s00420-004-0544-z>
- Institut canadien de conservation. (2020). *Prévention des moisissures et récupération des collections : lignes directrices pour les collections du patrimoine* (Bulletin technique n° 26). ICC. <https://www.canada.ca/fr/institut-conservation/services/publications-conservation-preservation/bulletins-techniques/prevention-moisissures-recuperation-collection.html#a3ea>
- International Conference on Harmonisation of Technical requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. (2005). *ICH harmonised tripartite guideline: Validation of analytical procedures: Text and methodology* (édition Q2 [R1]). ICH.
- Janasik, B., Jakubowski, M., Wesolowski, W. et Kucharska, M. (2010). Unmetabolized VOCs in urine as biomarkers of low level occupational exposure. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 23(1), 21-26.
- Kaneko, T., Wang, P. Y. et Sato, A. (1994). Partition coefficients of some acetate esters and alcohols in water, blood, olive oil, and rat tissues. *Occupational & Environmental Medicine*, 51(1), 68-72. <https://doi.org/10.1136/oem.51.1.68>
- Kim, J. H., Moon, J. Y., Park, E.-Y., Lee, K.-H. et Hong, Y.-C. (2011). Changes in oxidative stress biomarker and gene expression levels in workers exposed to volatile organic compounds. *Industrial Health*, 49(1), 8-14. <https://doi.org/10.2486/indhealth.MS1112>
- Kim, J. L., Elfman, L., Mi, Y., Wieslander, G., Smedje, G. et Norback, D. (2007). Indoor molds, bacteria, microbial volatile organic compounds and plasticizers in schools: Associations with asthma and respiratory symptoms in pupils. *Indoor Air*, 17(2), 153-163. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2006.00466.x>

- Kim, K.-H., Jahan, S. A. et Kabir, E. (2012). A review of breath analysis for diagnosis of human health. *Trends in Analytical Chemistry*, 33, 1-8.
- Klein, D., Maurer, S., Herbert, U., Kreyenschmidt, J. et Kaul, P. (2018). Detection of volatile organic compounds arising from chicken breast filets under modified atmosphere packaging using TD-GC/MS. *Food Analytical Methods*, 11(1), 88-98. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0978-z>
- Konieczka, P. et Namieśnik, J. (2018). *Quality assurance and quality control in the analytical chemical laboratory: A practical approach* (2^e éd.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315295015>
- Korpi, A., Järnberg, J. et Pasanen, A.-L. (2009). Microbial volatile organic compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, 39(2), 139-193. <https://doi.org/10.1080/10408440802291497>
- Kozicki, M., Wiejak, A., Piasecki, M. et Abram, A. (2019). Identification of MVOCs produced by *Coniophora puteana* and *Poria placenta* growing on WPC boards by using subtraction mass spectra. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(14), article 2499. <https://doi.org/10.3390/ijerph16142499>
- Kruve, A. et Leito, I. (2013). Comparison of different methods aiming to account for/overcome matrix effects in LC/ESI/MS on the example of pesticide analyses. *Analytical Methods*, 5(12), 3035-3044. <https://doi.org/10.1039/C3AY26551J>
- Kuske, M., Romain, A.-C. et Nicolas, J. (2005). Microbial volatile organic compounds as indicators of fungi: Can an electronic nose detect fungi in indoor environments? *Building and Environment*, 40(6), 824-831. <http://dx.doi.org/10.1016/j.buildenv.2004.08.012>
- Lavoie, J., Marchand, G., Pépin, C., Beaudet, Y. et Lachapelle, G. (1997). *Contaminants biologiques dans les centres de traitement des eaux usées* (Rapport n° R-163). IRSST.
- Lawal, O., Ahmed, W. M., Nijssen, T. M. E., Goodacre, R. et Fowler, S. J. (2017). Exhaled breath analysis: A review of “breath-taking” methods for off-line analysis. *Metabolomics*, 13(10), article 110. <https://doi.org/10.1007/s11306-017-1241-8>
- Lemfack, M. C., Gohlke, B. O., Toguem, S. M. T., Preissner, S., Piechulla, B. et Preissner, R. (2018). mVOC 2.0: A database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D1261-D1265.
- Lemfack, M. C., Nickel, J., Dunkel, M., Preissner, R. et Piechulla, B. (2014). mVOC: A database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D744-D748. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1250>
- Lemire, S., Ashley, D., Olaya, P., Romieu, I., Welch, S., Meneses-Gonzalez, F. et Hernandez-Avila, M. (2004). Environmental exposure of commuters in Mexico City to volatile organic compounds as assessed by blood concentrations, 1998. *Salud Pública de México*, 46(1), 32-38.

- Les producteurs de lait du Québec. (2020). *Notre organisation*. <https://lait.org/notre-organisation/les-producteurs-lait-du-quebec/>
- Lord, H. et Pawliszyn, J. (2000). Evolution of solid-phase microextraction technology. *Journal of Chromatography A*, 885(1), 153-193. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00535-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00535-5)
- Marchand, A., Aranda-Rodriguez, R., Tardif, R., Nong, A. et Haddad, S. (2016). Evaluation and modeling of the impact of coexposures to VOC mixtures on urinary biomarkers. *Inhalation Toxicology*, 28(6), 260-273. <https://doi.org/10.3109/08958378.2016.1162232>
- Marchand, G. (2021). Microorganismes et leurs sous-produits. Dans B. Roberge, G. Nadnon, C. Gagné et É. Sirois (édit.), *Hygiène du travail : du diagnostic à la maîtrise des facteurs de risques* (2^e éd., p. 165-196.). Chenelière Éducation.
- Marchand, G., Bonifait, L., Veillette, M., Pépin, C., Beudet, Y., Légaré, É., . . . Cloutier, Y. (2017). *Évaluation des bioaérosols et des composés gazeux émis lors des compostages de résidus agroalimentaires et résidentiels* (Rapport n° R-960). IRSST.
- Maule, A. L., Proctor, S. P., Blount, B. C., Chambers, D. M. et McClean, M. D. (2016). Volatile organic compounds in blood as biomarkers of exposure to JP-8 jet fuel among US Air force personnel. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 58(1), 24-29. <https://doi.org/10.1097/jom.0000000000000611>
- Mendell, M. J., Fisk, W. J., Kreiss, K., Levin, H., Alexander, D., Cain, W. S., . . . Wallingford, K. M. (2002). Improving the health of workers in indoor environments: Priority research needs for a national occupational research agenda. *American Journal of Public Health*, 92(9), 1430-1440. <https://doi.org/10.2105/ajph.92.9.1430>
- Mensah-Attipoe, J. et Täubel, M. (2017). Analysis approaches for fungi in indoor environmental assessments. Dans C. Viegas, S. Viegas, A. Gomes, M. Täubel et R. Sabino (édit.), *Exposure to microbiological agents in indoor and occupational environments* (p. 109-127). Springer International Publishing.
- Milanowski, M., Pomastowski, P., Ligor, T. et Buszewski, B. (2017). Saliva: Volatile biomarkers and profiles. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 47(3), 251-266. <https://doi.org/10.1080/10408347.2016.1266925>
- Mochalski, P., King, J., Klieber, M., Unterkofler, K., Hinterhuber, H., Baumann, M. et Amann, A. (2013). Blood and breath levels of selected volatile organic compounds in healthy volunteers. *Analyst*, 138(7), 2134-2145. <https://doi.org/10.1039/c3an36756h>
- Monedeiro, F., Milanowski, M., Ratiu, I. — A., Zmysłowski, H., Ligor, T. et Buszewski, B. (2019). VOC profiles of saliva in assessment of halitosis and submandibular abscesses using HS-SPME-GC/MS technique. *Molecules*, 24(16), article 2977. <https://doi.org/10.3390/molecules24162977>
- Moosavi, S. M. et Ghassabian, S. (2018). Linearity of calibration curves for analytical methods: A review of criteria for assessment of method reliability. Dans M. T. Stauffer (édit.),
- IRSST ■ Développement de méthodes analytiques pour les composés organiques volatils microbiens (COVM) dans les matrices biologiques : vers l'évaluation des COVM comme biomarqueurs d'exposition aux moisissures

Calibration and validation of analytical methods: A sampling of current approaches.
IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72932>

- Moularat, S., Joblin, Y. et Robine, E. (2012). *Dispositif de détection d'une contamination fongique* (Brevet international n° WO 2012/069752 A1). Organisation mondiale de la propriété intellectuelle.
- Moularat, S., Robine, E., Ramalho, O. et Oturan, M. A. (2008). Detection of fungal development in closed spaces through the determination of specific chemical targets. *Chemosphere*, 72(2), 224-232. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.01.057>
- Mudarri, D. H. (2016). Valuing the economic costs of allergic rhinitis, acute bronchitis, and asthma from exposure to indoor dampness and mold in the US. *Journal of Environmental and Public Health*, 2016, article 2386596. <https://doi.org/10.1155/2016/2386596>
- O'Lenick, C. R., Pleil, J. D., Stiegel, M. A., Sobus, J. R. et Wallace, M. A. G. (2019). Detection and analysis of endogenous polar volatile organic compounds (PVOCs) in urine for human exposome research. *Biomarkers*, 24(3), 240-248. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2018.1548031>
- Ojanperä, I., Pihlainen, K. et Vuori, E. (1998). Identification limits for volatile organic compounds in the blood by Purge-and-Trap GC-FTIR. *Journal of Analytical Toxicology*, 22(4), 290-295. <https://doi.org/10.1093/jat/22.4.290>
- Patil, S. F. et Lonkar, S. T. (1992). Thermal desorption—gas chromatography for the determination of benzene, aniline, nitrobenzene and chlorobenzene in workplace air. *Journal of Chromatography A*, 600(2), 344-351. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85571-A](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85571-A)
- Peng, C.-Y. et Batterman, S. (2000). Performance evaluation of a sorbent tube sampling method using short path thermal desorption for volatile organic compounds. *Journal of Environmental Monitoring*, 2(4), 313-324. <https://doi.org/10.1039/B003385P>
- Perbellini, L., Brugnone, F., Mozzo, P., Cocheo, V. et Caretta, D. (1984). Methyl ethyl ketone exposure in industrial workers uptake and kinetics. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 54(1), 73-81. <https://doi.org/10.1007/BF00378730>
- Pleil, J. D., Stiegel, M. A. et Risby, T. H. (2013). Clinical breath analysis: discriminating between human endogenous compounds and exogenous (environmental) chemical confounders. *Journal of Breath Research*, 7(1), 017107. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/7/1/017107>
- Ras-Mallorquí, M. R., Marcé-Recasens, R. M. et Borrull-Ballarín, F. (2007). Determination of volatile organic compounds in urban and industrial air from Tarragona by thermal desorption and gas chromatography—mass spectrometry. *Talanta*, 72(3), 941-950. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.12.025>

IRSST ■ Développement de méthodes analytiques pour les composés organiques volatils microbiens (COVM) dans les matrices biologiques : vers l'évaluation des COVM comme biomarqueurs d'exposition aux moisissures

- Reboux, G., Bellanger, A. P., Roussel, S., Grenouillet, F. et Millon, L. (2010). Moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées. *Revue des Maladies Respiratoires*, 27 (2), 169-179. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2009.09.003>
- Ribes, A., Carrera, G., Gallego, E., Roca, X., Berenguer, M. J. et Guardino, X. (2007). Development and validation of a method for air-quality and nuisance odors monitoring of volatile organic compounds using multi-sorbent adsorption and gas chromatography/mass spectrometry thermal desorption system. *Journal of Chromatography A*, 1140(1), 44-55. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.062>
- Risticovic, S., Lord, H., Górecki, T., Arthur, C. L. et Pawliszyn, J. (2010). Protocol for solid-phase microextraction method development. *Nature Protocols*, 5(1), 122-139. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.179>
- Risticovic, S. et Pawliszyn, J. (2013). Solid-phase microextraction in targeted and nontargeted analysis: Displacement and desorption effects. *Analytical Chemistry*, 85(19), 8987-8995. <https://doi.org/10.1021/ac4003112>
- Roberts, D. D., Pollien, P. et Milo, C. (2000). Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2430-2437. <https://doi.org/10.1021/jf991116l>
- Rogatsky, E. et Stein, D. (2005). Evaluation of matrix effect and chromatography efficiency: New parameters for validation of method development. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 16(11), 1757-1759. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2005.07.012>
- Romieu, I., Ramirez, M., Meneses, F., Ashley, D., Lemire, S., Colome, S., . . . Hernandez-Avila, M. (1999). Environmental exposure to volatile organic compounds among workers in Mexico City as assessed by personal monitors and blood concentrations. *Environmental Health Perspective*, 107(7), 511-515. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107511>
- Rux, G., Luca, A. et Mahajan, P. V. (2019). Changes in volatile organic compounds in the headspace of modified atmosphere packed and unpacked white sausages. *Food Packaging and Shelf Life*, 19, 167-173. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.12.010>
- Ryan, T. J. et Beaucham, C. (2013). Dominant microbial volatile organic compounds in 23 US homes. *Chemosphere*, 90(3), 977-985. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.06.066>
- Saarinen, L., Hakkola, M., Pekari, K., Lappalainen, K. et Aitio, A. (1998). Exposure of gasoline road-tanker drivers to methyl tert-butyl ether and methyl tert-amyl ether. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 71(2), 143-147.
- Saber, A. N., Zhang, H. et Yang, M. (2019). Optimization and validation of headspace solid-phase microextraction method coupled with gas chromatography–triple quadrupole tandem mass spectrometry for simultaneous determination of volatile and semi-volatile organic compounds in coking wastewater treatment plant. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(7), article 411. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7554-5>

- Sato, A. et Nakajima, T. (1979). A structure-activity relationship of some chlorinated hydrocarbons. *Archives of Environmental Health*, 34(2), 69-75. <https://doi.org/10.1080/00039896.1979.10667371>
- Schieweck, A., Gunschera, J., Varol, D. et Salthammer, T. (2018). Analytical procedure for the determination of very volatile organic compounds (C3–C6) in indoor air. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(13), 3171-3183. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1004-z>
- Schleibinger, H., Laussmann, D., Bornehag, C. G., Eis, D. et Rueden, H. (2008). Microbial volatile organic compounds in the air of moldy and mold-free indoor environments. *Indoor Air*, 18(2), 113-124. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2007.00513.x>
- Schmidt, K. et Podmore, I. D. (2015). Solid phase microextraction (SPME) method development in analysis of volatile organic compounds (VOCs) as potential biomarkers of cancer. *Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis*, 6(6). <https://doi.org/10.4172/2155-9929.1000253>
- Shorter, C., Taubel, M., Pierse, N., Douwes, J., Howden-Chapman, P., Hyvarinen, A. et Crane, J. (2016). Objective assessment of domestic mold contamination using quantitative PCR. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 137(2), 622-624. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.06.039>
- Silva, C. L., Passos, M. et Câmara, J. S. (2011). Investigation of urinary volatile organic metabolites as potential cancer biomarkers by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography-mass spectrometry. *British Journal of Cancer*, 105(12), 1894-1904. <https://doi.org/10.1038/bjc.2011.437>
- Song, H.-N., Kim, C. H., Lee, W.-Y. et Cho, S.-H. (2017). Simultaneous determination of volatile organic compounds with a wide range of polarities in urine by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 31(7), 613-622. <https://doi.org/10.1002/rcm.7827>
- Storer, M., Curry, K., Squire, M., Kingham, S. et Epton, M. (2015). Breath testing and personal exposure: SIFT-MS detection of breath acetonitrile for exposure monitoring. *Journal of Breath Research*, 9(3), article 036006. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/9/3/036006>
- Tabbal, S., El Aroussi, B., Bouchard, M., Marchand, G. et Haddad, S. (2022a). A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood. *Chemosphere*, 296, article 133901. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133901>
- Tabbal, S., El Aroussi, B., Bouchard, M., Marchand, G. et Haddad, S. (2022b). Development and validation of a method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in ambient and exhaled air by thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *Atmosphere*, 13 (9), article 1432. <https://doi.org/10.3390/atmos13091432>

- Tang, Z., Liu, Y. et Duan, Y. (2015). Breath analysis: Technical developments and challenges in the monitoring of human exposure to volatile organic compounds. *Journal of Chromatography B*, 1002, 285-299. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.08.041>
- Tischer, C. G. et Heinrich, J. (2013). Exposure assessment of residential mould, fungi and microbial components in relation to children's health: Achievements and challenges. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 216(2), 109-114. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2012.05.002>
- Töreyin, Z. N., Ghosh, M., Göksel, Ö., Göksel, T. et Godderis, L. (2020). Exhaled breath analysis in diagnosis of malignant pleural mesothelioma: Systematic review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(3), article 1110. <https://doi.org/10.3390/ijerph17031110>
- United States Environmental Protection Agency (1989). *Report to Congress on indoor air quality: Volume 2. Assessment and control of indoor air pollution*. EPA.
- United States Environmental Protection Agency. (1999). *Compendium of methods for the determination of toxic organic compounds in ambient air*. EPA.
- Vainiotalo, S., Kuusimäki, L. et Pekari, K. (2006). Exposure to MTBE, TAME and aromatic hydrocarbons during gasoline pump maintenance, repair and inspection. *Journal of Occupational Health*, 48(5), 347-357.
- Vainiotalo, S., Pekari, K. et Aitio, A. (1998). Exposure to methyl tert-butyl ether and tert-amyl methyl ether from gasoline during tank lorry loading and its measurement using biological monitoring. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 71(6), 391-396.
- Wazeerud-Din, I. J., Silva, L. K., Smith, M. M., Newman, C. A., Blount, B. C. et De Jesús, V. R. (2021). Quantification of seven microbial volatile organic compounds in human serum by solid-phase microextraction gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Chemosphere*, 266, article 128970. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128970>
- Wilkins, C. K. et Larsen, K. (1995). Identification of volatile (micro) biological compounds from household waste and building materials by thermal desorption-capillary gas chromatography-mass spectroscopy. *Journal of High Resolution Chromatography*, 18(6), 373-377. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240180610>
- Woolfenden, E. (1997). Monitoring VOCs in air using sorbent tubes followed by thermal desorption-capillary GC analysis: Summary of data and practical guidelines. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 47(1), 20-36. <https://doi.org/10.1080/10473289.1997.10464411>
- Woolfenden, E. (2010). Sorbent-based sampling methods for volatile and semi-volatile organic compounds in air. Part 2: Sorbent selection and other aspects of optimizing air monitoring methods. *Journal of Chromatogr A*, 1217(16), 2685-2694. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.01.015>
- IRSST ■ Développement de méthodes analytiques pour les composés organiques volatils microbiens (COVM) dans les matrices biologiques : vers l'évaluation des COVM comme biomarqueurs d'exposition aux moisissures

- World Health Organization. (2010). *Guidelines for indoor air quality: Selected pollutants*.
https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0009/128169/e94535.pdf
- Wu, C. — H., Feng, C.-T., Lo, Y.-S., Lin, T.-Y. et Lo, J.-G. (2004). Determination of volatile organic compounds in workplace air by multisorbent adsorption/thermal desorption-GC/MS. *Chemosphere*, 56(1), 71-80.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.02.003>
- Zhang, X., Cheng, Z., Ma, L. et Li, J. (2017). A study on accumulation of volatile organic compounds during ochratoxin a biosynthesis and characterization of the correlation in *Aspergillus carbonarius* isolated from grape and dried vine fruit. *Food Chemistry*, 227, 55-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.061>

ANNEXE A

A.I Figures supplémentaires

Figure A 1 Chromatogramme présentant la séparation des 21 COVM dans le méthanol.

De A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, Appendix A. Supplemental data page 2. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.

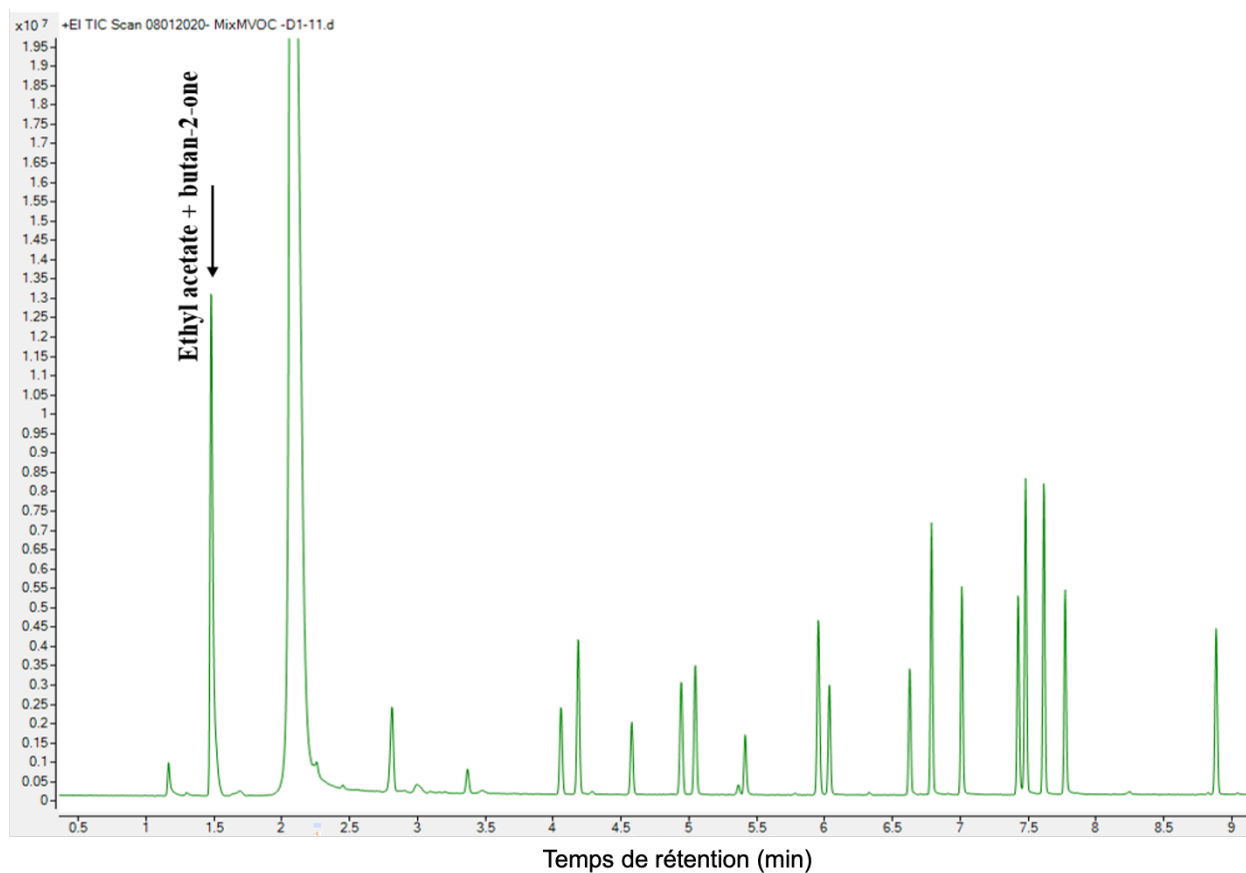
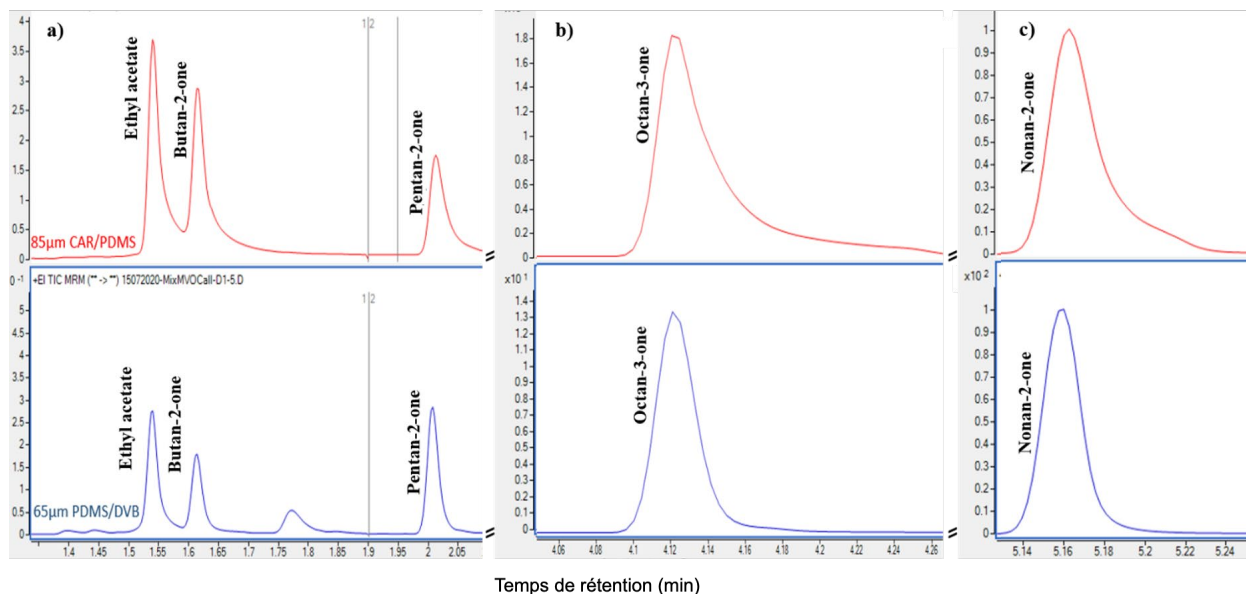


Figure A 2 Forme des pics chromatographiques pour 5 COVM en fonction du type de fibre.

De A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, Appendix A. Supplemental data page 3. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.



IRSST ■ Développement de méthodes analytiques pour les composés organiques volatils microbiens (COVM) dans les matrices biologiques : vers l'évaluation des COVM comme biomarqueurs d'exposition aux moisissures

Figure A 3 Aire des signaux pour les 21 COVM en fonction du temps d'incubation (s) avec : 250 s (temps d'extraction), 50 °C (température d'extraction), 10 s (temps de désorption), 270 °C (température d'injection) et injection en *splitless*.

De A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, page 7. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.

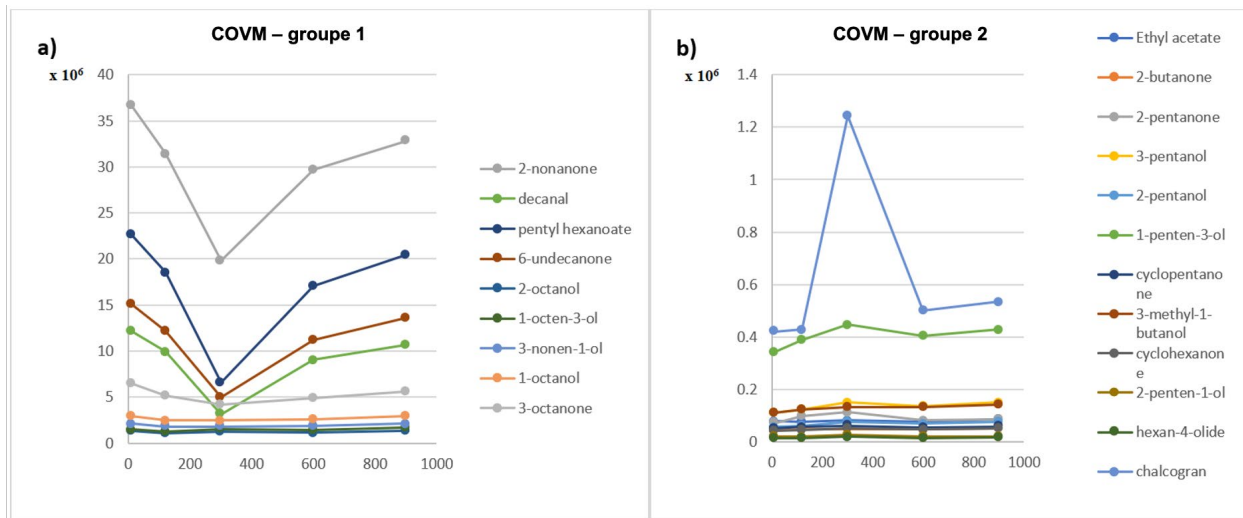


Figure A 4 Aire des signaux pour les 21 COVM en fonction de la température d'extraction (°C) avec : 300 s (temps d'incubation), 600 s (temps d'extraction), 10 s (temps de désorption), 270 °C (température d'injection) et injection en *splitless*.

De A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, page 7. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.

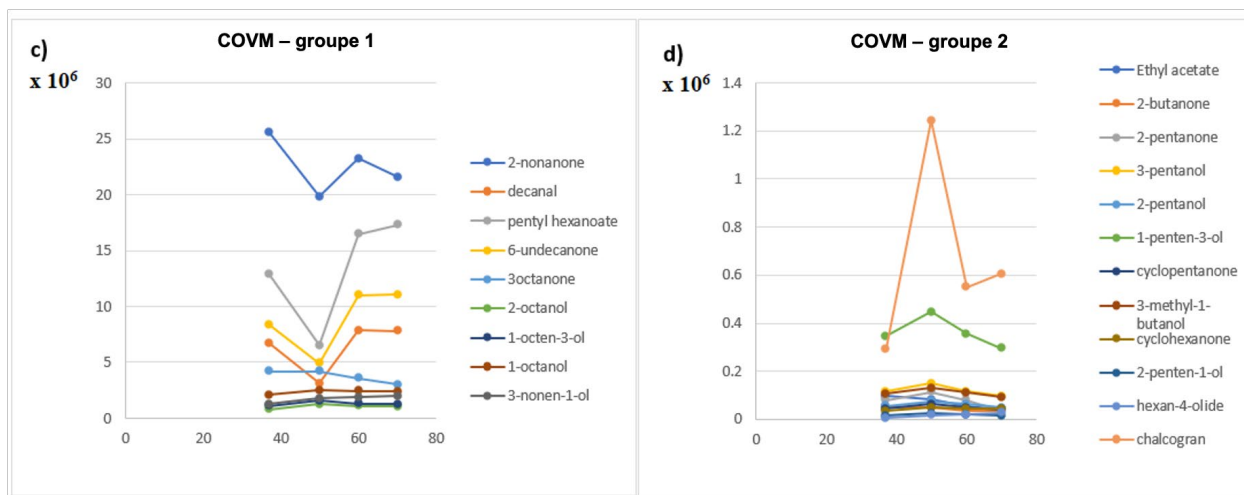


Figure A 5 Aire des signaux pour les 21 COVM en fonction du temps d'extraction (s) avec : 300 s (temps d'incubation), 50 °C (température d'extraction), 10 s (temps de désorption), 270 °C (température d'injection) et injection en *splitless*.

De A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, page 7. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.

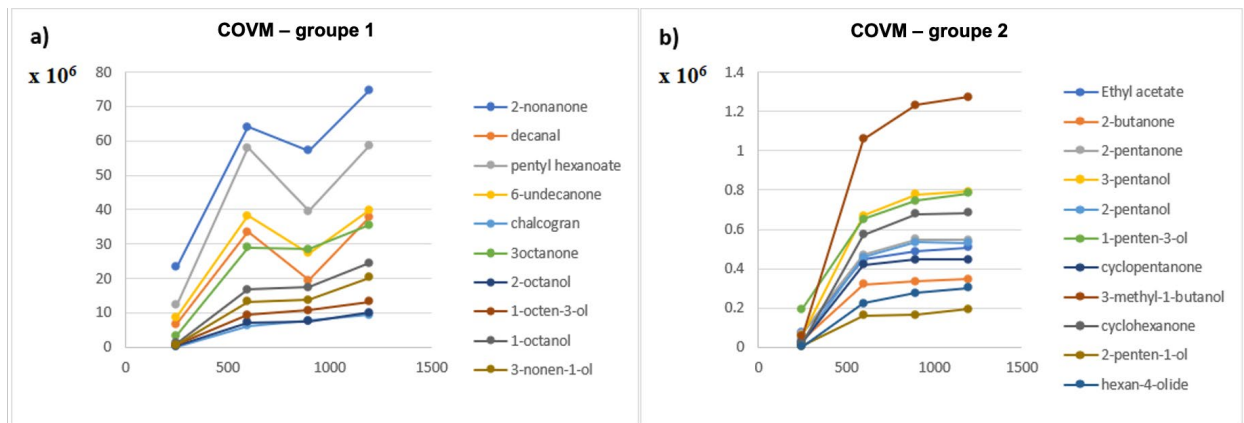


Figure A 6 Aire des signaux pour les 21 COVM en fonction du temps de désorption (s) avec : 300 s (temps d'incubation), 50 °C (température d'extraction), 600 s (temps d'extraction), 270 °C (température d'injection) et injection en *splitless*.

De A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, page 8. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.

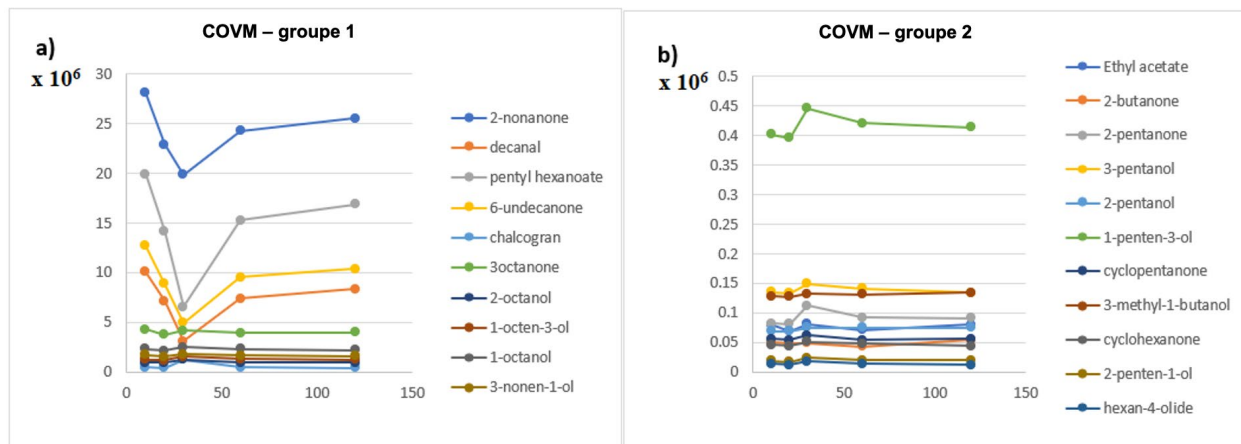


Figure A 7 Aire des signaux pour les 21 COVM en fonction de la température de désorption (°C) avec : 300 s (temps d'incubation), 50 °C (température d'extraction), 600 s (temps d'extraction), 10 s (temps de désorption) et injection en *splitless*.

De *A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood*, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, page 8. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.

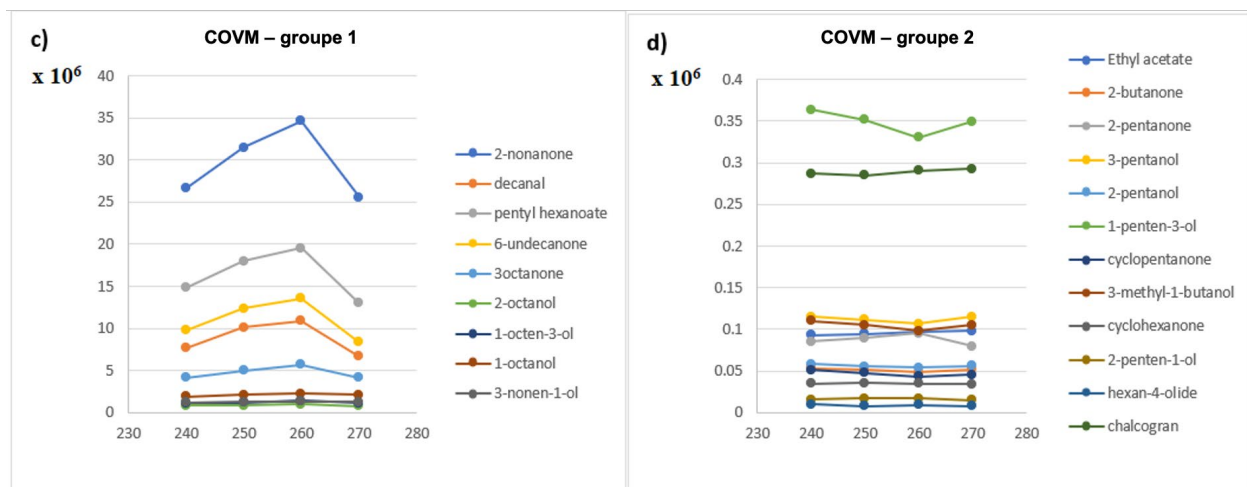


Figure A 8 **Forme du signal pour le nonan-2-one en fonction de la température d'injection (désorption) : 260 (haut) et 270 °C (bas).**

De *A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood*, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Chemosphere*, 296, Appendix A. Supplemental data page 4. © Elsevier, 2022. Reproduit avec permission.

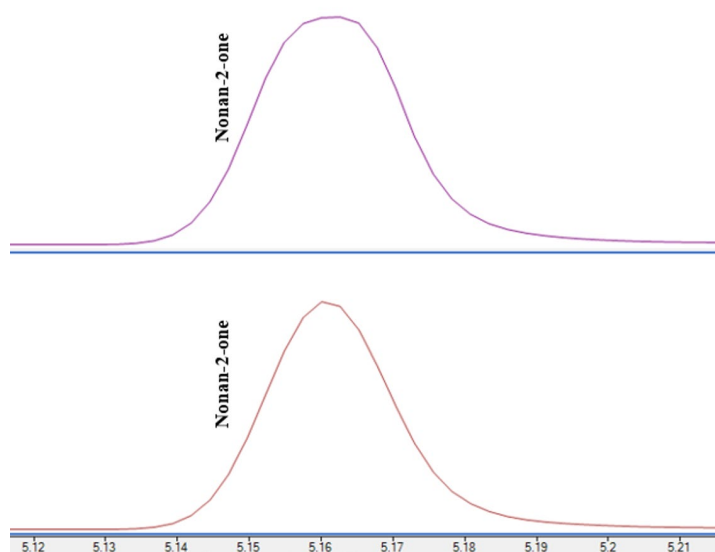


Figure A 9 Chromatogramme montrant la très faible réponse de l'acétate d'éthyle (1) et du butan-2-one (2) relativement aux autres analytes après l'introduction dans le premier tube de 1 µL d'une solution contenant les 21 COVM à 800-1000 mg/L.

Adapté de *Development and validation of a method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in ambient and exhaled air par thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry*, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Atmosphere*, 13(9), article 1432, Supplementary Material page 8. © MDPI, 2022.

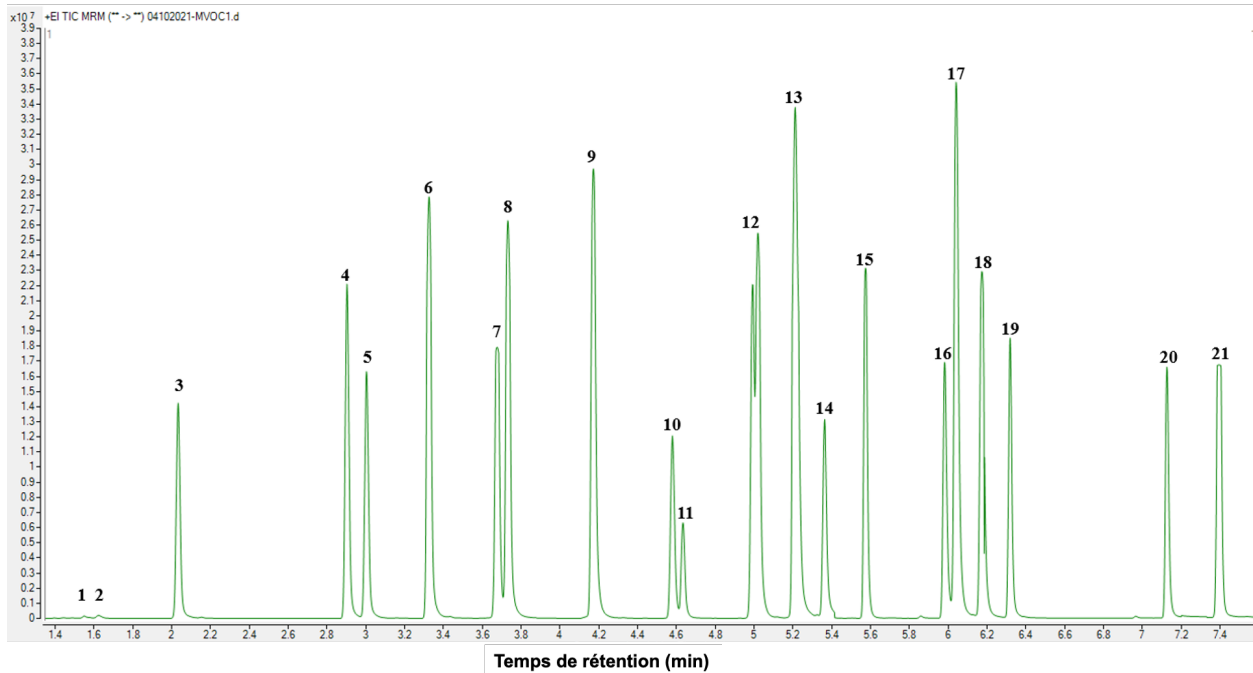
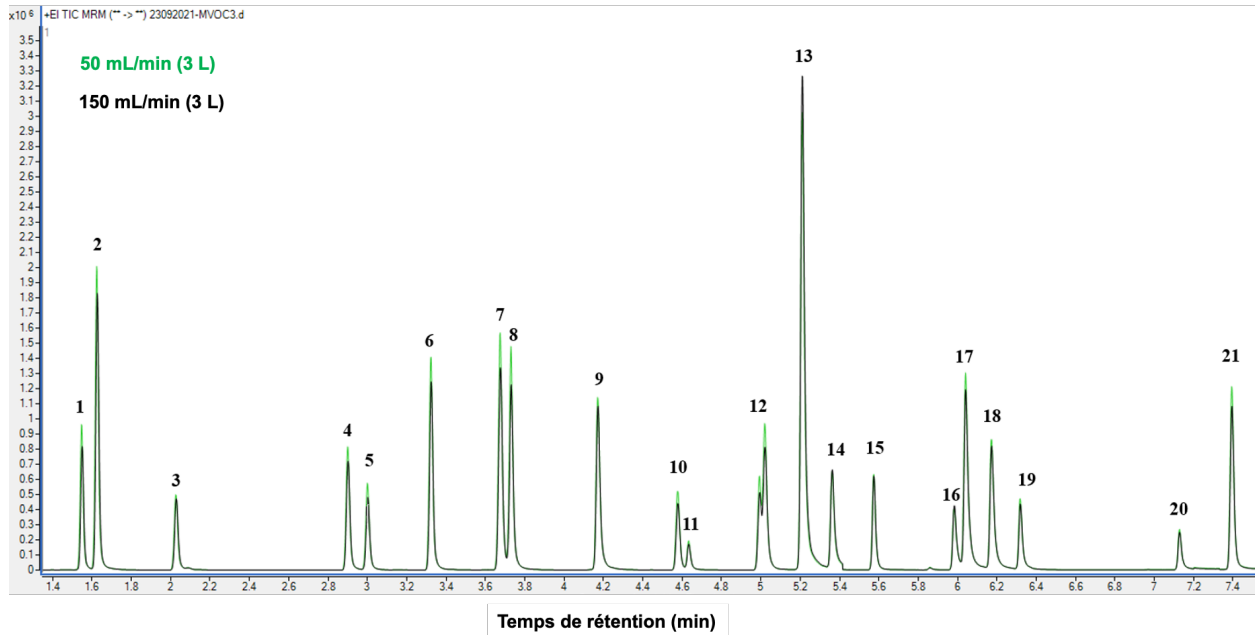


Figure A 10 Chromatogramme montrant l'Influence du débit de prélèvement sur l'extraction des 21 COVM.

Adapté de *Development and validation of a method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in ambient and exhaled air par thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry*, par S. Tabbal, B. El Aroussi, M. Bouchard, G. Marchand et S. Haddad, 2022, *Atmosphere*, 13(9), article 1432, Supplementary Material page 12. © MDPI, 2022.



A.II Tableaux supplémentaires

Tableau A 1 Pourcentage de la réponse dans le tube adsorbant de rattrapage/recouvrement par rapport à la somme des réponses dans les deux tubes (introduction de 1 µL d'une solution contenant les 21 COVM à 800-1000 mg/L)

	3 L			10 L
	50 mL/min	100 mL/min	150 mL/min	150 mL/min
COVM				
Acétate d'éthyle	5,53	4,14	4,46	7,44
Butan-2-one	5,37	6,64	6,02	26,13
Pentan-2-one	0,03	0,04	0,04	0,04
Pentan-3-ol	0,03	0,04	0,04	0,03
Pentan-2-ol	0,03	0,03	0,04	0,02
Pent-1-en-3-ol	0,02	0,03	0,03	0,03
Cyclopentanone	0,20	0,15	0,26	0,13
3-méthylbutan-1-ol	0,04	0,06	0,06	0,04
Octan-3-one	0,03	0,04	0,05	0,05
Cyclohexanone	0,07	0,08	0,09	0,07
Pent-2-en-1-ol	0,02	0,03	0,03	0,03
2-éthyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonane	0,03	0,04	0,04	0,03
Nonan-2-one	0,07	0,09	0,09	0,10
Octan-2-ol	0,05	0,06	0,09	0,06
Oct-1-en-3-ol	0,01	0,01	0,01	0,01
Décanal	0,03	0,04	0,05	0,03
Hexanoate de pentyle	0,05	0,06	0,07	0,05
Undecan-6-one	0,07	0,08	0,09	0,04
Octan-1-ol	0,04	0,05	0,04	0,02
Non-3-en-1-ol	0,03	0,03	0,04	0,03
5-éthylloxolan-2-one	0,24	0,28	0,31	0,29

Tableau A 2 Pourcentage de la réponse dans le tube adsorbant de rattrapage/recouvrement par rapport à la somme des réponses dans les deux tubes (introduction de 1 µL d'une solution contenant les 21 COVM à 40-50 mg/L)

	2 L		3 L			6 L		10 L	
	50 mL/min	100 mL/min	50 mL/min	100 mL/min	150 mL/min	100 mL/min	150 mL/min	100 mL/min	150 mL/min
COVM									
Acétate d'éthyle	0,86	0,31	0,65	0,48	0,31	0,48	0,43	0,71	0,49
Butan-2-one	0,35	0,16	0,25	0,16	0,15	0,25	0,19	0,35	0,22
Pentan-2-one	0,18	0,10	0,13	0,14	0,14	0,09	0,07	0,12	0,13
Pentan-3-ol	0,08	0,07	0,09	0,10	0,12	0,15	0,17	0,12	0,15
Pentan-2-ol	0,11	0,07	0,10	0,13	0,12	0,10	0,15	0,10	0,14
Pent-1-en-3-ol	0,10	0,06	0,08	0,07	0,06	0,12	0,11	0,13	0,10
Cyclopentanone	0,11	0,08	0,07	0,11	0,06	0,08	0,08	0,11	0,10
3-méthylbutan-1-ol	0,15	0,13	0,14	0,12	0,09	0,15	0,12	0,13	0,12
Octan-3-one	0,03	0,05	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cyclohexanone	0,14	0,13	0,16	0,14	0,16	0,17	0,16	0,18	0,19
Pent-2-en-1-ol	0,04	0,03	0,05	0,06	0,07	0,06	0,09	0,10	0,13
2-éthyl-1,6-									
dioxaspiro[4.4]nonane	0,02	0,04	0,02	0,04	0,03	0,05	0,04	0,06	0,03
Nonan-2-one	0,04	0,07	0,07	0,05	0,06	0,08	0,06	0,08	0,11
Octan-2-ol	0,04	0,05	0,05	0,03	0,04	0,05	0,05	0,04	0,09
Oct-1-en-3-ol	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,05	0,07
Décanal	0,11	0,07	0,19	0,23	0,18	0,42	0,25	0,51	0,27
Hexanoate de pentyle	0,02	0,02	0,03	0,06	0,04	0,07	0,11	0,14	0,16
Undecan-6-one	0,06	0,08	0,05	0,14	0,10	0,26	0,15	0,19	0,31
Octan-1-ol	0,13	0,07	0,08	0,14	0,14	0,10	0,13	0,21	0,26
Non-3-en-1-ol	0,06	0,14	0,17	0,74	0,23	0,13	0,43	0,41	0,46
5-éthylloxolan-2-one	0,14	0,28	0,20	0,17	0,19	0,28	0,23	0,20	0,32

Tableau A 3 Résultats de la validation analytique pour l'eau (H-SPME-GC-MS/MS)

COVM	Domaine de linéarité	R ²	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	Basse concentration			Haute concentration			Sensibilité
					% de récupération	Répétabilité (CV %)	Précision intermédiaire (CV %)	% de récupération	Répétabilité (CV %)	Précision intermédiaire (CV %)	
Acétate d'éthyle	LOQ-10,47	0,999	0,1037	0,3143	96	12,67	8,58	99	0,79	0,57	0,46
2-butanone	LOQ-18,24	0,999	0,2299	0,6967	105	1,72	2,77	99	2,53	2,66	0,37
2-pentanone	LOQ-8,95	0,999	0,0738	0,2238	93	1,95	4,20	98	1,63	1,98	0,60
3-pentanol	LOQ-9,12	0,999	0,1036	0,3139	97	2,96	1,67	97	3,18	2,42	0,90
2-pentanol	LOQ-9,02	0,999	0,0448	0,1358	99	1,34	3,34	96	0,77	0,87	0,86
1-penten-3-ol	LOQ-9,89	0,999	0,0458	0,1388	92	7,56	5,41	99	1,22	2,45	1,14
Cyclopentanone	LOQ-10,82	0,999	0,1256	0,3806	92	0,64	0,54	96	3,69	2,66	0,86
3-méthyl-1-butanol	LOQ-18,98	0,999	0,0551	0,1669	81	1,24	3,04	96	0,39	1,20	1,82
3-octanone	LOQ-0,24	0,997	0,0047	0,0145	82	4,91	3,08	100	4,00	4,73	2,74
Cyclohexanone	0,21-5,47	0,999	0,0694	0,2103	100	0,19	1,86	92	0,89	1,40	0,54
2-penten-1-ol	0,34-9,52	0,999	0,1113	0,3375	91	2,65	2,32	98	2,07	3,41	0,15
Chalcogran	0,03-1,32	0,999	0,0115	0,0348	104	3,62	3,71	102	0,72	1,74	15,33
2-nonanone	0,02-1,92	0,999	0,0074	0,0226	101	6,35	4,66	98	0,11	1,27	12,86
2-octanol	LOQ-0,12	0,997	0,0023	0,0071	120	1,61	3,84	98	3,99	2,95	5,47
1-octen-3-ol	LOQ-0,49	0,997	0,0137	0,0415	115	2,15	6,62	87	4,80	4,73	5,53
Décanal	LOQ-1,90	0,999	0,0169	0,0514	99	0,52	4,76	101	1,42	2,47	1,20
Hexanoate de pentyle	LOQ-0,26	0,995	0,0072	0,0219	96	1,43	1,72	120	5,16	4,24	2,41
6-undecanone	LOQ-0,24	0,995	0,0065	0,0199	101	2,13	1,17	119	3,49	4,38	2,96
1-octanol	LOQ-0,24	0,995	0,0063	0,0193	121	8,62	8,56	100	5,65	5,61	8
3-nonen-1-ol	LOQ-0,24	0,996	0,0057	0,0173	113	11,01	10,43	105	6,10	5,53	3,86
Hexan-4-olide	0,12-2,97	0,999	0,0383	0,1161	100	3,91	4,45	108	0,04	3,35	0,38