

THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1

sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

pour le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Chimie

Ecole doctorale : Vie-Agro-Santé

présentée par

Marine Brogat

Préparée dans le cadre du Réseau Doctoral en Santé Publique au Laboratoire d'Etudes et de Recherche en Environnement et Santé Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique SPM

Développement d'une méthode d'extraction et de fractionnement sur multiples phases solides (MSP2E) de micropolluants organiques

Thèse soutenue à Nîmes le 19 mars 2014

devant le jury composé de :

Jean-Luc BOUDENNE Professeur, Université de Provence / rapporteur Thierry NOGUER

Professeur, Université de Perpignan / rapporteur Eric BLIN

Expert Eau Environnement et Littoral, Lyonnaise des Eaux / examinateur

Roger DELMAS Directeur technique, HOCER/ examinateur Olivier THOMAS

Professeur, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique / *examinateur*

Benoît ROIG Professeur, Université de Nîmes / directeur de thèse

Estelle BAURES

Ingénieur de Recherche, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique / *co-directrice de thèse*

Remerciements

A mes grands-parents,

Ce manuscrit est le résultat d'un travail qui aura duré trois ans. Sans la contribution directe et indirecte de nombreuses personnes, il n'aurait pas pu voir le jour.

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire d'Etudes et de Recherche en Environnement et Santé (LERES). Je tiens tout d'abord à remercier Olivier Thomas, professeur au sein de l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP) et directeur du LERES, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, avoir été disponible lors de mes visites en Bretagne et avoir accepté d'être membre du jury.

Cette thèse a été réalisée à Nîmes sous la direction de Benoit Roig et d'Estelle Baurès. Je tiens sincèrement à remercier Benoit Roig pour la confiance qu'il m'a accordée, ses conseils, sa disponibilité permanente, son écoute et son aide lors de la rédaction. Merci à Estelle qui malgré la distance, a toujours été présente en cas de besoin et a été de bons conseils. Je tiens à la remercier pour toute l'aide qu'elle m'a apportée tout au long de ce projet et lors de la rédaction.

Je tiens à remercier HOCER et plus spécialement Roger Delmas, Bertrand Vergne et Goulven Cavalin pour leur support matériel. Merci à Goulven pour l'aide qu'il m'a apportée afin de résoudre les problèmes techniques rencontrés.

Je remercie également les rapporteurs de cette thèse, Jean-Luc Boudenne, Professeur, Université de Provence et Thierry Noguer, Professeur, Université de Perpignan pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Mes remerciements vont également à Eric Blin, Expert eau environnement et littoral à la Lyonnaise des eaux, et Roger Delmas, Directeur technique chez HOCER pour avoir accepté d'être membres du jury.

iii

Merci à ma tutrice de l'Ecole Doctorale, Myriam Bormans, pour ses conseils lors de nos réunions téléphoniques et pour sa participation à mon comité de thèse. Merci également à Evelyne Touraud et à Corinne Le Gal La Salle pour leurs conseils avisés lors du comité de thèse.

Merci également au Réseau Doctoral de l'EHESP qui m'a permis d'acquérir par le biais de formations, des connaissances dans les différents domaines de la santé publique. Merci pour ces rencontres enrichissantes avec les doctorants du réseau.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel du LERES de Rennes qui m'ont toujours accueillie chaleureusement lors de mes visites surprises et de courtes durées. Merci à Sophie DelFrate, Delphine Pellé, Fabien Mercier, Julie Lévêque et Julien Sinquin pour les analyses HPLC. Merci à Véronique Jollé pour l'aide qu'elle m'a apportée lors de l'impression du manuscrit. Merci aux autres doctorants du LERES pour m'avoir toujours très bien accueillie dans leur bureau.

Merci à mes collègues et partenaires de bureau à Nîmes. Axelle, merci pour tes conseils et ton soutien tout au long de mon travail. Je sais que je peux compter sur toi. Amélie, de l'eau a coulé sous les ponts depuis ton premier jour de stage, merci pour ton aide et ton soutien, ainsi que pour le badminton et les sorties variées (surtout cinématographiques) du week-end. Un grand merci à toutes les deux, mes partenaires de bureau, de galère, et d'éclats de rire... Je tiens à remercier les stagiaires qui sont restés plus ou moins longtemps parmi nous et qui ont participé à la vie du laboratoire. Merci à Mathieu, Marie, Elsa et Manon.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel du site des Carmes de l'université de Nîmes qui m'ont chaleureusement accueillie.

Mes derniers remerciements s'adressent à ma famille et tout particulièrement à mes parents et à mon frère, Valère. Je ne les remercierai jamais assez pour tout ce qu'ils m'ont apporté et pour leur présence à distance mais permanente. Un grand merci. Maman, tu es et tu resteras toujours le pilier de notre famille. Jackie et Jeannot, merci pour m'avoir hébergée pendant mon premier mois

d'aventure nîmoise. Merci pour votre présence.

A ma grand-mère, à qui je pense chaque jour, je n'oublierai jamais son optimisme permanent et tous ces moments de complicité. Mémé, je ne t'oublierai jamais.

Table des matières

Remerciements	i
Listes des tableaux et des figures	
Liste des tableaux	xi
Liste des figures	xiii
Partie 1	
Contexte et état de l'art	6
1 Costion do la gualité globalo do l'oqu	7
1.1. Cadre iuridique et réglementaire	7
1.1.1. Contexte environnemental	7
1.1.1.1. Législation européenne	7
1.1.1.2. Législation française	10
1.1.2. Contexte sanitaire	14
1.1.2.1. Législation européenne	14
1.1.2.2. Législation française	14
1.1.2.3. Du captage au consommateur	16
2. Pollution ponctuelle des eaux	18
2.1. Définition des pollutions	. 18
2.2. Inventaire des pollutions ponctuelles des eaux	. 19
2.3. Législation française relative aux pollutions accidentelles ou intentionnelles	23
2.4. Besoin de méthodes sur site	27
2 Máthadas da surveillance de la qualité des eaux sur site	20
5. Methodes de sui velliance de la quante des eaux sui site	
3.1. Definition des methodes à analyse sur site	
2.2.1 Daramètres chimiques	
3.2.1. Parallettes cliningues	33
3.2.1.1. La demande chimique en oxygène	
3.2.1.3. Le carbone organique total	36
3.2.1.4. L'azote total	36
3.2.1.5. Le phosphore total	37
3.2.2. Les paramètres physiques	37
3.2.2.1. La température	37
3.2.2.2. Le potentiel hydrogène	37
3.2.2.3. La conductivité	37
3.2.2.4. L'oxygène dissous	38
3.2.2.5. La turbidite	38 20
2.2.2.0. Les matters en suspension	30
chimiques sur site	20
3 3 Surveillance et identification de la toxicité d'une eau	<u></u>
3.3.1 Dispositifs basés sur l'utilisation de poissons mollusques bivalves et crustacés	45
3 3 1 1 Dispositifs basés sur l'activité locomotrice des poissons et des crustacés	45
3.3.1.2. Dispositif basé sur la capacité électrogène des poissons et des élastices internet des poissons	47
3.3.1.3. Dispositif basé sur le comportement des mollusques bivalves	47
3.3.2. Dispositifs basés sur l'emploi d'algues et de bactéries	48
3.3.2.1. Dispositifs basés sur la luminescence algale	48
3.3.2.2. Dispositifs basés sur la luminescence bactérienne	48
3.3.3. Dispositifs basés sur l'utilisation d'organismes modifiés	49

2.4 Identification de misseur ellerente enconience	F 4
3.4. Identification de micropoliuants organiques	54 opolluants
organiques	54
3.4.2. Spectrophotométrie infrarouge et UV	
3.4.3. Chromatographie gazeuse	56
3.4.4. Les échantillonneurs passifs	56
4. Extraction sur phase solide (SPE)	62
4.1. Principe de la SPE	
4.1.1. Phases à base de silice	66
4.1.2. Phases polymériques	
4.1.3. Superposition de phases solides	75
4.2. Polymeres a empreinte moleculaire (PEM)	
4.5. Dispositins SPE et SPME utilises sur site	//
5. Conclusion	81
Partie 2	
Matériel et méthodes	
4 M(4) - J-1	
1. Methodologie	83 02
1.1. Methodologie generale 1.2. Méthodologie de développement	
1.2. Methodologie de developpement	
2. Substances	
2.1. Preparation des solutions meres	
2.2. Matrices	89 00
3. Banque de données spectrales	
3.1. LOgiciel	
4. Extraction sur phase solide	
4.1. Cartouches a extraction sur phase solide	
4.1.1. Callouches commerciales	
4.1.3. Cartouches fabriquées au laboratoire	
4.1.4. Conditionnement des phases solides	96
4.2. Solvants utilisés	
4.3. Evolution du matériel développé	
4.3.1. Système de pré-diagnostic terrain	
4.3.2. Concentrateur	
4.3.2.1. Materier	
4.3.2.3. Spectrophotomètre UV-Visible	
4.3.3. Analyseur	
4.3.3.1. Matériel	
4.3.3.2. Logiciel de pilotage de l'analyseur	
5. Analyses par HPLC/MS	112
Partie 3	
Résultats	115
1. Introduction	
2. Développement de la méthode MSP2E	

21.1. Phases solides commerciales étudiées 123 21.2. Performances d'extraction et de sélectivité des phases solides testées 125 21.2.1. Rétention des molécules d'intérêt à pH 6,2 129 21.2.2. Influence de la modification du pH sur la rétention des molécules anioniques 130 21.3. Sélection de 2 phases solides 131 21.4. Etude de la confection manuelle des cartouches 133 22. Choix des éluants 134 22.1. Nécletion des solvants 134 22.1. Détermination expérimentale des « cut-off » 135 22.1. Etude viscosité des solvants 136 22.2. Détermination des éluants optimaux 137 22.2.1 Etuants optimaux de la phase Oasis-HLB 138 22.2.2. Eluants optimaux de la phase Strata-SAX 140 22.2.3. Choix des volumes minimaux d'élution 152 23.4 Approche prédictive ur 44 molécules 156 2.3.2.1. Résultats obtenus pour la cartouche dais-HLB 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche dais-HLB 157 2.3.2.1. Résultats obtenus pour la c	2.1. Identification des phases solides	
2.1.2. Performances d'extraction et de sélectivité des phases solides testées	2.1.1. Phases solides commerciales étudiées	123
21.2.1. Rétention des molécules d'intérêt à pH 6.2. 129 21.3. Sélection de 2 phases solides 131 2.1.4. Etude de la modification du pH sur la rétention des molécules anioniques 133 2.1.5. Sélection de 2 phases solides 134 2.2. Choix des éluants 134 2.2. Invis des éluants 134 2.2.1. Détermination expérimentale des « cut-off » 135 2.2.1.2. Miscibilité et viscosité des solvants 136 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB 138 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB 138 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB 134 2.2.3. Choix des volumes minimaux d'élution 152 2.3. Approche prédictive sur 44 molécules 154 2.3.1. Résultats obtenus pour la cartouche Sist-HLB 157 2.4. Du concentrateur vers l'analyseur 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Volumes des ovants facessaires 164 2.4.2. Volumes des solvants facessaires 162 2.4.2.1.	2.1.2. Performances d'extraction et de sélectivité des phases solides testées	125
2.1.2. Influence de la modification du pH sur la rétention des molécules anioniques 130 2.1.3. Sélection de 2 phases solidés 131 2.1.4. Etude de la confection manuelle des cartouches 133 2.2. Choix des éluants 134 2.1.1. Détermination expérimentale des cartouches 133 2.2.1. Miscibilité et viscosité des solvants 136 2.2.2. Détermination expérimentale des cut-off » 138 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB 154 2.3. Approche prédictive sur 44 molécules 156 2.3.1. Asita botenus pour la cartouche Strats-SAX 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Strats-SAX 157 2.4.1. Du concentrateur vers l'analyseur 160 2.4.2. Volution de l'appareillage 161 2.4.2. Volution du logiciel de pilotage 162 2.5. Elaboratio de el a banque de donnéess spectrales <td>2.1.2.1. Rétention des molécules d'intérêt à pH 6,2</td> <td>129</td>	2.1.2.1. Rétention des molécules d'intérêt à pH 6,2	129
2.1.3. Sélection de 2 phases solides 131 2.1.4. Etude de la confection manuelle des cartouches 133 2.2. Choix des éluants 134 2.2.1. Pré-sélection des solvants 134 2.2.1. Détermination expérimentale des cut-off » 135 2.2.2. Détermination expérimentale des cut-off » 136 2.2.2. Détermination expérimentale des cut-off » 136 2.2.2. Détermination expérimentale des cut-off » 138 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Osis-HLB 138 2.2.2. Choix des volumes minimaux d'élution 152 2.3. Approche prédictive sur 44 molécules 156 2.3.2. Approche prédictive sur 44 molécules 156 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Osis-HLB 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 162 2.4.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.2. Volumes de logicid de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules ans l'eu ultra pure 172 <td>2.1.2.2. Influence de la modification du pH sur la rétention des molécules anioniques</td> <td>130</td>	2.1.2.2. Influence de la modification du pH sur la rétention des molécules anioniques	130
2.1.4. Etude de la confection manuelle des cartouches. 133 2.2. Choix des éluants 134 2.2.1. Pré-sélection des solvants. 134 2.2.1. Détermination expérimentale des « cut-off » 135 2.2.1. Miscibilité viscosité des solvants. 136 2.2.2. Détermination des éluants optimaux 137 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB 138 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB 140 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB 140 2.2.2. Choix des volumes minimaux d'élution 152 2.3. Approche prédictive sur 44 molécules 154 2.3.1. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Casis-HLB 157 2.3.4. Durce des procédures analytiques 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 162 2.4.4.4. Protocole 164 2.4.5.4. Durée des procédures analytiques 162 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 172 2.7.1. Mélang	2.1.3. Sélection de 2 phases solides	
2.2. Choix des éluants 134 2.2.1. Pré-sélection des solvants 134 2.2.1.1. Détermination expérimentale des « cut-off » 135 2.2.1.2. Miscibilité et viscosité des solvants 136 2.2.2. Détermination des éluants optimaux 137 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB 138 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB 138 2.2.2. Choix des volumes minimaux d'élution 152 2.3. Approche prédictive 154 2.3.1. Choix du log P 154 2.3.2. Approche prédictive sur 44 molécules 156 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Gasis-HLB 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Gasis-HLB 157 2.4.3. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Protocole 162 2.4.2. Volumes de solvants nocessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 172 3.1. Caractéristiques physico-chimiques de	2.1.4. Etude de la confection manuelle des cartouches	133
2.2.1. Pré-sélection des solvants. 134 2.2.1.2. Miscibilité et viscosité des solvants. 135 2.2.2. Détermination expérimentale des « cut-off » 135 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oais-HLB. 138 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oais-HLB. 138 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Oais-HLB. 138 2.2.2. Choix des volumes minimaux d'élution 154 2.3. Approche prédictive 154 2.3.1. Choix du log P 154 2.3.2.1. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2.2. Résultats obtenus pour la cartouche Casis-HLB 157 2.3.4. Protocole 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Volumes de solvants nécessaires 162 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 162 2.4.4.3. Evolution du logiciel de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7.1. Mélange de Sonócducas alvitques 172 2.7.1. Mélange de Sonócducas alvit que que 172 2.7.1. Mélange de Sonócducas alvit que que 172 2.7.1. Mélange de Sonócducas alvit que que 173 3.2. Simulation d'une pollution ac	2.2. Choix des éluants	134
22.11. Détermination expérimentale des « cut-off »	2.2.1. Pré-sélection des solvants	
2.2.1.2. Miscibilité et viscosité des solvants 136 2.2.2. Détermination des éluants optimaux 137 2.2.2.1. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB 138 2.2.2.2. Eluants optimaux de la phase Strata-SAX 140 2.2.2.3. Choix des volumes minimaux d'élution 152 2.3. Approche prédictive sur 44 molécules 154 2.3.1. Choix du log P. 154 2.3.2. Approche prédictive sur 44 molécules 156 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB 157 2.4.2. Portocole 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 </td <td>2.2.1.1. Détermination expérimentale des « cut-off »</td> <td></td>	2.2.1.1. Détermination expérimentale des « cut-off »	
2.2.2. Determination des éluants optimaux 137 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Øsis-HLB. 138 2.2.2. Eluants optimaux de la phase Øsis-HLB. 140 2.2.2.3. Choix des volumes minimaux d'élution 152 2.3. Approche prédictive 154 2.3. Approche prédictive sur 44 molécules 154 2.3.1. Choix du log P. 154 2.3.1. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB 157 2.3.4. Du concentrateur vers l'analyseur 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.4.2. Volumes de détection 170 2.7. Estimation des limites de détection 170 2.7. Estimation des limites de détection 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2. Simulation d'une pollution avec la dultra pure 177 3.1. Simulation d'une pollut	2.2.1.2. Miscibilité et viscosité des solvants	
2.2.2.1 Eluants optimatik de la phase Crasta-SAX 140 2.2.2.2 Eluants optimatik de la phase Strata-SAX 140 2.2.3. Choix des volumes minimaux d'élution 152 2.3. Approche prédictive 154 2.3.1 Choix du log P 154 2.3.2. Approche prédictive sur 44 molécules 156 2.3.2.1 Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2.2 Résultats obtenus pour la cartouche Casis-HLB 157 2.3.2.2 Résultats obtenus pour la cartouche Casis-HLB 157 2.3.2.2 Résultats obtenus pour la cartouche Casis-HLB 157 2.4.2.1 Durée des procédures analytiques 162 2.4.2.1 Durée des procédures analytiques 162 2.4.2.1 Durée des procédures analytiques 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation de si limites de détection 170 2.7.1 Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 <td>2.2.2. Determination des eluants optimaux</td> <td></td>	2.2.2. Determination des eluants optimaux	
2.2.2.3 Choix des volumes minimaux d'étapines strata-SAX 140 2.3.4 Approche prédictive 154 2.3.1 Choix du log P 154 2.3.2 Approche prédictive sur 44 molécules 156 2.3.2.1 Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2.2 Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB 157 2.3.2.1 Du concentrateur vers l'analyseur 160 2.4.1 Evolution de l'appareillage 161 2.4.2.1 Durée des procédures analytiques 162 2.4.2.1 Protocole 162 2.4.2.2 Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3 Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5.5 Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6 Estimation des limites de détection 170 2.7.1 Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 174 3.4 Applications et optimisations 177 3.1 Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2.1 Simulation d'une	2.2.2.1. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB	138 140
2.3. Approche prédictive 154 2.3.1. Choix du log P 154 2.3.1. Choix du log P 154 2.3.1. Choix du log P 154 2.3.2. Approche prédictive sur 44 molécules 156 2.3.1. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB 157 2.3.1. Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB 157 2.4.2. Protocole 160 2.4.1. Durée des procédures analytiques. 162 2.4.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.1. Garactéristique a louge de dans une eau naturelle 178 3.2. Simulation d'une pollution avec de diuron 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec de charge des carotuches Strata-SAX 187	2.2.2.2. Entailts optimiaux de la pliase strata-SAX	140
2.3.1. Choix du log P. 154 2.3.2. Approche prédictive sur 44 molécules 156 2.3.2.1. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Casis-HLB 157 2.4. Du concentrateur vers l'analyseur 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Protocole 162 2.4.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2. Simulation d'une pollution avec de duicon 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec de de consommation 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 183 3.4. Milange de pourcentages d'extraction 196 3.4.2. Influence de la matrice sura la carbouche Strata-SAX 186 </td <td>2.3. Annroche nrédictive</td> <td>154</td>	2.3. Annroche nrédictive	154
2.3.2. Approche prédictive sur 44 molécules 156 2.3.2.1. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2.2. Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB 157 2.3.2.2. Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB 157 2.4. Du concentrateur vers l'analyseur 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Protocole 162 2.4.2.1. Durée des procédures analytiques 162 2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2.1. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques.178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron 3.4.1. Mélange de 5 molécules dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX	231 Choix du log P	154
2.3.2.1. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX 157 2.3.2. Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB 157 2.4. Du concentrateur vers l'analyseur 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Potocole 162 2.4.2.1. Durée des procédures analytiques 162 2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 166 2.5. Elaboration de limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.1. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques. 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 <td>232 Approche prédictive sur 44 molécules</td> <td>156</td>	232 Approche prédictive sur 44 molécules	156
2.3.2.2. Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB 157 2.4. Du concentrateur vers l'analyseur 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Protocole 162 2.4.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.2. Volumes de solvants nécessaires 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau actorches Strata-SAX 186 3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.3. D	2.3.2.1 Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX	
2.4. Du concentrateur vers l'analyseur 160 2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Protocole 162 2.4.2.1. Durée des procédures analytiques 162 2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires 166 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX 186 3.4.2.3. Dopage d'une	2.3.2.2. Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB	
2.4.1. Evolution de l'appareillage 161 2.4.2. Protocole 162 2.4.2.1. Durée des procédures analytiques 162 2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2.1. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau acrouche Strata-SAX 188 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouch	2.4. Du concentrateur vers l'analyseur	
2.4.2. Protocole 162 2.4.2.1. Durée des procédures analytiques. 162 2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure. 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices. 177 3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.4. Mise en évidence de l'effet matrice 183 3.4. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 <td< td=""><td>2.4.1. Evolution de l'appareillage</td><td> 161</td></td<>	2.4.1. Evolution de l'appareillage	161
2.4.2.1. Durée des procédures analytiques 162 2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions 190 3.4.2	2.4.2. Protocole	162
2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires 164 2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange plus complexe de pesticides dans l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec lu diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des carbuches Strata-SAX 187 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des carbuches Strata-SAX 188 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de consommation avec 2 molécules <	2.4.2.1. Durée des procédures analytiques	162
2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage 165 2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX 188 3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions 190 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196	2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires	164
2.5. Elaboration de la banque de données spectrales 167 2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques. 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 188 3.4.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions 190 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.4.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198	2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage	165
2.6. Estimation des limites de détection 170 2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX 188 3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la consommation anons 190 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction 19	2.5. Elaboration de la banque de données spectrales	
2.7. Etude de molécules en mélange 172 2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX 188 3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la consommation avec 2 molécules 190 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 196 4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction 196 4.2. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198 5. Conclusion 201	2.6. Estimation des limites de détection	
2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure. 172 2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure. 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices. 177 3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques .178 3.2.1. 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron. 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions 190 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction 196 4.2.	2.7. Etude de molécules en mélange	172
2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure. 174 3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices. 177 3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques. 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron. 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2.1. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX 188 3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198	2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure	172
3. Applications et optimisations 177 3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices 177 3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques. 178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron 178 3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation en anions 190 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198 5. Conclusion 201 Partie 4 202 1. Introduction 202	2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure	
3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices	3. Applications et optimisations	177
3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques.178 3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron	3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices	
3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron	3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiqu	ues.178
3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine 179 3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions 190 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198 5. Conclusion 201 Partie 4 Application à la matrice urinaire 202 1. Introduction 203	3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron	
3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle 183 3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX 187 3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions 190 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 196 4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction 196 4.2. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198 5. Conclusion 201 Partie 4 Application à la matrice urinaire 202 1. Introduction 203	3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine	
3.4. Mise en évidence de l'effet matrice 185 3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX 188 3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions 190 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198 5. Conclusion 201 Partie 4 Application à la matrice urinaire 202 1. Introduction 203	3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle	
3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation 185 3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX 187 3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX 188 3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions 190 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction 196 4.2. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198 5. Conclusion 201 Partie 4 Application à la matrice urinaire 202 1. Introduction 203	3.4. Mise en évidence de l'effet matrice	
3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX	3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation	185
3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX	3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX	
3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions 190 3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules 192 3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction 196 4.2. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198 5. Conclusion 201 Partie 4 Application à la matrice urinaire 202 1. Introduction 203	3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX	
3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules	3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions	190
3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe 194 4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction 196 4.2. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198 5. Conclusion 201 Partie 4 202 1. Introduction 203	3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules	
4. Etude des pourcentages d'extraction 196 4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction 196 4.2. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198 5. Conclusion 201 Partie 4 202 1. Introduction 203	3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe	194
4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction 196 4.2. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation 198 5. Conclusion 201 Partie 4 202 1. Introduction 203	4. Etude des pourcentages d'extraction	196
4.2. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation	4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction	
5. Conclusion	4.2. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation	
5. Conclusion		0.04
Partie 4 Application à la matrice urinaire202 1. Introduction	5. Conclusion	201
Application à la matrice urinaire	Partie 4	
Application a la matrice urinaire		0.00
1. Introduction	Application à la matrice urinaire	202
	1. Introduction	203

2. Composition de la matrice urinaire	203
3. Substances sélectionnées lors de l'application de la méthode MSP2E à l'un	ine
humaine	206
3.1. Choix des pesticides	207
3.2. Choix des produits pharmaceutiques	208
3.3. Choix des molécules donantes	209
3.4. Spectres UV des substances d'intérêt	210
4. Optimisation de la méthode MSP2E adaptée à la matrice urinaire suivie d	'une
analyse par spectrophotométrie UV	212
4.1. Dilution de la matrice	212
4.2. Intérêt de la cartouche Strata-SAX	215
4.3. Evolution des éluants	216
4.4. Optimisation des volumes d'élution	217
4.5. Fractionnement des molécules	218
4.6. Pourcentages d'extraction	221
4.7. Concentrations dans les urines	222
5. Conclusion	223
Conclusion générale	224
Références bibliographiques	229
Annexes	257
Annexe 1 : Liste des valorisations scientifiques	258
Annexe 2 : Publication 1	259
Annexe 3 : Publication 2	268
Annexe 4 : Publication 3	277
Annexe 5 : Avantages et inconvénients des appareils répertoriés pour l'analyse de	S
paramètres physico-chimiques et de la toxicité	297
Annexe 6 : Molécules étudiées avec leurs caractéristiques physico-chimiques	304
Annexe 7 : Pureté des molécules étudiées	314
Annexe 8 : Détermination des volumes minimaux d'élution sur le concentrateur	
Annexe 9 : Du concentrateur à l'analyseur (schémas détaillés des séquences)	317
Annexe 10 : Séquences pour le pilotage du concentrateur et de l'analyseur	332

Listes des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Tableau 1 : NQE de certaines substances de la liste des 33 substances prioritaires (adapté de l'annexe I de	la
directive 2008/105/CE)	8
Tableau 2 : Liste des 18 substances faisant l'objet d'un programme national de réduction (Arrêté, 2005) (*:
spécialement le 3,4-benzopyrène et le 3,4-benzofluoranthène)	12
Tableau 3 : Limites de qualité des eaux de surface utilisées pour la production d'eau destinée à la	
consommation humaine (G : valeur guide ; I : valeur limite impérative) (Arrêté, 2007)	15
Tableau 4 : Critères pris en compte lors de l'analyse d'un accident (d'après ARIA, 2013)	21
Tableau 5 : Dispositifs commerciaux utilisables sur site pour déterminer les paramètres physico-chimique	e, la
toxicité et détecter des micropolluants organiques dans l'eau	32
Tableau 6 : Dispositifs sur site permettant de déterminer les paramètres physico-chimiques	41
Tableau 7 : Concentrations (μg/L) des pesticides qui déclenchent l'alarme du DaphToxII (BBE)	46
Tableau 8 : Limites de détection du Musselmonitor pour les moules d'eau douce vis-à-vis de pesticides et d	е
phénols	48
Tableau 9 : Méthodes sur site de surveillance et d'identification de la toxicité	51
Tableau 10 : Avantages et inconvénients des phases solides à base de silice et polymériques	65
Tableau 11 : Phases commerciales à base de silice pour l'extraction de micropolluants organiques dans le	S
matrices aqueuses	67
Tableau 12 : Phases commerciales polymériques hydrophobes et hydrophiles pour l'extraction de	-
micropolluants organiques dans les matrices aqueuses	70
Tableau 13 : Phases commerciales polymériques mixtes ioniques pour l'extraction de micropolluants	-
organiques dans les matrices aqueuses	73
Tableau 14 : Méthodes et analyseurs se basant sur une extraction SPE ou SPME et utilisables sur site	80
Tableau 15 : Liste des molécules étudiées (* : molécules faisant parties du mélange complexe de pesticides	<i>iJ</i> 86
Tableau 16 : Molecules appartenant à chacune des solutions preparees par le laboratoire accredite du LE	RES
	88
Tableau 17 : Concentrations ioniques aes eaux minerales (* : Limite ae aetection)	89
l ableau 18 : Conditionnement des phases solides commerciales et fabriquees au laboratoire Tableau 10 : Cabarata atilis (a su assure de l'étude	96
l ableau 19 : Solvants utilises au cours de l'étude Tableau 20 : Canactéristiques des prostrophotomètres IIV visible pour la canactérisation	9/
Tableau 20 : Caracteristiques des spectrophotometres 0 v-visible pour la caracterisation Tableau 21 : Canactéristiques anglistiques des semposés étudiés (ions et tension de sêns)	104
Tableau 21 : Caracteristiques analytiques des composes etudies (tons et tension de cone) Tableau 22 : Dronriétés des composés étudiés ()	114
Tubleau 22 : Proprietes des composes etadies (A _{max} correspond dux longueurs à onde à absorbance	176
muximules) Tableau 22 : Canacitá do rátontion dos diffárontos cartouchos commercialos (los nourcontagos do rátontio	120 n
rubieuu 25. Cupucité de recention des différences curtouches commerciales (les pour centages de recentio	п
2013)	120
Tablaau 24 : Effat du nH sur la rótantion sur la nhasa solida Strata-SAY (las nourcontagos da rótantion sor	12) nt
ranrásantás nar das carclas · · < 25% · >75%)	120
Tahlaau 25 · Ftude de la masse de la nhase solide des cartouches (ma)	130
Tableau 26 : Etude du tassaae de la phase solide lors du placement sur le concentrateur (cm)	122
Tableau 27 : Présentation des 5 molécules modèles	135
Tableau 28 · Molécules percolées individuellement nour tester l'approche prédictive (* · molécules	157
anioniauos)	156
unioniques) Tableau 29 · Evolution des volumes de solvants et de déchets générés	164
Tableau 20 : L'hollós des commandes des séquences nour le concentrateur et l'analyseur	165
Tableau 30 : Elbenes des commandes des sequences pour le concentrateur et l'analysear Tableau 31 : Estimation des limites de détection nour chaque molécule et en fonction de leur fraction	105
d'élution	171
Tableau 32 : Concentrations des molécules obtenues dans l'échantillon initial à nartir des concentrations	1/1
déterminées dans chacune des fractions nar le logiciel de déconvolution (nd · non déterminé signifie que l	o
modèle correspondant n'a pas été utilisé pour la fraction considérée)	173
Tableau 33 : Caractéristiques physico-chimiaues (nitrates et COT) des matrices étudiées	177
Tableau 34 · Comparaison des pourcentaaes d'extraction du diclofénac anrès percolation sur une pré-	1//
cartouche soit commerciale soit fabriauée au laboratoire	189
Tableau 35 : Différents résultats entre l'eau de Plancoët et l'eau de Roche	191
Tableau 36 : % d'extraction nour chacun des nesticides et dans les différentes matrices étudiées (* · moléc	ules.
anioniaues : nd : nas présent dans l'échantillon initial)	197

Tableau 37 : Comparaison des % d'extraction obtenus avec l'analyseur UV et avec une analyse	
chromatographique	198
Tableau 38 : Composition générale de la matrice urinaire (valeurs moyennes retrouvées dans la littératur	e)
	204
Tableau 39 : Substances pharmaceutiques étudiées dans l'urine avec le % d'extraction et la concentration	
attendue en fonction de la dose journalière ou ponctuelle ingérée (* : la concentration attendue a été calcu	ılée
en fonction du volume d'urine éliminé par jour)	208
Tableau 40 : Facteur de dilution total pour chacune des fractions d'élution en fonction de la dilution	
initialement réalisée sur l'urine brute (en gras : facteur de dilution total le plus faible)	213
Tableau 41 : Pourcentages d'extraction obtenus avec les écart-types (n=3)	221
Tableau 42 : Comparaison des limites de détection obtenues avec la méthode MSP2E avec celles des métho	des
analytiques standards	222

Liste des figures

Figure 1 : Application de la directive européenne Cadre sur l'Eau au niveau français	11
Figure 2 : Arbre de décision possible lors de la constatation d'une pollution (adapté de Berland, 2002)	26
Figure 3 : Adaptation du contrôle des eaux en fonction du type de pollution (d'après Roia, 2013)	28
Figure 4 : Comparaison des méthodes classiques (prélèvement et analyse en laboratoire) et des méthodes	s sur
site	29
Figure 5 · Méthodes d'analyse sur site (Roja, 2007)	20
Figure 5 : Methodes a analyse sur site (Roly, 2007)	
Figure 7 : Sustème Musselmeniter (en ligne et in situ)	45
Figure 7: Systeme Musselmontor (en lighe et in situ)	47
Figure 8 : Telara Juorescent WalchFrog	49
Figure 9 : HazMatID 360 (Smith Detection)	55
Figure 10 : Profil cinetique d'accumulation d'une molecule dans la phase stationnaire (d'apres Morin et d 2012)	ıl., 57
Figure 11 : Répartition des échantillonneurs passifs en fonction de la polarité des substances (d'après Vro	ana
et al., 2005)	57
Figure 12 : Utilisation des échantillonneurs passifs en fonction du type de molécules	60
Figure 13 : Principe et étapes de l'extraction sur phase solide SPE (adapté de Simpson et Wells, 2000)	63
Figure 14 : Représentation du volume de percée (à gauche : le volume de l'échantillon est inférieur au vol	lume
de percée : à droite : le volume de l'échantillon est supérieur au volume de percée) lors de l'étape de	
nercolation de l'échantillon sur la nhase solide	64
Figure 15 · Evolution du nombre de citations dans la littérature nour les trois nhases SPF (Aasis-HI B	
LiChrolut-FN at Strata-Y) donuis 2000 (d'anrès Isis wab of knowledge)	71
Eletitolite filication de phases solides en série	/ . 75
Figure 10 : Outilisation de phases sollaes en serie	/ J 70
Figure 17 : Mecanisme a interaction aes PEMs (adapte de Spegei et al., 2002)	/ 6
Figure 18 : Dispositif I RIDION-9 Portable (Torion)	/8
Figure 19 : Méthodologie générale	83
Figure 20 : Méthodologie de développement	85
Figure 21 : Diversité des log P (calculés par le logiciel libre ChemSketch) et des charges (à pH 6,2) pour le	2S 86
molécules étudiées	87
Figure 22 : Exemple de fiche de la banque de données spectrales	92
Figure 23 : Répertoire de la banque de données spectrales faisant apparaître les caractéristiques physico	1-
chimiques (log P et pKa) ainsi que les propriétés de rétention et d'élution	93
Figure 24 : Schéma du collecteur d'extraction sous vide	95
Figure 25 : Méthode de fabrication des cartouches de laboratoire	96
Figure 26 : Evolution du matériel	98
Figure 27 : Photos du système de pré-diagnostic terrain	99
Figure 28 · Photo du concentrateur	100
Figure 29 · Schéma hydraulique du concentrateur	101
Figure 20 : Séquence type du concentrateur (commande du débit · en bleu · commande du volume à prélé	
an rouge : commande de sélection du sens de circulation : en vort : commande de sélection de la cartouch	
en rouge, communae de selection du sens de circulation. En vert, communae de selection de la cartodar	ie.
en violet ; communue de selection du solvant et de l'échantilion : en gris ; communue de selection du l'écip	102
	105
Figure 31 : Analyseur (preconcentration/ elution et detection)	105
Figure 32 : Schema hydraulique de l'analyseur	107
Figure 33 : Séquence type de l'analyseur (commande de débit : en bleu ; commande du volume à prélever	ou à
injecter : en rouge ; commande de sélection de la cartouche : en violet ; commande de sélection du solvan	t et
de l'échantillon : en gris ; commande de sélection du récipient de sortie : en marron ; commande d'acquis	ition
des spectres : en vert)	110
Figure 34 : Gradient d'élution pour l'analyse HPLC/MS (solvant A : EUP acidifié 0,1% acide formique)	112
Figure 35 : Photo du système de pré-diagnostic terrain	117
Figure 36 : Méthode MSP2E	119
Figure 37 : Méthodologie relative au développement	122
Figure 38 : Phases solides commerciales envisagées et types d'intéractions possibles	124
Figure 39 : Pourcentage de rétention en fonction de la concentration en nitrates sur la cartouche Strata-	SAX
	131
Figure 40 · Phases solides de la procédure d'extraction et de séparation	132
Figure 41 : Photo et dimensions du bloc de concentration avec les cartouches Strata-SAX et Oasis-HLR	

Figure 42 : Longueurs d'onde des « cut-off » des différents solvants testés Figure 43 : Miscibilité, viscosité et polarité des solvants choisis (d'après Sadek, 2002). Les solvants présen un « cut-off » supérieur à 210 nm sont écrits en aris	. 135 tant . 136
Figure 44 : % d'extraction des molécules modèles M3, M4 et M5 dans chacune des fractions d'élution E1, E3, et E4 avec les écart-types pour chacune des fractions d'élution (n=3) et pour des éluants ACN/EUP contenant de 5 à 100% d'acétonitrile (ACN)	E2,
Figure 45 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé d'acide chlorhydrique (HCl) et/ou de méthanol (MeOH) pour l'extraction de la molécu M1. Les flèches précisent les endroits où les spectres des élutions sont modifiés par rapport à celui de référence.	t 1le 141
Figure 46 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé d'acide sulfurique (H2SO4) et de méthanol (MeOH) ou d'acétonitrile (ACN) pour l'extraction de la molécule M1. Les flèches précisent les endroits où les spectres des élutions sont modifiés rapport à celui de référence.	t par 142
Figure 47 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé d'acide formique (HCOOH) et de méthanol (MeOH) ou d'acétonitrile (ACN) ou d'isopropanol pour l'extraction de la molécule M1	; 144
Figure 48 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé de méthanol (MeOH) et de chlorure de sodium 1 M (NaCl) pour l'extraction des moléc M1 et M2. Les flèches précisent les endroits où les spectres des élutions sont modifiés par rapport à celui d	t ules de
référence. Figure 49 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé de méthanol (MeOH) et de chlorure de sodium 0,1 M (NaCl) pour l'extraction des	. 145 t
molécules M1 et M2 Figure 50 : Profil d'extraction de M1 et M2 lors de l'emploi de l'éluant MeOH/NaCl 0,1 M (V/V) Figure 51 : Résumé des tests des éluants	.147 .149 150
Figure 52 : Phases solides SPE et éluants sélectionnés pour la procédure de fractionnement Figure 53 : Procédure de fractionnement	. 151 153
$\begin{array}{l} \text{ des log } P \ (p\text{-valeur}: \ (\alpha < 0,1\%); \ (\alpha < 1\%); \ (\alpha < 1\%); \ (\alpha < 1\%); \ (\alpha < 5\%); \ (\alpha < 10\%); \ (\alpha < 10$	
Figure 55 : Comportement de l'élution de la Strata-SAX Figure 56 : Comportement de l'élution de l'Oasis-HLB Figure 57 : Schématisation de l'approche prédictive	. 157 158 159
Figure 58 : Schémas hydrauliques du concentrateur et de l'analyseur adaptés à la méthodologie employé Figure 59 : Comparaison et précision du temps de présence d'un opérateur lors de l'usage du concentrate	e161 eur et
Figure 60 : Comparaison des volumes utiles pour le concentrateur et l'analyseur (volume en mL) Figure 61 : Diversité des caractéristiques spectrales des molécules faisant l'objet d'une fiche dans la banq de données spectrales (la taille de la bulle est proportionnelle au coefficient d'extinction molaire)	. 163 . 165 . ue 169
Figure 62 : Spectres UV des fractions d'élution lors d'un mélange de 5 molécules (IBU : ibuprofène ; DICLO diclofénac ; CAF : caféine ; CARBA : carbamazépine et ATR : atrazine) Figure 63 : Prédiction et résultats de détection par HPLC/MS relatifs à un mélange de 44 pesticides (les): 173
molécules ne suivant pas la prédiction pour la cartouche Oasis-HLB sont en rouge) Figure 64 : Structure des molécules ne suivant pas l'approche prédictive Figure 65 : Spectres UV des différentes fractions d'élution (A : fractions d'élution de la cartouche Strata-S B : fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 2; C : fractions d'élution de la cartouche Oa	. 175 . 176 SAX; asis-
HLB avec l'éluant 3) Figure 66 : Spectres UV de l'élution E3 et du diuron de référence Figure 67 : Spectres UV des différentes fractions d'élution (A : fractions d'élution de la cartouche Strata-S avec A1 diluée par 5; B : fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 1 ; C : fractions d'élut de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 2)	.178 .179 AX ion 180
Figure 68 : Spectres UV de l'élution A1 et du diclofénac de référence (A) et spectres UV de l'élution E1 et a caféine de référence (B) Figure 69 : Résultat de la déconvolution (pour l'échantillon dopé au diclofénac et caféine) (la longueur de barre est proportionnelle au pourcentage d'extraction, en vert : les molécules éluées sur Oasis-HLB : en	le la 181 e la
rouge : faux positifs)	. 181

Figure 70 : Spectres UV des différentes fractions d'élution (A : fractions d'élution de la cartouche Strat	ta-SAX
avec A1 alluee par 5; B : Jractions a elation de la cartouche Oasis-HLB avec 1 elaant 2 ; C : Jractions a e	21000
Cience 71. Décultate de la décenselution dans le cas d'une matrice réelle (den age illumetion disleté	
Figure 71 : Resultats de la deconvolution dans le cas à une matrice reelle (dopage ibuprojene, alciojer	<i>10C,</i>
cafeine, carbamazepine et atrazine) (la longueur de la barre est proportionnelle au pourcentage	D
a extraction, en bleu : les molecules eluees sur Strata-SAX ; en vert : les molecules eluees sur Oasis-HLI	3;en 101
rouge : faux positifs)	
Figure 72 : Prédiction des fractions d'élution et résultats obtenus par HPLC/MS (les molécules ne suiv la prédiction dans les fractions de l'Oasis-HLB et de la Strata-SAX sont respectivement en rouge et en	ant pas bleu)
Figure 73 : Utilisation d'une pré-cartouche dans le cas de matrices réelles	
Figure 74 : Evolution du pourcentage d'extraction en fonction de la minéralité	
Figure 75 : Formation de chemins préférentiels lors d'un tassage manuel irrégulier	
Figure 76 : Mise en évidence de la relation entre la conductivité et la concentration en anions	
Figure 77 : Nombre et masse optimale des pré-cartouches de aarde pour les différentes eaux utilisées.	192
Figure 78 · Spectres IIV des différentes fractions d'élution (A · fractions d'élution de la cartouche Strai	ta-SAX
$B \cdot fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 2 · C · fractions d'élution de la cartouche$	e Oasis-
HIR avec l'éluant 3) après nassage sur la cartouche de garde	193
Figure 79 · Spectres IIV de l'élution A1 et du diclofénac de référence (A) et spectres IIV de l'élution F3	et de la
carhamazónino do rófóronco (R)	194
Figure 80 · Prédiction des fractions d'élution et résultats des analyses HPI C/MS de chacune des fracti	ons
obtanus sans at avac una pré-cartoucha Strata-SAY 500 ma (las moléculas na suivant nas la prédiction	n dans
los fractions de l'Agis. HI B et de la Strata-SAY sont respectivement en rouge et en bleu)	105
Figure 81 : Comparaison du signal en absence et en présence d'homogénéisation des solutions de dich	ofánac
(A) de caféine (B) d'acétaminenhène (C) de triméthenrime (D) de méthyl narabène (E) de carbame	Jenuc Izónino
(A), de cajeme (B), a acetammophene (C), de trimethoprime (D), de methyr-parabene (E), de carband (E) de bienbénel A (C) d'atragine (H) de 2 nitrenbénel (I)	100
(F), de Dispiteiloi-A (G), d'utild2ille (H), de 2-iliti Opiteiloi (I)	
Figure 02: Composes de l'unité susceptibles d'intérêt (* , molécules pharmacautiques considérées comme de	
rigure 65 : Specires 07 des molecules à interet (* : molecules pharmaceutiques considerees comme at	<i>puntes</i>
pur LAMA)	
Figure 84 : Procedure MSP2E (Ruppel)	
Figure 85 : Spectres UV des differentes fractions a elution en fonction de la allution de l'urine avant	214
percolation	
Figure 86 : Comparaison des signaux UV obtenus fors de l'utilisation d'une cartouche Oasis-HLB prece	2aee ou
non d'une cartouche Strata-SAX	
Figure 87 : Pre-elution de 5 mL avec un melange ACN/EUP 4/96 (V/V)	
Figure 88 : Methode MSP2E adaptée à la matrice urinaire	
Figure 89 : Fractionnement des molécules en fonction de leur polarité	
Figure 90 : Spectres UV des différentes fractions sans et avec dopage (ACE : acétaminophène ; DIAZ :	
diazinon ; CAF : caféine ; CARBA : carbamazépine ; HYDRO : hydrochlorothiazide ; DCP : 2,5-dichlorop	ohénol)
Figure 91 : Fractionnement MSP2E adapté à la matrice urinaire (Pe signifie pré-élution)	

Introduction

La forte croissance de l'industrialisation et de l'urbanisation après la seconde guerre mondiale a fait émerger une prise de conscience sur la nécessité de protéger les milieux aquatiques. Ainsi, en France, en 1964, un premier texte de loi (Loi n° 64-1245, 1964) aborde la problématique de la lutte contre la pollution des eaux. Depuis, les lois sont en faveur d'une amélioration de la qualité des eaux et de la protection des milieux. Les nombreux efforts faits à l'échelle européenne notamment avec la Directive Cadre sur l'Eau (2000) (Directive 2000/60/CE, 2000) et la Directive Eau Potable (1998) (Directive 98/83/CE, 1998) vont dans ce sens avec l'évaluation du contrôle sanitaire et de la surveillance environnementale des différents types d'eau (eaux de surface, souterraines, eau destinée à la consommation humaine,...).

L'Organisation des Nations-Unies (ONU) avec le Protocole sur l'eau et la santé (ONU, 1999) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) avec la mise en place en 2004 de plans de gestion de la sécurité sanitaire des eaux, les « Water Safety Plans » (WSP) (OMS, 2004 ; Bartram et al., 2010) ont également initié un nouveau type d'approche préventive pour l'évaluation et la gestion des risques liés à la pollution des eaux destinées à la consommation humaine, de la ressource à l'échelle du bassin versant jusqu'au consommateur. Ces plans recommandent une identification préalable des dangers et incidents susceptibles de détériorer la qualité de la ressource. Cette prise de conscience au niveau européen a impliqué la mise en place de nouvelles lois dans la législation française.

Ainsi, en France, depuis 2006, la Loi sur l'Eau et les Milieux Aquatiques (Loi n° 2006-1172, 2006) tente de répondre aux exigences de la Directive Cadre sur l'Eau (Directive 2000/60/CE, 2000). Cette loi rénove l'organisation institutionnelle en créant notamment en 2007 l'Office national de l'eau et des milieux aquatiques (Onema) chargé de mener des actions destinées à favoriser une gestion globale, durable et équilibrée de la ressource en eau et des écosystèmes aquatiques.

De plus, l'application en droit français des directives européennes assure un suivi national très réglementé de substances prioritaires (et dangereuses) comme les pesticides alors que de nouveaux contaminants, les polluants émergents, ne sont pas encore ou peu réglementés. Depuis quelques années, ces polluants émergents attirent de plus en plus l'attention de la communauté scientifique qui, suite au développement de nouvelles méthodes analytiques, a la possibilité de les détecter et de les quantifier à l'état de traces et voire même d'ultra-traces (du ng/L au µg/L). Parmi ces molécules émergentes se trouvent des substances chimiques telles que de nouveaux pesticides, des hormones, ou encore des produits pharmaceutiques et d'hygiène corporelle (PPCP).

En cas de pollutions accidentelles ou d'actes de malveillance vis-à-vis de milieux aquatiques, des lois supplémentaires ont été mises en place. Ainsi, la loi de modernisation de la sécurité civile de 2004 (Loi n° 2004-811, 2004) permet la mise en place de plans ORSEC (Organisation de la Réponse de SEcurité Civile). Ces plans permettent d'organiser les secours et d'adopter toutes les mesures nécessaires pour

permettre l'évaluation et la détection de la pollution ainsi que les mesures de lutte qui visent à en limiter les conséquences. Lors de ce type de pollutions (fuite, feu, rejet volontaire,...), au sein de la direction générale de la prévention des risques du Ministère du développement durable, le Bureau d'Analyse des Risques et Pollutions Industriels (BARPI) a pour but de collecter et de diffuser les informations relatives à la pollution afin de mieux les appréhender. Lors de telles pollutions, les approches classiques pour l'analyse de la qualité de l'eau reposent sur les méthodes normalisées de prélèvement ponctuel et d'analyses réalisées au laboratoire, dont les résultats sont généralement disponibles dans un délai de 24 à 48h. Or, dans certains cas, la présence d'un ou de quelques contaminants à une concentration élevée nécessite la mise en place d'actions rapides afin de protéger les milieux et la population (interdiction de baignade, arrêt du système de production et/ou de distribution d'eau potable). De nos jours, des dispositifs de mesures in-situ, avec un délai de réponse de quelques minutes à quelques heures existent. Ces dispositifs permettent de cartographier la distribution des polluants dans l'espace et dans le temps, de mesurer une évolution plutôt qu'une concentration, et de réaliser un screening de la qualité de l'eau (Graveline et al., 2010). Ces méthodes sont en mesure de fournir des informations quantitatives, semi-quantitatives et qualitatives pour une évaluation plus rapide de la qualité de l'eau que les analyses de laboratoire (Allan et al., 2006; Roig et al., 2007).

Les objectifs de ce travail de thèse s'insèrent dans cette dynamique et sont donc de proposer une méthode rapide et utilisable sur site permettant de caractériser une pollution spécifique par la détection de micropolluants organiques dans l'eau.

Ce travail s'inscrit dans le cadre des activités du contrôle sanitaire et de la surveillance environnementale de la qualité des eaux ainsi que dans celles des services de la sécurité civile. Il a pour but de développer un analyseur rapide transportable sur site pour la détection de micropolluants organiques (prioritaires, émergents, d'intérêt pour la sécurité civile) potentiellement dangereux pour la santé humaine et/ou l'environnement. Cet analyseur intègre une méthode MSP2E (multiple solide phase double extraction) incluant une étape de préconcentration sur des phases solides multiples suivie d'une étape d'élution spécifique. Ces étapes ont pour objectif d'extraire les composés selon leurs propriétés physico-chimiques et leur affinité avec la phase solide. Les différentes fractions d'élution, qui correspondent à des substances ayant des propriétés physicochimiques caractéristiques, sont ensuite analysées par spectrophotométrie UV. Lors de pollution inconnue, l'identification des composés peut se faire par un traitement direct du spectre basé sur la comparaison avec les spectres UV de référence répertoriés dans une banque de données élaborée au cours de l'étude. Si le composé ne peut pas être identifié, le résultat obtenu via l'analyse spectrale des différentes fractions (présence ou absence d'un signal caractéristique) peut orienter vers une information concernant le type de molécules incriminées en fonction de leurs propriétés (charge, log P).

A l'inverse, l'étude de ces propriétés et des fractions d'élution a permis de mettre en évidence une approche prédictive permettant de déterminer la fraction d'élution dans laquelle un composé donné va être extrait.

Le dispositif développé vise à compléter les approches classiques pour l'analyse de la qualité de l'eau (prélèvement et analyses normalisées) et peut être utilisé de deux manières différentes :

- Concentrateur : le dispositif permet d'effectuer les étapes de préconcentration/fractionnement et d'élution sur site. L'analyse des élutions est réalisée au laboratoire par des méthodes chromatographiques. Il peut être employé dans le cas du suivi de la qualité des eaux et lors de pollutions accidentelles. Grâce à sa fonction de concentration des polluants, l'étape de préparation au laboratoire est évitée ce qui permet un gain de temps non négligeable lorsqu'une prise de décision rapide est demandée.
- **Analyseur** : dans ce cas, le dispositif permet de réaliser les étapes du concentrateur avec la possibilité d'une analyse par spectrophotométrie UV directement sur site (ou en laboratoire si la détection UV n'est pas suffisante pour caractériser la pollution).

Il peut être employé dans le cas du suivi de la qualité des eaux et lors de pollutions accidentelles afin de fournir un pré-diagnostic pouvant orienter une prise de décision rapide.

Enfin, même si la méthode MSP2E a été développée, dans un premier temps, pour la détection de micropolluants organiques dans l'eau, sa transposition sur d'autres matrices aqueuses (les matrices biologiques par exemple) semble envisageable. En effet, le nombre d'études s'intéressant à la présence de ces micropolluants (pesticides, produits pharmaceutiques, drogues) dans ces matrices biologiques (sang, urine) ne cesse de se multiplier dans le but d'évaluer l'exposition indirecte (par l'alimentation, la contamination de l'air, des sols ou des poussières) et l'exposition directe (par ingestion ou injection de produits pharmaceutiques et/ou de drogues) des populations.

Ce mémoire de thèse s'articule autour de 5 parties.

Une étude bibliographique (dans la Partie 1) expose tout d'abord le cadre réglementaire. Cette partie propose également un état de l'art des méthodes de surveillance de la qualité de l'eau sur site et présente la méthode d'extraction sur phase solide.

La Partie 2 présente l'ensemble des protocoles analytiques de l'étude, l'évolution des dispositifs expérimentaux et la méthodologie employée concernant l'exploitation des spectres UV. Elle détaille également le concept de la banque de données spectrales.

La Partie 3 expose la mise en place de la méthode MSP2E avec le choix des phases solides et le choix des éluants. Les résultats obtenus, des applications ainsi que des pistes d'optimisation sont également présentés.

La Partie 4 propose une transposition de la méthode développée à une matrice biologique, l'urine humaine, pour la détection de produits pharmaceutiques, de dopants et de pesticides.

Enfin, la Partie 5 présente une synthèse des résultats, les conclusions et les perspectives de ce travail de thèse.

Partie 1

Contexte et état de l'art

Cette partie est consacrée dans un premier temps au contexte juridique et réglementaire qui encadre la gestion de la qualité globale de l'eau. Puis, dans un deuxième temps elle s'intéresse aux pollutions ponctuelles d'origine accidentelle ou intentionnelle avec un inventaire de ce type de pollution et son encadrement législatif. Dans un troisième temps elle présente les méthodes de surveillance sur site de la qualité des eaux et elle s'intéresse enfin à la méthode d'extraction sur phase solide, méthode principalement utilisée au laboratoire mais avec quelques applications sur site.

1. Gestion de la qualité globale de l'eau

1.1. Cadre juridique et réglementaire

1.1.1. Contexte environnemental

1.1.1.1. Législation européenne

Actuellement, en Europe, la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) du 23 octobre 2000 (Directive 2000/60/CE, 2000) est la principale directive appliquée dans le cadre de la protection des milieux aquatiques. Elle a pour objectif de créer une cohérence à l'ensemble de la législation avec une politique globale dans le domaine de l'eau. Elle définit notamment un cadre pour la gestion et la protection des eaux par grand bassin hydrographique au plan européen avec une perspective de développement durable. La préservation et la restauration de l'état des eaux superficielles (eaux douces et eaux côtières) et des eaux souterraines font parties des objectifs principaux de cette directive avec l'obtention du bon état des différents milieux sur tout le territoire européen à l'échéance 2015. L'état chimique des eaux est considéré comme bon lorsque les concentrations de polluants n'excèdent pas les normes de qualité environnementale (NQE), valeurs limites définies de manière à protéger l'environnement et la santé humaine. La DCE établit une liste de substances prioritaires dont les NQE de 33 d'entre elles dont 20 dangereuses ont été précisées lors de la révision de la DCE le 16 décembre 2008 (Directive 2008/105/CE, 2008). Le Tableau 1 présente les NQE pour certaines des molécules d'intérêt du projet de thèse (pesticides, HAP, perturbateurs endocriniens).

Substance	NQE moyenne annuelle- Eaux de surface (µg/L)	NQE- concentration maximum autorisée (µg/L) - Eaux de surface	Substance	NQE moyenne annuelle- Eaux de surface (µg/L)	NQE- concentration maximum autorisée (µg/L) - Eaux de surface
Alachlore	0,3	0,7	Anthracène	0,1	0,4
Atrazine	0,6	2,0	Benzène	10	50
Chlorpyrifos	0,03	0,1	DEHP	1,3	Non applicable
Diuron	0,2	1,8	Endosulfan	0,005	1,8
Fluoranthène	0,1	1	Isoproturon	0,3	1
Naphtalène	2,4	1,2	4-nonylphénol	0,3	2
Simazine	1	4			

Tableau 1 : NQE de certaines substances de la liste des 33 substances prioritaires (adapté de l'annexe I de la directive 2008/105/CE)

De plus, la DCE a imposé la mise en place d'un programme de surveillance au niveau des différentes catégories d'eau (eaux de surface, eaux souterraines) comprenant différents volets:

- Le **contrôle de surveillance** a pour but d'évaluer les changements de la qualité de l'eau sur le long terme. Pour ce faire, le suivi s'effectue au niveau des milieux aquatiques mais également au niveau des flux des polluants et des impacts.
- Le contrôle opérationnel s'intéresse en particulier aux masses d'eau jugées à risque ou risquant de ne pas satisfaire aux objectifs environnementaux de la DCE. Ces contrôles sont également destinés à suivre les améliorations observées suite aux actions mises en place dans le cadre des programmes de mesures.
- Le **contrôle d'investigation** est mis en œuvre lorsqu'une pollution inconnue survient et permet d'en déterminer les causes.
- Le **contrôle additionnel** est mis en place au niveau de certaines zones à risque comme le captage en eau potable lorsque celles-ci risquent de ne pas répondre aux objectifs de la DCE.

Selon la DCE, une révision de la liste des substances doit avoir lieu tous les 4 ans. Ainsi en 2012, la Commission Européenne a proposé de (Commission européenne, 2012) :

- rajouter 15 nouvelles molécules à la liste des substances prioritaires dont 3 substances pour la première fois, pharmaceutiques $(1,7\alpha -$ 1,7β-estradiol éhynylestradiol, et le diclofénac), produits des phytosanitaires (aclonifène, bifénox, cyperméthrine, dicofol, heptachlore, quinoxyfène, cybutryne, dichlorvos, terbutryne), des dérivés de combustion (dioxines), et des produits chimiques industriels (acide perfluoroctanesulfonique, hexabromocyclododécane),
- déplacer de la liste des substances prioritaires vers celle des substances dangereuses prioritaires, le DEHP et le trifluraline,
- réviser les normes de qualités environnementales (NQE) pour 7 substances ou familles de substances,
- introduire la recherche de polluants dans une nouvelle matrice, le biote,
- créer une liste de vigilance pour chaque Etat membre qui va permettre de diriger les prochains réexamens de la directive.

Suite à ces propositions, la Commission de l'Environnement, de la Santé Publique et de la Sécurité Alimentaire a adopté (Communiqué de presse de la CESPSA, 2012):

- **des nouvelles substances prioritaires :** ajout des 15 substances chimiques dont les 3 produits pharmaceutiques dans la liste des substances prioritaires mais pour l'instant sans NQE. L'examen de ces normes aura lieu en 2016.
- une liste de vigilance : composée au plus de 10 substances ou groupes de substances. Les États membres devront surveiller chaque substance de cette liste en procédant à des contrôles dans certaines stations de surveillance (stations d'épuration ou de production d'eau potable) représentatives pendant une période d'au moins un an d'ici fin 2014.
- la sensibilisation du public : informer le grand public via notamment un site internet de l'état de la qualité des eaux de surface et les dispositions prises pour lutter contre la pollution chimique.

En accord avec ces propositions, la **Directive 2013/39/UE** du 12 août 2013 modifie les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE (Directive 2013/39/UE, 2013) en ce qui concerne la liste des substances prioritaires dans le domaine de l'eau. Ainsi, 12 nouvelles substances prioritaires sont intégrées à la liste des substances prioritaires. De plus, les 3 substances pharmaceutiques ($1,7\alpha$ -éhynylestradiol, $1,7\beta$ -estradiol et le diclofénac) sont incluses dans la liste de vigilance des polluants émergents qui pourraient être, dans le futur, intégrées à la liste des substances prioritaires.

En plus de la directive DCE, la **Directive 2009/128/CE** du 21 octobre 2009 (Directive 2009/128/CE, 2009) prévoyait que les Etats membres adoptent d'ici le 14 décembre 2012 des plans d'action nationaux pour fixer leurs objectifs quantitatifs, leurs cibles, leurs mesures et leurs calendriers en vue de réduire les risques et les effets du recours à des pesticides sur l'environnement et la santé humaine. Elle vise en particulier à développer des méthodes ou techniques de substitution pour réduire la dépendance à l'égard de la consommation des pesticides. Ainsi, en France, le plan Ecophyto 2018 (Ecophyto 2018, 2008) mis en place en 2008 prévoit la suppression progressive de 53 pesticides ainsi que la réduction de 50% des usages d'ici 2018.

Enfin, la **Directive 2009/90/CE** du 31 juillet 2009 (Directive 2009/90/CE, 2009) autorise l'emploi de méthodes sur site ou en ligne pour les programmes de suivi des polluants chimiques dans les eaux. Dans ce cas, ces méthodes doivent répondre à des critères minimaux de performances (incertitudes de mesure et limites de quantification) (Roig et al., 2011).

1.1.1.2. Législation française

En France, la première loi pour la protection des milieux est la **loi de 1964 sur le régime et la répartition des eaux et la lutte contre la pollution** (Loi n° 64-1245, 1964). Cette loi fixe des objectifs de qualité par cours d'eau dans chaque département et crée les organismes de bassin (agences et comités de bassin). Le territoire français est alors divisé en six grands bassins hydrographiques, chacun comportant une structure consultative (les Comités de bassin composés de représentants de l'Etat, des collectivités locales et des usagers de l'eau) et un organisme exécutif (les Agences de l'eau).

Puis la **loi sur l'eau du 3 janvier 1992** et le **Décret du 3 juin 1994** (Loi n° 92-3, 1992 ; Décret n° 94-469, 1994) fixent le cadre global de la gestion de l'eau en France et définit la programmation de l'assainissement au niveau des agglomérations. L'eau est alors reconnue comme "patrimoine commun de la Nation". La compétence des communes dans la gestion de l'eau est renforcée : toutes les communes de plus de 2 000 habitants doivent être équipées d'un système de collecte et d'épuration des eaux résiduaires. Le législateur transfère ainsi aux collectivités locales la responsabilité et la charge financière de la distribution d'eau potable et de la politique d'assainissement. La loi n° 92-3 préconise aussi la mise en place d'un nouveau système de planification au niveau des bassins des grands fleuves, du Schéma Directeur d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SDAGE) et au niveau plus local, de Schémas d'Aménagement et de SDAGE. Ces schémas d'aménagement sont mis en place par des commissions locales de l'eau composées de représentants des collectivités territoriales, de l'Etat et d'usagers.

La transposition de la Directive Cadre sur l'Eau au niveau français est présentée dans la Figure 1.



Figure 1 : Application de la directive européenne Cadre sur l'Eau au niveau français

Le **Décret du 20 avril 2005** (Décret n° 2005-378, 2005) et l'**Arrêté du 30 juin 2005** (Arrêté, 2005) sont relatifs au programme national d'action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses (PNAR) et impliquent :

- la création d'un programme national de réduction pour 18 substances (Tableau 2).
- la définition des normes de qualité (NQE) pour ces substances (Tableau 2).

Substance	Objectif de réduction en 2015	Emission estimée de l'année de référence (1995) en kg/j	NQE (µg/L)
Anthracène	-30%	0,1	0,1
Benzène	-50%	1054	1,7
Chlorobenzène	-50%	69	32
Chloroprène	-50%	113	32
3-chloropropène	-30%	15	0,34
1,2-dichlorobenzène	-30%	28	10
1,3-dichlorobenzène	-30%	2,8	10
1,4-dichlorobenzène	-30%	10	20
1,1-dichloroéthane	-30%	26	92
Dichlorométhane	-50%	5965	20
Ethylbenzène	-30%	19	20
Naphtalène	-30%	1,7	2,4
HAP	-50%	496	0,05*
Toluène	-50%	70	74
1,1,1-trichloroéthane	-50%	41	26
1,1,2-trichloroéthane	-30%	3,8	300
Chlorure de vinyle	-50%	2983	0,5
Xylènes	-30%	19	10

Tableau 2 : Liste des 18 substances faisant l'objet d'un programme national de réduction (Arrêté, 2005) (* : spécialement le 3,4-benzopyrène et le 3,4-benzofluoranthène)

La **Circulaire DCE du 13 juillet 2006** (Circulaire DCE 2006/16, 2006) précise les éléments de cadrage pour procéder à la constitution et à la mise en œuvre du programme de surveillance, à savoir le nombre de sites à suivre par bassin (fonction de la taille du bassin, et de la typologie des masses d'eau), les paramètres à surveiller (éléments physico-chimiques, mais aussi biologiques et hydro-morphologiques), les fréquences annuelles et la répartition sur la durée du SDAGE et du plan de gestion.

La **Circulaire du 7 mai 2007** (Circulaire, 2007) fixe les normes de qualité environnementale provisoires (NQEp) de 41 substances : les 33 substances prioritaires de la DCE et 8 substances supplémentaires impliquées dans l'évaluation de l'état chimique des masses d'eau. Parmi ces 41 substances figurent 15 pesticides : alachlore, aldrine, atrazine, chlorfenvinphos, chlorpyrifos, DDT, dieldrine, diuron, endosulfan, endrine, isoproturon, lindane, simazine, trifluraline dont certains sont interdits d'usage comme l'atrazine.
La **Loi sur l'Eau et les Milieux Aquatiques** (LEMA) du 30 décembre 2006 (Loi n° 2006-1172, 2006) modifie le livre II du Code de l'environnement (Code de l'environnement, 2006) et réforme d'autres codes comme le Code de la santé publique et le Code des collectivités territoriales (Code de la santé publique, 2006 ; Code des collectivités territoriales, 2006). Cette loi donne les outils à l'administration et aux collectivités territoriales pour atteindre en 2015 les objectifs de la DCE, en particulier le retour à un bon état des eaux, d'améliorer les conditions d'accès à l'eau, d'apporter plus de transparence au fonctionnement du service public de l'eau et de rénover l'organisation de la pêche en eau douce.

La loi rénove l'organisation des institutions pour une meilleure efficacité. Le Conseil supérieur de la pêche est transformé en un Office national de l'eau et des milieux aquatiques (Onema) chargé des études et recherches de portée générale et de l'évaluation. Cet office apportera un appui technique aux Agences de l'eau. Cette loi :

- donne les moyens d'assurer la traçabilité des ventes des produits phytosanitaires et des biocides et instaure un contrôle des pulvérisateurs pour l'application de ces produits. La taxe globale d'activité polluante sur les produits phytosanitaires est transformée en une redevance au profit des agences de l'eau prenant en compte l'écotoxicité de ces produits,
- crée un fonds de garantie visant à couvrir les dommages imprévisibles pour les terres agricoles liés à l'épandage de boues d'épuration,
- donne aux communes les moyens d'améliorer la maîtrise des eaux de ruissellement par la possibilité d'instituer une taxe locale spécifique et instaure un crédit d'impôt pour la récupération des eaux de pluie.

La modification de certaines pratiques agricoles peut être rendue obligatoire dans des zones de sauvegardes quantitatives, en amont des captages d'eau potable.

1.1.2. Contexte sanitaire

1.1.2.1. Législation européenne

La **Directive européenne Eau Potable** du 3 novembre 1998 constitue le cadre réglementaire européen en matière d'eau potable (Directive 98/83/CE, 1998). Elle vise à protéger la santé des personnes en établissant des exigences de salubrité et de propreté auxquelles doit satisfaire l'eau potable dans l'Union européenne.

Cette Directive impose un contrôle régulier de la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. Si un paramètre (microbiologique, chimique ou relatif à la radioactivité) s'avère être supérieur à la valeur admise, des mesures correctrices doivent être rapidement mises en œuvre. Si l'eau potable constitue un risque pour la santé humaine, les Etats membres doivent suspendre l'approvisionnement en eau jusqu'au retour à une qualité admise.

1.1.2.2. Législation française

En France, le **Décret du 20 décembre 2001** (Décret n° 2001-1220, 2001) transpose la Directive européenne Eau Potable. Ce décret abrogé a été codifié, depuis mai 2003, dans le Code de la Santé Publique aux articles R. 1321-1 à R. 1321-66 (Code de la Santé Publique, 2003). Il fixe plusieurs types d'analyses (physico-chimiques, bactériologiques,...) et leurs fréquences annuelles.

La législation en vigueur fixe notamment des limites de qualité dans les eaux brutes destinées à la production d'eau potable :

Pour les pesticides :

- Pour la qualité des eaux brutes (toute origine) fournissant l'eau potable, la concentration maximale autorisée par pesticide est de 2 μ g/L et celle autorisée pour le total des pesticides (somme de tous les pesticides individualisés détectés et quantifiés) est de 5 μ g/L.
- Pour celle de l'eau potable, la concentration maximale autorisée par pesticide est de 0,1 µg/L et celle autorisée pour le total des pesticides est de 0,5 µg/L.

Pour les nitrates :

- Pour la qualité des eaux brutes fournissant l'eau potable, la concentration maximale autorisée en nitrates est de 50 mg/L pour les eaux superficielles et de 100 mg/L pour les eaux souterraines.
- Pour celle de l'eau potable, la concentration maximale autorisée est de 50 mg/L.

L'**arrêté du 11 janvier 2007** (Arrêté, 2007) définit les limites et références de la qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine.

Les eaux captées pour la production d'eau potable sont classées en 3 groupes :

- A1 : eau nécessitant un simple traitement physique et une désinfection (essentiellement pour les eaux souterraines)
- A2 : eau nécessitant un traitement physique et chimique normal et une désinfection
- A3 : eau nécessitant un traitement physique et chimique poussé, un affinage et une désinfection.

Les eaux de surface utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine doivent répondre aux limites de qualité figurant en annexe de l'arrêté du 11 janvier 2007. Le Tableau 3 présente ces limites de qualité pour les paramètres physicochimiques et microbiologiques de l'arrêté du 11 janvier 2007 en fonction des différents groupes de traitement (Arrêté, 2007).

Tableau 3 : Limites de qualité des eaux de surface utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine (G : valeur guide ; I : valeur limite impérative) (Arrêté, 2007)

Paramètres physico-chimiques	Groupe							
	A1		A2		A3			
	G	Ι	G I		G	Ι		
Conductivité (µS/cm à 20°C)	≤1000	-	≤1000	-	≤1000	-		
Demande biologique en oxygène (DBO ₅) à 20°C (mg/L)	<3	-	<5	-	<7	-		
Demande chimique en oxygène (DCO) (mg/L)	-	-		-	≤30	-		
Matière en suspension (MES) (mg/L)	≤25	-			-	-		
Sulfates (mg/L)	≤150	250	≤150	250	≤150	250		
Taux de saturation en oxygène dissous (O2) (%)	>70	-	> 50	-	>30	-		
pH (unité pH)	6,5-8,5	-	5,5-9	-	5,5-9	-		
Température (°C)	≤22 25		≤22 25		≤22	25		
Paramètres microbiologiques								
	A1		A2		A3			
	G		G		G			
Coliformes totaux (nombre/100 mL)	<50)	<5000		<50000			
Coliformes fécaux (nombre/100 mL)	<20)	<200	00	<20000			
Streptocoques fécaux (nombre/ 100 mL)	<20)	<100	00	<10000			

L'**arrêté du 21 janvier 2010** (Arrêté, 2010) modifiant l'**arrêté du 11 janvier 2007** (Arrêté, 2007) relatif au programme de prélèvements et d'analyses du contrôle sanitaire pour les eaux fournies par un réseau de distribution, introduit les contrôles additionnels prescrits par la DCE sur les captages d'eau de surface dont le débit prélevé pour la production d'eau destinée à la consommation humaine est supérieur ou égal à 100 m³/j. La fréquence des prélèvements d'échantillons d'eau et d'analyses à effectuer sur la ressource est fixée en fonction du débit journalier de l'eau prélevée.

1.1.2.3. Du captage au consommateur

Selon l'OMS, « le moyen le plus efficace pour garantir en permanence la sécurité sanitaire de l'approvisionnement en eau de boisson consiste à appliquer une stratégie générale d'évaluation et de gestion des risques, couvrant toutes les étapes d'approvisionnement en eau, du captage au consommateur » (Bartram et al., 2010). L'OMS s'est orientée vers une approche préventive de la production, approche activée par la mise en place de plans de gestion de la sécurité sanitaire des eaux appelés « Water Safety Plans » (OMS, 2004 ; Bartam et al., 2010). Ces plans conseillent une identification préalable des dangers et des évènements susceptibles de modifier la qualité de l'eau à l'échelle d'un bassin versant.

Les « Water Safety Plans » sont basés sur différentes démarches:

- La méthode HACCP (Hazard Analysis Critical Control) : analyse de risque et détermination des points critiques pouvant engendrer une contamination du produit final (FAO-OMS, 1996). La norme ISO 22000 (systèmes de management de la sécurité des denrées alimentaires) permet l'harmonisation de cette méthode en y ajoutant un caractère normatif (ISO, 2011 ; Gray, 2008).
- La méthode AMDEC (Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité) : quantification et hiérarchisation des risques potentiels après leur recensement (Direction Générale de la Santé, 2007).

Ces plans reposent sur 5 étapes (Bartram et al., 2010 ; Gray, 2008 ; OMS, 2009) :

- La préparation : constitution d'une équipe pour mettre en place un plan de gestion.
- L'évaluation du système : description du réseau de distribution d'eau et identification des dangers et des situations à risque.
- La surveillance opérationnelle : modalités pour le suivi des mesures prises et la vérification de l'efficacité du plan mis en place.
- Les procédures de gestion et de communication.
- Le retour d'expérience : examen du plan mis en place à la suite d'un incident ; détermination des raisons ; modification du plan en conséquence.

L'identification des situations à risque repose sur le recensement des évènements susceptibles de se produire sur toute la chaîne de production en eau potable (du captage au consommateur) ainsi que les zones concernées. Ce recensement prend en compte aussi bien l'organisation du territoire (types de zones : urbaines, industrielles ou rurales ; types d'activité : agricole, élevage,...) que les conditions hydroclimatiques exceptionnelles (pluies intenses, sécheresse,...) (Bartram et al., 2010. OMS, 2009).

Les risques peuvent ainsi être caractérisés :

- A court terme (risque primaire): essentiellement microbiologique (Bartram et al., 2010; Beaudeau et al., 2010) et issu de l'exposition aux différents pathogènes pouvant être présents dans les eaux. Ce risque est le plus généralisé et le plus préoccupant même dans les pays développés (OMS, 2004). Il peut être aussi chimique dans le cas où la ressource dégradée ne subit pas ou peu de traitement (Bartram et al., 2010; Beaudeau et al., 2010).
- A moyen et long terme (risque secondaire) : généralement chimique, il est issu de la présence de produits de transformation suite aux traitements de l'eau comme les sous-produits de chloration (Davison et al., 2005).

Les réglementations citées précédemment ont pour objectif principal de prévenir les risques environnementaux et sanitaires en appliquant des restrictions à de plus en plus de substances. Pour cela, elles visent, entre autres, à diminuer la présence de micropolluants organiques dans les milieux aquatiques. Cependant, elles ne permettent pas de se prémunir de pollutions importantes qu'elles soient accidentelles ou intentionnelles. En cas de pollution ponctuelle et accrue de la ressource, des procédures particulières, régies par d'autres lois, doivent être mises en place.

2. Pollution ponctuelle des eaux

2.1. Définition des pollutions

Selon l'**arrêté du 17 juillet 2009** (Arrêté, 2009), il existe deux grands types de pollution :

- la pollution diffuse qui est définie comme étant « une pollution dont l'origine ne peut être localisée en un point précis mais procède d'une multitude de points non dénombrables et répartis sur une surface importante ». L'agriculture peut être à l'origine de ce type de pollution par un entraînement des produits polluants, comme les pesticides, dans les eaux qui ruissellent.
- la pollution ponctuelle qui est définie comme étant « une pollution dont l'origine peut être localisée géographiquement de façon précise, une pollution ponctuelle pouvant être issue de plusieurs sources géographiquement localisables proches les unes des autres, peu nombreuses et parfaitement dénombrables ». Les pollutions ponctuelles correspondent le plus souvent à des pollutions assez importantes voire massives.

Dans le cadre de notre étude, l'intérêt est plus particulièrement porté sur les pollutions ponctuelles qui selon le Bureau de Recherche Géologiques et Minières (BRGM) peuvent être généralement classées en deux catégories (Berland, 2002) :

- les rejets intentionnels de la part des industriels, des agriculteurs et des particuliers (déversement de produits divers, vidanges d'équipements agricoles, de citernes ou d'emballages ayant contenu des produits phytosanitaires).
- les **accidents** (rupture ou fuite de canalisation ou de cuves, manque de surveillance, fausse manœuvre, accident de transport, crues...).

Les pollutions ponctuelles peuvent concerner les eaux de surface et les eaux souterraines. Le délai qui s'écoule entre l'accident et l'atteinte de la ressource peut être utilisé pour éviter ou diminuer les conséquences de la pollution (Berland, 2002). Ce délai, dans le cas des eaux de surface, se compte en heures. En revanche, dans le cas des eaux souterraines, il peut s'écouler des mois avant que la ressource en eau ne soit altérée par un produit déversé à la surface du sol (Berland, 2002).

Si l'accident n'est pas répertorié et atteint les eaux souterraines, le problème posé sera le plus souvent beaucoup plus difficile à résoudre que lors d'une pollution d'une eau de surface (Berland, 2002). Ainsi, par exemple, la mortalité des poissons est un bon indicateur d'une pollution mais ne pourra pas être utilisé lors d'une pollution d'une eau souterraine.

Il faut tenir compte aujourd'hui d'une troisième source de pollution suite à la recrudescence des différentes tensions internationales et des formes nouvelles que peuvent prendre les conflits (Berland, 2002 ; Kroll, 2009). Les actes de malveillance peuvent atteindre l'alimentation en eau potable en provoquant indirectement la pollution de la ressource (par exemple lors d'une explosion), ou en détruisant, en même temps que leur cible, une partie plus ou moins importante du réseau. Certains actes de malveillance peuvent avoir aussi pour cible directe l'alimentation en eau potable que cela soit en endommageant le réseau lui-même ou en introduisant un produit indésirable, produit toxique, dans l'eau distribuée (Kroll, 2009). Ce risque doit absolument être envisagé et être prévenu efficacement.

2.2. Inventaire des pollutions ponctuelles des eaux

Le Bureau d'Analyse des Risques et des Pollutions Industriels (BARPI), qui dépend de la direction générale de la prévention des risques du Ministère du développement durable, a pour but de collecter et de diffuser les informations et le retour d'expérience en matière d'accidents technologiques. La base de données ARIA (Analyse, Recherche et Informations sur les Accidents) regroupe les évènements accidentels qui ont porté atteinte à la santé ou à la sécurité publique et à l'environnement essentiellement dans le cas d'installations industrielles ou agricoles classées ou susceptibles de l'être (depuis 1992) et dans le cas de transport de matières dangereuses (depuis 2010). La base ARIA regroupe plus de 40 000 accidents toutes activités confondues aussi bien français qu'étrangers (accidents mondiaux les plus significatifs du point de vue des répercussions sanitaires et environnementales) ; 1477 incidents en France ont été analysés et détaillés en 2012 (ARIA, 2013). Parmi ces derniers incidents, tous n'ont pas d'impact sur l'environnement. Il peut également s'agir, par exemple, d'accidents de la route impliquant le transport de matières dangereuses avec des conséquences humaines et matérielles.

L'incendie et le rejet de matières dangereuses (volontaire ou accidentel) font partie des formes les plus courantes d'accidents susceptibles d'avoir un impact sur la qualité des eaux. 103 rejets de matières dangereuses ont été observés en 2012 ; 18 d'entre eux sont les suites d'un incendie et d'écoulement d'eaux d'extinction et 7 d'entre eux sont liés à des accidents routiers ou ferroviaires.

Une échelle des risques a été officialisée en 1994 par le comité des autorités compétentes des Etats membres pour l'application de la directive Seveso (Directive

Seveso, 1982). Cette échelle européenne permet, en mesurant les conséquences humaines, environnementales et économiques, de rendre compte de l'importance des accidents. Pour la compléter, un indice supplémentaire, dénommé «indice des matières dangereuses relâchées», a été rajouté en 2003 en accord avec la modification de la directive Seveso (Directive 96/82/CE, 1996) et de son amendement apporté en 2003 (Directive 2003/105/CE, 2003).

Cette échelle, disponible sur le site ARIA, se base sur 18 paramètres techniques permettant de caractériser les effets et les conséquences des accidents (ARIA, 2013). Chacun des paramètres de cette échelle comprend 6 niveaux et sont classés en 4 groupes d'effets ou de conséquences :

- 2 paramètres ont trait aux quantités de matières dangereuses impliquées
- 7 paramètres portent sur les aspects humains et sociaux
- 5 paramètres concernent les conséquences environnementales
- 4 paramètres portent sur les conséquences économiques

Les paramètres de cette échelle européenne sont détaillés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Critères	pris en	compte lors	de l'analyse d'un	accident (d'après ARIA, 20	13)
----------------------	---------	-------------	-------------------	----------------------------	-----

Matières dangereuses relâchées	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3	Niveau 4	Niveau 5	Niveau 6
Quantité de substance perdue ou rejetée par rapport au seuil « Séveso » (en%)*	< 0,1	0,1 - 1	1 - 10	10 - 100	100- 1000	> 1000
Quantité de substance explosive ayant participé à l'explosion (en équivalent tonnes de TNT)	< 0,1	0,1 - 1	1 - 5	5 -50	50 - 500	> 500
Conséquences humaines et sociales	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3	Niveau 4	Niveau 5	Niveau 6
Nombre total de morts		1	2 - 5	6 - 19	20 - 49	>50
Nombre total de blessés avec une durée d'hospitalisation supérieure à 24h	1	2 - 5	6 - 19	20 - 49	50 - 199	> 200
Nombre total blessés légers soignés sur place ou avec une hospitalisation inférieure à 24h	1 - 5	6 - 19	20 - 49	50 - 199	200 - 999	> 1000
Nombre de tiers sans abris ou dans l'incapacité de travailler		1 – 5	6 - 19	20 - 99	100 - 499	> 500
Nombre de riverains évacués ou confinés pendant plus de 2h x nombre d'heures (personne × nombre heures)		< 500	500- 5×10 ³	5×10^{3} - 5×10^{4}	5×10^4 - 5×10^5	> 5×10 ⁵
Nombre de personnes privées d'eau potable, électricité, gaz, téléphone, transports publics (personne × nombre heures) (personne × nombre heures)		< 10 ³	10 ³ - 10 ⁴	10 ⁴ - 10 ⁵	10 ⁵ - 10 ⁶	> 10 ⁶
Nombre de personne nécessitant une surveillance médicale supérieure à 3 mois après l'accident		< 10	10 - 50	50 - 200	200- 1000	> 1000

*Seuil défini par type de substance pour être classé en « seuil bas » ou « seuil haut ». Par exemple, pour les comburants le « seuil bas » est de 50 tonnes et le « seuil haut » est de 200 tonnes

Conséquences environnementales	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3	Niveau 4	Niveau 5	Niveau 6
Quantité d'animaux sauvages tués, blessés ou rendus impropres à la consommation (tonne)	< 0,1	0,1 - 1	1 - 10	10 - 50	50 - 200	> 200
Proportion d'espèces animales ou protégées détruites dans la zone accidentée (en %)	< 0,1	0,1 - 0,5	0,5 - 2	2 - 10	10 - 50	> 50
Volume V d'eau polluée (en m ³)	< 10 ³	10 ³ - 10 ⁴	10 ⁴ - 10 ⁵	10 ⁵ - 10 ⁶	$10^6 - 10^7$	> 10 ⁷
Surface S de sol ou nappe d'eau souterraine nécessitant un nettoyage ou une décontamination spécifique (en ha)	0,1 - 0,5	0,5 - 2	2 - 10	10 - 50	50 - 200	> 200
Longueur L de berge ou de voie d'eau nécessitant un nettoyage ou une décontamination spécifique (en km)	0,1 - 0,5	0,5 - 2	2 - 10	10 - 50	50 - 200	> 200
Conséquences économiques (en millions d'euros)	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3	Niveau 4	Niveau 5	Niveau 6
Dommages matériels dans l'établissement	0,1 - 0,5	0,5 - 2	2 - 10	10 - 50	50 - 200	> 200
Pertes de production de l'établissement	0,1 - 0,5	0,5 - 2	2 - 10	10 - 50	50 - 200	> 200
Dommages aux propriétés ou perte de production hors de l'établissement		0,05 - 0,1	0,1 - 0,5	0,5 - 2	2 - 10	> 10
Coût des mesures de nettoyage, décontamination ou réhabilitation de l'environnement	0,01- 0,05	0,05 - 0,2	0,2 - 1	1 - 5	5 - 20	> 20

Tableau 4 : Critères pris en compte lors de l'analyse d'un accident (d'après ARIA, 2013) (fin)

En 2012, 113 incidents soit 8% des incidents français ont provoqué une pollution des eaux de surface et/ou des eaux souterraines.

A titre d'exemple, en novembre 2012, une fuite de 400 litres d'insecticide s'est produite dans une usine de fongicides et de pesticides (BARPI N°43449, 2012). Une contamination des eaux souterraines est alors observée par l'exploitant (méthode de détermination de la pollution non précisée) au niveau d'une barrière hydraulique en aval du site. Afin de limiter la propagation de la pollution, le débit de pompage de la nappe est augmenté et les eaux ainsi récupérées, dépolluées par double filtration sur charbon actif, sont rejetées dans les eaux de surface. Lors d'une étude hydrologique, une modélisation de l'évolution du panache a été réalisée et les eaux souterraines ont été étroitement surveillées notamment en amont d'un puits de captage d'eau potable (durée de surveillance non précisée).

2.3. Législation française relative aux pollutions accidentelles ou intentionnelles

Selon le **Code de l'environnement** et plus précisément selon les articles L.432-2, et L.216-6 (Code de l'environnement, 2000), modifiés par l'ordonnance du 11 janvier 2012 (Ordonnance 2012-34, 2012), polluer l'eau est une infraction et une police de l'eau a donc été mise en place pour traquer les pollutions et les pollueurs. Les agents de cette police peuvent être des agents des services départementaux de l'Onema, des gardespêche ou encore des gendarmes. Ils peuvent constater la pollution et sont placés sous l'autorité du préfet.

La direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement (DREAL) assure la coordination de la police de l'eau au niveau régional.

Lors d'une pollution accidentelle ou volontaire, tous les organismes cités précédemment organisent la prise en charge de la pollution selon la **loi de modernisation de la sécurité civile** du 13 août 2004 (Loi n° 2004-811, 2004) qui présente les plans ORSEC (Organisation de la Réponse de SEcurité Civile). Ces plans sont précisés par les décrets d'application du 13 septembre 2005 (Décret n° 2005-1157, 2005) et par le Plan Communal de Sauvegarde (PCS) (Décret n° 2005-1156, 2005).

Ainsi, chaque plan ORSEC doit comporter :

- un inventaire et une analyse des risques et des effets potentiels des menaces de toute nature pour la sécurité des personnes, des biens et de l'environnement,
- un dispositif opérationnel répondant à cette analyse. Ce dispositif opérationnel doit être adapté à la nature, à l'ampleur et à l'évolution de l'événement,
- les modalités de préparation et d'entraînement. Ces exercices permettent de tester les dispositions générales et spécifiques du dispositif.

Le dispositif opérationnel ORSEC intervient sous la direction du Directeur des Opérations de Secours (DOS) qui peut être le maire, ou le préfet lorsque la pollution dépasse le cadre d'une seule commune. Le DOS a pour mission de diriger les actions des intervenants, d'assurer la communication, d'informer ses supérieurs hiérarchiques, d'anticiper les conséquences et de mobiliser tous les moyens nécessaires.

Par exemple, selon le plan ORSEC relatif aux pollutions accidentelles des eaux intérieures de la préfecture des Yvelines (ORSEC, 2007) :

- les services départementaux d'incendie et de secours (SDIS) limitent l'étendue de la pollution, et assurent les missions de secours,
- les services de la police de l'eau indiquent la progression de la pollution, procèdent ou font procéder aux prélèvements pour analyses,
- les Agences Régionales de Santé (ARS) informent des incidences de la pollution sur la population, proposent des mesures à prendre pour lutter contre la contamination de l'eau (interdiction de consommation, fermeture des stations de pompage),
- le maire informe la population et la préfecture des éventuelles conséquences sanitaires et environnementales.

La loi de modernisation de la sécurité civile a également permis la mise en place du Plan Communal de Sauvegarde (PCS) pour assurer l'alerte, l'information, la protection et le soutien de la population en cas d'évènement majeur, naturel ou technologique (Décret n° 2005-1156, 2005). Les DOS disposent alors d'un outil pour organiser la lutte contre les pollutions accidentelles de petites et moyennes ampleurs au sein de leur commune. En eaux intérieures (fleuves, rivières, lacs), la rapidité de la réaction des responsables pour parer à une menace ou à la survenue d'une pollution est une condition essentielle d'efficacité. Un rôle de surveillance est donc confié aux services chargés de la police des eaux, de la pêche et des installations classées, avec la participation des services de la sécurité civile, des polices urbaines et de gendarmerie.

La législation va s'intéresser aux différentes sources susceptibles de polluer les milieux aquatiques. Ainsi, elle va se préoccuper des installations classées soumises à autorisation qui sont des installations ne présentant pas de graves dangers ou inconvénients mais devant respecter des prescriptions générales édictées par le préfet-Articles L 512-8 à L 512-13 et Articles R 512-47 et suivants du Code de l'environnement (Code de l'environnement, 2000).

L'**arrêté du 2 février 1998** (Arrêté, 1998) s'applique aux installations classées pour la protection de l'environnement et a pour principaux objectifs :

- la protection des milieux naturels et de la santé des populations,
- l'intégration, dans un même dispositif, de l'ensemble des prescriptions relatives à la protection de l'environnement,
- la transposition des directives européennes qui concernent les rejets des activités industrielles,
- l'assurance d'une qualité minimale des boues des stations d'épuration.

Ainsi, les articles 4 et 7 de cet arrêté réglementent la prévention des accidents et des pollutions accidentelles notamment par la mise en place de canalisations adaptées et étanches au transport de fluides dangereux. Un réseau de collecte des eaux pluviales doit être aménagé de manière à recueillir le premier flot s'il y a un risque de pollution. Cette eau ne pourra être rejetée qu'après analyse et traitement si nécessaire (Arrêté, 1998).

Lors de la constatation d'une pollution importante (des eaux brutes, de surface ou souterraines, aux eaux distribuées), le DOS met en place une démarche qui est suivie par l'ensemble des secours (Figure 2) (Berland, 2002). La pollution peut soit être visible (modification de la couleur, mortalité des espèces aquatiques importante,...) soit avoir été détectée lors d'une analyse de routine dont le but n'était pas *a priori* d'intervenir sur une pollution ponctuelle mais plutôt d'effectuer un suivi.



Figure 2 : Arbre de décision possible lors de la constatation d'une pollution (adapté de Berland, 2002)

Une fois la pollution constatée et l'alerte donnée, des analyses sont réalisées afin de déterminer l'origine de la pollution puis des moyens sont mis en œuvre afin de limiter la propagation puis de l'éliminer (Figure 2). Les résultats des analyses doivent aider à une prise de décision rapide afin de limiter les conséquences sur les milieux et les populations. Une fois que la situation est revenue à la normale, des rapports sont rédigés par le DOS et l'ensemble des acteurs afin d'avoir des retours d'expérience (Décret n° 2005-1157, 2005). Le Bureau d'Analyse des Risques et des Pollutions Industriels (BARPI) a pour objectif de collecter ces retours d'expérience.

2.4. Besoin de méthodes sur site

L'évolution de la réglementation en particulier la DCE entraîne des mesures de surveillance de la qualité de l'eau de plus en plus fréquentes (Directive 2000/60/CE, 2000). Les méthodes actuellement utilisées lors de la surveillance et du contrôle (contrôle de surveillance, contrôle opérationnel, contrôle d'investigation et contrôle additionnel; cf. 1.1.1) des eaux reposent essentiellement sur des méthodes de laboratoire normalisées (Greenwood et al., 2007; Roig, 2007). Ces méthodes de laboratoire présentent un grand nombre d'avantages comme la sensibilité, la fiabilité et la robustesse mais elles sont longues, chères et ne permettent pas un contrôle fréquent ou continu des eaux (Allan et al., 2006; Madrid et Zayas, 2007). Elles nécessitent un prélèvement d'échantillons ponctuels ou moyens (à des périodes de temps définies) suivi souvent d'une extraction ou d'un prétraitement, et d'une analyse en laboratoire que ce soit pour les composés organiques ou inorganiques (Allan et al., 2006).

Ces méthodes de laboratoire normalisées sont indispensables et obligatoires pour satisfaire les besoins réglementaires, mais elles sont mal adaptées au contrôle en temps réel permettant un meilleur suivi du flux des polluants (Allan et al., 2006 ; Roig, 2007). En effet, elles permettent d'avoir uniquement un accès à une information de l'état de l'eau à un temps donné qui n'est pas représentatif de la qualité de la masse d'eau dans son intégralité (Greenwood et al., 2007 ; Allan et al., 2006). De plus, elles ne permettent pas un suivi de la dynamique et de l'évolution en temps réel de la qualité de l'eau. La variabilité spatio-temporelle de la composition et des caractéristiques physico-chimiques d'une eau peut être influencée par des facteurs anthropiques (activités urbaines, industrielles ou agricoles) et naturels (sécheresse, fortes pluies) (Roig et al., 2011 ; Allan et al., 2006 ; Roig, 2007). A titre d'exemple, des conditions météorologiques extrêmes (pluies intenses), ou des flux accidentels de polluants peuvent affecter l'efficacité des usines de potabilisation pouvant ainsi détériorer la qualité de l'eau distribuée (Roig et al., 2011).

La réalisation de mesures sur site devient alors intéressante pour offrir une vision globale et permettre le suivi permanent de l'évolution d'un écosystème soumis ou non à différentes pressions anthropiques et naturelles.

Ainsi, la surveillance de la qualité d'une eau ne doit pas se limiter aux contrôles des paramètres règlementaires, mais peut être élargie en prenant en considération d'autres critères tels que par exemple les défaillances des systèmes de traitement, les évènements climatiques majeurs et les pollutions accidentelles ou intentionnelles, qui peuvent être à l'origine de la détérioration de la qualité de l'eau et de conséquences collatérales sur la santé humaine (Roig et al., 2013). Ainsi, lors d'une contamination accidentelle ou intentionnelle de l'eau nécessitant un diagnostic rapide, Roig et al. (2013) proposent une adaptation des schémas conventionnels de contrôles basée sur un

mélange entre le contrôle classique de surveillance de la qualité de l'eau et le contrôle opérationnel (Figure 3).



Figure 3 : Adaptation du contrôle des eaux en fonction du type de pollution (d'après Roig, 2013)

Ainsi, si le contrôle classique (prélèvement et analyse en laboratoire) est bien adapté lors de contrôles réglementaires tout au long de l'année, sans phénomène d'urgence, il n'est pas le plus approprié lors de circonstances exceptionnelles (pollution accidentelle ou intentionnelle, événement climatique). Les dispositifs de mesures rapides permettent d'augmenter la fréquence des mesures et d'effectuer des mesures en tout point du réseau, ce qui permet une meilleure surveillance de la qualité des eaux (Roig et al., 2013 ; Gravelline et al., 2010).

Ces dispositifs sur site sont ainsi complémentaires des méthodes de référence de laboratoire et permettent une meilleure gestion des eaux environnementales. Ces systèmes permettent d'accéder rapidement à des informations non seulement qualitatives mais également semi-quantitatives voire quantitatives (Roig, 2007). Certaines des méthodes employées sont mises en œuvre en continu, permettant alors des mesures permanentes, une automatisation de la mesure et, la mise en place de procédures d'auto-surveillance, de systèmes d'alerte ou d'aide à la décision (Madrid et Zayas, 2007 ; Graveline et al., 2010 ; Roig, 2007). Ainsi, lors de pollutions accidentelles ou intentionnelles, elles trouvent leur importance grâce à leur grande réactivité et rapidité; paramètres indispensables pour limiter les conséquences environnementales ou sanitaires de l'évènement (Allan et al., 2006 ; Gravelline et al., 2010 ; Roig, 2007). Dans le cas d'utilisation de méthodes classiques (prélèvement et analyse en laboratoire), le délai entre l'échantillonnage et le résultat de l'analyse peut atteindre plusieurs heures ou jours (Storey et al., 2011 ; Madrid et Zayas, 2007) (Figure 4).



Figure 4 : Comparaison des méthodes classiques (prélèvement et analyse en laboratoire) et des méthodes sur site

3. Méthodes de surveillance de la qualité des eaux sur site

L'objectif de cette partie est de réaliser un inventaire des méthodes de surveillance de la qualité des eaux existantes sur site. Certaines de ces méthodes peuvent être mises en œuvre en continu, permettant alors des mesures permanentes, une automatisation de la mesure et, ainsi la mise en place de procédures d'auto-surveillance, de systèmes d'alerte ou d'aide à la décision en impliquant des méthodes biologiques ou chimiques. Certaines de ces méthodes peuvent également être adoptées en tant que méthode de prétraitement ou d'extraction avec des analyses ultérieures en laboratoire.

3.1. Définition des méthodes d'analyse sur site

Selon la technologie mise en œuvre, 3 types de méthodes permettent la mesure sur site et sont présentées dans la Figure 5.



Figure 5 : Méthodes d'analyse sur site (Roig, 2007)

Les **méthodes** *in situ* consistent au recueil d'un signal émis par une sonde directement immergée dans l'eau (eaux de surface, eaux usées,...). Les données recueillies peuvent être enregistrées automatiquement et transmises à distance (Roig, 2007). Des sondes pour un ou plusieurs paramètres (sondes multi-paramètres) permettent ainsi de déterminer rapidement des caractéristiques physico-chimiques de l'eau étudiée comme le pH, la température, la conductivité ou l'oxygène dissous (Greenwood et al., 2007 ; Roig, 2007, Pineda Arellano et al., 2013 , Storey et al., 2011 ; Grayson et Holden, 2012 ; Beaulieu et Ramirez, 2013).

Les **méthodes en ligne** : l'échantillon est pompé à un débit fixé puis transporté jusqu'à la cellule de mesure après avoir subi ou non l'ajout de réactif(s) (ou autre prétraitement). L'échantillonnage peut être asservi au temps ou au débit c'est-à-dire qu'il peut être réalisé à un intervalle de temps régulier ou alors lorsqu'une augmentation de débit de la masse d'eau est observée (sorties de STEP). Certaines des méthodes peuvent être mises en œuvre de manière continue, permettant des mesures en temps réel ou de manière séquentielle (Roig, 2007 ; Greenwood et al., 2007). La mesure se fait par des techniques optiques (spectrophotométrie de fluorescence, UV, visible, IR...), chimiques voire même biologiques (Greenwood et al., 2007 ; Roig, 2007 ; Mongra et Kaur, 2012 ; Constant et al., 2009 ; Ren et Wang, 2010 ; Barillon et al., 2010).

Les **méthodes hors ligne** consistent à déplacer l'appareillage à proximité du lieu de prélèvement, par exemple une rivière, et à réaliser à partir d'échantillons prélevés ponctuellement différents types de mesures. Un opérateur doit alors effectuer d'une part le prélèvement et d'autre part certaines manipulations pour la réalisation des mesures (transvasement de l'échantillon, ajout d'un réactif...). Les différentes techniques employées peuvent être dans ce cas, des techniques chimiques (tests colorimétriques), biologiques (immunoessais) ou encore optiques (spectrophotométrie UV) (Greenwood et al., 2007 ; Roig, 2007 ; Oguz et Kanyana, 2013 ; Constant et al., 2009 ; Gonzalez et al., 2007).

Le Tableau 5 présente des dispositifs (sondes et analyseurs) utilisables sur site (*in situ*, en ligne ou hors ligne) et permettant :

- de déterminer les paramètres physico-chimiques de l'eau,
- de surveiller et d'identifier la toxicité d'une eau,
- de détecter et d'identifier des micropolluants organiques dans l'eau.

Tableau 5 : Dispositifs commerciaux utilisables sur site pour déterminer les paramètres physicochimique, la toxicité et détecter des micropolluants organiques dans l'eau

Sonde	Analyseur	Références
	Paramètres p	hysico-chimiques
Hydrolab MS5 (ANDRA)		Fass et Block, 2005 ; Österlund et al., 2010
6-Series (YSI)		Fass et Block, 2005 ; Holland et al., 2004
	Optilis 201 (EFS)	
Spectro::lyser (sc ::an)		Van den Broeke, 2005 ; Storey et al., 2011
	PastelUV (SECOMAM)	Roig et al., 2007; Gonzalez et al., 2007
	STAC (SECOMAM)	Gonzalez et al., 2007
U-50 Série (HORIBA)		Hu et al., 2012 ; Beaulieu et Ramirez, 2013
CarboVis (YSI)		Pineda Arellano et al., 2013 ; Grayson et Holden, 2012
NiCaVIS (YSI)		Grayson et Holden, 2012
	LAR Biomonitor (ANAEL)	
	RODTOX 2000 (Kelma)	Mongra et Kaur, 2012 ; Liu et Mattiasson, 2002
	BIOX 1010 (Endress + Hauser)	Liu et Mattiasson, 2002 ; Iranpour et Zermeno, 2008
	MB-DBO (BioSensores SL)	
	Aquapod Light (HOCER)	
	Te	oxicité
	DaphTOX II (BBE)	Cho et al., 2009 ; Jeon et al., 2008 ; Green et al., 2003 ; Ren et Wang, 2010
	ToxProtect 64 (BBE)	Van der Gaag et Volz, 2008 ; Mons, 2008 ; Storey et al., 2011
	Truitel TruitoSEM (CIFEC)	
	Y-KS2601 (Mycotrade)	
	BehavioQuant system (BBE)	Spieser, 2001

Tableau 5 : Dispositifs commerciaux utilisables sur site pour déterminer les paramètres physicochimique, la toxicité et détecter des micropolluants organiques dans l'eau (fin)

Sonde	Analyseur	Références
		Toxicité
	MosselMonitor (Aquadect)	De Zwart et al., 1995 ; Chen et al., 2010
	TOXScreen II	Cho et al., 2009
	Microtox CTM (ModernWater)	Cho et al., 2009 ; Gutierrez et al., 2002 ; Farre et al., 2001 ; Mowat et Bundy, 2001
	DeltaTox II (Sdix)	Mowat et Bundy, 2001 ; Thomson et Gray, 2004
	TOXcontrol (MicroLAN)	Storey et al., 2011 ; Barcelo et al., 2012 ; Barillon et al., 2010
	toximètre (BBE)	
	WatchFrog	Castillo et al., 2013 ; Potera, 2011
	Kit ELISA (Biosense)	Oguz et Kanyana, 2013 ; Watanabe et al., 2004 ; Zaruk et al., 2001 ; Mallat et al., 2001 ; Mauriz et al., 2006 ; Allan et al., 2006
		Micropolluants organiques
	HazMatID (Smith detection)	USEPA, 2005
	PastelUV (SECOMAM)	Gonzalez et al., 2007 ; Constant et al., 2009
	STAC (SECOMAM)	Gonzalez et al., 2007 ; Constant et al., 2009
	Scentograph CMS200 (INFICON)	Kroll, 2009 ; USEPA 2005
	5975T (Agilent)	Sun, 2010
	Aquapod SPE (HOCER)	
		Mills et al., 2007 ; Belau et al., 2002 ; Vrana et al., 2007 ; Walendzik et al., 2005 : Assoumani et al., 2013 : Hauser et

Popp, 2001

Ainsi, la surveillance sur site peut se faire par la détermination de paramètres physicochimiques, par la détermination de la toxicité de l'eau ou encore par la détection de micropolluants organiques et inorganiques. Des stations d'alerte, placées au niveau des usines de production d'eau potable, et des stations d'épuration (Graveline et al., 2010), peuvent inclure plusieurs des dispositifs (comme les sondes multi-paramètres permettant de déterminer les paramètres physico-chimiques et des analyseurs permettant de déterminer en continu la toxicité de l'eau) cités dans le Tableau 5. Ces stations placées sur site peuvent alors réagir rapidement lors de la suspicion d'une pollution.

Pour les eaux naturelles et les effluents domestiques et industriels, plusieurs paramètres peuvent être mesurés. Des mesures peuvent être réalisées sur site selon les recommandations de la norme NF FD T90-523-1 pour les eaux superficielles (NF FD T90-523-1, 2008), de la norme NF FD T90-523-2 pour les eaux résiduaires (NF FD T90-523-2, 2008), de la norme NF FD T90-523-3 pour les eaux souterraines (NF FD T90-523-3, 2009) et d'autres normes, présentées ci-dessous, spécifiques à chacun des paramètres. Pour les eaux de surface, les mesures sont, dans la majorité des cas, réalisées directement dans les cours d'eau (mesure *in situ*) à partir des berges, d'un bateau ou à pied.

3.2. Mesure de paramètres physico-chimiques

Certains paramètres physico-chimiques peuvent être estimés afin d'évaluer la qualité de l'eau. Ainsi, les nutriments comme l'azote total, et le phosphore total jouent un rôle important dans le suivi de la qualité de l'eau car ils sont impliqués dans le procédé d'eutrophisation (Abell et al., 2010). Le taux d'oxygénation de l'eau peut quant à lui être déterminé par la mesure de l'oxygène dissous (DO), la demande chimique en oxygène (DCO), et la demande biologique en oxygène (DBO). L'acidité de l'eau et la salinité peuvent respectivement être déterminées grâce à la mesure du pH et de la conductivité. La quantité de matière organique dissoute et en suspension peut être estimée suite à la détermination du carbone organique total (COT), de la turbidité et des matières en suspension (MES) (Junqua et al., 2009).

3.2.1. Paramètres chimiques

3.2.1.1. La demande biologique en oxygène

La **demande biologique en oxygène** (DBO) permet d'exprimer la quantité d'oxygène consommée par les bactéries aérobies pour oxyder les matières organiques. La DBO, souvent utilisée pour des eaux usées, s'avère être un bon indicateur de la concentration en matières organiques biodégradables (Dupuit, 2007).

Au laboratoire, la DBO est déterminée en plaçant un échantillon d'eau à incuber dans le noir pendant, en général, 5 jours à 20 ± 1 °C, puis la consommation en oxygène est mesurée dans l'échantillon à la fin de l'incubation (NF EN 1899, 1998 ; Dupuit, 2007). Cette méthode de laboratoire est chronophage (attente pendant 5 jours) et ne permet donc pas de suivre l'évolution de la qualité des eaux usées en temps réel. Des dispositifs rapides et utilisables sur site ont été développés et commercialisés (Jouanneau et al., 2014).

Certains de ces dispositifs sont basés sur l'activité des boues de la station d'épuration à surveiller. Par exemple, l'analyseur en ligne BioMonitor de LAR permet de déterminer en 5 minutes la DBO d'un milieu. L'effluent traverse quatre bioréacteurs successifs contenant de la boue du site. La teneur en oxygène de l'atmosphère située au-dessus de l'échantillon dans chacun des 4 bioréacteurs sert à calculer la consommation en oxygène puis à estimer la valeur de DBO (Jouanneau et al., 2014).

Une autre méthode dite de corrélation (Roig et al., 2007) repose sur l'analyse des spectres UV (Jouanneau et al., 2014 ; Junqua et al., 2009). Des sondes (mesures *in-situ*, CarboVis et NiCaVis de YSI par exemple), des analyseurs en ligne (BOD Online Analyser d'AWA instruments ; Aquapod Light d'HOCER) et des analyseurs hors ligne (Pastel UV de Secomam) permettent à partir de l'acquisition de spectres UV et de leur déconvolution d'estimer la DBO d'un milieu. Le principe de la déconvolution est présenté § 3.2.3 et Partie 2 § 4.3.3.2.

3.2.1.2. La demande chimique en oxygène

La **demande chimique en oxygène** (DCO) est un indicateur de pollution représentatif de la quantité de matières organiques oxydables par voie chimique ; elle correspond donc à la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder les matières organiques d'un échantillon (Junqua et al., 2009). En laboratoire, la DCO est déterminée grâce à une oxydation au bichromate de potassium en milieu sulfurique avec un dosage en fin de minéralisation par colorimétrie (NF T90-101, 2001). Cependant une méthode alternative permet la mesure de la DCO dans les eaux usées par spectrophotométrie avec un prétraitement avec des réactifs (bichromate de potassium et acide sulfurique) et une détection par spectrophotométrie à 440 ou 600 nm (NF ISO 15705, 2002). Ainsi, Merck propose le kit Spectroquant pour effectuer des tests rapides en tube sur site. Jansen et al. (2010) ont employé ce kit afin de déterminer la DCO dans les effluents d'une usine de traitement d'eaux usées. Des sondes (Spectro::lyser de s ::can) et des analyseurs en ligne (Aquapod SPE d'HOCER) ou hors ligne (Pastel UV de Secomam) basés sur l'absorption UV et la déconvolution permettent également d'estimer la DCO d'un milieu (par exemple dans de l'eau destinée à la consommation humaine - Storey et al., 2011).

3.2.1.3. Le carbone organique total

Le **carbone organique total** (COT) englobe la partie dissoute et la partie particulaire du carbone organique présentes dans un échantillon. Le COT provient de la matière organique naturelle et également de sources anthropiques (pesticides, produits chimiques industriels...) (Florescu et al., 2010). Au laboratoire, le COT est déterminé par une oxydation forte de la matière organique suivie par une détection par spectrophotométrie IR (NF EN 1484, 1997). Cette méthode a été adaptée sur site notamment par le développement d'analyseurs en ligne (Analyseur 5000TOC de MT). Sur site, une autre méthode reposant sur la corrélation existante entre le COT et l'absorbance à 254 nm (représentant la matière organique dans l'eau) peut également être employée (Uyguner et Bekbolet, 2005; Thomas et al., 2005).

Des sondes (Spectro::lyser de s ::can) et des analyseurs en ligne (Aquapod SPE d'HOCER) ou hors ligne (Pastel UV de Secomam) basés sur l'absorption UV et la déconvolution permettent également d'estimer le COT d'un milieu.

3.2.1.4. L'azote total

L'azote total (NT) consiste en l'estimation de la somme des différentes formes de l'azote : l'azote de Kjedahl (ammonium, ammoniac et azote organique), les nitrites et les nitrates dans l'eau (Junqua et al., 2009). En laboratoire, l'azote de Kjeldahl est déterminé en minéralisant l'échantillon en présence d'acide sulfurique, de sulfate de potassium et de sélénium. L'ajout d'une base permet de libérer l'ammoniac du sulfate d'ammonium qui est dosé par titrimétrie (NF EN 25663, 1994). En ce qui concerne les nitrates et les nitrites, la méthode de laboratoire repose sur la réduction de l'azote nitrique en azote nitreux puis les nitrites et l'azote nitreux sont diazotés afin de former un complexe rouge dont l'intensité est mesurée par spectrophotométrie à 543 nm (NF EN ISO 13395, 1996 ; Moorcroft et al., 2001). La concentration en nitrates est alors estimée par différence entre l'azote nitrique et les nitrites (Moorcroft et al., 2001). D'autres méthodes peuvent également être employées comme par exemple la détermination des nitrates et des nitrites par chromatographie ionique (NF EN ISO 10304-1, 2009). Sur site, plusieurs méthodes peuvent être employées pour déterminer la concentration en nitrates dans l'eau.

Des bandelettes colorimétriques permettent d'accéder rapidement à une estimation des nitrates dans les eaux destinées à la consommation, les eaux usées et les effluents (NO3-Mquant de Merck). A partir d'un kit colorimétrique (Spectroquant kit Nitrate de Merck) et d'un spectrophotomètre portable, les nitrates peuvent être déterminés dans l'eau (Junqua et al., 2009 ; Gabaldon et al., 2007). Dans ce cas, la détermination des nitrates

repose sur la formation d'un complexe rouge en présence d'acide et sur une détection par spectrophotométrie à 517 nm (Junqua et al., 2009).

Des sondes spécifiques aux nitrates (Série-6 de YSI) permettent de les estimer en se basant sur le principe de la potentiométrie. Enfin, la spectrophotométrie UV permet après déconvolution du signal d'avoir accès à une estimation des nitrates dans les eaux (Junqua et al., 2009). L'analyseur Pastel UV (Secomam) et l'analyseur en ligne Aquapod Light (HOCER) utilisent cette dernière méthode.

3.2.1.5. Le phosphore total

Le **phosphore total** (TP) est la somme des orthophosphates, des polyphosphates et des phosphates organiques (Junqua et al., 2009). Dans les eaux naturelles, le phosphore est un nutriment essentiel à la croissance des algues et des plantes (Gentle et al., 2010).

Au laboratoire, les polyphosphates sont hydrolysés et les phosphates organiques oxydés pour les transformer en orthophosphate. Le dosage des ions orthophosphates peut être réalisé par chromatographie ionique (NF EN ISO 10304-1, 2009). Les orthophosphates peuvent aussi être quantifiés par une méthode colorimétrique avec du molybdate d'ammonium (NF EN ISO 6878, 2005). Cette procédure d'analyse peut être automatisée (NF EN ISO 15681-1 et 2, 2005) et donc utilisée sur site via la mise en place d'analyseur en ligne (TNPC-4110 de Shimatzu).

3.2.2. Les paramètres physiques

3.2.2.1. La température

La **température** de l'eau peut influencer les processus naturels dans les eaux de surface. Ce paramètre va avoir un impact sur l'oxygène dissous, le pH et la solubilité des sels dans l'eau (Florescu et al., 2010). Des sondes comme la sonde Série 6 de YSI peuvent être utilisées pour la détermination de la température sur site.

3.2.2.2. Le potentiel hydrogène

Le **potentiel hydrogène** (pH) est un indicateur important de la qualité de l'eau. En effet, une pollution peut changer de manière importante le pH (Florescu et al., 2010). Le pH peut être déterminé en laboratoire et sur site par une méthode potentiométrique en utilisant une électrode de verre (NF T90-008, 2001). La mesure du pH dans l'eau peut être réalisée en ligne (Titronics de GAS), hors ligne (pHmètre de VWR) et *in-situ* (Série 6 de YSI).

3.2.2.3. La conductivité

La **conductivité** représente la capacité de l'eau à conduire un courant électrique ce qui permet d'accéder à la concentration ionique dans l'eau. Une augmentation importante de la conductivité peut être le résultat d'une pollution (Florescu et al., 2010). La détermination en laboratoire et sur site de la conductivité de l'eau repose sur la mesure de la conductance entre 2 électrodes (NF EN 27888, 1994). La mesure de la conductivité dans l'eau peut être réalisée en ligne (Power Mon Titrometer de Bran+Luebbe), hors ligne (conductimètre de Mettler Toledo) et *in-situ* (Série 6 de YSI).

3.2.2.4. L'oxygène dissous

L'**oxygène dissous (OD)** représente la concentration en oxygène d'un échantillon d'eau et peut être mesuré par des méthodes iodométrique ou électrochimique (NF EN 25813, 1993 ; NF EN 25814,1993). Sur le terrain, des sondes (6-Series de YSI) et des analyseurs en ligne (Optilis de LAC Instruments et systèmes) peuvent être utilisés.

3.2.2.5. La turbidité

La **turbidité** de l'eau est définie comme étant la réduction de la transparence d'un liquide due à la présence de matières non dissoutes (NF EN ISO 7027, 2000). La turbidité provient notamment des matières en suspension inorganiques et des microorganismes microscopiques dans l'eau (Florescu et al., 2010). La norme NF EN ISO 7027 prescrit 4 méthodes de détermination de la turbidité de l'eau.

Deux méthodes quantitatives faisant appel à des turbidimètres optiques et basées sur la mesure de la lumière diffusée (applicable aux eaux de faible turbidité comme par exemple les eaux destinées à la consommation humaine) ou sur la mesure de l'atténuation de la lumière incidente.

Deux méthodes semi-quantitatives utilisées, par exemple, sur le terrain, sont spécifiées. La première méthode fait appel à un tube d'évaluation de la transparence (applicable aux eaux de faible turbidité). La seconde méthode fait appel à un disque d'évaluation de la transparence (applicable notamment aux eaux de surface) (NF EN ISO 7027, 2000 ; Junqua et al., 2009). Ces 4 méthodes peuvent être utilisées sur site (Junqua et al., 2009). A titre d'exemple la sonde *in-situ* OBS3+ de Campbell Scientific est basée sur un système optique qui émet une lumière proche de l'infrarouge (850 nm) dans l'eau et permet d'accéder à la turbidité dans l'eau notamment dans les eaux de surface (Creed et al., 2001).

3.2.2.6. Les matières en suspension

Les **matières en suspension** (MES) correspondent à la fraction de l'ensemble des particules, organiques ou minérales, non dissoutes lors d'une pollution (Junqua et al., 2009). Ces matières en suspension peuvent contribuer à la dégradation de la qualité de l'eau et empêcher ainsi le développement d'une faune et d'une flore normale. Ces matières contribuent également à l'augmentation de la turbidité et donc à la diminution de l'oxygène dissous créant ainsi des déséquilibres au niveau du développement de la vie aquatique (Bilotta et Brazier, 2008). Deux méthodes sont actuellement employées en laboratoire pour la détermination des matières en suspension : par filtration sur filtre en fibres de verre (NF EN 872, 2005) et par centrifugation (NF T 90 105-2, 1997). Sur site, des analyseur en ligne (Aquapod light de HOCER) et des analyseurs hors ligne (Pastel

UV de Secomam) permettent de déterminer les MES à partir de l'acquisition de spectres UV/Visible et de leur analyse par déconvolution.

3.2.3. La spectrophotométrie UV pour l'estimation de certains paramètres physico-chimiques sur site

Des sondes *in-situ* ou des analyseurs en ligne permettent de mesurer de nombreux paramètres par spectrophotométrie UV. C'est le cas de la sonde multi-paramètres STIP-Scan d'Endress + Hauser qui propose la détermination *in situ* dans les eaux de la DCO, la DBO, le COT, des nitrates ainsi que la turbidité (à 680 nm) (Ruban et al., 2013). De même, l'analyseur hors ligne Pastel UV de Secomam et les deux analyseurs en ligne STAC de Secomam et Aquapod light d'HOCER permettent de mesurer en moins d'une minute plusieurs paramètres comme la DCO, la DBO, le COT, les MES et les nitrates (Constant et al., 2009).

Ces sondes et ces analyseurs estiment ces différents paramètres grâce à l'acquisition de spectres UV/visible suivie d'un traitement par déconvolution.

L'estimation de ces paramètres par l'exploitation des spectres UV est une méthode rapide où deux approches peuvent être exploitées (Thomas et Theraulaz, 2007) :

- La corrélation entre une longueur d'onde particulière et un paramètre comme c'est le cas pour le COT (corrélation avec la longueur d'onde 254 nm)
- L'utilisation d'une méthode multi-longueurs d'onde (méthode plus robuste).

La méthode multi longueur d'onde est basée sur deux étapes. La première étape est la déconvolution du spectre grâce à une base de spectres de référence. Lors de cette étape la qualité de la restitution est vérifiée en s'intéressant à l'erreur entre le spectre initial et le spectre restitué (Thomas et Theraulaz, 2007). La seconde étape consiste à la détermination de la concentration.

Le choix des spectres de référence va être fonction de la matrice étudiée (eau de surface, effluent, eau de consommation). Un algorithme mathématique permet de sélectionner le ou les spectres les plus proches du spectre initial par combinaison linéaire des spectres de référence (Thomas et Theraulaz, 2007 ; Constant et al., 2009).

Des logiciels commercialisés permettent de réaliser cette dernière étape (UVPro de Secomam et μ Polg d'HOCER).

Ainsi, Gonzalez et al. (2007) ont utilisé le PastelUV (Secomam) et le logiciel UVPro (Secomam) afin de suivre notamment l'évolution des nitrates au niveau d'une eau de surface. En parallèle de l'utilisation de cet analyseur, les concentrations en nitrates ont également été déterminées par une méthode standardisée. Cette étude montre que les résultats obtenus avec ces deux méthodes sont similaires. Ainsi, l'estimation de certains paramètres par spectrophotométrie UV et déconvolution est une méthode rapide et utilisable sur site qui peut s'avérer être une alternative aux méthodes classiques. Le Tableau 6 présente les dispositifs (sondes et analyseurs) utilisables sur site et permettant la détermination des caractéristiques physico-chimiques d'une eau.

L'Annexe 5 présente les avantages et inconvénients des appareils commercialisés (liste non exhaustive) pour la détermination des caractéristiques physico-chimiques d'une eau.

Type eau	Procédure d'analyse	Prétraitement	Détection	Durée de l'analyse	Gamme	Appareil/ Référence
			DBO			
Eaux usées	En ligne	Biodégradation	Mesure de la consommation d'oxygène	Quelques minutes	0-500 g/L	BioMonitor (LAR) ; RODTOX 2000 (KELMA) ; Biox 1010 (Endress + Hauser) ; MB- DBO (Biosensores SL) ; Aivasidis et al., 2002 ; Liu et Mattiasson, 2002 ; Iranpour et Zermeno, 2008
Eaux usées ; tout type d'eau ; Eaux destinées à la consommation humaine	En ligne ; Hors ligne ; <i>In</i> <i>situ</i>		Spectrophotométrie UV	Quelques secondes à quelques minutes	0-500 mg/L	Optilis (LAC Instruments et systèmes) ; Pastel UV (SECOMAM) ; Spectroly ::ser (S ::can) ; AquapodLight et AquapodSPE (HOCER) ; Storey et al., 2011
			DCO			
Tout type d'eau	En ligne	Oxydation	Mesure de l'oxygène	1-2 min	0,1 mg/L à 200 g/L	QuickCODultra (LAR)
Eaux usées	En ligne	Oxydation	Electrodes électrochimiques	2 min	1 mg/L à 100 g/L	Elox 100 (LAR)
Eaux usées ; tout type d'eau ; Eaux destinées à la consommation humaine	En ligne ; Hors ligne ; <i>In</i> <i>situ</i>		Spectrophotométrie UV	Quelques secondes à quelques minutes	10 mg/L à 20 g/L	COD on-line analyzer (AWA instrument); Optilis (LAC Instruments et systèmes); Pastel UV (SECOMAM); Spectroly ::ser (S ::can); AquapodLight et AquapodSPE (HOCER); Storey et al., 2011

Tableau 6 : Dispositifs sur site permettant de déterminer les paramètres physico-chimiques

Type eau	Procédure d'analyse	Prétraitement	Détection	Durée de l'analyse	Gamme	Appareil/ Référence
			СОТ			
Tout type d'eau	En ligne	Oxydation	Mesure du CO2 par IR	Quelques minutes	0,004 mg/L à 50 g/L	QuickTOC (LAR) ; Online TOC (Shimadzu) ; Biotector (HACH) ; Knight et Clarke, 2005
Tout type d'eau ; Eaux naturelles et eaux usées ; Eaux destinées à la consommation humaine	Hors ligne ; En ligne ; <i>In</i> <i>situ</i>		Spectrophotométrie UV	Quelques secondes à quelques minutes	0-300 mg/L	Pastel UV (SECOMAM) ; Optilis (LAC Instruments et systèmes) ; Spectroly ::ser (S ::can) ; AquapodLight et AquapodSPE (HOCER) ; Storey et al., 2011
			Oxygène dissous			
Tout type d'eau	<i>In situ ;</i> En ligne		Luminescence	Quelques secondes	0 – 200 mg/L	RDO Pro (Aqualyse) ; 6- Series (YSI) ; Optilis (LAC Instruments et systèmes) ; Holland et al., 2004
Tout type d'eau	In situ		Polarographie	Quelques secondes à quelques minutes	0 – 50 mg/L	HI 9142 (HANNA Instruments) ; Hydrolab MS5 (HACH) ; Osterlund et al., 2010
			рН			
Tout type d'eau	<i>In-situ ;</i> En ligne : Hors ligne		Electrodes : LIS ou verre et référence	Quelques secondes	0 -14 unité pH	Hydrolab MS5 (HACH) ; 6- Series (YSI) ; Optilis (LAC Instruments et systèmes) ; pHmètre Cypberscan 510 (VWR) ; 9135 (Polymetron) ; Holland et al., 2004 ; Osterlund et al., 2010

Tableau 6 : Dispositifs sur site permettant de déterminer les paramètres physico-chimiques (suite)

Type eau	Procédure d'analyse	Prétraitement	Détection	Durée de l'analyse	Gamme	Appareil/ Référence
			Conductivité			
Tout type d'eau	<i>In-situ ;</i> En ligne ; Hors ligne		Electrode	Quelques secondes	0 - 200 mS/cm	Hydrolab MS5 (HACH) ; Optilis (LAC Instruments et systèmes) ; 6-Series (YSI) ; MC 226 (Mettler Toledo) ; Holland et al., 2004
			Turbidité			
Tout type d'eau	In-situ		Spectrophotométrie IR	Quelques secondes	0-4000 NTU	OBS3+ (Campbell Scientific) ; Creed et al., 2001 ; TurboMat (Bamo mesures)
Tout type d'eau	<i>In-situ</i> ; hors ligne ; en ligne		Nephelométrie	Quelques secondes	0 - 3000 NTU	DS5X (Hydrolab) ; 2100Q Portable (Hach) ; Oakton T- 100 Handheld Turbidity Meter (Cole Parmer) ; MicroTOL Online (Hach)
			MES			
Tout type d'eau	En ligne ; hors ligne		Spectrophotométrie UV	Quelques minutes	0 - 500 FTU	Aquapod light (HOCER) ; Pastel UV (Secomam)
			NT			
Eaux usées ; eaux naturelles	En ligne ; hors ligne	Oxydation	Chimiluminescence ; électrochimie	3 - 5 min	1-100 mg/L	Analyseurs d'Azote Total (ANAEL) ; Skalar (thermo Fischer) ; 4110 (Shimadzu) ; PowerMonS (Bran + Luebbe)
			РТ			
Eaux usées ; eaux naturelles ; eaux destinées à la consommation	En ligne ; hors ligne	Oxydation/ colorimétrie	Spectrophotométrie	20 min	0,01 - 25 mg/L	Analyseurs de phosphore total (ANAEL) ; Trescon (WTW) ; 4110 (Shimadzu) ; PowerMonS (Bran + Luebbe)

Tableau 6 : Dispositifs sur site permettant de déterminer les paramètres physico-chimiques (fin)

3.3. Surveillance et identification de la toxicité d'une eau

La surveillance et l'identification de la toxicité d'une eau repose le plus souvent sur des méthodes biologiques rapides basées sur la réponse toxicologique d'un organisme à un polluant ou à un mélange de polluants (Kane et al., 2004).

Des changements comportementaux ou physiologiques sont le signe d'une toxicité plus ou moins élevée et peuvent donner l'alerte lors d'une dégradation de la qualité de l'eau. Dans ce contexte, de nombreux organismes tels que des espèces de poissons, des crustacés, des micro-organismes (algues, bactéries) (Kane et al., 2004 ; Jeon et al., 2008) ou des mollusques bivalves (moules) (Salanki et al., 2003) d'eaux douces et salines peuvent être utilisés seuls ou en combinaison. Les dispositifs de mesure en ligne et en continu donnent une rapide détection de la variation temporelle de la qualité de l'eau et de sa toxicité. Ces dispositifs peuvent être utilisés pour la surveillance de stations de potabilisation, des systèmes de distribution d'eau et des effluents d'eaux usées. Ces dispositifs conservent l'organisme dans son entier et les organismes vivants deviennent alors un élément de détection à part entière (Allan et al., 2006). Dans de nombreux cas, une multitude d'individus d'un même groupe d'espèce sont placés sous surveillance. Ces dispositifs sont généralement basés sur la mesure de la toxicité aiguë de produits chimiques, seuls ou en mélange, présents dans l'eau. La toxicité aiguë est définie par Kroll comme étant la capacité d'une substance à causer à un organisme vivant des effets indésirables lors d'une exposition de courte durée (Kroll, 2009). Le comportement de l'organisme, quel qu'il soit (moules, poissons, daphnies ou autres crustacés), est continuellement contrôlé pour que les changements induits par des composés toxiques puissent être mis en évidence et identifiés (Kane et al., 2004). La sensibilité peut être améliorée en analysant des modifications apparemment non significatives dans le comportement des individus. Ainsi, des dispositifs électriques, optiques ou basés sur un enregistrement vidéo peuvent servir de système de détection (Naessens et al., 2000; Kane et al., 2004).

3.3.1. Dispositifs basés sur l'utilisation de poissons, mollusques bivalves et crustacés

3.3.1.1. Dispositifs basés sur l'activité locomotrice des poissons et des crustacés

Des dispositifs basés sur le déplacement des poissons peuvent être employés. Le système de détection est basé soit sur des enregistrements vidéo soit sur le principe du sonar. Ainsi, le dispositif TruitoSEM (CIFEC) (Roig et al., 2011 ; Thomas, 2000) utilise des truitelles placées dans un aquarium alimenté en continu avec de l'eau à surveiller (Figure 6). Le principe du sonar est employé : toutes les secondes, des ondes sont envoyées dans l'aquarium, elles sont alors réfléchies par les poissons ou autres obstacles qu'elles rencontrent. L'écho est par la suite réfléchi vers le récepteur puis enregistré. La comparaison de plusieurs échos successifs permet alors de déterminer le mouvement des poissons. Un déplacement anormal va déclencher une alarme.



Figure 6 : Dispositif TruitoSEM (CIFEC)

Le centre de l'armée américaine pour la recherche sur l'environnement et la santé (USACHER) a mis en place un dispositif qui en plus de s'intéresser au simple déplacement des poissons (enregistrement vidéo), surveille leur respiration. Le dispositif est composé de 8 poissons et lorsque 6 d'entre eux présentent un comportement inhabituel, une alarme se déclenche afin que les opérateurs puissent intervenir. Ce dispositif a été déployé aux alentours de grandes villes américaines (San Francisco, Washington et New York) depuis 2002. Les poissons ont permis de détecter la présence de gasoil dans l'eau 2 heures avant les autres systèmes ce qui a permis d'éviter une pollution du système d'alimentation en eau potable de la ville de New York (Kroll, 2009).

Des crustacés tels que les daphnies peuvent également être incorporés dans des dispositifs en ligne. Les daphnies sont très sensibles aux pesticides et sont utilisées depuis de nombreuses années en laboratoire pour déterminer la toxicité d'une eau (Kroll, 2009 ; Storey et al., 2011 ; Bae et Park, 2014). Le toximètre à daphnies enregistre et analyse en continu les mouvements des daphnies en contact avec l'eau à surveiller. Ces crustacés réagissent immédiatement lorsqu'ils perçoivent même de très faibles quantités de substances toxiques. La majorité du temps, une caméra enregistre les

déplacements qui sont par la suite traités automatiquement électroniquement. La méthode de traitement de l'image permet d'effectuer une série de mesures pour évaluer le comportement des daphnies en se basant sur différents critères comme les paramètres de vitesse (vitesse moyenne, distribution de la vitesse, distance entre chaque crustacé), l'observation du comportement (profondeur de la nage, analyse de la nage), et l'observation de la croissance par détermination de la taille des daphnies (Kroll, 2009).

Le calcul de la toxicité est dans ce cas basé sur un changement statistiquement significatif. Si un tel changement est observé, une alarme se déclenche. Le toximètre à daphnies DaphToxII (BBE) déclenche une alerte lorsque les polluants atteignent une concentration dans le milieu comprise entre 0,5 et 2100 µg/L (De Hoogh et al., 2006 ; Jeon et al., 2008 ; Mons, 2008 ; Storey et al., 2011). Le Tableau 7 présente les concentrations auxquelles se déclenche le toximètre DaphToxII (BBE) lors d'exposition à des pesticides.

Micropolluants organiques	Concentration (µg/L)	Micropolluants organiques	Concentration (µg/L)
Aldrine	27	Endosulfan	100
Carbaryl	22	Malathion	10
Chlorpyrifos	15	Parathion	10
Dichlorvos	0,5	Terbuthylazine	250
Diméthoate	2100	Trichlorfon	2

	_	~ .								-	
Tahleau	$7 \cdot$	Concentrations	$(11\alpha/l)$	des	nesticides	ani	déclenchent	l'alarme	du	DanhlovII	(RRF)
Tubicuu	· •	Concentrations	(µg/L)	ucs	pesticides	qui	ucciciteiteite	i ului ilic	uu	Dupilionii	

L'entreprise Aqua Survey Inc. Propose un dispositif vendu sous le nom de IQ Toxicity test. Ce dispositif est basé sur le marquage fluorescent de la nourriture des daphnies. Si l'organisme est en bonne santé, il va ingérer la nourriture et va fluorescer sous lumière UV. Par contre, une non fluorescence peut être le signe d'une toxicité de l'eau (Kroll, 2009 ; Ruck et al., 2000 ; USEPA, 2005).

3.3.1.2. Dispositif basé sur la capacité électrogène des poissons

Le dispositif GYMNOTOX (ER Ingenierie) exploite les signaux électriques émis naturellement par *l'Apteronotus albrifons* communément appelé poisson électrique. Ce poisson émet un champ électrique ondulatoire propre à chaque individu et extrêmement régulier. En contact avec des polluants (pesticides, hydrocarbures, métaux lourds), des anomalies plus ou moins importantes selon le degré de pollution sont détectées au niveau de la régularité des signaux, de la fréquence ou encore de la forme du signal émis. Ce dispositif est notamment mis en place pour la surveillance en ligne des ressources d'eau potable avec des seuils de détection de l'ordre d'une dizaine de µg/L (Thomas, 2000).

3.3.1.3. Dispositif basé sur le comportement des mollusques bivalves L'ouverture et la fermeture de valves de mollusques bivalves comme des moules d'eau douce (*Dreissena polymorpha, Unio pictorum, Anodonta cygnea*) peuvent être analysées (Kroll, 2009 ; Roig et al., 2011). Lors d'un stress, par exemple dans le cas d'un contact avec de l'eau contaminée, les valves ne vont pas s'ouvrir et se refermer de la même manière qu'en contact avec de l'eau non contaminée. Un exemple d'un tel dispositif est le Musselmonitor en continu ou *in situ* dont l'analyse du comportement des moules est possible grâce à des capteurs collés à la surface de leur coquille (Allan et al., 2006 ; USEPA, 2005) (Figure 7).



Système en ligne



Système in situ

Figure 7 : Système Musselmonitor (en ligne et *in situ*)

Les valves restent habituellement ouvertes pendant près de 80% du temps avec des temps de fermeture brefs et occasionnels. Lors d'une pollution, le comportement des moules va être modifié. Les moules peuvent rester closes pendant un laps de temps plus important ou se refermer plus fréquemment. Le Tableau 8 propose les limites de détection du Musselmonitor pour certains composés parmi lesquels des pesticides et des phénols.

Composé	Limite de détection (mg/L)
Atrazine	0,5
Bentazone	0,75
Chlorpyrifos	0,05
1,3-dichlorobenzène	1,4
Pentachlorophénol	0,01
Phénol	14

Tableau 8 : Limites de détection du Musselmonitor pour les moules d'eau douce vis-à-vis de pesticides et de phénols

3.3.2. Dispositifs basés sur l'emploi d'algues et de bactéries

3.3.2.1. Dispositifs basés sur la luminescence algale

Les dispositifs à algues (par exemple le Toximètre à algues de BBE) sont généralement basés sur la mesure d'une fluorescence ou de production d'oxygène pour détecter les effets dus aux herbicides ou à d'autres substances toxiques qui perturbent l'activité photosynthétique des algues (De Hoogh et al., 2006 ; Mons, 2008 ; Storey et al., 2011 ; USEPA, 2005). Par exemple, en présence d'herbicides, les algues endommagées réduisent leur activité photosynthétique ce qui va diminuer la fluorescence émise. Ce type de dispositif est sensible pour la détection d'herbicides (0,5 μ g/L pour l'atrazine).

3.3.2.2. Dispositifs basés sur la luminescence bactérienne

D'autre biotests mettant en œuvre des bactéries sont également très employés pour rendre compte du caractère toxique d'une eau. Le Microtox CTM (ModernWater) et le ToxAlert 100 (Merck) sont basés sur la réactivité de la bactérie marine *Vibrio fischeri* dont l'évolution de la bioluminescence naturelle représente la présence de polluants (Gutierrez et al., 2002 ; Farré et al., 2001 ; Perez et al., 2001). La méthode est basée sur l'inhibition de la luciférase, une enzyme qui catalyse l'oxydation de la luciférine qui s'accompagne d'une émission de lumière. Une inhibition de la bioluminescence est synonyme de la présence d'un contaminant. Une méthode normalisée existe pour ce test (NF EN ISO 11348-3, 2009) et de nombreux appareils commerciaux en ligne ou hors ligne sont disponibles : VibrioTox (AppliTek), ToxControl (microLAN) (Zurita et al., 2007 ; Mons, 2008 ; Storey et al., 2011). Les dispositifs hors ligne peuvent être mis en place sur site à condition d'avoir un local à proximité pour la préparation et pour l'obtention de conditions opératoires optimales.
3.3.3. Dispositifs basés sur l'utilisation d'organismes modifiés

D'autres dispositifs commencent à émerger avec des organismes génétiquement modifiés. Sur ce principe, la société WatchFrog développe une station de vigilance pour surveiller et analyser en continu les effluents d'un centre hospitalier grâce notamment à des têtards génétiquement modifiés fluorescents en présence de résidus médicamenteux (Figure 8). Ils émettent une fluorescence en présence de molécules perturbant leur système hormonal. L'intensité de la fluorescence est proportionnelle à cette perturbation. La surveillance de ces têtards peut se faire en continu et donner une réponse immédiate sur la présence de résidus médicamenteux (Castillo et al., 2013 ; Potera, 2011).



Figure 8 : Têtard fluorescent WatchFrog

3.3.4. Immunoessais

Des immunoessais basés sur la reconnaissance spécifique d'un anticorps (immobilisé sur un support) avec un analyte peuvent également être utilisés. Ils peuvent dans certains cas détecter et quantifier la présence d'un polluant chimique (Roig, 2007 ; Allan et al., 2006). Selon Jiang et al. (2008), la détection des pesticides via des immunoessais peut se faire notamment par électrochimie et par technique optique (fluorescence/ luminescence). Des dispositifs rapides existent pour les pesticides. Ainsi Zaruk et al. (2001) ont comparé un dispositif rapide spécifique de la détection du diazinon (InSiteTM Diazinon Plate Kit de Beacon Analytical Systems Inc.) avec une méthode classique par chromatographie gazeuse (GC). Dans cette étude, ils concluent que le dispositif rapide n'est pas assez sensible et reproductif pour la détection du diazinon à des concentrations inférieures à 50 µg/L (concentration maximale détectée par GC au cours de leur étude). Des immunoessais ont été spécifiquement conçus pour la détection d'explosifs (trinitrotoluène - TNT) dans de nombreux milieux y compris dans l'eau (Sun, 2010).

Dans des dispositifs comme AWACSS (Automated Water Analyser Computer Supported System) ou RIANA (River Analys is System), des anticorps fluorescents sont ajoutés à l'échantillon. Les anticorps vont alors se lier à l'analyte d'intérêt. Une mesure de la fluorescence permet la quantification de l'analyte d'intérêt. Ces dispositifs ont été mis au point pour détecter jusqu'à 32 composés parmi lesquels des produits pharmaceutiques, des perturbateurs endocriniens et des pesticides (Rodriguez-Mozaz et al., 2009).

Ainsi, les dispositifs permettant de surveiller et d'identifier la toxicité d'une eau fournissent des résultats de manière rapide sans risquer d'altérer l'échantillon par son transport et sa conservation. Ils permettent un screening de la pollution par une analyse rapide sur site (instantanée à quelques minutes) et peuvent également contribuer à la sélection d'échantillons qui vont nécessiter une analyse plus précise à l'aide de méthodes de laboratoire (Allan et al., 2006; Storey et al., 2011). L'objectif de ces dispositifs consiste moins en la détection de contaminants à l'état de trace qu'en la détection rapide de toute perturbation au niveau de l'eau analysée (présence/absence, toxique/non toxique, ...) (Allan et al., 2006 ; Mons, 2008).

Les dispositifs présentés précédemment pour la mesure de la toxicité sont détaillés dans le Tableau 9. L'Annexe 5 présente les avantages et inconvénients des dispositifs commercialisés (liste non exhaustive) pour la mesure de la toxicité d'une eau.

Type eau	Procédure d'analyse	Espèce	Détection	Durée de l'analyse	Gamme	Appareil/ Référence
Tout type d'eau ; Eaux destinées à la consommation humaine, effluents	En ligne ; Hors ligne	Bactéries Vibrio fischeri	Inhibition de la luminescence bactérienne	Quelques minutes	-	Microtox (Modern Water) ; DeltaTOX (Modern Water) ; ToxAlert 100 (Merck) ; TOXControl (MicroLAN); VibrioTOX [®] (AppliTek) ; Zurita et al., 2007 ; Perez et al., 2001 ; Mons, 2008 ; Thomson et Gray, 2004 ;
Effluents hospitaliers et stations d'épuration	En ligne	Têtards génétiquement modifiés <i>Xenopus</i> <i>larvae</i>	Luminescence	Quelques minutes	-	Castillo et al., 2013
Tout type d'eau	En ligne	Algues	Activité photosynthétique de l'algue par fluorescence	Quelques minutes	0,5 μg/L atrazine 0,3 - 200 μg/L chlorophylle	Toximètre à algues (BBE) ; Storey et al., 2011
Eaux de surface et mer	In situ ; en ligne	Moules Dreissena polymorpha ; Unio pictorum ; Anodonta cygnea	Comportement analysé par capteur	Quelques minutes	0,5 mg/L atrazine ; 0,75 mg/L bentazone ; 0,05 mg/L chlorpyrifos ; 1,4 mg/L 1,3-dichlorobenzène ; 0,01 mg/L pentachlorophénol ; 14 mg/L phénol	Mosselmonitor ; Chen et al., 2010

Tableau 9 : Méthodes sur site de surveillance et d'identification de la toxicité

Type eau	Procédure d'analyse	Espèce	Détection	Durée de l'analyse	Gamme	Appareil/ Référence
Eau destinée à la consommation humaine ; eaux de surface	En ligne	Daphnies Daphnia magna	Comportement analysé par enregistrement vidéo	Quelques minutes	27 μg/L aldrine ; 22 μg/L carbaryl ; 15 μg/L chlorpyrifos ; 0,5 μg/L diméthoate ; 100 μg/L endosulfan ; 10 μg/L malathion ; 10 μg/L parathion ; 250 μg/L terbuthylazine ; 2 μg/L trichlorfon	Daphtox II (BBE) ; Jeon et al., 2008 ;
Eau destinée à la consommation humaine	En ligne	Poissons Danio rerio, Puntius tetrazona, Carassius auratus, Rhodeus amarus	Comportement de nage des poissons par enregistrement vidéo	10 min		ToxProtect64 (BBE) ; Storey et al., 2011
Eaux de surface, eau destinée à la consommation humaine ;	En ligne	Poissons truitels	Comportement de nage des poissons par la méthode du sonar	Quelques minutes		Truitel TruitoSEM (CIFEC) ; Roig et al., 2011
Eau destinée à la consommation humaine	En ligne	Poissons Apteronotus albrifons ;	Signal électrique généré par les poissons	10 min	Métaux lourds, hydrocarbures, toxiques (quelques dizaines de µg/L)	Gymnotox (ER Ingenierie) ; Thomas, 2000 ;
		Poissons Fundulus heteroclitus	Comportement de nage des poissons par enregistrement vidéo			Kane et al., 2004

Tableau 9 : Méthodes sur site de surveillance et d'identification de la toxicité (suite)

Type eau	Procédure d'analyse	Espèce	Détection	Durée de l'analyse	Gamme	Appareil/ Référence
		Algues Chlorella vulgaris, Pseudokirchneriella subcapitata, Tetraselmis cordiformis	Activité photosynthétique de l'algue par fluorescence	Quelques minutes	atrazine, simazine, diuron, isoproturon et paraquat (de 0,5 à 100 μg/L)	Podola et Melkonian, 2005
	En ligne	Daphnies Daphnia magna + Poissons	Comportement analysé par enregistrement vidéo		0,2 μg/L dichlorvos, 0,45 μg/L deltamethrine	Ren et Wang, 2010
Eau destinée à la consommation humaine	En ligne	Daphnies Daphnia magna	Comportement analysé par enregistrement vidéo			Green et al., 2003
		Mollusques Lymnaea stagnalis	Comportement analysé par enregistrement vidéo			Salanki et al., 2003
Eaux de surface	Hors ligne		Immunoassays		diazinon	Zaruk et al., 2001
Eaux de surface	Hors ligne		Immunoassays		0, 14 μg/L Isoproturon	Mallat et al., 2001
Eaux de surface, eau destinée à la consommation humaine	Hors ligne		Immunoassays	25 min	DDT ; chlorpyrifos ; Carbaryl (quelques µg/L)	Mauriz et al., 2006
Eaux souterraines		Bactéries Vibrio fischeri	Inhibition de la luminescence bactérienne	3 min		Bhattacharyya et al., 2005

Tableau 9 : Méthodes sur site de surveillance et d'identification de la toxicité (fin)

3.4. Identification de micropolluants organiques

Cette partie présente tout d'abord les méthodes normalisées pour la détection et la quantification de certains micropolluants organiques, puis les différentes méthodes utilisables sur site. Enfin, elle s'intéresse aux échantillonneurs passifs comme méthode d'échantillonnage et de préconcentration sur site.

3.4.1. Méthodes normalisées pour la détection et la quantification des micropolluants organiques

Les méthodes normalisées d'analyse de micropolluants organiques prévoient un échantillonnage ponctuel ou moyen sur site puis un transport jusqu'au laboratoire afin d'effectuer les analyses par des méthodes très sensibles telles que la chromatographie liquide haute performance (HPLC) ou la chromatographie gazeuse (GC) couplée ou non avec un spectromètre de masse (MS). Les prélèvements sont alors réalisés selon les normes NF FD T90-523-1 (NF FD T90-523-1, 2008) et NF EN ISO 5667-3 (NF EN ISO 5667-3, 2013).

Une fois les prélèvements effectués, les échantillons sont conservés à $5 \pm 3^{\circ}$ C dans une glacière le temps du transport jusqu'au laboratoire (NF FD T90-523-1, 2008 et NF EN ISO 5667-3, 2004). Les méthodes d'analyses reposent sur différentes normes selon le type de micropolluants recherchés (par exemple, NF EN ISO 11369 (1997) – HPLC/MS pour des pesticides et des produits pharmaceutiques, NF ISO 21458 (2009) –HPLC-Fluorimétrie pour le glyphosate et l'AMPA). L'échantillon analysé permet d'accéder à la concentration précise d'un analyte d'intérêt même s'il est présent à l'état de traces et voire d'ultratraces (du ng/L au µg/L) (Wang et al., 2011 ; Segura et al., 2011 ; Philips et al., 2007 ; Benotti et al., 2009 ; Roig et al., 2012).

3.4.2. Spectrophotométrie infrarouge et UV

Le dispositif HazMatID de Smiths Detection a été développé pour identifier des substances variées comme des armes de destruction massives, des agents chimiques, des drogues et des explosifs dans des matrices diverses (eaux, poussières) (Figure 9) (Arno et al., 2011). Ce dispositif portable utilisable sur site repose sur la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier à réflectance totale atténuée (ATR-FTIR). De plus, l'ordinateur intégré permet une comparaison instantanée des spectres obtenus avec ceux des substances d'intérêt d'une banque de données. Ce système peut être complété par l'outil ExtractIR de Smiths Detection qui permet de concentrer l'analyse sur les composés organiques non-volatils d'une matrice aqueuse (USEPA, 2005; Arno et al., 2011). La durée d'une analyse de l'échantillonnage à l'identification est environ de 10 minutes et la limite de détection est de l'ordre du mg/L.



Figure 9 : HazMatID 360 (Smith Detection)

La spectrophotométrie UV seule permet de caractériser sur site certains polluants.

De nombreuses molécules organiques de part leur structure présentent des spectres UV et peuvent donc être détectées par spectrophotométrie UV (Thomas et Theraulaz, 2007 ; Gonzalez et al., 2007).

Parmi ces substances se trouvent des pesticides, des hydrocarbures aromatiques polycycliques, ou encore des phénols...

Les concentrations de certaines substances organiques peuvent être estimées par mesure de l'absorbance, suivie si nécessaire par traitement notamment par déconvolution (Thomas et Theraulaz, 2007 ; Gonzalez et al., 2007).

A titre d'exemple, les surfactants, utilisés en tant qu'agents d'entretien, sont généralement composés de deux parties, une longue chaîne carbonée (partie hydrophobe) et un groupement polaire comme par exemple un groupement carboxylique. Certains surfactants anioniques (par exemple le dodécyl benzène sulfonate) présentent un pic d'absorbance à 225 nm. Des surfactants non ioniques (comme l'octoxynol-9) vont présenter 2 pics d'absorbance à 225 et 275 nm (Thomas et Theraulaz, 2007).

Les phénols, utilisés et produits par les industries comme le 2-chlorophénol, sont composés d'un cycle aromatique qui va donc présenter un spectre UV (Thomas et Theraulaz, 2007).

Les amines aromatiques, utilisées dans l'industrie du textile, absorbent en spectrophotométrie UV. L'utilisation de la déconvolution a permis de détecter des dérivés de l'aniline dans des eaux usées industrielles (Thomas et Theraulaz, 2007).

Ainsi, l'utilisation de la spectrophotométrie UV avec un traitement du signal par exemple la déconvolution, permettrait de détecter rapidement différents types de substances organiques dans les eaux.

Le dispositif Pastel UV (Secomam) permet de déterminer la présence de certains de ces composés comme par exemple le détergent dodécyl benzène sulfonate (Gonzalez et al.,

2007). De même, le dispositif STAC (Secomam) permet de déterminer certains polluants organiques comme des pesticides (2,4-D, diuron, paraquat, diazinon, ...) ou des HAP via l'utilisation de la déconvolution (Bernier et Lamotte, 2009). Les limites de détection de ces deux appareils sont de l'ordre du mg/L.

HOCER a développé un système, l'Aquapod light, qui grâce à un spectre UV brut permet de caractériser l'eau (COT, DBO, DCO) et de détecter certains composés à des concentrations supérieures au mg/L (phénols et certains pesticides) grâce au principe de la déconvolution.

3.4.3. Chromatographie gazeuse

La chromatographie gazeuse (GC) permet de séparer les composés organiques volatils en fonction de leur affinité pour la phase solide et pour la phase mobile gazeuse. Le système portable Scentograph CMS200 (INFICON) permet d'analyser l'eau et l'air entre 30 et 60 min (Kroll, 2009 ; USEPA 2005). Les limites de détection sont entre le mg/L et le g/L. De même, Agilent a mis au point une GC/MS (5975T) portable pour détecter des micropolluants organiques volatils notamment dans l'eau (eau de consommation, eau de surface) avec des limites de détection de l'ordre du µg/L (Sun, 2010).

3.4.4. Les échantillonneurs passifs

Une méthode d'échantillonnage et de préconcentration *in situ* se développe depuis les années 1990. Elle est basée sur le flux des molécules du milieu à analyser vers le milieu récepteur (un adsorbant constituant l'échantillonneur passif) pendant une durée pouvant aller de quelques heures jusqu'à plusieurs semaines. Ce mode d'échantillonnage, contrairement à l'échantillonnage ponctuel, permet d'accéder à l'estimation moyenne d'une pollution (Vrana et al., 2005). Le flux des molécules d'un milieu à l'autre peut se poursuivre soit jusqu'à l'équilibre chimique entre les 2 milieux, soit jusqu'au retrait du dispositif (Vrana et al., 2005 ; Seethapathy et al., 2008). Cette technique est influencée par des paramètres environnementaux comme la pression, la température, le type de milieu récepteur et le courant.

Les molécules retenues sur le milieu récepteur pendant l'ensemble de la durée d'exposition vont être concentrées et accumulées selon 2 régimes : le régime linéaire et le régime curvilinéaire puis stationnaire (Figure 10) (Morin et al., 2012 ; Vrana et al., 2005) :

- Régime linéaire : l'accumulation de l'analyte est proportionnelle à sa concentration dans l'eau et au temps d'exposition
- Régime stationnaire : l'équilibre thermodynamique entre la phase aqueuse et la phase réceptrice est atteint. L'échantillonneur passif ne peut plus accumuler de molécules.



Figure 10 : Profil cinétique d'accumulation d'une molécule dans la phase stationnaire (d'après Morin et al., 2012)

Il existe différents types d'échantillonneurs passifs dont l'usage dépend du log P des molécules d'intérêt et de leurs caractéristiques. Les types d'échantillonneurs passifs les plus employés sont les Chemcatcher, les dosimètres en céramique, les MESCO, les POCIS et les SPMD. La Figure 11 propose la répartition de l'utilisation de ces dispositifs en fonction des log P des molécules étudiées.



Figure 11 : Répartition des échantillonneurs passifs en fonction de la polarité des substances (d'après Vrana et al., 2005)

SPMD (semi-permeable membrane device) : ont été créés par l'USGS (United State Geological Survey) dans les années 1990 pour étudier les composés organiques hydrophobes apolaires présentant des log P supérieurs à 3 (Vrana et al., 2005). Ce dispositif est constitué d'une poche en polyéthylène remplie de trioléine (lipide de haut poids moléculaire : 885 Da) fermée à ses deux extrémités. Cette phase réceptrice va pouvoir retenir des molécules comme des HAP, et des pesticides (Petty et al., 2004) mais également des PCB (Bennett et al., 1996). Ainsi Petty et al. (2004) ont déterminé des concentrations en HAP dans des eaux usées. Il s'agit donc d'une concentration en phase liquide et non d'une adsorption sur phase solide comme les autres types

d'échantillonneurs passifs. Les dispositifs SPMD sont complétés par l'usage de POCIS (Polar Organic Compounds Integrative Sampler), outils spécifiques à l'adsorption de contaminants organiques plus polaires (Morin et al., 2012).

Après retrait le SPMD est nettoyé soigneusement à l'EUP. L'extraction des composés accumulés dans le SPMD se fait par dialyse, en plaçant le SPMD dans un solvant organique. L'extrait dans le solvant est ensuite concentré par évaporation (Vrana et al., 2005 ; Ouyang et Pawliskyn, 2006 ; Seethapathy et al., 2008).

POCIS : dispositif d'échantillonnage breveté en 2002 (Petty et al., 2002). Les POCIS sont composés d'une phase solide retenue entre deux disques de membranes. Il existe actuellement 2 grands types de phases solides :

- un mélange triphasique, composé d'une résine de polystyrènedivinylbenzène hydroxylée (Isolute ENV+ de Biotage), d'un adsorbant carboné (Ambersorb 1500 de TosoHaas) et d'un copolymère d'exclusion stérique, styrène divinylbenzène (S-X3 Bio-Beads de Bio-Rad) essentiellement pour l'extraction des pesticides (Alvarez et al., 2004).
- un copolymère de divinylbenzène et N-vinylpyrrolidone (Oasis HLB de Waters) qui est vendu comme étant spécifique aux molécules pharmaceutiques (Bailly et al., 2013 ; Alvarez et al., 2004).

Ce dispositif permet de concentrer une quantité d'eau plus importante que les dispositifs d'échantillonnage classiques diminuant ainsi les limites de détection et de quantification des micropolluants organiques dans l'eau. Ainsi en 2005, Alvarez et al., ont comparé l'échantillonnage classique et l'échantillonnage par des POCIS dans une rivière du New Jersey. Ce dispositif d'échantillonnage a permis de détecter 32 micropolluants contre seulement de 9 à 24 avec un échantillonnage ponctuel classique. Après l'exposition du POCIS, le support inox et les membranes sont nettoyés à l'EUP. Le POCIS est ensuite ouvert et la phase solide est placée dans un tube SPE vide. Les molécules retenues sur la phase solide sont alors extraites à l'aide d'un solvant organique (Vrana et al., 2005 ; Magi et al., 2010 ; Boles et Wells, 2010 ; Zhang et al., 2008).

Chemcatcher : ce dispositif a été publié pour la première fois en 2000 (Kingston et al., 2000). Il est conçu pour des composés organiques avec un log P compris entre 2 et 6 (Vrana et al., 2005). Il est composé d'un boîtier en PTFE (polymère polytétrafluoroéthylène) dans lequel est placé un disque de phase solide Empore de 3M (phase C18 ou copolymère styrène-divinylbenzène). Il peut être mis en œuvre pour la surveillance des polluants organiques comme des herbicides, des HAP, et des médicaments dans les eaux de surface ou dans les effluents de STEP (Kingston et al., 2000 ; Vermeirsen et al., 2009).

Après le retrait du Chemcatcher, ce dernier est démonté en laboratoire pour l'étape d'extraction. La phase solide est récupérée et placée dans un tube SPE. Les molécules retenues sur la phase solide sont alors extraites à l'aide d'un solvant organique (Vrana et al., 2005 ; De la Cal et al., 2008; Aguilar-Martinez et al., 2008).

Dosimètre en céramique : est constitué d'un tube en céramique de 5 cm de long avec des pores de quelques mm. Le tube est rempli d'une phase solide et scellé avec une capsule en PTFE à chaque extrémité. Plusieurs phases échangeuses d'ions peuvent être employées en fonction des micropolluants ciblés :

- Dowex Optipore (Sigma-Aldrich) pour le dosage des solvants organiques (Martin et al., 2003).
- Amberlite (Rohm et Haas) pour le dosage des HAP avec des log P compris entre 2 et 5 (Bopp et al., 2005 ; Vrana et al., 2005).

Après l'exposition du dosimètre, le tube est vidé de sa phase solide. La phase solide est placée dans un tube SPE vide. Les molécules retenues sur la phase solide sont alors extraites à l'aide d'un solvant organique (Vrana et al., 2005 ; Bopp et al., 2005 ; Ouyang et Pawliskyn, 2006 ; Seethapathy et al., 2008).

MESCO : adaptation de la méthode de microextraction sur phase solide (SPME) pour l'échantillonnage des contaminants organiques hydrophobes avec des log P supérieurs à 3 comme des HAP et des PCB (Vrana et al., 2005 ; 2006b). Ce dispositif est composé d'une membrane comme une membrane de dialyse remplie d'eau déionisée. Dans cette eau est placée en tant que phase réceptrice un barreau agitateur recouvert de PDMS (polymère polydiméthylsiloxane) (Vrana et al., 2001). Le barreau récupéré est analysé par chromatographie GC/MS après la désorption thermique des molécules fixées sur celui-ci (Vrana et al., 2005 ; Vrana et al., 2001 ; Ouyang et Pawliskyn, 2006).

La Figure 12 propose les différentes applications possibles des échantillonneurs passifs présentés précédemment.



Figure 12 : Utilisation des échantillonneurs passifs en fonction du type de molécules

Les échantillonneurs passifs peuvent être mis en place pour différents types de composés comme les produits pharmaceutiques, les HAP et les pesticides (Figure 12). Il est choisi en fonction notamment du log P de l'analyte d'intérêt.

Ces dispositifs permettent d'échantillonner et de préconcentrer directement dans le milieu (*in situ*).

Ces dispositifs sont ensuite ramenés au laboratoire afin de :

- Dans le cas du Chemcatcher, du dosimètre en céramique, et du POCIS : récupérer la phase solide contenu dans le dispositif et extraire les molécules de cette phase solide à l'aide de solvants organiques. Les composés extraits sont alors analysés par chromatographie HPLC/MS ou GC/MS (Vrana et al., 2005 ; Aguilar-Martinez et al., 2008 ; Seethapathy et al., 2008 ; Boles et Wells, 2010).
- Dans le cas du SPMD : extraire les composés accumulés dans le SPMD par dialyse. Les composés extraits sont alors analysés par chromatographie HPLC/MS ou GC/MS (Vrana et al., 2005 ; Ouyang et Pawliskyn, 2006).
- Dans le cas du MESCO : réaliser la thermo-désorption des molécules retenues sur le barreau suivie d'une analyse par chromatographie GC/MS (Vrana et al., 2001 ; Ouyang et Pawliskyn, 2006).

En plus de ces différents échantillonneurs passifs, un grand nombre d'autres dispositifs sont développés par des laboratoires pour l'échantillonnage de composés organiques et inorganiques. Ainsi Vrana et al. (2005) en répertorient près de 20 types différents (gaiasafe basé sur l'utilisation d'une solution contenant un agent liant, PISCES basé sur l'utilisation d'une membrane en polyéthylène remplie avec de l'hexane, SPATT basé sur l'utilisation d'une résine poreuse remplie de polyester, DGT basé sur l'utilisation d'un gel d'acrylamide,...) couvrant une large gamme de log P.

4. Extraction sur phase solide (SPE)

La SPE permet d'extraire et de préconcentrer des analytes présents dans une matrice liquide. La méthode SPE est la méthode privilégiée pour la préparation d'échantillons (Kataoka, 2003; Novakova et Vlckova, 2009). Elle est alors suivie d'une méthode d'analyse chromatographique (Lopez-Roldan et al., 2004; Osemwengie et Steinberg, 2001; Lacorte et al., 1998; Bhattacharyya et Budzinski, 2007; Valcarcel et al., 2011). Des dispositifs permettant l'extraction par SPE et l'analyse en ligne sont de plus en plus répandus pour l'analyse de contaminants environnementaux (Garcia-Ac et al., 2009; Lin et al., 2005; Kot-Wasik et al., 2006).

Cette partie présente le principe de la SPE, les différents types de phases utilisées avec leurs applications dans le domaine environnemental puis les utilisations de la SPE sur site.

4.1.Principe de la SPE

La méthode SPE se compose traditionnellement de 5 grandes étapes (Figure 13) (Simpson et Wells, 2000) :

- Conditionnement : consiste à préparer la phase solide à recevoir l'échantillon. Cette étape d'activation est réalisée à l'aide d'un solvant organique unique ou d'un mélange de solvants. Elle permet de favoriser les échanges dans la phase.
- Concentration : la percolation de l'échantillon permet aux molécules d'intérêt d'être retenues sur la phase solide. Les impuretés, qui dépendent de la matrice, sont plus ou moins retenues selon leur affinité avec cette phase.
- **Lavage** : permet d'éliminer certaines impuretés qui présentent une interaction moins forte que les analytes d'intérêt. Dans cette étape, il est important de déterminer une solution qui va éliminer des impuretés mais pas les analytes d'intérêt.
- **Séchage** : permet en faisant passer de l'air d'éliminer les traces de solvant de lavage.
- Elution : cette étape permet de décrocher les molécules d'intérêt et de les récupérer dans le volume le plus faible possible. Les solvants d'élution sont déterminés en fonction de leur polarité et de leur affinité avec les molécules d'intérêts. Certains interférents peuvent être co-élués avec les molécules d'intérêts.



Figure 13 : Principe et étapes de l'extraction sur phase solide SPE (adapté de Simpson et Wells, 2000)

Les étapes majeures lors du développement d'une méthode d'extraction par SPE sont :

- le choix de la phase solide en prenant en considération les propriétés physico-chimiques des molécules d'intérêt (Pichon, 2000),
- la détermination du volume d'échantillon percolé sur la phase en essayant d'éviter d'atteindre le volume de percée, défini comme étant le volume d'échantillon pouvant être percolé sur la phase solide sans perte de l'analyte (Figure 14) (Bielicka-Daszkiewicz et Voelkel, 2009). Concrètement, si le volume d'échantillon percolé est supérieur au volume de percée, certains analytes ne seront pas totalement retenus et le pourcentage d'extraction sera forcément inférieur à 100%.
- la détermination du solvant d'élution optimal afin d'obtenir le pourcentage d'extraction le plus élevé possible tout en éliminant certains interférents (Martinez Vidal et al., 2009).



Figure 14 : Représentation du volume de percée (à gauche : le volume de l'échantillon est inférieur au volume de percée ; à droite : le volume de l'échantillon est supérieur au volume de percée) lors de l'étape de percolation de l'échantillon sur la phase solide

Il existe deux grandes catégories de phases SPE (Fontanals et al., 2005 ; Poole, 2003) :

- les phases polymériques :
 - Très stables chimiquement : les différentes solutions employées pour les différentes étapes de la SPE (conditionnement, concentration, lavage et élution) peuvent avoir un pH compris entre 1 et 14.
 - ✓ Capacité de charge importante par rapport aux phases à base de silice : l'utilisation de polymères hyper-réticulés augmente la capacité de charge des phases polymériques par rapport aux phases à base de silice. Une augmentation du nombre d'interactions possibles entre la phase solide et les analytes est donc observée dans le cas de l'utilisation de phases polymériques.
 - ✓ Extraction d'un grand nombre de familles de molécules quelle que soit la matrice (eau, urine, ...).
- les phases à base de silice :
 - ✓ Stabilité chimique plus faible que les phases polymériques : les différentes solutions employées pour les différentes étapes de la SPE (conditionnement, concentration, lavage et élution) peuvent avoir un pH compris entre 2 et 8.

La capacité de charge correspond à la quantité de substances retenue par unité de quantité de phase solide dans les conditions optimales. Pour les phases échangeuses d'ions, la capacité s'exprime en milliéquivalents par gramme de phase. Les phases polymériques ont une capacité de charge très supérieure à celles à base de silice (Fontanals et al., 2005).

Le Tableau 10 récapitule les avantages et les inconvénients des deux grandes familles de phases d'extraction.

Tableau 10	: Avantages	et inconvénients	des	phases	solides à	base	de silice	et p	olvmériques
rubiouu ro	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		u00 j	phuoco	5011a05 a	Dubu	ue billo	5 0 C P	orymoriquot

	Stabilité chimique	Capacité de charge
Polymères	++ pH entre 1 et 14	++
Silices	+ pH entre 2 et 8	+

En SPE, la sélectivité correspond à la capacité de la phase solide à séparer l'analyte d'intérêt des autres substances (Wells et Yu, 2000) :

- Des substances interférentes peuvent ne pas être retenues sur la phase solide,
- Des substances interférentes peuvent être éluées dans d'autres fractions d'élution que celle contenant l'analyte d'intérêt.

Cette sélectivité est donc étroitement dépendante de la structure et des propriétés physico-chimiques des molécules, des propriétés de la phase solide mais aussi de l'éluant (Fontanals et al., 2005 ; Wells et Yu, 2000).

Selon les phases sélectionnées, les interactions avec les analytes vont être de différentes natures ce qui va influencer aussi bien la rétention que l'élution.

4.1.1. Phases à base de silice

Les **phases à base de silice avec des interactions apolaires** sont les premières phases SPE à avoir été mises en œuvre (Fritz et al., 1995). La phase solide et l'analyte interagissent suivant des interactions de type Van-der-Waals (interactions hydrophobes). La majorité des analytes vont présenter ce type d'interactions. De plus, si la phase solide possède des silanols libres (Si-OH), des interactions secondaires polaires pourront alors se produire (Novakova et Vlckova, 2009). Le caractère apolaire des phases peut être accentué par le greffage de groupements C18, C8 ou phényl (Fontanals et al., 2007).

Ces phases à base de silice peuvent également présenter des **interactions polaires**. Les interactions polaires entre la phase solide et les groupes fonctionnels de l'analyte peuvent être de type dipôle-dipôle, π - π ou encore des liaisons hydrogènes (Fontanals et al., 2007). Ces interactions sont envisageables entre les groupes amino, les hydroxyles, les carbonyles et d'autres groupes comme un hétéro-atome comme l'azote, le soufre, le phosphore et l'oxygène, mais aussi entre les cycles aromatiques et les doubles liaisons. Des silices non modifiées et modifiées avec des groupes CN, NH₂ et OH peuvent mettre en évidence des interactions polaires.

Enfin, certaines phases à base de silice peuvent être **mixtes ioniques**, c'est-à-dire qu'elles permettent des interactions polaires et/ou et des interactions ioniques entre la phase solide et l'analyte (Fontanals et al., 2007). Les interactions ioniques vont se produire entre un composé chargé et le groupement fonctionnel de charge opposée de la phase solide (Fontanals et al., 2007). Les groupements cationiques peuvent être des amines quaternaires et les groupements anioniques peuvent être des acides carboxyliques, des acides sulfoniques, ou encore des phosphates.

Le Tableau 11 présente des phases commerciales à base de silice permettant l'extraction de micropolluants organiques dans les matrices environnementales aqueuses.

Type d'interaction(s)	Matrice(s)	Molécu cible	le(s) Réf (s)	érence				
Bakerbond C18 (B	Baker)							
apolaire	Eaux de surface et eaux souterraines	Pesticides	Van Pinxteren et	al., 2009				
Strata C18 (Pheno	omenex)							
apolaire, polaire	Eaux	Pesticides ; perturbateurs endocriniens	Baugros et al.,	, 2008				
Strata-SCX (Phenomenex)								
apolaire, polaire, ionique	Eaux usées	Produits pharmaceutiques	Lajeunesse et a	1., 2008				
Isolute SAX (Biotage)								
apolaire, polaire, ionique	Eaux usées	Produits pharmaceutiques	Renew et Huyan	ıg, 2004				
AccuBond SAX (Agilent)								
apolaire, ionique	Eaux usées	Produits pharmaceutiques	Seifrtova et al.	, 2008				
Sep-Pak C18 (Waters)								
apolaire	Eaux	Perturbateurs endocriniens	Vega Morales et	al., 2010				
apolaire	Eaux usées	Perturbateurs endocriniens	Gatidou et al.,	2007				
Isolute C18 (Biota	ıge)							
apolaire, polaire	Eaux souterraines	Perturbateurs endocriniens	Careri et al.,	2001				
apolaire, polaire	Eaux usées	Produits pharmaceutiques	Hernando et al	., 2004				
LiChrolut RP18 (N	lerck)							
apolaire, polaire	Eaux	Produits pharmaceutiques	Ternes, 20	01				
apolaire, polaire	Eaux de surface. eau de consommation	Estrogènes ; Bisphénol A ; Pesticides	Rodriguez Moza 2004	ız et al.,				
apolaire, polaire	Eaux	Perturbateurs endocriniens	Debska et al., 20 Wasik et al.,	05 ; Kot- 2006				

Tableau 11 : Phases commerciales à base de silice pour l'extraction de micropolluants organiques dans les matrices aqueuses

Ainsi, dans les matrices environnementales, les phases à base de silice sont des phases présentant des interactions apolaires et des interactions polaires via les silanols libres (Tableau 11). Ces phases permettent l'extraction des molécules organiques dans tout type d'eau comme par exemple les eaux de surface, les eaux souterraines ou encore les eaux destinées à la consommation humaine. Elles peuvent extraire des composés présentant des caractéristiques variées (log P; charge) comme des produits pharmaceutiques, des perturbateurs endocriniens ou encore des pesticides. Ces phases peuvent être remplacées dans certains cas par des phases polymériques. Ainsi, Kot-Wasik et al. (2006) et Debska et al. (2005) ont montré que la phase LiChrolut RP18 (Biotage) peut être remplacée par une phase Strata-X (Phenomenex) pour l'extraction d'anti-inflammatoires non stéroïdiens dans des eaux naturelles. La phase Strata-X (Phenomenex) est une phase polymérique et fait donc partie de la deuxième grande famille des phases d'extraction sur phase solide.

4.1.2. Phases polymériques

Tout comme les phases à base de silice, il existe plusieurs types de phases polymériques.

Les **phases polymériques apolaires** sont des phases à base de polystyrène divinylbenzène (PS-DVB). L'interaction entre l'analyte et la phase se fait essentiellement grâce à des interactions de type Van-der-Walls ou π- π au niveau du cycle aromatique de la phase solide (Fontanals et al., 2007). Afin d'améliorer le rendement d'extraction de ce type de phases, le nombre d'interaction avec les analytes d'intérêt doit être augmenté notamment en optimisant la surface spécifique. Ainsi, des phases à base de PS-DVB hyper-réticulé ont été mises au point grâce à un procédé développé dans les années 1970 par Davankov. Ceci permet de multiplier par environ 1,5 la surface spécifique (Tsyurupa et Davankov, 2002). Les phases hydrophobes hyper-réticulées commerciales pour l'extraction de micropolluants organiques dans les matrices environnementales peuvent être les phases LiChrolut-EN (Merck) (Bound et Voulvoulis, 2006 ; Castglioni et al., 2005), Chromabond HR-P (Macherey-Nagel) (Rodrigues et al., 2007), Abs Elut Nexus (Agilent) (Sandau et al., 2003) ou encore la phase Bakerbond SDB-1 (Baker) (Weigel et al., 2002) (Tableau 12).

Des phases **polymériques polaires** ont également été développées afin de pouvoir extraire des composés plus polaires. Il existe deux manières de mettre en œuvre ces phases. Elles peuvent être réalisées soit par copolymérisation de monomères hydrophiles (Oasis HLB de Waters) soit par greffage d'un substituant hydrophile au PS-DVB (Isolute ENV+ de Merck). Les premières phases de ce type, Amberlite XAD-7 et Amberlite XAD-8, ont été commercialisées dans les années 1970 par Rohm et Haas et sont synthétisées par la combinaison d'un monomère polaire, le polyacrylate, avec du divinylbenzène (DVB). Le polyacrylate permet des interactions hydrophiles et le DVB

permet d'augmenter la surface spécifique de la phase solide (Fontanals et al., 2007). La phase Oasis-HLB est un copolymère macroporeux composé de poly(N-vinylpyrrolidonedivinylbenzène) (PVP-DVB). Cette phase est l'une des plus utilisées pour l'extraction de micropolluants organiques au laboratoire comme les pesticides et les produits pharmaceutiques dans l'eau (Tableau 12).

D'autres phases commerciales polymériques présentant des groupements polaires sont présentées dans le Tableau 12.

Type d'interaction(s)	Matrice(s)	Molécule(s) cible(s)	Référence(s)
LiChrolut-EN (Me	erck)		
apolaire	Eaux de surface et effluents industriels	Phénols ; Produits pharmaceutiques	Gelpi et al., 1997 ; Bound et Voulvoulis, 2006
apolaire	Eaux souterraines	Pesticides	Barra Caracciolo et al., 2005 ; Guzzella et al., 2006
apolaire	Eaux usées	Produits pharmaceutiques	Castiglioni et al., 2005
apolaire	Eaux souterraines	Produits pharmaceutiques	Sacher et al., 2001
Oasis-HLB (Wate	ers)		
polaire, apolaire	Eaux	Produits pharmaceutiques	Mills et al., 2006 ; Wang et al., 2010 ; Zhang et Zhou, 2007 ; Lin et al., 2005
polaire, apolaire	Eaux	Perturbateurs endocriniens, Produits pharmaceutiques	Trenholm et al., 2006 ; Zhao et al., 2009 ; Liu et al., 2004
polaire, apolaire	Eaux	Pesticides	Freitas et al., 2004 ; Stoob et al., 2005 ; Ibanez et al., 2005 ; Bossi et al., 2002 ; Sandau et al., 2003 ; Liu et al., 2006 ; Rodrigues et al., 2007 ; Gervais et al., 2008 ; Gfrerer et al., 2002
polaire, apolaire	Eaux	Herbicides ; PPCP ; retardateurs de flamme	Rodil et al., 2009 ; Ollers et al., 2001 ; Nödler et al., 2010
polaire, apolaire	Eaux usées	Produits pharmaceutiques	Renew et Huyang, 2004 ; Seifrtova et al., 2008 ; Verenitch et al., 2006
polaire, apolaire	Eaux de surface et eaux souterraines	Produits pharmaceutiques	Gros et al., 2006
polaire, apolaire	Eaux de surface	Drogues	Vazquez-Roig et al., 2010

Tableau 12 : Phases commerciales polymériques hydrophobes et hydrophiles pour l'extraction de micropolluants organiques dans les matrices aqueuses

Type d'interaction(s)	Matrice(s)	Molécule(s) cible(s)	Référence(s)
Strata-X (Phenon	nenex)		
polaire, apolaire	Eaux de surface et eaux de consommation	Herbicides et Produits pharmaceutiques	Garcia-Ac et al., 2009 ; Kosjek et al., 2005
polaire, apolaire	Eaux de surface	HAP ; pesticides ; perturbateurs endocriniens ; composés organochlorés	Barrek et al., 2009
polaire, apolaire	Eaux usées	Produits pharmaceutiques	Vulliet et al., 2007
Chromabond HR-	X (Macherey-Na	agel)	
apolaire	Eaux	Phénols	Opeolu et al., 2010
apolaire	Eaux	Pesticides	Lissalde et al., 2011
apolaire	Eaux de surface et souterraines	PPCP ; perturbateurs endocriniens	Tran et al., 2013
Bakerbond SDB-1	l (Baker)		
apolaire	Eau de mer	PPCP	Weigel et al., 2002

Tableau 12 : Phases commerciales polymériques hydrophobes et hydrophiles pour l'extraction de micropolluants organiques dans les matrices aqueuses (fin)

Différents études ont permis de comparer la capacité de rétention et d'extraction de plusieurs phases solides de micropolluants organiques dans l'eau. Ainsi, Rodrigues et al. (2007) et Liu et al. (2006) ont montré que la phase Oasis-HLB (Waters) était la plus adaptée pour l'extraction des pesticides dans les matrices aqueuses.

Rodrigues et al. (2007) ont comparé l'extraction par différentes phases commerciales SPE de pesticides dans des eaux destinées à la consommation, des eaux de surface et des eaux souterraines. Les phases commerciales SPE testées dans leur étude sont des phases polymériques (Oasis-HLB (Waters); Chromabond HR-P (Machery Nagel); LiChrolut-EN (Merck)) et des phases à base de silice (Chromabond C8 (Macherey Nagel); Chromabond C18 (Macherey Nagel)). Les phases LiChrolut EN (Merck) et Chromabond HR-P (Machery Nagel) ont extrait certains pesticides comme le imidacloprid avec un pourcentage d'extraction très élevé (> 200%) qui pourrait être synonyme d'interférences entre la phase solide et la matrice (Rodrigues et al., 2007). La phase Oasis-HLB (Waters) a permis d'extraire la majorité des pesticides de cette étude (86%) avec un pourcentage d'extraction supérieur à 75% (et inférieur à 115%) et a donc été sélectionnée pour leur étude.

De même, l'extraction de pesticides dans de l'eau de surface par la phase Oasis-HLB (Waters) et la phase Chromabond HR-P (Macherey Nagel) a été comparée (Liu et al.,

2006). La phase Oasis-HLB (Waters) a permis l'extraction des 6 pesticides de cette étude avec un pourcentage d'extraction supérieur à 80% pour 4 d'entre eux. La phase Chromabond HR-P (Machery Nagel) a permis l'extraction de 5 des 6 pesticides. Pour 3 des 5 pesticides extraits, le pourcentage d'extraction est supérieur à 75%. De part ces pourcentages d'extraction, Liu et al. (2006) ont choisi la phase Oasis-HLB pour extraire les pesticides dans de l'eau de surface.

De même, Gros et al. (2006) ont observé la même conclusion en ce qui concerne l'extraction des produits pharmaceutiques. Ils ont comparé l'extraction par 3 phases commerciales SPE polymériques (Oasis-HLB (Waters), Oasis-MCX (Waters), LiChrolut ENV+ (Merck)) de produits pharmaceutiques dans des eaux de surface et des eaux usées. La phase LiChrolut-EN (Merck) a permis l'extraction des molécules testées mais avec des pourcentages d'extraction faibles (50% en moyenne). En ce qui concerne la phase Oasis-MCX (Waters), les pourcentages d'extraction obtenus sont de l'ordre de 80%. La phase Oasis-HLB (Waters) a permis d'extraire l'ensemble des molécules étudiées avec un pourcentage d'extraction supérieur à 75%. Gros et al. (2006) ont donc choisi cette dernière phase pour l'extraction des produits pharmaceutiques dans les eaux de surface et les eaux usées.

Cependant, Castiglioni et al. (2005) vont à l'encontre de cette conclusion car selon cette étude, la phase LiChrolut-EN (Merck) et la phase Oasis-MCX (Waters) seraient mieux adaptées pour l'extraction de produits pharmaceutiques dans les eaux usées. Lors de cette étude, 4 phases commerciales SPE (Oasis-HLB (Waters), Oasis-MCX (Waters), LiChrolut-EN (Merck), et une phase à base de Silice, Bakerbond C18 (Baker)) ont été comparées pour l'extraction de produits pharmaceutiques dans les eaux usées. Dans cette étude, l'extraction des phases a été testée à différents pH (2, 7 et 9). D'après Castiglioni et al. (2005), les meilleurs pourcentages d'extraction (non montrés dans l'étude) ont été obtenus lors de l'utilisation des phases commerciales LiChrolut-EN (Merck) et Oasis-MCX (Waters). Ces deux phases ont été sélectionnées dans leur étude pour extraire les produits pharmaceutiques dans les eaux usées.

La phase Oasis-MCX (Waters), sélectionnée lors de cette étude, est une phase polymérique similaire à la phase Oasis-HLB (Waters) mais possédant en plus un groupement anionique (groupement sulfonate). Cette phase fait partie des phases mixtes ioniques.

Les **phases mixtes ioniques** présentent à la fois un groupement polaire et/ou apolaire et un groupement anionique ou cationique (Fontanals et al., 2007 et 2010). La phase Oasis-HLB (Waters) a été greffée par des groupements pipérazine et acide carboxylique afin d'obtenir des phases échangeuses d'ions faibles Oasis-WAX et Oasis-WCX respectivement. De même, la phase Strata-X (Phenomenex) peut par exemple être greffée avec un acide carboxylique pour obtenir la phase Strata-X-CW. Avec ce type de phases, des interactions peuvent avoir lieu soit avec la chaîne polymérique soit avec le groupement chargé. Le Tableau 13 présente différentes phases commerciales mixtes ioniques pour l'extraction sur phase solide.

Types d'interaction(s)	Matrice	Molécule(s) cible(s)	Référence(s)
Oasis MCX (Waters	5)		
apolaire, polaire, ionique	Eaux de surface	PPCP ; perturbateurs endocriniens	Kasprzyk-Hordern et al., 2008, 2009 ; Zuccato et al., 2000
apolaire, polaire, ionique	Eaux usées	Produits pharmaceutiques	Laven et al., 2009
Oasis MAX (Waters	;)		
apolaire, polaire, ionique	Eaux	PPCP ; perturbateurs endocriniens	Lee et al., 2005
Oasis WAX (Waters	s)		
apolaire, polaire, ionique	Eaux	Détergents	Chen et al., 2006

Tableau 13 : Phases commerciales polymériques mixtes ioniques pour l'extraction de micropolluants organiques dans les matrices aqueuses

Chen et al. (2006) ont préféré la phase solide Oasis WAX (Waters) à la phase Oasis-HLB (Waters) pour l'extraction de détergents anioniques suivie d'une analyse par LC/MS. La phase Oasis WAX (Waters) a permis de diminuer l'interférence du signal par rapport à la phase Oasis HLB (Waters).

Parmi les différentes phases commerciales permettant l'extraction de micropolluants organiques dans l'eau, 3 phases semblent être privilégiées par les opérateurs, la phase Oasis-HLB (Waters), la phase LiChrolut-EN (Merck) et la phase Strata-X (Phenomenex) comme le montre le nombre d'études réalisées depuis 2000 (Figure 15).



Figure 15 : Evolution du nombre de citations dans la littérature pour les trois phases SPE (Oasis-HLB, LiChrolut-EN et Strata-X) depuis 2000 (d'après Isis web of knowledge)

Ainsi, le nombre de citations concernant la phase Oasis-HLB (Waters) est en constante augmentation depuis 2000. Parmi les 8809 articles répertoriés citant l'une des 3 phases, la phase Oasis-HLB (Waters) représente 66% des citations. Le nombre de citations concernant la phase LiChrolut-EN (Merck) s'est stabilisé autour de 200 citations par an depuis 2007. Quant à la phase Strata-X (Phenomenex), celle-ci ne représente que 10% de l'ensemble des citations. Ceci renforce le fait que les phases polymériques hydrophiles, essentiellement la phase Oasis-HLB (Waters), sont universelles et permettent d'extraire un nombre important et varié de composés. Par ailleurs, cette propriété est essentielle lorsque la SPE est couplée à des systèmes d'analyses de plus en plus performants que ce soit en terme de sensibilité que de capacité de séparation de multi-composants organiques comme l'HPLC/MS ou la GC/MS.

4.1.3. Superposition de phases solides

Certaines études (Renew et Huyang, 2004; Seifrtova et al., 2008) proposent de superposer des phases solides commerciales afin de faciliter l'extraction de certains composés (produits pharmaceutiques) dans les eaux et de les séparer selon leurs propriétés physico-chimiques (notamment la charge). La Figure 16 propose deux exemples utilisant la superposition de phases solides commerciales comme outil de séparation.



Figure 16 : Utilisation de phases solides en série

Renew et Huyang (2004) et Seifrtova et al. (2008) proposent de superposer une phase à base de silice échangeuse d'anions et une phase Oasis-HLB (Waters). Ces deux études ont été réalisées afin de faciliter et d'améliorer l'extraction d'antibiotiques dans des eaux usées. Ils ont montré que la première cartouche retenait spécifiquement les interférents anioniques (acides humiques anioniques) permettant ainsi aux antibiotiques d'être retenus sur la phase Oasis-HLB (Waters) (Figure 16).

4.2. Polymères à empreinte moléculaire (PEM)

La richesse de la méthode SPE provient de la diversité des phases solides actuellement disponibles ou en cours de développement, comme les polymères à empreinte moléculaire (PEM), qui permettent d'augmenter la sélectivité de l'étape d'extraction et ainsi facilitent la détection des composés (pesticides, produits pharmaceutiques) lors de l'analyse (Kataoka, 2003).

Ces PEMs sont spécifiques de certaines molécules (les pesticides et les produits pharmaceutiques) via une reconnaissance de la structure des composés (Spégel et al., 2002). Le mécanisme d'interaction entre les molécules et les PEMs est présenté dans la Figure 17.



Figure 17 : Mécanisme d'interaction des PEMs (adapté de Spégel et al., 2002)

Les polymères à empreintes moléculaires (PEMs) sont des polymères dans lesquels des cavités mimant les sites de reconnaissance spécifiques obtenus avec des anticorps sont présentes. Ces polymères sont très stables chimiquement et thermiquement et sont obtenus par polymérisation (Kataoka, 2003 ; Spégel et al., 2002). La première étape de la synthèse consiste à mettre en contact la molécule cible, les monomères fonctionnels et un agent réticulant dans un solvant qui va permettre la création d'une structure poreuse (Figure 17).

Le monomère est choisi de manière à développer, avec la molécule cible, des liaisons, la majorité du temps non covalentes. Le monomère le plus souvent utilisé est l'acide méthacrylique ou acrylique et l'agent réticulant est le plus souvent le diméthacrylate d'éthylène glycol (Pichon et Chapuis Hugon, 2008 ; Hennion, 1999). Le solvant de polymérisation joue un rôle essentiel car il conditionne la nature et la force des interactions entre la molécule cible et les monomères. Le choix de la molécule cible est important car elle va par ses fonctionnalités particulières, définir la spécificité du PEM. La dernière étape consiste en l'élimination de la molécule cible afin de laisser la cavité ainsi synthétisée vide et prête à intéragir dans l'eau avec des molécules spécifiques d'intérêt comme des pesticides et des produits pharmaceutiques (Caro et al., 2003 ; Ferrer et al., 2000) (Figure 17).

Pour qu'un analyte soit extrait spécifiquement par le PEM, sa structure doit être proche de celle de l'empreinte pour pénétrer dans les cavités et interagir avec le polymère. L'analyte est retenu spécifiquement s'il développe le même type d'interactions que celles développées lors de la synthèse. Dans certains cas, le PEM ne retient pas seulement l'analyte mais également des interférents de structure proche (Caro et al., 2003 ; Ferrer et al., 2000).

Cette méthode permet l'extraction de micropolluants organiques dans l'eau. Ainsi, Chapuis et al. (2003) et Ferrer et al. (2000) ont utilisé cette technique pour l'extraction de pesticides dans l'eau (eau de surface, effluent industriel). Caro et al. (2003) ont extrait des phénols dans l'eau de surface grâce à des PEMs couplés en ligne avec une HPLC.

Cependant les PEMs peuvent également retenir d'autres substances que leurs molécules cibles via des interactions non spécifiques de type électrostatiques ou hydrophobes (Beltran et al., 2010). Ainsi, lors d'une étude, la sélectivité d'un PEM commercial spécifique des anti-inflammatoires non stéroïdiens a été évaluée (Gilart et al., 2012). Des échantillons d'eaux usées ont été dopés avec l'une des 15 substances pharmaceutiques appartenant à différentes familles dont celle des anti-inflammatoires non stéroïdiens, puis percolés sur le PEM. Il en résulte que 14 substances pharmaceutiques ont été retenues sur cette phase ce qui montre un manque de spécificité pour les anti-inflammatoires non stéroïdiens lors de la rétention (Gilart et al., 2012). De même, Dai et al. (2010) ont montré qu'un PEM spécifique de la carbamazépine pouvait également retenir d'autres produits pharmaceutiques comme le diclofénac.

4.3. Dispositifs SPE et SPME utilisés sur site

Peu de dispositifs en ligne et sur site sont basés sur la méthode d'extraction SPE.

Bernier et Lamotte (2009) proposent un dispositif permettant le suivi de HAP sur le terrain. Ce dispositif (SPE et analyse par spectrofluorimétrie) permet de pomper l'eau à analyser (eau de surface) dans un réservoir dans lequel le pH est stabilisé à 11 par ajout d'hydroxyde de sodium. Une bandelette de phase solide SPE C18-ENVI-Disk (Sigma-Aldrich) est utilisée pour extraire les HAP de la solution sous agitation pendant 30 min (Bernier et Lamotte, 2009). Puis cette bandelette est placée dans le compartiment à échantillons d'un spectrofluorimètre à 45° des faisceaux d'émission et d'excitation. Le spectre de fluorescence de la solution est alors obtenu par soustraction de celui du blanc (bandelette C18 agitée dans de l'eau ultra pure). La même procédure est effectuée après avoir dopé l'eau à analyser avec une concentration connue d'un mélange de HAP. La comparaison des 2 spectres va permettre de détecter et de quantifier les HAP présents dans l'eau (Bernier et Lamotte, 2009).

Un dérivé de la SPE, la micro-extraction sur phase solide (SPME) a été développée essentiellement pour l'extraction et la concentration de molécules volatiles (Vas et Vékey, 2004). La SPME permet d'échantillonner les gaz ou les solutions. Cette méthode est composée d'une aiguille dans laquelle est placée une fibre pouvant adsorber les molécules (Vas et Vékey, 2004). Les fibres sont généralement constituées de polyméthylsiloxane (PDMS) et de polyacrylate (PA) pour l'extraction des composés respectivement apolaires et polaires (Fontanals et al., 2007). Après l'étape d'adsorption, la fibre est rétractée dans la seringue en métal pour préparer l'étape de transfert des analytes dans le système chromatographique. La majorité du temps, l'analyse est réalisée par chromatographie GC ou GC/MS et dans ce cas, la désorption thermique est possible après insertion de l'aiguille dans l'injecteur (Vas et Vékey, 2004).

Des dispositifs couplant la SPME et la GC ou GC/MS utilisables sur site sont disponibles. Ainsi, TRIDION-9 Portable (Torion) est un dispositif portable d'analyse des composés organiques volatils (toluène, bromoforme,...), très rapide (analyse en 3 min) avec une détection par GC/MS après une extraction par SPME (Figure 18). Il peut être aussi utilisé pour la détection d'explosifs (Wirth et al., 2012). Les limites de détection sont de l'ordre d'une dizaine de µg/L.



Figure 18 : Dispositif TRIDION-9 Portable (Torion)

De même, en 2008, Contreras et al. proposent un dispositif portable de détection et de quantification d'agents de guerre et de composés organiques volatils par SPME et GC. Ce dispositif permet une réponse en 15 min grâce notamment à une banque de données pour aider à l'identification. Pour le n-butylbenzène et le naphtalène, la limite de détection dans les milieux aqueux est de 100 ng/L.

La société HOCER a mis au point un dispositif en ligne, l'Aquapod SPE50, basé sur l'extraction par SPE et l'analyse UV (Roig et al., 2011). Ce dispositif utilise la SPE pour ses capacités de préconcentration sans développer ses possibilités de séparation. De ce fait, le nombre de molécules cibles est restreint à une dizaine (pesticides comme l'atrazine, l'hexachlorobenzène et le chlorpyrifos ; des nonylphénols) avec des limites de détection comprises entre 1 et 50 μ g/L.

Lopez-Roldan et al. (2004) ont examiné les capacités du système PROFEXS pour l'extraction programmable et automatique sur site de pesticides (atrazine, isoproturon, diuron,...), de phénols (2,4-dichlorophénol, 4-chloro-2-méthylphénol,...) et de phtalates comme le DEHP dans l'eau de surface. Ce dispositif permet de préconcentrer sur des

cartouches PLRPs (Varian) jusqu'à 16 échantillons. Les cartouches sont ensuite transportées au laboratoire pour être éluées. L'élution est par la suite analysée par HPLC/MS et les limites de détection sont comprises entre 2 ng/L et 2 µg/L.

De même, Osemwengie et Steinberg (2001) ont mis en place un dispositif sur site en ligne permettant la préconcentration sur des cartouches Abselut Nexus (Agilent) pour la détection de muscs (musc xylène, galaxolide, versalide) dans les eaux usées. Les cartouches sont rapportées au laboratoire pour être éluées puis analysée par GC/MS et les limites de détection sont comprises entre 0,02 et 0,30 ng/L.

Le Tableau 14 récapitule les méthodes et les analyseurs se basant sur la méthode SPE utilisés sur site.

Tableau 14 : Méthodes et analyseurs se basant sur une extraction SPE ou SPME et utilisables sur site

Méthodes	Type de molécules cibles	Limite de détection	Référence(s) ou Analyseur(s)
Extraction (sur site) : SPE Analyse (laboratoire) : HPLC/MS	Pesticides, phénols, phtalates	Entre 2 ng/L et 2 µg/L	Lopez-Roldan et al., 2004
Extraction (sur site) : SPME ou SPE Analyse (laboratoire) :	Muscs	Entre 0,02 et 0,30 ng/L	Osemwengie et Steinberg, 2001
	Composés organiques volatils	Quelques dizaines de µg/L	TRIDION-9 portable (Torion) (Wirth et al., 2012)
GC/MS	n-butylbenzène, naphtalène	100 ng/L	Contreras et al., 2008
Extraction (sur site) : SPE Analyse (sur site) : Spectrophotométrie UV	Pesticides, nonylphénols	Entre 1 et 50 µg/L	Aquapod SPE 250 (HOCER) (Barillon et al., 2010)
Extraction (sur site) : SPE Analyse (sur site) : Spectrofluorimétrie	НАР	150 μg/L	Lafleur et al., 2010

5. Conclusion

La réglementation nationale et européenne étant de plus en plus exigeante tant au point de vue de l'augmentation des fréquences des contrôles qu'au point de vue des polluants cibles à analyser, les dispositifs sur site peuvent représenter une alternative intéressante aux méthodes classiques. Le contrôle et la gestion des masses d'eau doivent s'effectuer en prenant en compte la concentration, la variabilité, et l'effet des polluants. Les dispositifs sur site peuvent aider à répondre à ces problématiques. Ces derniers ne doivent pas être considérés comme des dispositifs uniquement quantitatifs. Ils permettent le suivi spatio-temporel d'une ressource et/ou l'évaluation des effets d'une eau comme les eaux de surface sur des écosystèmes aquatiques. Pour une application en routine, certains dispositifs sur site peuvent être complémentaires à des méthodes de laboratoire comme par exemple les échantillonneurs passifs ou la SPE suivis d'une analyse par chromatographie. En cas d'une pollution accidentelle ou intentionnelle, des dispositifs sur site peuvent s'avérer être très efficaces pour orienter une prise de décision rapide et pour fournir un pré-diagnostic aux méthodes classiques.

Au cours de ce travail de thèse, une méthode sur site, complémentaire aux approches classiques a été mise au point. Elle repose sur la capacité des phases SPE à séparer les molécules notamment selon leurs propriétés physico-chimiques dans plusieurs fractions d'élution en vue de leur analyse par spectrophotométrie UV. Dans ce cas, la SPE n'est plus seulement une méthode de préconcentration mais devient également une méthode de séparation. Cette propriété permet de simplifier le contenu des fractions d'élution et donc le signal UV obtenu par le détecteur. De plus, cette méthode permet d'orienter vers des analyses plus précises en laboratoire afin d'affiner le résultat.

Partie 2

Matériel et méthodes
1. Méthodologie

1.1. Méthodologie générale

La méthodologie générale de ce travail, présentée en Figure 19, repose sur la détection sur site de micropolluants organiques en cas d'une suspicion de pollution. Ce type de pollution appelle une réaction rapide afin de mettre en œuvre des actions correctives et d'assurer ainsi une meilleure gestion des risques aussi bien environnementaux que sanitaires.



Figure 19 : Méthodologie générale

Dans le cadre de cette thèse, la détection par spectrophotométrie UV a été choisie afin de caractériser une modification du milieu. Ainsi, lors d'une suspicion de pollution pouvant être liée à un évènement accidentel ou intentionnel, la méthodologie s'appuie, une fois un prélèvement d'échantillon d'eau réalisé, sur l'acquisition de spectres UV :

- Si le signal obtenu directement ou après dilution est caractéristique (intensité du signal - > 0,02 u.a.-, présence de pic(s) ou d'épaulement(s) exploitables), il est comparé aux spectres de référence (de molécules seules ou en mélange) répertoriés dans une banque de données afin d'identifier la (les) analyte(s) responsable(s) de la pollution.
- Si par contre le signal est trop complexe (matrice, mélange de substances) ou trop faible, l'échantillon est percolé sur le concentrateur à travers différentes phases solides permettant une simplification des signaux grâce au fractionnement, une amplification du signal et une séparation des molécules présentes par l'intermédiaire de plusieurs fractions d'élution. Ces fractions sont analysées par spectrophotométrie UV et les spectres obtenus sur le terrain sont comparés, comme précédemment, à ceux de la banque de données spectrales.

La méthodologie ainsi mise en œuvre permet de fournir un pré-diagnostic rapide lors de situations d'urgence. En effet, cette méthodologie peut être employée sur site grâce au développement d'un dispositif permettant la préconcentration, le fractionnement et la détection de substances absorbantes en UV. Si la concentration de(s) substance(s) impliquées dans la pollution est suffisante (supérieure à quelques dizaines $\mu g/L$), la pollution pourra être caractérisée rapidement et sur site. De plus, la méthodologie peut également compléter les systèmes analytiques traditionnels lors de contrôles environnementaux et sanitaires. Dans le cas de tels contrôles, la procédure traditionnelle envisage un prélèvement sur site et un transport en laboratoire pour le traitement des échantillons et pour analyse. La méthodologie développée permet dans ce cas de réaliser le prélèvement et l'étape de préconcentration et de fractionnement sur site. Si l'étape de détection n'est pas concluante (concentrations en substances trop faibles – ng/L ou quelques μ g/L; substances non absorbantes), les fractions obtenues sont transportées au laboratoire pour des analyses chromatographiques. Les fractions peuvent également être analysées au laboratoire afin de valider les résultats obtenus sur le terrain.

1.2. Méthodologie de développement

Le développement de l'analyseur a été réalisé selon la méthodologie présentée dans la Figure 20.



Figure 20 : Méthodologie de développement

La méthodologie de développement prend en compte le choix des substances, le développement de l'extraction (phases solides, éluants) et le système de détection (Figure 20).

Suivant cette méthodologie, ce chapitre présente le matériel et les méthodes employés dans ce travail :

- les molécules permettant le développement de la méthodologie puis sa validation,
- les matrices étudiées aussi bien pour le développement (EUP) que pour les applications (eau de rivière, eau de consommation, urine),

- les phases solides testées et les solvants utilisés permettant la mise en œuvre de la méthode,
- la banque de données spectrales permettant de référencer l'ensemble des molécules utilisées, de les caractériser (log P, pka, spectre UV), et d'identifier une substance,
- l'évolution des dispositifs lors du projet qui autorisent de manière automatique dans un premier temps l'étape de préconcentration et de fractionnement puis dans un second temps l'étape de détection,
- l'analyse par spectrophotométrie UV et par HPLC/MS afin de détecter les substances dans les différentes fractions dans le cas d'un mélange de 45 pesticides.

2. Substances

86 molécules ont été étudiées dans différentes matrices (eau et urine humaine). Les critères de sélection de ces molécules sont détaillés dans la Partie 3 (§1) pour l'eau et dans la Partie 4 (§2) pour l'urine. Ces molécules appartiennent à différentes familles comme les pesticides, les PPCP (produits pharmaceutiques et d'hygiène corporelle) et les HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques) (Tableau 15).

pesticides)				
Pesticides (59)	Dicamba*	Linuron*	Tébutame*	Carbamazépine
2-Nitrophénol	Diflufénican*	Malathion	Terbuméton*	Ciprofloxacine
2,4-D*	Dichlorprop*	Mécoprop*	Terbuthylazine*	Diclofénac
2,4-MCPA*	Diméthénamide*	Mésotrione*	Terbutryne	Erythromycine
2,5-dichlorophénol	Diméthoate	Métazachlore*	Tétraconazole*	Hydrochlorothiazide
Acétochlore*	Dinoterbe	Métolachlore*	Triclopyr*	Ibuprofène
Alachlore*	Diquat	Métosulam*	HAP (3)	Méthyl paraben
Atrazine	Diuron*	Nicosulfuron*	Acénaphtène	Sulfaméthoxazole
Azoxytrobine*	Epoxyconazole*	Oxadiazon*	Fluorène	Trimethoprime
Bentazone*	Fenpropidine*	Oxadixyl*	Naphtalène	Warfarin
Boscalid*	Fluroxypyr*	Paraquat	PPCP (17)	Autres (7)
Bromoxynil*	Fluthiamide*	Parathion	$1,7\alpha$ -éthinylestradiol	4-Nonylphénol
Carbaryl	Hexazinone	Pendiméthaline*	Acétaminophène	4,4'-Diaminodiphénylméthane
Carbofuran*	Imazaméthabenz-méthyl*	Prochloraze*	Acide clofibrique	Benzylbutylphtalate
Chlorpyrifos	Ioxynil*	Propachlore*	Aténolol	Bisphénol A
Chlortoluron*	Isoproturon*	Simazine*	Cyclophosphamide	DEHP
Cyprodinil*	Isoxaben*	Sulcotrione*	Diatrizoate de sodium	Dibutylphtalate
Diazinon	Isoxaflutole*	Tébuconazole*	Caféine	m-Toluidine

Tableau 15 : Liste des molécules étudiées (* : molécules faisant parties du mélange complexe de pesticides)

Les molécules ainsi que leurs propriétés physico-chimiques (log P, pKa, charge) et spectrales (coefficients d'extinction molaire et longueurs d'onde d'absorbance maximale) sont présentées en Annexe 6. Les molécules étudiées présentent des propriétés physico-chimiques variées. Ainsi, le log P est compris entre -4,71 et 8,71 et la charge est comprise entre -1 et 2 à pH 6,2 (pH EUP) (Figure 21).



Figure 21 : Diversité des log P (calculés par le logiciel libre ChemSketch) et des charges (à pH 6,2) pour les 86 molécules étudiées

Au cours de l'étude, ces molécules ont été étudiées soit individuellement, soit en mélange simple de 2 à 5 molécules, soit en mélange complexe jusqu'à 45 substances (pesticides) dans différentes matrices aqueuses (EUP, eau naturelle, urine humaine). L'EUP est obtenue à partir d'un système milli-Q Purelab de purification d'eau (Siemens).

Les substances ont été fournies par Sigma-aldrich sauf l'acide clofibrique et le diatrizoate de sodium, fournies par VWR.

Les molécules étudiées sont de grande pureté :

- La pureté des pesticides est comprise entre 96,5% et 99,9%,
- La pureté des HAP est comprise entre 98% et 99,9%,
- La pureté des PPCP est comprise entre 95,5%, et 99,9%,
- La pureté des autres molécules est comprise entre 97,5% et 99,9%.

Le détail des puretés est présenté en Annexe 7.

2.1. Préparation des solutions mères

Pour chacune des molécules cibles, une solution mère de 400 à 600 mg/L a été préparée dans une fiole de 10 mL dans du méthanol excepté pour la ciprofloxacine (pureté \geq 99,6%, Sigma-aldrich) qui a été mise en solution dans de l'EUP acidifiée à pH 3 avec de l'acide chlorhydrique (pureté 35%, VWR). Les solutions mères sont régulièrement vérifiées par la réalisation et la comparaison de spectres UV à 10 mg/L. Si un abattement du signal supérieur à 10% ou une modification de celui-ci sont observés par rapport au spectre de référence, la solution mère est renouvelée. Elles sont conservées dans des tubes à centrifuger en polypropylène de 15 mL à l'abri de la lumière dans un réfrigérateur à 5 ± 3°C. Les solutions mères sont préparées de manière à réaliser par dilution des solutions filles qui vont permettre :

- Soit de réaliser les spectres UV de la molécule dans l'EUP et dans le solvant d'élution (spectres de référence de la banque de données spectrales),
- Soit de doper un échantillon sur lequel la méthode MSP2E sera développée ou testée (rétention sur quelle cartouche et élution dans quelle(s) fraction(s)).

Le mélange de 45 pesticides est réalisé à partir de 7 solutions à 10 mg/L préalablement préparées par le laboratoire accrédité du LERES (Tableau 16). La solution 1 a été réalisée dans de l'acétone (Sigma-aldrich) et les 6 autres solutions dans du méthanol (VWR). Les pesticides sont analysés par le LERES par HPLC/MS et la limite de quantification analytique pour chacune de ces substances est de 20 µg/L. Le détail de la méthode HPLC/MS est présenté § 5.

acoroanto da Elitelo			
Solution 1	Alachlore	Oxadixyl	Solution 7
Nicosulfuron	Bentazone	Pendiméthaline	Azoxytrobine
Solution 2	Boscalid	Tébutame	Cyprodinil
Simazine	Bromoxynil	Solution 5	Fenpropidine
Terbuméton	Carbofuran	Chlortoluron	Fluroxypyr
Terbuthylazine	Dicamba	Diuron	Fluthiamide
Solution 3	Diflufénican	Isoproturon	Ioxynil
Epoxyconazole	Diméthénamide	Linuron	Isoxaflutole
Prochloraze	Imazaméthabenz-méthyl	Solution 6	Mésotrione
Tébuconazole	Isoxaben	2,4-D	Métosulam
Tétraconazole	Métazachlore	2,4-MCPA	Propachlore
Solution 4	Métolachlore	Dichlorprop	Sulcotrione
Acétochlore	Oxadiazon	Mécoprop	Triclopyr

Tableau 16 : Molécules appartenant à chacune des solutions préparées par le laboratoire accrédité du LERES

2.2. Matrices

Les solutions filles sont préparées selon les essais réalisés dans de l'EUP, dans différentes matrices (eau de consommation, eau de rivière, urine humaine) ou dans les solvants d'élution et leur concentration varie entre 20 µg/L et 20 mg/L.

Les expériences ont tout d'abord été exécutées dans de l'EUP obtenue à partir d'un système milli-Q Purelab de purification d'eau (Siemens).

Les matrices utilisées par la suite dans ce travail ont été :

- des eaux de rivière de Nîmes,
- de l'eau potable du réseau de distribution de Nîmes,
- des eaux minérales Roche des Ecrins et Plancöet dont les concentrations ioniques indiquées sur les étiquettes sont présentées Tableau 17,
- de l'urine humaine.

	Eau Roche des Ecrins	Eau Plancoët		
pH	7,6	6,4		
С	ations (mg/L)			
Calcium	63	24		
Magnésium	10,2	16		
Sodium	1,4	32		
Potassium	0,4	4,9		
Α	nions (mg/L)			
Sulfates	51,3	50		
Nitrates	2	<ld*< td=""></ld*<>		
Chlorures	<1	38		
Hydrogénocarbonates	173,2	121		

Tableau 17 : Concentrations ioniques des eaux minérales (* : Limite de détection)

Pour le mélange de pesticides, le dopage de l'EUP ou de l'eau naturelle (rivière, de consommation) a été réalisé à 40 µg/L. Chacune des fractions d'élution est récoltée pour une analyse HPLC/MS.

Les eaux de rivières sont préalablement filtrées successivement sur des membranes en ester de cellulose de porosité respective de 1,2 μ m et de 0,45 μ m (Whatman Int. Ltd). Cette filtration permet d'éliminer de la matrice les impuretés (supérieures à 0,45 μ m), qui peuvent gêner l'étape de préconcentration en colmatant rapidement les phases solides.

L'urine humaine a été recueillie chaque matin et conservée au maximum une journée à 5 \pm 3°C. L'échantillon est centrifugé à 4000 tpm (tours par minute) pendant 10 min, puis le surnageant est filtré sur une membrane de porosité 0,22 µm en acétate de cellulose (VWR). Cette étape permet de faire précipiter et d'éliminer les débris cellulaires.

2.3. Caractérisation des solutions

Afin de caractériser les différentes eaux, le pH et la conductivité ont été mesurés respectivement à l'aide d'un pHmètre Cypberscan 510 (VWR) et d'un conductimètre MC 226 (Mettler Toledo). L'étalonnage de ces deux appareils est réalisé avant chaque mesure ou série de mesures à l'aide de solutions étalons :

- pH 4,0 ; 7,0 et 10,0 pour le pH-mètre
- KCl 0,01 M, 1278 µS/cm à 20°C pour le conductimètre

Pour l'urine, seul le pH a été mesuré.

3. Banque de données spectrales

3.1. Logiciel

Le logiciel FileMaker Pro a été employé pour effectuer la banque de données spectrales. Ce logiciel facilite la gestion des données et permet d'accéder rapidement à une catégorie de molécules. Ainsi, les molécules peuvent être rangées en fonction de leur capacité de rétention sur les différentes phases solides mais également en fonction de leurs propriétés d'élution (fractions). Si lors d'une suspicion de pollution, un spectre est obtenu dans l'une des fractions d'élution, les différentes possibilités de classement proposées par le logiciel permettent de réduire rapidement le nombre de molécules ou de types de molécules incriminées.

3.2. Méthodologie

La banque de données a pour objectif d'apporter une aide au diagnostic sur site. Elle a pour but de pouvoir comparer le spectre d'un échantillon obtenu expérimentalement avec les spectres de référence contenus dans cette banque de données.

Cette banque a été réalisée pour 50 molécules d'intérêt. Elle se présente sous la forme d'une fiche, imprimable en format PDF, contenant (Figure 22) :

- le recueil des informations générales et des données physico-chimiques telles que le numéro CAS, les formules brute et développée, la masse molaire, la solubilité dans l'eau, le log P, le(s) pKa, la famille chimique ou l'application thérapeutique et la concentration rapportée dans le milieu naturel,
- les spectres dans l'EUP et le solvant d'élution ainsi que les informations concernant leurs conditions d'acquisition telles que la concentration de la solution analysée, le trajet optique de la cuve lors de l'acquisition, la référence et la pureté de la substance. Les longueurs d'onde d'absorbance maximales, leurs valeurs d'absorbance et leurs coefficients d'extinction molaire sont répertoriés. Chaque spectre intégré à cette banque de

données, que ce soit dans l'EUP ou dans le solvant d'élution, a été réalisé en triplicat (3 solutions différentes) avec le spectrophotomètre de l'analyseur (acquisition entre 200 et 400 nm ; trajet optique : 20 mm ; pas : 1 nm).

les conditions de rétention et d'élution obtenues sur l'analyseur. Un menu déroulant a été inséré au niveau des onglets « rétention » et « élution » afin de simplifier l'utilisation du logiciel et d'orienter les possibilités de choix. Lors de l'ajout de nouvelles substances, en ce qui concerne la rétention, l'opérateur a le choix entre « rétention sur la phase 1 », « rétention sur la phase 2 » ou « pas de rétention ». De même en ce qui concerne l'élution, les choix proposés sont les différentes fractions d'élution mises en œuvre lors du développement de la méthode MSP2E et des combinaisons de ces fractions.

Un répertoire général regroupe l'ensemble des 50 molécules analysées avec la possibilité de les classer selon leurs propriétés physico-chimiques, spectrales, de rétention ou encore d'élution. La sélection d'une molécule permet d'accéder à sa fiche détaillée présentée précédemment. La Figure 23 présente un extrait de ce répertoire dans lequel les molécules ont été classées par ordre alphabétique. Sur ce répertoire, le pKa et le log P des molécules ainsi que leurs propriétés de rétention et d'élution apparaissent. Ces caractéristiques ont été choisies car elles permettent d'avoir une vision globale du type de molécules pouvant être retenues sur telle ou telle cartouche et éluées dans telle ou telle fraction d'élution.

Banque de données spectrales



ATRAZINE

Spectre d'acquisition dans le solvant d'interêt



N° Pic	Longueur d'onde (nm)	Absorbance (u.a)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
1	222	1,72	$(3,65 \pm 0,07) \times 10^4$
2	264	0,16	$(3,5 \pm 0,3) \times 10^3$

Résultats des rétentions et des élutions

Rétention	Elution
HLB	E3

1

Figure 22 : Exemple de fiche de la banque de données spectrales

92

2

Nом	Log p	РКА	RÉTENTION	ELUTION
1,7-Ethynylestradiol	3,67	10,2	HLB	E3
2-Nitrophénol	2,0	7,2	HLB	E3
2,4D	2,7	2,8	SAX	A1 ET A2
4-Nonylphénol	4,48	10,25	HLB	-
4,4-DIAMINODIPHÉNYLMÉTHANE	1,55		HLB	E3
Acénaphtène	4,2	NA	HLB	_
Acétaminophène	0,5	9,38	HLB	E1
Acide Clofibrique	2,6	3,2	SAX	A1
Alachlor	3,52	NA	HLB	E3
Aténolol	0,1	9,16 et 13,88	_	_
ATRAZINE	2,61	1,7	HLB	E3
BENZYLBUTYLPHTALATE	4,59	NA	_	-
BISPHÉNOL A	3,32	9,9-10	HLB	E3
Caféine	- 0,07	0,7	HLB	E1
Carbamazépine	2,45	14	HLB	E3
Carbaryl	2,4	10,4	HLB	E3
CHLORPYRIFOS	4,70	NA	_	_
CHLORTOLURON	2,5	NA	HLB	E3
CIPROFLOXACINE	0,3-1,3	5,9 et 8,9	HLB	E1 ET E2
Cyclophosphamide	0,97	8	_	_
DEHP	7,60	NA	HLB	-
Diatrizoate	1,8	3,4	SAX	A1 ET A2

Figure 23 : Répertoire de la banque de données spectrales faisant apparaître les caractéristiques physico-chimiques (log P et pKa) ainsi que les propriétés de rétention et d'élution.

4. Extraction sur phase solide

4.1. Cartouches d'extraction sur phase solide

4.1.1. Cartouches commerciales

Plusieurs cartouches SPE commerciales ont été testées au cours de cette étude afin de sélectionner les phases les plus adaptées à la méthodologie de fractionnement MSP2E :

- Des phases polymériques :
 - ✓ Oasis HLB 225 mg (Waters) : composée de 2 monomères, le Nvinylpyrrolidone (hydrophile) et le divinylbenzène (lipophile),
 - Oasis MAX 225 mg (Waters) : phase échangeuse d'anions composée de 2 monomères, le N-vinylpyrrolidone (hydrophile) et le divinylbenzène (lipophile) et d'un ammonium quaternaire,
 - Oasis MCX 225 mg (Waters) : phase échangeuse de cations composée de 2 monomères, le N-vinylpyrrolidone (hydrophile) et le divinylbenzène (lipophile) et d'un groupement sulfonate,
 - ✓ Sep-Pak plus PS2 300 mg (Waters): composée d'un copolymère styrène-divinylbenzène,
 - ✓ Strata-X 200 mg (Phenomenex) : composée de 2 monomères, le Nvinylpyrrolidone (hydrophile) et le divinylbenzène (lipophile),
 - ✓ Strata-X-C 200 mg (Phenomenex) : phase échangeuse de cations composée du monomère divinylbenzène (lipophile) et d'un groupement sulfonate,
 - ✓ LiChrolut-EN 200 mg (Merck) : composée de 2 monomères, l'éthylvinylbenzène et le divinylbenzène.
- Des phases à base de Silice :
 - ✓ Strata-SAX 500 mg (Phenomenex): phase échangeuse d'anions comportant un ammonium quaternaire,
 - ✓ Strata-PAH 750 mg (Phenomenex) : phase propriétaire. La protection de cette phase par un brevet ne permet pas d'avoir accès à sa structure.
- Des polymères à empreinte moléculaire :
 - ✓ **SupelMIP Triazine** 25 mg (Supelco) : phase spécifique aux triazines,
 - ✓ SupelMIP NSAID 25 mg (Supelco): phase spécifique aux antiinflammatoires non stéroïdiens.

4.1.2. Collecteur d'extraction sous vide

Un collecteur d'extraction sous vide (Phenomenex) comportant 12 entrées et relié à une pompe à vide à membranes (VWR) a été utilisé (Figure 24). Il permet de réaliser les étapes de préconcentration et de fractionnement lors de l'emploi de cartouches commerciales dans le cas de l'extraction de l'urine humaine et de l'optimisation de la méthode MSP2E.



Figure 24 : Schéma du collecteur d'extraction sous vide

L'intérêt principal du collecteur est la possibilité de traiter simultanément plusieurs échantillons. Des valves positionnées en-dessous des cartouches SPE commerciales permettent de déterminer le débit de percolation et d'élution de manière approximative (Figure 24 ; 1 : débit nul à 3 : débit élevé).

4.1.3. Cartouches fabriquées au laboratoire

Afin d'adapter les phases solides commerciales au concentrateur et à l'analyseur, des cartouches ont dû être élaborées au laboratoire à partir des phases solides correspondantes en tenant compte des contraintes imposées par le dispositif telles que la dimension des cartouches, et la quantité de phase pouvant être introduite.

Les phases solides proviennent dans un cas de cartouches commerciales minutieusement cassées (Oasis HLB Plus, 225 mg de Waters) et dans l'autre cas de poudre en vrac (Sepra SAX de Phenomenex).

La Figure 25 présente la méthode de conditionnement des phases solides. Afin de fabriquer des cartouches, des frittés (porosité : 20 μ m ; Interchim) et des corps de cartouche de 1 mL en polypropylène (Interchim) sont employés. Les corps des cartouches sont coupés à la dimension adaptée (hauteur : 4 cm) au bloc de préconcentration, un fritté est placé à l'une des extrémités. Les corps de cartouches sont alors remplis à l'aide d'un entonnoir avec l'une des phases sélectionnées avant

qu'un second fritté soit placé au-dessus de la phase. La phase est alors compactée manuellement (à l'aide de deux tuyaux semi-rigides).



Figure 25 : Méthode de fabrication des cartouches de laboratoire

4.1.4. Conditionnement des phases solides

Quelle que soit la nature de la phase solide, l'activation du support a été accomplie en faisant percoler un volume donné selon les recommandations des fournisseurs d'un ou plusieurs solvants. Les solvants utilisés pour le conditionnement dépendent de la phase solide et du type d'échantillon et sont détaillés dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Conditionnement	des phases	solides	commerciales	et fabriquées	au laboratoire
rabioud ro. conditionnement	uoo piiuooo	0011000	common oranoo	ot iubliquoob	uu iuboi utoii o

Cartouche	Conditionnement
Oasis-HLB (Waters), Oasis-MAX (Waters), Oasis-MCX (Waters), Sep-Pak plus PS 2 (Waters), LiChrolut-EN (Merck), Strata-X (Phenomenex), Strata-X-C (Phenomenex), Strata-SAX (Phenomenex),	6 mL acétonitrile puis 10 mL EUP
SupelMIP NSAID (Supelco)	2 mL acétonitrile puis 2 mL méthanol puis 2 mL EUP acidifiée acide formique 0,1%
SupelMIP Triazine (Supelco)	2 mL méthanol puis 2 mL EUP puis 2 mL EUP acidifiée acide formique 0,1%
Strata-PAH (Phenomenex)	10 mL dichlorométhane puis 10 mL méthanol puis 10 mL EUP

Le dernier solvant de conditionnement dépend de la nature de l'échantillon. Ainsi, dans le cas d'un échantillon acidifié comme le préconise le fournisseur, de l'EUP acidifiée avec de l'acide formique (Fluka, >98%) sera privilégiée (Tableau 18- SupelMIP NSAID et SupelMIP Triazine de Supelco).

4.2. Solvants utilisés

Différents solvants, acides et sels ont permis le conditionnement et l'élution des phases solides. Les solvants sont tous de qualité chromatographique afin de limiter les interférences lors de l'étape de détection (Tableau 19).

Nom	Fournisseur	Pureté	Nom	Fournisseur	Pureté
	Solvants			Acides	
Acétate d'éthyle	Sigma-aldrich	Chromasolv HPLC, ≥99,7 %	Acide chlorhydrique	VWR	GPR Rectapur, 35 %
Acétone	Sigma-aldrich	Chromasolv HPLC, ≥99,8 %	Chromasolv Acide Fluk HPLC, ≥99,8 % formique		LC/MS, ≥98 %
Acétonitrile	VWR	HiPersolv Chromanorm HPLC, ≥99,9 %	Acide sulfurique	Merck	EMSURE, ≥98 %
Cyclohexane	Sigma-aldrich	Chromasolv HPLC, ≥99,7 %		Sels	
Dichlorométhane	Sigma-aldrich	Chromasolv HPLC, ≥99,8 %	Chlorure de sodium	VWR	AnalaR Normapur, ≥99,5 %
Hexane	Sigma-aldrich	Chromasolv HPLC, ≥97 %	Chlorure de potassium	VWR	GPR Rectapur, ≥99 %
Isopropanol	Sigma-aldrich	Chromasolv LC/MS, ≥99,9 %			
Méthanol	VWR	HiPersolv Chromanorm HPLC, ≥99,8 %			

Tableau 19 : Solvants utilisés au cours de l'étude

4.3. Evolution du matériel développé

Cette partie présente l'évolution du matériel développé au cours de la thèse, mettant en œuvre 3 dispositifs (le système de pré-diagnostic terrain, le concentrateur et l'analyseur) dédiés à la réalisation d'un prototype terrain permettant la préconcentration et la détection sur site de micropolluants organiques dans l'eau :

- Le système de pré-diagnostic terrain et transportable sur site, développé par le LERES en partenariat avec HOCER, permet d'obtenir des informations sur la qualité globale de l'eau
- Le concentrateur, dispositif développé par HOCER et protégé par un brevet (Dussauze et al., 2001) a permis la mise au point de la méthodologie de préconcentration automatisée
- L'analyseur (préconcentration/détection UV), développé par HOCER, a permis la validation de la méthode MSP2E et l'établissement d'une approche prédictive.

L'évolution de ces dispositifs doit donner lieu à la réalisation d'un prototype terrain lié au projet UV-Trace, détaillé dans la Partie 3 (§2.4.). Notons que ce dernier dispositif n'est pas encore disponible suite à une contrainte de temps. La Figure 26 récapitule les différentes étapes de l'évolution du matériel, du système de pré-diagnostic au prototype terrain.



Figure 26 : Evolution du matériel

4.3.1. Système de pré-diagnostic terrain

Un système de pré-diagnostic terrain a été développé par le LERES en partenariat avec HOCER afin de déterminer la contamination chimique d'une eau de surface ou de consommation humaine. Ce système compact et rapide a pour objectif de donner une information sur le terrain lors d'une alerte, concernant la présence d'une substance chimique.

La Figure 27 montre l'extérieur et l'intérieur du système de pré-diagnostic terrain.



Figure 27 : Photos du système de pré-diagnostic terrain

Ce système (L x l x h : 580 x 440 x 330 mm ; poids : 25 kg) est équipé :

- d'une sonde multi-paramètres (pH, potentiel redox, température, oxygène dissous, conductivité et en option turbidité) (Figure 27 – 1 et 3)
- d'un système de détection optique couplant la spectrophotométrie UV et la fluorescence pour la mesure non paramétrique (Figure 27 - 4)
- des kits colorimétriques complémentaires tels que ammonium, chlore libre, cyanures, (Figure 27 – 2)
- d'un appareil photo GPS
- d'un ordinateur portable pour la gestion des différents appareils de mesure, pour la transmission des données et pour la téléassistance
- d'une batterie

La spectrophotométrie UV permet l'estimation du carbone organique dissous (COD) et des matières en suspension (MES) mais également la détection à de fortes concentrations de substances organiques absorbantes comprenant des structures aromatiques ou d'autres chromophores. La fluorimétrie permet la détection d'hydrocarbures ainsi que de certains pigments. La détection est réalisée directement sur l'échantillon brut ou dilué sans étape de préconcentration.

4.3.2. Concentrateur

4.3.2.1. Matériel

Le concentrateur est un dispositif à basse pression qui permet de préconcentrer un échantillon aqueux de manière automatisée sur des cartouches SPE. En plus du bloc de préconcentration (Figure 28-8) il est aussi équipé de (Figure 28) :

- 1 pompe à piston Ismatec RH0CKC 40μ C (Figure 28-9)
- 3 vannes Rheodyne TitanEX MLP777- 216 à 6 positions (Figure 28-12, 13 et 14)
- 2 vannes Rheodyne TiTanEX MLP777- 212 à 2 positions à 6 voies (Figure 28-10 et 11)



• 1 cuve de récupération (Figure 28-7)

- 1 : EUP 2 : ACN 3 : ACN/EUP (v/v)= 30/70 4 : ACN/EUP (v/v)= 70/30 5 : MeOH/NaCl 0,1 M (v/v)= 40/60
- 6 : Echantillon 7 : Cuve de récupération 8 : Bloc de préconcentration 9 : Pompe à piston 10 : Vanne V1
- 11 : Vanne V2 12 : Vanne V3 13 : Vanne V4 14 : Vanne V5 15 : Poubelle

Figure 28 : Photo du concentrateur

Les élutions (solvants d'élution : Figure 28-3, 4 et 5), et l'échantillon (Figure 28-6) avant ou après percolation sont récupérés manuellement en sortie du système au niveau de la cuve de récupération (Figure 28-7).

La pompe à piston (Figure 28-9) délivre 40 μ L par « coup » (une rotation du piston) et permet de faire circuler les différentes solutions dans le circuit hydraulique.

Les tuyaux utilisés sont des tubes en téflon (diamètre interne 1 mm) inertes aux solvants.

La Figure 29 illustre le circuit hydraulique du concentrateur.



Figure 29 : Schéma hydraulique du concentrateur

Ce dispositif est composé de 5 vannes de distribution Rheodyne (Figure 29) :

- 3 vannes de type 1 (V3, V4 et V5) à 6 positions. Parmi les 7 voies qui les composent, l'une est centrale et se connecte aux 6 autres. La vanne V3 permet de sélectionner les solvants et les échantillons injectés dans le circuit hydraulique. Les vannes V4 et V5 permettent de sélectionner la cartouche sur laquelle la préconcentration est réalisée. La position sur la voie 6 de ces 2 vannes permet de contourner les cartouches afin de nettoyer les tuyaux.
- 2 vannes de type 2 (V1 et V2) à 2 positions. Composée de 6 voies, elles relient les ports deux à deux. Ces vannes dirigent les solvants et l'échantillon en amont et en aval du bloc de concentration.

4.3.2.2. Logiciel de pilotage du concentrateur

Le logiciel μ Polg (HOCER) est le logiciel qui permet d'exécuter des séquences pour le pilotage du concentrateur. Chaque séquence est composée de différentes commandes permettant de contrôler les paramètres nécessaires au fonctionnement du concentrateur tels que les débits d'élution et de percolation, les volumes de conditionnement, de percolation et d'élution, la sélection des solvants ou de l'échantillon et la sélection de la cartouche sur laquelle sera préconcentré l'échantillon. Les séquences sont programmées par l'intermédiaire d'un fichier éditable, qui est interprété par le logiciel μ Polg.

Plusieurs séquences ont été rédigées afin de faire varier certains paramètres comme le débit et les volumes d'élution ainsi que le nombre de fractions d'élution.

Chaque séquence comporte 4 étapes principales pour chacune des cartouches dont le positionnement des vannes est le suivant :

- Conditionnement de la cartouche : La sélection des solvants 1 puis 2 se fait en plaçant la vanne V3 respectivement en position 1 (commande VA3 1), sélection du solvant 1, et 2 (commande VA3 2), sélection du solvant 2. La vanne V1 est placée en position 1 (commande VA1 1) pour la circulation. Le placement de la vanne V2 en position 1 (commande VA2 1) permet de transférer les solvants dans le récipient des déchets après passage sur la cartouche voulue.
- **Percolation de l'échantillon** : Le pompage de l'échantillon se fait en plaçant la vanne V3 en position 3 (*commande VA3 3*) et la vanne V1 est placée en position 1 (*commande VA1 1*) pour la circulation. L'échantillon après percolation sur l'une des deux cartouches est récupéré en sortie du circuit hydraulique (dans la cuve de récupération) en mettant la vanne V2 en position 2 (*commande VA2 2*).

- Lavage de la cartouche : Le rinçage est effectué à l'aide du solvant 1 en plaçant la vanne V3 en position 2 (*commande VA3 2*). La vanne V2 est placée en position 2 (*commande VA2 2*) afin de récupérer la solution de lavage dans la cuve de récupération.
- Elution de la cartouche : les élutions sont réalisées avec les solvants 3, 4 ou 5 en positionnant la vanne V3 respectivement en position 4, 5 ou 6 (commande VA3 4, 5 ou 6). La vanne V2 est placée en position 2 (commande VA2 2) afin de récupérer les différentes élutions dans la cuve de récupération.

Le logiciel, via la rédaction de séquences en fonction des 4 étapes principales, permet ainsi de maîtriser la préconcentration de l'échantillon et le fractionnement des élutions avant analyse.

La Figure 30 présente à titre d'exemple une séquence type pour le conditionnement, la percolation de l'échantillon, le lavage et l'élution de la cartouche 1.

ETAPE 1 : Etape conditionnement	POM 1SY ₂ /40 POM 1J	VA2 2 VA3 2
%cond1 Solvant 1 : volume : $X_1 \mu L$:	$POM 1UX_2/40$	VA4 1
débit : $Y_1 \mu L/min$, sortie déchet	POM 10	VA5 1
VA11	POM 1H	POM 1SY ₄ /40
VA2 2	POM 1E	POM 1J
VA3 1	POM 1I	POM 1UX ₄ /40
VA4 1	ETAPE 2 :	POM 10
VA5 1	Etape concentration	POM 1H
POM @1	%concentration Echantillon ; volume :	POM 1E
POM 1)0050	$X_3 \mu L$; débit : $Y_3 \mu L/min$, sortie cuve	POM 1I
POM 1+0040	VA1 1	%élution Solvant 3, 4 ou 5; volume : X ₅
POM 1L	VA2 2	μ L; débit: Y ₅ μ L/min, sortie cuve
POM 1SY ₁ /40	VA3 3	VA1 1
POM 1J	VA4 1	VA2 2
POM 1UX ₁ /40	VA5 1	VA3 4 (5 ou 6)
POM 10	POM 18Y ₃ /40	VA4 1
POM 1H	POM 1J	VA5 1
POM 1E	CHA 1UX ₃ /40	POM 1SY ₅ /40
POM 1I	POM 10	POM 1J
AA+	POM 1H	POM 1UX ₅ /40
%cond2 Solvant 2; volume : $X_2 \mu L$;	POM 1E	POM 10
débit : $Y_2 \mu L/min$, sortie déchet	POM 1I	POM 1H
VA1 1	ETAPE 3 :	POM 1E
VA2 2	Lavage et élution	POM 1I
VA3 2	%lavage Solvant2 ; volume : $X_4 \mu L$;	
VA4 1	débit : $Y_4 \mu L/min$, sortie cuve	
VA5 1	VA1 1	

Figure 30 : Séquence type du concentrateur (commande du débit : en bleu ; commande du volume à prélever : en rouge ; commande de sélection du sens de circulation : en vert ; commande de sélection de la cartouche : en violet ; commande de sélection du solvant et de l'échantillon : en gris ; commande de sélection du récipient de sortie : en marron)

Les commandes principales permettent (Figure 30):

- de sélectionner le débit de percolation et d'élution exprimé en coup/min (1 coup/min correspond à 40 μ L/min) : commande POM 1SXXXX (Figure 30 en bleu),
- de déterminer le volume de conditionnement et d'élution exprimé en nombre de coups (1 coup correspond à 40 μ L) : *commande POM 1UXXXX* et le volume de percolation : *commande CHA 1UXXXX* (Figure 30 en rouge),
- de sélectionner le sens de circulation des solutions dans le circuit hydraulique : *commande POM 1K* (aspiration) et *POM 1J* (insertion) (Figure 30 en vert). La *commande POM 1K* est employée lors de la vidange des tuyaux.
- de sélectionner la cartouche 1 ou 2 lors des étapes de conditionnement, de percolation de l'échantillon, de lavage et d'élution par les *commandes* VA4 1, VA5 1 et VA4 2, VA5 2 respectivement (Figure 30 en violet),
- de sélectionner le solvant 1, 2, 3, 4 ou 5 lors du conditionnement, du lavage ou de l'élution des cartouches par la *commande VA3 1, VA3 2, VA3 4, VA3 5* et *VA3 6* respectivement, et de sélectionner l'échantillon à percoler par la *commande VA3 3* (Figure 30 en gris),
- de sélectionner le récipient dans lequel les différentes solutions (solvants de conditionnement, de lavage, échantillon après percolation et élutions) seront récupérées. La *commande VA2 2* permet leur récupération dans une cuve pour une analyse ultérieure. La *commande VA2 1* les dirige dans un récipient de déchet (Figure 30 en marron).

4.3.2.3. Spectrophotomètre UV-Visible

Le Tableau 20 présente les caractéristiques des spectrophotomètres UV-Visible ayant permis la caractérisation et l'identification des substances issues du concentrateur.

-		1	
Spectrophotomètre	Domaine	Bande passante	Trajet optique
	spectral (nm)	(nm)	(mm)
Monofaisceau (SAFAS)	200 - 400	1	10
Anthélie Light (Secomam)	200 - 400	1	10

Tableau 20 : Caractéristiques des spectrophotomètres UV-visible pour la caractérisation

4.3.3. Analyseur

La description de ce dispositif comporte des parties confidentielles volontairement masquées en noir à la demande de HOCER qui envisage de déposer un brevet.

L'analyseur (Figure 31) composé d'un concentrateur et d'une partie détection permet, de manière automatisée, la préconcentration de l'échantillon et l'élution des cartouches SPE ainsi que l'analyse par spectrophotométrie UV des différentes fractions d'élution. Le concentrateur a évolué par rapport au concentrateur présenté précédemment. Le système hydraulique a été simplifié et la pompe à piston a été remplacée par une autre pompe (





Figure 31 : Analyseur (préconcentration/ élution et détection)

4.3.3.1. Matériel

• Partie préconcentration

La partie de l'analyseur permettant la préconcentration est constituée de :

- 1 pompe (Figure 31- 1) permettant d'aspirer les solvants et l'échantillon (Figure 31- 2 à 5) et de les injecter dans le circuit hydraulique,
- 1 bloc de préconcentration pouvant contenir 2 cartouches (Figure 31- 6),
- électrovannes (Figure 31- 11) permettant de diriger les solutions vers la cuve de récupération 1 (Figure 31- 7), la cuve de récupération des déchets aqueux (Figure 31- 8) et la cuve de récupération 2 (Figure 31- 10),
- 1 cuve de récupération qui permet de faire le lien entre la préconcentration de l'échantillon et la détection UV (Figure 31-10).

• Partie détection

La partie de l'analyseur permettant la détection est constituée de:

- 1 spectrophotomètre (domaine spectral : entre 200 et 400 nm ; bande passante : 1 nm) à fibre optique (Figure 31-15), comprenant 1 lampe UV au deutérium (Figure 31-16) et 1 cuve de mesure en quartz de 20 mm de trajet optique et d'un volume de 40 μL (Figure 31-17),
- 1 pompe péristaltique permettant la circulation des solutions jusqu'à la cuve de mesure (Figure 31- 18),
- 1 module d'acquisition des données
 (Figure 31- 14).

Les 2 parties sont contrôlées par une carte relais (Figure 31-13) et alimentées par 2 générateurs :

- 1 générateur 24-28 V
- (Figure 31- 12b),
- 1 générateur 12 V (Figure 31- 12a),

Les tuyaux permettant la circulation des solutions dans l'analyseur sont en téflon (diamètre interne 1 mm) et donc inertes aux solvants.

L'analyseur permet l'automatisation de l'étape de fractionnement sur multiples phases solides en liaison avec un système de détection UV. L'étape de fractionnement repose sur l'emploi d'une pompe **services** et d'électrovannes qui dirigent les solutions à travers l'analyseur. Les solutions sont transportées dans la cuve de mesure par l'activation d'une pompe péristaltique.

La Figure 32 présente le schéma hydraulique de l'analyseur.



Figure 32 : Schéma hydraulique de l'analyseur

4.3.3.2. Logiciel de pilotage de l'analyseur

Cet analyseur est également piloté par ordinateur via le logiciel μ Polg (HOCER) mais avec des nouvelles séquences prenant en compte les modifications du système.

La commande STS XXXX permet de sélectionner les débits de percolation et d'élution, exprimés en μ L/min. Les commandes ASP XXXX et DIS XXXX permettent de déterminer les volumes d'échantillon et de solvant à prélever dans les bouteilles situées à l'entrée de l'analyseur et à distribuer dans l'analyseur. Ces volumes sont exprimés en μ L.

Une valeur limite de débit est fixée à 5000 μ L/min. L'ajout des *commandes MOD MS* et *MOD NM* autorise des débits respectivement inférieurs et supérieurs à cette valeur limite. Si ces commandes ne sont pas écrites dans la séquence en fonction du débit, la séquence s'arrêtera.

Chaque séquence comporte 4 étapes principales par cartouche (1 et 2) sélectionnée respectivement par les voies de la pompe de la pompe.

Avant d'effectuer les 4 étapes suivantes, la lampe UV du spectrophotomètre doit être activée par la *commande POR 0 0 ON*.

Réalisation du spectre UV de l'échantillon avant percolation sur une cartouche sélectionnée. Un blanc est réalisé avec de l'EUP

La pompe péristaltique est alors activée pendant 7 s (*commande POR 0 5 ON*) afin de transporter l'EUP jusque dans la cuve de mesure du spectrophotomètre. La *commande SPB L* permet alors de réaliser le blanc. La pompe péristaltique est ensuite réactivée afin de transporter l'EUP jusqu'au récipient des déchets. Puis, 2 mL de l'échantillon sont prélevés

et injectés dans l'analyseur **de la pompe** péristaltique est alors activée pendant 7 s afin de transporter l'échantillon jusque dans la cuve de mesure du spectrophotomètre. La *commande SPB S* permet alors l'acquisition du spectre UV entre 200 et 400 nm. Un second spectre est réalisé après avoir activé la pompe péristaltique pendant une seconde supplémentaire.

Conditionnement de la cartouche sélectionnée par le solvant 2 et le solvant 3. 6 mL du solvant 2 puis 10 mL du solvant 3 sont prélevés
 et injectés dans l'analyseur

percolation jusqu'au récipient des déchets en activant la pompe péristaltique (*commande POR 0 5 ON*).

puis dirigés après

- Percolation de l'échantillon sur l'une des cartouches sélectionnées. L'échantillon (100 mL) est prélevé service et injecté dans l'analyseur pour la percolation sur la cartouche 1 ou
 pour la percolation sur la cartouche 2. Si l'échantillon est percolé sur la cartouche 1, il est récupéré dans la cuve de récupération 1. Si l'échantillon est percolé sur la cartouche 2, il est récupéré dans le récipient des déchets aqueux
- Lavage et élution de la cartouche sélectionnée. Le solvant 3 constitue la solution de lavage et les solvants 1 constitue, 2 constitue la solution de lavage et les solvants 1 constitue de lavage et les solvants 1 constitu

seuls ou en mélange constituent les solutions d'élution. Lors de l'étape de lavage, la position des électrovannes et l'activation de la pompe péristaltique (*POR 0 5 ON*) permet d'amener le solvant de lavage jusqu'au récipient à déchets pour les solvants. Avant l'étape d'élution, un blanc est réalisé à l'aide du solvant d'élution sélectionné selon le principe décrit lors de la première étape. Lors de l'étape d'élution, la position des électrovannes et l'activation de la pompe péristaltique (*POR 0 5 ON*) pendant 7 s permet de transporter l'éluant jusque dans la cuve de mesure du spectrophotomètre. La *commande SPB S* permet alors l'acquisition du spectre UV entre 200 et 400 nm. Un second spectre est réalisé après avoir activé la pompe péristaltique pendant une seconde supplémentaire.

A la fin de ces étapes, la lampe UV du spectrophotomètre est éteinte par la commande *POR 0 0 OFF*.

La Figure 33 présente à titre d'exemple une séquence type de l'analyseur permettant l'acquisition d'un spectre de l'échantillon initial, puis le conditionnement d'une cartouche, la percolation de l'échantillon sur cette dernière ainsi que l'élution de la cartouche avec une analyse par spectrophotométrie UV de chacune des fractions. POR 0 0 ON // Lampe VLV ETAPE 1 Spectre échantillon VLV **STS 50000 PES 50000 CUS 50000 ASP 2000** VLV // LB EUP **STS 10000 PES 10000 CUS 10000 DIS 2000** VLV POR 0 5 ON DEL 7000 POR 0 5 OFF SPB L POR 0 5 ON DEL 6000 POR 0 5 OFF VLV //Rinc Cuve **STS 50000 PES 50000 CUS 50000** ASP 2000 VLV **STS 10000 PES 10000 CUS 10000 DIS 2000** POR 0 5 ON **DEL 7000** POR 0 5 OFF SPB S POR 0 5 ON DEL 10000 POR 0 5 OFF **ETAPE 2 : Conditionnement** // Solvant 2 : volume : 6 mL ; débit : 5 VLV mL/min, sortie déchet POR 1 2 ON POR 0 5 ON VLV **STS 50000 PES 50000 CUS 50000 ASP 6000** CUS Y₂

DIS_{X₂} **STS 5000 DEL 6000 PES 5000** POR 0 5 OFF **CUS 5000** POR 1 2 OFF **DIS 6000** //Blanc: Solvant 1, 2 ou 3 // Solvant 3 : volume : 10_1 mL ; débit : 5 VLV mL/min, sortie déchet VLV // EUP **STS 50000 PES 50000 STS 50000 CUS 50000 PES 50000 ASP 2000 CUS 50000** VLV **ASP 10000 STS 10000 PES 10000 STS 5000 CUS 10000 PES 5000 DIS 2000 CUS 5000** POR 0 5 ON **DIS 10000 DEL 7000** POR 0 5 OFF POR 0 5 OFF **ETAPE 3 : Concentration** SPB L POR 0 5 ON // Echantillon: volume : $X_1 \mu L$; débit : $Y_1 \mu L/min$, sortie cuve 1 DEL 6000 POR 1 2 OFF POR 0 5 OFF VLV POR 1 2 ON STS 50000 // Elution : Solvant 3 volume : $X_3 \mu L$; **PES 50000** débit : Y₃ μ L/min, sortie cuve 2 **CUS 50000** VLV ASP X STS 50000 VLV PES 50000 STS Y₁ CUS 50000 PES Y₁ ASP X₃ CUS Y₁ VLV DIS X1 **STS 1000 ETAPE 2 : Rincage et élution PES 1000** // Rincage : Solvant 3 volume : X₂ µL ; **CUS 1000** DIS Y₃ débit : Y1 µL/min, sortie déchet **POR 1 2 ON** POR 0 5 ON POR 0 5 ON **DEL 7000** POR 0 5 OFF **STS 50000** SPB S **PES 50000** DEL 60000 **CUS 50000** POR 0 5 ON ASP X₂ DEL 1000 VLV POR 0 5 OFF STS Y₂ POR 0 0 OFF // Lampe PES Y₂

Figure 33 : Séquence type de l'analyseur (commande de débit : en bleu ; commande du volume à prélever ou à injecter : en rouge ; commande de sélection de la cartouche : en violet ; commande de sélection du solvant et de l'échantillon : en gris ; commande de sélection du récipient de sortie : en marron ; commande d'acquisition des spectres : en vert)

Le logiciel μ Polg (HOCER) permet également de traiter les spectres UV obtenus. Ce traitement a pour objectif de déterminer les molécules présentes dans l'échantillon grâce à deux méthodes :

- Traitement direct pour les molécules individuelles : il permet d'estimer la concentration de la molécule déterminée par comparaison aux spectres UV de chaque composé acquis dans l'EUP ou dans leur éluant respectif et référencés dans une banque de données spectrales
- Traitement indirect pour un mélange de composés : ce traitement permet de déterminer les molécules présentes ainsi que leurs concentrations par une méthode de déconvolution spectrale.

La méthode de déconvolution spectrale adopte une approche déterministe. Elle consiste à exprimer un spectre mesuré comme la somme de plusieurs spectres de référence pouvant être présents dans l'échantillon (Thomas et al., 1996).

La banque de données spectrales composée d'une collection de spectres de référence dans l'EUP et dans les différents éluants va permettre par exemple la mise en place de modèles correspondant aux différentes fractions d'élution.

L'équation suivante présente le calcul de chaque contribution spectrale :

$$s_W = \sum_{i=1}^{P} a_i REF_i \pm r$$

où S_w correspond au spectre de l'échantillon, a_i au coefficient de contribution du i^{ème} spectre de référence REFi et r à l'erreur commise au cours de la restitution. L'erreur permet d'appréhender la pertinence du modèle.

Il est ainsi possible grâce à cette méthode d'obtenir, à partir du spectre UV d'un mélange et des spectres de référence des molécules seules, les proportions des molécules dans le mélange.

Au cours de l'étude, l'analyseur a été utilisé de 2 manières différentes :

- en tant qu'analyseur avec une détection par spectrophotométrie UV lors du dopage des matrices avec un composé ou avec un mélange au maximum de 5 molécules,
- en tant que concentrateur avec une récupération manuelle des fractions d'élution et une détection par HPLC/MS lors du dopage des matrices avec un mélange complexe de 45 molécules.

5. Analyses par HPLC/MS

Lors du dopage des eaux (EUP ou naturelles) avec le mélange de 45 pesticides, l'analyseur fonctionne en tant que concentrateur. Les différentes fractions d'élution sont récupérées et analysées par HPLC/MS.

Les analyses ont été effectuées au sein du laboratoire accrédité du LERES. Elles ont été réalisées sur un module HPLC Waters Alliance 2695 couplé à un spectromètre de masse Micromasse ZQ (Waters) équipé d'une source de ionisation électrospray (ESI) Z-Spray. La séparation des pesticides est effectuée à un débit de 0,2 mL/min sur une colonne C18 XTerra MS (Waters) (150 mm de long, 2,1 mm de diamètre interne, particules de 3,5 μ m) maintenue à une température de 35°C. La phase mobile est composée d'EUP (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B), tous deux acidifiés avec 0,1% d'acide formique. Avant l'injection, les échantillons sont placés dans 82% du solvant A et 18% du solvant B (conditions initiales de l'analyse). Le volume d'injection de l'échantillon est fixé à 10 μ L. Le gradient d'élution est programmé comme suit (Figure 34):

- 0-10 min, 82-70% A
- 10-20 min, 70-50% A
- 20-35 min, 50-20% A
- 35-40 min, 20% A
- 40-40,1 min, 20-82% A (retour à la condition initiale)
- 40,1-50 min, 82% A (temps d'équilibration)



Figure 34 : Gradient d'élution pour l'analyse HPLC/MS (solvant A : EUP acidifié 0,1% acide formique)

L'ionisation est réalisée avec une source électrospray (ESI) fonctionnant en mode négatif (ES-) ou en mode positif (ES+).

Les paramètres pour la source ESI sont les suivants :

- tension du capillaire : 2,0 kV pour le mode négatif et 3,0 kV pour le mode positif
- température de la source : 100°C
- température de désolvatation : 350°C
- débits du gaz du cône (azote) : 150 L/h
- débit du gaz de désolvatation (azote) : 500 L/h

Le spectromètre de masse est utilisé en mode simple ion (SIR). Les deux ions les plus sensibles et spécifiques sont enregistrés pour chaque composé en utilisant les modes positif ou négatif ESI. Le logiciel MassLynx (4.1) permet le contrôle des instruments, l'acquisition des données et la quantification.

Les limites de quantification sont de 20 μ g/L pour chacun des pesticides. Les droites de calibration ont été réalisées avec 5 concentrations allant de 20 à 200 μ g/L.

Le Tableau 21 récapitule l'ensemble des caractéristiques analytiques (masse des ions d'intérêt, la tension de cône et le mode de ionisation) pour les composés analysés par HPLC/MS.

Composé	Ion 1	Ion 2	Tension de cône (V) ion 1/ion 2	Mode de ionisation ion 1/ion 2	Composé	Ion 1	Ion 2	Tension de cône (V) ion 1/ion 2	Mode de ionisation ion 1/ion 2
Acides phénoxy-carl	ooxyliques	6			Terbuthylazine	230,0	232,0	25/25	ES+/ES+
2,4 D	160,9	219,1	47/25	ES-/ES-	Terbuméton	226,1	227,1	25/25	ES+/ES+
2,4 MCPA	141,2	199,2	45/25	ES-/ES-	Triazoles				
Dichlorprop	161,0	233,1	45/25	ES-/ES-	Epoxiconazole	329,9	331,8	15/15	ES+/ES+
Mécoprop	141,1	143,1	45/60	ES-/ES-	Prochloraze	375.8	377.8	15/15	ES+/ES+
Trichlopyr	196,0	256,0	40/15	ES-/ES-	Tébuconazole	308,3	310,3	25/25	ES+/ES+
Chloroacétamides					Tétraconazole	159,2	372,1	60/45	ES+/ES+
Alachlore	162,3	238,2	60/25	ES+/ES+	Autres				
Acétochlore	148,0	224,0	45/25	ES+/ES+	Azoxystrobine	344,1	372,1	60/45	ES+/ES+
Diméthénamide	168,2	276,1	60/25	ES+/ES+	Boscalid	140,0	342,8	55/30	ES+/ES+
Métolachlore	176,3	284,2	60/25	ES+/ES+	Carbofuran	123,1	165,2	60/45	ES+/ES+
Métazachlore	210,0	278,0	25/25	ES+/ES+	Cyprodinil	226,3	227,3	60/60	ES+/ES+
Propachlore	105,9	212,2	62/25	ES+/ES+	Diflufénican	266,2	395,2	60/25	ES+/ES+
Tébutame	192,3	234,4	50/15	ES+/ES+	Fenpropidine	274,4	275,4	45/45	ES+/ES+
Nitrophénols					Fluroxypyr	180,9	208,8	50/40	ES+/ES+
Bentazone	197,1	239,1	60/45	ES-/ES-	Fluthiamide	152,2	364,1	45/25	ES+/ES+
Bromoxynil	273,9	276,0	60/60	ES-/ES-	Imazamethabenz-methyl	257,2	289,2	45/25	ES+/ES+
Dicamba	219,1	221,1	15/15	ES-/ES-	Isoxaben	165,1	333,1	50/25	ES+/ES+
Ioxynil	126,9	369,9	60/15	ES-/ES-	Isoxaflutole	250,9	357,9	50/25	ES+/ES-
Phényl-urées					Mésotrione	290,9	337,9	40/18	ES-/ES-
Chlortoluron	213,2	215,1	25/25	ES+/ES+	Métosulam	175,2	418,2	60/45	ES+/ES+
Diuron	231,1	233,1	25/25	ES-/ES-	Nicosulfuron	182,3	411,2	60/25	ES+/ES+
Isoproturon	165,2	207,3	50/25	ES+/ES+	Oxadiazon	220,1	303,2	60/45	ES+/ES+
Linuron	160,1	251,1	60/25	ES+/ES+	Oxadixyl	219,0	279,0	30/15	ES+/ES+
Triazines					Pendimethaline	212,2	282,2	25/25	ES+/ES+
Simazine	104,0	202,2	60/45	ES+/ES+	Sulcotrione	139,0	328,9	60/45	ES+/ES+

Tableau 21 : Caractéristiques analytiques des composés étudiés (ions et tension de cône)

Partie 3

Résultats

1. Introduction

Cette partie présente les principaux résultats expérimentaux obtenus dans le cadre du développement de l'analyseur sur site. Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet UV-Trace (financement ANR-ADEME DGCIS 2010 Eco-Industrie, 2011 – 2014) proposé pour l'amélioration des procédures du contrôle sanitaire et environnemental de la qualité des eaux. Le projet UV-Trace en collaboration avec les entreprises HOCER (spécialisée dans la détection et l'analyse en continu des pollutions organiques dans l'eau) et CAMKA (spécialisée dans le domaine de la télé-expertise et des équipements embarqués communiquant) a pour but de compléter les méthodes existantes, basées sur le prélèvement sur site et l'analyse en laboratoire, par le développement d'une solution simple, rapide, fiable et peu onéreuse de détection sur site de substances réglementées ou émergentes lors de pollutions accidentelles ou intentionnelles. Ce projet s'intéresse en particulier aux micropolluants organiques pouvant présenter un risque pour la santé et l'environnement (tels que les pesticides, et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)) ou émergents (tels que les produits pharmaceutiques et d'hygiène corporelle (PPCPs) et des perturbateurs endocriniens).

Une liste de près de 350 molécules cibles a été prédéfinie résultant de la concertation entre les acteurs de la sécurité civile des Services Départementaux d'Incendie et de Secours (SDIS) et le LERES au travers de leur expertise et expérience dans le domaine des pollutions accidentelles ou intentionnelles pour les premiers ainsi que dans le cadre du contrôle sanitaire et de la surveillance environnementale pour le second. Cette première liste incluait :

- Des molécules d'intérêt sanitaire (pesticides, HAP)
- Des molécules d'intérêt pour la sécurité civile (matières premières industrielles (benzaldéhyde, m-xylène, m-toluidine), des produits surveillés au niveau du code du travail (naphtalène, acénaphtène), des toxines et des agents de guerre (toxine botulique, ricine, sarin, adamsite))
- Des molécules émergentes (produits pharmaceutiques)

Dans le cadre du projet UV-Trace, un resserrement de cette liste a été nécessaire en tenant compte d'une part de la solubilité de ces molécules (le travail s'intéresse à la partie soluble de la contamination) et d'autre part de leur capacité à être détectées par spectrophotométrie UV (méthode de détection utilisée dans ce travail). Ainsi, près de 185 molécules ont été sélectionnées dont 84 choisies spécifiquement pour le projet de thèse. La diversité des familles, des propriétés physico-chimiques (log P, pKa) et des propriétés spectrales a motivé le choix de ces dernières molécules qui ont été étudiées soit individuellement soit en mélange.

Ces agents chimiques, présents majoritairement à l'état de traces (ng/L), peuvent atteindre des concentrations élevées (μ g/L) lors d'une pollution accidentelle ou intentionnelle (Valcarcel et al., 2011 ; Ternes, 1998 ; Ghassempour et al., 2002 ; Loos et al., 2010). De par leur potentiel toxique (voire mortel dans certain cas) à ces teneurs, leur détection dans de brefs délais devient alors primordiale afin d'assurer une bonne gestion du risque environnemental et sanitaire.

A l'origine, le projet UV-trace avait pour but l'amélioration des performances d'un système de pré-diagnostic terrain de la qualité de l'eau couplée à une fonction de téléassistance, développé par le LERES et réalisé par HOCER (Figure 35). Dans ce système, le pré-diagnostic est basé sur l'identification d'une variation de la qualité globale de l'eau via :

- un signal caractéristique obtenu par spectrophotométrie UV/fluorimétrie,
- une série de mesures, grâce à une sonde multi-paramètres, renseignant sur les paramètres globaux de la qualité de l'eau tels que la température, le pH, la conductivité, l'oxygène dissous, et la turbidité,
- la détection d'éléments minéraux et métalliques à partir de tests bandelettes.

De plus, une fonction de téléassistance, associée à ces mesures, permet de solliciter à distance l'aide et le conseil d'un expert (via le réseau internet ou satellitaire). L'interprétation de l'expert de l'ensemble des éléments transmis (empreinte spectrale, paramètres globaux, observations terrain) permet ainsi de délivrer un premier diagnostic rapide sur l'évènement accidentel et sur l'ampleur de l'impact de l'évènement. Ce système communiquant permet aussi à l'opérateur sur le terrain de recevoir rapidement les premières informations utiles pour une gestion efficace de l'évènement et une prise de décision la plus pertinente possible (prélèvement et analyses complémentaires, fermeture d'un captage par exemple) et ce, dans des délais très brefs. Le support technique et scientifique à distance permet également la manipulation de ce système par un personnel non nécessairement spécialisé.



Figure 35 : Photo du système de pré-diagnostic terrain
Ainsi, le projet UV-trace a été proposé pour compléter le dispositif existant, notamment par l'ajout d'un système de détection de micropolluants organiques. En effet, en complément de l'analyse globale effectuée par le système de pré-diagnostic, il est primordial de pouvoir identifier le ou les agent(s) chimique(s) impliqué(s) dans l'évènement considéré afin de mettre en place des mesures de gestion adaptées au type de contamination. Tout en gardant les spécificités du système, il a été proposé l'incorporation d'un module automatique d'extraction sélective et d'analyse basé sur :

- des méthodes de préconcentration sélectives sur multiples phases solides suivies d'élutions spécifiques permettant d'obtenir une série de fractions caractéristiques de substances ou de familles de substances,
- l'analyse en continu et automatique par spectrophotométrie UV de chacune des fractions ainsi que l'exploitation des spectres UV obtenus à partir d'une banque de données spectrales intégrée.

L'originalité de l'approche développée au cours de ce travail de thèse a consisté à considérer l'extraction sur phase solide (SPE) non seulement comme outil d'extraction et de préconcentration (tel qu'il est utilisé classiquement en analyse chimique) mais également comme système de séparation de substances contenues dans la matrice (étape généralement dévolue à la chromatographie en analyse chimique). Plus précisément, le système est basé sur la combinaison des propriétés physico-chimiques des molécules d'intérêt avec les propriétés physico-chimiques des phases solides d'extraction et des solvants d'élution. La méthode développée, nommée MSP2E (multiple solide phase double extraction), se décompose ainsi en une double extraction : la première repose sur la superposition de plusieurs phases solides (SPE_i) et la seconde sur une série d'élutions spécifiques (El_i) permettant l'obtention de fractions caractéristiques de substances (ou familles de substances) particulières. L'ensemble est relié à un système de détection UV permettant une analyse fine et automatique des fractions obtenues (Figure 36).





L'efficacité du système global tient en plusieurs points principaux (Figure 36) :

- un choix pertinent des phases solides d'extraction et des solvants d'élution permettant une séparation spécifique des molécules. Au cours de l'étude, la séparation envisagée est basée sur les propriétés physico-chimiques des molécules étudiées. Ainsi, chaque fraction obtenue est représentative d'un type de molécules (ou famille de molécules): molécules chargées, molécules neutres, molécules avec des log P variés. Cette approche permet ainsi de prédire *a priori*, pour une substance donnée, la fraction dans laquelle elle devrait être éluée.
- une analyse par spectrophotométrie UV en continu et suffisamment sensible dans le cas de contaminations ponctuelles et importantes (quelques dizaines de μ g/L).
- une aide à l'interprétation des résultats avec le développement d'une banque de données spectrales interrogeable automatiquement pour l'identification des signaux caractéristiques.

A noter que lorsque les signaux UV obtenus sont trop faibles ou non caractéristiques c'est-à-dire lorsqu'une substance est présente en trop faible concentration ou ne présente pas de spectre UV, d'autres moyens de détection peuvent être envisagés, comme par exemple, la chromatographie. L'étape de préconcentration et de fractionnement serait alors réalisée sur site mais l'étape de détection se ferait ultérieurement au laboratoire. Dans ce cas, la méthode MSP2E permettrait d'une part de simplifier la complexité des échantillons et d'autre part d'orienter la détection vers un ou des types de substances particulières (approche non négligeable en cas de recherche à l'aveugle).

D'un point de vue pratique, la méthodologie générale du travail de thèse présentée Figure 19 (Partie 2 §1.1) consiste en plusieurs étapes lors de la suspicion d'une pollution :

- Une analyse globale de la qualité de l'échantillon : spectre UV et mesures des paramètres de base de la qualité de l'eau (présentées précédemment),
- Une identification grâce à une banque de données spectrales, si le spectre obtenu est simple et jugé caractéristique (pic(s) et/ou épaulement(s); absorbance > 0,02 u.a.).
- Une application de la méthode MSP2E puis une comparaison des spectres avec la banque de données spectrales, si le signal est trop faible ou trop complexe : une analyse par spectrophotométrie UV des différentes fractions caractéristiques de propriétés physico-chimiques des molécules. L'analyse spectrophotométrique peut ne pas apporter de réponse dans le

cas d'une molécule ne présentant pas de spectre UV, ou d'une concentration d'un polluant trop faible dans l'échantillon.

- Comparaison des spectres obtenus dans les différentes fractions avec ceux répertoriés dans la banque de données spectrales. S'il n'y a aucune concordance, la molécule incriminée n'a pas été répertoriée dans la banque de données ou le spectre obtenu est relatif à un mélange de molécules. Dans le cas d'un mélange simple (2 ou 3 molécules), une déconvolution des spectres peut être envisagée.
- La réalisation des analyses chromatographiques en laboratoire, si aucune réponse n'est apportée à l'issue de ce processus.
- Pour le développement et la mise en place de la méthode d'extraction/préconcentration/fractionnement (MSP2E) :
 - ✓ Choix des phases solides
 - ✓ Détermination des solvants et des volumes d'élution
- L'approche prédictive permettant de prédire en fonction de la fraction d'élution dans laquelle une molécule est éluée ses caractéristiques physico-chimiques et inversement :
 - ✓ Sur 44 molécules d'intérêt de manière individuelle
 - ✓ Dans le cas d'un mélange simple (jusqu'à 5 molécules) ou complexe (jusqu'à 45 molécules) avec une analyse spectrale ou une analyse chromatographique
- L'effet matrice (eau de consommation et eau de rivière avec un dopage avec de 1 à 44 molécules suivie d'une analyse par spectrophotométrie UV ou par HPLC/MS).
- Les optimisations apportées au système (effet de l'homogénéisation, ajout d'une pré-cartouche).

2. Développement de la méthode MSP2E

Le développement de la méthode MSP2E a été réalisé en plusieurs étapes (Figure 37) :

- Le choix des phases solides d'extraction et des solvants d'élution pour séparer les polluants selon leurs propriétés physico-chimiques comme la charge et le log P. Lors de cette étape, a aussi été réalisé le développement d'une approche prédictive permettant de connaitre *a priori* la fraction dans laquelle une substance donnée est censée se retrouver.
- Le développement de la banque de données spectrales permet de regrouper les spectres et les caractéristiques de rétention et d'élution de chacune des molécules étudiées.
- L'automatisation, dans un premier temps de la partie extraction/ préconcentration/fractionnement (concentrateur).
- L'automatisation de la totalité de la méthode (extraction/ préconcentration/fractionnement/détection) et l'optimisation du mode opératoire final.

L'analyseur ainsi obtenu a ensuite été testé dans des conditions contrôlées puis la méthode a été appliquée sur des matrices réelles mettant en évidence un effet matrice nécessitant une nouvelle optimisation.



Figure 37 : Méthodologie relative au développement

Il est important de noter que l'automatisation de la partie préconcentration/fractionnement, ainsi que le développement de l'analyseur (incluant la détection en continu) a nécessité la prise en compte d'un certain nombre de contraintes liées à l'utilisation du dispositif :

- Les phases solides doivent être confectionnées au gabarit des appareils, gabarit non compatible avec les formats commerciaux disponibles.
- Le nombre de solvants doit être limité par le schéma hydraulique de l'analyseur dont le nombre de voies d'entrée est réduit.
- Les propriétés des solvants doivent être compatibles avec, d'une part les matériaux utilisés, les composants du circuit hydraulique (vannes, pompes) et, d'autre part la qualité de la mesure UV réalisée. Ces solvants doivent pouvoir être utilisés sur le terrain en limitant les risques pour l'environnement et pour la santé des utilisateurs.

Les solvants aqueux et faiblement visqueux sont privilégiés afin d'éviter la formation de bulles d'air et de protéger les vannes et les pompes du dispositif.

2.1. Identification des phases solides

Le choix des phases solides employées pour l'extraction est une étape primordiale car ces phases vont permettre une extraction et une séparation des molécules en fonction de leur structure et/ou de leurs propriétés physico-chimiques.

2.1.1. Phases solides commerciales étudiées

Plusieurs phases commerciales ont été comparées afin de choisir la ou les phase(s) solide(s) la ou les plus adaptée(s). Les interactions, ainsi que les spécifications des fournisseurs ont été les principaux critères de choix des supports étudiés. La Figure 38 présente les phases solides commerciales testées ainsi que le type d'interactions possibles entre cette phase et les molécules étudiées. Ainsi, les phases testées peuvent permettre des interactions simples (ioniques ou non polaires - Figure 38-A, B et C), des interactions mixtes (non polaires, ioniques et/ou polaires - Figure 38-D-H) ou bien des interactions spécifiques (Polymères à empreinte moléculaire (PEMs) - Figure 38-I et J).



Figure 38 : Phases solides commerciales envisagées et types d'intéractions possibles

Les phases testées lors de cette étude sont représentatives de l'ensemble des phases actuellement commercialisées (Partie 1 §4.1.).

Concernant les phases à base de silice, la phase Strata-SAX, dispose uniquement d'un ammonium quaternaire permettant la rétention de composés anioniques (organiques et minéraux) via des interactions électrostatiques (Figure 38-A). Peu d'informations sont disponibles sur la structure de la phase Strata-PAH, protégée par un brevet, mais cette phase est préconisée d'une part pour l'extraction des HAPs dans les échantillons aqueux et d'autre part pour éliminer les acides humiques d'un échantillon.

Parmi les phases polymériques, les interactions non polaires avec les cycles benzéniques sont majoritaires (Figure 38-B à H). Certaines de ces phases (Oasis-HLB, Oasis-MAX, Oasis-MCX et Strata-X) proposent des groupements donnant lieu à des interactions polaires, notamment grâce au groupement N-vinylpyrrolidone (Figure 38-E à H). La phase Oasis-MAX dispose également d'un ammonium quaternaire, chargé positivement, qui permet les interactions ioniques avec des analytes chargés négativement (Figure 38-G). De même, les phases Oasis-MCX et Strata-X-C disposent d'un groupement sulfonate, chargé négativement, autorisant également des interactions ioniques, mais dans ce cas avec des analytes chargés positivement (Figure 38-D et H).

De plus, les phases polymériques à empreintes moléculaires (PEMs) SupelMIP Triazine et SupelMIP NSAID mettent en jeu une reconnaissance structurale. Ces phases présentent une sélectivité respectivement pour les pesticides de type triazine et les dérivés pharmaceutiques de type anti-inflammatoires non stéroïdiens. Cependant, à la surface de la cavité des interactions non polaires et ioniques peuvent se produire (Figure 38-I et J).

2.1.2. Performances d'extraction et de sélectivité des phases solides testées

Les performances d'extraction et de sélectivité de ces 11 phases solides, ont été étudiées sur 9 molécules présentant des groupements fonctionnels et des caractéristiques physico-chimiques différentes (log P entre -0,07 et 4,5 ; pKa entre 0,73 et 13,9 - coefficient d'extinction molaire (ϵ (L.mol⁻¹.cm⁻¹)) entre (1,9±0,1)×10³ et (4,85±0,04)×10⁴ - Annexe 6 - Tableau 22).



Tableau 22 : Propriétés des composés étudiés (λ_{max} correspond aux longueurs d'onde d'absorbance maximales)



Tableau 22 : Propriétés des composés étudiés (λ_{max} correspond aux longueurs d'onde d'absorbance maximales) (suite)



Tableau 22 : P	Propriétés de	es composés étudiés	$(\lambda_{max} \text{ correspond})$	aux longueurs d'o	nde d'absorbance	maximales) (fin)
----------------	---------------	---------------------	--------------------------------------	-------------------	------------------	------------------

La capacité de rétention des différentes phases a été évaluée à partir de solutions de molécules individuelles (10 mL dans l'EUP à la concentration de 2 mg/L) percolées sur chacune des phases. Cette concentration, volontairement élevée, a été choisie, d'une part pour vérifier la capacité de charge des différentes phases, mais également pour des raisons pratiques de suivi (spectrophotométrie UV avec un trajet optique de 10 mm).

2.1.2.1. Rétention des molécules d'intérêt à pH 6,2

Le pH des solutions est à pH 6,2 (pH de l'EUP) : 6 des molécules testées étant neutres ou cationiques et 3 anioniques (le diclofénac, l'ibuprofène et le sulfaméthoxazole). La capacité de rétention des phases a été estimée par différence entre les concentrations de l'analyte d'intérêt avant et après percolation. Le Tableau 23 présente les résultats de rétention obtenus (Brogat *et al.*, 2013).

Tableau 23 : Capacité de rétention des différentes cartouches commerciales (les pourcentages de rétention sont représentés par des cercles : \bigcirc : < 25% ; \bigcirc : entre 25 et 50% ; \bigcirc : entre 51 et 75% ; \bigcirc >75%) (Brogat *et al.*, 2013)

	Oasis-HLB	Sep-Pak Plus PS2	Strata-X	LiChrolut-EN	Oasis-MAX	Oasis-MCX	Strata-X-C	Strata-SAX	Strata-PAH	SupelMIP Triazine	SupelMIP NSAID
$1,7\alpha$ -éthynylestradiol	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	0	0	\bigcirc	ightarrow
Atrazine	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	0	ightarrow	\bigcirc	ightarrow
Caféine	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	0	ightarrow	0	\bigcirc
Carbamazépine	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	0	ightarrow	\bigcirc	\bigcirc
Diazinon	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	0	ightarrow	\bigcirc	\bigcirc
Diclofénac	\bigcirc	\bigcirc	●	ightarrow	ightarrow	\bigcirc	\bigcirc	ightarrow	ightarrow		\bigcirc
Ibuprofène	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	●	\bigcirc	\bigcirc
Sulfaméthoxazole	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	\bigcirc	\bigcirc
Triméthoprime	ightarrow	ightarrow	ightarrow	ightarrow	0	ightarrow	ightarrow	0	ightarrow	\bigcirc	

De manière générale, les résultats de rétention montrent une faible spécificité des phases, contrairement aux caractéristiques commerciales énoncées.

Selon les instructions des fournisseurs, la cartouche Sep-Pak Plus PS2 est spécifique à certains pesticides. Cette cartouche extrait indifféremment l'atrazine mais également les autres composés neutres et même anioniques (Tableau 23).

Les cartouches Oasis-MCX, Strata-X-C d'une part et Oasis-MAX d'autre part sont recommandées lors de l'extraction de composés respectivement cationiques et anioniques. Ces cartouches sont efficaces pour l'extraction de tout type de composés quelle que soit leur charge (Tableau 23). L'examen des structures montre des groupements hydrophobes non spécifiques responsables de cette rétention globale.

La cartouche Strata-PAH, retenant la majorité des molécules cibles, ne met pas en évidence une spécificité particulière pour une certaine catégorie de molécules. Ainsi, elle doit interagir avec les analytes par des interactions aussi bien polaires que non polaires (Tableau 23).

Les cartouches PEMs SupelMIP Triazine et SupelMIP NSAID présentent un manque de spécificité dans nos conditions d'utilisation. Les SupelMIP Triazine retiennent certes l'atrazine mais également d'autres pesticides comme le diazinon ainsi que des produits pharmaceutiques comme le diclofénac, le sulfaméthoxazole, l'ibuprofène et la carbamazépine. De même, les SupelMIP NSAID retiennent l'ibuprofène et le diclofénac capturent également d'autres produits pharmaceutiques le mais comme sulfaméthoxazole ainsi que des pesticides comme l'atrazine et le diazinon. Ces résultats sont liés aux interactions non polaires et ioniques qui peuvent se produire à la surface de la cavité des cartouches PEMs (Tableau 23).

La phase Strata-SAX, uniquement composée d'un ammonium quaternaire, permet une liaison électrostatique avec des molécules anioniques (ibuprofène, sulfaméthoxazole, diclofénac) (Tableau 23 et Figure 38 A).

2.1.2.2. Influence de la modification du pH sur la rétention des molécules anioniques

 \bigcirc

L'efficacité de la phase Strata-SAX a été confirmée par l'étude de l'effet du pH sur la rétention. Les solutions ont été acidifiées afin d'obtenir des conditions de pH inférieur au pKa des substances testées. Le Tableau 24 illustre la rétention de cette phase à pH 3 et pH 6,2, (extrait du Tableau 2) démontrant sa spécificité pour les composés anioniques. A pH 3, le diclofénac, l'ibuprofène et le sulfaméthoxazole ne sont pas retenus par la phase solide Strata-SAX mais le sont à pH 6,2 (Tableau 24).



Ibuprofène

Tableau 24 : Effet du pH sur la rétention sur la phase solide Strata-SAX (les pourcentages de rétention sont représentés par des cercles : O : < 25%; $\bigcirc >75\%$)

2.1.3. Sélection de 2 phases solides

Il apparait ainsi que pour l'ensemble des phases solides étudiées, un manque de spécificité a été mis en évidence, et ce, contrairement aux spécifications commerciales.

Ce défaut de spécificité, s'il n'est pas généralement considéré comme un inconvénient en analyse chimique, notamment lorsque la SPE est couplée à la chromatographie, est relativement critique dans le cadre du développement de la MSP2E. En effet, la détection étant réalisée par spectrophotométrie UV, l'étape d'extraction se doit d'être la plus spécifique possible afin de simplifier l'analyse. Comme indiqué précédemment, l'extraction sur phases solides est utilisée au niveau de la MSP2E non seulement comme un outil de préconcentration, mais également de séparation. Le choix et le couplage des phases solides deviennent alors primordiaux.

A l'issue de ces premiers résultats de rétention, notre choix s'est donc porté pour une première étape sur la phase Strata-SAX qui a montré de bonnes performances pour la rétention des anions tout en étant inerte aux molécules neutres et cationiques. Par contre, cette phase retient également les anions inorganiques. Ainsi, Otosaka et al. (2011) et Zhang et al. (2010) ont utilisé la cartouche Strata-SAX pour éliminer les interférents anioniques inorganiques et organiques avant l'extraction de composés iodés dans l'eau. Rasmussen et al. (2012) ont sélectionné cette cartouche de manière à séparer l'arsenic inorganique des autres types d'arsenic dans l'eau.

Dans notre cas, la capacité de rétention des anions inorganiques pour la cartouche Strata-SAX a été évaluée suite à la percolation de solutions de nitrates à différentes concentrations (entre 12,4 et 37,2 mg/L) (Figure 39).



Figure 39 : Pourcentage de rétention en fonction de la concentration en nitrates sur la cartouche Strata-SAX

La rétention des nitrates sur la cartouche Strata-SAX est supérieure à 90% pour les concentrations supérieures à 25 mg/L. Pour les concentrations inférieures, le pourcentage de rétention diminue (Figure 39).

La phase Strata-SAX retenant les anions organiques et inorganiques, les conséquences de cette double rétention devront être évaluées lors d'essais sur des matrices réelles.

Le second choix s'est porté sur une phase dite universelle, pour la rétention des molécules neutres et cationiques. Selon le Tableau 23, il existe plusieurs possibilités : les phases LiChrolut-EN, Strata-X, Sep-Pak Plus PS2 et Oasis-HLB. La phase Sep-Pak Plus PS2 n'a été décrite que dans une seule application de détection de pesticides dans l'eau (Nhung et al., 2009). La phase LiChrolut-EN a montré dans des travaux antérieurs des performances inférieures par comparaison avec les phases Oasis-HLB ou Strata-X, soit en termes de rendement d'extraction plus faible (Carabias-Martinez et al. (2004) pour certains perturbateurs endocriniens, D'Archivio et al. (2007) pour une série de pesticides), soit en termes de défaut de rétention (Carabias-Martinez et al. (2004)). Par contre, concernant les phases Oasis-HLB et Strata-X, peu de différences d'efficacité ont été décrites (Ordonez et al., 2012). Notre choix final s'est porté sur la phase Oasis-HLB pour des raisons de disponibilité au laboratoire.

Ainsi, la méthode MPS2E met en œuvre 2 phases solides SPE, Strata-SAX et Oasis-HLB, en série, respectivement pour la rétention des anions sur la première et des composés cationiques et neutres sur la deuxième (Figure 40).



Figure 40 : Phases solides de la procédure d'extraction et de séparation

2.1.4. Etude de la confection manuelle des cartouches

Les contraintes relatives à l'appareillage ont nécessité la confection manuelle des cartouches contenant les phases solides, les différents formats des cartouches commerciales ne pouvant s'adapter.

Ces contraintes concernent (Figure 41):

- la hauteur maximale de phase admise dans chacune des cartouches pour s'adapter au bloc de concentration
- une hauteur de phase équivalente dans les 2 cartouches pour limiter au maximum le déplacement de celle-ci lors de la percolation des échantillons et des élutions. Le serrage des vis placées au niveau du bloc de concentration permettent de limiter ce déplacement.



Figure 41 : Photo et dimensions du bloc de concentration avec les cartouches Strata-SAX et Oasis-HLB

La fabrication des cartouches a été caractérisée afin de s'assurer de la reproductibilité de leurs performances. Dans les Tableau 25 et Tableau 26 sont reportées les variations de la qualité des cartouches fabriquées (la différence de masse est liée à la différence de taille des particules : 50 µm pour la Strata-SAX et 60 µm pour l'Oasis-HLB) et du diamètre des pores (65 Å pour la Strata-SAX et 80 Å pour l'Oasis-HLB).

solide des cartouches (mg)

Tableau 25 : Etude de la masse de la phase Tableau 26 : Etude du tassage de la phase solide lors du placement sur le concentrateur (cm)

	Strata- SAX	Oasis- HLB		Strata- SAX	Oasis- HLB
Moyenne	300,1	200,1	Moyenne	2,6	2,9
Ecart-type	0,5	0,5	Ecart-type	0,0	0,1
RSD (%)	0,2	0,2	RSD (%)	0	2
Nombre de cartouches	282	273	Nombre de cartouches	45	38

Une très faible variation de masse et de tassage a pu être observée (respectivement inférieure à 2‰ et 2%). Une variation massique de 2‰ a également été observée à partir de la pesée de 20 cartouches commerciales Oasis-HLB Plus (Waters). L'ensemble de ces données conforte le caractère répétable et reproductible de la méthode mise en place pour le conditionnement des phases (Partie 2 §4.1.3).

2.2. Choix des éluants

Dans nos conditions d'utilisation (emploi du concentrateur ou de l'analyseur, détection par spectrophotométrie UV), un éluant optimal est défini comme étant un éluant n'absorbant pas ou très faiblement en UV, permettant l'extraction de plusieurs molécules avec un pourcentage d'extraction supérieur à 70% et ne gênant pas l'utilisation du concentrateur et de l'analyseur. Le pourcentage d'extraction est déterminé en prenant en compte l'ensemble des étapes d'extraction sur phase solide c'est-à-dire la rétention et l'élution.

L'extraction repose d'une part sur l'interaction de la molécule avec la phase solide et d'autre part, sur l'élution avec des éluants dont le choix repose sur les propriétés physico-chimiques des molécules.

2.2.1. Pré-sélection des solvants

Une revue de la littérature a permis d'identifier les solvants les plus souvent considérés lors d'une extraction sur phase solide (SPE) :

- l'acétonitrile pour l'extraction :
 - ✓ de pesticides (Wells et Yu, 2000 ; Pico et al., 2007)
 - ✓ de HAP (Marcé et Borrull, 2000)
 - ✓ de produits pharmaceutiques (Petrovic et al., 2005)
- le méthanol pour l'extraction :
 - ✓ de pesticides (Wells et Yu, 2000 ; Pico et al., 2007)
 - ✓ de HAP (Marcé et Borrull, 2000)
 - ✓ de produits pharmaceutiques (Löffler et Ternes, 2003 ; Petrovic et al., 2005)
- le dichlorométhane pour l'extraction :
 - ✓ de pesticides (Wells et Yu, 2000 ; Pico et al., 2007)
 - ✓ de HAP (Marcé et Borrull, 2000)
- l'acétone pour l'extraction :
 - ✓ de HAP (Marcé et Borrull, 2000)
 - ✓ de produits pharmaceutiques (Löffler et Ternes, 2003 ; Petrovic et al., 2005)
- l'acétate d'éthyle pour l'extraction :
 - ✓ de pesticides (Pico et al., 2007)
 - ✓ de HAP (Marcé et Borrull, 2000)
 - ✓ de produits pharmaceutiques (Löffler et Ternes, 2003 ; Petrovic et al., 2005)
- l'hexane pour l'extraction :
 - ✓ de pesticides (Pico et al., 2007)
 - ✓ de HAP (Marcé et Borrull, 2000)
- l'isopropanol pour l'extraction :
 - ✓ de HAP (Marcé et Borrull, 2000)

2.2.1.1. Détermination expérimentale des « cut-off »

A partir de cette pré-sélection, le choix des éluants possibles est dicté par des contraintes opératoires et matérielles, au premier rang desquelles sont retrouvées les propriétés spectrales des solvants puisque le moyen de détection utilisé est la spectrophotométrie UV. Certains solvants présentent une absorbance importante entre 200 et 400 nm ce qui peut gêner la détection des substances. La longueur d'onde du « cut-off » du solvant indique la longueur d'onde la plus faible à laquelle un détecteur UV peut être utilisé sans interférer avec la détection des molécules d'intérêt. Expérimentalement, le « cut-off » est la longueur d'onde à partir de laquelle l'absorbance du spectre UV, acquis dans de l'eau ultra pure (EUP) avec une cuve de trajet optique de 10 mm, est inférieure ou égale à 1 unité d'absorbance (u.a.). Afin de pouvoir détecter les molécules d'intérêt sans qu'elles soient masquées par l'interférence du solvant, un « cut-off » à 210 nm a été arbitrairement défini comme limite.

La Figure 42 propose les « cut-off » déterminés expérimentalement pour les différents solvants proposés précédemment en réalisant l'acquisition des spectres sur un spectrophotomètre de laboratoire avec un trajet optique de 10 mm (Tableau 20 - Partie 2 §4.3.2.3.).



Figure 42 : Longueurs d'onde des « cut-off » des différents solvants testés

La Figure 42 montre que le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et l'acétone présentent des « cut-off » supérieurs à 210 nm, ils sont respectivement de 230, 253 et 328 nm. Les solvants utilisables dans nos conditions de détection (spectrophotométrie UV) sont donc l'EUP, l'acétonitrile, l'hexane, le cyclohexane, le méthanol, et l'isopropanol.

2.2.1.2. Miscibilité et viscosité des solvants

La possibilité de gradient, c'est-à-dire un mélange de plusieurs solvants à des concentrations variables pendant la séquence, doit être préservée pour permettre de meilleures séparations. En effet, l'utilisation d'un gradient peut permettre d'ajuster le pouvoir d'élution des éluants.

Cependant, comme présenté précédemment, le nombre de solvants utilisables est limité à la capacité des appareillages développés et plus précisément au nombre de voies disponibles pour les solvants ou éluants (5 dans le cas du concentrateur et 3 dans le cas de l'analyseur). Ainsi, une priorité a été portée sur des solvants présentant un « cut-off » inférieur à 210 nm et des compatibilités de miscibilité (Figure 43). La Figure 43 présente les solvants préalablement sélectionnés, leur miscibilité les uns par rapport aux autres ainsi que leur indice de polarité. L'indice de polarité de Snyder est basé sur la mesure de solubilité de chacun des solvants dans 3 solvants (Reich et Schibli, 2006) :

- Le dioxane (accepteur de proton, moment dipolaire faible)
- Le nitrométhane (accepteur de proton, moment dipolaire élevé)
- L'éthanol (donneur de proton, moment dipolaire élevé)

Plus l'indice de polarité est faible, plus le solvant est apolaire et plus il est adapté pour éluer des phases SPE les molécules apolaires (log P élevé).



Figure 43 : Miscibilité, viscosité et polarité des solvants choisis (d'après Sadek, 2002). Les solvants présentant un « cut-off » supérieur à 210 nm sont écrits en gris.

L'absence de miscibilité du cyclohexane et de l'hexane avec l'EUP ne satisfait pas aux exigences précisées ci-avant.

Enfin, afin de ne pas contrarier le circuit hydraulique et le passage dans les différents modules et tuyaux de l'analyseur, les solvants trop visqueux ont été écartés.

Lors d'analyses HPLC, des solvants avec une viscosité inférieure ou égale à $1,00 \times 10^{-3}$ Pa.s sont privilégiés (Snyder et al., 2012). Ainsi, dans le développement de la

méthode MSP2E, un solvant est défini comme trop visqueux lorsque sa viscosité est supérieur à $1,00 \times 10^{-3}$ Pa.s : l'isopropanol possède une viscosité de $2,30 \times 10^{-3}$ Pa.s.

Ainsi, en tenant compte des « cut-off », de la miscibilité et de la viscosité des solvants, le choix s'est porté en priorité sur l'utilisation des solvants suivants : l'eau ultra pure (EUP), l'acétonitrile (ACN), et le méthanol (MeOH) seuls ou en mélange.

2.2.2. Détermination des éluants optimaux

Les éluants optimaux, définis comme étant des mélanges des 3 solvants sélectionnés et permettant l'élution des molécules avec un pourcentage d'extraction supérieur à 70%, ont été déterminés à partir d'une étude sur 5 molécules modèles (M1 à M5 présentées dans le Tableau 27). Ces molécules modèles sont représentatives de l'ensemble des molécules étudiées : 2 molécules anioniques à pH 6,2 (M1 et M2) ; 3 molécules neutres à pH 6,2 (M3, M4 et M5) ; diversité des log P (Tableau 27 – de -0,07 pour M3 à 4,51 pour M1). Les éluants ont ensuite été validés sur l'ensemble des molécules de l'étude (84 molécules). Les deux molécules anioniques à pH 6,2 (M1 et M2) sont retenues sur la cartouche Strata-SAX. Les 3 autres molécules (M3, M4 et M5) percolent à travers la cartouche Strata-SAX sans être retenues mais le sont sur la cartouche Oasis-HLB.

		рКа	log P	λ _{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
Strata-SAX 300	mg				
	M1 (Sel de diclofénac)	4,2	4,06 ou 4,51	1.276	1. (1,05 ± 0,02) × 10^4
С	M2 (Ibuprofène)	4,4	3,79-3,97	1.221	1. (8,7 ± 0,4) × 10^3
Oasis HLB 200	mg				
	M3 (Caféine)	0,73	-0,07 ; - 0,13	1. 205 2. 273	1. $(2,43 \pm 0,02) \times 10^4$ 2. $(8,96 \pm 0,09) \times 10^3$
	M4 (Carbamazépine)	13,9	2,25-2,45	1. 221 2. 285	1. $(2,87 \pm 0,06) \times 10^4$ 2. $(1,17 \pm 0,01) \times 10^4$
	M5 (Atrazine)	1,7	2,2-2,82	1. 222 2. 264	1. $(3,73 \pm 0,06) \times 10^4$ 2. $(3,5 \pm 0,1) \times 10^3$

Tableau 27 : Présentation des 5 molécules modèles

La rétention des molécules sur les deux cartouches utilisées est due pour la première (Strata-SAX) à des interactions électrostatiques et pour la seconde (Oasis-HLB) à des

interactions majoritairement hydrophiles/hydrophobes. Dans le développement de la méthode MSP2E, la détermination des éluants pour chacune des deux cartouches doit permettre de casser ces interactions de manière fragmentée afin de récupérer des fractions caractéristiques des types de molécules.

2.2.2.1. Eluants optimaux de la phase Oasis-HLB

De part la structure de la phase Oasis-HLB (Figure 38 - F), une phase mobile polaire est nécessaire pour extraire les composés retenus. Plus un analyte est apolaire, plus il sera retenu sur la phase et plus la polarité de l'éluant devra être faible. A l'inverse, plus un analyte est polaire, plus il sera entraîné rapidement par la phase mobile. Afin de réaliser une séparation fractionnée, le log P des molécules a particulièrement été considéré. Ainsi, un gradient d'élution permettant dans un premier temps l'élution des molécules les plus polaires (log P<1) puis dans un deuxième temps des molécules moyennement polaires (1<log P<4) a été mis en place.

Cette étape de caractérisation des éluants optimaux a été réalisée dans un premier temps manuellement en concentrant 10 mL d'EUP dopée avec un composé d'intérêt (1 mg/L) sur la cartouche adaptée puis elle a été validée sur le concentrateur et l'analyseur. La Figure 44 présente les résultats obtenus avec l'analyseur (permettant une détection automatisée) : 10 mL ont été percolés sur une cartouche Oasis-HLB et 4 élutions successives de 2 mL ont été réalisées pour chaque éluant. Ce protocole a été répété pour des éluants ACN/EUP dont la composition en ACN a varié entre 5 et 100% et pour chacune des 3 molécules modèles, M3, M4 et M5, retenues par la cartouche Oasis-HLB.



Figure 44 : % d'extraction des molécules modèles M3, M4 et M5 dans chacune des fractions d'élution E1, E2, E3, et E4 avec les écart-types pour chacune des fractions d'élution (n=3) et pour des éluants ACN/EUP contenant de 5 à 100% d'acétonitrile (ACN)

La Figure 44 montre que le mélange d'ACN et d'EUP a permis d'éluer les composés polaires et moyennement polaires de la phase Oasis-HLB.

Un gradient de polarité d'ACN et d'EUP a mis en évidence une élution fractionnée des 3 molécules M3, M4 et M5. Ainsi, M3 dont la polarité est la plus faible (log P entre -0,13 et -0,07) présente un pourcentage d'extraction de l'ordre de 90% dés la première élution avec un éluant composé d'au moins 20% d'ACN (Figure 44). Si l'éluant a une plus faible proportion d'ACN, plusieurs fractions, jusqu'à 3, sont alors nécessaires pour éluer M3 avec un pourcentage d'extraction compris entre 40 et 90%.

En ce qui concerne les molécules de polarité moyenne M4 et M5 (log P compris entre 2,2 et 2,8), un éluant composé de 30% d'ACN permet de les éluer avec un pourcentage d'extraction compris entre 80 et 90% mais ce à partir de la seconde élution. A partir de 70% d'ACN, une seule fraction d'élution est nécessaire pour obtenir un pourcentage d'extraction supérieur à 90%.

Ainsi, deux éluants sont suffisants pour séparer une majorité des molécules neutres et cationiques :

- le premier est constitué de 30% d'ACN et de 70% d'EUP et permet l'élution des composés très polaires (log P<1),
- le second est constitué de 70% d'ACN et de 30% d'EUP et permet l'élution des composés moyennement polaires (1<log P<4).

2.2.2.2. Eluants optimaux de la phase Strata-SAX

Concernant la cartouche Strata-SAX, les interactions électrostatiques entre la phase solide chargée positivement et les molécules anioniques permettent la rétention des 2 molécules M1 et M2. Afin d'éluer les composés retenus, plusieurs stratégies sont envisagées :

- la protonation des molécules par un éluant acidifié permettant de se placer en-dessous du pKa des molécules (4,2 et 4,4),
- la modification de l'interaction par la compétition avec des contre-ions plus affins. Pour cela, un éluant présentant une force ionique suffisante peut être employé.

Les deux essais ont été menés à partir de la percolation de solutions de 10 mL de M1 et M2 (1 mg/L) suivie de 3 élutions successives de 2 mL pour chacun des éluants testés, et ce, pour au moins l'une des deux molécules. Au total, 31 éluants ont été testés parmi lesquels des solvants seuls et des mélanges de solvants avec une variation de l'acidité ou de la force ionique de l'éluant.

• Elution par protonation des molécules

La protonation des molécules a été effectuée par l'ajout d'un acide à un éluant composé d'ACN, de MeOH et/ou d'EUP de manière à obtenir des éluants à des pH relativement faibles (pH<2,5), pH inférieur au pKa des molécules.

Les Figure 45, Figure 46 et Figure 47 présentent les résultats de chacune des 3 élutions de la molécule M1 obtenues après acidification des éluants avec respectivement des acides forts (acide chlorhydrique (HCl) et acide sulfurique (H_2SO_4)) et avec un acide faible (acide formique, HCOOH).

Sur chaque figure, l'allure du spectre UV de chacune des élutions (E1, E2 et E3) ainsi que le spectre de référence attendu (spectre UV de la molécule dans le mélange considéré, concentration à 5 mg/L-Réf) sont représentés.



Figure 45 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé d'acide chlorhydrique (HCl) et/ou de méthanol (MeOH) pour l'extraction de la molécule M1. Les flèches précisent les endroits où les spectres des élutions sont modifiés par rapport à celui de référence.

L'utilisation du mélange MeOH/HCl 1 M ou 0,1 M comme éluant se traduit par la modification du spectre UV (Figure 45-A et B). Cette modification est plus importante lors de l'utilisation de la solution d'acide la plus concentrée (Figure 45-B). L'emploi d'acide 0,1 M (déformation du signal, Figure 45-C) seul permet de montrer que les déformations observées sont probablement liées à une altération ou un relargage de la phase solide par HCl.

Le méthanol n'a également pas permis l'élution de la molécule M2 (Figure 45-D).

En présence d'acide sulfurique (H_2SO_4) 1 M ou 0,1 M et de MeOH ou d'ACN, le spectre est également modifié (Figure 46).



Elution faible

Figure 46 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé d'acide sulfurique (H2SO4) et de méthanol (MeOH) ou d'acétonitrile (ACN) pour l'extraction de la molécule M1. Les flèches précisent les endroits où les spectres des élutions sont modifiés par rapport à celui de référence.

Comme précédemment évoqué, les modifications de l'allure des spectres (Figure 46-B, D et E) et surtout l'apparition de pics (Figure 46-A et F) peuvent être liées à un relargage de la phase solide en présence de l' H_2SO_4 à 0,1 M ou 1 M. L'apparition des pics peut être en faveur d'une interaction plus importante entre la phase solide et cet acide qu'entre la phase solide et l'HCl. Le mélange MeOH/H₂SO₄ 0,1 M (V/V) a également été testé pour l'élution de la molécule M2 sans permettre son élution mais avec une modification des spectres d'élution.

L'emploi d'ACN (Figure 46-G) seul élue très faiblement M1 sans modification des spectres d'élution, ce qui permet de montrer que les modifications des signaux observés sont très probablement liées à une altération ou un relargage de la phase solide par H_2SO_4 .

A une concentration plus faible (0,1 M), cet acide peut cependant éluer faiblement le composé d'intérêt sans modification du spectre et donc sans relargage de la phase (Figure 46-C) contrairement à l'emploi d'HCl.

Enfin, l'acide formique (HCOOH) en présence de MeOH ou d'ACN va soit ne pas permettre l'élution (Figure 47-A), soit éluer très faiblement la molécule d'intérêt (Figure 47-B et C) sans modification du spectre. Cette absence de modification quelle que soit la concentration de HCOOH peut s'expliquer par sa force plus faible que celle de HCl et de H_2SO_4 .



Figure 47 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé d'acide formique (HCOOH) et de méthanol (MeOH) ou d'acétonitrile (ACN) ou d'isopropanol pour l'extraction de la molécule M1.

Bien que recommandé par le fournisseur de la phase solide Strata-SAX, l'isopropanol en présence de HCOOH ne permet qu'une extraction faible voire nulle (Figure 47 D à G).

En complément, la protonation de molécules anioniques via l'utilisation d'un acide (l'acide citrique - $C_6H_8O_7$ - a également été testé sans résultats probants) ne permet pas de casser l'interaction électrostatique établie avec la phase solide Strata-SAX et donc ne permet pas une élution significative des molécules d'intérêts. L'élution des molécules d'intérêt M1 et M2 avec des éluants acidifiés ne donne pas satisfaction. La seconde stratégie consistant au changement de la force ionique de l'éluant a donc été considérée.

• Elution par modification de la force ionique de l'éluant

La seconde stratégie est basée sur la mise en compétition des molécules anioniques avec un contre-ion apporté par l'éluant. La présence d'un anion ayant une affinité pour la phase solide supérieure à celle de la molécule d'intérêt va permettre d'éluer cette molécule de la phase solide. Le chlorure de sodium (NaCl) à 0,1 M (Figure 49) et 1 M (Figure 48) a été choisi pour modifier la force ionique des éluants dans le cas de l'élution des molécules M1 et M2.



Figure 48 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé de méthanol (MeOH) et de chlorure de sodium 1 M (NaCl) pour l'extraction des molécules M1 et M2. Les flèches précisent les endroits où les spectres des élutions sont modifiés par rapport à celui de référence.

L'étude de la Figure 48-A montre qu'en présence de NaCl à 1 M, une modification du signal (effet hypochrome : diminution de l'intensité d'absorption par rapport au spectre de référence (Eagleson, 1994)) entre 200 et 210 nm ainsi qu'un déplacement du signal au niveau de la longueur d'onde d'absorbance maximale (279 nm) (effet hypsochrome : déplacement du spectre vers les longueurs d'ondes plus courtes par rapport au spectre de référence (Eagleson, 1994)) ont été observés lors de l'élution de la molécule M1.

En ce qui concerne l'élution de M2, une modification du signal est observée entre 200 et 210 nm mais au niveau de la longueur d'onde d'absorbance maximale (221 nm), l'absorbance de l'élution E1 est relativement identique à celle du spectre de référence (Figure 48 B et C).

En revanche, l'utilisation de NaCl 0,1 M pour éluer les molécules anioniques de la cartouche Strata-SAX est plus efficace et permet une élution significative contrairement aux résultats précédemment obtenus avec la concentration à 1 M (déformation ou abattement du signal UV). La Figure 49 présente les spectres d'élution et de références en faisant varier le pourcentage volumique en NaCl 0,1 M de 10 à 80% dans le mélange MeOH/NaCl 0,1 M.







2 élutions : % d'extraction : 65% et 15%



2 élutions : % d'extraction : 20% et 55%





3 élutions : % d'extraction : 17%, 37% et 60%



2 élutions : % d'extraction : 10% et 65%



2 élutions : % d'extraction : 30% et 60%



2 élutions : % d'extraction : 25% et 60% 2 élutions : % d'extraction : 25% et 55%

Figure 49 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé de méthanol (MeOH) et de chlorure de sodium 0,1 M (NaCl) pour l'extraction des molécules M1 et M2





2 élutions : % d'extraction : 80% et 15%

Figure 49 : Spectres UV des fractions d'élution E1, E2, et E3, et spectre UV de référence (Réf) dans l'éluant considéré composé de méthanol (MeOH) et de chlorure de sodium 0,1 M (NaCl) pour l'extraction des molécules M1 et M2 (fin)

Avec des proportions différentes de NaCl 0,1 M, plusieurs comportements sont possibles :

- Absence d'élution (Figure 49 A).
- Elution sur une ou plusieurs fractions (Figure 49 B à H ; Figure 49-I à O).
- Modification du signal entre 200 et 210 nm (Figure 49 I, J et N).

Plus précisément, en considérant les pourcentages d'extraction des deux premières élutions (éluant : MeOH/NaCl 0,1 M (V/V)), les profils d'extraction pour les molécules M1 et M2 peuvent être schématisés (Figure 50).



Figure 50 : Profil d'extraction de M1 et M2 lors de l'emploi de l'éluant MeOH/NaCl 0,1 M (V/V)

Hormis pour le premier point (20 % NaCl 0,1 M dans l'éluant MeOH/NaCl 0,1 M (V/V)), les deux profils obtenus sont relativement similaires (Figure 50). Ils présentent tous deux un palier (à 80% d'extraction pour M1 - Figure 49 C,D et E - et à 70% d'extraction pour M2 - Figure 49 J et K) puis atteignent un point culminant (à 90% d'extraction pour M1 - Figure 49 F - et à 100% d'extraction pour M2 - Figure 49 M) lors de l'utilisation de l'éluant 40/60 MeOH/NaCl 0,1 M (V/V).

L'éluant permettant une extraction optimale de M1 et M2 est composé de 40% de MeOH et de 60% de NaCl 0,1 M.

L'ensemble des éluants testés ainsi que les résultats obtenus sont répertoriés dans la Figure 51. Les résultats sont présentés pour :

- l'élution des molécules M1 et M2 avec des éluants composés d'acide ou de NaCl en présence d'ACN ou de MeOH ; de MeOH ou d'ACN,
- l'élution des molécules M3, M4 et M5 avec des éluants composés d'ACN et d'EUP.

	0/100		10/90		20/80)	30/70		40/60		50/50		60/40		70/30			80/20)	90/10			100/0						
ACN/EUP (V/V)									+/		+/	+/		+	+		+	+	1	+	+/-		+	+		+	+/-		+	+	
		+/-	+	+	+/-	+	+ +	+/-	+	+ ++	+/-	+	+ +	+ /+	+++	+ +	+ /+	+++	+ +	+ _+	+ /+	+ +	+ ++	+ +++	+ +	+++	+ /+	+ +	+++	+ _+	+ +
ACN/HCOOH (V/V)																					/			/			/				
MeOH/HCOOH (V/V)																											/-				
MeOH/C6H8O7 (V/V)																											/				
ACN/H2SO4 (V/V)																					/+			/+			/+				
MeOH/H2SO4 (V/V)																								/-			/-				
MeOH/HCI (V/V)	/-																							-/-			-/-		+	+/	
MeOH/NaCI (V/V)	+		+	1	/-	+	1	+ +	+ +		+++	+ +		+++	+++		+ +	+++	1	+++	+++		+	+ +		+	+				



Figure 51 : Résumé des tests des éluants

En conclusion, l'étape d'extraction de la méthode MSP2E comprend 2 phases solides SPE et 3 éluants, permettant la séparation de molécules selon leurs propriétés physicochimiques (Figure 52).



Figure 52 : Phases solides SPE et éluants sélectionnés pour la procédure de fractionnement

La procédure de fractionnement est donc résumée selon les étapes suivantes (Figure 52) :

- Rétention des molécules anioniques sur la phase Strata-SAX
 - ✓ Elution avec l'éluant 1 : 40/60 MeOH/NaCl 0,1 M (V/V)
- Rétention des molécules neutres et cationiques sur la phase Oasis-HLB
 - ✓ Elution des molécules polaires (log P<1) avec l'éluant 2 : 30/70 ACN/EUP (V/V)
 - ✓ Elution des molécules moyennement polaires (1<log P<4) avec l'éluant 3 : 70/30 ACN/EUP (V/V)

2.2.2.3. Choix des volumes minimaux d'élution

Les volumes minimaux d'élution, qui correspondent au volume minimal d'éluant nécessaire pour éluer une molécule d'intérêt avec un pourcentage d'extraction supérieur à 70%, ont été définis sur le concentrateur puis adaptés à l'analyseur. Le fractionnement via la méthode MSP2E a été réalisé grâce à des solutions de 100 mL à 100 µg/L de chacune des 5 molécules modèles (M1, M2, M3, M4 et M5) percolées sur une cartouche Strata-SAX puis sur une cartouche Oasis-HLB.

Des tests d'élution ont été réalisés en triplicat sur chacune des molécules avec une série de 12 fractions d'élution successives de 500 μ L.

La cartouche Strata-SAX a été éluée avec l'éluant 1 (40/60 MeOH/NaCl 0,1 M (V/V)) et la cartouche Oasis-HLB a été éluée soit avec l'éluant 2 (30/70 ACN/EUP (V/V)) soit avec l'éluant 3 (70/30 ACN/EUP (V/V)).

Les fractions collectées sont analysées par spectrophotométrie UV afin de déterminer quelles sont les fractions dans lesquelles l'une des 5 molécules modèles est éluée. Connaître le nombre de fractions d'élution nécessaires pour éluer la molécule ainsi que la fraction dans laquelle l'élution débute permet de déterminer approximativement les bornes inférieures et supérieures d'élution pour chacune des molécules. Les bornes d'élution ont ensuite été affinées grâce à des volumes d'élution de plus en plus importants jusqu'à déterminer le volume d'élution permettant une élution optimale de chacune des molécules. En ce qui concerne l'élution de la cartouche Oasis-HLB qui est la succession de deux éluants, seul le volume minimal d'élution de M3 a été déterminé avec l'éluant 30/70 ACN/EUP (V/V). Il a alors été vérifié que les molécules M4 et M5 n'étaient pas éluées dans cette fraction avant de procéder à leur élution avec l'éluant 70/30 ACN/EUP (V/V).

La démarche et les volumes obtenus pour le concentrateur sont présentés en Annexe 8. Les volumes d'élution déterminés pour le concentrateur ont été adaptés à l'analyseur en prenant en compte les contraintes de celui-ci (volume mort des tuyaux, volume maximal de la cuve de récupération).

Les différentes fractions d'élution notées A1 et A2 pour la cartouche Strata-SAX et notées E1, E2, E3 et E4 pour la cartouche Oasis-HLB ont pour volume :

- A1 : 1,1 mL et A2 : 4 mL de l'éluant 1 (40/60 MeOH/NaCl 0,1 M (V/V))
- E1 : 1 mL et E2 : 1,9 mL de l'éluant 2 (30/70 ACN/EUP (V/V))
- E3 : 2,5 mL et E4 : 2 mL de l'éluant 3 (70/30 ACN/EUP (V/V))

Les molécules M1 et M2 sont éluées dans A1. La molécule M3 est éluée dans E1 et les molécules M4 et M5 sont éluées dans E3. Les fractions A2, E2 et E4 ont été rajoutées dans l'optique d'optimiser la séparation de l'ensemble des molécules du projet.

Ainsi, le fractionnement de la méthode MSP2E consiste donc à :

- superposer 2 phases solides SPE, la phase Strata-SAX et la phase Oasis-HLB, permettant de séparer les molécules selon leur charge
- utiliser 3 éluants répartis en 6 fractions (2 par éluant donc 2 sur la phase Strata-SAX et 4 sur la phase Oasis-HLB) permettant d'extraire les molécules selon leur log P et leur charge (Figure 53). Deux fractions d'élution sont présentes par élution afin d'augmenter le fractionnement des molécules. Certaines molécules ont besoin d'un volume moins important que d'autres et vont donc être éluées uniquement dans la première des deux fractions composées du même éluant.



Figure 53 : Procédure de fractionnement
2.3. Approche prédictive

Comme il a été montré précédemment, l'étape d'extraction de la méthode MSP2E permet l'obtention de 6 fractions d'élution avec des compositions caractéristiques (relatives à celles des éluants). Plus précisément, le protocole permet de répartir les composés organiques dans ces fractions en fonction de leurs propriétés physicochimiques, en particulier la charge et le log P. A l'inverse, selon ces propriétés, il est possible de prédire dans quelle fraction tel ou tel composé est censé être élué.

Cette approche prédictive est donc basée principalement sur l'affinité des substances avec :

- la phase solide : rétention des anions sur la phase Strata-SAX et rétention des cations et des neutres sur l'Oasis-HLB,
- l'éluant : élution des molécules retenues sur la phase Oasis-HLB en fonction du log P.

2.3.1. Choix du log P

Une revue de la littérature a permis de répertorier les log P pour chacune des molécules étudiées. Cependant, les valeurs disponibles dans la littérature (Annexe 6) sont soit calculées via des algorithmes principalement basés sur la structure de la molécule (Petrauskas et Kolovanov, 2000), soit établies expérimentalement par exemple par la méthode du flacon agité (OCDE-107, 1995), la méthode HPLC (OCDE-117, 2004) ou la méthode du brassage lent (OECD-123, 2006) préconisées par l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques).

Parfois dans la littérature, la nature du log P (calculé ou mesuré) n'est pas indiquée.

Dans un but d'homogénéité des valeurs, les log P des molécules d'intérêt ont tous été calculés à l'aide du logiciel libre Chemsketch. Ce logiciel fournit une prédiction de la valeur du log P, X, de chacune des substances avec une valeur d'incertitude, Y $(logP=X\pm Y)$.

Une régression linéaire effectuée avec le logiciel libre R (2.15.2) a permis de comparer ces valeurs calculées et les valeurs de la littérature pour les 84 molécules d'intérêt.

Trois valeurs de log P ont été considérées pour établir la régression, les valeurs minimales et maximales des log P répertoriées dans la littérature et la valeur calculée à l'aide du logiciel Chemsketch (Figure 54).



Figure 54 : Régression linéaire réalisée entre les valeurs minimales et maximales de la littérature et calculées des log P (p-valeur : «***» ($\alpha < 0,1\%$) ; «**» ($0,1\% \le \alpha < 1\%$) ; «*» ($1\% \le \alpha < 5\%$) ; «.» ($5\% \le \alpha < 10\%$) ; «» ($\alpha > 10\%$))

Les résultats présentés Figure 54 montrent qu'il existe une relation linéaire entre les valeurs de log P répertoriées dans la littérature et celles calculées. En effet, les coefficients de corrélation linéaire sont compris entre 0,95 et 0,98. De plus, les p-valeurs α (de 0,1 à 10%) sont toutes inférieures à 0,1%. Ainsi, pour la suite de l'étude, les valeurs de log P calculées ont été considérées.

2.3.2. Approche prédictive sur 44 molécules

L'approche prédictive a dans un premier temps été testée sur 44 molécules (21 pesticides, 14 produits pharmaceutiques et d'hygiène corporelle (PPCP) et 9 molécules autres telles que les HAPs et les phtalates (Tableau 28) de manière individuelle, via la méthode MSP2E.

Pesticides (21 molécules)									
2,4 D*	Diazinon	Hexazinone	Paraquat						
2-nitrophénol	Dichlorprop*	Isoproturon	Parathion						
Alachlore	Dinoterbe	Linuron	Simazine						
Atrazine	Diquat	Métazachlore	Terbuthylazine						
Carbaryl	Diuron	Métolachlore	Terbutryne						
Chlortoluron									
Produits pharmaceutiques et	Produits pharmaceutiques et d'hygiène corporelle (PPCP) (14 molécules)								
1,7α-éthinylestradiol	Caféine	Diclofénac*	Sulfaméthoxazole						
Acétaminophène	Carbamazépine	Ibuprofène*	Triméthoprime						
Acide clofibrique*	Ciprofloxacine	Méthylparaben	Warfarine*						
Aténolol	Diatrizoate*								
Divers (9 molécules)									
4,4'-diaminophénylméthane	Bisphénol A	Diéthylhexylphtalate	m-Toluidine						
4-nonylphénol	Dibutylphtalate	Fluorène	Naphtalène						
Acénaphtène									

Tableau 28 : Molécules percolées individuellement pour tester l'approche prédictive (* : molécules anioniques)

Pour cette étude, les molécules sont percolées individuellement à l'aide de l'analyseur sur les deux phases solides (positionnées en série) selon deux conditions opératoires : 100 mL à 50 µg/L et 10 mL à 500 µg/L. Ces concentrations ont été choisies de manière à avoir un spectre UV avec des valeurs d'absorbance suffisamment importantes (acquisition en cuve de 20 mm) quelle que soit la molécule étudiée et la fraction dans laquelle elle est éluée. Pour chaque molécule, les 6 fractions sont analysées. L'expérience avec 10 mL à 500 µg/L est réalisée de manière semi-automatisée alors que celle de 100 mL à 50 µg/L est réalisée de manière totalement automatisée. Plus précisément, lors de la première expérience, l'échantillon est analysé après passage sur la Strata-SAX puis après passage sur l'Oasis-HLB afin de vérifier si la molécule a été retenue par l'une des deux cartouches et si oui par laquelle et dans quelle proportion. L'expérience avec un échantillon de 100 mL permet quant à elle de se placer dans les conditions réelles avec une concentration du même ordre de grandeur de celle susceptible d'être retrouvée lors d'une pollution accidentelle ou intentionnelle.

2.3.2.1. Résultats obtenus pour la cartouche Strata-SAX

100% (n=7) des molécules anioniques étudiées ont été retenues sur la phase Strata-SAX. L'élution est variable d'une molécule à l'autre : 5 molécules, soit 71%, sont éluées uniquement dans la fraction A1; les 2 autres molécules ont besoin d'un volume complémentaire et sont retrouvées dans les fractions A1 et A2 (Figure 55). Les interactions entre la phase solide Strata-SAX et les molécules anioniques étant de nature électrostatique, le log P des molécules n'a pas d'influence sur l'élution, seul le pKa et le pH de l'échantillon va influencer leur rétention.



Figure 55 : Comportement de l'élution de la Strata-SAX

Le pKa des molécules ne semble pas influencer leur élution sur la cartouche Strata-SAX (Figure 55). En effet, par exemple la valeur du pKa relatif au diatrizoate et au dichlorprop est de 3,4. Or, le diatrizoate est élué dans les fractions A1 et A2 et le dichlorprop est seulement élué dans la fraction A1. Ainsi, le volume d'élution nécessaire pour éluer chacune des molécules doit être lié à la configuration et aux groupements des molécules.

2.3.2.2. Résultats obtenus pour la cartouche Oasis-HLB

Aucune molécule neutre ou cationique n'est retenue sur la cartouche Strata-SAX. Elles interagissent avec la deuxième phase polymérique Oasis-HLB. En considérant l'approche prédictive précédemment présentée, 37 molécules doivent être retenues sur la cartouche Oasis-HLB. Les résultats présentés dans la Figure 56 montrent que 92% de ces molécules (34 molécules) ont réellement été retenues. Et parmi les 34 molécules retenues, 88% (30 molécules) ont été éluées dans les fractions attendues, et donc 4 molécules n'ont pas été éluées.

		30	/70	70)/30	Solvant
Composé	Log P	E1	E2	E3	E4	ACN/EUP (V/V)
Caféine	-0,13±0,37]			-0,13
Acétaminophène	0,34±0,21]			
Ciprofloxacine	0,65±1,44					
Triméthoprime	0,79±0,38					
Sulfaméthoxazole pH 8	0,89±0,42]	
M-Toluidine	1,40±0,19]	
4,4'-diaminophénylméthane	1,64±0,22]	
2-nitrophénol	1,71±0,23]	
Hexazinone	1,85±0,40]	
Méthylparaben	1,86±0,22]	
Métazachlore	2,11±0,48]	
Simazine	2,28±0,20]	
Isoproturon	2,32±0,29]	
Carbaryl	2,40±0,19]	
Chlortoluron	2,46±0,31]	
Atrazine	2,63±0,21]	
Carbamazépine	2,67±0,38]	Log P
Diazinon	2,75±0,40]	
Diuron	2,78±0,33]	
Alachlore	2,92±0,41]	
Terbuthylazine	2,98±0,22]	
Métolachlore	3,00±0,41]	
Linuron	3,20±0,67]	
Dinoterbe	3,42±0,26					
Bisphénol A	3,43±0,23]	
Terbutryne	3,44±0,23]	
Naphtalène	3,45±0,16]	
Parathion	3,84±0,32					
1,7α-éthinylestradiol	4,04±0,31]	
Fluorène	4,16±0,25]	
Acénaphtène	4,19±0,20					
Dibutylphtalate	4,83±0,25]	
4-nonylphénol	5,64±0,21					
DEHP	8,71±0,26					8,71

Figure 56 : Comportement de l'élution de l'Oasis-HLB

Les 4 molécules n'ayant pas été éluées sont le dinoterb, l'acénaphtène, le 4-nonylphénol, et le DEHP qui présentent un caractère lipophile très prononcé (log P>4,2) et pour lesquelles les éluants considérés ne sont pas assez apolaires pour les décrocher (Figure 56). A noter que pour le dinoterb, il est cependant difficile de se prononcer car son log P calculé est de 3,42±0,26 alors qu'une valeur de 5,55 a été retrouvée dans la littérature, sans préciser si elle a été calculée ou mesurée (Lezamiz et Jönsson, 2007).

Par ailleurs, parmi les molécules éluées, 67% le sont dans la fraction E3 (Figure 56) et 23% sont éluées dans deux fractions. L'analyse UV devra donc être adaptée à ces

spécificités (élution dans plusieurs fractions et nombre de molécules importantes dans la fraction E3). En particulier, la fraction E3 nécessitera probablement l'utilisation d'une méthode multi-composants de traitement du signal telle que la déconvolution (Partie 2 §4.3.3.2). Mais dans le cas d'une pollution accidentelle où peu de contaminants sont attendus (maximum 2 ou 3 substances), l'analyse spectrale sera simplifiée.

Les 3 molécules non retenues sont l'aténolol, le diquat et le paraquat. Les deux dernières molécules sont cationiques et présentent des propriétés trop hydrophiles (logP<-4,5) ne permettant pas leur rétention sur la phase Oasis-HLB. En revanche, concernant l'aténolol (log P=0,10±0,28), les conditions opératoires (débit de percolation et d'élution ou cartouche fabriquée en laboratoire) semblent être à l'origine de la non rétention de cette substance sur l'Oasis-HLB. En effet, le même protocole manuel réalisé avec une cartouche commerciale permet une rétention importante du composé (> 90%) et un pourcentage d'extraction moyen (53%).

De manière générale, l'ensemble de ces résultats a permis de valider l'approche prédictive. Au total, 84% des molécules ont été retenues et éluées dans les fractions attendues, conformément à la prédiction.

De plus, les résultats obtenus sur la cartouche Oasis-HLB permettent de définir de manière plus fine les fractions d'élution en fonction du log P. En effet, lors d'une pollution accidentelle, si une ou plusieurs molécules inconnues sont retenues sur la cartouche Oasis-HLB, il serait alors possible de déterminer leur polarité selon la fraction dans laquelle elles sont éluées et de permettre ainsi une pré-identification (Figure 57).



Figure 57 : Schématisation de l'approche prédictive

Des élutions dans plusieurs fractions peuvent se produire notamment dans E2 et E3 (Figure 57). Cette élution dans plusieurs fractions peut permettre d'affiner un peu plus le fractionnement. En effet, si une substance est éluée dans ces deux fractions, cela peut orienter de manière plus précise vers le log P (entre 0,9 et 1,8) de la molécule cible.

2.4. Du concentrateur vers l'analyseur

Au cours de ce travail, le concentrateur permettant la préconcentration et le fractionnement de manière automatisée a été couplé à un détecteur UV pour évoluer vers un analyseur, développé par HOCER.

HOCER envisageant de déposer un brevet, certaines parties concernant la description et le fonctionnement de l'analyseur sont masquées volontairement en noir.

La Figure 26 (Partie 2 §4.3) récapitule les différentes étapes ayant permis la réalisation de l'analyseur à partir du système de pré-diagnostic terrain permettant d'obtenir des informations sur la qualité globale de l'eau :

- Développement d'un concentrateur par HOCER permettant de réaliser de manière semi-automatisée les étapes de préconcentration/fractionnement et d'élution (présence d'un opérateur pour récolter les élutions). Les spectres sont réalisés sur un spectrophotomètre de laboratoire (trajet optique 10 mm) (Partie 2 §4.3.2.3).
- Développement de l'analyseur par HOCER permettant de réaliser de manière automatisée l'ensemble des étapes (préconcentration/fractionnement, élution et analyse UV) avec une présence limitée d'un opérateur.
- Adaptation de l'analyseur développé en système (prototype) transportable sur le terrain (en cours).

Les axes d'amélioration ayant permis la mise en œuvre de l'analyseur à partir du concentrateur ont été :

- l'optimisation des séquences et des volumes d'élution
- la détection UV en ligne (la partie détection est reliée à la partie concentrateur et permet l'acquisition des spectres de manière automatisée).

2.4.1. Evolution de l'appareillage

L'appareillage consistant initialement en un concentrateur a évolué et une partie détection et analyse par spectrophotométrie UV a été ajoutée de manière à obtenir un analyseur. La Figure 58 montre les deux schémas hydrauliques (du concentrateur et de l'analyseur) adaptés à la méthodologie développée.



Schéma hydraulique du concentrateur



Schéma hydraulique de l'analyseur

Figure 58 : Schémas hydrauliques du concentrateur et de l'analyseur adaptés à la méthodologie employée

Au niveau de l'analyseur, l'ajout de la liaison entre la partie de préconcentration/séparation (concentrateur) et la partie détection (spectrophotomètre UV) ainsi que la voie de prélèvement d'échantillon après percolation sur la cartouche Strata-SAX permettent une automatisation complète du système.

De plus, la pompe à piston du concentrateur a été remplacée par une pompe (moins fragile). En effet, une pompe à piston est sensible aux chocs ce qui peut être un frein pour une utilisation sur le terrain.

(Figure 58). La

pompe de l'analyseur (1000 euros) est aussi économiquement plus intéressante que la pompe à piston du concentrateur (3000 euros).

Des modifications ont également été réalisées au niveau des vannes utilisées. En effet, les 5 vannes à 6 voies du concentrateur ont été substituées par des () électrovannes à 2 sorties pour l'analyseur (Figure 58). Ces électrovannes permettent de simplifier le système et sont économiquement plus avantageuses. Chaque électrovanne coûte environ 100 euros alors que le prix de chacune des vannes à 6 voies du concentrateur s'élève à 500 euros. Au final, le coût de l'ensemble des éléments de l'analyseur en considérant la partie concentrateur et la partie détection s'élève à environ 5000 euros sans considérer les consommables incluant les cartouches.

2.4.2. Protocole

2.4.2.1. Durée des procédures analytiques

L'ensemble de la procédure analytique en utilisant le concentrateur est approximativement de 2h00. L'estimation du temps pour une analyse sur le spectrophotomètre de laboratoire (comprenant la réalisation des blancs et des spectres) est de 20 min en considérant que le concentrateur est au laboratoire à proximité d'un spectrophotomètre UV.

La durée de la procédure sur l'analyseur est de 2h00. Ainsi, les deux procédures présentent des durées similaires (Figure 59). En cas d'urgence, lors d'un déplacement sur le terrain, l'analyseur présente l'avantage d'un résultat sur site sans avoir à prendre en considération le temps de transport jusqu'au laboratoire pour effectuer les mesures par spectrophotométrie UV.



Figure 59 : Comparaison et précision du temps de présence d'un opérateur lors de l'usage du concentrateur et de l'analyseur (P signifie présence d'un opérateur requise)

Avant le démarrage des séquences, la préparation de l'échantillon consiste à réaliser 2 filtrations successives (à 1,2 μ m puis à 0,45 μ m). La préparation du système comprend la mise en place des cartouches et l'approvisionnement en entrée du système des solvants et des éluants (Figure 59). Dans le cas du concentrateur, ce temps est légèrement plus long (environ 5 min supplémentaires)

. Le temps de présence

obligatoire d'un opérateur pendant toute la procédure analytique, de la préparation du système et de l'échantillon jusqu'à la fin de l'acquisition des spectres et des séquences est plus important en utilisant le concentrateur (1h20) qu'avec l'analyseur (20 min). L'utilisation du concentrateur nécessite la présence constante d'un opérateur afin de récupérer les fractions d'élution, de réaliser l'acquisition des spectres sur un spectrophotomètre de laboratoire et de déplacer l'échantillon après passage sur la cartouche Strata-SAX au niveau de la voie 3 de la vanne V3 permettant la percolation sur la cartouche Oasis-HLB.

2.4.2.2. Volumes de solvants nécessaires

L'évolution du protocole a aussi impliqué des modifications au niveau des volumes de solvants nécessaires et de déchets générés au cours d'une séquence. Le Tableau 29 met en évidence ces différences de volume.

	EUP (mL)	ACN (mL)	MeOH/ NaCl 0,1 M 40/60 (V/V) (mL)	Volume de déchets (mL)
Concentrateur	83	17	8	108
Analyseur	100	40	24	164

Tableau 29 : Evolution des volumes de solvants et de déchets générés

L'augmentation des volumes pour la réalisation d'une séquence avec l'analyseur est notamment liée à la partie détection qui engendre un rinçage, à l'aide des différents éluants, des tuyaux, de la cuve de récupération 2 ainsi que de la cuve de mesure afin d'éviter toute contamination des fractions d'élution. De plus, l'analyseur nécessite une étape d'amorçage.

L'amélioration du système a aussi impliqué une optimisation des volumes d'élution notamment liée au volume mort des tuyaux. Dans le cas de l'analyseur, ces volumes morts sont de 1,5 et de 1,9 mL respectivement pour la cartouche Strata-SAX et pour la cartouche Oasis-HLB alors que dans le cas du concentrateur ces volumes morts étaient seulement de 300 μ L. Cette différence est liée à la longueur des tuyaux, qui étaient plus courts dans le cas du concentrateur.

Les volumes utilisés pour le conditionnement, les rinçages et les élutions de la Strata-SAX et le volume d'échantillon pour la concentration de la cartouche Oasis-HLB sont identiques pour l'analyseur et pour le concentrateur. Par contre, le volume de concentration au niveau de la Strata-SAX est supérieur de manière à pouvoir rincer les tuyaux de l'analyseur avec celui-ci. Lors de l'utilisation de l'analyseur, les volumes d'élution de la cartouche Oasis-HLB ont dû être optimisés et augmentés pour E2 et E3 afin de prendre en considération les volumes morts des tuyaux (Figure 60).



Figure 60 : Comparaison des volumes utiles pour le concentrateur et l'analyseur (volume en mL)

Le détail des différentes étapes pour l'utilisation du concentrateur et de l'analyseur est présenté en Annexe 9.

2.4.3. Evolution du logiciel de pilotage

Le concentrateur et l'analyseur sont tous les 2 pilotés par le logiciel μ Polg (HOCER). Cependant, la modification du matériel implique aussi des changements dans les libellés des séquences c'est-à-dire des modifications au niveau des commandes entre les deux appareils (Tableau 30).

Tableau 30 : Libellés des commandes des séquences pour le concentrateur et l'analyseur

	Concentrateur	Analyseur
Sélection des cartouches	VA4 1 ou 2 VA5 1 ou 2	VLV
Sélection de la sortie	-	VLV : cuve de récupération 2 cuve de récupération 1 cuve de récupération 2 récupération 2 cuve de récupération 1 cuve de récupération 2 cuve de récupération 2 c
Sélection des solvants	VA3 1, 2, 4, 5 ou 6	VLV
Sélection des	VA3 3	VLV
échantillons		
Sélection des débits	POM 1SXXXX	MOD MS si débit ≤ 5 mL/min MOD NM si débit > 5 mL/min STS XXXXX PES XXXXX CUS XXXXX
Sélection des volumes	POM 1UXXXX	ASP XXXX : volume aspiré par la pompe DIS XXXXX : volume injecté dans le système
Acquisition des spectres UV	-	SPB L : blanc SPB S : échantillon/ élution POR 0 0 ON : lampe allumée POR 0 5 ON : pompe péristaltique activée

Dans le cas de l'analyseur, la pompe permet de sélectionner aussi bien les voies d'entrée (solvants, échantillons, éluants) que les voies de sortie (cartouches, cuves de récupération) du système (Tableau 30). Dans le cas du concentrateur, la pompe à piston permet seulement de transporter un volume de solution dans le système à un débit défini. La sélection des voies d'entrée se fait par la commande de la vanne VA3 et la sélection des cartouches se fait par la commande des 2 vannes VA4 et VA5. Une commande est rajoutée dans le cas de l'analyseur afin d'acquérir les spectres UV. L'Annexe 10 présente le libellé des séquences dans leur intégralité pour le

concentrateur et pour l'analyseur.

En résumé, le passage du concentrateur à l'analyseur s'est traduit par :

 le remplacement d'une pompe à piston (*commandes POM 1S* ou *1U* pour définir le débit et le volume) par une pompe

(*commandes VLV* pour sélectionner les voies d'entrée et de sortie ; *commandes : STS*, *PES*, *CUS*, *ASP* et *DIS* pour définir les débits et les volumes prélevés et injectés),

- le remplacement des vannes à 6 voies (commandes VA1 à VA5) par des électrovannes à 2 sorties (simplifier le montage,
- l'ajout d'une cuve de récupération de l'échantillon après passage sur la cartouche Strata-SAX permettant ainsi une automatisation complète de l'étape de préconcentration et de fractionnement sur les 2 cartouches,
- la liaison de la partie concentration avec la partie détection grâce à l'ajout d'une pompe péristaltique (*commande POR 0 5*),
- l'ajout d'un spectrophotomètre UV comprenant une cuve de mesure (trajet optique de 20 mm) et permettant la détection en ligne (commandes : POR 0 0; SPB L et SPB S).

2.5. Elaboration de la banque de données spectrales

La spectrophotométrie UV a été choisie comme système de détection pour l'analyseur. Afin de pouvoir identifier le ou les composé(s) responsable(s) d'une pollution, une banque de données spectrales a été réalisée sur 50 des substances étudiées (44 présentent un spectre UV) (document complémentaire : « Banque de données spectrales »). Elle regroupe pour chacune des substances :

- les spectres UV dans l'EUP et dans le solvant d'élution (MeOH/NaCl 0,1 M 40/60 (V/V) ; ACN/EUP 30/70 (V/V) ; ACN/EUP 70/30 (V/V))
- différentes informations telles que la fraction d'élution dans laquelle elle doit se retrouver
- des propriétés physico-chimiques (formule, pKa, log P, solubilité).

Chaque spectre intégré à cette banque de données, que ce soit dans l'EUP ou dans le solvant d'élution, a été réalisé en triplicat (3 solutions différentes) avec le spectrophotomètre de l'analyseur (trajet optique : 20 mm, pas : 1 nm, acquisition entre 200 et 400 nm).

La Figure 61 présente les caractéristiques spectrales (coefficients d'extinction molaire et longueurs d'onde d'absorbance maximale) de chacune des 44 molécules et leur fraction d'élution.

Chacune des substances présentent des caractéristiques spectrales différentes que ce soit au niveau de l'intensité du signal (coefficient d'extinction molaire) qu'au niveau de la position des pics et/ou épaulements (longueurs d'onde d'absorbance maximale). Certaines ne comportent qu'un seul pic (par exemple le diclofénac - un pic à 279 nm) et d'autres plusieurs pics et/ou épaulements : par exemple 2 pour la carbaryl (à 220 et 279 nm) et 4 pour le fluorène (à 204, 262, 288 et 298 nm). Plus le nombre de molécules susceptibles d'être éluées dans une même fraction est important, plus l'identification risque d'être complexe. Ainsi, pour la cartouche Strata-SAX, il sera plus facile de différencier les molécules éluées dans A2 (2 molécules soit environ 6% des 44 substances) que celles éluées dans A1 (5 molécules soit environ 14% des 44 substances). De même, pour l'élution de l'Oasis-HLB, l'identification sera facilitée si la molécule est éluée dans les fractions E1 (2 molécules soit environ 6% des 44 substances), E2 (2 molécules soit environ 6% des 44 substances) et E4 (1 seule molécule soit 3% des 44 substances). 66% des molécules (26 molécules) sont éluées dans la fraction E3 ce qui rend l'identification plus complexe et d'autant plus si le cas étudié est un mélange. Dans le cas d'un mélange, il sera nécessaire d'utiliser une méthode de traitement du signal telle que la déconvolution (Partie 2 § 4.3.3.2).

Au regard de ces difficultés, plusieurs scénarios peuvent se présenter.

Si un spectre UV caractéristique (absorbance suffisante (> 0,02 u.a.) avec présence de pic(s) et/ou d'épaulement(s)) est obtenu, une identification peut être rendue possible :

- par comparaison avec les spectres de la banque, cas pouvant se produire lors d'un signal simple, défini par des pics caractéristiques, synonyme d'une pollution accidentelle due à quelques molécules (de 1 à 3 molécules) à de fortes concentrations (quelques dizaines de µg/L)
- via une déconvolution lorsqu'un signal n'est pas reconnu comme étant le signal d'une seule substance mais pouvant être synonyme d'un mélange. Ce traitement des spectres est réalisé par le logiciel µPolg (HOCER) qui permet, à partir d'un algorithme, de séparer les différentes composantes du spectre du mélange (Partie 2 § 4.3.3.2). Ce logiciel a révélé certaines de ses limites dans le cas de l'analyse spectrale. Parmi ces limites, notons le nombre insuffisant de spectres pouvant être sélectionnés afin de réaliser des modèles (combinaisons de 3 spectres de molécules réalisées à partir d'une base en contenant une dizaine).

Si la banque de données ne permet pas une identification de la ou des molécule(s) impliquée(s) dans la pollution, les fractions pourront être envoyées à un laboratoire accrédité afin d'effectuer des analyses complémentaires.

Les raisons pour lesquelles la banque de données spectrales ne permettrait pas l'identification de la ou des molécules(s) peuvent être :

- une absence de signal UV caractéristique de la molécule mise en cause,
- une concentration trop faible pour pouvoir être détectée sur site avec l'analyseur (cuve de trajet optique de 20 mm),
- un mélange de molécules trop complexe dont l'analyse spectrale (déconvolution) ne permet pas de simplifier et de séparer les signaux UV des molécules présentes.

Le coefficient d'extinction molaire (ϵ) pour chacun des pics ou épaulements ainsi que les longueurs d'onde auxquelles sont mesurées les absorbances maximales sont des paramètres importants à prendre en considération. En effet, plus le spectre d'une molécule est caractéristique c'est-à-dire plus il y a de pics ou d'épaulements, et plus les longueurs d'onde d'absorbance maximale se différencient de celles d'autres molécules, plus l'identification sera rendue possible. Le coefficient d'extinction molaire est étroitement lié avec la limite de détection. En effet, plus ce coefficient est important, plus la molécule pourra être détectée et donc identifiable à une concentration faible. A titre d'exemple, la limite de détection de l'hexazinone ($\epsilon_{246nm}=(1,64\pm0,04)\times10^4$ L/moL/cm) sera plus élevée d'un facteur environ 5 par rapport à celle du diazinon ($\epsilon_{247nm}=(3,7\pm0,4)\times10^3$ L/moL/cm) (Figure 61).



Figure 61 : Diversité des caractéristiques spectrales des molécules faisant l'objet d'une fiche dans la banque de données spectrales (la taille de la bulle est proportionnelle au coefficient d'extinction molaire)

2.6. Estimation des limites de détection

Dans le cadre de la méthodologie MSP2E mise en œuvre, c'est-à-dire la détection par spectrophotométrie UV de micropolluants organiques lors d'un évènement accidentel ou intentionnel, une estimation de la limite de détection est suffisante et la détermination de la limite de quantification n'est pas nécessaire. En effet, dans un premier temps lors d'une pollution accidentelle ou intentionnelle où les concentrations peuvent être élevées (de l'ordre du µg/L), l'important est l'identification du ou des polluant(s).

Plusieurs paramètres ont été pris en considération pour estimer les limites de détection :

- L'absorbance minimale tolérée. Une valeur d'absorbance de 0,02 u.a. a été choisie comme valeur limite.
- Les facteurs de concentration. Dans la méthodologie MSP2E mise en place, le facteur de concentration est compris entre 40, pour la fraction E3, et 100 pour la fraction E1.
- Les coefficients d'extinction molaire. Plus ce coefficient est important, plus la concentration minimale détectable sera élevée.
- Le trajet optique de la cuve du spectrophotomètre UV. Dans le cas de l'analyseur, ce trajet est de 20 mm.

En l'absence de préconcentration, les limites de détection en UV des composés varient entre 50 µg/L et 2 mg/L selon le pic ou l'épaulement considéré et selon leur coefficient d'extinction molaire. Avec une préconcentration, les limites de détection des composés sont divisées par un facteur pouvant aller de 25 à 100 et varient entre 0,8 et 120 µg/L. Le Tableau 31 présente l'ensemble des estimations des limites de détection (LD) pour chacune des molécules étudiées avec préconcentration en fonction de leur fraction d'élution et du signal considéré.

								Esti	mation	n LD (µ	ıg/L)							
	A1 A2 E1 E2							Ε	3		E4							
pic ou épaulement	1	2	3	1	2	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1
Acide clofibrique	2,4	24																
Dichlorprop	3,6	16,8																
Warfarine	0,8	3,2	28															
Ibuprofène	2,8																	
Diclofénac	3,2																	
Diatrizoate	2,8			10														
2,4-D	3,6	14		12	52													
Caféine						0,8	20											
Acétaminophène						1,6												
Ciprofloxacine						2	0,8	2,8	3,2	4	1,6	5,2	5,6					
Triméthoprime										1,2	10,8							
Sulfaméthoxazole										3,2				4				
m-Toluidine										4,8	24			6	31,2			
4,4'-Diaminodiphénylméthane										2,8	16			3,6	22			
Hexazinone										2,8				4				
Méthyl-parabène										2				2,8				
2-Nitrophénol														3,6	8			
Simazine														1,6	1,8			
Isoproturon														1,2	0,4			
Carbaryl														0,8	1			
Chlortoluron														1,6	0,36			
Atrazine														1,2	1,6			
Carbamazépine														2	0,48			
Diazinon														20				
Diuron														2,4	3,6			
Terbuthylazine														1,6	20			
Linuron														2	4			
Bisphénol-A														3,6	16			
Terbutryn													ĺ	1,6				
Naphtalène														1,2	20			
1,7-éthynylestradiol														40				
Fluorène														0,8	2,4	8	5,6	
Dibutylphtalate														18	120			
Parathion														10				8

Tableau 31 : Estimation des limites de détection pour chaque molécule et en fonction de leur fraction d'élution

L'étape de préconcentration permettrait de détecter les molécules avec une LD comprise entre 0,8 et 24 μ g/L pour la fraction A1, entre 10 et 52 μ g/L pour la fraction A2, entre 0,8 et 3,2 μ g/L pour la fraction E1, entre 1,2 et 24 μ g/L pour la fraction E2 et entre 0,8 et 120 μ g/L pour la fraction E3 selon le pic considéré (Tableau 31). 87% des substances présentent des limites de détection inférieures à 20 μ g/L. Ainsi, en considérant un pourcentage d'extraction d'au moins 75%, 70% des molécules présentent une limite de détection inférieure à 20 μ g/L.

Benotti et Brownawell ont rapporté en 2007 des concentrations en caféine entre 15 et 42 μ g/L en cas d'évènements climatiques majeurs (débordement des eaux usées). Philips et Chalmers (2009) ont également détecté des composés organiques dans les effluents des déversoirs d'orage jusqu'à 100 μ g/L. Ainsi l'analyseur permettrait donc bien la détection de micropolluants organiques dans le cadre d'évènements accidentels avec des limites de détection de l'ordre de quelques dizaines de μ g/L.

2.7. Etude de molécules en mélange

L'étude sur des mélanges de molécules permet de vérifier d'une part que le mélange n'apporte pas de biais dans la séparation sur les cartouches mais également que le signal UV (donc la détection) n'est pas soumis à des interférences.

2.7.1. Mélange de 5 molécules dans l'eau ultra pure

La méthode MSP2E a été appliquée dans un premier temps à un mélange de 5 molécules (ibuprofène, diclofénac, caféine, carbamazépine et atrazine) à la concentration de 100 μ g/L dans de l'EUP.

Comme précédemment montré et prédit (§2.3.2.1), l'ibuprofène (IBU) et le diclofénac (DICLO) sont des molécules retenues sur la cartouche Strata-SAX et doivent être coéluées dans la fraction A1.

La caféine (CAF), la carbamazépine (CARBA) et l'atrazine (ATRA), molécules neutres, sont retenues sur la cartouche Oasis-HLB (§2.3.2.2) et sont éluées dans E1 (éluant 2 : 30/70 ACN/EUP (V/V)) pour la caféine et dans E3 (éluant 3 : 70/30 ACN/EUP (V/V)) pour la carbamazépine et l'atrazine.

La Figure 62 montre les spectres UV obtenus des différentes fractions d'élution.



Figure 62 : Spectres UV des fractions d'élution lors d'un mélange de 5 molécules (IBU : ibuprofène ; DICLO : diclofénac ; CAF : caféine ; CARBA : carbamazépine et ATR : atrazine)

Une analyse directe des spectres UV obtenus par comparaison avec ceux de la banque de données spectrales (document complémentaire : « Banque de données spectrales ») permet une identification de la caféine (présence de 2 pics : 205 nm et 273 nm). En ce qui concerne les autres molécules, la méthode de déconvolution est appliquée avec les modèles suivants :

- Modèle 1 : ibuprofène et diclofénac
- Modèle 2 : caféine, carbamazépine et atrazine

Cette méthode permet d'évaluer de manière qualitative et quantitative la présence d'une molécule dans chacune des fractions (Tableau 32).

Tableau 32 : Concentrations des molécules obtenues dans l'échantillon initial à partir des concentrations déterminées dans chacune des fractions par le logiciel de déconvolution (nd : non déterminé signifie que le modèle correspondant n'a pas été utilisé pour la fraction considérée)

	Mode	èle 1			
	Ibuprofène	Diclofénac	Caféine	Carbamazépine	Atrazine
	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)
A1	90,9	93,7	nd	nd	nd
A2	0	0	nd	nd	nd
E1	nd	nd	85,9	nd	nd
E2	nd	nd	0	0	0
E3	nd	nd	nd	83,0	71,0
E4	nd	nd	0,2	0	0

Le modèle 1 met en évidence la présence d'ibuprofène et de diclofénac dans la fraction A1. De même pour le modèle 2 en ce qui concerne la carbamazépine et l'atrazine dans la fraction E3, et la caféine dans la fraction E1.

Par rapport à la concentration de chacune des molécules (100 μ g/L) dans l'échantillon d'EUP initial, les concentrations obtenues dans les différentes fractions et l'utilisation du logiciel de déconvolution permet de retrouver des concentrations initialement présentes du même ordre de grandeur (entre 71,0 μ g/L pour l'atrazine et 93,7 μ g/L pour le diclofénac).

Ce même mélange a aussi été étudié dans une matrice réelle (eau de rivière) afin d'appréhender l'effet matrice sur un mélange de quelques molécules dont certaines sont éluées dans la même fraction d'élution (§3.3).

2.7.2. Mélange plus complexe de pesticides dans de l'eau ultra pure

Un mélange de 44 pesticides à 40 μ g/L dans de l'EUP a été testé sur l'analyseur. Dans ce cas, les différentes fractions d'élution ont été récoltées puis analysées au laboratoire accrédité du LERES par HPLC/MS afin de valider la méthodologie sur un nombre important de molécules et d'appréhender l'effet mélange. Ces fractions ainsi qu'un échantillon avant et après percolation sur chacune des cartouches sont ensuite diluées avec de l'acétonitrile et d'EUP, tous deux acidifiés avec 0,1% d'acide formique, de manière à ce qu'au final chaque échantillon contienne 82% d'EUP et une concentration maximale pour chacun des composés de 100 μ g/L.

A partir de la méthodologie développée et des caractéristiques physico-chimiques des molécules du mélange, les prédictions d'élution ont été réalisées (prédiction, Figure 63) et les résultats vérifiés par l'analyse par HPLC/MS des différentes fractions (Figure 63).



Figure 63 : Prédiction et résultats de détection par HPLC/MS relatifs à un mélange de 44 pesticides (les molécules ne suivant pas la prédiction pour la cartouche Oasis-HLB sont en rouge)

Comme prédit, toutes les molécules anioniques ont bien été retenues et éluées sur la phase solide Strata-SAX. Toutes les autres ont été retenues sur la phase Oasis-HLB.

En revanche, seules 4 molécules n'ont pas été éluées dans la fraction prédite (isoxaflutole, carbofuran, imazaméthabenz-méthyl et oxadixyl). En ce qui concerne l'isoxaflutole et le carbofuran, une explication peut être liée au log P considéré. Afin de réaliser la prédiction, les log P calculés par le logiciel libre Chemsketch ont été utilisés (1,67±0,44 pour l'isoxaflutole et 1,76±0,26 pour le carbofuran). Cependant, si la prédiction est basée sur les log P de la littérature (2,19 pour l'isoxaflutole et 2,32 pour la carbofuran – log P mesurés), les résultats HPLC/MS sont en accord avec la prédiction. En effet, si on considère les log P de la littérature, ces deux molécules doivent être éluées par l'éluant ACN/EUP 70/30 (V/V) ce qui est le cas. Pour les deux autres substances (imazaméthabenz-méthyl et oxadixyl), l'hypothèse émise s'orienterait vers la structure encombrée des molécules qui pourrait entrainer un changement de leur fraction d'élution (Figure 64). D'autres hypothèses peuvent également être avancées comme par exemples des interactions aspécifiques entre la phase solide et la molécule. La détection par HPLC/MS a permis d'une part d'appréhender l'effet mélange (le nombre de molécules dans le mélange ne semble pas influencer la rétention et l'élution) et d'autre part de valider la méthode MSP2E sur un nombre important de molécules en un seul essai.



Figure 64 : Structure des molécules ne suivant pas l'approche prédictive

Au final, 91% des molécules ont été éluées dans les fractions prédites. L'ensemble de ces résultats permet de valider d'une part la robustesse du modèle (même si la question sur la nature du log P à considérer reste entière) et d'autre part met en avant que l'effet mélange présente un effet limité sur le comportement des molécules vis-à-vis de la prédiction établie.

3. Applications et optimisations

La méthode MSP2E a été appliquée à des matrices réelles (eau de rivière, eau de consommation). Plusieurs cas ont été considérés : cas d'un évènement accidentel, qui généralement se traduit par la présence d'une, deux ou trois substances avec des concentrations relativement fortes (entre 50 et 100 μ g/L) et dans le cas de mélanges plus complexes (de 5 à 44 substances) avec des concentrations comprises entre 40 et 100 μ g/L.

3.1. Caractéristiques physico-chimiques des matrices

Différentes matrices (eau de rivière, eau de consommation) ont été dopées avec 1, 2, 5 et 44 polluants. Ces matrices présentent des propriétés physico-chimiques différentes, notamment en termes de teneur en nitrates et en carbone organique total (COT) (Tableau 33).

	COT (mg/L)	Nitrates (mg/L)
Matrice 1 (eau de rivière)	1,8	15,3
Matrice 2 (eau de rivière)	6,5	30,7
Matrice 3 (eau de rivière)	4,4	19,2
Matrice 4 (eau de rivière)	0,9	4,8
Matrice 5 (eau potable)	0,1	6,3

Tableau 33 : Caractéristiques physico-chimiques (nitrates et COT) des matrices étudiées

Les matrices étudiées présentent des concentrations en nitrates variant de 4,8 à 30,7 mg/L (Tableau 33). Comme cela a été montré précédemment (Figure 39, §2.1.3), les nitrates sont retenus sur la cartouche Strata-SAX, soit en totalité soit en partie, selon les concentrations initiales (rétention supérieure à 90% pour une concentration initiale en nitrates inférieure à 24,8 mg/L ; rétention inférieure à 70% pour une concentration initiale en nitrates supérieure à 31,0 mg/L). Le COT peut s'élever jusqu'à 6,5 mg/L selon la matrice considérée (Tableau 33). Ainsi, la présence de nitrates ou d'autres anions inorganiques pourrait selon leur concentration saturer la cartouche Strata-SAX. En ce qui concerne le COT, celui-ci pouvant être retenu sur la cartouche Oasis-HLB, il pourrait influencer la rétention et l'élution des molécules sur cette cartouche.

3.2. Simulation d'une pollution accidentelle par un ou deux polluants organiques

3.2.1. Simulation d'une pollution avec le diuron

Une eau de rivière (matrice 1 : COT : 1,8 mg/L; nitrates : 15,3 mg/L) a été dopée avec le diuron, un herbicide, à 50 µg/L. Ce dopage permet de simuler une pollution accidentelle avec un micropolluant organique. La méthode MSP2E a été appliquée sur 100 mL de cet échantillon. Les spectres UV de chacune des fractions sont présentés dans la Figure 65.



Figure 65 : Spectres UV des différentes fractions d'élution (A : fractions d'élution de la cartouche Strata-SAX; B : fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 2; C : fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 3)

La Figure 65 montre que les signaux observés lors des élutions de la Strata-SAX sont essentiellement dus à la présence de nitrates (pic à 200 nm) dans l'échantillon. L'estimation des nitrates dans les 2 fractions réalisée à l'aide du logiciel de déconvolution μ Polg est de 0,9 (dans A1) et de 2,1 mg/L (dans A2).

Les spectres UV des fractions E2 et E4 (Figure 65-B E2 et C E4) ne présentent aucun signal caractéristique (absorbance < 0,02 u.a. pour E2 et absence de pic(s) ou d'épaulement(s) pour E4). Le spectre UV de la fraction E1 montre un spectre monotone décroissant, non caractéristique et probablement dû à l'extraction de la matière organique (Figure 65-B E2).

Par contre, le spectre UV de la fraction E3 liée à l'éluant 70/30 ACN/EUP (V/V) présente deux pics caractéristiques, un premier à 211 nm et un second à 248 nm (Figure 65-C E3

et Figure 66). L'analyse de ces pics par comparaison avec les spectres de référence (des molécules pressenties dans la fraction E3) de la banque de données permet l'identification du diuron (spectre Réf , Figure 66).



Figure 66 : Spectres UV de l'élution E3 et du diuron de référence

Cette simulation de pollution accidentelle avec un seul composé (à 50 μ g/L) montre que la méthodologie mise en place permet l'identification du composé grâce au traitement direct (comparaison du spectre de l'échantillon avec les spectres de référence de la banque de données), et a permis d'extraire le composé à 78%.

3.2.2. Simulation d'une pollution avec du diclofénac et de la caféine

Une eau de rivière (matrice 2: COT: 6,5 mg/L; nitrates : 30,7 mg/L) a été dopée avec du diclofénac et de la caféine à $100 \mu g/L$. Le choix des deux molécules a été fait en fonction de leur comportement prévisible : le diclofénac est retenu sur la cartouche Strata-SAX et élué dans la fraction A1 avec l'éluant 1 40/60 MeOH/NaCl 0,1 M (V/V) et la caféine est retenue sur la cartouche Oasis-HLB et éluée dans la fraction E1 avec l'éluant 2 30/70 ACN/EUP (V/V). La méthode MSP2E a été appliquée sur 100 mL de cet échantillon dopé. Les spectres UV de chacune des fractions sont présentés dans la Figure 67.



Figure 67 : Spectres UV des différentes fractions d'élution (A : fractions d'élution de la cartouche Strata-SAX avec A1 diluée par 5; B : fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 1 ; C : fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 2)

Comme cela a été montré précédemment, les signaux observés lors des élutions de la cartouche Strata-SAX sont dus à la présence de nitrates dans l'échantillon. L'estimation des nitrates dans les 2 fractions, réalisée à l'aide du logiciel de déconvolution μ Polg, est de 4,7 mg/L (dans A1) et de 2,7 mg/L (dans A2). Ces signaux présentent une saturation à 200 nm (absorbance > 2 u.a.) et masquent le spectre du diclofénac dans l'éventualité où celui-ci est présent dans l'úne des deux fractions (Figure 67-A et Figure 68-A). L'élution A1 a été diluée par 5 dans l'éluant MeOH/NaCl 0,1 M (40/60) et le spectre de l'élution diluée a été réalisé (Figure 67-A). Cette dilution a permis certes d'obtenir un spectre non saturé mais elle ne permet pas d'orienter vers la détection d'une molécule. Une optimisation sera nécessaire pour s'affranchir de l'interférence apportée par les anions inorganiques sur la cartouche Strata-SAX.

Concernant l'élution de la cartouche Oasis-HLB, comme attendu, les spectres UV de la fraction E2 et des deux fractions E3 et E4 ne présentent aucun signal (Figure 67 B et C). Par contre, le spectre UV de la fraction E1 liée à l'éluant 30/70 ACN/EUP (V/V) présente un signal caractéristique (pic à 273 nm) de la caféine (spectres Réf) avec une déformation (pic à 205 nm pas très marqué et atteinte de l'absorbance nulle retardée) liée à la matrice (Figure 67-B et Figure 68-B).



Figure 68 : Spectres UV de l'élution A1 et du diclofénac de référence (A) et spectres UV de l'élution E1 et de la caféine de référence (B)

L'analyse de chacun des spectres UV a été réalisée à l'aide du logiciel de déconvolution avec comme bases de référence, les spectres UV :

- De l'eau de rivière
- Des nitrates, de l'ibuprofène et du diclofénac pour la fraction Strata-SAX
- De la caféine, de la carbamazépine, de l'atrazine et du diuron pour la fraction Oasis-HLB

La Figure 69 présente le résultat de la déconvolution avec les bases de référence présentées ci-dessus (une pour la Strata-SAX et une pour l'Oasis-HLB).



Figure 69 : Résultat de la déconvolution (pour l'échantillon dopé au diclofénac et caféine) (la longueur de la barre est proportionnelle au pourcentage d'extraction, en vert : les molécules éluées sur Oasis-HLB ; en rouge : faux positifs)

La Figure 69 montre que dans la fraction E1, la caféine est qualitativement éluée mais l'atrazine (molécule absente dans l'échantillon) est également trouvée mais dans une proportion plus faible. Ce faux positif est lié à l'effet matrice et plus précisément à la déformation du spectre de cette fraction (Figure 68-B). Dans les fractions A1 et A2, le logiciel n'a pas permis de déterminer la présence du diclofénac sûrement à cause d'un spectre résiduel trop important dû à la matrice (Figure 67-A).

Ces deux simulations (pollutions accidentelles au diuron et au mélange diclofénac et caféine) ont montré que l'effet matrice (présence de nitrates) est important sur la cartouche Strata-SAX masquant le composé d'intérêt jusqu'à saturer complètement la cartouche Strata-SAX. Cet effet est moins marqué pour les deux premières fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB et est absent pour les deux dernières fractions de la cartouche Oasis-HLB. La présence de l'effet matrice au niveau des deux premières élutions de la cartouche Oasis-HLB peut être dû au COT. Cette application a également montré la limite du logiciel de déconvolution utilisé qui ne permet pas de réaliser des bases de référence suffisamment évoluées pour permettre une identification correcte dans le cas de signaux complexes. En effet, seuls 3 spectres de référence peuvent être inclus dans chacune des bases, ce qui est totalement insuffisant. Le logiciel est en cours d'amélioration afin de pouvoir augmenter le nombre de spectres de référence par base et de diminuer le risque de faux positifs. De plus, une optimisation de la méthode visant à s'intéresser à la capacité de charge de la cartouche Strata-SAX est présentée dans le §3.4.

3.3. Mélange de 5 molécules dans une eau naturelle

Une eau de rivière, présentant des caractéristiques physico-chimiques plus faibles que celles des eaux utilisées lors des essais précédents (matrice 3 : COT : 4,4 mg/L ; nitrates : 19,2 mg/L), a été dopée avec un mélange de 5 molécules (ibuprofène, diclofénac, caféine, carbamazépine et atrazine) à 100 µg/L et 100 mL ont été analysés par MSP2E. Les spectres UV de chacune des fractions sont présentés dans la Figure 70.



Figure 70 : Spectres UV des différentes fractions d'élution (A : fractions d'élution de la cartouche Strata-SAX avec A1 diluée par 5; B : fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 2 ; C : fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 3)

Les signaux observés lors des élutions de la cartouche Strata-SAX sont dus à la présence de nitrates dans l'échantillon (Figure 70 A). Le signal lié à l'élution A1 présente une saturation à 200 nm (absorbance > 2 u.a.) et masquent les spectres du diclofénac et de l'ibuprofène dans l'éventualité où ceux-ci sont présents dans cette fraction. Le spectre de la dilution par 5 de cette élution dans l'éluant MeOH/NaCl 0,1 M (40/60) ne permet pas d'orienter vers la détection d'une molécule.

Concernant l'élution de la cartouche Oasis-HLB, comme attendu, les spectres UV des fractions E2 et E4 ne présentent aucun signal (Figure 70 B et C).

Par contre, le spectre UV de la fraction E1 liée à l'éluant 30/70 ACN/EUP (V/V) présente un signal caractéristique (pic à 273 nm) de la caféine (Figure 70 B). Le spectre UV de la fraction E3 liée à l'éluant 70/30 ACN/EUP (V/V) présente un signal avec 2 pics (221 nm et 283 nm) pouvant résulter du mélange de la carbamazépine et de l'atrazine (Figure 70 C).

L'analyse de chacun des spectres UV a été réalisée à l'aide du logiciel de déconvolution avec comme bases de référence, les spectres UV :

- De l'eau de rivière
- Des nitrates, de l'ibuprofène et du diclofénac pour la fraction Strata-SAX
- De la caféine, de la carbamazépine, et de l'atrazine pour la fraction Oasis-HLB

La Figure 71 présente le résultat de la déconvolution avec les bases de référence présentées ci-dessus (une pour la Strata-SAX et une pour l'Oasis-HLB).



Figure 71 : Résultats de la déconvolution dans le cas d'une matrice réelle (dopage ibuprofène, diclofénac, caféine, carbamazépine et atrazine) (la longueur de la barre est proportionnelle au pourcentage d'extraction, en bleu : les molécules éluées sur Strata-SAX ; en vert : les molécules éluées sur Oasis-HLB ; en rouge : faux positifs)

Dans la fraction A1, l'ibuprofène et le diclofénac sont retrouvées mais avec une proportion beaucoup plus faible pour l'ibuprofène que pour le diclofénac (Figure 71).

La caféine est éluée dans la fraction E1 (Figure 70 et Figure 71). De plus, la carbamazépine a également été déterminée dans cette fraction par analyse du signal par le logiciel mais dans une faible proportion.

Comme attendu, l'atrazine et la carbamazépine sont bien co-éluées dans la fraction E3, mais des traces de caféine ont également été trouvées alors qu'elle ne devrait être uniquement éluée dans la fraction E1. Les pourcentages d'extraction obtenus sont similaires en ce qui concerne l'élution de l'Oasis-HLB (caféine : 100%, carbamazépine : 79% et atrazine : 68%) à ceux obtenus lors de l'étude de ce même mélange dans de l'EUP (caféine : 86%, carbamazépine : 83% et atrazine : 71%).

En conclusion, dans le cas d'une eau naturelle dopée avec un mélange de 5 molécules (2 anioniques et 3 neutres), la détection des molécules anioniques a été gênée par l'effet matrice due à la présence de nitrates. En ce qui concerne l'Oasis-HLB, la détection de la caféine dans la fraction E1 d'une part et de la carbamazépine et de l'atrazine dans la fraction E3 d'autre part a été possible grâce notamment au logiciel de déconvolution.

3.4. Mise en évidence de l'effet matrice

Les résultats présentés précédemment ont mis en évidence un effet matrice important sur la cartouche Strata-SAX et plus faible sur la cartouche Oasis-HLB. Les interférences sur la cartouche Oasis-HLB sont légèrement visibles dans les 2 premières élutions E1 et E2 de la cartouche Oasis-HLB et peuvent être liées à la présence de COT dans l'échantillon. L'impact sur la détection des molécules retenues sur l'Oasis-HLB et éluées dans l'une de ces deux fractions étant faible, aucune mesure n'a été envisagée pour limiter ces interférences.

Les interférences sur la cartouche Strata-SAX proviennent de la présence d'anions inorganiques, tels que les nitrates, dont la concentration peut être importante dans des eaux brutes et qui génèrent de fortes interactions au moment de l'adsorption sur la phase ou lors de l'élution.

Deux hypothèses ont été envisagées :

- La cartouche Strata-SAX présente une capacité de charge limitée,
- Les spectres UV de chacune des élutions de la phase Strata-SAX masquent le signal des molécules d'intérêt.

Les résultats présentés au §2.1.3 concernant la rétention des anions inorganiques, en l'occurrence les nitrates, sur la cartouche Strata-SAX, semblent être en faveur de la première hypothèse (Figure 39, §2.1.3). En effet, à partir d'une concentration initiale en nitrates supérieure à 24,8 mg/L (ce qui équivaut à 0,4 mEq/L), le pourcentage de rétention des nitrates sur la cartouche Strata-SAX diminue. La validation de cette hypothèse est présentée au §3.4.2.1.

3.4.1. Mélange de pesticides dans une eau de consommation

L'hypothèse selon laquelle la capacité de charge de la cartouche Strata-SAX est limitée, a été vérifiée sur l'eau du système de distribution en eau potable de Nîmes (COT : 0,1 mg/L et nitrates : 6,3 mg/L) dopée avec un mélange de 42 pesticides à 40 µg/L avec une analyse HPLC/MS en laboratoire. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 72.



Figure 72 : Prédiction des fractions d'élution et résultats obtenus par HPLC/MS (les molécules ne suivant pas la prédiction dans les fractions de l'Oasis-HLB et de la Strata-SAX sont respectivement en rouge et en bleu)

La Figure 72 montre qu'un effet matrice important se produit au niveau de la rétention des molécules anioniques (Figure 72). En effet, aucune molécule anionique n'est analysée dans les fractions A1 et A2 et certaines sont éluées dans les fractions représentatives de molécules neutres ou cationiques (molécules notées en bleues dans les fractions de la cartouche Oasis-HLB, Figure 72). Une analyse plus fine montre qu'elles sont éluées selon leur log P. En effet, le métosulam, le mécoprop, le bromoxynil et l'ioxynil présentent des log P compris entre 2,35 et 3,60 ce qui est cohérent avec une élution à l'aide du mélange ACN/EUP 70/30 (V/V).

La « non rétention » des anions organiques sur la Strata-SAX peut provenir :

- de leur protonation par la matrice ; ce qui est peu probable compte tenu du pH des eaux étudiées (entre 6,5 et 7), pH auquel ces molécules sont anioniques,
- de la saturation de la cartouche Strata-SAX avec des anions naturellement présents dans les matrices réelles. En effet, les eaux naturelles telles que l'eau de consommation ou l'eau de rivière, sont composées d'un certain nombre d'anions (HCO₃⁻, Cl⁻, NO₃⁻,...) pouvant interagir avec la phase solide Strata-SAX. Leur présence peut ainsi entrainer une saturation des sites cationiques de la phase et ainsi empêcher la rétention des micropolluants organiques d'intérêt.

3.4.2. Influence de la matrice sur la cartouche Strata-SAX

Afin de s'affranchir de l'effet matrice lié aux anions, l'utilisation d'une pré-cartouche a été envisagée afin d'augmenter la capacité de charge. Selon le fournisseur Phenomenex, la cartouche Strata-SAX présente une capacité de charge de 0,9 mEq/g de phase, ce qui est un facteur limitant lors de l'analyse d'une eau réelle (naturelle ou destinée à la consommation humaine). Ainsi, un intérêt a été porté sur la limite de capacité de charge de la Strata-SAX en s'intéressant à des matrices avec des conductivités diverses c'est-àdire avec des matrices possédant des concentrations ioniques variées.

Ainsi une étape de filtration par SPE supplémentaire utilisant une masse variable de phase cationique (type Strata-SAX) en fonction de la conductivité de la matrice, peut être considérée avant le passage sur l'analyseur (Figure 73).



Figure 73 : Utilisation d'une pré-cartouche dans le cas de matrices réelles

La capacité de charge de la pré-cartouche doit être caractérisée afin d'évaluer la quantité d'anions pouvant être retenue sur cette cartouche.

3.4.2.1. Caractérisation de la capacité de charge des cartouches Strata-SAX

Afin de définir expérimentalement la capacité de charge de la cartouche Strata-SAX fabriquée au laboratoire, une eau de source (Roche) dopée avec du diclofénac (50 µg/L) a été diluée, afin d'obtenir une variabilité de la minéralité (entre 0,5 et 4,0 mEq/L), puis percolée sur l'analyseur. La Figure 74 présente l'évolution des pourcentages d'extraction du diclofénac sur la Strata-SAX (bleu) et sur l'Oasis-HLB (vert) en fonction de la minéralité de l'échantillon.



Figure 74 : Evolution du pourcentage d'extraction en fonction de la minéralité

A des concentrations en anions supérieures ou égales à 1,2 mEq/L, le diclofénac a été élué soit de la cartouche Strata-SAX et de la cartouche Oasis-HLB, soit uniquement de la cartouche Oasis-HLB (Figure 74). Cette élution de la cartouche Oasis-HLB est le signe d'une saturation de la cartouche Strata-SAX lorsque la concentration en anions est supérieure ou égale à 1,2 mEq/L. La saturation de la cartouche Strata-SAX fabriquée au laboratoire (300 mg) de l'analyseur est donc située entre 0,99 et 1,2 mEq/L ce qui correspond à une capacité de charge pour cette cartouche comprise entre 0,33 et 0,39 mEq/g de phase.

La capacité de charge d'une cartouche Strata-SAX fabriquée au laboratoire (entre 0,33 et 0,39 mEq/g de phase) est donc environ 2,5 fois plus faible que pour des cartouches Strata-SAX commerciales (0,9 mEq/g de phase).

Afin de comprendre la différence de capacité de charge entre ces deux types de cartouche, une eau de source (Roche, 3,97 mEq/L d'anions) a été dopée à 50 µg/L avec du diclofénac et percolée sur ces deux types de cartouches, appelées pré-cartouches, de

masse équivalente (500 mg) puis sur l'analyseur. Les pourcentages d'extraction du diclofénac sur chacune des deux cartouches de l'analyseur (après percolation sur une pré-cartouche commerciale ou fabriquée au laboratoire) sont récapitulés dans le Tableau 34.

Tableau 34 : Comparaison des pourcentages d'extraction du diclofénac après percolation sur une pré-cartouche soit commerciale soit fabriquée au laboratoire

	Elution	Pré-cartouche commerciale	Pré-cartouche laboratoire
% d'extraction	Strata-SAX	71	30
du diclofénac	Oasis-HLB	-	60

Les résultats montrent également une différence dans la rétention et l'élution du diclofénac, lors de l'utilisation de deux pré-cartouches fabriquées différemment.

L'emploi d'une pré-cartouche commerciale, à l'aide d'un collecteur d'extraction sous vide, permet la rétention et l'élution du diclofénac (pourcentage d'extraction : 71%) sur la cartouche Strata-SAX de l'analyseur (Tableau 34). Avec une pré-cartouche confectionnée au laboratoire, la rétention du diclofénac est partagée entre les deux cartouches de l'analyseur – les pourcentages d'extraction du diclofénac sont de 30% sur la cartouche Strata-SAX et de 60% sur la cartouche Oasis-HLB. Ceci valide le fait que la cartouche commerciale présente une capacité de charge supérieure à celle d'une cartouche fabriquée au laboratoire.

De plus, 71% du diclofénac dans un cas (pré-cartouche commerciale) et 90% du diclofénac dans l'autre cas (pré-cartouche fabriquée au laboratoire) ont été extraits des cartouches de l'analyseur. Cela montre que le diclofénac a percolé à travers l'une ou l'autre pré-cartouche en n'y étant pas ou très faiblement retenu, puis a été retenu sur les cartouches de l'analyseur. Ainsi, il semble que la phase Strata-SAX aie une affinité plus importante pour les anions inorganiques plutôt que pour les anions organiques.

La principale différence entre les cartouches élaborées au laboratoire et commerciales est essentiellement liée au compactage. En effet, la cartouche commerciale rendue plus compacte par un tassage mécanique que la cartouche fabriquée au laboratoire, implique une différence de volume de phase d'un facteur 1,2. Le nombre de sites accessibles est alors plus élevé lorsque la phase solide est plus compacte. En effet, un compactage non homogène engendre des volumes morts pouvant former des chemins préférentiels (Figure 75).


Figure 75 : Formation de chemins préférentiels lors d'un tassage manuel irrégulier

Plus le tassage de la phase solide est homogène, plus le nombre de sites accessibles est important et donc plus le nombre d'anions pouvant s'y fixer va être élevé. Ainsi, l'usage d'une pré-cartouche commerciale de 500 mg peut être un moyen efficace pour s'affranchir de plus d'anions inorganiques que lors de l'utilisation d'une pré-cartouche fabriquée au laboratoire. Cette pré-cartouche peut s'avérer être un moyen efficace pour simplifier la matrice. Cependant, la masse de sorbant contenu dans cette pré-cartouche doit être évaluée afin de ne pas retenir les anions organiques d'intérêt.

3.4.2.2. Relation entre la conductivité et la concentration en anions

D'après Rodier et al. (2009), la minéralité d'une eau peut être estimée rapidement par la formule suivante :

$$\sum$$
 concentration anions = 10^{-2} ×conductivité

Avec la concentration en anions en mEq/L et la conductivité en µS/cm.

La relation a été vérifiée avec 2 eaux (minérale – eau de Plancoët - et source – eau de Roche des Ecrins) de composition ionique connue (4,11 mEq/L et 3,97 mEq/L). La conductivité de chacune des 2 eaux a été mesurée. Des solutions contenant de 10 à 90% d'une des 2 eaux ont été réalisées et leur conductivité a été mesurée (Figure 76).



Figure 76 : Mise en évidence de la relation entre la conductivité et la concentration en anions

Ainsi, en connaissant la conductivité de la solution, une estimation de la concentration en anions peut être réalisée, pouvant ainsi orienter sur la masse et/ou le nombre de précartouches à employer. Par exemple, l'eau de Plancoët et l'eau de Roche possèdent une conductivité respective de 389 μ S/cm et de 332 μ S/cm, ce qui correspond selon la formule précédente à une concentration anionique respective de 3,89 mEq/L et 3,32 mEq/L. Or, le volume de l'échantillon percolé sur la pré-cartouche et sur l'analyseur est de 100 mL. Donc, la pré-cartouche doit être capable de retenir 0,39 mEq d'anions dans le cas de l'eau de Plancoët et 0,33 mEq d'anions dans le cas de l'eau de Roche ce qui impliquerait l'utilisation d'une pré-cartouche commerciale (capacité de charge : 0,9 mEq/g de phase) de 433 et 367 mg respectivement.

Le Tableau 35 présente les masses de phase Strata-SAX pour la pré-cartouche dans le cas des 2 eaux (eau de Plancoët et eau de Roche).

	Plancoët	Roche
Concentration en anions calculée à partir des concentrations en anions inscrites sur les étiquettes (meq/L)	4,11	3,97
Concentration en anions calculé à partir de la conductivité (mEq/L)	3,85	3,32
Masse poudre Strata-SAX déterminée théoriquement (mg)	456	441
Masse poudre Strata-SAX déterminée à partir de la conductivité (mg)	433	367

Tableau 35 : Différents résultats entre l'eau de Plancoët et l'eau de Roche

Les masses de phase nécessaires ont été déterminées de deux manières différentes (Tableau 35) :

- En fonction des étiquettes : la concentration en anions a été calculée grâce aux différentes concentrations en anions répertoriées sur les étiquettes des bouteilles. La masse de poudre Strata-SAX a donc été déterminée théoriquement.
- En fonction de la conductivité de l'eau : la concentration en anions a été estimée à partir de la mesure de la conductivité et de la relation existante entre la conductivité et la concentration en anions.

Quelle que soit l'eau, la masse de poudre Strata-SAX estimée à partir de la conductivité de l'eau est plus faible que lorsqu'elle est déterminée à partir des données de l'étiquette. Cette diminution est comprise entre 5% (eau de Plancoët) et 16% (eau de Roche).

Plusieurs essais de dopage d'une eau avec percolation sur une pré-cartouche ont par la suite été réalisés sur différentes eaux (eaux de consommation et eaux naturelles) présentant des conductivités variées. Ces différentes matrices ont été dopées avec une ou deux molécules (diclofénac et 2,4D pour les molécules anioniques et carbamazépine en tant que molécule neutre), pour vérifier leur rétention sur les cartouches et leur élution.

3.4.2.3. Dopage d'une eau naturelle et d'eaux de consommation avec 2 molécules

Dans ce paragraphe, plusieurs eaux ont été dopées puis percolées sur une pré-cartouche puis sur l'analyseur.

Trois types d'eau ont été étudiés :

- Eau embouteillée (eau minérale Plancoët et eau de source Roche des Ecrins)
- Eau d'une rivière (Vistre)
- Eau potable du réseau de distribution (Nîmes)

La méthode MSP2E est appliquée sur chacune des solutions avec au préalable un passage sur la pré-cartouche appelée pré-cartouche de garde (Figure 77).



Figure 77 : Nombre et masse optimale des pré-cartouches de garde pour les différentes eaux utilisées

Une pré-cartouche de 500 mg est nécessaire lors de l'utilisation d'eau dont la conductivité est comprise entre 300 et 400 μ S/cm (eau minérale, eau de source et eau de rivière). Pour une eau de 450 μ S/cm (eau potable du réseau de distribution de Nîmes)

la masse de sorbant théorique est de 498 mg. Or une cartouche commerciale de 500 mg n'est pas suffisante, une seconde cartouche de 200 mg fabriquée au laboratoire a dû être rajoutée. La masse nécessaire est supérieure à la masse de sorbant calculée quelle que soit la conductivité de la matrice. Ceci peut être expliqué par une différence entre la capacité théorique et expérimentale des cartouches commerciales.

Les spectres UV présentés en Figure 78 sont relatifs au dopage d'une eau de rivière (Vistre, rivière tangente à Nîmes) par du diclofénac et de la carbamazépine après passage sur une pré-cartouche de 500 mg puis sur l'analyseur.



Figure 78 : Spectres UV des différentes fractions d'élution (A : fractions d'élution de la cartouche Strata-SAX B : fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 2 ; C : fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB avec l'éluant 3) après passage sur la cartouche de garde

La Figure 79 compare les spectres des élutions A1 et E3 avec les spectres de référence respectivement du diclofénac et de la carbamazépine.



Figure 79 : Spectres UV de l'élution A1 et du diclofénac de référence (A) et spectres UV de l'élution E3 et de la carbamazépine de référence (B)

Une simplification du signal (pas de saturation du signal) est observée pour les fractions A1 et A2 de la cartouche Strata-SAX (Figure 78 A et Figure 79 A) par rapport à ceux obtenus sans pré-cartouche en amont (Figure 70 A). Cette simplification du signal permet une identification de la molécule d'intérêt avec un pourcentage d'extraction d'environ 65%. Le spectre UV de la fraction E3 est caractéristique de la carbamazépine (Figure 78 C et Figure 79 B). Ainsi, l'ajout d'une pré-cartouche permet de simplifier les signaux et de retenir les molécules anioniques sur la cartouche Strata-SAX de l'analyseur sans avoir d'influence sur la rétention et l'élution sur la cartouche Oasis-HLB.

3.4.2.4. Application à un mélange plus complexe

De l'eau de rivière (matrice 3 : COT : 0,9 mg/L et nitrates : 4,8 mg/L) a été dopée avec un mélange de 42 pesticides puis a été percolée dans le premier cas sur l'analyseur sans pré-cartouche et dans le second cas sur l'analyseur avec une pré-cartouche commerciale de 500 mg. Les différentes fractions d'élution ont été récupérées puis diluées afin d'obtenir des solutions à une concentration maximale de 100 µg/L pour chacun des composés contenant 85% d'EUP et 15% d'acétonitrile acidifiés à 0,01% avec de l'acide formique. Ces différentes fractions diluées ont été analysées par HPLC/MS.



Figure 80 : Prédiction des fractions d'élution et résultats des analyses HPLC/MS de chacune des fractions obtenus sans et avec une pré-cartouche Strata-SAX 500 mg (les molécules ne suivant pas la prédiction dans les fractions de l'Oasis-HLB et de la Strata-SAX sont respectivement en rouge et en bleu)

L'ajout de la pré-cartouche permet la récupération des molécules anioniques via les fractions A1 et A2. Sur les 13 molécules anioniques présentes dans le mélange, 4 sont éluées sur la cartouche Strata-SAX, alors qu'aucune n'est éluée lorsqu'il n'y a pas de pré-cartouche (Figure 80). De plus, l'emploi de cette dernière n'apporte pas de modification dans l'efficacité de la rétention et d'élution des molécules neutres et cationiques. Ainsi, l'ajout d'une pré-cartouche permet d'améliorer la rétention sur la cartouche Strata-SAX mais des optimisations au niveau de la masse de sorbant doivent encore être effectuées afin de retenir toutes les molécules anioniques d'intérêt.

4. Etude des pourcentages d'extraction

Cette dernière partie s'intéresse aux pourcentages d'extraction obtenus dans différentes matrices (EUP, eau de consommation, eau de rivière) via une détection spectrophotométrique et/ou chromatographique. Elle porte également sur l'impact d'une étape d'homogénéisation supplémentaire avant l'étape de détection par spectrophotométrie.

4.1. Evaluation des pourcentages d'extraction

Les essais réalisés avec un mélange de pesticides suivis d'une analyse par HPLC/MS ont été utilisés pour évaluer les pourcentages d'extraction. Les concentrations de chacun des pesticides dans l'échantillon initial est de 40 μ g/L et les matrices employées sont l'EUP (§2.7.2), l'eau de consommation sans pré-cartouche (§ 3.4.1), l'eau d'une rivière sans et avec pré-cartouche (§ 3.4.2.4).

Les pourcentages d'extraction obtenus sont présentés dans le Tableau 36.

Tableau 36 : % d'extraction pour chacun des pesticides et dans les différentes matrices étudiées (* : molécules anioniques ; nd : pas présent dans l'échantillon initial)

	Cartouche Strata-SAX				Cartouche Oasis-HLB			
	EUP	Eau robinet	Eau de rivière	Eau de rivière avec précartouche	EUP	Eau robinet	Eau de rivière	Eau de rivière ave précartouch
Bentazone*	72			49				
Bromoxynil*	102			91		47	106	
Dicamba*	81							
loxynil*	95			109		98	83	
2,4-D *	87							104
2,4-MCPA*	86	_	nd				nd	54
Dichlorprop*	97		nd				nd	102
Mécoprop*	77				-	31	44	89
Trichlopyr*	52						36	74
Fluroxypyr*	76							104
Mésotrione*	67	nd	nd			nd	nd	102
Métosulam*	86			32		58	97	65
Nicosulfuron*	108							43
Sulcotrione*	90	nd				nd		94
		<u></u>						
		Cartouche Oa	SIS-HLB					
			Eau de	Eau de riviere				
	EUP	Eau robinet	rivière	avec				
				precartouche				
Cimazina	60	- nd	n al	l na				
Terbutylazine	05	47	102	109				
Torbumoton	22	102	61	72				
Chlortoluron	33	102	01 79	72				
Diuron	0U 114	20	70	114				
Diuron	114	80	08	114				
linuron	109	90	98	52				
Engrado	00	108	95	99				
Epoxyconazole	90	95	105	104				
Tehusenazele	05 102	80	115	107				
Tebuconazole	105	05	00	04				
Alashlara	109	95	80	93				
Additione	78	103	69	09				
Diméthènemide	109	105	87	101				
Dimethenamide	77	100	95	97				
Métazachloro	78	101	107	80				
Drepeshlore	90	91	00 70	03				
Propachiore	101	84	70	8/				
Azouvstrohino	64	104	95	73				
Azoxystrobine	58	105	79	119				
Carbofuran	/1	00	63 95	/3				
Carpoturan	98	108	85	100				
Cyprodinyi	/4	108	89	93				
Difiurenican	93	99	/3	58				
renpropiaine	90	58	70	88				
Fiuthiamide	97	99	106	81				
imazamethabenz-methyl	85	95	100	88				
Isoxaben	72	101	84	94				
isoxatlutole	47	104	105	111				
Oxadiazon	91	71	83	55				
Oxadixyl	70	94	98	86				
Pendiméthalin	37	68	39	72				

Les résultats du Tableau 36 montre que plus de 76% des molécules éluées présentent un pourcentage d'extraction de plus de 70% quelle que soit la matrice (EUP, eau de consommation, eau de rivière avec et sans pré-cartouche). Pour les molécules retenues et éluées sur la cartouche Strata-SAX, les pourcentages d'extraction varient entre 67 et 108%. Pour les molécules neutres et cationiques retenues et éluées sur la cartouche Oasis-HLB, les pourcentages d'extraction varient entre 37 et 110%. Plus précisément, pour 80% des molécules neutres ou cationiques, l'écart-type des pourcentages d'extraction obtenus dans les 4 matrices est inférieure à 20%, ce qui signifie que la matrice n'a pas ou peu d'influence sur le pourcentage d'extraction.

Pour 7 molécules étudiées dans de l'EUP individuellement avec une analyse par spectrophotométrie UV et en mélange complexe avec une analyse par HPLC/MS, une

comparaison entre les pourcentages d'extraction obtenus via les deux méthodes a été réalisée (Tableau 37). La concentration initiale pour chacune des molécules est de $40 \mu g/L$.

	% d'extraction				
	Fraction d'élution	Analyseur UV	HPLC/MS		
Simazine	E3	135	69		
Terbuthylazine	E3	180	91		
Chlortoluron	E3	145	80		
Diuron	E3	160	114		
Isoproturon	E3	185	109		
Dichlorprop	A1	105	97		
2,4-D	A1+A2	78	87		

Tableau 37 : Comparaison des % d'extraction obtenus avec l'analyse
ur UV et avec une analyse chromatographique

Concernant le dichlorprop et le 2,4-D, les pourcentages d'extraction déterminés avec les deux méthodes sont du même ordre de grandeur. Mais les molécules éluées dans la fraction E3 présentent un comportement différent. Les pourcentages d'extraction obtenus avec l'analyseur sont surestimés. Ils varient entre 135 et 185%. Cette surestimation peut être liée à un défaut dans le mécanisme d'analyse du signal (comme évoqué précédemment), mais également à un défaut d'homogénéisation des fractions obtenues. Ce dernier point a donc été vérifié.

4.2. Evaluation de l'effet de l'homogénéisation

Afin d'évaluer la nécessité d'une étape d'homogénéisation lors de l'utilisation de l'analyseur, de l'EUP a été dopée avec 9 molécules de manière individuelle (diclofénac, caféine, acétaminophène, triméthoprime, méthyl-parabène, carbamazépine, bisphénol-A, atrazine, 2-nitrophénol).

Lors des conditions normales d'utilisation de l'analyseur, chacune des élutions est recueillie dans la cuve de récupération 2 puis est transférée directement jusqu'au spectrophotomètre UV de l'analyseur. Dans ce cas, l'élution n'est pas homogénéisée avant l'étape de détection.

Chacune des 9 solutions d'EUP dopées avec l'une des molécules citées précédemment, a été percolée de 2 manières différentes sur les cartouches de l'analyseur : la première fois sans intervenir, c'est-à-dire comme dans le cas d'une utilisation classique de l'analyseur, et la seconde fois en homogénéisant les élutions avant l'étape de détection.

Sur les solutions testées, l'étape d'homogénéisation rajoutée n'a aucun effet pour 4 d'entre elles (diclofénac, acétaminophène, caféine, et bisphénol A). Les spectres avec et sans homogénéisation sont alors superposés (Figure 81-A, B, C et G). En ce qui concerne les 5 autres molécules, le spectre acquis sans homogénéisation préalable de l'élution est supérieur à celui avec (Figure 81-D, E, F, H et I). Ainsi, une non homogénéisation peut fausser la quantification d'une substance.



Figure 81 : Comparaison du signal en absence et en présence d'homogénéisation des solutions de diclofénac (A), de caféine (B), d'acétaminophène (C), de triméthoprime (D), de méthyl-parabène (E), de carbamazépine (F), de bisphénol-A (G), d'atrazine (H), de 2-nitrophénol (I)



Figure 81 : Comparaison du signal en absence et en présence d'homogénéisation des solutions de diclofénac (A), de caféine (B), d'acétaminophène (C), de triméthoprime (D), de méthyl-parabène (E), de carbamazépine (F), de bisphénol-A (G), d'atrazine (H), de 2-nitrophénol (I) (fin).

Afin d'ajuster les pourcentages d'extraction, une étape d'homogénéisation est nécessaire. Plusieurs solutions peuvent être envisagées (ajout d'une cuve ou d'une électrovanne, agitation de l'élution,...). La plus probable est l'ajout d'une deuxième pompe péristaltique de manière à faire buller l'élution avant l'étape de détection. HOCER, lors du développement de l'Aquapod SPE, avait déjà envisagé cette étape d'homogénéisation.

5. Conclusion

La méthode MSP2E proposée et développée dans cette partie peut être utilisée dans le cadre de pollutions accidentelles des eaux naturelles ou destinées à la consommation humaine. Cette méthode permet une analyse complète et automatisée en 2 heures (sans considérer l'ajout d'une pré-cartouche) en utilisant un analyseur qui repose sur la superposition de deux phases solides SPE permettant une séparation en deux étapes :

- Séparation selon la charge de la molécule : les anions sont retenus sur la cartouche Strata-SAX tandis que les neutres et les cations le sont sur la cartouche Oasis-HLB,
- Séparation selon le log P des molécules sur la cartouche Oasis-HLB grâce à un gradient d'élution permettant d'éluer des molécules polaires à moyennement polaires.

La détection est effectuée par spectrophotométrie UV avec une comparaison des spectres obtenus avec ceux d'une banque de données spectrales (traitement direct) (document complémentaire : « Banque de données spectrales ») et une analyse par traitement indirect du signal (par méthode de déconvolution) si nécessaire.

L'ajout d'une pré-cartouche permet de simplifier les spectres UV et améliore la rétention de certaines molécules anioniques.

En vue d'une commercialisation, des optimisations doivent être apportées à l'analyseur. Ces optimisations peuvent être :

- soit en lien direct avec l'analyseur : diminution du poids et de l'encombrement pour pouvoir être transportable sur site, amélioration du système de détection (la cuve et le spectrophotomètre ont montré certaines limites en termes de répétabilité d'une même mesure que ce soit lors de l'acquisition d'un blanc ou d'un spectre), ajout d'une pompe péristaltique supplémentaire pour homogénéiser les élutions, ajout d'une dérivation pour l'utilisation d'une pré-cartouche de masse variable,
- soit en lien avec l'analyse d'un signal : automatisation de la déconvolution en lien avec la banque de données spectrales, amélioration du logiciel de déconvolution (plus de molécules doivent pouvoir être prises en compte dans les modèles).

La méthodologie MSP2E a été transposée à une autre application à savoir la détection de pesticides et de produits pharmaceutiques dans une matrice humaine (l'urine).

Partie 4

Application à la matrice urinaire

1. Introduction

Dans l'urine humaine, les micropolluants organiques (pesticides, produits pharmaceutiques) sont analysés la plupart du temps à l'aide d'un système chromatographique (GC/MS, HPLC/MS) précédé par une extraction liquide/liquide ou une extraction sur phase solide (Pozo et al., 2012 ; Davis et al., 2013). Ces techniques sont également très utilisées dans le cadre du contrôle de substances dopantes où des standards stricts sont exigés par l'agence mondiale anti-dopage (AMA) (AMA, 2012a ; AMA 2012b ; Vonaparti et al., 2010 ; Kolmonen et al., 2007).

Dans le cadre de la transposition de la méthode MSP2E à la matrice urinaire, la détection est réalisée par spectrophotométrie UV. Cependant, de par la complexité de la matrice et les concentrations de l'ordre du μ g/L de certaines substances comme les pesticides pouvant être retrouvées dans l'urine humaine, la spectrophotométrie UV peut ne pas suffire ce qui nécessite une détection par un système chromatographique.

Dans un premier temps, cette partie s'intéresse à la composition de la matrice et aux différents interférents pouvant gêner la détection UV. Puis elle présente les molécules sélectionnées dans le cadre de cette étude et les optimisations apportées à la méthode MSP2E de manière à la transposer pour une analyse d'urine humaine.

2. Composition de la matrice urinaire

L'urine est le résultat de la filtration du sang à travers les reins et est composée à 95 % d'eau et de différents déchets (calcium, magnésium, créatinine, acide urique...) de l'organisme. Sa composition est cependant très variable d'un individu à l'autre mais également pour un même individu, en fonction de son alimentation, de son âge, de son sexe, de son activité physique et de la période de la journée (Cameron et al., 2006). L'urine est une matrice complexe contenant des substances organiques et minérales, susceptibles d'interagir avec les cartouches de la méthode MSP2E et ainsi être à l'origine d'interférences lors de la détection de molécules cibles (Taylor et Curhan, 2006).

Le Tableau 38 présente des valeurs moyennes retrouvées dans la littérature des différents composés de l'urine.

	Taylor et Curhan, 2007	Taylor et Curhan, 2007	Siener et Albrecht, 2002	Cameron et al., 2006	Anastasio et al., 2001	Lind et al., 2001
рН	6,08	6,19	6,51	6,05	-	-
Volume (L)	2,03	1,79	2,3	2,1	1,3	-
Sulfate (mmol)	17	14	18,1	18,5	-	-
Potassium (mmol)	64	55	77	60	53,5	-
Magnésium (mmol)	4,3	3,8	-	-	-	-
Calcium (mmol)	4,6	3	3,09	-	-	-
Bicarbonate (mmol)	-	-	-	4,7	-	-
Ammonium (mmol)	-	-	25,6	29	-	-
Citrate (mmol)	3,7	3,5	-	3,7	-	-
Urée (mmol)	-	-	-	-	351	300
Acide urique (mmol)	2,7	2,7	2,93	2,9	-	-
Créatinine (mmol)	9,2	10,8	15,32	-	-	-

Tableau 38 : Composition générale de la matrice urinaire (valeurs moyennes retrouvées dans la littérature)

Notre intérêt s'est porté sur les composés organiques de l'urine à savoir l'urée, l'acide urique et la créatinine (Tableau 38). Leur spectre UV a été réalisé dans de l'EUP (Figure 82). L'acquisition des spectres UV a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre de laboratoire dans une cuve en quartz de trajet optique 10 mm (Tableau 20 - Partie 2 §4.3.2.3.).

Comme le montre la Figure 82, à 5 mg/L, l'urée (A) ne présente pas de spectre caractéristique contrairement à l'acide urique (2 pics : 227 et 291 nm) (B) et à la créatinine (1 pic à 233 nm) (C).

Des tests de rétention sur les cartouches Strata-SAX et Oasis-HLB ont été réalisés en faisant percoler des solutions de chacune des molécules à 5 mg/L dans de l'EUP sur chacune des 2 cartouches. Les spectres UV obtenus avant et après percolation ont alors été comparés. Ces tests de rétention ont montré que l'acide urique et la créatinine ne sont retenues sur aucune des 2 cartouches. Ces 2 molécules (pKa=4,4 pour l'acide urique ; pKa=3,55 pour la créatinine – Annexe 6) ne sont pas anioniques au pH considéré (pH 6,2, pH de l'EUP) ce qui explique la non rétention sur la cartouche Strata-SAX. A noter que ces deux molécules ne sont également pas anioniques dans la matrice urinaire dont le pH peut varier entre 6,05 et 6,51 (Tableau 38). La non rétention sur la cartouche Oasis-HLB peut s'expliquer par un caractère hydrophile marqué (créatinine : log P= -1,76 ; acide urique : log P= -2,66).



Figure 82 : Composés de l'urine susceptibles d'interférer

3. Substances sélectionnées lors de l'application de la méthode MSP2E à l'urine humaine

Le nombre d'études s'intéressant à la présence de micropolluants organiques (pesticides, produits pharmaceutiques, drogues) dans des matrices biologiques (sang, urine) ne cesse de se multiplier (Badoud et al., 2011 ; Feng et al., 2007 ; Boleda et al., 2007. Diaz et al., 2012 ; Li et al., 2013 ; Samanidou et al., 2013 ; Berman et al., 2013a ; Bandzuchova et al., 2013).

Les micropolluants organiques (pesticides, produits pharmaceutiques, drogues) peuvent se retrouver dans les urines humaines suite à deux voies d'exposition (ANSES, 2010) :

- **Exposition indirecte** par l'alimentation, la contamination de l'air extérieur et intérieur, des sols ou des poussières intérieures (pesticides, perturbateurs endocriniens)
- **Exposition directe** par ingestion ou injection de produits pharmaceutiques ou de drogues (Jimenez Giron et al., 2012; Badoud et al., 2011).

Dans le cas de l'exposition indirecte, les concentrations en micropolluants organiques retrouvées dans les urines sont de l'ordre du μ g/L. Ainsi, une récente étude réalisée aux Etats-Unis, montre que les concentrations en pesticides organophosphorés dans les urines sont en moyenne de 2 μ g/L (Trunnelle et al., 2014). Cette étude précise que la principale source de contamination par ces pesticides est le contact avec les nettoyants ménagers (Trunnelle et al., 2014). De même, Berman et al. (2013b) ont montré que les concentrations dans les urines de certains pesticides organophosphorés avec un contact par inhalation sont au maximum de 13 μ g/L. La présence de pesticides dans les urines est le signe d'une exposition involontaire à ces composés, exposition qui peut avoir des effets négligeables sur la santé (Huen et al., 2012).

Dans le cas d'une exposition directe, comme c'est le cas lors de la prise d'un médicament, les concentrations dans les urines dépendent de la quantité excrétée en tant que molécule inchangée et sont de quelques μ g/L au mg/L. Ainsi, Azzouz et Ballesteros (2012) ont réalisé une étude sur la présence de produits pharmaceutiques (œstrogènes et anti-inflammatoires non stéroïdiens) et les concentrations de ces substances dans les urines sont de quelques μ g/L (maximum 4 μ g/L). Par contre, une autre étude montre que la concentration dans les urines de certains anti-inflammatoires non stéroïdiens peut varier entre 100 μ g/L pour le diclofénac et 2,5 mg/L pour l'ibuprofène (Sarafraz-Yazdi et al., 2012).

Comme pour la sélection des molécules pour la matrice eau, les substances sélectionnées pour appliquer la méthode MSP2E à l'urine humaine doivent d'une part être solubles dans l'urine et être détectables par spectrophotométrie UV.

Huit substances ont été sélectionnées pour leurs caractéristiques physico-chimiques, un spectre UV caractéristique et leur présence dans les urines décrite dans la littérature. Ainsi, le choix s'est porté sur 6 substances à usage pharmaceutique (la carbamazépine, l'acétaminophène, le diclofénac, la caféine, l'hydrochlorothiazide, l'anastrozole), et 2 pesticides (le diazinon, et le 2,5-dichlorophénol). Parmi les 6 substances pharmaceutiques, 3 sont considérées selon l'agence mondiale anti-dopage (AMA) comme des substances dopantes et leur usage est soit complètement interdit soit contrôlé (AMA, 2011).

3.1. Choix des pesticides

Le diazinon (étudié lors du développement de la méthodologie MSP2E dans l'eau) et le 2,5-dichlorophénol, métabolite principal du paradichlorobenzène, ont été choisis parmi les pesticides pour cette étude sur l'urine humaine.

Le diazinon fait partie des pesticides organophosphorés, catégorie de pesticides très largement utilisée en France, dont la principale source d'exposition est par voie orale (ingestion d'aliments contaminés) (Fréri et al., 2013). Les concentrations de diazinon retrouvées dans les urines sont faibles. Selon une étude réalisée sur des femmes d'une région agricole, les concentrations de ce pesticide dans les urines sont inférieures à $0,5 \mu g/L$ (Huen et al., 2012).

Un métabolite, le 2,5-dichlorophénol, souvent utilisé comme biomarqueur de l'exposition aux pesticides organochlorés est employé comme désodorisant, désinfectant et pour lutter contre les insectes et les petits rongeurs (utilisation en tant qu'antimite interdit en France depuis 2009) (Fréri et al., 2013 ; Yusa et al., 2012). Le 2,5-dichlorophénol est utilisé comme biomarqueur car il est rapidement éliminé dans les urines ce qui permet de déterminer rapidement la source d'exposition (Mortensen et al., 2014).

L'exposition au 2,5-dichlorophénol peut se faire par inhalation lorsque le paradichlorobenzène est utilisé en tant que désodorisant et antimites et par contact cutané et par ingestion lors de contact direct avec les surfaces traités (Fréri et al., 2013). Fréri et al. (2013) présentent une étude de l'institut de veille sanitaire, réalisée en 2006-2007 auprès d'un échantillon représentatif de la population résidant en France métropolitaine. Cette étude montre que la concentration urinaire moyenne en 2,5-dichlorophénol est de 10,6 μ g/L (Fréri et al., 2013). De même, une étude réalisée aux Etats-Unis où le 2,5-dichlorophénol est fréquemment retrouvé dans des teintures, des pesticides, et en tant que métabolite de composés rentrant dans la composition de désodorisants, montre que les concentrations dans les urines varient entre 2,5 et

20 µg/L (Mortensen et al., 2014). Notre choix s'est porté sur le 2,5-dichlorophénol de par son utilisation en tant que biomarqueur et la diversité de ses sources d'exposition.

3.2. Choix des produits pharmaceutiques

Le choix des produits pharmaceutiques s'est porté sur un anti-inflammatoire non stéroïdien (le diclofénac), un antidouleur (l'acétaminophène), et un antiépileptique, prescrit également en tant que régulateur de l'humeur (la carbamazépine). Le choix s'est porté sur ces molécules car elles font partie de la liste des molécules étudiées lors du développement de la méthode MSP2E dans l'eau.

De plus, la carbamazépine, l'acétaminophène et le diclofénac font partie des substances pharmaceutiques les plus consommées à travers le monde (Zhang et al., 2008 ; Antunes et al., 2013). En effet, la consommation annuelle en diclofénac et en carbamazépine est estimée respectivement à 940 et 1014 tonnes (Landry et Boyer, 2013 ; Zhang et al., 2008). En France, la consommation annuelle est de près de 3 000 tonnes pour l'acétaminophène, 27 tonnes pour le diclofénac et 33 tonnes pour la carbamazépine (Ortiz de Garcia et al., 2013).

Le Tableau 39 présente les substances pharmaceutiques étudiées dans la matrice urinaire. La concentration attendue dans les urines humaines a été calculée en se basant sur le volume moyen excrété par jour (Tableau 38, entre 1,3 et 2,3 L) et la dose journalière habituellement prescrite pour chacune des substances.

Tableau 39 : Substances pharmaceutiques étudiées dans l'urine avec le % d'extraction et la concentration attendue en fonction de la dose journalière ou ponctuelle ingérée (* : la concentration attendue a été calculée en fonction du volume d'urine éliminé par jour)

Substance	Dose journalière ou ponctuelle (mg) (Vidal, 2013)	% excrété dans les urines (Vidal, 2013)	Concentration attendue (mg/L)
Acétaminophène	500 - 1000	5	10,8 - 38,4
Carbamazépine	400 - 2000	2	3,5 - 31
Diclofénac	25 - 100	1	0,1 - 0,8

Le Tableau 39 montre que les concentrations journalières attendues dans les urines sont de l'ordre du mg/L.

3.3. Choix des molécules dopantes

La liste des substances dopantes est proposée par l'agence mondiale anti-dopage (AMA). Les substances dopantes sont classées en cinq groupes principaux (AMA, 2011) :

- Les **agents anabolisants** : stimulent la synthèse des protéines du tissu musculaire et de l'os et peuvent être utilisés dans le but d'améliorer l'aptitude physique des athlètes
- Les hormones et substances apparentées : l'érythropoïétine (EPO) figure en première position depuis son introduction dans la liste en 1990. L'EPO, hormone endogène, favorise la production de globules rouges et donc l'oxygénation tissulaire lors d'efforts extrêmes
- Les β -2 agonistes : sont consommés pour augmenter la masse musculaire et améliorent également la capacité d'entraînement (psychostimulants et bronchodilatateurs).
- Les **antagonistes et modulateurs hormonaux** : sont utilisés dans le dopage en accompagnement de la prise de stéroïdes anabolisants
- Les **diurétiques et agents masquant** : masquent la prise d'agent dopant par dilution des urines ou modification du profil hormonal, ou permettent une perte de masse dans les disciplines où le poids est un critère de classification

D'autres substances comme les stimulants, les narcotiques et les cannabinoïdes sont également interdites en compétition. Ainsi, la caféine (groupe des stimulants) a été étudiée dans l'urine. Cette molécule, marqueur de l'activité anthropique et pouvant être présente dans certains médicaments, est également considérée comme un produit dopant si sa concentration dans les urines dépasse 12 mg/L. Les résultats des laboratoires accrédités par l'agence mondiale de lutte contre le dopage ont été analysés pour chacun des groupes afin de sélectionner quelques molécules dopantes selon leur fréquence d'utilisation, et leurs caractéristiques physico-chimiques (AMA, 2011). Pour des raisons d'autorisation, il est difficile de se procurer la majorité des produits dopants. Ainsi, notre choix s'est porté sur le groupe des diurétiques et des agents masquant et le groupe des antagonistes et modulateurs hormonaux. En 2011, l'hydrochlorothiazide a été le produit masquant ou diurétique le plus retrouvé dans les urines lors de contrôles anti-dopage réalisés par l'AMA (AMA, 2011). Lors d'un traitement médical, la dose journalière prescrite d'hydrochlorothiazide est de 25 mg et le pourcentage excrété en tant que molécule inchangée est de 95% (Vidal, 2013). En considérant que le volume d'urine quotidien est compris ente 1,3 et 2,3 L (Tableau 38), la concentration attendue dans les urines est comprise entre 10 et 18 mg/L. Les deux premières substances du groupe des produits antagonistes et modulateurs hormonaux les plus retrouvées dans les urines lors de contrôles anti-dopage sont le tamoxifen et le clomiphène. Mais, ces deux dernières substances sont insoluble dans l'eau, pour le clomiphène, ou très faiblement soluble dans l'eau (solubilité dans l'eau du tamoxifen 400 μ g/L) (Hu et al., 2006 ; Vaghasiya et al., 2013).

Ainsi, l'anastrozole (solubilité dans l'eau : 500 mg/L) placée en troisième position des produits antagonistes et modulateurs hormonaux les plus retrouvés lors des contrôles anti-dopage a été choisi (Xi et al., 2010). La sélection des molécules dopantes s'est donc portée sur la caféine (stimulant), l'hydrochlorothiazide (groupe des diurétiques et des agents masquant) et l'anastrozole (inhibiteur de l'aromatase, groupe des antagonistes et modulateurs hormonaux).

3.4. Spectres UV des substances d'intérêt

Les caractéristiques physico-chimiques des substances d'intérêt pour l'application de la méthode MSP2E à la matrice urinaire sont présentées en Annexe 6 et leur spectre UV est présenté dans la Figure 83.

En ce qui concerne les pesticides, le diazinon et le 2,5-dichlorophénol présentent des spectres UV caractéristiques avec respectivement un pic à 247 nm (Figure 83-A) et un épaulement à 224 nm et un pic à 281 nm (Figure 83-B). En ce qui concerne les molécules pharmaceutiques, le spectre UV de l'acétaminophène présente un pic à 243 nm (Figure 83-C), le spectre UV de la carbamazépine présente 2 pics à 221 et 285 nm (Figure 83-D) et le spectre UV du diclofénac présente un pic à 276 nm (Figure 83-E). Enfin, en ce qui concerne les molécules pharmaceutiques considérées comme des produits dopants par l'AMA, le spectre UV de la caféine présente 2 pics à 205 et 273 nm (Figure 83-F) et le spectre UV de l'hydrochlorothiazide présente 2 pics à 225 et 271 nm (Figure 83-H). L'anastrozole (Figure 83-G) ne présente pas de spectre UV caractéristique et ne sera donc pas étudiée dans cette partie.



Figure 83 : Spectres UV des molécules d'intérêt (* : molécules pharmaceutiques considérées comme dopantes par l'AMA)

4. Optimisation de la méthode MSP2E adaptée à la matrice urinaire suivie d'une analyse par spectrophotométrie UV

Les étapes de la SPE (conditionnement, percolation, lavage et élution) ont été réalisées manuellement à l'aide d'un collecteur d'extraction sous vide. L'urine humaine recueillie chaque jour et prétraitée (filtration, centrifugation) est diluée, puis 10 mL sont percolés sur les deux cartouches commerciales Strata-SAX (500 mg) et Oasis-HLB (225 mg) selon la procédure MSP2E (Figure 84).



Figure 84 : Procédure MSP2E (Rappel)

4.1. Dilution de la matrice

La matrice urinaire brute est trop concentrée en molécules endogènes (urée, créatinine, acide urique,...) et doit donc être diluée afin d'éviter d'une part de saturer les phases solides et d'autre part de masquer (au niveau du spectre UV) les molécules cibles lors des élutions.

Trois dilutions d'urine prétraitée (avant percolation) ont été testées : 10, 20 et 100 afin d'évaluer l'effet de la dilution sur la détection UV (Figure 85). Les fractions d'élution obtenues lorsque l'urine prétraitée est diluée par 10 présentent des signaux résiduels importants (saturation des signaux) nécessitant des dilutions supplémentaires des fractions par 3, 5, 20 et même 50 afin d'obtenir un signal non saturé. Les essais réalisés à partir d'une urine prétraitée et diluée par 20, montrent que les fractions obtenues doivent également être diluées mais de manière moins importantes (facteur de dilution compris entre 2 et 10). Enfin, les signaux UV des fractions obtenues à partir de l'urine prétraitée diluée par 100 ne nécessitent pas de dilution supplémentaire.

Au final, les facteurs de dilution totaux prenant en compte la dilution de l'urine prétraitée et la dilution des différentes fractions d'élution sont (Tableau 40) :

- dans le cas de l'urine prétraitée diluée par 10, compris entre 10 et 500
- dans le cas de l'urine prétraitée diluée par 20, compris entre 20 et 200
- dans le cas de l'urine prétraitée diluée par 100, de 100.

	Facteur de dilution total				
	Dilution de l'urine	Dilution de l'urine	Dilution de l'urine		
	brute par 10	brute par 20	brute par 100		
A1	200	200	100		
A2	200	200	100		
E1	500	100	100		
E2	50	20	100		
E3	30	20	100		
E4	10	20	100		

Tableau 40 : Facteur de dilution total pour chacune des fractions d'élution en fonction de la dilution initialement réalisée sur l'urine brute (en gras : facteur de dilution total le plus faible)

D'après le Tableau 40 et la Figure 85, la dilution de l'urine prétraitée par 20 permet de diminuer les signaux résiduels dus aux interférents (essentiellement présents dans les fractions A1, A2, E1 et E2) tout en limitant le facteur de dilution total.

Afin de réaliser un compromis entre la diminution des signaux résiduels dus aux interférents et l'impact du facteur de dilution total sur la détection des molécules d'intérêt, une dilution de l'urine brute par 20 a été choisie.



Figure 85 : Spectres UV des différentes fractions d'élution en fonction de la dilution de l'urine avant percolation

4.2. Intérêt de la cartouche Strata-SAX

Avec une dilution de l'urine prétraitée par 20, les spectres UV des fractions Strata-SAX (Figure 85 – B) nécessitent une dilution supplémentaire d'un facteur 10. Le facteur total de dilution est alors important et le signal résiduel masque d'éventuelles molécules. Ainsi, l'utilité de la cartouche Strata-SAX a été discutée. L'importance de la cartouche Strata-SAX comme cartouche de garde pour une meilleure sensibilité a été montrée en comparant les spectres UV des fractions issues de la cartouche Oasis-HLB après percolation directe sur cette dernière avec ceux des fractions obtenues après percolation sur les deux cartouches en série (Figure 86).

Quelle que soit la fraction d'élution, les spectres UV obtenus présentent des interférences plus importantes (absorbances plus élevées) lors de l'utilisation d'une cartouche Oasis-HLB uniquement. Une pré-cartouche Strata-SAX permet de diminuer assez fortement l'amplitude des signaux ce qui facilite la détection et l'identification d'une molécule d'intérêt retenue sur la phase solide Oasis-HLB.

A noter que le diclofénac est une molécule anionique et donc retenue et éluée sur la cartouche Strata-SAX, elle ne sera donc pas étudiée dans l'urine humaine.



Figure 86 : Comparaison des signaux UV obtenus lors de l'utilisation d'une cartouche Oasis-HLB précédée ou non d'une cartouche Strata-SAX

4.3. Evolution des éluants

Les éluants déterminés lors du développement de la méthode MSP2E pour la matrice eau (ACN/EUP 30/70 (V/V) et ACN/EUP 70/30 (V/V)) sont conservés dans le cas de l'urine humaine mais une pré-élution supplémentaire a été définie afin de diminuer davantage les interférences présentes lors des élutions E1 et E2 (Figure 85-E et Figure 86-A et B). Cette pré-élution doit pouvoir diminuer l'impact des interférents sur le signal sans pour autant éliminer les molécules d'intérêt.

Pour cela, une solution (10 mL) d'urine prétraitée, diluée et dopée avec de la caféine a été percolée sur les cartouches et un pré-éluant composé d'ACN et d'EUP (composition croissante en ACN 2, 3, 4 et 5%) a été évalué. Un volume de 5 mL d'un mélange ACN/EUP 4/96 (V/V) permet d'éliminer le maximum d'interférent sans éluer la caféine (Figure 87).



Figure 87 : Pré-élution de 5 mL avec un mélange ACN/EUP 4/96 (V/V)

Actuellement, l'interférent n'a pas été identifié parmi les différents composés de l'urine. Mais d'après le pourcentage d'ACN faible nécessaire pour en éliminer une partie, ce composé doit être polaire avec un log P inférieur à celui de la caféine (log P=-0,13).

La méthode MSP2E adaptée à l'urine consiste finalement en une étape de préconcentration sur une cartouche Oasis-HLB précédée d'une cartouche de garde Strata-SAX. La cartouche Oasis-HLB est pré-éluée avec un mélange ACN/EUP 4/96 (V/V) avant d'être éluée (Figure 88).



Figure 88 : Méthode MSP2E adaptée à la matrice urinaire

4.4. Optimisation des volumes d'élution

Après percolation de 10 mL d'urine prétraitée et diluée par un facteur 20 et dopée avec une des molécules d'intérêt, des tests d'élution ont été réalisés en triplicat avec une série de 10 fractions d'élution successives de 500 µL de l'éluant considéré (ACN/EUP 30/70 (V/V) et ACN/EUP 70/30 (V/V)) afin de déterminer un volume d'élution permettant un pourcentage d'extraction supérieur à 70%.

Les fractions, qui contiennent une quantité négligeable (< 5%) de l'analyte, ne sont pas prises en compte pour déterminer le volume d'élution final afin de ne pas diminuer le facteur de concentration. Ainsi, une première élution E1 (ACN/EUP 30/70 (V/V)) de 3 mL est réalisée afin d'éluer l'acétaminophène et la caféine. La deuxième élution E2 réalisée avec le mélange ACN/EUP 70/30 (V/V) avec un volume de 1,5 mL permet d'éluer la carbamazépine et l'hydrochlorothiazide. Enfin, une élution contenant uniquement de l'ACN (3 mL) permet d'éluer le diazinon et le 2,5-dichlorophénol.

4.5. Fractionnement des molécules

La Figure 89 montre que les molécules sont bien éluées en fonction de leur log P. La caféine (log P= -0,13±0,37) et l'acétaminophène (log P= 0,34±0,21) qui sont les plus polaires sont éluées dans la fraction d'élution E1. L'hydrochlorothiazide (log P= 0,84±0,28) est éluée dans les fractions E1 et E2. La carbamazépine (log P=2,67±0, 38) est éluée dans la fraction E2. Enfin, le 2,5-dichlorophénol (log P=2,88±0,24) et le diazinon ((log P=2,75±0,40) moins polaires, sont élués à la fois dans la fraction d'élution E2 et dans la fraction E3.



Figure 89 : Fractionnement des molécules en fonction de leur polarité

Malgré l'ajout d'une pré-élution de 5 mL et malgré l'optimisation des volumes d'élution, les spectres UV des fractions d'élution de la cartouche Oasis-HLB de l'urine non dopée (Figure 90-D, H et L) montrent que la matrice en elle même va plus ou moins interférer lors de l'étape de détection. La fraction d'élution E1 (Figure 90-D) présente un spectre résiduel (présence d'un pic à 270 nm). Les spectres liés aux fractions d'élution E2 et E3 (Figure 90-H et L) sont décroissants monotones et vont donc moins gêner la détection des molécules d'intérêt.

L'acétaminophène (Figure 90-A), la caféine (Figure 90-B) et l'hydrochlorothiazide (Figure 90-C) sont éluées dans la fraction E1. Le spectre de la caféine est reconnaissable (Figure 86) de par notamment un pic à 273 nm (Figure 90-B). La fraction d'élution E1 obtenue après le dopage de l'urine diluée par de l'acétaminophène (Figure 90-A) présente un épaulement à 240 nm, qui doit être lié au pic de l'acétaminophène présent à 243 nm (Figure 83-C).

La détection de l'acétaminophène va être facilitée par l'utilisation du logiciel de déconvolution. En effet, ce dernier va soustraire au spectre UV de la fraction E1 obtenue après le dopage de l'urine (prétraitée et diluée) par de l'acétaminophène le spectre de la fraction E1 obtenue sans dopage de l'urine prétraitée et diluée.

Pour les fractions d'élution E2 et E3, les spectres interférents étant plus faibles, la détection et l'identification des composés sont facilitées. Ainsi, le diazinon est identifiable (Figure 86 et Figure 90-E) avec un pic caractéristique à 247 nm. De même,

l'hydrochlorothiazide est plus facilement identifiable dans l'élution E2 (Figure 90-G et Figure 86) que dans l'élution E1 (Figure 90-C). En effet, le spectre UV de la fraction E1 obtenu après le dopage de l'urine (prétraitée et diluée) avec l'hydrochlorothiazide présente un pic à 271 nm pouvant être confondu avec le pic lié à l'interférent présent dans cette même fraction d'élution (Figure 90-D). Par contre, le spectre UV de la fraction E2 obtenu après le dopage de l'urine (prétraitée et diluée) avec l'hydrochlorothiazide présente 2 pics à 225 et 271 nm, pics caractéristiques du spectre UV de cette molécule.



Figure 90 : Spectres UV des différentes fractions sans et avec dopage (ACE : acétaminophène ; DIAZ : diazinon ; CAF : caféine ; CARBA : carbamazépine ; HYDRO : hydrochlorothiazide ; DCP : 2,5-dichlorophénol)

ELUTION 3 E3 : ACN (3 mL)



Figure 90 : Spectres UV des différentes fractions sans et avec dopage (ACE : acétaminophène ; DIAZ : diazinon ; CAF : caféine ; CARBA : carbamazépine ; HYDRO : hydrochlorothiazide ; DCP : 2,5-dichlorophénol) (fin)

Le schéma d'élution (Figure 91) présente la méthodologie finale MSP2E pour la matrice urinaire.



Figure 91 : Fractionnement MSP2E adapté à la matrice urinaire (Pe signifie pré-élution)

4.6. Pourcentages d'extraction

Les pourcentages d'extraction ont été estimés à l'aide du logiciel de déconvolution en prenant comme base de référence l'urine (prétraitée et diluée) non dopée dans chacune des fractions et dans le modèle, chacune des molécules d'intérêt.

Les pourcentages d'extraction sont estimés sur trois échantillons issus de trois urines différentes (même personne, trois jours différents) (Tableau 41).

Molécule	Pourcentage d'extraction (%) ± écart-type				
	E1	E2	E3		
Caféine	102 ± 1	-	-		
Acétaminophène	45 ± 1	-	-		
Hydrochlorothiazide	35 ± 4	42 ± 3	-		
Carbamazépine	-	70 ± 6	-		
2,5-Dichlorophénol	-	10 ± 3	35 ± 10		
Diazinon		10 ± 2	42 ± 4		

Tableau 41 : Pourcentages d'extraction obtenus avec les écart-types (n=3)

Pour chacun des triplicats, la concentration finale après dopage et après dilution est de 300 µg/L pour la carbamazépine, de 500 µg/L pour la caféine, l'acétaminophène et l'hydrochlorothiazide, de 1,5 mg/L pour le 2,5-dichlorophénol et enfin de 8 mg/L pour le diazinon. Ces concentrations ont été choisies en fonction des caractéristiques spectrales de chacune des molécules (coefficient d'extinction molaire – Annexe 6).

Les pourcentages d'extraction obtenus pour la caféine et la carbamazépine sont assez élevés (> 70%) en revanche le pourcentage d'extraction du 2,5-dichlorophénol est faible (10%). Le pourcentage d'extraction faible pour cette dernière molécule peut être lié d'une part à une élution dans deux fractions et d'autre part à son coefficient d'extinction molaire qui est plus faible que pour les autres molécules (Annexe 6) pouvant induire une sous-estimation du pourcentage d'extraction.

Le pourcentage d'extraction obtenu pour l'acétaminophène est inférieur à 50% lors d'une concentration initiale de 500 μ g/L mais peut atteindre 75% lors d'une concentration plus élevée (1,5 mg/L). Ainsi, une sous-estimation de la concentration a pu être induit par la matrice et par le manque de sensibilité de la détection UV.

L'hydrochlorothiazide est éluée dans deux fractions d'élution, ce qui peut altérer la détection lors d'une concentration inférieure à 500 µg/L. Cependant, dans les conditions opératoires, le pourcentage d'extraction de cette molécule est de près de 77%.

4.7. Concentrations dans les urines

La limite de détection a été définie dans le cas de l'urine comme étant la concentration minimale à laquelle le signal de la molécule se distingue. Les limites de détection ainsi déterminées sont dans nos conditions opératoires de 1,6 mg/L pour la caféine, de 3 mg/L pour la carbamazépine, de 5 mg/L pour l'acétaminophène et l'hydrochlorothiazide, de 20 mg/L pour le 2,5-dichlorophénol et de 40 mg/L pour le diazinon. Ces concentrations sont très supérieures à celles que les systèmes chromatographiques peuvent détecter (de 0,02 jusqu'à 500 µg/L selon les molécules) (Tableau 42). Par contre en ce qui concerne la caféine, la limite de détection de la méthode MSP2E est inférieure à la concentration maximale autorisée (12 mg/L) par l'AMA (AMA, 2011). Ainsi, la méthode MSP2E pourrait être utilisée par exemple sur le lieu de certaines compétitions afin de détecter certaines substances considérées comme dopantes. Cette méthode serait bien évident suivie d'une analyse chromatographique classique.

Molécule	MSP2E/UV (mg/L)	Limites de détection (µg/L)	Références
Hydrochlorothiazide	5	125	Badoud et al., 2011
Diazinon	40	0,02-0,5	Baker et al., 2000
2,5-Dichlorophénol	20	0,2;	Casas et al., 2011
		10	Lai et al., 2006
		0,03	Fréri et al., 2013
Acétaminophène	5	100	Abu-Qare et Abou-Donia,
			2001
Carbamazépine	3	500	Ambrose et al., 1998
Caféine	1,6	242	Ptolemy et al., 2010
		10	Tuomi et al., 1999

Tableau 42 : Comparaison des limites de détection obtenues avec la méthode MSP2E avec celles des méthodes analytiques standards

5. Conclusion

La méthode MSP2E présente l'avantage d'être beaucoup moins onéreuse que les méthodes classiques chromatographiques et permet d'utiliser les phases solides comme un outil de fractionnement dans le cas de l'urine. Cette méthode présente également l'avantage de pouvoir être utilisée rapidement sur site. Dans le cas de la matrice urinaire, le site en question pourrait être par exemple le lieu de certaines compétitions sportives afin de pouvoir détecter de manière rapide certaines molécules dopantes.

Au vue des limites de détection obtenues (Tableau 42) et des concentrations attendues dans les urines selon le mode d'exposition (Tableau 39) :

- les substances pharmaceutiques étudiées (acétaminophène, carbamazépine) et les produits dopants et assimilées (caféine et hydrochlorothiazide) peuvent être détectés directement par spectrophotométrie UV,
- une analyse chromatographique est nécessaire pour détecter les pesticides étudiés (2,5-dichlorophénol et diazinon) après l'étape de fractionnement.

La méthode mise en place permet de simplifier et de nettoyer l'échantillon à analyser ce qui permet de faciliter la détection et l'identification. La méthode MSP2E peut être utilisée dans l'eau mais peut également être transposée à d'autres matrices comme l'urine humaine dans le cas où le mode d'exposition a été direct (ingestion) comme c'est le cas pour les produits pharmaceutiques et les dopants. Dans le cas où les concentrations dans l'urine sont trop faibles pour être détectées directement par spectrophotométrie UV, le principe de fractionnement se basant sur la superposition de 2 phases solides SPE et sur les propriétés physico-chimiques (log P, pka) des molécules peut toujours être employé.
Conclusion générale

La présence de micropolluants organiques dans les milieux aquatiques est de plus en plus d'actualité. Les lois nationales et européennes (la Loi sur l'Eau et les Milieux Aquatiques de 2006 et Directive Cadre sur l'Eau de 2000) visent à l'obtention d'un bon état écologique de l'eau ce qui incite la communauté scientifique à développer de nouvelles technologies analytiques pouvant détecter ces composés à l'état de traces voire d'ultra-traces. Ces molécules peuvent aussi bien être des molécules contrôlées (règlementées), comme les pesticides, qu'émergentes comme les produits pharmaceutiques et d'hygiène corporelle (PPCP) et les hormones. Dans certaines circonstances (évènements climatiques exceptionnels, évènements accidentels ou intentionnels), les concentrations retrouvées peuvent atteindre plusieurs dizaines ou centaines de µg/L et une réactivité des services sanitaires et de santé est alors demandée de manière à prendre toutes les mesures nécessaires afin de protéger les populations et l'environnement. Des méthodes sur site, par exemple en ligne, peuvent alors être utilisées afin de fournir un pré-diagnostic rapide. Actuellement, certaines techniques de ce type se développent mais sont pour la plupart peu spécifiques.

Dans cette optique, ces travaux de thèse ont eu pour objectif de développer un analyseur pouvant être utilisé sur site permettant une détection rapide de micropolluants organiques dans l'eau (eau de surface, eau de distribution) notamment dans le cadre de pollutions accidentelles.

Plus précisément, une méthode, nommée MSP2E (multiple solide phase double extraction), permettant d'identifier rapidement (en moins de 2 heures) une pollution organique a été mise en place. Elle repose sur :

- l'utilisation de multiples phases solides pour séparer les molécules selon leurs propriétés physico-chimiques : plus précisément leur charge (molécules anioniques) pour la rétention sur la première phase solide (Strata-SAX) et leur polarité pour l'élution des molécules neutres et cationiques sur la deuxième phase solide (Oasis-HLB),
- la séparation des molécules retenues sur la phase solide Oasis-HLB via l'emploi d'un gradient d'élution consistant en un mélange d'acétonitrile et d'eau ultra pure. Ce fractionnement par gradient permet de simplifier les spectres UV de chacune des fractions et d'orienter vers une identification,
- une détection par spectrophotométrie UV couplée à une banque de données spectrales permettant une identification en fonction de la fraction d'élution.

L'originalité de ce travail repose sur l'utilisation de l'extraction sur phase solide (SPE) en tant, qu'outil de préconcentration mais également et surtout en tant qu'outil **de séparation et de fractionnement**. Ce fractionnement permet de simplifier la matrice (eau de surface, eau de consommation) et facilite la détection et l'identification d'un composé organique. Dans le cadre de ce projet, cette dernière n'est rendue possible que si le système est lié à une banque de données spectrales regroupant d'une part les caractéristiques physico-chimiques et spectrales des molécules et d'autre part leur capacité de rétention et leur schéma d'élution.

Si le signal de chacune des fractions ne permet pas une identification, plusieurs hypothèses peuvent être émises :

- la molécule incriminée ne présente pas de spectre UV ce qui va nécessiter une analyse chromatographique en laboratoire pour permettre sa détection,
- la concentration de la molécule d'intérêt est trop faible pour pouvoir être détectée par spectrophotométrie UV ce qui va également nécessiter l'emploi d'un système chromatographique plus sensible,
- le signal est significatif (présence de pic), mais soit représentatif d'un mélange, ce qui implique l'utilisation d'un logiciel de déconvolution pour séparer les signaux des molécules, soit la molécule présente n'est pas répertoriée dans la banque de données spectrales. Dans ce cas une analyse chromatographique en laboratoire est réalisée.

La méthodologie MSP2E a montré que la séparation et le fractionnement des molécules organiques peuvent être prédits par leurs propriétés physico-chimiques en particulier leur polarité. Cette prédiction a été affinée par l'étude de 44 molécules de manières individuelles et validée sur un mélange de pesticides. Au total, près de 85 molécules ont été étudiées dans l'eau ultra pure, de l'eau de surface et de l'eau de consommation.

Ce travail a également permis de mettre en évidence une capacité de charge limitée de la phase solide Strata-SAX ce qui peut restreindre la rétention des molécules anioniques en fonction de la concentration ionique des solutions étudiées. Ce verrou a pu être partiellement levé par l'ajout d'une pré-cartouche à base de phase solide Strata-SAX et de masse variable : la masse de cette pré-cartouche devant être proportionnelle à la conductivité de la solution (concentration ionique).

De plus, l'analyseur automatisé mis en place au cours de ces travaux pourra être amélioré par l'ajout d'une pompe péristaltique après l'étape d'élution permettant ainsi une homogénéisation de la solution avant l'étape de détection.

L'intérêt de la méthode MSP2E est de concentrer l'échantillon directement en évitant les pertes de temps liées au transport. Si les analyses par spectrophotométrie UV réalisées sur site ne sont pas suffisantes pour l'identification des composés, les fractions d'élution peuvent alors être transportées au laboratoire pour une analyse chromatographique. Selon les molécules considérées et la fraction d'élution dans laquelle elles sont éluées, les limites de détection varient entre 0,8 et 120 μ g/L. En considérant un pourcentage d'extraction d'au moins 75%, 70% des molécules étudiées présentent une limite de détection inférieure à 20 μ g/L, concentration susceptible d'être retrouvée lors d'évènements accidentels ou intentionnels dans les eaux de surface.

Enfin, la méthodologie MSP2E a été transposée et étudiée pour la détermination de molécules (pesticides, produits pharmaceutiques et dopants) dans l'urine humaine. Dans ce cas, cette méthodologie permet de simplifier fortement la matrice en éliminant des interférents. Mais afin d'atteindre certaines concentrations retrouvées dans les urines humaines notamment lors d'une exposition aux pesticides (µg/L), des analyses chromatographiques de chacune des fractions peuvent être envisagées. Dans le cas de l'urine, matrice complexe, la cartouche Strata-SAX sert de pré-cartouche afin d'éliminer les interférences. De plus, une pré-élution comportant 4% d'acétonitrile a été rajoutée avant l'élution de la cartouche Oasis-HLB afin de s'affranchir d'un résiduel interférent. Le même schéma d'élution fractionnée a été mis en évidence en se basant sur un gradient d'élution d'acétonitrile et d'eau. Concernant la problématique de la matrice urinaire, des essais réalisés sur l'analyseur laissent à penser que des optimisations doivent être apportées au niveau des débits de percolation ou d'élution ou lors du compactage des phases dans les cartouches afin d'extraire et de séparer de manière automatisée les molécules présentes dans les urines.

Afin d'appréhender des problématiques pratiques comme l'ergonomie, le poids, l'encombrement, le système de filtration ainsi que la facilité d'utilisation par tout opérateur, des tests sur site avec le prototype terrain de l'analyseur devront être réalisés (finalisation du projet UV-Trace).

Lors de l'emploi de l'analyseur dans le cas de la détection de micropolluants organiques dans l'eau, le matériel a montré certaines limites :

- Des bulles peuvent apparaître dans le système hydraulique ce qui peut soit fausser les volumes d'élution soit empêcher la réalisation de ligne de base ou du spectre UV interrompant ainsi la séquence d'analyse.
- Afin de faciliter l'identification des molécules dans les différentes fractions d'élution, la comparaison des spectres des fractions avec ceux de la banque de données spectrales pourrait être automatisée. De plus, le logiciel de déconvolution pourrait être amélioré de manière à créer des modèles par type de fractions d'élution et à augmenter le nombre de molécules susceptibles de se retrouver dans telle ou telle fraction.
- Afin d'éluer les molécules les plus apolaires, comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques, pour lesquelles la force éluante utilisée n'est pas suffisante, des modifications du système (par exemple l'ajout d'un

spectrofluorimètre, ou la modification de la cuve de mesure) peuvent être envisagées pour pouvoir employer d'autres solvants.

• Des optimisations au niveau des débits de percolation et d'élution peuvent être investiguées de manière à retenir et à éluer certaines molécules comme l'aténolol (molécule pharmaceutique) qui ont montré un défaut de rétention avec l'analyseur.

Par ailleurs, la qualité des cartouches s'est montrée également importante pour la robustesse des résultats, en particulier au niveau du compactage. Il est primordial d'utiliser des cartouches homogènes avec un taux de compactage élevé afin de limiter l'apparition de « chemins préférentiels ».

L'utilisation d'une pré-cartouche à masse variable en fonction de la conductivité de la matrice semble être une piste intéressante pour simplifier la matrice et pour augmenter la rétention des molécules anioniques sur la cartouche Strata-SAX. Cependant, des tests supplémentaires doivent être envisagés afin d'optimiser ce paramètre et des modifications devraient être apportées à l'analyseur afin de pouvoir ajouter cette précartouche. Ces modifications peuvent par exemple être l'ajout d'une dérivation par une troisième électrovanne. A court terme, l'analyseur doit être optimisé et compacté de manière à obtenir un prototype portable, et utilisable sur le terrain.

La méthodologie développée présente plusieurs perspectives en termes d'application. Tout d'abord, comme montré au cours de ce travail, la méthode peut être utilisée dans de l'eau (eau de surface, eau de consommation) afin de détecter des micropolluants organiques. Elle peut alors soit fournir un pré-diagnostic rapide en cas de pollution importante soit permettre un suivi dans le temps de la qualité de l'eau. De plus, cette méthode peut être transposée à d'autres matrices telles que la matrice urinaire dont les applications envisagées pourraient être la détection de substances illicites ou dopantes dans les urines. Mais, elle pourrait également permettre la détection de ces substances dans d'autres matrices biologiques comme le sang.

En général, lors d'une pollution accidentelle ou intentionnelle, la procédure classique repose sur le prélèvement, et le transport jusqu'au laboratoire afin d'y réaliser les analyses. Cette méthodologie MSP2E développée permet donc un gain de temps important et permet un pré-diagnostic rapide.

Références bibliographiques

- Abell, J.M., Özkundakci, D., Hamilton, D.P., 2010. Nitrogen and Phosphorus Limitation of Phytoplankton Growth in New Zealand Lakes: Implications for Eutrophication Control. Ecosystems 13, 966-977.
- Abu-Qare, A.W., Abou-Donia, M.B., 2001. A validated HPLC method for the determination of pyridostigmine bromide, acetaminophen, acetylsalicylic acid and caffeine in rat plasma and urine. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 26, 939–947.
- Aguilar-Martínez, R., Palacios-Corvillo, M.A., Greenwood, R., Mills, G.A., Vrana, B., Gómez-Gómez, M.M., 2008. Calibration and use of the Chemcatcher® passive sampler for monitoring organotin compounds in water. Analytica Chimica Acta 618, 157-167.
- Aivasidis, A., Melidis, P., Georgiou, D., 2002. Use of a microbial sensor: a new approach to the measurement of inhibitory effects on the microbial activity of activated sludge. Bioprocess and biosystems engineering 25, 29–33.
- Allan, I.J., Vrana, B., Greenwood, R., Mills, G.A., Roig, B., Gonzalez, C., 2006. A "toolbox" for biological and chemical monitoring requirements for the European Union's Water Framework Directive. Talanta 69, 302–322.
- Alvarez, D.A., Petty, J.D., Huckins, J.N., Jones-Lepp, T.L., Getting, D.T., Goddard, J.P., Manahan, S.E., 2004. Development of passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. Environmental Toxicology and Chemistry 23, 1640.
- Alvarez, D.A., Stackelberg, P.E., Petty, J.D., Huckins, J.N., Furlong, E.T., Zaugg, S.D., Meyer, M.T., 2005. Comparison of a novel passive sampler to standard water-column sampling for organic contaminants associated with wastewater effluents entering a New Jersey stream. Chemosphere 61, 610–22.
- AMA, 2011. 2011 Laboratory Testing Figures Reported by accredited laboratories.
- AMA, 2012a. Minimum resuired performance leves for detection and identification of nonthreshold substance WADA, WADA Technical document.
- AMA, 2012b. Minimum required performance levels for detection and identification of nonthreshold substances incorporating column chromatography and mass spectrometry, WADA Technical document.
- Ambrose, D.L., Fritz, J.S., 1998. High-performance liquid chromatographic determination of drugs and metabolites in human serum and urine using direct injection and a unique molecular sieve. Journal of Chromatography. B: Biomedical Sciences and Applications 709, 89-96.
- Anastasio, P., Cirillo, M., Spitali, L., Frangiosa, A., Pollastro, R.M., De Santo, N.G., 2001. Level of hydration and renal function in healthy humans. Kidney international 60, 748–56.
- ANSES, 2010. Exposition de la population générale aux résidus de pesticides en France.
- Antunes, S.C., Freitas, R., Figueira, E., Gonçalves, F., Nunes, B., 2013. Biochemical effects of acetaminophen in aquatic species: edible clams Venerupis decussata and Venerupis philippinarum. Environmental science and pollution research international 20, 6658–66.
- Argese, E., Bettiol, C., Marchetto, D., De Vettori, S., Zambon, A., Miana, P., Ghetti, P.F., 2005. Study on the toxicity of phenolic and phenoxy herbicides using the submitochondrial particle assay. Toxicology in Vitro 19, 1035-1043.
- ARIA, échelle européenne des accidents industriels (http://www.aria.developpementdurable.gouv.fr/outils-dinformation/echelle-europeenne-des-accidents-industriels/) consulté le 16 août 2013.

- Arnó, J., Andersson, G., Levy, D., Tomczyk, C., Zou, P., Zuidema, E., 2011. Advanced algorithms for the identification of mixtures using condensed-phase FT-IR spectroscopy, in: Druy, M.A., Crocombe, R.A., SPIE Defense, Security, and Sensing. International Society for Optics and Photonics, p. 80320Z-80320Z-12.
- Arrêté, 1998. Arrêté du 2 février 1998 relatif aux prélèvements et à la consommation d'eau ainsi qu'aux émissions de toute nature des installations classées pour la protection de l'environnement soumises à autorisation.
- Arrêté, 2005. Arrêté du 30 juin 2005 relatif au programme national d'action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses.
- Arrêté, 2007. Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.
- Arrêté, 2009. Arrêté du 17 juillet 2009 relatif aux mesures de prévention ou de limitation des introductions de polluants dans les eaux souterraines.
- Arrêté, 2010. Arrêté du 21 janvier 2010 modifiant l'arrêté du 11 janvier 2007 relatif au programme de prélèvements et d'analyses du contrôle sanitaire pour les eaux fournies par un réseau de distribution, pris en application des articles R. 1321-10, R. 1321-15 et R. 1321-16 du code de la santé publique.
- Assoumani, A., Lissalde, S., Margoum, C., Mazzella, N., Coquery, M., 2013. In situ application of stir bar sorptive extraction as a passive sampling technique for the monitoring of agricultural pesticides in surface waters. The Science of the total environment 463-464C, 829-835.
- Azejjel, H., Del Hoyo, C., Draoui, K., Rodríguez-Cruz, M.S., Sánchez-Martín, M.J., 2009. Natural and modified clays from Morocco as sorbents of ionizable herbicides in aqueous medium. Desalination 249, 1151–1158.
- Azzouz, A., Ballesteros, E., 2012. Gas chromatography-mass spectrometry determination of pharmacologically active substances in urine and blood samples by use of a continuous solidphase extraction system and microwave-assisted derivatization. Journal of Chromatography. B 891, 12-19.
- Badoud, F., Guillarme, D., Boccard, J., Grata, E., Saugy, M., Rudaz, S., Veuthey, J.-L., 2011. Analytical aspects in doping control: challenges and perspectives. Forensic science international 213, 49-61.
- Bae, M.-J., Park, Y.-S., 2014. Biological early warning system based on the responses of aquatic organisms to disturbances: A review. Science of The Total Environment 466, 635–649.
- Bailly, E., Levi, Y., Karolak, S., 2013. Calibration and field evaluation of Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) for monitoring pharmaceuticals in hospital wastewater. Environmental pollution 174, 100-5.
- Baker, S.E., Barr, D.B., Driskell, W.J., Beeson, M.D., Needham, L.L., 2000. Quantification of selected pesticide metabolites in human urine using isotope dilution high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Journal of exposure analysis and environmental epidemiology 10, 789-98.
- Bandžuchová, L., Švorc, Ľ., Sochr, J., Svítková, J., Chýlková, J., 2013. Voltammetric method for sensitive determination of herbicide picloram in environmental and biological samples using boron-doped diamond film electrode. Electrochimica Acta 111, 242–249.
- Barcelo, D., 1997. Trace Determination of Pesticides and their Degradation Products in Water. Elsevier Amsterdam New York.

- Barceló, D., Ortega, A.N., Elorza, F.J., Lopez-Roldan, R., Kazlauskaite, L., Ribo, J., Riva, M.C., González, S., Cortina, J.L., 2012. Evaluation of an automated luminescent bacteria assay for in situ aquatic toxicity determination. Science of The Total Environment 440, 307-313.
- Barillon, B., Zenasni, A., Cren-Olive, C., Chapgier, J., Lavastre, F., Martin, S., Jaffrezic-Renault, N., 2010. Monitoring station for the assessment of the Rhône water quality, Novatech 2010 - 7th International Conference on Sustainable Techniques and Strategies for Urban Water Management, Session 3.8.
- BARPI N°43449, 2012. (http://www.aria.developpement-durable.gouv.fr/resultat-rechercheaccident/) consulté le 16 août 2013.
- Barra Caracciolo, A., Giuliano, G., Grenni, P., Guzzella, L., Pozzoni, F., Bottoni, P., Fava, L., Crobe, A., Orrù, M., Funari, E., 2005. Degradation and leaching of the herbicides metolachlor and diuron: a case study in an area of Northern Italy. Environmental pollution 134, 525–34.
- Barrek, S., Cren-Olivé, C., Wiest, L., Baudot, R., Arnaudguilhem, C., Grenier-Loustalot, M.-F., 2009. Multi-residue analysis and ultra-trace quantification of 36 priority substances from the European Water Framework Directive by GC-MS and LC-FLD-MS/MS in surface waters. Talanta 79, 712-722.
- Bartram, J., Corrales, L., Davison, A., Deere, D., Drury, D., Gordon, B., Howard, G., Rinehold, A., Stevens, M., 2010, Water Safety Plan Manual: Step-By-Step Risk Management for Drinking-Water Suppliers, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Baugros, J.B., Giroud, B., Dessalces, G., Grenier-Loustalot, M.F., Cren-Olivé, C., 2008. Multiresidue analytical methods for the ultra-trace quantification of 33 priority substances present in the list of REACH in real water samples. Analytica chimica acta 607, 191–203.
- Beaudeau, P., Valdes, D., Mouly, D., Stempfelet, M., Seux, R., 2010, Natural and technical factors in faecal contamination incidents of drinking water in small distribution networks, France, 2003-2004: a geographical study. Journal of Water Health 8, 20-34.
- Beaulieu, B., Ramirez, R.E., 2013. Arsenic Remediation Field Study Using a Sulfate Reduction and Zero-Valent Iron PRB. Groundwater Monitoring & Remediation 33, 85–94.
- Belau, E., Grote, C., Levsen, K., 2002. An Improved Automatic Analyzer for Organic Compounds in Water Based on Headspace Solid Phase Microextraction (SPME) Coupled to Gas Chromatography, Field Screening Europe 2001. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Belles, A., Pardon, P., Budzinski, H., 2013. Development of an adapted version of polar organic chemical integrative samplers (POCIS-Nylon). Analytical and bioanalytical chemistry.
- Beltran, A., Borrull, F., Cormack, P.A.G., Marcé, R.M., 2010. Molecularly-imprinted polymers: useful sorbents for selective extractions. TrAC Trends in Analytical Chemistry 29, 1363-1375.
- Bennett, E.R., Metcalfe, T.L., Metcalfe, C.D., 1996. Semi permeable membrane devices (SPMDS) for monitoring organic contaminants in the Otonabee River, Ontario. Chemosphere 33, 363-375.
- Benotti, M.J., Brownawell, B.J., 2007. Distributions of pharmaceuticals in an urban estuary during both dry- and wet-weather conditions. Environmental science & technology 41, 5795-5802.
- Benotti, M.J., Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Stanford, B.D., Snyder, S.A., 2009. Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds in U.S. Drinking Water. Environmental Science & Technology 43, 597–603.
- Berland J.M., 2002. Elaboration des dispositions locales de secours pour la distribution d'eau potable, Document technique FNDAE N°14.

- Berman, T., Goldsmith, R., Göen, T., Spungen, J., Novack, L., Levine, H., Amitai, Y., Shohat, T., Grotto, I., 2013a. Urinary concentrations of environmental contaminants and phytoestrogens in adults in Israel. Environment International 59, 478-484.
- Berman, T., Goldsmith, R., Göen, T., Spungen, J., Novack, L., Levine, H., Amitai, Y., Shohat, T., Grotto, I., 2013b. Urinary concentrations of organophosphate pesticide metabolites in adults in Israel: Demographic and dietary predictors. Environment International 60, 183–189.
- Bernier, G., Lamotte, M., 2009. Field Monitoring of PAHs in River Water by Direct Fluorimetry on C18 Solid Sorbent, in : Gonzalez, C., Greenwood, R., Quevauviller, P., Rapid Chemical and Biological Techniques for Water Monitoring. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, pp. 275-286.
- Bhattacharyya, J., Read, D., Amos, S., Dooley, S., Killham, K., Paton, G.I., 2005. Biosensor-based diagnostics of contaminated groundwater: assessment and remediation strategy. Environmental pollution 134, 485–92.
- Bielicka-Daszkiewicz, K., Voelkel, A., 2009. Theoretical and experimental methods of determination of the breakthrough volume of SPE sorbents. Talanta 80, 614–621.
- Bilotta, G.S., Brazier, R.E., 2008. Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota. Water Research 42, 2849–2861.
- Bolaños, P.P., Romero-González, R., Frenich, A.G., Vidal, J.L.M., 2008. Application of hollow fibre liquid phase microextraction for the multiresidue determination of pesticides in alcoholic beverages by ultra-high pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1208, 16-24.
- Boleda, M.R., Galceran, M.T., Ventura, F., 2007. Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1175, 38-48.
- Boles, T.H., Wells, M.J.M., 2010. Analysis of amphetamine and methamphetamine as emerging pollutants in wastewater and wastewater-impacted streams. Journal of Chromatography. A 1217, 2561–2568.
- Booij, K., Hofmans, H.E., Fischer, C. V., Van Weerlee, E.M., 2003. Temperature-Dependent Uptake Rates of Nonpolar Organic Compounds by Semipermeable Membrane Devices and Low-Density Polyethylene Membranes. Environmental Science & Technology 37, 361–366.
- Booij, K., Smedes, F., Van Weerlee, E.M., 2002. Spiking of performance reference compounds in low density polyethylene and silicone passive water samplers. Chemosphere 46, 1157-1161.
- Bopp, S., Weiß, H., Schirmer, K., 2005. Time-integrated monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in groundwater using the Ceramic Dosimeter passive sampling device. Journal of Chromatography. A 1072, 137-147.
- Bossi, R., Vejrup, K., Mogensen, B., Asman, W.A., 2002. Analysis of polar pesticides in rainwater in Denmark by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 957, 27-36.
- Bound, J.P., Voulvoulis, N., 2006. Predicted and measured concentrations for selected pharmaceuticals in UK rivers: Implications for risk assessment. Water Research 40, 2885–2892.
- Breda, M., Barattè, S., 2010. A review of analytical methods for the determination of 5-fluorouracil in biological matrices. Analytical and bioanalytical chemistry 397, 1191–1201.
- Brogat, M., Cadiere, A., Sellier, A., Thomas, O., Baures, E., Roig, B., 2013. MSPE/UV for field detection of micropollutants in water. Microchemical Journal 108, 215–223.

- Brudenell, A.J.P., Baker, D.A., Grayson, B.T., 1995. Phloem mobility of xenobiotics: tabular review of physicochemical properties governing the output of the Kleier model. Plant Growth Regulation 16, 215-231.
- Cai, B., Xie, L., Yang, D., Arcangeli, J.-P., 2010. Toxicity evaluation and prediction of toxic chemicals on activated sludge system. Journal of Hazardous Materials 177, 414–419.
- Cameron, M.A., Maalouf, N.M., Adams-Huet, B., Moe, O.W., Sakhaee, K., 2006. Urine composition in type 2 diabetes: predisposition to uric acid nephrolithiasis. Journal of the American Society of Nephrology 17, 1422–8.
- Camilleri, J., Morin, N., Miège, C., Coquery, M., Cren-Olivé, C., 2012. Determination of the uptake and release rates of multifamilies of endocrine disruptor compounds on the polar C18 Chemcatcher. Three potential performance reference compounds to monitor polar pollutants in surface water by integrative sampling. Journal of chromatography. A 1237, 37-45.
- Carabias Martínez, R., Rodríguez Gonzalo, E., Fernández Laespada, M.E., Sánchez San Román, F.J., 2000. Evaluation of surface- and ground-water pollution due to herbicides in agricultural areas of Zamora and Salamanca (Spain). Journal of Chromatography. A 869, 471–480.
- Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Revilla-Ruiz, P., 2004. Determination of weakly acidic endocrine-disrupting compounds by liquid chromatography-mass spectrometry with post-column base addition. Journal of Chromatography. A. 1056, 131–138.
- Careri, M., Elviri, L., Mangia, A., 2001. Development and validation of a method using on-line solid-phase extraction and liquid chromatography with ultraviolet detection for the determination of bisphenol A, octylphenol, and nonylphenol in groundwater. Journal of AOAC International 84, 1383–92.
- Caro, E., Marcé, R.M., Cormack, P.A.G., Sherrington, D.C., Borrull, F., 2003. On-line solid-phase extraction with molecularly imprinted polymers to selectively extract substituted 4-chlorophenols and 4-nitrophenol from water. Journal of Chromatography. A 995, 233-238.
- Carpinteiro, I., Ramil, M., Rodríguez, I., Cela, R., 2010. Determination of fungicides in wine by mixed-mode solid phase extraction and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. Journal of chromatography. A 1217, 7484-92.
- Casas, L., Fernández, M.F., Llop, S., Guxens, M., Ballester, F., Olea, N., Irurzun, M.B., Rodríguez, L.S.M., Riaño, I., Tardón, A., Vrijheid, M., Calafat, A.M., Sunyer, J., 2011. Urinary concentrations of phthalates and phenols in a population of Spanish pregnant women and children. Environment International 37, 858-866.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Calamari, D., Fanelli, R., Zuccato, E., 2005. A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. Journal of chromatography. A 1092, 206-215.
- Castillo, L., Seriki, K., Mateos, S., Loire, N., Guédon, N., Lemkine, G.F., Demeneix, B.A., Tindall, A.J., 2013. In vivo endocrine disruption assessment of wastewater treatment plant effluents with small organisms. Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research 68, 261–8.
- Chapuis, F., Pichon, V., Lanza, F., Sellergren, S., Hennion, M.-C., 2003. Optimization of the classselective extraction of triazines from aqueous samples using a molecularly imprinted polymer by a comprehensive approach of the retention mechanism. Journal of Chromatography. A 999, 23-33.
- Chefetz, B., Bilkis, Y. I., Polubesova, T., 2004. Sorption-desorption behavior of triazine and phenylurea herbicides in Kishon river sediments. Water Research 38, 4383-4394.

- Chen, H.-C., Wang, S.-P., Ding, W.-H., 2006. Determination of fluorescent whitening agents in environmental waters by solid-phase extraction and ion pair liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1102, 135-142.
- Chen, W.-Y., Liao, C.-M., Jou, L.-J., Jau, S.-F., 2010. Predicting bioavailability and bioaccumulation of arsenic by freshwater clam Corbicula fluminea using valve daily activity. Environmental monitoring and assessment 169, 647–59.
- Chicharro, M., Bermejo, E., Ongay, S., Zapardiel, A., 2008. Determination of Maleic Hydrazide in Potato Samples Using Capillary Electrophoresis with Dual Detection (UV-Electrochemical). Electroanalysis 20, 534-541.
- Cho, E., Tameda, K., Hanashima, M., Yamada, T., Higuchi, S., 2009. Toxicological evaluation of the chemical oxidation methods for landfill stabilization. Waste Management 29, 1006–1011.
- Circulaire DCE 2006/16 du 13 juillet 2006 relative à la constitution et la mise en œuvre du programme de surveillance (contrôle de surveillance, contrôles opérationnels, contrôles d'enquête et contrôles additionnels) pour les eaux douces de surface (cours d'eau, canaux et plans d'eau) en application de la directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000 du Parlement et du Conseil établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
- Circulaire du 7 mai 2007 définissant les normes de qualité environnementale provisoires (NQEp) des 41 substances impliquées dans l'évaluation de l'état chimique des masses d'eau ainsi que des substances pertinentes du programme national de réduction des substances dangereuses dans l'eau.

Code de la santé publique, 2003. Article R. 1321-1 à Article R. 1321-66.

Code de la santé publique, 2006. Article L. 1321-2; Article L. 1332-1 à Article L. 1332-9.

Code de l'environnement, 2000. Article L. 432-2 ; Article L. 216-6.

- Code de l'environnement, 2006. Article L. 210-1 ; Article L. 211-7 ; Article L. 212-2-2 ; Article L. 214-17 à Article L. 214-19 ; Article L. 215-14 à Article L. 214-24 ; Article L. 216-1 à Article L. 216-9.
- Code des collectivités territoriales, 2006. Article L. 2213-23 ; Article L. 2333-97 à Article L. 2333-101.
- Commission européenne, 2012. Report from the commission to the European parliament and the council on the outcome of the review of Annex X to Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council on priority substances in the field of water policy, Brussels.
- Communiqué de presse de la CESPSA, 2012. Commission de l'environnement, de la santé publique et de la sécurité alimentaire, 28.11.2012 Eaux de surface: ajout de produits chimiques à la liste européenne des risques.
- Conrad, A., Dedourge, O., Cherrier, R., Couderchet, M., Biagianti, S., 2006. Leaching of terbumeton and terbumeton-desethyl from mini-columns packed with soil aggregates in laboratory conditions. Chemosphere 65, 1600–1609.
- Constant, D., Gonzalez, C., Touraud, E., Guigues, N., Thomas, O., 2009. UV spectrophotometry : Environmental Monitoring Solutions, in : Gonzalez, C., Greenwood, R., Quevauviller, P., Rapid Chemical and Biological Techniques for Water Monitoring. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, pp. 91-106.

- Contreras, J.A., Murray, J.A., Tolley, S.E., Oliphant, J.L., Tolley, H.D., Lammert, S.A., Lee, E.D., Later, D.W., Lee, M.L., 2008. Hand-Portable Gas Chromatograph-Toroidal Ion Trap Mass Spectrometer (GC-TMS) for Detection of Hazardous Compounds. Journal of the American Society for Mass Spectrometry 19, 1425-1434.
- Creed, E.L., Pence, A.M., Rankin, K.L., 2001. Inter-comparison of turbidity and sediment concentration measurements from an ADP, an OBS-3, and a LISST, in: MTS/IEEE Oceans 2001. An Ocean Odyssey. Marine Technology Society, pp. 1750–1754.
- Dai, C.M., Geissen, S.U., Zhang, Y.L., Zhang, Y.J., Zhou, X.F., 2010. Performance evaluation and application of molecularly imprinted polymer for separation of carbamazepine in aqueous solution. Journal of hazardous materials 184, 156-163.
- D'Archivio, A.A., Fanelli, M., Mazzeo, P., Ruggieri, F., 2007. Comparison of different sorbents for multiresidue solid-phase extraction of 16 pesticides from groundwater coupled with highperformance liquid chromatography. Talanta 71, 25-30.
- Davis, M.D., Wade, E.L., Restrepo, P.R., Roman-Esteva, W., Bravo, R., Kuklenyik, P., Calafat, A.M., 2013. Semi-automated solid phase extraction method for the mass spectrometric quantification of 12 specific metabolites of organophosphorus pesticides, synthetic pyrethroids, and select herbicides in human urine. Journal of Chromatography. B 929, 18-26.
- Davison, A., Howard, G., Stevens, M., Callan, P., Fewtrell, L., Deere, D., Bartram, J., 2005, Water safety plans: managing drinking-water quality from catchment to consumer. Geneva - World Health Organization.
- Debska, J., Kot-Wasik, A., Namiesnik, J., 2005. Determination of nonsteroidal antiinflammatory drugs in water samples using liquid chromatography coupled with diode-array detector and mass spectrometry. Journal of Separation Science 28, 2419–2426.
- Décret n°94-469 du 3 juin 1994 relatif à la collecte et au traitement des eaux usées mentionnées aux articles L. 372-1-1 et L. 372-3 du code des communes.
- Décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles.
- Décret n°2005-378 du 20 avril 2005 relatif au programme national d'action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses.
- Décret n°2005-1156 du 13 septembre 2005 relatif au plan communal de sauvegarde et pris pour application de l'article 13 de la loi n° 2004-811 du 13 août 2004 de modernisation de la sécurité civile.
- Décret n° 2005-1157 du 13 septembre 2005 relatif au plan ORSEC et pris pour application de l'article 14 de la loi n° 2004-811 du 13 août 2004 de modernisation de la sécurité civile.
- De Hoogh, C.J., Wagenvoort, A.J., Jonker, F., Van Leerdam, J.A., Hogenboom, A.C., 2006. HPLC-DAD and Q-TOF MS techniques identify cause of Daphnia biomonitor alarms in the River Meuse. Environmental science & technology 40, 2678-85.
- De la Cal, A., Kuster, M., De Alda, M.L., Eljarrat, E., Barceló, D., 2008. Evaluation of the aquatic passive sampler Chemcatcher for the monitoring of highly hydrophobic compounds in water. Talanta 76, 327–332.
- De Zwart, D., Kramer, K.J.M., Jenner, H.A., 1995. Practical experiences with the biological early warning system "mosselmonitor". Environmental Toxicology & Water Quality 10, 237–247.

- Díaz, R., Ibáñez, M., Sancho, J. V., Hernández, F., 2012. Target and non-target screening strategies for organic contaminants, residues and illicit substances in food, environmental and human biological samples by UHPLC-QTOF-MS. Analytical Methods 4, 196.
- Direction Générale de la Santé, 2007, Guide technique du Ministère de la Santé. Les systèmes d'alimentation en eau potable évaluer leur vulnérabilité, 106 p. (http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/guide_evaluation.pdf) consulté le 11 septembre 2013.
- Directive 96/82/CE du Parlement européen et du Conseil du 09 décembre 1996 concernant la maîtrise des dangers liés aux accidents majeurs impliquant des substances dangereuses.
- Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.
- Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
- Directive 2003/105/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2003 modifiant la directive 96/82/CE du Conseil concernant la maîtrise des dangers liés aux accidents majeurs impliquant des substances dangereuses.
- Directive 2008/105/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 établissant des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau, modifiant et abrogeant les directives du Conseil 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/280/CEE et modifiant la directive 2000/60/CE.
- Directive 2009/90/CE du Parlement européen et du Conseil du 31 juillet 2009 établissant, conformément à la directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil, des spécifications techniques pour l'analyse chimique et la surveillance de l'état des eaux.
- Directive 2009/128/CE du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 établissant un cadre d'action communautaire pour parvenir à une utilisation des pesticides compatible avec le développement durable.
- Directive 2013/39/EU du Parlement européen et du Conseil du 12 août 2013 modifie les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau.
- Directive Seveso, Directive 82/501/CEE du Parlement européen et du Conseil du 24 juin 1982 concernant les risques d'accidents majeurs de certaines activités industrielles.
- Do Luu, H.M., Hutter, J.C., 2000. Pharmacokinetic modeling of 4,4'-methylenedianiline released from reused polyurethane dialyzer potting materials. Journal of biomedical materials research 53, 276-86.
- Ducrot, V., Pery, A.R.R., Lagadic, L., 2010. Modelling effects of diquat under realistic exposure patterns in genetically differentiated populations of the gastropod Lymnaea stagnalis. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 365, 3485–3494.
- Dupuit, E., Pouet, M.F., Thomas, O., Bourgois, J., 2007. Decision support methodology using rulebased reasoning coupled to non-parametric measurement for industrial wastewater network management. Environmental modelling and Software 22, 1153-1163.

- Dussauze J., Delmas R., Cavalin G., Munoz B.J., Installation and method for automatic preparation of samples, brevet françcais, déposé le 30 novembre 2001 sous le n° 2809490-A1, extension européenne le 26 mars 2003.
- Eagleson, M., 1994. Concise Encyclopedia Chemistry. Walter de Gruyter.
- Ecophyto 2018. Plan Ecophtyo 2018 du 10 septembre 2008 relatif à la réduction des usages de pesticides 2008-2018.
- European Food Safety, 2003. Review report for the active substance pendimethalin.
- European Food Safety, 2007. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fenpropidin. EFSA Scientific Report 124, 1-84.
- FAO OMS, 1996. Report of the Twenty-Ninth Session of the Codex Committee on Food Hygiene.
- Farré, M. l., García, M.-J., Tirapu, L., Ginebreda, A., Barceló, D., 2001. Wastewater toxicity screening of non-ionic surfactants by Toxalert® and Microtox® bioluminescence inhibition assays. Analytica Chimica Acta 427, 181–189.
- Fass S., Block J.C., 2009. Early warning systems for rapid detection of deliberated intrusion, Deliverable project 217976.
- Feng, J., Wang, L., Dai, I., Harmon, T., Bernert, J.T., 2007. Simultaneous determination of multiple drugs of abuse and relevant metabolites in urine by LC-MS-MS. Journal of analytical toxicology 31, 359–68.
- Ferrer, I., Lanza, F., Tolokan, A., Horvath, V., Sellergren, B., Horvai, G., Barceló, D., 2000. Selective Trace Enrichment of Chlorotriazine Pesticides from Natural Waters and Sediment Samples Using Terbuthylazine Molecularly Imprinted Polymers. Analytical Chemistry 72, 3934-3941.
- Florescu, D., Ionete, R.E., Sandru, C., Iordache, A., Culea, M., 2010. Water Contamination Emergencies, The influence of pollution monitoring parameters in characterizing the surface water quality from romania southern area. Romanian journal of physics 56, 1001-1010.
- Fohrer, N., Dietrich, A., Kolychalow, O., Ulrich, U., 2013. Assessment of the Environmental Fate of the Herbicides Flufenacet and Metazachlor with the SWAT Model. Journal of Environment Quality doi: 10.2135/jeq2011.0382.
- Fontanals, N., Marcé, R.M., Borrull, F., 2005. New hydrophilic materials for solid-phase extraction. TrAC Trends in Analytical Chemistry 24, 394–406.
- Fontanals, N., Marcé, R.M., Borrull, F., 2007. New materials in sorptive extraction techniques for polar compounds. Journal of Chromatography. A 1152, 14–31.
- Fontanals, N., Marcé, R.M., Borrull, F., Cormack, P.A.G., 2010. Mixed-mode ion-exchange polymeric sorbents: dual-phase materials that improve selectivity and capacity. TrAC Trends in Analytical Chemistry 29, 765-779.
- Freitas, L.G., Götz, C.W., Ruff, M., Singer, H.P., Müller, S.R., 2004. Quantification of the new triketone herbicides, sulcotrione and mesotrione, and other important herbicides and metabolites, at the ng/l level in surface waters using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1028, 277-286.
- Freitas, L.G., Singer, H., Müller, S.R., Schwarzenbach, R.P., Stamm, C., 2008. Source area effects on herbicide losses to surface waters—A case study in the Swiss Plateau. Agriculture, Ecosystems & Environment 128, 177–184.

- Fréri, N., Guldner, L., Saoudi, A., Garnier, R., Zeghnoun, A., Bidondo, M.L., 2013. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Tome 2. Rapport de l'institut de veille sanitaire.
- Frías-García, S., Sánchez, M.J., Rodríguez-Delgado, M.A., 2004. Optimization of a solid-phase microextraction procedure for the determination of herbicides by micellar electrokinetic chromatography. Journal of separation science 27, 660–666.
- Fritz, J.S., Dumont, P.J., Schmidt, L.W., 1995. Methods and materials for solid-phase extraction. Journal of Chromatography. A 691, 133-140.
- Frost, A.B., Larsen, F., Ostergaard, J., Larsen, S.W., Lindegaard, C., Hansen, H.R., Larsen, C., 2010. On the search for in vitro in vivo correlations in the field of intra-articular drug delivery: administration of sodium diatrizoate to the horse. European journal of pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences 41, 10-15.
- Gabaldón, C., Izquierdo, M., Martínez-Soria, V., Marzal, P., Penya-roja, J.-M., Javier Alvarez-Hornos, F., 2007. Biological nitrate removal from wastewater of a metal-finishing industry. Journal of Hazardous Materials 148, 485-490.
- Garcia-Ac, A., Segura, P.A., Viglino, L., Fürtös, A., Gagnon, C., Prévost, M., Sauvé, S., 2009. Online solid-phase extraction of large-volume injections coupled to liquid chromatographytandem mass spectrometry for the quantitation and confirmation of 14 selected trace organic contaminants in drinking and surface water. Journal of Chromatography. A 1216, 8518-8527.
- Gatidou, G., Thomaidis, N.S., Stasinakis, A.S., Lekkas, T.D., 2007. Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1138, 32-41.
- Gelpí, E., Grimalt, J.O., Castillo, M., Puig, D., Barcelo', D., 1997. Determination of priority phenolic compounds in water and industrial effluents by polymeric liquid-solid extraction cartridges using automated sample preparation with extraction columns and liquid chromatography use of liquid-solid extraction cartridges f. Journal of Chromatography. A 778, 301-311.
- Gentle, B.S., Ellis, P.S., Faber, P.A., Grace, M.R., McKelvie, I.D., 2010. A compact portable flow analysis system for the rapid determination of total phosphorus in estuarine and marine waters. Analytica Chimica Acta 674, 117-122.
- Gervais, G., Brosillon, S., Laplanche, A., Helen, C., 2008. Ultra-pressure liquid chromatographyelectrospray tandem mass spectrometry for multiresidue determination of pesticides in water. Journal of Chromatography. A 1202, 163–172.
- Gfrerer, M., Wenzl, T., Quan, X., Platzer, B., Lankmayr, E., 2002. Occurrence of triazines in surface and drinking water of Liaoning Province in Eastern China. Journal of biochemical and biophysical methods 53, 217–228.
- Ghassempour, A., Mohammadkhah, A., Najafi, F., Rajabzadeh, M., 2002. Monitoring of the pesticide diazinon in soil, stem and surface water of rice fields. Analytical sciences: the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry 18, 779-83.
- Gilart, N., Marcé, R.M., Borrull, R., Fontanals, N., 2012. Determination of pharmaceuticals in wastewater using solid-phase extraction-iquid chromatography- tandem mass spectrometry. Journal of separation science 35, 875-882.
- Gluck, S.J., Benkö, M.H., Hallberg, R.K., Steele, K.P., 1996. Indirect determination of octanolwater partition coefficients by microemulsion electrokinetic chromatography. Journal of Chromatography. A 744, 141-146.

- Gonzalez, C., Spinelli, S., Gille, J., Touraud, E., 2007, Validation procedure for existing and emerging screening methods. TrAC Trends in Analytical Chemistry 26, 315-322.
- González-Rodríguez, R.M., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J., 2009. Multiresidue determination of 11 new fungicides in grapes and wines by liquid-liquid extraction/clean-up and programmable temperature vaporization injection with analyte protectants/gas chromatography/ion trap mass spectrometry. Journal of chromatography. A 1216, 6033-42.
- Gramatica, P., Di Guardo, A., 2002. Screening of pesticides for environmental partitioning tendency. Chemosphere 47, 947–956.
- Graveline, N., Maton, L., Rinaudo, J.-D., Lückge, H., Interwies, E., Rouillard, J., Strosser, P., Palkaniete, K., Taverne, D., 2010. An operational perspective on potential uses and constraints of emerging tools for monitoring water quality. TrAC Trends in Analytical Chemistry 29, 378-384.
- Gray, N.F., 2008. Drinking water quality Problems and solutions, second ed. Cambridge University, New York.
- Grayson, R., Holden, J., 2012. Continuous measurement of spectrophotometric absorbance in peatland streamwater in northern England: implications for understanding fluvial carbon fluxes. Hydrological Processes 26, 27–39.
- Green, U., Kremer, J.H., Zillmer, M., Moldaenke, C., 2003. Detection of chemical threat agents in drinking water by an early warning real-time biomonitor. Environmental toxicology 18, 368-74.
- Greenwood, R., Mills, G.A., Roig, B., 2007. Introduction to emerging tools and their use in water monitoring. TrAC Trends in Analytical Chemistry 26, 263–267.
- Gros, M., Petrović, M., Barceló, D., 2006. Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. Talanta 70, 678-690.
- Gutiérrez, M., Etxebarria, J., De las Fuentes, L., 2002. Evaluation of wastewater toxicity: comparative study between Microtox® and activated sludge oxygen uptake inhibition. Water Research 36, 919-924.
- Guzzella, L., Pozzoni, F., Giuliano, G., 2006. Herbicide contamination of surficial groundwater in Northern Italy. Environmental Pollution 142, 344–353.
- Hansch, C.H., Leo, A., Hoekman, D.H., 1995. Exploring Qsar: Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. American Chemical Society.
- Hauser, B., Popp, P., 2001. Combining membrane extraction with mobile gas chromatography for the field analysis of volatile organic compounds in contaminated waters. Journal of Chromatography. A 909, 3-12.
- Heinisch, S., Rocca, J.L., 2004. Effect of mobile phase composition, pH and buffer type on the retention of ionizable compounds in reversed-phase liquid chromatography: application to method development. Journal of Chromatography. A 1048, 183–193.
- Hennion, M.-C., 1999. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. Journal of Chromatography. A 856, 3–54.
- Hernando, M.D., Petrovic, M., Fernández-Alba, A.R., Barceló, D., 2004. Analysis by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for beta-blockers and lipid-regulating agents in wastewater samples. Journal of chromatography. A 1046, 133-40.

- Hiller, E., Krascsenits, Z., Čerňanský, S., 2008. Sorption of Acetochlor, Atrazine, 2,4-d, Chlorotoluron, MCPA, and Trifluralin in Six Soils From Slovakia. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 80, 412-416.
- Hladik, M.L., Bouwer, E.J., Roberts, A.L., 2008. Neutral degradates of chloroacetamide herbicides: occurrence in drinking water and removal during conventional water treatment. Water research 42, 4905-4914.
- Hogendoorn, E.A., Huls, R., Dijkman, E., Hoogerbrugge, R., 2001. Microwave assisted solvent extraction and coupled-column reversed-phase liquid chromatography with UV detection: Use of an analytical restricted-access-medium column for the efficient multi-residue analysis of acidic pesticides in soils. Journal of Chromatography. A 938, 23–33.
- Holland, J.F., Martin, J.F., Granata, T., Bouchard, V., Quigley, M., Brown, L., 2004. Effects of wetland depth and flow rate on residence time distribution characteristics. Ecological Engineering 23, 189–203.
- Hu, F.X., Neoh, K.G., Kang, E.T., 2006. Synthesis and in vitro anti-cancer evaluation of tamoxifenloaded magnetite/PLLA composite nanoparticles. Biomaterials 27, 5725–5733.
- Hu, S., Luo, T., Jing, C., 2012. Principal component analysis of fluoride geochemistry of groundwater in Shanxi and Inner Mongolia, China. Journal of Geochemical Exploration 135, 124-129.
- Huang, H., Chen, Z., Yan, X., 2012. Simultaneous determination of serotonin and creatinine in urine by combining two ultrasound-assisted emulsification microextractions with on-column stacking in capillary electrophoresis. Journal of separation science 35, 436-44.
- Huen, K., Bradman, A., Harley, K., Yousefi, P., Boyd Barr, D., Eskenazi, B., Holland, N., 2012. Organophosphate pesticide levels in blood and urine of women and newborns living in an agricultural community. Environmental Research 117, 8-16.
- Ibáñez, M., Pozo, Ó.J., Sancho, J. V., López, F.J., Hernández, F., 2005. Residue determination of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1081, 145–155.
- Iranpour, R., Zermeno, M., 2008. Online Biochemical Oxygen Demand Monitoring for Wastewater Process Control—Full-Scale Studies at Los Angeles Glendale Wastewater Plant, California. Water Environment Research 80, 298–307.
- ISO, 2011. (http://www.iso.org/iso/fr/pressrelease.htm?refid=Ref966) consulté le 10 septembre 2013.
- Izadi-Darbandi, E., Aliverdi, A., Hammami, H., 2013. Behavior of vegetable oils in relation to their influence on herbicides' effectiveness. Industrial Crops and Products 44, 712–717.
- Jacquet, R., Miège, C., Bados, P., Schiavone, S., Coquery, M., 2012. Evaluating the polar organic chemical integrative sampler for the monitoring of beta-blockers and hormones in wastewater treatment plant effluents and receiving surface waters. Environmental toxicology and chemistry 31, 279-288.
- Janssen, A.N., Van Agtmaal, J., Den Broek, W.B.P. van, Geilvoet, A.J., Menkveld, H.W.H., Schrotter, J.-C., Der Graaf, J.H.J.M. van, 2010. Prefiltration of wastewater effluent: Effects on foulants and performance during dead end ultrafiltration. Desalination 250, 855-860.
- Jen, J.-F., Hsiao, S.-L., Liu, K.-H., 2002. Simultaneous determination of uric acid and creatinine in urine by an eco-friendly solvent-free high performance liquid chromatographic method. Talanta 58, 711-717.

- Jeon, J., Kim, J.H., Lee, B.C., Kim, S.D., 2008. Development of a new biomonitoring method to detect the abnormal activity of Daphnia magna using automated Grid Counter device. The Science of the total environment 389, 545-56.
- Jiang, X., Li, D., Xu, X., Ying, Y., Li, Y., Ye, Z., Wang, J., 2008. Immunosensors for detection of pesticide residues. Biosensors and Bioelectronics 23, 1577-1587.
- Jiménez Girón, A., Deventer, K., Roels, K., Van Eenoo, P., 2012. Development and validation of an open screening method for diuretics, stimulants and selected compounds in human urine by UHPLC-HRMS for doping control. Analytica Chimica Acta 721, 137-146.
- Jouanneau, S., Recoules, L., Durand, M.J., Boukabache, A., Picot, V., Primault, Y., Lakel, A., Sengelin, M., Barillon, B., Thouand, G., 2014. Methods for assessing biochemical oxygen demand (BOD): A review. Water Research 49, 62–82.
- Junqua, G., Gonzalez, C., Touraud, 2009. Main existing methods for chemical monitoring, in : Gonzalez, C., Greenwood, R., Quevauviller, P., Rapid Chemical and Biological Techniques for Water Monitoring. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, pp 79-90.
- Kamga Wagheu, J., Forano, C., Besse-Hoggan, P., Tonle, I.K., Ngameni, E., Mousty, C., 2013. Electrochemical determination of mesotrione at organoclay modified glassy carbon electrodes. Talanta 103, 337–343.
- Kane, A.S., Salierno, J.D., Gipson, G.T., Molteno, T.C.A., Hunter, C., 2004. A video-based movement analysis system to quantify behavioral stress responses of fish. Water research 38, 3993-4001.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2007. Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1161, 132-145.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2008. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. Water research 42, 3498–518.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2009. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. Water research 43, 363–80.
- Kataoka, H., 2003. New trends in sample preparation for clinical and pharmaceutical analysis. TrAC Trends in Analytical Chemistry 22, 232-244.
- Kingston, J.K., Greenwood, R., Mills, G.A., Morrison, G.M., Björklund Persson, L., 2000. Development of a novel passive sampling system for the time-averaged measurement of a range of organic pollutants in aquatic environments. Journal of Environmental Monitoring 2, 487-495.
- Klotz, W.L., Schure, M.R., Foley, J.P., 2001. Determination of octanol-water partition coefficients of pesticides by microemulsion electrokinetic chromatography. Journal of Chromatography. A 930, 145–154.
- Knight, R.L., Clarke, R., 2005. Cost and Performance Report Enhanced Biological Attenuation of Aircraft Deicing Fluid Runoff Using Constructed Wetlands. Technical report TR-2261-ENV.
- Knutsson, M., Mathiasson, L., Jönsson, J.Å., 1996. Supported liquid membrane work-up in combination with liquid chromatography and electrochemical detection for the determination of chlorinated phenols in natural water samples. Chromatographia 42, 165–170.

- Kolmonen, M., Leinonen, A., Pelander, A., Ojanperä, I., 2007. A general screening method for doping agents in human urine by solid phase extraction and liquid chromatography/time-offlight mass spectrometry. Analytica chimica acta 585, 94–102.
- Kosjek, T., Heath, E., Krbavčič, A., 2005. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) residues in water samples. Environment International 31, 679–685.
- Kot-Wasik, A., Dębska, J., Wasik, A., Namieśnik, J., 2006. Determination of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Natural Waters Using Off-Line and On-Line SPE Followed by LC Coupled with DAD-MS. Chromatographia 64, 13–21.
- Kouzayha Abir ,Rabaa Abdul Rahman ,Al Iskandarani Mohamad ,Beh Daniel , Budzinski Hélène, J.F., 2012. Multiresidue Method for Determination of 67 Pesticides in Water Samples Using Solid-Phase Extraction with Centrifugation and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. American Journal of Analytical Chemistry 3, 257-265.
- Kroll, D., 2009. Monitoring for terrorist-related contamination, in : Ahuja, S., Handbook of water purity and quality. Elsevier Amsterdam New York, pp. 360-395.
- Lacorte, S., Vreuls, J., Salau, J., Ventura, F., Barceló, D., 1998. Monitoring of pesticides in river water using fully automated on-line solid-pase extraction and liquid chromatography with diode array detection with a novel filtration device. Journal of Chromatography. A 795, 71-82.
- Lafleur, J.P., Rackov, A.A., McAuley, S., Salin, E.D., 2010. Miniaturised centrifugal solid phase extraction platforms for in-field sampling, pre-concentration and spectrometric detection of organic pollutants in aqueous samples. Talanta 81, 722-726.
- Lai, B.-W., Liu, B.-M., Malik, P.K., Wu, H.-F., 2006. Combination of liquid-phase hollow fiber membrane microextraction with gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry for the determination of dichlorophenol isomers in water and urine. Analytica chimica acta 576, 61–6.
- Lajeunesse, A., Gagnon, C., Sauvé, S., 2008. Determination of basic antidepressants and their Ndesmethyl metabolites in raw sewage and wastewater using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Analytical chemistry 80, 5325–33.
- Lambropoulou, D.A., Konstantinou, I.K., Albanis, T.A., 2002. Factors Affecting Multiresidue Determination of Priority Herbicides when Using Solid-Phase Microextraction. Journal of AOAC International 85, 486-493.
- Landry, K.A., Boyer, T.H., 2013. Diclofenac removal in urine using strong-base anion exchange polymer resins. Water Research 47, 6432-6444.
- Láng, J., Kőhidai, L., 2012. Effects of the aquatic contaminant human pharmaceuticals and their mixtures on the proliferation and migratory responses of the bioindicator freshwater ciliate Tetrahymena. Chemosphere 89, 592-601.
- Lavén, M., Alsberg, T., Yu, Y., Adolfsson-Erici, M., Sun, H., 2009. Serial mixed-mode cation- and anion-exchange solid-phase extraction for separation of basic, neutral and acidic pharmaceuticals in wastewater and analysis by high-performance liquid chromatographyquadrupole time-of-flight mass spectrometry. Journal of chromatography. A 1216, 49-62.
- Lee, H.-B., Peart, T.E., Svoboda, M.L., 2005. Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of chromatography. A 1094, 122–129.
- Lezamiz, J., Jönsson, J.A., 2007. Development of a simple hollow fibre supported liquid membrane extraction method to extract and preconcentrate dinitrophenols in environmental samples at ng L(-1) level by liquid chromatography. Journal of chromatography. A 1152, 226–233.

- Li, H., Helm, P.A., Metcalfe, C.D., 2010. Sampling in the Great Lakes for pharmaceuticals, personal care products, and endocrine-disrupting substances using the passive polar organic chemical integrative sampler. Environmental toxicology and chemistry 29, 751-62.
- Li, Z., Chen, F., Wang, X., Wang, C., 2013. Ionic liquids dispersive liquid-liquid microextraction and high-performance liquid chromatographic determination of irbesartan and valsartan in human urine. Biomedical chromatography 27, 254-8.
- Lin, W.-C., Chen, H.-C., Ding, W.-H., 2005. Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatographymass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1065, 279–285.
- Lind, B.-B., Ban, Z., Bydén, S., 2001. Volume reduction and concentration of nutrients in human urine. Ecological Engineering 16, 561-566.
- Lissalde, S., Mazzella, N., Fauvelle, V., Delmas, F., Mazellier, P., Legube, B., 2011. Liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method for thirty-three pesticides in natural water and comparison of performance between classical solid phase extraction and passive sampling approaches. Journal of Chromatography. A 1218, 1492–1502.
- Liu, F., Bischoff, G., Pestemer, W., Xu, W., Kofoet, A., 2006. Multi-Residue Analysis of Some Polar Pesticides in Water Samples with SPE and LC-MS-MS. Chromatographia 63, 233–237.
- Liu, J., Mattiasson, B., 2002. Microbial BOD sensors for wastewater analysis. Water Research 36, 3786–3802.
- Liu, J., Qian, C., 1995. Hydrophobic coefficients of s-triazine and phenylurea herbicides. Chemosphere 31, 3951–3959.
- Liu, R., Zhou, J.., Wilding, A., 2004. Simultaneous determination of endocrine disrupting phenolic compounds and steroids in water by solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1022, 179–189.
- Liu, Z., Yan, X., Drikas, M., Zhou, D., Wang, D., Yang, M., Qu, J., 2011. Removal of bentazone from micro-polluted water using MIEX resin: Kinetics, equilibrium, and mechanism. Journal of Environmental Sciences 23, 381–387.
- Löffler, D., Ternes, T.A., 2003. Determination of acidic pharmaceuticals, antibiotics and ivermectin in river sediment using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1021, 133-144.
- Loi n°64-1245 du 16 décembre 1964 relative au régime et à la répartition des eaux et à la lutte contre leur pollution.

Loi n°92-3 du 3 janvier 1992 sur l'eau.

Loi n°2004-811 du 13 août 2004 de modernisation de la sécurité civile (1).

Loi n°2006-1772 du 30 décembre 2006 sur l'eau et les milieux aquatiques.

- Loos, R., Locoro, G., Contini, S., 2010. Occurrence of polar organic contaminants in the dissolved water phase of the Danube River and its major tributaries using SPE-LC-MS(2) analysis. Water research 44, 2325-35.
- López-Roldán, P., Alda, M.J.L. de, Barceló, D., 2004. Simultaneous determination of selected endocrine disrupters (pesticides, phenols and phthalates) in water by in-field solid-phase extraction (SPE) using the prototype PROFEXS followed by on-line SPE (PROSPEKT) and analysis by liquid chromatography-atmosph. Analytical and Bioanalytical Chemistry 378, 599-609.

- Machatha, S.G., Yalkowsky, S.H., 2005. Comparison of the octanol/water partition coefficients calculated by ClogP, ACDlogP and KowWin to experimentally determined values. International journal of pharmaceutics 294, 185-92.
- MacLeod, S.L., McClure, E.L., Wong, C.S., 2007. Laboratory calibration and field deployment of the polar organic chemical integrative sampler for pharmaceuticals and personal care products in wastewater and surface water. Environmental toxicology and chemistry 26, 2517-29.
- Madrid, Y., Zayas, Z.P., 2007. Water sampling: Traditional methods and new approaches in water sampling strategy. TrAC Trends in Analytical Chemistry 26, 293–299.
- Magi, E., Scapolla, C., Di Carro, M., Liscio, C., 2010. Determination of endocrine-disrupting compounds in drinking waters by fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of mass spectrometry 45, 1003-11.
- Magnér, J.A., Alsberg, T.E., Broman, D., 2009. Bag-SPE--a convenient extraction method for screening of pharmaceutical residues in influent and effluent water from sewage treatment plants. Analytical and bioanalytical chemistry 395, 1481–9.
- Mallat, E., Barzen, C., Abuknesha, R., Gauglitz, G., Barceló, D., 2001. Part per trillion level determination of isoproturon in certified and estuarine water samples with a direct optical immunosensor. Analytica Chimica Acta 426, 209–216.
- Marcé, R., Borrull, F., 2000. Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds. Journal of Chromatography. A 885, 273-290.
- Martin, H., Patterson, B.M., Davis, G.B., Grathwohl, P., 2003. Field Trial of Contaminant Groundwater Monitoring: Comparing Time-Integrating Ceramic Dosimeters and Conventional Water Sampling. Environmental Science & Technology 37, 1360–1364.
- Martínez Bueno, M.J., Hernando, M.D., Agüera, A., Fernández-Alba, A.R., 2009. Application of passive sampling devices for screening of micro-pollutants in marine aquaculture using LC-MS/MS. Talanta 77, 1518–27.
- Martínez Vidal, J.L., Plaza-Bolaños, P., Romero-González, R., Garrido Frenich, A., 2009. Determination of pesticide transformation products: A review of extraction and detection methods. Journal of Chromatography. A 1216, 6767–6788.
- Mauriz, E., Calle, A., Montoya, A., Lechuga, L.M., 2006. Determination of environmental organic pollutants with a portable optical immunosensor. Talanta 69, 359–364.
- Mazzella, N., Debenest, T., Delmas, F., 2008. Comparison between the polar organic chemical integrative sampler and the solid-phase extraction for estimating herbicide time-weighted average concentrations during a microcosm experiment. Chemosphere 73, 545-550.
- Miège, C., Budzinski, H., Jacquet, R., Soulier, C., Pelte, T., Coquery, M., 2012. Polar organic chemical integrative sampler (POCIS): application for monitoring organic micropollutants in wastewater effluent and surface water. Journal of environmental monitoring 14, 626-35.
- Millard, J.W., Alvarez-Núñez, F.A., Yalkowsky, S.H., 2002. Solubilization by cosolvents. International Journal of Pharmaceutics 245, 153-166.
- Mills, D.G.A., Dean, D.J.R., Smits, D.R., Paschke, A., Schwab, K., Brümmer, J., Schüürmann, G., Paschke, H., Popp, P., 2006. Rapid semi-continuous calibration and field test of membraneenclosed silicone collector as passive water sampler. Journal of Chromatography. A 1124, 187-195.
- Mills, G.A., Vrana, B., Allan, I., Alvarez, D.A., Huckins, J.N., Greenwood, R., 2007. Trends in monitoring pharmaceuticals and personal-care products in the aquatic environment by use of passive sampling devices. Analytical and Bioanalytical Chemistry 387, 1153-1157.

- Mnif, W., Hassine, A.I.H., Bouaziz, A., Bartegi, A., Thomas, O., Roig, B., 2011. Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review. International Journal of Environmental Research and Public Health 8, 2265–2303.
- Mongra, A.C., Kaur, A., 2012. Overview of biosensors development around the world. International Journal of Biomedical and Advance Research 3, 519–530.
- Moorcroft, M.J., Davis, J., Compton, R.G., 2001. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. Talanta 54, 785-803.
- Moral, A., Sicilia, M.D., Rubio, S., Pérez-Bendito, D., 2008. Multifunctional sorbents for the extraction of pesticide multiresidues from natural waters. Analytica chimica acta 608, 61-72.
- Morin, N., Miège, C., Coquery, M., Randon, J., 2012. Chemical calibration, performance, validation and applications of the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) in aquatic environments. TrAC Trends in Analytical Chemistry 36, 144–175.
- Mortensen, M.E., Calafat, A.M., Ye, X., Wong, L.-Y., Wright, D.J., Pirkle, J.L., Merrill, L.S., Moye, J., 2014. Urinary concentrations of environmental phenols in pregnant women in a pilot study of the National Children's Study. Environmental Research 129, 32–38.
- Mons, M., 2008. Monitoring and control of drinking water quality Inventory and evaluation of monitoring technologies for key-parameters Techneau Report.
- Mowat, F., Bundy, K., 2001. Correlation of field-measured toxicity with chemical concentration and pollutant availability. Environment International 27, 479-489.
- Naessens, M., Leclerc, J.C., Tran-Minh, C., 2000. Fiber optic biosensor using Chlorella vulgaris for determination of toxic compounds. Ecotoxicology and environmental safety 46, 181–5.
- NF EN 872 Juin 2005 Qualité de l'eau Dosage des matières en suspension Méthode par filtration sur filtre en fibres de verre.
- NF EN 1484 Juillet 1997 Analyse de l'eau Lignes directrices pour le dosage du carbone organique total (TOC) et carbone organique dissous (COD).
- NF EN 1899 Mai 1998 Qualité de l'eau Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBOn).
- NF EN 25663 Janvier 1994 Qualité de l'eau Dosage de l'azote Kjeldahl Méthode après minéralisation au sélénium.
- NF EN 25813 Mars 1993 Qualité de l'eau Dosage de l'oxygène dissous Méthode iodométrique.
- NF EN 25814 Mars 1993 Qualité de l'eau Dosage de l'oxygène dissous Méthode électrochimique à la sonde.
- NF EN 27888 Janvier 1994 Qualité de l'eau Détermination de la conductivité électrique
- NF EN ISO 10304-1 Juillet 2009 Qualité de l'eau Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide - Partie 1 : dosage du bromure, chlorure, fluorure, nitrate, nitrite, phosphate et sulfate

NF EN ISO 7027 Mars 2000 Qualité de l'eau - Détermination de la turbidité.

- NF EN ISO 5667-3 Mai 2013 Qualité de l'eau Échantillonnage Partie 3 : conservation et manipulation des échantillons d'eau.
- NF EN ISO 6878 Avril 2005 Qualité de l'eau Dosage du phosphore Méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium.
- NF EN ISO 11348-3 Février 2009 Qualité de l'eau Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de Vibrio fischeri (Essai de bactéries luminescentes)
 Partie 3 : méthode utilisant des bactéries lyophilisées.
- NF EN ISO 11369 Novembre 1997 Qualité de l'eau Dosage de certains agents de traitement des plantes Méthode par chromatographie en phase liquide haute performance (CLHP) avec détection UV après extraction solide-liquide.
- NF EN ISO 13395 Octobre 1996 Qualité de l'eau Détermination de l'azote nitreux et de l'azote nitrique et de la somme des deux par analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique.
- NF EN ISO 15681 Juin 2005 Qualité de l'eau Dosage des orthophosphates et du phosphore total par analyse en flux (FIA et CFA).
- NF T90-008 Février 2001 Qualité de l'eau Détermination du pH.
- NF T90-101 Février 2001 Qualité de l'eau Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO).
- NF T 90 105-2 Janvier 1997 Qualité de l'eau Dosage des matières en suspension Méthode par centrifugation.
- NF FD T90-523-1 Février 2008 Qualité de l'eau Guide de prélèvement pour le suivi de qualité des eaux dans l'environnement Partie 1 : prélèvement d'eau superficielle.
- NF FD T90-523-2 Février 2008 Qualité de l'eau Guide de prélèvement pour le suivi de qualité des eaux dans l'environnement Partie 2 : prélèvement d'eau résiduaire.
- NF FD T90-523-3 Janvier 2009 Qualité de l'eau Guide de prélèvement pour le suivi de la qualité des eaux dans l'environnement Partie 3 : prélèvement d'eau souterraine.
- NF ISO 15705 Novembre 2002 Qualité de l'eau Détermination de l'indice de demande chimique en oxygène (ST-DCO) Méthode à petite échelle en tube fermé.
- NF ISO 21458 Février 2009 Qualité de l'eau Dosage du glyphosate et de l'AMPA Méthode par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et détection fluorimétrique.
- Nhung, D.T.T., Phong, T.K., Watanabe, H., 2009. Determination of Tricyclazole in Water Using Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies 32, 2712–2720.
- Nödler, K., Licha, T., Bester, K., Sauter, M., 2010. Development of a multi-residue analytical method, based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry, for the simultaneous determination of 46 micro-contaminants in aqueous samples. Journal of Chromatography. A 1217, 6511–6521.

- Nováková, L., Vlčková, H., 2009. A review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: Chromatography and sample preparation. Analytica Chimica Acta 656, 8–35.
- OCDE-107, 1995. Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method.
- OCDE-117, 2004. Coefficient de partage (n-octanol/eau), méthode HPLC (Chromatographie en phase liquide à haute performance).
- OCDE-123, 2006. Coefficient de partage (1-octanol/eau) : méthode du brassage lent.
- Oğuz, A.R., Kankaya, E., 2013. Determination of selected endocrine disrupting chemicals in Lake Van, Turkey. Bulletin of environmental contamination and toxicology 91, 283-6.
- Öllers, S., Singer, H.P., Fässler, P., Müller, S.R., 2001. Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water. Journal of Chromatography. A 911, 225-234.
- OMS, 2004, Guidelines for Drinking-Water Quality Volume 1 Incorporating first and second addenda to third Edition.
- OMS, 2009, (http://www.who.int/water_sanitation_halt/publication_9789241562638/fr /index.html) consulté le 10 septembre 2013.
- ONU, 1999, Protocole sur l'eau et la santé à la convention de 1992 sur la protection et l'utilisation des cours d'eau transfrontières et des lacs internationaux.
- Opeolu, B.O., Fatoki, O.S., Odendaal, J., 2010. Development of a solid-phase extraction method followed by HPLC-UV detection for the determination of phenols in water. International Journal of Physical Sciences 5, 576-581.
- Ordonnance 2012-34 du 11 janvier 2012 portant simplification, réforme et harmonisation des dispositions de police administrative et de police judiciaire du code de l'environnement.
- Ordóñez, E.Y., Quintana, J.B., Rodil, R., Cela, R., 2012. Determination of artificial sweeteners in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of chromatography. A 1256, 197–205.
- Ortiz de García, S., Pinto Pinto, G., García Encina, P., Irusta Mata, R., 2013. Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain. Science of The Total Environment 444, 451-465.
- Osemwengie, L., Steinberg, S., 2001. On-site solid-phase extraction and laboratory analysis of ultra-trace synthetic musks in municipal sewage effluent using gas chromatography-mass spectrometry in the full-scan mode. Journal of Chromatography. A 932, 107–118.
- Österlund, H., Chlot, S., Faarinen, M., Widerlund, A., Rodushkin, I., Ingri, J., Baxter, D.C., 2010. Simultaneous measurements of As, Mo, Sb, V and W using a ferrihydrite diffusive gradients in thin films (DGT) device. Analytica Chimica Acta 682, 59–65.
- Otosaka, S., Schwehr, K.A., Kaplan, D.I., Roberts, K.A., Zhang, S., Xu, C., Li, H.-P., Ho, Y.-F., Brinkmeyer, R., Yeager, C.M., Santschi, P.H., 2011. Factors controlling mobility of 127I and 129I species in an acidic groundwater plume at the Savannah River Site. Science of The Total Environment 409, 3857-3865.
- Ouyang, G., Pawliszyn, J., 2006. Recent developments in SPME for on-site analysis and monitoring. TrAC Trends in Analytical Chemistry 25, 692–703.

- Pallett, K.E., Cramp, S.M., Little, J.P., Veerasekaran, P., Crudace, A.J., Slater, A.E., 2001. Isoxaflutole: the background to its discovery and the basis of its herbicidal properties. Pest Management Science 57, 133-142.
- Pan, H.-J., Ho, W.-H., 2004. Determination of fungicides in water using liquid phase microextraction and gas chromatography with electron capture detection. Analytica Chimica Acta 527, 61–67.
- Papa, E., Castiglioni, S., Gramatica, P., Nikolayenko, V., Kayumov, O., Calamari, D., 2004. Screening the leaching tendency of pesticides applied in the Amu Darya Basin (Uzbekistan). Water Research 38, 3485–3494.
- Pavlović, D.M., Babić, S., Horvat, A.J.M., Kaštelan-Macan, M., 2007. Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. TrAC Trends in Analytical Chemistry 26, 1062–1075.
- Pérez, S., Marinel, La Farré, Garcia, M.J., Barceló, D., 2001. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge and their contribution to its toxicity in the toxalert 100 bioassay. Chemosphere 45, 705-12.
- Petrauskas, A.A., Kolovanov, E.A., 2000. ACD/Log P method description. Perspectives in Drug Discovery and Design 19, 99–116.
- Petrovic, M., Hernando, M.D., Diaz-Cruz, M.S., Barcelo, D., 2005. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. Journal of chromatography. A 1067, 1-14.
- Petty, D.G., Getsinger, K.D., Woodburn, K.B., 2003. A Review of the Aquatic Environmental Fate of Triclopyr and its Major Metabolites. Journal of Aquatic Plant Management 41, 69–75.
- Petty, J.D., Huckins, J.N., Alvarez, D.A., Device for sequestration and concentration of polar organic chemicals from water, brevet américain déposé le 12 novembre 2002 sous le n° 6478961.
- Petty, J.D., Huckins, J.N., Alvarez, D.A., Brumbaugh, W.G., Cranor, W.L., Gale, R.W., Rastall, A.C., Jones-Lepp, T.L., Leiker, T.J., Rostad, C.E., Furlong, E.T., 2004. A holistic passive integrative sampling approach for assessing the presence and potential impacts of waterborne environmental contaminants. Chemosphere 54, 695–705.
- Petty, J.D., Huckins, J.N., Martin, D.B., Adornato, T.G., 1995. Use of semipermeable membrane devices (SPMDS) to determine bioavailable organochlorine pesticide residues in streams receiving irrigation drainwater. Chemosphere 30, 1891-1903.
- Phillips, P., Chalmers, A., 2009. Wastewater Effluent, Combined Sewer Overflows, and Other Sources of Organic Compounds to Lake Champlain1. JAWRA Journal of the American Water Resources Association 45, 45-57.
- Phillips, P.J., Ator, S.W., Nystrom, E.A., 2007. Temporal changes in surface-water insecticide concentrations after the phaseout of diazinon and chlorpyrifos. Environmental science & technology 41, 4246-51.
- Pichon, V., 2000. Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. Journal of Chromatography. A 885, 195–215.
- Pichon, V., Chapuis-Hugon, F., 2008. Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants--a review. Analytica chimica acta 622, 48–61.
- Picó, Y., Fernández, M., Ruiz, M.J., Font, G., 2007. Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment. Journal of biochemical and biophysical methods 70, 117-31.

- Pineda Arellano, C.A., González, A.J., Martínez, S.S., Salgado-Tránsito, I., Franco, C.P., 2013. Enhanced mineralization of atrazine by means of photodegradation processes using solar energy at pilot plant scale. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 272, 21-27.
- Podola, B., Melkonian, M., 2005. Selective real-time herbicide monitoring by an array chip biosensor employing diverse microalgae. Journal of Applied Phycology 17, 261–271.
- Polo, J., Chow, Y.L., 1976. Efficient Photolytic Degradation of Nitrosamines. J Natl Cancer Inst 56, 997–1001.
- Poole, C.F., 2003. New trends in solid-phase extraction. TrAC Trends in Analytical Chemistry 22, 362–373.
- Pose-Juan, E., Rial-Otero, R., Paradelo, M., López-Periago, J.E., 2011. Influence of the adjuvants in a commercial formulation of the fungicide "Switch" on the adsorption of their active ingredients: Cyprodinil and fludioxonil, on soils devoted to vineyard. Journal of Hazardous Materials 193, 288-295.
- Potera, C., 2011. Tadpole Models Gain Leg Up on Competition. Genetic Engineering & Biotechnology News 31, 18-18.
- Pozo, O.J., Marcos, J., Segura, J., Ventura, R., 2012. Recent developments in MS for small molecules: application to human doping control analysis. Bioanalysis 4, 197–212.
- Ptolemy, A.S., Tzioumis, E., Thomke, A., Rifai, S., Kellogg, M., 2010. Quantification of theobromine and caffeine in saliva, plasma and urine via liquid chromatography-tandem mass spectrometry: A single analytical protocol applicable to cocoa intervention studies. Journal of Chromatography. B 878, 409-416.
- Ran, Y., He, Y., Yang, G., Johnson, J.L.H., Yalkowsky, S.H., 2002. Estimation of aqueous solubility of organic compounds by using the general solubility equation. Chemosphere 48, 487–509.
- Rasmussen, R.R., Hedegaard, R. V, Larsen, E.H., Sloth, J.J., 2012. Development and validation of an SPE HG-AAS method for determination of inorganic arsenic in samples of marine origin. Analytical and bioanalytical chemistry 403, 2825–34.
- Reich, E., Schibli, A., 2006. High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants. Thieme Medicinal Publisher, Inc., New York.
- Ren, Z., Wang, Z., 2010. Differences in the behavior characteristics between Daphnia magna and Japanese madaka in an on-line biomonitoring system. Journal of Environmental Sciences 22, 703-708.
- Renew, J.E., Huang, C.-H., 2004. Simultaneous determination of fluoroquinolone, sulfonamide, and trimethoprim antibiotics in wastewater using tandem solid phase extraction and liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1042, 113-121.
- Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., Brunet, R., 2009. L'analyse de l'eau 9ème édition Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. Dunod.
- Rodil, R., Quintana, J.B., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D., 2009. Multi-residue analytical method for the determination of emerging pollutants in water by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of chromatography. A 1216, 2958–2969.
- Rodrigues, A.M., Ferreira, V., Cardoso, V.V, Ferreira, E., Benoliel, M.J., 2007. Determination of several pesticides in water by solid-phase extraction, liquid chromatography and electrospray tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1150, 267-278.

- Rodriguez-Mozaz, S., López de Alda, M., Barceló, D., 2009. Achievements of the RIANA and AWACSS EU Projects: Immunosensors for the Determination of Pesticides, Endocrine Disrupting Chemicals and Pharmaceuticals. Biosensors for Environmental Monitoring of Aquatic Systems 5J, 33-46.
- Rodriguez-Mozaz, S., López de Alda, M.J., Barceló, D., 2004. Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction-liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography. A 1045, 85-92.
- Roig B., 2007, Mesure sur site pour analyse rapide de la qualité des eaux. Techniques de l'ingénieur ; P 3900, 14 p.
- Roig, B., Baures, E., Thomas, O., 2013. Perspectives on drinking-water monitoring for small scale water systems. doi:10.2166/ws.2013.211.
- Roig, B., Brogat, M., Mompelat, S., Leveque, J., Cadiere, A., Thomas, O., 2012. Inter-laboratory exercise on antibiotic drugs analysis in aqueous samples. Talanta 98, 157-165.
- Roig, B., Delpla, I., Baurès, E., Jung, A.V., Thomas, O., 2011. Analytical issues in monitoring drinking-water contamination related to short-term, heavy rainfall events. TrAC Trends in Analytical Chemistry 30, 1243-1251.
- Roig, B., Valat, C., Allan, I.J., Greenwood, R., Berho, C., Guigues, N., Mills, G.A., Ulitzur, N., 2007. The use of field studies to establish the performance of a range of tools for monitoring water quality. TrAC Trends in Analytical Chemistry 26, 274-282.
- Ruban, G., Ellogho G., Joannis, C., Claverie, R., Fagot, C., Bauer, M., 2013, Faisabilité d'une détermination in situ de la décantabilité des eaux résiduaires urbaines, Novatech 2013 - 8th International Conference on Sustainable Techniques and Strategies for Urban Water Management, Session C8.
- Ruck, J.G., Martin, M., Mabon, M., 2000. Evaluation of Toxkits as methods for monitoring water quality in New Zealand, in : Persoone, G., Janssen, C., De Coen, W., New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biononitoring. Plenum Publishers, New York, pp. 103-119.
- Sacher, F., Lange, F.T., Brauch, H.-J., Blankenhorn, I., 2001. Pharmaceuticals in groundwaters: Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. Journal of Chromatography. A 938, 199–210.
- Sadek, P.C., 2002. The HPLC solvent guide. Wiley-Interscience.
- Salánki, J., Farkas, A., Kamardina, T., Rózsa, K.S., 2003. Molluscs in biological monitoring of water quality. Toxicology Letters 140-141, 403-410.
- Samanidou, V., Stathatos, C., Njau, S., Kovatsi, L., 2013. Disposable pipette extraction for the simultaneous determination of biperiden and three antipsychotic drugs in human urine by GC-nitrogen phosphorus detection. Bioanalysis 5, 21–9.
- Sambe, H., Hoshina, K., Hosoya, K., Haginaka, J., 2006. Simultaneous determination of bisphenol A and its halogenated derivatives in river water by combination of isotope imprinting and liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of chromatography. A 1134, 16–23.
- Sandau, C.D., Sjödin, A., Davis, M.D., Barr, J.R., Maggio, V.L., Waterman, A.L., Preston, K.E., Preau, J.L., Barr, D.B., Needham, L.L., Patterson, D.G., 2003. Comprehensive Solid-Phase Extraction Method for Persistent Organic Pollutants. Validation and Application to the Analysis of Persistent Chlorinated Pesticides. Analytical Chemistry 75, 71–77.

- Sarafraz-Yazdi, A., Amiri, A., Rounaghi, G., Eshtiagh-Hosseini, H., 2012. Determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in urine by hollow-fiber liquid membrane-protected solidphase microextraction based on sol-gel fiber coating. Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences 908, 67-75.
- Satchivi, N.M., Stoller, E.W., Wax, L.M., Briskin, D.P., 2001. A Nonlinear Dynamic Simulation Model for Xenobiotic Transport and Whole Plant Allocation Following Foliar Application. III. Influence of Chemical Properties, Plant Characteristics, and Environmental Parameters on Xenobiotic Absorption and Translocation. Pesticide Biochemistry and Physiology 71, 77-87.
- Schröder, P., Daubner, D., Maier, H., Neustifter, J., Debus, R., 2008. Phytoremediation of organic xenobiotics - Glutathione dependent detoxification in Phragmites plants from European treatment sites. Bioresource Technology 99, 7183-7191.
- Seethapathy, S., Górecki, T., Li, X., 2008. Passive sampling in environmental analysis. Journal of chromatography. A 1184, 234–53.
- Segura, P.A., MacLeod, S.L., Lemoine, P., Sauvé, S., Gagnon, C., 2011. Quantification of carbamazepine and atrazine and screening of suspect organic contaminants in surface and drinking waters. Chemosphere 84, 1085–1094.
- Seifrtová, M., Pena, A., Lino, C.M., Solich, P., 2008. Determination of fluoroquinolone antibiotics in hospital and municipal wastewaters in Coimbra by liquid chromatography with a monolithic column and fluorescence detection. Analytical and bioanalytical chemistry 391, 799-805.
- Serôdio, P., Nogueira, J.M.F., 2006. Considerations on ultra-trace analysis of phthalates in drinking water. Water research 40, 2572–82.
- Siener, R., Hesse, A., 2002. The Effect of Different Diets on Urine Composition and the Risk of Calcium Oxalate Crystallisation in Healthy Subjects. European Urology 42, 289-296.
- Simpson, N.J.K., Wells, M.J.M., 2000. Introduction to solid phase extraction, in : Simpson, N.J.K., Solid-Phase Extraction: Principles, Strategies and Applications. M. Dekker, New York, pp 1-18.
- Snyder, L.R., Kirkland, J.J., Glajch, J.L., 2012. Practical HPLC Method Development-second edition. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester.
- Snyder, S.A., Adham, S., Redding, A.M., Cannon, F.S., DeCarolis, J., Oppenheimer, J., Wert, E.C., Yoon, Y., 2007. Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals. Desalination 202, 156–181.
- Song, J.F., Lau-Cam, C.A., Kim, K.H., 2001. Monohydroxylation and esterification as determinants of the effects of cis- and trans-9-octadecenoic acids on the permeation of hydrocortisone and 5-fluorouracil across hairless mouse skin in vitro. International journal of pharmaceutics 212, 153–160.
- Spégel, P., Schweitz, L., Nilsson, S., 2002. Molecularly imprinted polymers. Analytical and bioanalytical chemistry 372, 37-8.
- Spieser, O., Schwaiger, J., Ferling, H., Negele, R.D., 2001. An Introduction to Behavioral Monitoring-Effects of Nonylphenol and Ethinylestradiol on Swimming Behavior of Juvenile Carp. Environmental Science Research 56, 93-112.
- Stoob, K., Singer, H.P., Goetz, C.W., Ruff, M., Mueller, S.R., 2005. Fully automated online solid phase extraction coupled directly to liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Quantification of sulfonamide antibiotics, neutral and acidic pesticides at low concentrations in surface waters. Journal of Chromatography. A 1097, 138-147.

- Storey, M. V, Van der Gaag, B., Burns, B.P., 2011. Advances in on-line drinking water quality monitoring and early warning systems. Water research 45, 741-7.
- Sun, Y., 2010. Field Detection Technologies for Explosives. ILM Publications.
- Tavares, R.S., Martins, F.C., Oliveira, P.J., Ramalho-Santos, J., Peixoto, F.P., 2009. Parabens in male infertility—Is there a mitochondrial connection? Reproductive Toxicology 27, 1-7.
- Taylor, E.N., Curhan, G.C., 2006. Body Size and 24-Hour Urine Composition. American Journal of Kidney Diseases 48, 905–915.
- Taylor, E.N., Curhan, G.C., 2007. Differences in 24-hour urine composition between black and white women. Journal of the American Society of Nephrology 18, 654-9.
- Ter Halle, A., Lavieille, D., Richard, C., 2010. The effect of mixing two herbicides mesotrione and nicosulfuron on their photochemical reactivity on cuticular wax film. Chemosphere 79, 482-487.
- Ternes, T.A., 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers1Dedicated to Professor Dr. Klaus Haberer on the occasion of his 70th birthday.1. Water Research 32, 3245-3260.
- Ternes, T.A., 2001. Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples. TrAC Trends in Analytical Chemistry 20, 419-434.
- Thomas, M., 2000. Integrating Physical, Chemical and Biological Monitoring. Security of Public Water Supplies NATO Science 66, 107-114.
- Thomas O., Baures E., Pouet M.F., 2005. UV Spectrophotometry as a Non-parametric Measurement of Water and Wastewater Quality Variability. Water Quality Research Journal of Canada 40, 51-58.
- Thomas, O., Theraulaz, F., Agnel, C., Suryani, S., 1996. Advanced UV Examination of Wastewater. Environmental Technology 17, 251–261.
- Thomas, O., Theraulaz, F., 2007. Aggregate organic constituents, in : Thomas, O., Burgess, C., UVvisible spectrophotometry of water and wastewater. Elsevier Amsterdam New York, pp 89-114.
- Thompson, J.E., Davidow, L.W., 2004. A practical guide to contemporary pharmacy practice. Lippincott Williams & Wilkins.
- Thomson, K.C, Gray, J., 2004. Water contamination emergencies can we cope ?. The royal society of chemistry.
- Togola, A., Budzinski, H., 2007. Development of polar organic integrative samplers for analysis of pharmaceuticals in aquatic systems. Analytical chemistry 79, 6734-41.
- Tölgyessy, P., Vrana, B., Krascsenits, Z., 2011. Development of a screening method for the analysis of organic pollutants in water using dual stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. Talanta 87, 152-160.
- Tran, N.H., Hu, J., Ong, S.L., 2013. Simultaneous determination of PPCPs, EDCs, and artificial sweeteners in environmental water samples using a single-step SPE coupled with HPLC-MS/MS and isotope dilution. Talanta 113, 82–92.
- Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Rexing, D.J., Snyder, S.A., 2006. Broad range analysis of endocrine disruptors and pharmaceuticals using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry. Chemosphere 65, 1990–1998.

- Trunnelle, K.J., Bennett, D.H., Tulve, N., Clifton, M.S., Davis, M., Calafat, A., Moran, R., Tancredi, D., Hertz-Picciotto, I., 2014. Urinary pyrethroid and chlorpyrifos metabolite concentrations in northern California families and their relationship to indoor residential insecticide levels, part of SUPERB. Environmental science & technology.
- Tsyurupa, M., Davankov, V., 2002. Hypercrosslinked polymers: basic principle of preparing the new class of polymeric materials. Reactive and Functional Polymers 53, 193-203.
- Tuomi, T., Johnsson, T., Reijula, K., 1999. Analysis of nicotine, 3-hydroxycotinine, cotinine, and caffeine in urine of passive smokers by HPLC-tandem mass spectrometry. Clinical chemistry 45, 2164-72.
- USEPA, 2005. Technologies and Techniques for Early Warning Systems to Monitor and Evaluate Drinking Water Quality; A State of the Art Review. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water.
- Uyguner C.S., Bekbolet M., 2005. Evaluation of humic acid photocatalytic degradation by UV-vis and fluorescence spectroscopy. Catalysis Today 101, 267-274.
- Vaghasiya, N., Paghadar, B., Mahajan, T., 2013. Stability indicating the RP-HPLC method development and validation for the estimation of clomiphene citrate in pharmaceutical doasage form. World journal of pharmaceutical research 2, 651-660.
- Valcárcel, Y., Alonso, S.G., Rodríguez-Gil, J.L., Maroto, R.R., Gil, A., Catalá, M., 2011a. Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/anti-inflammatory/antipyretic pharmaceuticals in river- and drinking-water of the Madrid Region in Spain. Chemosphere 82, 1062–1071.

Van den Broeke, J., 2005. A short evaluation of the S::can Spectro::lyser, BTO project.

- Van der Gaag, B., Volz, J., 2008. Real-time On-line Monitoring of Contaminants in Water: Developing a Research Strategy from Utility Experiences and Needs. KIWA Water Research, Nieuwegein.
- Van Pinxteren, M., Bauer, C., Popp, P., 2009. High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of 10 pesticides in water: a comparison between membrane-assisted solvent extraction and solid phase extraction. Journal of chromatography. A 1216, 5800–6.
- Vas, G., Vékey, K., 2004. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. Journal of mass spectrometry : JMS 39, 233–54.
- Vazquez-Roig, P., Andreu, V., Blasco, C., Picó, Y., 2010. SPE and LC-MS/MS determination of 14 illicit drugs in surface waters from the Natural Park of L'Albufera (València, Spain). Analytical and bioanalytical chemistry 397, 2851-64.
- Vega-Morales, T., Sosa-Ferrera, Z., Santana-Rodríguez, J.J., 2010. Determination of alkylphenol polyethoxylates, bisphenol-A, 17α -ethynylestradiol and 17β -estradiol and its metabolites in sewage samples by SPE and LC/MS/MS. Journal of hazardous materials 183, 701–11.
- Verenitch, S.S., Lowe, C.J., Mazumder, A., 2006. Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. Journal of chromatography. A 1116, 193–203.
- Vermeirssen, E.L.M., Bramaz, N., Hollender, J., Singer, H., Escher, B.I., 2009. Passive sampling combined with ecotoxicological and chemical analysis of pharmaceuticals and biocides evaluation of three Chemcatcher configurations. Water research 43, 903–14.

VIDAL, 2013. (http://www.vidal.fr/) consulté le 12 juillet 2013.

- Vonaparti, A., Lyris, E., Angelis, Y.S., Panderi, I., Koupparis, M., Tsantili-Kakoulidou, A., Peters, R.J.B., Nielen, M.W.F., Georgakopoulos, C., 2010. Preventive doping control screening analysis of prohibited substances in human urine using rapid-resolution liquid chromatography/high-resolution time-of-flight mass spectrometry. Rapid communications in mass spectrometry 24, 1595-609.
- Vrana, B., Allan, I.J., Greenwood, R., Mills, G.A., Dominiak, E., Svensson, K., Knutsson, J., Morrison, G., 2005. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. TrAC Trends in Analytical Chemistry 24, 845–868.
- Vrana, B., Mills, G.A., Dominiak, E., Greenwood, R., 2006a. Calibration of the Chemcatcher passive sampler for the monitoring of priority organic pollutants in water. Environmental pollution 142, 333-43.
- Vrana, B., Mills, G.A., Kotterman, M., Leonards, P., Booij, K., Greenwood, R., 2007. Modelling and field application of the Chemcatcher passive sampler calibration data for the monitoring of hydrophobic organic pollutants in water. Environmental Pollution 145, 895–904.
- Vrana, B., Paschke, A., Popp, P., 2006b. Calibration and field performance of membrane-enclosed sorptive coating for integrative passive sampling of persistent organic pollutants in water. Environmental pollution 144, 296-307.
- Vrana, B., Popp, P., Paschke, A., Schüürmann, G., 2001. Membrane-Enclosed Sorptive Coating. An Integrative Passive Sampler for Monitoring Organic Contaminants in Water. Analytical Chemistry 73, 5191–5200.
- Vulliet, E., Baugros, J.-B., Flament-Waton, M.-M., Grenier-Loustalot, M.-F., 2007. Analytical methods for the determination of selected steroid sex hormones and corticosteriods in wastewater. Analytical and bioanalytical chemistry 387, 2143–51.
- Walendzik, G., Baumbach, J.I., Klockow, D., 2005. Coupling of SPME with MCC/UV-IMS as a tool for rapid on-site detection of groundwater and surface water contamination. Analytical and Bioanalytical Chemistry 382, 1842–1847.
- Wang, C., Shi, H., Adams, C.D., Gamagedara, S., Stayton, I., Timmons, T., Ma, Y., 2011. Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Water research 45, 1818-28.
- Wang, L., Albasi, C., Faucet-Marquis, V., Pfohl-Leszkowicz, A., Dorandeu, C., Marion, B., Causserand, C., 2009. Cyclophosphamide removal from water by nanofiltration and reverse osmosis membrane. Water research 43, 4115–22.
- Wang, L., Ying, G.-G., Zhao, J.-L., Yang, X.-B., Chen, F., Tao, R., Liu, S., Zhou, L.-J., 2010. Occurrence and risk assessment of acidic pharmaceuticals in the Yellow River, Hai River and Liao River of north China. Science of The Total Environment 408, 3139–3147.
- Watanabe, E., Eun, H., Baba, K., Arao, T., Ishii, Y., Endo, S., Ueji, M., 2004. Rapid and simple screening analysis for residual imidacloprid in agricultural products with commercially available ELISA. Analytica Chimica Acta 521, 45–51.
- Weigel, S., Kuhlmann, J., Hühnerfuss, H., 2002. Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea. Science of The Total Environment 295, 131–141.
- Wells, M.J., Yu, L.Z., 2000. Solid-phase extraction of acidic herbicides. Journal of chromatography. A 885, 237–250.
- Wirth, T.C., Sadowski, C.S., Later, D.W., 2012. Rapid On-Site Screening of Environmental VOCs in Soil using Solid Phase Microextraction and a person-Portable GC/MS. The application notebook.

- Wittmer, I.K., Bader, H.-P., Scheidegger, R., Singer, H., Lück, A., Hanke, I., Carlsson, C., Stamm, C., 2010. Significance of urban and agricultural land use for biocide and pesticide dynamics in surface waters. Water Research 44, 2850–2862.
- Xi, H., Yang, Y., Zhao, D., Fang, L., Sun, L., Mu, L., Liu, J., Zhao, N., Zhao, Y., Zheng, N., He, Z., 2010. Transdermal patches for site-specific delivery of anastrozole: In vitro and local tissue disposition evaluation. International Journal of Pharmaceutics 391, 73-78.
- Yusa, V., Ye, X., Calafat, A.M., 2012. Methods for the determination of biomarkers of exposure to emerging pollutants in human specimens. TrAC Trends in Analytical Chemistry 38, 129–142.
- Zaruk, D., Comba, M., Struger, J., Young, S., 2001. Comparison of immunoassay with a conventional method for the determination of Diazinon® in surface waters. Analytica Chimica Acta 444, 168-163.
- Zhang, S., Schwehr, K.A., Ho, Y.-F., Xu, C., Roberts, K.A., Kaplan, D.I., Brinkmeyer, R., Yeager, C.M., Santschi, P.H., 2010. A novel approach for the simultaneous determination of iodide, iodate and organo-iodide for 127I and 129I in environmental samples using gas chromatography-mass spectrometry. Environmental science & technology 44, 9042–8.
- Zhang, Y., Geißen, S.-U., Gal, C., 2008a. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. Chemosphere 73, 1151–1161.
- Zhang, Z., Hibberd, A., Zhou, J.L., 2008b. Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: comparison between spot and passive sampling. Analytica chimica acta 607, 37-44.
- Zhang, Z.L., Zhou, J.L., 2007. Simultaneous determination of various pharmaceutical compounds in water by solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of chromatography. A 1154, 205–213.
- Zhao, D., Sonawane, N. D., Levin, M. H., & Yang, B., 2007. Comparative transport efficiencies of urea analogues through urea transporter UT-B. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes 1768, 1815–1821.
- Zhao, J.L., Ying, G.G., Wang, L., Yang, J.F., Yang, X.B., Yang, L.H., Li, X., 2009. Determination of phenolic endocrine disrupting chemicals and acidic pharmaceuticals in surface water of the Pearl Rivers in South China by gaz chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry. Science of the total environment 407, 962-974.
- Zuccato, E., Calamari, D., Natangelo, M., Fanelli, R., 2000. Presence of therapeutic drugs in the environment. The Lancet 355, 1789–1790.
- Zurita, J.L., Jos, A., Cameán, A.M., Salguero, M., López-Artíguez, M., Repetto, G., 2007. Ecotoxicological evaluation of sodium fluoroacetate on aquatic organisms and investigation of the effects on two fish cell lines. Chemosphere 67, 1–12.
Annexes

Annexe 1 : Liste des valorisations scientifiques

Les travaux de recherche réalisés au cours de cette thèse ont fait l'objet de diverses valorisations : articles et communications.

• Articles dans des revues internationales avec comité de lecture

Brogat M., Cadiere A., Sellier A., Thomas O., Baures E., Roig B. (2013) SPE/UV for field detection of micropollutants in water, Microchemical Journal, Volume 108, May 2013, Pages 215-223

Roig B., **Brogat M.**, Mompelat S., Leveque L., Cadiere A., Thomas O. (2012) Interlaboratory exercise on antibiotic drugs analysis in aqueous samples, Talanta, Volume 98, 30 August 2012, Pages 157-165

• Article en préparation

Brogat M., Baures E., Sellier A., Mercier F., Doloy M., Thomas O., Roig B On site fractionation and UV prescreening of micropollutants in contaminated water (Manuscrit soumis)

• Communications par affiche dans un congrès international ou national

Brogat M., Baures E., Thomas O., Roig B. (2012) Development of MSP2E-UV: an analytical methodology for organic micropollutants detection in water based on UV spectrometry after multiple solid phase selective preconcentration, SETAC Europe/Monde 2012, Berlin, Allemagne

Brogat M., Cadiere A., Sellier A., Thomas O., Baures E., Roig B. (2013) MSP2E/UV for field detection of micropollutants in water, ENVR 2013, Boston, USA

Brogat M., Baures E., Thomas O., Roig B. (2011) Development of a communicating portable analytical system of pollutants in water, Rencontres de l'Hôtel Dieu, Paris, France

Brogat M., Baures E., Thomas O., Roig B. (2012) Development of MSP2E-UV: an analytical methodology for organic micropollutants detection in water based on UV spectrometry after multiple solid phase selective preconcentration, Rencontres de l'Hôtel Dieu, Paris, France

Annexe 2: Publication 1 Microchemical Journal 108 (2013) 215-223

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect







journal homepage: www.elsevier.com/locate/microc

MSPE/UV for field detection of micropollutants in water

M. Brogat, A. Cadiere, A. Sellier, O. Thomas, E. Baures, B. Roig*

EHESP Rennes, Sorbonne Paris Cité, Avenue du Professeur Léon Bernard, CS 74312, 35043 Rennes Cedex, France INSERM U1085-IRSET, LERES, France

ARTICLE INFO

Article history: Received 28 September 2012 Received in revised form 30 October 2012 Accepted 30 October 2012 Available online 8 November 2012

Keywords: Detection Micropollutants Water Diagnosis Field

ABSTRACT

This paper proposes a new approach for the on-site detection of micropollutants in water in case of accidental or intentional contamination (characterized by high concentration). The technique is based on the use of an automatic multiple solid phase extraction step (MSPE) followed by direct or indirect UV spectrometry (MSPE/UV) for the detection of organic contaminants in water (such as regulated molecules (pesticides ...) as well as emerging pollutants (pharmaceutical products, endocrine disruptors ...)). The development of the system supposes firstly the choice of the most appropriate sorbent(s) and secondly conditions for the detection of targeted micropollutants, from several solid phase extraction cartridges and eluting solvents. Two different extraction sorbents were chosen. These sorbents and several eluting solvents allow the first separation of the compounds based on the physico-chemical properties of each substance ($pK_{an} \log K_{ow}$) and on the specific interactions with the sorbent. Finally, a UV analysis (either at the maximum of absorbance using a calibration curve or from the whole spectrum using a multicomponent (deconvolution) exploitation method) of each fraction allows a determination and a quantification of each compound. The method is rapid (less than 2 h), sensitive enough for an accidental/intentional contamination (between 5 and 40 μ g·L⁻¹ according to the substances) and with a good precision (between 4 and 14%).

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Wastewater sources could be contaminated by a variety of organic compounds such as pesticides, pharmaceuticals, additives or personal care products, and other industrial chemicals. Though the concentration of most of these contaminants is low in environmental waters, ranging from $pg \cdot L^{-1}$ to $ng \cdot L^{-1}$ (micropollutants), they are widely recognized as a potential risk to aquatic ecosystems and to human health [1].

The concentration of such contaminants can be higher in case of exceptional events like accidental pollutions. Such events are not rare. For example in 2010, 236 high and medium severity incidents were investigated in Northern Ireland [2], 400 were reported in UK and Wales [3] and 89 in France [4], all associated to water pollution. High rainy events can also be a source of an increase of micropollutant concentration in environmental waters, in particular because of surface leaching or discharge of untreated water through combined sewer overflow. For example, caffeine was found at the dozen μ g·L⁻¹ level in several studies [5,6] as well as other organic chemicals such as nonylphenols, cholesterol, tris(2-butoxyethyl)phosphate (TBEP), etc. ... [7].

Water contamination is generally monitored in laboratories by standard chromatographic methods (after sampling and contaminant extraction and preconcentration) [8,9]. Such techniques are very efficient for the identification and the quantification of lots of pollutants but they are time consuming and then not compatible with critical situations (such as accidental pollution). In this case, the deployment of field devices is required to identify rapidly the source of the problem, and the nature of the contaminant(s) and to take the remediation actions for the protection of the environment and the population.

Although field devices are available to measure water quality global parameters (COD, TSS ...), nutrients, and heavy metals, very few exist for micropollutant detection.

This work proposes a system based on multiple solid phase extraction (MSPE) coupled with UV spectrometry for the rapid detection of micropollutants.

Solid-phase extraction (SPE) is the most popular sample preparation method [10] used for extraction and preconcentration of substances from water. Basically, it consists in the retention of the substance (dissolved in water) into a sorbent followed by its elution with an adequate eluent. Generally, the elution is performed by using 100 to 1000 times less volume, resulting in the corresponding concentration of the substance. In the 90s, many improvements in formats, automation and phases have enhanced the development of SPE and currently, a broad range of sorbents is available for the specific retention of a wide range of chemicals in water. The most common retention mechanisms are non-polar (based on Van der Waals forces), polar (based on hydrogen bonding, dipole–dipole or π – π interactions), ion exchange (based on electrostatic interactions) and mixed mode (based on combination of non-polar and ion exchange interactions).

^{*} Corresponding author. Tel.: +33 4 66 27 95 71. *E-mail address:* benoit.roig@ehesp.fr (B. Roig).

⁰⁰²⁶⁻²⁶⁵X/\$ - see front matter © 2012 Elsevier B.V. All rights reserved. http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2012.10.025

Often used as pretreatment before chromatography analysis, SPE is used to extract and concentrate the maximum of substances prior to the speciation/separation by the chromatography column.

In this paper, SPE is used not only for its extraction and preconcentration capacity but also, by coupling multiple phases (MSPE), for its ability on micropollutant separation. After MSPE, several fractions are obtained, each of them corresponding to the elution volume of a given sorbent and being characterized (detection/quantification) by UV analysis.

The method was developed by using substances with different physico-chemical properties and relevance in water contamination [11,12], persistence [8,13] and of regulatory interest [14]. These include some pharmaceuticals (trimethoprim, sulfamethoxazole, ibuprofen, diclofenac, carbamazepine, 5-fluorouracil and 1,7 α -ethynylestradiol), phytosanitary products (diazinon and atrazine) and a stimulant (caffeine).

The performances of 11 SPE commercial cartridges: Strata-X (Phenomenex), Oasis-HLB (Waters), Strata-SAX (Phenomenex), Strata-PAH (Phenomenex), Strata-X-C (Phenomenex), Oasis-MAX (Waters), Oasis-MCX (Waters), Sep-Pak (Waters), Lichrolut-EN (Merck), SupelMIP Triazine and SupelMIP NSAID (Supelco) were compared and a combination of two of them was developed for the application of MSPE in pure and real water samples.

2. Experimental

2.1. Instrumentation

UV spectra were obtained with a Xenius spectrofluorometer (Safas, Monaco) between 200 and 400 nm using an optical quartz cell with a path length of 10 mm.

SPE was performed by using an in house (HOCER) automatic concentrator (Fig. 1) controlled by a specific software for the different SPE steps (conditioning, loading, elution, washing). Solutions (conditioning solvent, sample, eluting solvent(s)) are charged in the system by valve 3. They are loaded or not to the cartridge by valve 1. Valve 2 allows the collection of the fractions or the elimination of the waste. Valves 4 and 5 select the cartridge.

2.2. Chemicals

Standards of the targeted pollutants (trimethoprim, sulfamethoxazole, ibuprofen, diclofenac, carbamazepine, 5-fluorouracil, 1,7 α ethynylestradiol, diazinon, atrazine and caffeine) were purchased from Sigma-Aldrich. All compounds were of >98% purity. They were selected from their physico-chemical properties, in particular pK_a and log K_{ow} (which range from 0.8 to 13 and from 0.9 to 4 respectively) and also from their absorptivity in UV spectrophotometry (Table 1). pK_a and log K_{ow} determined their affinities for SPE supports and eluting solvents, and their behavior during the SPE step (Table 1).

Solvents and reagents are of chromatography quality. They were purchased from Panreac for acetonitrile, Merck for sulfuric acid, Fluka for formic acid, AnalaR Normapur for sodium chloride and Sigma-Aldrich for methanol and dichloromethane.

Ultrapure water was obtained from a PURELAB classic water purification system (Siemens).

Stock solutions of trimethoprim, sulfamethoxazole, ibuprofen, diclofenac, carbamazepine, 5-fluorouracil, 1,7 α -ethynylestradiol, diazinon, atrazine and caffeine (400–600 µg·mL⁻¹) were prepared in methanol and stored in the dark at 5±3 °C. Working solutions were prepared daily by dilution of the given stock solutions with ultrapure water. Prior to the extraction, water samples were spiked with targeted analyte at the concentration of 2 µg·mL⁻¹.

2.3. Solid-phase extraction

11 commercialized cartridges (Table 2) were tested. These include universal (retention of a wide range of substances) and more specific (retention of particular substances or family) sorbents, according to the description of the manufacturers.

After the conditioning step (Table 3), 10 mL of the water samples was percolated through the cartridges and secondly eluted with a specific eluting solvent.

In some cases (SupelMIP Triazine and SupelMIP NSAID cartridges) a pre-acidification (pH 3 with 1 mol· L^{-1} sulfuric acid) of the sample is required (according to supplier's instructions).



Fig. 1. Schematic diagram of the SPE arrangement for automatic sample extraction-separation determination.

Table 1

Properties of selected compounds.

Compound	рК _а	log K _{ow}	UV absorption (pH 6.2)	SPE cartridge used in the literature
Carbamazepine CAS: 298-46-4 C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O 236.3 g·mol ⁻¹	13.9 [15]	2.5 [16]	$\epsilon_{212nm} = 3.2 \pm 0.1 \times 10^{4} \text{ L.mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ $\epsilon_{285nm} = 1.32 \pm 0.08 \times 10^{4} \text{ L.mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ $\frac{1.5}{0.5}$	Oasis HLB [12,17–25] LiChrolut EN [9,19,26,27] Oasis MCX [8,28] RP-C18 [9] Isolut EN [9]
Trimethoprim CAS: 738-70-5 C ₁₄ H ₁₈ N₄O ₃ 290.3 g∙mol ⁻¹	1.3 [29]; 7.1 [30]	0'.9 [16]	$\epsilon_{202nm} = 4.7 \pm 0.4 \times 10^{4} L.mol-1.cm-1$ $\epsilon_{280nm} = 4.6 \pm 0.7 \times 10^{3} L.mol-1.cm-1$	Oasis HLB [22,24,25,31,32] LiChrolut EN [9] Strata-X [33,34] Oasis MCX [28] RP-C18 [28] Isolut EN [9] Orpheous DVB-HL [35]
Sulfamethoxazole CAS: 723-46-6 C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S 253.8 g·mol ⁻¹	1.8; 5.6 [36]	0.9 [16]	$\epsilon_{260nm} = 1.6 \pm 0.7 \times 10^4 L.mol^{-1}.cm^{-1}$	Oasis HLB [18,24,25,32] LiChrolut EN [9] Strata-X [33,34] Oasis MCX [27,28] RP-C18 [9] Isolut EN [9] Orpheous DVB-HL [35]
Diclofenac salt CAS: 15307-79-6 C₄H1₀Cl₂NNaO2 296.2 g∙mol ⁻¹	4.2 [15]	0.7 [16]	$\epsilon_{277nm} = 1.1 \pm 0.4 \times 10^{4} L.mol^{-1}.cm^{-1}$	Oasis HLB [12,17-22,24,25,37,38] LiChrolut EN [9,19,39] Oasis MAX [40] Strata-X [33] RP-C18 [9] Isolut EN [9]
lbuprofen CAS: 15687-27-1 C ₁₃ H ₁₈ O ₂ 206.3 g∙mol ⁻¹	4.4 [15]	4.0 [16]	$\epsilon_{221nm} = 8.4 \pm 0.5 \times 10^{3} L.mol^{-1}.cm^{-1}$	Oasis-HLB [12,17-22,24,25,37,38] LiChrolut-EN [9,19,26,39] Oasis-MAX [40] Oasis-MCX [27] Strata-X [33,34] RP-C18 [9] Isolut-EN [9]
5-Fluorouracil CAS: 51-21-8 C₄H₃FN₂O₂ 130.1 g∙mol ⁻¹	8.0; 13.0 [41]	-0.9 [42]	$\epsilon_{265nm} = 7.3 \pm 0.5 \times 10^{3} L.mol^{-1}.cm^{-1}$	Isolut-ENV+ [43]

(continued on next page)

 Table 1 (continued)



2.4. UV analyses

Analysis of each extract is performed by UV spectrometry. A spectrum (between 200 and 400 nm) of each sample was carried out before and after percolation through the cartridge. The quantification is carried out either at the maximum of absorbance using a calibration curve (for individual substances) or from the whole spectrum using a multicomponent (deconvolution) exploitation method [55] (for mixture of substances).

The calculation of the spectral contribution is carried out by using the following relation:

$$s_{W} = \sum_{i=1}^{p} a_{i}REF_{i} \pm r$$

where S_w is the sample spectrum, a_i is the contribution coefficient of the ith reference spectrum REF_i, p is the number of reference spectra used and r is the quadratic error.

Bases of reference spectra were constituted for each class of fraction as explained after.

3. Results and discussion

In this work, MSPE is employed not only to extract and preconcentrate the analytes of interest but also to separate analytes in the case of mixtures. In this case, the separation is carried out by eluting different fractions before UV detection.

3.1. Assessment of SPE cartridge specificity

11 SPE commercial cartridges were considered in this study, the characteristics of which are presented in Table 2.

10 mL of spiked aqueous solutions of each selected molecule at a final concentration of $2 \ \mu g \cdot m L^{-1}$ was loaded on each cartridge. At the pH of the solution (6.2 corresponding to the ultrapure water), the molecules are under their neutral form except for diclofenac (DIC), ibuprofen (IBU) and sulfamethoxazole (SMX) that are anionic. The capacity of retention of the cartridges is evaluated by the difference between the substance concentrations (measured by UV spectrometry) in the loaded solution and in the percolate. Results are shown in Table 4. Percentages of retention are represented by empty, partially full and fully dark circle (white

Table 2

Different commercialized cartridges and nature of their sorbent.

Name of cartridge	Structure of the sorbent	Instructions of suppliers
Oasis-HLB 225 mg (Waters)		Hydrophilic lipophilic copolymer for all compounds (acidic, neutral and basic)
Oasis-MAX 225 mg (Waters)		Mixed-mode anion exchange sorbent for acidic compounds
Oasis-MCX 225 mg (Waters)		Mixed-mode cation exchange sorbent for basic compounds
Sep-Pak Plus PS2 300 mg (Waters)	Copolymer styrene-divinylbenzene	Usually used for hydrophobic compounds with hydrophilic function (extraction of pesticides in Japan)
Strata-X 200 mg (Phenomenex)		Polymeric based sorbent for acidic, neutral and basic compounds
Strata-X-C 200 mg (Phenomenex)	K S S O_ H+	Mixed-mode polymeric sorbent, strong cation-exchange for weakly basic compounds
Strata-SAX 500 mg (Phenomenex)		Silica based sorbent, strong-anion ex- change mechanism of retention for weakly acidic compounds
Strata-PAH 750 mg (Phenomenex)	Silica-based sorbent (proprietary)	For polycyclic aromatic hydrocarbons
LiChrolut-EN 200 mg (Merck)	Ethyl vinyl benzene divinyl benzene polymer	For polar organic substances
SupelMIP Triazine 25 mg (Supelco)	Molecular imprinted polymer	For extraction of triazine family compounds
SupelMIP NSAID 25 mg (Supelco)	Molecular imprinted polymer	For extraction of NSAID family compounds

circle: <25%; one quarter dark circle: between 25 and 50%; three quarter dark circle: between 51 and 75%; black circle: >75%).

Oasis-HLB, Strata-X, Lichrolut-EN, Sep-Pak Plus PS2, Oasis-MCX and Strata-X-C present a closed behavior for all molecules, except for 5-fluorouracil (5FU); the retention percentage of which is >75% only with Lichrolut-EN. These results confirm the ability of Oasis-HLB, Lichrolut-EN, and Sep-Pak Plus PS2 to retain a wide range of compounds, which is already illustrated in a previous comparative study [13] on the extraction of pesticide (recovery of atrazine was in the range of 94–98%,

Conditioning of the	he cartridges.
---------------------	----------------

Cartridges	Conditioning	рН
Oasis-HLB, Oasis-MAX, Oasis-MCX, Sep-Pak Plus PS2, LiChrolut-EN, Strata-X, Strata-X-C and Strata-SAX	6 mL of acetonitrile 10 mL of ultrapure water	Neutral pH (or pH 3 in the tests where water samples were acidified)
SupelMIP NSAID	2 mL of acetonitrile 2 mL of methanol 2 mL of acid formic	рН 3
SupelMIP Triazine	2 mL of methanol 2 mL of ultrapure water 2 mL of acid formic	
Strata-PAH	10 mL of dichloromethane 10 mL of methanol 10 mL of ultrapure water	Neutral pH

72–90%, and 82–86% for Lichrolut-EN, Oasis-HLB and Strata-X respectively). However, they did not follow at all the supplier information giving SEP-Pak Plus PS2 specific to pesticides and Oasis-MCX and Strata-X-C recommended for cationic compounds.

Lichrolut-EN and Oasis-MAX are the only ones being able to adsorb 5FU (>75% and partially <50% respectively), in spite of its physico-properties being rather close to other ones. The high difficulty of extraction of this molecule has already been shown by Micoli et al. without explanation [43]. But the latter also showed a good recovery with a styrene-divinylbenzene cartridge (ENVI-Chrom P) contrary to our study with Sep-Pak Plus PS2. Strata-PAH, SupelMIP Triazine and SupelMIP NSAID cartridges commercialized to be specific of PAH, triazine and anti-inflammatory respectively, are subjected to interferences because they are not specific enough for our conditions as they also retain the other molecules.

The different behaviors of the two anionic exchange sorbents (Strata-SAX and Oasis-MAX) are probably due to their structures. Indeed, in spite of the ammonium cationic charge, the copolymer base of the second sorbent confers the possibility to adsorb neutral compounds. Consequently, Oasis-MAX is less specific for anionic compounds than Strata-SAX which retains only the anionic compounds. The high specificity of Strata-SAX was confirmed by modifying the pH of the standard solution of DIC, IBU and SMX. Indeed, at pH 3 (below their pK_a), they are present under their neutral form and do not interact with the sorbent (Table 5).

This comparative study shows a lack of specificity of the SPE cartridges contrary to the specification of the suppliers. But, when coupled with chromatographic systems, such drawback appears not to be crucial for the separation and the detection of the different compounds performed in the chromatographic column under the optimal conditions (including elution gradient).

In our development, the specificity of the sorbent is central because of the simplicity constraint and the choice of the cartridge shall drive the performance of our results. Consequently, a combination of Strata-SAX (for anionic compounds) and Oasis-HLB (for neutral or cationic compounds) has been selected for application to simple mixtures. Note that LiChrolut-EN or SepPak Plus PS2 could also be used.

3.2. Selection of eluting solvents

Once adsorbed onto the cartridge, the substance should be eluted. Anionic compounds interact on the Strata-SAX sorbent due to electrostatic links. Several eluting solvents have been tested by modifying the ionic strength or by involving a strong contra-ion. After different trials, the chosen solution to use was the 4 mL mixture of methanol/ 0.1 mol·L⁻¹ sodium chloride (40/60 vol.%) (E1). Experiments demonstrated a dead volume of 1.0 mL, with no substances eluted.

Table 4

Capacity of retention of sorbents (pH 6.2, 10 mL at 2 $\mu g \cdot m L^{-1}$).

Targeted compounds	Oasis-HLB	Sep-Pak Plus PS2	Strata-X	Lichrolut-EN	Oasis-MAX	Oasis-MCX	Strata-X-C	Strata-SAX	Strata-PAH	SupelMIP Triazine	SupelMIP NSAID
	Ac, neut., bas.	Pest	Ac, neut., bas.	Polar	Ac.	Bas.	Strong cation	Strong anion	РАН	Triazine	NSAID
Diclofenac	•	•	0	•	•	•	•	•	•	4	•
Sulfamethoxazole	•	•	ĕ	•	•	•	•	•	•	•	•
Ibuprofen	•	•	•	•	•	•	•	•		•	•
Caffeine	•	•	•	•	•	•	•	0	ĕ	0	•
Trimetoprim	•	•	•	•	0	•	•	0	•	•	٩
Carbamazepine	•	•	•	•	•	•	•	0	•	•	•
Atrazine	•	•	•	•	•	•	•	0	•	•	•
Diazinon	•	•	•	•	•	•	•	0	•	•	•
1,7α-Ethynylestradiol	•	•	•	•	•	•	•	0	0	•	•

Ac.: acidic, neut.: neutral, bas.: basic, pest.: pesticides.

Table 5

Comparison of capacity of retention of Strata-SAX sorbents at pH 6.2 and at pH 3.

Targeted	Strata-SAX		
compounds	pH 6.2	рН 3	
Diclofenac	•	0	
Sulfamethoxazole	•	0	
Ibuprofen	•	0	

Concerning neutral compounds, the interaction strength of each substance with the sorbent depends not only on its affinity with the sorbent (due mainly to hydrogen bond and Van der Waals) but also on the hydrophilic/hydrophobic character of the molecule (log K_{ow}). Based on these parameters, mixtures of acetonitrile ACN/water, with

different volumetric percentages have been tested. Results (not shown) showed the necessity to increase the percentage of acetonitrile when log K_{ow} increases. Then two mixtures were selected: ACN/water (30/70 vol.%) for substances with log K_{ow}<1 and ACN/water (70/30 vol.%) for substances with log K_{ow}>1. Tests on the different substances allow determining the minimum volume necessary to the elution of the whole fraction: 1 and 2 mL for E2 and E3 respectively. For each fraction, a dead volume of 1.0 mL and 0.5 mL respectively has been determined.

For each fraction, a UV spectrum is acquired and analyzed by deconvolution. 2 different reference bases are used according to the fraction. They all include the reference spectra of the water used and spectra of individual compounds. In addition, the base for fraction 1 (Strata-SAX) includes the spectra of anionic compounds and the



Fig. 2. Methodology used for the separation and concentration of 5 micropollutants: E1: methanol and sodium chloride $(0.1 \text{ mol} \cdot L^{-1})$ (vol.% = 0.4 for methanol); E2: acetonitrile and ultrapure water (vol.% = 0.7 for acetonitrile). Step 1: a preconcentration of substances by using chemical sorbents with different properties; step 2: a separation of substances based on their physico-chemical properties by using different eluting solvents; step 3: a direct or indirect (deconvolution) UV analysis of each fraction.

Table 6

Average extraction recoveries (R%) for ibuprofen and diclofenac on Strata-SAX, and caffeine, atrazine and carbamazepine on Oasis-HLB (n=3).

% recovery	Anionic compounds				
	Ibuprofen			Diclofenac	
	104 ± 10		96 ± 10		
	Neutral compounds			ounds	
	Caffeine	Atrazine		Carbamazepine	
	91 ± 2	77 ± 3		98 ± 16	

base for fractions 2 and 3 (Oasis-HLB) includes the spectra of neutral compounds.

3.3. Applications

3.3.1. Mixture in pure water

A mixture of 5 micropollutants covering a wide range of pK_a and log K_{ow} , was prepared in ultrapure water and analyzed by MSPE/UV.

100 mL of ultrapure water (pH 6.2) spiked with diclofenac (anionic, pK_a 4.2, log K_{ow} 0.7), ibuprofen (anionic, pK_a 4.4, log K_{ow} 4), atrazine (neutral, pK_a 1.9 and 1.7, log K_{ow} 2.6), caffeine (neutral, pK_a 0.8, log K_{ow} -0.1) and carbamazepine (neutral, pK_a 13.9, log K_{ow} 2.5) (100 ng \cdot mL⁻¹ each) was percolated successively through the Strata-SAX and Oasis-HLB sorbent at 10 mL/min by using an automatic HOCER SPE system. Anionic compounds (ibuprofen and diclofenac)



Fig. 3. UV spectra of the fractions obtained after elution of Strata-Sax and Oasis HLB cartridges: dead volume (A) and efficient volume (B). Dead volume and efficient volume for Strata-SAX were diluted by 10.

and the neutral ones (carbamazepine, caffeine and atrazine) were adsorbed on the Strata-SAX and Oasis-HLB cartridges respectively.

Notice that these five substances, previously studied individually with the corresponding cartridges, showed recovery yields (calculated with 10 replicates) ranging from $78 \pm 4\%$ for carbamazepine to $100 \pm 14\%$ for ibuprofen and limit of quantification ranging from $5 \ \mu g \cdot L^{-1}$ for caffeine to $40 \ \mu g \cdot L^{-1}$ for ibuprofen (data not shown); LOQ is acceptable in the context of accidental/intentional contamination.

Eluting solvents determined above were applied to elute the two cartridges. Three fractions were obtained: 1 from the Strata-SAX cartridge and 2 from the Oasis-HLB one.

4 mL of E1 has been used to elute the two anionic compounds (ibuprofen and diclofenac) retained by Strata-SAX. The fraction was analyzed by UV spectroscopy using the deconvolution analysis. The neutral compounds (caffeine, atrazine and carbamazepine) were separated in the two fractions of Oasis-HLB (1 mL of E2 and 2 mL of E3) and analyzed by UV spectroscopy (Fig. 2).

The average extraction recoveries (R%) are collected in Table 6. The 5 substances of the mixture were recovered in each expected fraction with a percentage higher than 75%. Relative standard deviations (RSD) were calculated from triplicates.

3.3.2. Contamination of river water by one chemical

A second application consisted in testing the procedure on a raw sample contaminated by one pollutant at high concentration (simulating an accidental pollution). A river water $(15.3 \pm 0.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ of TOC})$ and $1.8\pm0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of nitrate) has been contaminated by 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of diuron, an herbicide with a partition coefficient of 2.87 [56]. Even if it is banned in several countries, it is always present in the environment and still sometimes used. 100 mL of the contaminated water was treated according to the same protocol as mentioned above: percolation onto the two cartridges and elution of three fractions (1 from Strata-SAX and 2 from Oasis-HLB). The UV spectra of each fraction are displayed in Fig. 3. Fig. 3A represents the dead volume of each fraction. They allow verifying that no chemicals have been eluted. The UV signal of the first fraction of Strata-SAX is due to nitrate, which is estimated to be 0.9 ± 0.2 mg·L⁻¹. Fig. 3B corresponds to the UV spectra of the fractions containing potentially the contaminant. The fraction corresponding to the Strata-SAX elution still contains nitrates (estimated to be $2.1 \pm 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) whereas the first fraction of Oasis-HLB with 30/70 vol.% ACN/water shows no relevant UV signal. The UV spectrum of the last fraction corresponding to 70/30 vol.% ACN/water eluent shows an absorbance peak at 250 nm corresponding to the presence of the contaminant.

The analysis of each UV spectra has been made by deconvolution with the following bases of reference spectra: river water, nitrates, ibuprofen, and diclofenac for the Strata-SAX fraction and, river water, caffeine, carbamazepine, atrazine, and diuron for the Oasis-HLB ones.

Results are shown in Table 7. The average extraction recovery obtained for diuron was of $78 \pm 14\%$ (n = 4 replicates).

Further experiments with other contaminants in natural water give similar results (data not shown).

4. Conclusion

Conventional methods used to detect micropollutants in water are generally time consuming (approximately 24–48 h) and not appropriate in the case of accidental or intentional contamination (characterized by concentration in the range of $\mu g \cdot L^{-1}$) for which a quick decision shall be made with respect to human health protection. In this context, the MSPE/UV method proposed is a first step in giving useful information on the presence of suspected substances by its rapid on-site implementation. This method could also be used for a better knowledge of micropollutant transfer in case of heavy rain events when concentrations are higher and varying rapidly. The applications in pure and raw water presented in this work show the potential of the method in

Table 7 Result of deconvolution (

Result of	deconvolution	(n=4).	

	Unknown (u.a.)	Ibuprofen (μg·L ⁻¹)		Diclofenac (µg∙L ⁻¹)	NO_3 $(mg \cdot L^{-1})$
Strata-SAX elutions					
Dead volume	0	0		0	0.9 ± 0.2
(1.1 mL)					
Efficient volume	0	0		0	2.1 ± 2.0
(4 mL)					
	Unknown	Caffeine	Carbamazepine	Atrazine	Diuron
	(u.a.)	$(\mu g \cdot L^{-1})$	(µg · L ^{−1})	(µg·L ⁻¹)	(µg·L ^{−1})
Oasis-HLB 1 (30/70 vol.% ACN/water) e	elutions				
Dead volume (1 mL)	0.004 ± 0.002	0	0	0.1 ± 0.3	0
Efficient volume (1 mL)	0.04 ± 0.01	0	0	0	0
Oasis-HLB 2 (70/30 vol.% ACN/water) e	elutions				
Dead volume	0.004 ± 0.003	0	0	0	0
(0.5 mL)					
Efficient volume	0	0	0	0	39 ± 7
(2 mL)					

particular for a simple detection of contamination at the level of $\mu g \cdot L^{-1}$, which is likely to occur during exceptional events that are either natural (climate change) or accidental/intentional. Further experiments shall be conducted with other types of water (for example containing humic substances giving high DOC concentrations) and other chemicals of interest. Such methodology is not intended to be used for surveillance and routine monitoring, conventional methods covered by sampling and laboratory analysis with standard methods. This new approach shall be considered as complementary and particularly designed for rapid on-site interventions. Finally, it could be included in field portable devices for improving the on-site diagnosis of water quality contamination.

Acknowledgments

This work was supported by the French Ministry of Industry in the frame of the 2010 Eco-Industries call for project. We would like to warmly thank Dominique Verrey for his technical valuable help and HOCER Company (in particular Goulven Cavalin) for its assistance concerning the portable SPE automatic system.

References

- [1] S. Barrek, C. Cren-Olivé, L. Wiest, R. Baudot, C. Arnaudguilhem, M.-F. Grenier-Loustalot, Multi-residue analysis and ultra-trace quantification of 36 priority substances from the European Water Framework Directive by GC–MS and LC– FLD–MS/MS in surface waters, Talanta 79 (2009) 712–722.
- [2] NIEA (Northern I.E. Agency), Water pollution incidents and enforcement 2010 annual report, http://www.doeni.gov.uk/niea/water_pollution_incid.
- [3] DEFRA, Environmental statistics key facts, 2011. http://www.defra.gov.uk/statistics/f.
- [4] BARPI, Les accidents de l'année 2010, http://www.aria.developpement-durable.
- [5] I.J. Buerge, T. Poiger, M.D. Müller, H.-R. Buser, Combined sewer overflows to surface waters detected by the anthropogenic marker caffeine, Environ. Sci. Technol. 40 (2006) 4096–4102.
- [6] M.J. Benotti, B.J. Brownawell, Distributions of pharmaceuticals in an urban estuary during both dry- and wet-weather conditions, Environ. Sci. Technol. 41 (2007) 5795–5802.
- [7] P. Phillips, A. Chalmers, Wastewater effluent, combined sewer overflows, and other sources of organic compounds to Lake Champlain, J. Am. Water Resour. Assoc. 45 (2009) 45–57.
- [8] A. Asperger, J. Efer, T. Koal, W. Engewald, Trace determination of priority pesticides in water by means of high-speed on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry using turbulent-flow chromatography columns for enrichment and a short monolithic column for fast liquid chromatography separation, J. Chromatogr. A 960 (2002) 109–119.
- [9] F. Sacher, F.T. Lange, H.-J. Brauch, I. Blankenhorn, Pharmaceuticals in groundwaters: analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany, J. Chromatogr. A 938 (2001) 199–210.
- [10] C.F. Poole, New trends in solid-phase extraction, TrAC, Trends Anal. Chem. 22 (2003) 362–373.

- [11] M. Gros, M. Petrović, D. Barceló, Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters, Talanta 70 (2006) 678–690.
- [12] S. Öllers, H.P. Singer, P. Fässler, S.R. Müller, Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water, J. Chromatogr. A 911 (2001) 225–234.
- [13] A.A. D'Archivio, M. Fanelli, P. Mazzeo, F. Ruggieri, Comparison of different sorbents for multiresidue solid-phase extraction of 16 pesticides from groundwater coupled with high-performance liquid chromatography, Talanta 71 (2007) 25–30.
- [14] European Commission, Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council Amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as Regards Priority Substances in the Field of Water Policy, 2012.
- [15] J. Magnér, M. Filipovic, T. Alsberg, Application of a novel solid-phase-extraction sampler and ultra-performance liquid chromatography quadrupole-time-of-flight mass spectrometry for determination of pharmaceutical residues in surface sea water, Chemosphere 80 (2010) 1255–1260.
- [16] S.A. Snyder, S. Adham, A.M. Redding, F.S. Cannon, J. DeCarolis, J. Oppenheimer, E.C. Wert, Y. Yoon, Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals, Desalination 202 (2007) 156–181.
- [17] C. González-Barreiro, M. Lores, M.C. Casais, R. Cela, Simultaneous determination of neutral and acidic pharmaceuticals in wastewater by high-performance liquid chromatography-post-column photochemically induced fluorimetry, J. Chromatogr. A 993 (2003) 29–37.
- [18] M. Carballa, F. Omil, J.M. Lema, M. Llompart, C. García-Jares, I. Rodríguez, M. Gómez, T. Ternes, Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant, Water Res. 38 (2004) 2918–2926.
- [19] S. Weigel, R. Kallenborn, H. Hühnerfuss, Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography-mass spectrometry, J. Chromatogr. A 1023 (2004) 183–195.
- [20] W.-C. Lin, H.-C. Chen, W.-H. Ding, Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatography-mass spectrometry, J. Chromatogr. A 1065 (2005) 279–285.
- [21] J.L. Santos, I. Aparicio, E. Alonso, M. Callejón, Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors, Anal. Chim. Acta 550 (2005) 116–122.
- [22] M.J. Gómez, M. Petrović, A.R. Fernández-Alba, D. Barceló, Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters, J. Chromatogr. A 1114 (2006) 224–233.
- [23] Z. Moldovan, Occurrences of pharmaceutical and personal care products as micropollutants in rivers from Romania, Chemosphere 64 (2006) 1808–1817.
- [24] R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, D.J. Rexing, S.A. Snyder, Broad range analysis of endocrine disruptors and pharmaceuticals using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry, Chemosphere 65 (2006) 1990–1998.
- [25] L.M. Ravelo-Pérez, A.V. Herrera-Herrera, J. Hernández-Borges, M.A. Rodríguez-Delgado, Carbon nanotubes: solid-phase extraction, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 2618–2641.
- [26] M. Moeder, S. Schrader, M. Winkler, P. Popp, Solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry of biologically active substances in water samples, J. Chromatogr. A 873 (2000) 95–106.
- [27] S. Castiglioni, R. Bagnati, D. Calamari, R. Fanelli, E. Zuccato, A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters, J. Chromatogr. A 1092 (2005) 206–215.
- [28] B. Kasprzyk-Hordern, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy, Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase

extraction and ultra-performance liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. A 1161 (2007) 132–145.

- [29] J. Cao, R.F. Cross, The separation of dihydrofolate reductase inhibitors and the determination of pK_{a,1} values by capillary zone electrophoresis, J. Chromatogr. A 695 (1995) 297–308.
- [30] R. Broséus, S. Vincent, K. Aboulfadl, A. Daneshvar, S. Sauvé, B. Barbeau, M. Prévost, Ozone oxidation of pharmaceuticals, endocrine disruptors and pesticides during drinking water treatment, Water Res. 43 (2009) 4707–4717.
- [31] S. Babić, D. Ašperger, D. Mutavdžić, A.J.M. Horvat, M. Kaštelan-Macan, Solid phase extraction and HPLC determination of veterinary pharmaceuticals in wastewater, Talanta 70 (2006) 732-738.
- [32] K.D. Brown, J. Kulis, B. Thomson, T.H. Chapman, D.B. Mawhinney, Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico, Sci. Total. Environ. 366 (2006) 772–783.
- [33] M.J. Hilton, K.V. Thomas, Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. A 1015 (2003) 129–141.
- [34] P.H. Roberts, K.V. Thomas, The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment, Sci. Total. Environ. 356 (2006) 143–153.
- [35] H.N. Mistri, A.G. Jangid, A. Pudage, A. Shah, P.S. Shrivastav, Simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in microgram quantities from low plasma volume by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, Microchem. J. 94 (2010) 130–138.
- [36] D.M. Pavlović, S. Babić, A.J.M. Horvat, M. Kaštelan-Macan, Sample preparation in analysis of pharmaceuticals, TrAC, Trends Anal. Chem. 26 (2007) 1062–1075.
- [37] I. Rodríguez, J. Quintana, A. Carpinteiro, R. Carro, R. Cela Lorenzo, Determination of acidic drugs in sewage water by gas chromatography-mass spectrometry as tert.-butyldimethylsilyl derivatives, J. Chromatogr. A 985 (2003) 265–274.
- [38] J.D. Margit Varga, Investigation of acidic pharmaceuticals in river water and sediment by microwave-assisted extraction and gas chromatography-mass spectrometry, Microchem. J. (2010) 353–358.
- [39] U. Jux, R.M. Baginski, H.-G. Arnold, M. Krönke, P.N. Seng, Detection of pharmaceutical contaminations of river, pond, and tap water from Cologne (Germany) and surroundings, Int. J. Hyg. Environ. Health 205 (2002) 393–398.
- [40] H.-B. Lee, T.E. Peart, M.L. Svoboda, Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry, J. Chromatogr. A 1094 (2005) 122–129.
- [41] M. Breda, S. Barattè, A review of analytical methods for the determination of 5-fluorouracil in biological matrices, Anal. Bioanal. Chem. 397 (2010) 1191–1201.
- [42] J.F. Song, C.A. Lau-Cam, K.H. Kim, Monohydroxylation and esterification as determinants of the effects of cis- and trans-9-octadecenoic acids on the permeation of hydrocortisone and 5-fluorouracil across hairless mouse skin in vitro, Int. J. Pharm. 212 (2001) 153–160.

- [43] G. Micoli, R. Turci, M. Arpellini, C. Minoia, Determination of 5-fluorouracil in environmental samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection, J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl. 750 (2001) 25–32.
- [44] H. Yamamoto, H.M. Liljestrand, Y. Shimizu, M. Morita, Effects of physical–chemical characteristics on the sorption of selected endocrine disruptors by dissolved organic matter surrogates, Environ. Sci. Technol. 37 (2003) 2646–2657.
- [45] J.B. Quintana, J. Carpinteiro, I. Rodríguez, R.A. Lorenzo, A.M. Carro, R. Cela, Determination of natural and synthetic estrogens in water by gas chromatography with mass spectrometric detection, J. Chromatogr. A 1024 (2004) 177–185.
- [46] H.-X. Wang, Y. Zhou, Q.-W. Jiang, Simultaneous screening of estrogens, progestogens, and phenols and their metabolites in potable water and river water by ultraperformance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry, Microchem. J. 100 (2012) 83–94.
- [47] Z.L. Zhang, J.L. Zhou, Simultaneous determination of various pharmaceutical compounds in water by solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. A 1154 (2007) 205–213.
- [48] M. Guardia Rubio, A. Ruiz Medina, M.I. Pascual Reguera, M.L. Fernández de Córdova, Multiresidue analysis of three groups of pesticides in washing waters from olive processing by solid-phase extraction–gas chromatography with electron capture and thermionic specific detection, Microchem. J. 85 (2007) 257–264.
- [49] N. Daneshvar, S. Aber, M.S. Seyed Dorraji, A.R. Khataee, M.H. Rasoulifard, Photocatalytic degradation of the insecticide diazinon in the presence of prepared nanocrystalline ZnO powders under irradiation of UV-C light, Sep. Purif. Technol. 58 (2007) 91–98.
- [50] M. Asensio-Ramos, J. Hernández-Borges, T.M. Borges-Miquel, M.A. Rodríguez-Delgado, Evaluation of multi-walled carbon nanotubes as solid-phase extraction adsorbents of pesticides from agricultural, ornamental and forestal soils, Anal. Chim. Acta 647 (2009) 167–176.
- [51] D.B. Donald, A.J. Cessna, E. Sverko, N.E. Glozier, Pesticides in surface drinkingwater supplies of the Northern Great Plains, Environ. Health Perspect. 115 (2007) 1183–1191.
- [52] E. Maloschik, A. Ernst, G. Hegedűs, B. Darvas, A. Székács, Monitoring waterpolluting pesticides in Hungary, Microchem. J. 85 (2007) 88–97.
- [53] N.N. Casillas-Ituarte, H.C. Allen, Water, chloroform, acetonitrile, and atrazine adsorption to the amorphous silica surface studied by vibrational sum frequency generation spectroscopy, Chem. Phys. Lett. 483 (2009) 84–89.
- [54] J.B. Nevado, C.G. Cabanillas, M.J.V. Llerena, V.R. Robledo, Sensitive SPE GC-MS-SIM screening of endocrine-disrupting herbicides and related degradation products in natural surface waters and robustness study, Microchem. J. 87 (2007) 62–71.
- [55] O. Thomas, C. Burgess, UV–Visible Spectrophotometry of Water and Wastewater, Elsevier, 2007.
- [56] K. Nödler, T. Licha, K. Bester, M. Sauter, Development of a multi-residue analytical method, based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry, for the simultaneous determination of 46 micro-contaminants in aqueous samples, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 6511–6521.

Annexe 3 : Publication 2

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Talanta



journal homepage: www.elsevier.com/locate/talanta

Inter-laboratory exercise on antibiotic drugs analysis in aqueous samples

B. Roig^{a,b,*}, M. Brogat^a, S. Mompelat^a, J. Leveque^a, A. Cadiere^a, O. Thomas^{a,b}

^a Environment and Health Research laboratory (LERES), Advanced School of Public Health (EHESP), Avenue du Professeur Léon Bernard-CS 74312, 35043 Rennes Cedex, France ^b INSERM U1085, LERES, 35043 Rennes Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history: Received 30 March 2012 Received in revised form 19 June 2012 Accepted 25 June 2012 Available online 29 June 2012

Keywords: Inter-laboratory Antibiotic Drinking water Surface water

ABSTRACT

An inter-laboratory exercise was organized under the PHARMAS EU project, by the Advanced School of Public Health (EHESP), in order to evaluate the performances of analytical methods for the measurement of antibiotics in waters (surface and tap). This is the first time such an exercise on antibiotics has been organized in Europe, using different kinds of analytical methods and devices. In this exercise thirteen laboratories from five countries (Canada, France, Italy, the Netherlands and Portugal) participated, and a total number of 78 samples were distributed.

During the exercise, 2 testing samples (3 bottles of each) prepared from tap water and river water, respectively, spiked with antibiotics, were sent to participants and analyzed over a period of one month.

A final number of 77 (98.7%) testing samples were considered. Depending on substances studied by each participant, 305 values in duplicate were collected, with the results for each sample being expressed as the target concentration.

A statistical study was initiated using 611 results. The mean value, standard deviation, coefficient of variation, standard uncertainty of the mean, median, the minimum and maximum values of each series as well as the 95% confidence interval were obtained from each participant laboratory.

In this exercise, 36 results (6% of accounted values) were outliers according to the distribution over the median (box plot). The outlier results were excluded.

In order to establish the stability of testing samples in the course of the exercise, differences between variances obtained for every type of sample at different intervals were evaluated. The results showed no representative variations and it can be considered that all samples were stable during the exercise.

The goals of this inter-laboratory study were to assess results variability when analysis is conducted by different laboratories, to evaluate the influence of different matrix samples, and to determine the rate at which participating laboratories successfully completed the tests initiated.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

'Pharmaceuticals in the Environment' is no longer a new issue but recently it has become a priority concern, particularly for politicians and the general public. Indeed, the occurrence of active pharmaceutical ingredients in water bodies is an undesired side effect of their normal use. In order for the substances to develop

their intended effects in the human body, sufficient intact molecules must reach the diseased cell before they are broken down into a multitude of metabolites by the body's biochemical processes. In order to achieve this goal, pharmaceuticals are optimized for stability. This has two consequences: on the one hand, the active ingredients are not metabolized completely in the human body but excreted primarily via urine and thus reach domestic wastewater [1]; on the other hand, the desired stability of the molecules hinders their biological degradation in conventional sewage treatment plants [2-4].

Many of the active ingredients studied so far are only partially removed, whilst others are not removed at all. On reaching surface water (rivers and lakes), stable molecules can then make their way into drinking water and finally - via groundwater back to humans [5–9].

According to the published literature, it appears that most pharmaceuticals do not pose a threat to the environment, although a small number do, and that none appear likely to pose

Abbreviations: ERY, erythromycin; CIP, ciprofloxacin; OFL, ofloxacin; SMX, sulfamethoxazole; TMP, trimethoprim; LOQ, limit of quantification; RRLC/MS/ MS, rapid resolution liquid chromatography/mass spectrometry in tandem; s_s, between-sample standard deviation; s_w , the standard deviation of the concentration; \overline{x} , the mean value; σ , the population standard deviation; CV, coefficient of variation; u, standard uncertainty of the mean; M, median value; Min, minimum value of a series: Max. maximum value of a series: D. bias

Corresponding author at: Environment and Health Research laboratory (LERES), Advanced School of Public Health (EHESP), Avenue du Professeur Léon Bernard-CS 74312, 35043 Rennes Cedex, France. Tel.: + 33 4 66 27 95 71. E-mail address: benoit.roig@ehesp.fr (B. Roig).

^{0039-9140/\$ -} see front matter © 2012 Elsevier B.V. All rights reserved. http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2012.06.064

a significant threat to human health (via environmental exposure) [10–13]. But this apparent certainty that no human health risk is posed by the presence of human pharmaceuticals in the environment is not supported by more in-depth thinking. The real situation is that, currently, there are many more uncertainties than certainties, which leaves the public and the press still unconvinced that drinking water containing a tiny quantity of a pharmaceutical is completely harmless.

In this context, the Pharmas project (N° 265346, www.pharma s-eu.org) has been funded under the 7th European framework programme to significantly advance the science, so that risks to the environment and public health can be more accurately defined. More precisely, Pharmas develops a general procedure taking into account scenarios of exposure to human pharmaceuticals, their effect and impact on organisms, in order to define the range of possible risks for these populations. In addition, social and policy considerations are considered in order to, respectively, inform the public and to support appropriate changes in regulation. The project focuses on the groups of pharmaceuticals considered most likely to be a threat to the environment and/or human health, in particular antibiotics, the presence of which has been reported extensively and that are among the most investigated class of pharmaceuticals in the environment including drinking water [11-16].

Within the framework of the project, the implementation of efficient risk assessment procedures requires preliminary production of reliable data in particular concerning the exposure data. Thus an intercalibration study was performed in order to assess and understand the uncertainty of the data produced by laboratories.

The exercise was conducted among thirteen laboratories covering different EU countries (+Canada) using their own analytical protocols. To our knowledge, such an exercise for antibiotics is the first one performed in these conditions. Other interlaboratory exercises have been performed for other pharmaceutical products (anti-inflammatory in the frame of Norman network for example, individual antibiotics), but based on same analytical procedures [17–20].

In this study, 2 samples were analyzed over a period of one month. The reference samples (homemade and calibrated solutions) correspond to 3 glass bottles of tap water for the first and 3 glass bottles of river water (filtered sample from La Vilaine river in Brittany, France) for the second. 5 antibiotics were selected for the exercise: erythromicyn (ERY), ciprofloxacin (CIP), ofloxacin (OFL), sulfamethoxazole (SMX) and trimethoprim (TMP). This choice was dictated taking into account the performances of the participant laboratories (via a questionnaire) and the organising laboratory's ability to produce reference samples.

The principal aims of the inter-laboratory study were to evaluate the variability of results between different laboratories and to evaluate the rate at which participating laboratories successfully completed the exercise.

2. Participant profiles

13 laboratories participated in the exercise. 5 countries were represented (Canada, France, Italy, The Netherlands, and Portugal). One laboratory used two analytical methods. 14 labs were then considered. For reasons of anonymity, they have been randomly numbered from lab1 to lab14.

Participants were offered a questionnaire aimed at assessing their profiles and analytical performances in terms of analysis of the five antibiotics (Tables 1 and 2).

Table 2 has considered the limit of quantification of each laboratory. n is the number of laboratories analysing the

Tab	ole 1	
ΠГ		mme fla

ILE	paru	cipant	pron	nes.

Questions	Answer
ILE participation Experience in analysis of ATB in water	Yes: 54% (7/13) < 2 years: 38.5% (5/13) > 6 years: 23% (3/13) 3.5 wears: 38.5% (5/13)
Analysis frequency of ATB in participants laboratories	46% (6/13) several times/week 46% (6/13) at least once every 6 months 8% (1/13) not frequent

Table 2

Analytical performances of participating laboratories.

	n	LOD distribution (ng/L)						
		Min	Max	Mean	Median			
Erythromycin (ERY)	10	1	500	80.3	10			
Trimethoprim (TMP)	10	1	50	16.6	5.5			
Sulfamethoxazole (SMX)	9	1	50	13	10			
Ciprofloxacin (CIP)	8	1	100	32.13	20.5			
Ofloxacin (OFL)	7	1	20	12.2	11			

corresponding substances. Min and Max correspond to the lower and higher value of LOQ among the laboratories. Median and mean have been calculated, for each substance, from the n value of LOQ declared by the laboratories.

3. Experimental

3.1. Chemicals and solutions

Acetonitrile (HPLC grade, JT Baker, distributed by Atlantic labo ICS, Bruges, France), methanol (HPLC grade, JT Baker, distributed by Atlantic labo ICS, Bruges, France), formic acid (JT Baker, distributed by Atlantic labo ICS, Bruges, France), NH₄OH 25% (Carlo Erba, Val de Reuil, France), sodium nitrite 99% (ACS Reag. PhEur, Merck) and ultrapure water were used for the preparation of standard solutions.

Antibiotics are commercialized in powder form with purity between 97 and 99.9%. Trimethoprim standard was purchased from VWR (Fontenay sous Bois, France; certified quality, from Dr. Ehrenstorfer GmbH, Bgm.-Schlosser-Str. 6 A, 86199 Augsburg, Germany). Standards of other antibiotics were purchased from Sigma Aldrich (St Quentin Fallavier, France). Life durations are not certified by the provider but 3 years of preservation are guaranteed by a certificate.

Stock solutions of individual compounds were prepared in HPLC grade methanol. CIP and OFL solutions were prepared as 0.5 g/L; the others at 1 g/L. CIP solution required the addition of NaOH 1M to increase solubility of CIP in methanol.

Individual solutions (DS) were prepared at 0.5 mg/L in HPLC grade acetonitrile by two successive dilutions of the stock solutions and were preserved at -20 °C.

Reference samples were characterized (using stability and homogeneity tests) by RRLC/MS/MS (rapid resolution liquid chromatography/mass spectrometry in tandem) using isotopic internal standards. Internal standard solutions were individually prepared from: Ofloxacin-d3, Trimethoprim-13C, Ciprofloxacin-13C-15N, Sulfamethoxazole-13C, Erythromycin-13C purchased from Sigma Aldrich (St Quentin Fallavier, France).

Stock solutions of OFL-d3 and SMX-13C were prepared in HPLC grade methanol (at 1 g/L) followed by dilution in acetonitrile up to a solution at 10 mg/L. Stock solutions of ERY-13C, TMP-13C, CIP-13C-15C were prepared directly in acetonitrile (at 12 mg/L). Finally, a mixture standard solution of all isotopic reference compounds was prepared at 0.5 mg/L in acetonitrile and preserved at -20 °C.

3.2. Reference sample preparation

Two reference samples (sample A and sample B) were prepared corresponding to treated (distributed) water and filtrated surface water, respectively. Both samples were spiked with the 5 antibiotics in which we are interested. Physico-chemical properties and content of organic carbon and free residual chlorine for samples A and B are listed in Table 3. The measurement of all ATB before spiking shows concentration below the limit of detection.

In order to minimize sources of variation, samples A and B were collected, homogenized and prepared at EHESP-LERES, Rennes, France. River water (70 L) was collected and transported to the laboratory where it was filtered through 0.7 μ m glass fibre filters. Treated water (70 L) was directly collected from the laboratory tap and free chlorine was removed with sodium nitrite. Afterwards, waters were spiked, homogenized, and sub-sampled for homogeneity and stability testing.

Triplicates of samples A and B were prepared for each laboratory by transferring each sample into 3×1 L amber glass bottles.

3.3. Homogeneity of samples

Homogeneity of the reference solution was tested according to ISO 13528 guidelines. Treated (sample A) and surface water (sample B), were sub-sampled after spiking and homogenization. A total of ten subsamples per sample were taken from different layers in the container. Two parallels (duplicate) were analyzed per each sample, in total 20 samples were analyzed per each sample. The homogeneity was statistically evaluated by using the comparison of the between-sample standard deviation to the total standard deviation. According to ISO 13528, the ratio of between-samples standard deviation to total standard deviation must be below 0.3.

Between-sample standard deviation has been calculated as follows:

$$s_s = \sqrt{s_x^2 - \left(\frac{s_w^2}{2}\right)}$$

where

- $s_x = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$ is the standard deviation of the mean concentration of *n* samples.

Table 3

Characteristics of the matrices used to prepared samples A and B.

Parameters	Distributed water (LERES tap)	Raw water after filtration (0.7 μ)
pH at 20 °C	7.85	7.95
Conductivity at 25 °C (µS/cm)	697	516
Total organic carbon (mg/L)	1.3	7.3
Dissolved organic carbon (mg/L)	1.3	7.0
Total chlorine (mg/L)	0.2	< 0.1
Free chlorine (mg/L)	< 0.1	< 0.1

- $s_w = \sqrt{\frac{\sum w_i^2}{2n}}$ is the standard deviation of the concentration of *n* samples. with
- n the number of samples,
- $x_{i,k}$ are the data (*i* represents the sample and *k* the parallel, k=2),
- $x_{i,=}(x_{i,1}+x_{i,2})/2$ is the mean concentration of the samples,
- $w_i = |x_{i,1} x_{i,2}|$ is the range of duplicate concentration,
- $x^G = \sum x_i/n$ is the general mean.

Table 4 shows the calculation of the between-sample standard deviation for each antibiotic in both samples.

The results of the controls showed that the samples for that homogeneity target are not notably different. It can be concluded that reference samples A and B may be considered homogeneous; this means that all the manufactured samples may be considered homogeneous for a given proficiency test.

Ciprofloxacin in sample A was found problematic to detect in some of the laboratories involved in its measurement, probably due to low concentration and the effect of the matrix. Consequently, the number of values obtained was too low to conduct a statistical analysis.

3.4. Stability of reference samples

Verification of stability was assessed using the same protocol as for verification of homogeneity. Temperature preservation and storage time were assessed for evaluation of the stability of the reference samples.

Three sub-samples of each type of water were randomly selected during the reference sample preparation. They were preserved at room temperature ($20 \degree C \pm 2$) and $+4 \degree C$ during two, seven and ten days (total of 18 samples).

Each antibiotic was analysed in each sub-sample, in duplicate. The average concentration (\overline{y}) was compared with the average concentration of all sub-samples used for the stability and homogeneity tests (\overline{x}) . The total standard deviation has been calculated from the results of the exercise for each antibiotic (Tables 5 and 6).

The stability of the reference sample is considered acceptable if $|\bar{x}-\bar{y}| \leq 0.3\hat{\sigma}$. Results showed that the reference samples can be considered as stable, both at room temperature and at +4 °C.

3.5. Sample distribution

Samples were shipped by express service on dry-ice to the participant laboratories on October, 5th, 2011. A total of 78 bottles were sent to 13 participants (3 bottles each, of each sample). The samples arrived at participant laboratories in 24 to 72 h, in frozen state.

Table 4

Ratios between S_s (between-samples standard deviation) and σ (standard deviation of the round calculated from the results of the laboratories) for all the homogeneity controls.

Target	Sample	Sample A			Sample B			
	S _S	σ	s_s/σ	S _S	σ	s_s/σ		
ERY	7.1	43.1	0.16	11.7	252.9	0.04		
OFL	2.7	21.6	0.13	9.6	83.1	0.12		
CIP	ND			11.0	62.4	0.18		
SMX	2.6	6.8	0.38	2.8	26.7	0.1		
TMP	4.5	12.8	0.35	0.8	33.0	0.02		

3.6. Analytical methods

No standard recommendation was sent to the participants, either for the sample treatment (extraction, preconcentration) or for the analytical method. Participants were required to extract

Table 5

Concentration values (ng/L) for verification of stability in treated (distributed) water.

SAM	PLE A: treated water				
		OFL	TMP	SMX	ERY
\overline{x}		28.63	43.76	26.81	43.03
σ		21.6	12.8	5.7	43.1
\overline{y}	Room T° Day 2	33.81	40.67	24.29	44.74
	Room T° Day 7	28.43	43.04	24.45	38.04
	Room T° Day 10	30.43	42.36	23.87	41.81
	4 °C Day 2	25.86	42.42	25.47	46.97
	4 °C Day 7	26.13	43.23	25.19	41.92
	4 °C Day 10	20.33	41.8	24.45	41.79

 Table 6

 Concentration values (ng/L) for verification of stability in surface water.

SAN	MPLE B: surface wat	er				
		OFL	TMP	CIP	SMX	ERY
\overline{X}		208.96	121.06	179.35	116.21	164.85
σ		83.1	33	62.4	26.7	252.9
	Room T° Day 2	234.2	106	211.44	104.48	162.09
	Room T° Day 7	200.81	120.63	156.5	112.07	171.81
	Room T° Day 10	207.27	117.77	168.3	104.59	162.02
	4 °C Day 2	234.65	117.94	215.3	112.41	169.14
	4 °C Day 7	205.91	123.7	169.1	119.72	184.86
	4 °C Day 10	206.37	120.48	168.24	118.14	178.04

Table 7

Analytical methods used by the different participants.

and analyze samples within a maximum of 2 and 10 day after receipt, respectively.

In general, antibiotics were extracted from surface and treated water samples by solid phase extraction and analyzed by liquid chromatography with mass spectrometry detection.

Table 7 lists the participant laboratories as well as the main characteristics (where provided) of the analytical methods used.

4. Evaluation procedure

Statistical evaluation was executed according to ISO 13528 "Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons".

For each series, the mean value (\bar{x}), the standard deviation (σ), coefficient of variation (*CV*), standard uncertainty of the mean (u), median (M), the minimum (Min) and maximum (Max) values of each series, as well as the 95% confidence interval over the mean have been calculated (by using StatSoft (2011). STATISTICA (data analyses software), version 10. www.statsoft.fr) and reported after exclusion of outlier values.

In this study, uncertainty of the measurement is represented by the standard uncertainty of the mean (u) because of the lack of information of the other source of uncertainty in each laboratory. The uncertainty is then obtained by the ratio: $u = (\sigma/\sqrt{n})$ with n the number of measurement and σ the standard deviation. The uncertainty of the measurement for each substance in all individual laboratories has been also assessed.

Outlier values were identified with the interquartile range test (test representing the distribution of the data toward the median) by using the graphical representation box plot. This standardized representation is based on five numbers: minimum, first quartile, median, third quartile, and maximum. In the simplest box plot the central rectangle spans the first quartile to the third quartile. A segment inside the rectangle shows the

Participant	Pre-treatment	Extraction cartridges	Extraction solvent(s)	Internal standard	Separation/ detection	Chromatographic column
1	Before extraction 2.5 mL EDTA solution of 2.5 g/L added (pH8), and pH changed to 3.2 with 100 uL formic acid	SPE Oasis HLB	n.c	Ciprofloxacin 13C3 Sulfamethoxazole 13C6	UPLC-MS-MS	Acquity BEH 50 × 2.1 mm; 1.7 um
2	None	SPE Oasis HLB	Methanol/Ethyl acetate (50/50)	13 C compound	UPLC-MS/MS	Hypersil Gold 1.9 μm-2.1*100 mm
3	None	SPE reverse phase	n.c	None	LC-MS/MS	Acquity HSS-T3
4	None	SPE ENVI CHROM-P 250 mg	Methanol	Carbamazepine D10	HPLC-MS/MS	XBridge C18 3.5 um, 2.1*150 mm Column
5	Acidification pH2	SPE JTBaker H ₂ O philic	n.c	None	HPLC-MS-MS	Varian Pursuit UPS (2.1 mm × 50 mm × 2.4 um)
6	n.c	n.c	n.c	n.c	HPLC-MS/MS	Zorbax eclipse plus C18
7	n.c	SPE Oasis HLB	Acetone/methanol/ acetonitrile	Yes	HPLC-MS/MS	Acquity BEH C18, 2.1*150 mm, 1.7 μm
8	n.c	Polymeric reversed phase	n.c	Yes	HPLC-MS/MS	C18
9	n.c	SPE Oasis HLB (pH 7)	Methanol	Yes	HPLC-MS/MS	Agilent ZORBAX eclipse plus C18 (3,5 um 2,1*100 mm)
10	n.c	SPE Oasis HLB	Acetonitrile	Carbamazepine D		Polaris
11	Cooling+dark	SPE Polymer	n.c	Yes	HPLC-MS	C18
12	Cooling+dark	SPE polymer	n.c	Yes	HPLC-MS/MS	C18
13	pH 6.95 ± 0.2	SPE water HLB	n.c	13C3-analog	HPLC-MS/MS	Thermo Betasil, $2.1 \times 100 \text{ m}$
14	pH 7	SPE Oasis HLB	Methanol	13C compound	RRLC-MS/MS	Zorbax Eclipse Plus C18 (Agilent) 2.1*100 mm, 1.8 μm

n.c: not communicated; HPLC: high performance liquid chromatography; UPLC: ultra performance liquid chromatography; RRLC: rapid resolution liquid chromatography; MS: mass spectroscopy; SPE: solid phase extraction.

median, and "whiskers" above and below the box show the locations of the minimum and maximum values.

Outlier values are identified if:

- value <1st Quartile-1,5*InterQuartile Range and
- Value > 3rd Quartile + 1,5*InterQuartile Range

The **interlaboratory variability** for each substance was estimated by calculation of the coefficient of variation (*CV*). It is expressed, for each substance, as a % and represents the ratio of the standard deviation (σ) to the mean of all recorded values (\bar{x})

 $CV = 100 * \frac{\sigma}{\overline{x}}$

Table 8

Reference value for each antibiotic in the two matrices^a.

	Sample A: treated water				Sample B: surface water				
	ERY	OFL	SMX	TMP	ERY	CIP	OFL	SMX	TMP
Spiking level (ng/L)	55	40	30	50	200	180	200	100	150

^a Concentration of ATB in the two matrices was < LOD before spiking.

Performances of the participants were assessed by the estimation of the intralaboratory variability (repeatability) and the bias.

For each laboratory, **individual repeatability** (CV_{lab} in %) was calculated, by the comparison of the mean (\bar{x}_{lab}) of the recorded values (3 to 6 replicates) for a substance with the standard deviation (σ_{lab}) according to the relation:

$$CV = 100 * \frac{\sigma_{\text{lab}}}{\overline{\chi}_{\text{lab}}}$$

Laboratory biases (*D*) were estimated for each set of results (or average of results) reported by each participant. *D* corresponds to the difference between the value (or average value) of laboratory (x_i) with the reference value (*X*):

 $D = x_i - X$

According to ISO 13528, the biases were classified into three categories: $D \ge 3.0\sigma$ indicating an "action signal", $2.0\sigma \le D < 3.0\sigma$ considered as "warming signal" and $-2.0\sigma \le D < 2.0\sigma$ indicating "acceptable value". The outlier results were excluded from the calculation of *D*.



Fig. 1. Box plot diagram for the distribution of the value for treated water and surface water (circle represent outliers).

Table 9

Statistical values corrected after outlier exclusion for each compound in the different types of water: mean (x), standard deviation (σ), coefficient of variation (CV), standard error of mean (σ_M), median (M), minimum value (Min), maximum value (Max).

Substance Matrix	Spiking level (ng/L)	No. of accepted	<i>x</i> (ng/L)	σ (ng/L)	CV	<i>u</i> (ng/L)	<i>M</i> (ng/L)	Min (ng/L)	Max (ng/L)	95% confid	ence interval	No. of outliers
		results								From	То	outliers
Cyprofloxacin												
Surface Water (B)	180	54	135.0	59.0	0.44	8.02	134.4	22.6	273.6	118.9	151.1	1
Erythromycin												
Treated water (A)	55	56	53.6	26.7	0.50	3.56	44.8	13.7	136.9	46.4	60.7	4
Surface water (B)	200	54	247.9	181.2	0.73	24.7	165.5	54.7	790.0	198.4	297.4	4
Ofloxacin												
Treated water (A)	40	54	45.2	21.6	0.48	2.9	40.4	6.3	93.1	39.3	51.1	0
Surface Water (B)	200	45	198.6	48.7	0.25	7.3	196.6	103.4	315.5	184.0	213.2	9
Sulfamethoxazole												
Treated water (A)	30	70	20.0	6.4	0.32	0.76	19.83	5.6	30.5	18.5	21.5	6
Surface water (B)	100	76	87.1	26.7	0.27	3.07	89.3	26.9	127.1	81.0	93.2	0
Trimetoprim												
Treated water (A)	50	74	37.3	9.3	0.25	1.08	38.6	18.9	64	37.2	39.5	10
Surface water (B)	150	80	105.8	32.9	0.31	3.67	110.7	30	178	98.5	113.1	2
Total		563										36

5. Results

A total number of 13 participants took part in this study, using methods detailed in Table 7. One participant used two analytical methods. We have considered 14 series of data. Each participant received 3 bottles of sample A (spiked treated water) and 3 bottles of sample *B* (spiked surface water). Statistical analysis was performed by considering the

spiking value as the reference value of the antibiotic concerned (Table 8).

5.1. Accepted values and outliers

The different antibiotics were not measured by all laboratories: ERY, CIP, OFL, SMX and TMP gave 11, 9, 9, 13 and 14 series of data, respectively. A total number of 611 results were collected.



Fig. 2. Results obtained for each participant for ERY, OFL, SMX, TMP and CIP expressed in ng/L in the different samples, and mean values of results.

A first selection was operated by considering the LOQ of each laboratory compared to the spiking values and data from laboratories with LOQ > spiking level was excluded. 1 series of ERY in sample A and 1 series of ERY in sample B were excluded.

In a second time, the normality of each series has been tested by using the Kolmogorov–Smirnov test. Excepted for ERY (in both A), a normal distribution was observed. Consequently, and in order to be homogeneous, the interquartile range test (non parametric) has been used to exclude outlier values.

Fig. 1 shows the distribution of the values for each series and highlight the outliers: in sample A, 4, 6 and 10 outliers for ERY (60 values), SMX (76 values) and TMP (84 values) series, respectively and in sample B, 4, 1, 9 and 2 outliers for ERY (58 values), CIP (55 values), OFL (54 values) and TMP (82 values) series, respectively.

Finally, the calculation gave 36 outliers (6% of the total number of results, see Table 9). The outliers were not distributed evenly across all labs, but only in 4 of them.

According to the difference between the analytical protocols used and the number of produced value (600), the number of outliers obtained in this exercise can be considered low. The highest number of outliers was determined for treated water, probably due to the lower concentration levels and the limitation in analytical performances. Such results have been also shown in the two interlaboratory exercises on anti-inflammatory drugs [9,17].

The outlier values were excluded for the final data treatment and the statistical parameters (mean values, standard deviation, variance, coefficient of variation) were calculated. Table 9 shows the corrected statistical values (after outlier exclusion) obtained for each compound in the different samples.

5.2. Results by molecules and matrices

Results from the different laboratories, mean between laboratories and reference values of each antibiotics in the two matrices are plotted in Fig. 2.

Except for ERY in sample A and OFL in sample B, the mean of all values is below than the reference value for each substance.

The deviation between the two values (calculated by the ratio between the observed mean concentration and the reference one) is important for SMX in surface water (33%) and TMP in treated water (29%). It corresponds to 2.6%, 13% 25%, 25.4% in surface water for ERY, OFL, TMP, CIP, respectively and to 23.5%, 0.7%, 13% in treated water for ERY, OFL, SMX.

This difference can be considered as representative in the case of SMX in treated water and TMP in surface water because the value is higher than the standard deviation (Table 9).

5.3. Interlaboratory variability

A comparison of the *CV* values (Fig. 3) in both matrices (surface and treated water) for all laboratories resulted in a slight difference. The highest *CV* was observed for erythromycin in both matrices. It is particularly high in surface water (highest concentration). In addition the highest uncertainty was found in the determination of ERY in surface water (Table 9).

The lowest *CV* was observed for sulfamethoxazole and trimethoprim and is very closed in the two matrices in spite of a difference in the spiked concentration. It corresponds also to the lowest uncertainty values.

According to the heterogeneity of the methods employed, we can consider the *CV* relatively low for the targets except for erythromycin.



Fig. 3. Coefficient of variation for all laboratories.

5.4. Laboratory performances

Intralaboratory repeatability has been evaluated for each substance in the two matrices and for each laboratory by the calculation of the internal coefficient of variation (Fig. 4).

Good intralaboratory repeatability has been observed. *CV* varies from 0.5 to 25.5% (median 6.8%) and to 0.2 to 19.8% (median 5.0%) for sample A and B, respectively. This result illustrates the high potential of the different laboratories in producing representative data. This was confirmed by the calculation of the uncertainties of the measurement: range from 0.17 to 10.4% (median 3%) and from 0.14 to 8.1% (median 2.19%) for the individual lab in the analyses of the substances in sample A and B, respectively.

On the other hand, the difference between the values produced by each laboratory and the reference value was estimated by calculation of the bias.

By considering all values, the ISO 13528 classification of the laboratory biases resulted in 85% of acceptable values (falling outside the range $-2.0\sigma < D < 2.0\sigma$), 11% of values to be monitored and 4% of unacceptable values ($-3.0\sigma < D < 3.0\sigma$), as reported in Table 10.

Of the 14 participating laboratories, 5 showed excellent performance (all using internal standards), never reaching the range outside $-2.0\sigma < D < 2.0\sigma$, and only 2 laboratories having the warning signals.

Half of the signals (warming and action) come only from 2 laboratories, the analysis of antibiotic of which is very recent (below than two years) and with a frequency of analysis relatively low (at least once every 6 month).

Considering the ILE conditions (no analytical procedure recommendation) and the profile of the participant laboratories, the exercise can be considered as very positive. Indeed, around 40% of the laboratories have only 2 years of experience in the analysis of ATB and less than half of them analyses ATB routinely. Moreover, they show very interesting internal performances and an acceptable variability among them. However, some improvements are required for some of them to be very effective in the measurement of ATB. A second exercise, by using the same analytical protocol would be useful for a better comparison between the participants.

6. Conclusion

Pharmas Project is an FP7 European project dealing with human and ecological risk assessment for a selection of antibiotics and anticancer drugs. To perform it, accurate exposure data are necessary. Within the framework of the



Fig. 4. Intra-laboratory repeatability in samples A (tap water) and B (surface water).

Table 10

Laboratory biases for each value reported by participant laboratories in the two matrices (surface (SW) and treated (TW) water). 0, 1 and 2 correspond to acceptable values, warning signal and action signal, respectively (grey boxes correspond to non produced data).

	ERY		CIP OFL		TMP		SMX		
	TW	SW	SW	TW	SW	TW	SW	TW	SW
Lab 1	0	2	0	0		0	0	0	0
Lab 2	0	0				0	0	0	0
Lab 3			0	0	0	0	0		
Lab 4						0	0	1	0
Lab 5		0	0	0	0	0	0	1	0
Lab 6	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lab 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lab 8	0	0	0	0		2	2	2	1
Lab 9	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Lab 10			1	1	0		0		0
Lab 11	0	0				0	0	1	1
Lab 12	0	0				0	0	1	0
Lab 13	0	0	0	0		0	0	0	0
Lab 14	0	0	0	0	0	0	0	0	0

project an inter-laboratory exercise was proposed to evaluate performance in the analysis of antibiotics in resource and tap (treated) water.

Thirteen participants from five different countries participated in the exercise. 77 reference samples were analyzed to determine concentration of selected antibiotics and 611 results (including parallels, excluding <LOQ) were collected for data evaluation. The final number of 563 values was pooled out for further data analysis, where 36 of them (6%) were determined to be outliers, according to the interquartile range test (box plot).

The sample matrix yielding the highest number of outliers was treated water (55%).

Finally, according to the scheme of the exercise (each laboratory implementing its own analyses), most of the participant show results in close agreement with the expected ones and the variability between them can be considered acceptable. However, it is difficult, from this study, to identify the limiting factors in the analysis of ATB and a second exercise, based on the same analytical protocol, would be necessary.

Acknowledgements

This work has been supported by EU FP7 project PHARMAS (contract no. 265346). Authors wish to thank Mrs. Barbara Lebot for her valuable advice and support in sample preparation and tests.

Authors also extend thanks to the Ontario Ministry of the Environment (Laboratory Services Branch, Canada), CARSO–LSEHL (France), Eau de Paris (France), Laboratoire Départemental Frank Duncombe (France), Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche de la Dordogne (France), LERES (France), Veolia Environnement Recherche et Innovation recherche analyse chimie (France), European Commission Joint Research Centre, Ispra (Italy), Institute for Environment and Sustainability (IES), RIKILT—Institute of Food Safety (The Netherlands), Omegam Laboratoria BV (The Netherlands), Rijswaterstaat Waterdienst (The Netherlands), TNO-EELS (The Netherlands), Instituto da Água da Região Norte (Portugal) for their participation in the exercise.

This article reflects only the author's views and the EU is not liable for any use that may be made of the information contained herein.

References

- [1] Drug bank. < www.drugbank.ca >.
- [2] G.C. Ghosh, T. Okuda, N. Yamashita, H. Tanaka, Water Sci. Technol. 59 (2009) 779–786.
- [3] R. Reif, A. Santos, S.J. Judd, J.M. Lema, F. Omil, J. Environ. Monit. 13 (2011) 137-144.
- [4] R.L. Oulton, T. Kohn, D.M. Cwiertny, J. Environ. Monit. 12 (2010) 1956-1978.
- [5] M.J. Benotti, R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, B.D. Stanford, S.A. Snyder, Environ. Sci. Technol. 43 (2009) 597–603.
- [6] A. Bruchet, C. Hochereau, C. Picard, V. Decottignies, J.M. Rodrigues, M.L. Janex-Habibi, Water Sci. Technol. 52 (2005) 53–61.
- [7] P.E. Stackelberg, J. Gibs, E.T. Furlong, M.T. Meyer, S.D. Zaugg, Sci. Total Environ. 377 (2007) 255-272.

- [8] E. Vulliet, C. Cren-Olivé, M.F. Grenier-Loustalot, Environ. Chem. Lett. 9 (2009) 103–114.
- [9] A.J. Watkinson, E.J. Murby, D.W. Kolpin, S.D. Costanzo., Sci. Total Environ. 407 (2009) 2711–2723.
- [10] V.L. Cunningham, S.P. Binks, M.J. Olson, Regul. Toxicol. Pharmacol. 53 (2009) 39-45.
- [11] K.A. Strauch, AAOHN J. 59 (2011) 525–532.
- [12] E. Touraud, B. Roig, J.P. Sumpter, C. Coetsier, Int. J. Hyg. Environ. Health 214 (2011) 437-441.
- [13] H. Sanderson, Water Sci. Technol. 63 (2011) 2143-2148.
- [14] Z. Ye, H.S. Weinberg., Anal. Chem. 79 (2007) 1135-1144.
- [15] M.J. Focazio, D.W. Kolpin, K.K. Barnes, E.T. Furlong, M.T. Meyer, S.D. Zaugg, L.B. Barber, M.E. Thurman., Sci. Total Environ. 402 (2008) 201–216.
- [16] M.J. Benotti, R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, B.D. Stanford, S.A. Snyder, Environ. Sci. Technol. 43 (2009) 597–603.
- [17] E. Vulliet, C. Cren-Olivé, M.F. Grenier-Loustalot, Environ. Chem. Lett. 9 (2009) 103-114.
- [18] P. Dehouck, Y. Vander Heyden, J. Smeyers-Verbeke, D.L. Massart, R.D. Marini, P. Chiap, Ph. Hubert, J. Crommen, W. Van de Wauw, J. De Beer, R. Cox, G. Mathieu, J.C. Reepmeyer, B. Voigt, O. Estevenon, A. Nicolas, A. Van Schepdael, E. Adams, J. Hoogmartens, J. Chromatogr. A 1010 (2003) 63–74.
- [19] M. Farré, M. Petrovic, M. Gros, T. Kosjek, E. Martinez, E. Heath, P. Osvald, R. Loos, K. Le Menach, H. Budzinski, F. De Alencastro, J. Müller, T. Knepper, G. Fink, T.A. Ternes, E. Zuccato, P. Kormali, O. Gans, R. Rodil, J.B. Quintana, F. Pastori, A. Gentili, D. Barcelo, Talanta 76 (2008) 580–590.
- [20] E. Heath, T. Kosjek, M. Farre, J.B. Quintana, L.F. de Alencastro, S. Castiglioni, O. Gans, K. Langford, R. Loos, J. Radjenovic, L. Mainero Rocca, H. Budzinski, D. Tsipi, M. Petrovic, D. Barcelo, Talanta 81 (2010) 1189–1196.

Annexe 4 : Publication 3

1	On site fractionation and UV prescreening of micropollutants in
2	contaminated water
3	
4	
5	Brogat Marine ^{1,2} , Baures Estelle ^{1,2} , Sellier Amelie ^{1,2} , Mercier Fabien ^{1,2} , Doloy Marie ¹ ,
6	Thomas Olivier ^{1,2} , Roig Benoit ^{1,2,3} *
7	
8	¹ EHESP Rennes, Sorbonne Paris Cité, Avenue du Professeur Léon Bernard- CS 74312,
9	35043 Rennes Cedex, France
10	² INSERM U1085-IRSET, LERES, France
11	³ Université de Nîmes, Nîmes, France
12	
13	
14	*Corresponding author. Tel.: +33 4 66 27 95 71; Email Address: benoit.roig@unimes.fr
15	
16	Keywords: prescreening, UV, fractionation, MSP2E, SIA
17	
18	

19 Abstract

- 20 A simple, fast, and fully automated SIA-MSP2E (sequential injection analysis- multiple solid
- 21 phase extraction) method with UV spectrophotometric detection has been developed for the
- 22 detection of environmental contaminants in water. This paper proposes a new procedure for
- 23 the fractionation, preconcentration and pre-identification of organic micropollutants in water
- 24 in case of accidental or intentional contamination.
- 25

26

28 **1. Introduction**

29 The number of automated systems for water quality analysis and other monitoring applications keeps increasing thanks to progress in electronics and ICT. In this perspective, 30 analytical flow techniques have been launched in order to simplify sample preparative 31 procedures and to limit samples handling. Among them, FIA (Flow Injection Analysis) and 32 33 SIA (Sequential Injection analysis) are widely used. While most FIA procedures employ continuous, uni-directional pumping of carrier and reagent solutions, SIA procedures are 34 based on using programmable, bi-directional, discontinuous flow, precisely controlled by 35 computer [1]. Moreover, in conventional FIA systems, the sample volume is injected and 36 37 mixed on line with reagents, whereas SIA works with the sequential aspiration of precise volumes of sample and reagents. SIA system is based on the use of a multi-position valve to 38 handle sample and reagents through a syringe pump, and a detector [2]. 39

In addition, these flow approaches can be coupled to diverse detection systems such as 40 spectrophotometry for example, for monitoring environmental parameters (inorganic anions: 41 42 sulfate, nitrite and nitrate; and cations: Cu(II), Fe(II) and Fe(III)), fluorimetry, electrochemistry or chemiluminescence [3] [4] with various degrees of sensitivity, selectivity 43 and precision. Solid Phase Extraction (SPE) can be included in these systems as a 44 concentration step and matrix simplification. For instance, automated procedures of SPE 45 coupled with UV detection was used to preconcentrate and determinate penicillins in milk and 46 pharmaceutical formulations [5]. Moreover, SPE automated procedures combined with 47 HPLC, are used for the analysis of pharmaceuticals, giving better results than manual 48 techniques and several advantages (reduction of sample manipulation, reduction in analysis 49 50 time...) [6].

In 2004, López Roldán *et al.* proposed a procedure based on on-line and on site SPE followed
by a laboratory analysis by LC-APCI-MS for the simultaneous determination of selected
pesticides, phenols and phthalates in water [7].

The main objective of the present paper was the development of monitoring tools in particular in case of accidental or intentional pollution of water. The association of SIA technique for MSPE (multiple solid phase extraction) and UV spectrophotometry can be useful for field deployed measurement systems. In the area of environmental analysis, an analytical system must allow a sensitive and selective quantification of a given compound. In this context, a good selectivity is often difficult to achieve especially in complex environmental matrix.

The development of the proposed analytical approach aimed at increasing selectivity by using (i) a MSP2E step to allow a selective extraction of family of substances (retention and elution) and (ii) a UV pre-screening of each fraction for a pre-identification of the extracted substances. The fractionation methodology was based on the difference of retention, due to charge of contaminants, between two SPE cartridges and on the polarity of the contaminants.

It is known that resin fractionation can be used to investigate various properties of dissolved organic materials (DOM) in water. A system of non-ionic and ionic resins can be applied to characterize and separate the different types of DOM in water based on the partition between hydrophobic and hydrophilic materials [8]. An on site procedure is proposed for preconcentration of organic micropollutants (pesticides, PPCP and PAH...) in contaminated surface water using resin fractionation and UV detection after elution. If micropollutant concentrations are too low to be detected by direct UV spectrophotometry, the different

- 72 fractions can be later analyzed by laboratory techniques such as HPLC. This on site analyzer
- 73 could also be used in case of exceptional events such as accidental or intentional pollutions
- when the concentration of micropollutants can reach μ g/L. In this case a quick information is 74
- needed for the implementation of remediation actions. This analyzer was based on system 75
- developed by HOCER [9] and MSP2E method presented previously [10]. 76

77

78 2. Experimental

2.1 Reagents and chemicals for analyses of individual compounds (MSP2E-UV) 79

- All targeted pollutants (Table 1) were purchased from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) 80 except for clofibric acid and sodium diatrizoate VWR (Radnor, PA, USA). 81
- All 44 compounds were greater than 97% of purity. 82
- 83

84	Table 1: Individual compounds studied					
	Compound	CAS number	Compound			
	Pesticides (21 compounds)					

1		1	
Pesticides (21 compounds)			
2,4 D	94-75-7	Hexazinone	51235-04-2
2-nitrophenol	88-75-5	Isoproturon	34123-59-6
Alachlore	15972-60-8	Linuron	330-55-2
Atrazine	1912-24-9	Metazachlor	67129-08-2
Carbaryl	63-25-2	Metolachlor	51218-45-2
Chlortoluron	15545-48-9	Paraquat	1910-42-5
Diazinon	333-41-5	Parathion	56-38-2
Dichlorprop	120-36-5	Simazine	122-34-9
Dinoterb	1420-07-1	Terbutylazine	5915-41-3
Diquat	85-00-7	Terbutryn	886-50-0
Diuron	330-54-1		
Pharmaceutical and personal	care products (P	PCP) (14 compounds)	
1,7α-ethynylestradiol	57-63-6	Diatrizoate	737-31-5
Acetaminophene	103-90-2	Diclofenac	15307-79-6
Clofibric acid	882-09-7	Ibuprofen	15687-27-1
Atenolol	29122-68-7	methyl-paraben	99-76-3
Caffeine	58-08-2	Sulfamethoxazole	723-46-6
Carbamazepine	298-46-4	Trimethoprim	738-70-5
Ciprofloxacine	85721-33-1	Warfarin	81-81-2
Others (9 compounds)			
4,4'- diaminophenylmethane	101-77-9	Bis-2-ethyl-hexylphtalate	117-81-7
4- nonylphenol	104-40-5	Fluorene	86-73-7
Acenaphtene	83-32-9	m-Toluidine	108-44-1
Bisphenol-A	80-05-7	Naphtalene	91-20-3
Dibutylphtalate	84-74-2		

⁸⁵

Solvents and reagents are of chromatography quality. They were purchased from VWR 86

(Radnor, PA, USA) for acetonitrile and for sodium chloride, and Sigma-Aldrich for methanol 87

(St Louis, MO, USA). Ultrapure water was obtained from a Pure lab classic water purification 88

89 system (Siemens, Alpharetta, GA, USA).

90

CAS number

Stock solutions of pollutants (400-600 μ g/mL) were prepared in methanol or in ultrapure water and stored in the dark at 5 ± 3°C. Working solutions were prepared daily by dilution of given stock solutions with ultrapure water. Prior to the extraction, water samples were spiked with targeted analyte at the concentration of 50 ng/mL.

95

96 2.2 Reagents and chemicals for analysis of pesticides mixture (HPLC/MS)

97 A mixture of pesticides was prepared by an other unit of the laboratory as described below.

This mixture of 44 pesticides (Table 2) was prepared in acetonitrile. Ultra-pure water was 98 prepared using a Milli-Q® Gradient system (EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, 99 USA). Acetone for pesticide residue analysis, and acetonitrile and methanol for HPLC were 100 purchased from VWR International S.A.S. (Fontenay-sous-Bois, France). Formic acid 99% 101 for analysis was purchased from Carlo Erba Reagents (Val de Reuil, France). All 44 certified 102 standards were purchased from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany) except for 103 mesotrione (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Purity of certified standards was above 104 96%. Individual standard stock solutions (1 g/L) were prepared in acetone, acetonitrile or 105 methanol depending on the compounds by accurately weighing 25 mg (\pm 0.1 mg) of certified 106 standards into 25 mL volumetric flasks, and then stored at -18°C. Calibration solutions were 107 prepared by appropriate dilution of individual standard stock solutions in mobile phase at 108 initial conditions. Prior to the extraction, water samples were spiked with targeted analyte at 109 the concentration of 40 ng/mL. 110

111

112 2.3 Mutilple Solid-phase extraction (MSP2E)

- 113 MSP2E method was carried out as described previously [10] by using:
- Two SPE cartridges: Strata-SAX (Phenomenex, Torrance, CA, USA) and Oasis-HLB
- 115 (Waters, Milford, MA, USA) containing respectively 200.1 ± 0.5 mg and 300.2 ± 0.5 116 mg of sorbent,
- 117- Three different eluting solvents, regarding physico-chemical properties (pKa and log118 K_{ow}), of the contaminants and the characteristics of the two cartridges: S1:119(methanol/sodium chloride 0.1 mol/L) = 0.4%V for anionic compounds from the120Strata-SAX cartridge, S2: (acetonitrile/ ultrapure water) = 0.3%V and S3:121(acetonitrile/ ultrapure water) =0.7%V for more or less hydrophobic compounds122retained on Oasis-HLB cartridge.
- 123

124 **2.4** UV analysis

A spectrum (between 200 and 400 nm) of each eluting fraction was obtained by UV spectrophotometry. The pre-screening of each fraction is carried out for substances identification either at the maximum of absorbance using a calibration curve (for individual substances) or from the whole spectrum using a multicomponent (deconvolution) exploitation method [11] (for mixture of substances).

130

131 **2.5 HPLC/MS analysis**

Analyses were performed using a Waters Alliance 2695 separations module coupled to a 132 Waters Micromass ZQ mass spectrometer (Waters, St Quentin en Yvelines, France) equipped 133 with a Z-SprayTM electrospray ionization (ESI) source. Chromatographic separation was 134 performed at a flow rate of 0.2 mL/min on a Waters XTerra® MS C18 column (150 mm 135 length x 2.1 mm I.D., 3.5 µm particle size) maintained at a constant temperature of 35°C. The 136 binary mobile phase was composed of ultra-pure water (solvent A) and acetonitrile (solvent 137 B), both acidified with 0.1% formic acid. The sample injection volume was 10 µL. Samples 138 were dissolved in mobile phase at initial conditions (82% A) prior to injection. The gradient 139 elution program was as follows: 0-10 min, 82-70% A; 10-20 min, 70-50% A; 20-35 min, 50-140 20% A; 35-40 min, 20% A; 40-40.1 min, 20-82% A (return to initial conditions); 40.1-50 141 min, 82% A (equilibration). The ESI parameters were as follows: capillary voltage, 2.0 kV for 142 negative ion mode and 3.0 kV for positive ion mode; extractor voltage, 3 V; source and 143 desolvatation temperature, 100 and 350°C, respectively; cone and desolvatation gas (nitrogen, 144 Air Liquide) flow, 150 and 500 L/h, respectively. The mass spectrometer was operated in the 145 146 Single Ion Recording (SIR) mode. The two most sensitive and specific ions were monitored for each compound using ESI positive or negative ion mode depending on the compounds. 147 Dwell times ranged between 100 and 1000 ms in 16 acquisition windows (9 in the ESI 148 149 positive ion mode and 7 in the ESI negative ion mode) containing 1 to 14 compounds (1 to 28 ions). Inter-scan and inter-channel delays were fixed to 0.3 and 0.02 s, respectively. 150 Analytical characteristics of measured compounds (monitored ions and cone voltages) are 151 summarized in Table 2. MassLynx (4.1) software was used for instrument control, data 152 acquisition and quantification. 153

- Limits of quantification (LOQ) were defined as the lowest concentration of a compound for
- which the Relative Standard deviation (RSD) of replicate injections was lower than 20% and the signal-to-noise ratio (S/N) greater than 10. Instrumental LOOs were 20 µg/L for all
- pesticides. Quadratic calibration curves were established for each compound by analyzing at
- least five calibration solutions from the LOQ ($20 \mu g/L$) to $200 \mu g/L$.

Compound	CAS number	Ion 1	Ion 2	Cone voltage (V) ion 1/ion 2	Ion mode ion 1/ion 2
Anilinopyrimidines					
Cyprodinil	121552-61-2	226.3	227.3	60/60	ES+/ES+
Benzamides					
Tebutam	35256-85-0	192.3	234.4	50/15	ES+/ES+
Isoxaben	82558-50-7	165.1	333.1	50/25	ES+/ES+
Benzoic acids					
Dicamba	1918-00-9	219.1	221.1	15/15	ES-/ES-
Benzothiadiazinones					
Bentazone	25057-89-0	197.1	239.1	60/45	ES-/ES-
Carbamates					
Carbofuran	1563-66-2	123.1	165.2	60/45	ES+/ES+
Carboxamides					
Boscalid	188425-85-6	140.0	342.8	55/30	ES+/ES+
Chloroacetamides					
Alachlor	15972-60-8	162.3	238.2	60/25	ES+/ES+
Acetochlor	34256-82-1	148.0	224.0	45/25	ES+/ES+
Dimethenamid	87674-68-8	168.2	276.1	60/25	ES+/ES+
Metolachlor	51218-45-2	176.3	284.2	60/25	ES+/ES+
Metazachlor	67129-08-2	210.0	278.0	25/25	ES+/ES+
Propachlor	1918-16-7	105.9	212.2	62/25	ES+/ES+
Dinitroanilines					
Pendimethaline	40487-42-1	212.2	282.2	25/25	ES+/ES+
Hydroxybenzonitriles					
Bromoxynil	1689-84-5	273.9	276.0	60/60	ES-/ES-
Ioxynil	1689-83-4	126.9	369.9	60/15	ES-/ES-
Imidazoles					
Prochloraz	67747-09-5	375.8	377.8	15/15	ES+/ES+

Table 2: Analytical characteristics of measured compounds (monitored ions and cone voltages)

Compound	CAS number	Ion 1	Ion 2	Cone voltage (V) ion 1/ion 2	Ion mode ion 1/ion 2
Imidazolinones					
Imazamethabenz-methyl	81405-85-8	257.2	289.2	45/25	ES+/ES+
Isoxazoles					
Isoxaflutol	141112-29-0	250.9	357.9	50/25	ES+/ES-
Oxadiazoles					
Oxadiazon	19666-30-9	220.1	303.2	60/45	ES+/ES+
Oxyacetamides					
Fluthiamide	142459-58-3	152.2	364.1	45/25	ES+/ES+
Phenylamides					
Oxadixyl	77732-09-3	219.0	279.0	30/15	ES+/ES+
Phenoxy carboxylic acids					
2,4 D	94-75-7	160.9	219.1	47/25	ES-/ES-
MCPA	94-74-6	141.2	199.2	45/25	ES-/ES-
Dichlorprop	120-36-5	161.0	233.1	45/25	ES-/ES-
Mecoprop	7085-19-0	141.1	143.1	45/60	ES-/ES-
Pyridinecarboxamide					
Diflufenican	83164-33-4	266.2	395.2	60/25	ES+/ES+
Pyridine carboxylic acids					
Trichlopyr	55335-06-3	196.0	256.0	40/15	ES-/ES-
Fluroxypyr	69377-81-7	180.9	208.8	50/40	ES+/ES+
Triketones					
Mesotrione	104206-82-8	290.9	337.9	40/18	ES-/ES-
Sulcotrione	99105-77-8	139.0	328.9	60/45	ES+/ES+
Triazolopyrimidines					
Metosulam	139528-85-1	175.2	418.2	60/45	ES+/ES+
Strobilurins					
Azoxystrobin	131860-33-8	344.1	372.1	60/45	ES+/ES+

Compound	CASnumber	Ion 1	Ion 2	Cone voltage (V)	Ion mode
Compound	CAS number	1011 1	1011 2	ion 1/ion 2	ion 1/ion 2
Substituted ureas					
Chlortoluron	15545-48-9	213.2	215.1	25/25	ES+/ES+
Diuron	330-54-1	231.1	233.1	25/25	ES-/ES-
Isoproturon	34123-59-6	165.2	207.3	50/25	ES+/ES+
Linuron	330-55-2	160.1	251.1	60/25	ES+/ES+
Sulfonylureas					
Nicosulfuron	111991-09-4	182.3	411.2	60/25	ES+/ES+
Triazines					
Simazine	122-34-9	104.0	202.2	60/45	ES+/ES+
Terbutylazine	5915-41-3	230.0	232.0	25/25	ES+/ES+
Terbumeton	33693-04-8	226.1	227.1	25/25	ES+/ES+
Triazoles					
Epoxiconazole	133855-98-8	329.9	331.8	15/15	ES+/ES+
Tetraconazole	112281-77-3	159.2	372.1	60/45	ES+/ES+
Tebuconazole	107534-96-3	308.3	310.3	25/25	ES+/ES+

163 **3. Results and discussion**

In this work, SIA-MSP2E is used not only to extract and to preconcentrate the analytes of interest but also to separate analytes and, coupled with an UV detection, for a prescreening of the compounds according to their physico-chemical properties (pKa and log K_{ow}).

167

168 **3.1 Retention and elution of each targeted substance**

The targeted micropollutants were selected from their physico-chemical properties, in
particular pKa and log K_{ow} (which range from 0.1 to 14, and from -4.6 to 7.6 respectively).
They include in majority phytosanitary products but also some pharmaceuticals, some
preservatives, detergents and PAHs (**Table 1**).

- 173 Based on their physico-chemical properties, a prediction of fractionation has been proposed
- and verified. According to the method described previously [10], anionic compounds are
- retained on Strata-SAX cartridge and neutral or cationic species on Oasis-HLB cartridge.
- 176 Then, by using the SIA-MSP2E-UV system, several eluting fractions have been determined
- 177 for individual compounds (**Table 3** and **Table 4**).
- 178
- 179 **Table 3:** Capacity of elution of Strata-SAX for individual targeted micropollutants.

				Eluting volume (mL)		
				0 1.1	1> 5	
Compound	Log K _{ow}	рК _а	λ _{max} (nm)	E1	E2	
Diclofenac	0.7 [12]	4.2 [13]	276			0.7
Sodium diatrizoate	1.8 [14]	3.4 [15]	238			
Clofibric acid	2.6 [16]	3.2 [17]	227 ; 279			
Warfarin	2.7 [18]	5.0 [19]	204; 284;			
2,4D	2.7 – 2.8 [20]	2.6 – 3.3 [20]	229 ; 284			
Dichlorprop	3.4 [20]	2.9 – 3.5 [20]	229 ; 284			
lbuprofen	4.0 [13]	4.4 [13]	221			4.0

180

Table 4: Capacity of elution of Oasis-HLB for individual targeted micropollutants.

				S2> S3				
				Eluting v	olume (mL)	Eluting vo	lume (mL)	
				0	1 . 2		25 52	
				0	- > 2	0 /	2.02	
Compound	Log K _{ow}	pKa	λ_{max} (nm)	E1	E2	E3	E4	
Caffeine	-0.07 [13]	0.8 [21]	205; 273			1 1 1 1	i I	-0.07
Acetaminophen	0.5 [13]	9.3 [13]	243			1 1 1	, 	
Ciprofloxacine	0.3-1.3	5.9 ; 8.9	207; 277;					
·	[22]	[22]	316					
Trimethoprim	0.9 [13]	7.1 [13]	204; 272					
Sulfamethoxazole pH 8	0.9 [13]	6.0 [13]	265	1 1 1				
Hexazinone	1.4 [23]	Na	246					
M-toluidine	1.4 [24]	4.7 [25]	204; 233;					
4-4'Diaminophenylmethane	1.6 [26]	NA	281 241 : 286					
Methyl-paraben	1.7 [27]	8.4 [28]	255	1 1 1				
2-Nitrophenol	2.0 [29]a	7.2 [30]	209 : 279 :					
•••			349					
Metazachlor	2.11 [17]	1.3 [17]	-					
Isoproturon	2.3 [17]	0.9 [17]	203 ; 239	1 1 1				
Simazine	1.5 – 2.3 [31]	1.6 [32]	221 ; 263					
Carbaryl	2.4 [33]	10.4 [33]	220 ; 279					
Carbamazepine	2.5 [13]	14 [13]	211 ; 286					
Chlortoluron	2.5 [34]	0.1 ; 14.4 [34]	210 ; 242					$Log\;K_{ow}$
Atrazine	2.6 [13]	1.7 [13]	222 ; 264					
Diuron	2.8 [17]	3.6 [17]	210 ; 248	1 1 1				
Terbutylazine	3.04 [35]	2.0 [36]	224					
Metolachlor	3.13 [13]	NA	-					
Linuron	3.2 [18]	12.1 [37]	211 ; 247					
Naphthalene	3.3 [13]	Na	220 ; 268 ;	1 1 1				
Diazinon	3.3 [38]	2.6 [39]	276 : 283 248					
Bisphenol A	3.3 [40]	9.9 – 10.0	225 ; 277	1				
	0 5 5 4 01	[41]		1 1 1				
Alachlor	3.5 [18]	0.6 [33]	-					
	3.7 [42]	4.4 [36]	224					
1,7α-ethynylestradiol	3.7 [13]	10.2 [13]	237 ; 279					
Parathion-ethyl	3.8 [33]	Na	2//				1	
Acenaphtene	4.2 [32]	Na	226 ; 290				1	
Fluorene	4.2 [13]	Na	209;263; 288·200					
4-Nonylphenol	4.5 [40]	10.3 [43]	200 ; 299	1 1 1 1			Į	
Dibutylphtalate	5.4 [44]	NA	276	1 1 1				
Dinoterb	5.6 [45]	3.5 [45]	214 ; 269 ; 275					Ţ
DEHP	7.6 [40]	Na	204			1 1 1 1		J .6

The whole analytical procedure (preconcentration and detection) was tested on 44 substances 183

- (37 neutral or cationic and 7 anionic) individually. 184
- 100% of retention on Strata-SAX was observed for the 7 anionic compounds and 92% for 185
- neutral or cationic compounds on Oasis-HLB. Three of the 37 substances were not retained on 186 cartridges: Diquat, Paraquat and Atenolol, explained for the two first ones by their high 187
- hydrophilic properties (log K_{ow} = -4.6 [46] and -4.5 [47] respectively). 188
- Among retained substances on Oasis-HLB, only 4 were not eluted in our operational 189 conditions: 4-nonylphenol, dinoterb, acenaphthene and DEHP, the log K_{ow} of which requiring 190 a more hydrophobic solvent to be eluted. Indeed, according to the literature on this cartridge, 191 phthalates can be eluted with a mixture of dichloromethane and methanol (1:1) [48], 192 acenaphthene by using a mixture of dichloromethane and hexane or a mixture of 193 dichloromethane and acetone [49], and 4-nonylphenol with methanol (weak recovery of 194 28%), a mixture of dichloromethane and hexane [50] or a mixture of dichloromethane and 195 methanol (9:1)[51]. 196
- As a summary, elution of compounds retained on Oasis-HLB was predicted considering their 197 polarity and those of the eluting solvents (Figure 1). 198
- 199

200 Eluting solvent S2 eluted substances with log K_{ow} between -0.07 and 1.7. A co-elution was observed between the second fraction of eluting solvent S2 and the first fraction of eluting 201 solvent S3 for substances with log K_{ow} between 0.9 and 1.7. The majority of substances were 202

eluted with eluting solvent S3 with log K_{ow} between 0.9 and 4.6. 203



204

Figure 1: elution depending on polarity of eluting solvents and substances 205

206

3.2. Validation of fractionation strategy on a mixture of 44 pesticides 207

The fractionation strategy was investigated by using a mixture of 44 pesticides (Table 5) at 40 208 μ g/L, 11 of which being previously individually tested as described above. 209

210 The 6 eluting fractions and the 3 samples (first before the 2 cartridges, one after Srtrata-SAX and the last one after Oasis-HLB) were analyzed by HPLC/MS. The results are shown Table 211 212 6.

As predicted, 100% of the compounds were retained on the cartridges: anionic compounds in 213 Strata-SAX and the others on Oasis-HLB. 214

Only 2 substances were not retrieved in predicted eluting fraction (imazamethabenz-methyl 215

and oxadixyl) due to the difficulties to find an actual log K_{ow} value in literature. As example, 216 imazamethabenz-methyl with a log Kow between 1.54 and 1.82 can retained either in S2 217 (fully) or S2 and S3 (partly), regarding our operational conditions. 218

However, 93% of predicted elutions have been satisfied. Moreover, the effect of the 219 complexity of the solution, marked by a mixture of 44 pesticides, seems to not alter the 220

- performance of the method. Indeed, we didn't observe a difference of elution behavior of the 221
- 11 compounds studied previously individually 222
| Compound | Log K _{ow} | рКа |
|-----------------------|---------------------|------------------|
| Bentazone | 2.34 [20] | 3.3 [52] |
| Bromoxynil | 2.8 [53] | 3.9 [54] |
| Dicamba | 2.2 [20] | 1.9 [20] |
| loxynil | 3.94 [55] | 4.5 [55] |
| 2,4 D | 2.7 – 2.8 [20] | 2.6 – 3.3 [20] |
| MCPA | 3.2 [20] | 3.1 [20] |
| Dichlorprop | 3.4 [20] | 2.9 – 3.5 [20] |
| Mecoprop | 3.1 – 3.6 [20] | 3.1 – 3.7 [20] |
| Trichlopyr | -0.45 [56] | 2.7 [57] |
| Mesotrione | 0.11 [58] | 3.12 [59] |
| Metosulam | 2.39 [60] | 5.34 [60] |
| Nicosulfuron | -0.35 [61] | 4.78 ; 7.58 [57] |
| Sulcotrione | -1.7 [62] | 3.1 [63] |
| Fluroxypyr | 1.74 [60] | 2.94 [60] |
| Imazamethabenz-methyl | 1.54 -1.82 [64] | na |
| Simazine | 1.5 – 2.3 [31] | 1.6 [32] |
| Terbutylazine | 3.04 [35] | 2.0 [36] |
| Terbumeton | 2.7 [65] | 4.7 [65] |
| Chlortoluron | 2.5 [34] | 0.1 ; 14.4 [34] |
| Diuron | 2.8 [17] | 3.6 [17] |
| Isoproturon | 2.3 [17] | 0.9 [17] |
| Linuron | 3.2 [18] | 12.1 [37] |
| Epoxiconazole | 3.44 [53] | na |
| Prochloraz | 3.53 [33] | 3.8 [33] |
| Tetraconazole | 3.56 [40] | 4.95 [66] |
| Tebuconazole | 3.7 [40] | 3.4 ; 13.7 [67] |
| Alachlor | 3.52 [18] | 0.6 [33] |
| Acetochlor | 4.14 [68] | na |
| Dimethenamid | 2.47 [69] | na |
| Oxadixyl | 0.7 [70] | na |
| Metolachlor | 3.13 [13] | na |
| Metazachlor | 2.11 [17] | 1.3 [17] |
| Propachlor | 2.41 [71] | 2.8 [72] |
| Tebutam | 3 [73] | na |
| Azoxystrobin | 5.13 [67] | 0.67 [67] |
| Boscalid | 2.96 [74] | na |
| Carbofuran | 2.32 [42] | na |
| Cyprodinil | 4 [75] | 4.4 [75] |
| Diflufenican | 4.9 [76] | na |
| Fluthiamide | 3.2 [77] | na |
| isoxaben | 2.64 [78] | 1.3 [79] |
| isoxaflutol | 2.19 [80] | na |
| Oxadiazon | 4.09 [81] | na |
| Pendimethaline | 5.18 [81] | na |

Table 5: physico-chemical properties of the 44 pesticides of mixture (na: not available)

Table 6: prediction and HPLC results concerning elution of Strata-SAX and Oasis-HLB for a mixture of 44 pesticides (compounds highlighted: 11 common
pesticides on both lists)

	Mixture of 44	micropollutants					
			~				
	Strata-SAX			Oas	is-HLB		
	S1		S2	S2 and S3		S	33
Prediction	Bentazone Bromoxynil Dicamba loxynil 2,4 D MCPA Dichlorprop Mecoprop Triclopyr Fluoroxypyr Mesotrione Metosulam Nicosulfuron Sulcotrione	0	xadixyl	Imazamethabenz-meth	nyl	Prochloraz Simazine Terbutylazine Terbumeton Chlortoluron Diuron Isoproturon Linuron Epoxiconazole Tetraconazole Tebuconazole Alachlor Acetochlor Dimethenamid	Metolachlor Metazachlor Propachlor Tebutam Azoxystrobin Boscalid Carbofuran Cyprodinil Diflufenican Fluthiamide isoxaben isoxaflutol Oxadiazon pendimethaline
HPLC results	Bentazone Bromoxynil Dicamba Ioxynil 2,4 D MCPA Dichlorprop Mecoprop Triclopyr Fluoroxypyr Mesotrione Metosulam Nicosulfuron Sulcotrione	Imazamet	habenz-methyl	Oxadixyl		Simazine Terbutylazine Terbumeton Chlortoluron Diuron Isoproturon Linuron Epoxiconazole Prochloraz Tetraconazole Tebuconazole Alachlor Acetochlor Dimethenamid	Metolachlor Metazachlor Propachlor Tebutam Azoxystrobin Boscalid Carbofuran Cyprodinil Diflufenican Fluthiamide isoxaben isoxaflutol Oxadiazon pendimethaline

229 3.3. Application: Contamination of river water with mixture of pesticides

A river water (2.7 mg/L of TOC and 22.1 mg/L of nitrate) has been spiked by 40 μ g/L of the mixture of the 44 pesticides previously presented. 100 mL of the solution was treated

- according to the protocol mentioned above: percolation onto the two cartridges, elution with 3
- eluting solvents (1 for Strata-SAX and 2 for Oasis-HLB) and collection of 6 eluting fractions
- and samples before and after each cartridge for analysis by HPLC/MS.
- The results showed that 83% of the prediction for cationic or neutral compounds was satisfied in this operational conditions.
- Concerning anionic compounds, we observed a matrix effect leading to a non retention of the anionic substances. The anionic capacity of Strata-SAX calculated as 0.9 meq/g of sorbent is rapidly saturated by the presence of anionic species from a real matrix. The increase of the
- 240 mass of sorbent or the addition of a guard cartridge could decrease the matrix effect. Indeed, a
- 241 preliminary study showed that a guard cartridge of 500 or 700 mg Strata-SAX phase can
- $\label{eq:242} \text{overcome a conductivity of 300-500 } \mu\text{S/cm} \text{ (representative an average mineralization of a raw}$
- 243 water) (data not shown).
- 244

245 **3.4 UV pre-identification**

- As described above, the MSP2E-SIA system can be used for an onsite fractionation in view of laboratory analyses but can also be coupled with a UV detection in a MSP2E-SIA-UV global system. The UV pre-screening performed on each fraction obtained by MSP2E-SIA aims to (i) pre-identify (if possible) the contaminant(s) involved, and/or (ii) simplify the analysis of an unknown contamination. Indeed, the UV signature of one or several fractions could allow to guide the analysis toward a limited list of substances rather than to launch a blind analysis of
- any micropollutants.
- The UV pre screening can be carried out by comparison of the fraction's UV spectra with a spectra database by using a multicomponent method (deconvolution) [9].
- Figure 2 shows a simple example of the potential of the method. A 100 ml mixture of 3 neutral substances, atrazine, diuron and parathion at 20 μ g/L each was percolated onto the two cartridges and 6 elution fractions were collected and analysed by UV.



258

Figure 2: UV spectra of the fractions obtained after elution of Strata-Sax and Oasis HLB cartridges

261

- Compared to the other fractions, one fraction (E3 HLB) shows a significant UV signal indicating that the main contaminants of the sample are non anionic substances with log Kow higher than 2. In this example, only this fraction could be send for laboratory analysis. The approach thus targets a minimum number of possible contaminants.
- The use of the deconvolution method is currently investigated for a pre-identification of the composition of the contaminated fractions.
- 268

269 **4.** Conclusion

- The automatic SIA-MSP2E system offers a solution for a direct and on-site fractionation of a water sample particularly suitable for intentional or accidental contamination of water resources. The procedure produces 6 different fractions characteristic of particular classes of compounds (2 with anionic substances + 4 with neutral compounds separated by their logKow). The simple UV signature of each fraction gives information about the nature of the contamination.
- A semi-quantitative UV analysis using a deconvolution method from a spectra databaseshould be performed for a pre-identification of the contamination.
- 278

279 Acknowledgements

- This work was supported by the French Ministry of Industry in the frame of the 2010 Eco-Industries call for project. We would like thank to Julie Lévêque, Julien Singuin and Delphine
- Pellé (LERES) for HPLC analyses and HOCER Company (in particular Goulven Cavalin) for
- its assistance concerning the portable SPE automatic system.

References

- E.H. Hansen, M. Miró, How flow-injection analysis (FIA) over the past 25 years has changed our way of performing chemical analyses, TrAC, Trends Anal. Chem. 26 (2007) 18–26.
- [2] M. Miró, V. Cerdà, J.M. Estela, Multisyringe flow injection analysis: characterization and applications, TrAC, Trends Anal. Chem. 21 (2002) 199–210.
- [3] V. Cerdà, A. Cerdà, A. Cladera, M. Oms, F. Mas, E. Gómez, et al., Monitoring of environmental parameters by sequential injection analysis, TrAC, Trends Anal. Chem. 20 (2001) 407–418.
- [4] A.M. Pimenta, M.C.B.S.M. Montenegro, A.N. Araújo, J.M. Calatayud, Application of sequential injection analysis to pharmaceutical analysis, J. Pharm. Biomed. Anal. 40 (2006) 16–34.
- [5] M.F. El-Shahat, N. Burham, S.M.A. Azeem, Flow injection analysis-solid phase extraction (FIA-SPE) method for preconcentration and determination of trace amounts of penicillins using methylene blue grafted polyurethane foam, J. Hazard. Mater. 177 (2010) 1054–1060.
- [6] K. Stoob, H.P. Singer, C.W. Goetz, M. Ruff, S.R. Mueller, Fully automated online solid phase extraction coupled directly to liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Quantification of sulfonamide antibiotics, neutral and acidic pesticides at low concentrations in surface waters, J. Chromatogr., A 1097 (2005) 138–147.
- [7] P. López-Roldán, M.J.L. de Alda, D. Barceló, Simultaneous determination of selected endocrine disrupters (pesticides, phenols and phthalates) in water by in-field solid-phase extraction (SPE) using the prototype PROFEXS followed by on-line SPE (PROSPEKT) and analysis by liquid chromatography-atmosph, Anal. Bioanal. Chem. 378 (2004) 599–609.
- [8] T.F. Marhaba, Y. Pu, K. Bengraine, Modified dissolved organic matter fractionation technique for natural water, J. Hazard. Mater. 101 (2003) 43–53.
- [9] J. Dussauze, R. Delmas, G. Cavalin, B.-J. Munoz, Installation et procede pour la preparation automatique d'echantillons, EP1295102 B1, 2008.
- [10] M. Brogat, A. Cadiere, A. Sellier, O. Thomas, E. Baures, B. Roig, MSPE/UV for field detection of micropollutants in water, Microchem. J.108 (2013) 215–223.
- [11] O. Thomas, C. Burgess, Uv-Visible Spectrophotometry of Water and Wastewater, Elsevier, 2007.
- [12] S.A. Snyder, S. Adham, A.M. Redding, F.S. Cannon, J. DeCarolis, J. Oppenheimer, et al., Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals, Desalination. 202 (2007) 156–181.
- [13] R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, D.J. Rexing, S.A. Snyder, Broad range analysis of endocrine disruptors and pharmaceuticals using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry, Chemosphere. 65 (2006) 1990–1998.
- [14] J. Láng, L. Kőhidai, Effects of the aquatic contaminant human pharmaceuticals and their mixtures on the proliferation and migratory responses of the bioindicator freshwater ciliate Tetrahymena, Chemosphere. 89 (2012) 592–601.
- [15] A.B. Frost, F. Larsen, J. Ostergaard, S.W. Larsen, C. Lindegaard, H.R. Hansen, et al., On the search for in vitro in vivo correlations in the field of intra-articular drug delivery: administration of sodium diatrizoate to the horse, Eur. J. Pharm. Sci. 41 (2010) 10–15.
- [16] D.M. Pavlović, S. Babić, A.J.M. Horvat, M. Kaštelan-Macan, Sample preparation in analysis of pharmaceuticals, TrAC, Trends Anal. Chem. 26 (2007) 1062–1075.
- [17] K. Nödler, T. Licha, K. Bester, M. Sauter, Development of a multi-residue analytical method, based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry, for the simultaneous determination of 46 micro-contaminants in aqueous samples, J. Chromatogr., A 1217 (2010) 6511–6521.
- [18] Y. Ran, Y. He, G. Yang, J.L.H. Johnson, S.H. Yalkowsky, Estimation of aqueous solubility of organic compounds by using the general solubility equation, Chemosphere. 48 (2002) 487–509.
- [19] A.M. Rosengren, B.C.G. Karlsson, Spectroscopic evidence for the presence of the cyclic hemiketal form of warfarin in aqueous solution: consequences for bioavailability, Biochem. Biophys. Res. Commun. 407 (2011) 318–320.
- [20] M.J. Wells, L.Z. Yu, Solid-phase extraction of acidic herbicides, J. Chromatogr., A 885 (2000) 237–250.
- [21] J. Magnér, M. Filipovic, T. Alsberg, Application of a novel solid-phase-extraction sampler and ultra-performance liquid chromatography quadrupole-time-of-flight mass spectrometry for determination of pharmaceutical residues in surface sea water, Chemosphere. 80 (2010) 1255–1260.

- [22] B. Kasprzyk-Hordern, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy, Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry, J. Chromatogr., A 1161 (2007) 132– 145.
- [23] J. Liu, C. Qian, Hydrophobic coefficients of s-triazine and phenylurea herbicides, Chemosphere. 31 (1995) 3951– 3959.
- [24] B. Cai, L. Xie, D. Yang, J.-P. Arcangeli, Toxicity evaluation and prediction of toxic chemicals on activated sludge system, J. Hazard. Mater. 177 (2010) 414–419.
- [25] S. Heinisch, J.L. Rocca, Effect of mobile phase composition, pH and buffer type on the retention of ionizable compounds in reversed-phase liquid chromatography: application to method development, J. Chromatogr., A 1048 (2004) 183–193.
- [26] H.M. Do Luu, J.C. Hutter, Pharmacokinetic modeling of 4,4'-methylenedianiline released from reused polyurethane dialyzer potting materials., J. Biomed. Mater. Res. 53 (2000) 276–86.
- [27] R.S. Tavares, F.C. Martins, P.J. Oliveira, J. Ramalho-Santos, F.P. Peixoto, Parabens in male infertility—Is there a mitochondrial connection?, Reprod. Toxicol. 27 (2009) 1–7.
- [28] J.E. Thompson, L.W. Davidow, A practical guide to contemporary pharmacy practice, Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- [29] J.W. Millard, F.A. Alvarez-Núñez, S.H. Yalkowsky, Solubilization by cosolvents, Int. J. Pharm. 245 (2002) 153– 166.
- [30] M.R.N. Monton, J.P. Quirino, K. Otsuka, S. Terabe, Separation and on-line preconcentration by sweeping of charged analytes in electrokinetic chromatography with nonionic micelles, J. Chromatogr., A 939 (2001) 99–108.
- [31] M. Gfrerer, T. Wenzl, X. Quan, B. Platzer, E. Lankmayr, Occurrence of triazines in surface and drinking water of Liaoning Province in Eastern China, J. Biochem. Biophys. Methods 53 (2002) 217–228.
- [32] P. Tölgyessy, B. Vrana, Z. Krascsenits, Development of a screening method for the analysis of organic pollutants in water using dual stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry, Talanta. 87 (2011) 152–160.
- [33] W. Mnif, A.I.H. Hassine, A. Bouaziz, A. Bartegi, O. Thomas, B. Roig, Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review, Int. J. Environ. Res. Publ. Health. 8 (2011) 2265–2303.
- [34] A. Moral, M.D. Sicilia, S. Rubio, D. Pérez-Bendito, Multifunctional sorbents for the extraction of pesticide multiresidues from natural waters, Anal. Chim. Acta 608 (2008) 61–72.
- [35] B. Chefetz, Y.I. Bilkis, T. Polubesova, Sorption-desorption behavior of triazine and phenylurea herbicides in Kishon river sediments, Water Res. 38 (2004) 4383–4394.
- [36] S. Frías-García, M.J. Sánchez, M.A. Rodríguez-Delgado, Optimization of a solid-phase microextraction procedure for the determination of herbicides by micellar electrokinetic chromatography., J. Sep. Sci. 27 (2004) 660–6.
- [37] M. Chicharro, E. Bermejo, S. Ongay, A. Zapardiel, Determination of Maleic Hydrazide in Potato Samples Using Capillary Electrophoresis with Dual Detection (UV-Electrochemical), Electroanalysis. 20 (2008) 534–541.
- [38] M.E. Harnly, A. Bradman, M. Nishioka, T.E. McKone, D. Smith, R. McLaughlin, et al., Pesticides in Dust from Homes in an Agricultural Area, Environ. Sci. Technol.. 43 (2009) 8767–8774.
- [39] N. Daneshvar, S. Aber, M.S. Seyed Dorraji, A.R. Khataee, M.H. Rasoulifard, Photocatalytic degradation of the insecticide diazinon in the presence of prepared nanocrystalline ZnO powders under irradiation of UV-C light, Sep. Purif. Technol. 58 (2007) 91–98.
- [40] J.-B. Baugros, B. Giroud, G. Dessalces, M.-F. Grenier-Loustalot, C. Cren-Olivé, Multiresidue analytical methods for the ultra-trace quantification of 33 priority substances present in the list of REACH in real water samples, Anal. Chim. Acta 607 (2008) 191–203.
- [41] H.-X. Wang, Y. Zhou, Q.-W. Jiang, Simultaneous screening of estrogens, progestogens, and phenols and their metabolites in potable water and river water by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry, Microchem. J.100 (2012) 83–94.
- [42] P. Gramatica, A. Di Guardo, Screening of pesticides for environmental partitioning tendency, Chemosphere. 47 (2002) 947–956.

- [43] H. Yamamoto, H.M. Liljestrand, Y. Shimizu, M. Morita, Effects of physical-chemical characteristics on the sorption of selected endocrine disruptors by dissolved organic matter surrogates, Environ. Sci. Technol.. 37 (2003) 2646– 2657.
- [44] W. Zhang, Y. Ni, Z. Sun, P. Zheng, W. Lin, P. Zhu, et al., Biocatalytic synthesis of ethyl (R)-2-hydroxy-4phenylbutyrate with Candida krusei SW2026: A practical process for high enantiopurity and product titer, Process Biochem. 44 (2009) 1270–1275.
- [45] J. Lezamiz, J.A. Jönsson, Development of a simple hollow fibre supported liquid membrane extraction method to extract and preconcentrate dinitrophenols in environmental samples at ng L(-1) level by liquid chromatography, J. Chromatogr., A 1152 (2007) 226–233.
- [46] V. Ducrot, A.R.R. Pery, L. Lagadic, Modelling effects of diquat under realistic exposure patterns in genetically differentiated populations of the gastropod Lymnaea stagnalis, Phil. Trans. R. Soc. B 365 (2010) 3485–3494.
- [47] H. Azejjel, C. del Hoyo, K. Draoui, M.S. Rodríguez-Cruz, M.J. Sánchez-Martín, Natural and modified clays from Morocco as sorbents of ionizable herbicides in aqueous medium, Desalination. 249 (2009) 1151–1158.
- [48] S. Jara, C. Lysebo, T. Greibrokk, E. Lundanes, Determination of phthalates in water samples using polystyrene solid-phase extraction and liquid chromatography quantification, Anal. Chim. Acta 407 (2000) 165–171.
- [49] J. Sánchez-Avila, J. Bonet, G. Velasco, S. Lacorte, Determination and occurrence of phthalates, alkylphenols, bisphenol A, PBDEs, PCBs and PAHs in an industrial sewage grid discharging to a Municipal Wastewater Treatment Plant., Sci. Total Environ. 407 (2009) 4157–67.
- [50] G. Gatidou, N.S. Thomaidis, A.S. Stasinakis, T.D. Lekkas, Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry, J. Chromatogr., A 1138 (2007) 32–41.
- [51] X. Jing, S. Bing, W. Xiaoyan, S. Xiaojie, W. Yongning, A study on bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol in human urine amples detected by SPE-UPLC-MS, Biomed. Environ. Sci. 24 (2011) 40–46.
- [52] Z. Liu, X. Yan, M. Drikas, D. Zhou, D. Wang, M. Yang, et al., Removal of bentazone from micro-polluted water using MIEX resin: Kinetics, equilibrium, and mechanism, J. Environ. Sci. 23 (2011) 381–387.
- [53] E. Papa, S. Castiglioni, P. Gramatica, V. Nikolayenko, O. Kayumov, D. Calamari, Screening the leaching tendency of pesticides applied in the Amu Darya Basin (Uzbekistan), Water Res. 38 (2004) 3485–3494.
- [54] E.A. Hogendoorn, R. Huls, E. Dijkman, R. Hoogerbrugge, Microwave assisted solvent extraction and coupledcolumn reversed-phase liquid chromatography with UV detection: Use of an analytical restricted-access-medium column for the efficient multi-residue analysis of acidic pesticides in soils, J. Chromatogr., A 938 (2001) 23–33.
- [55] E. Argese, C. Bettiol, D. Marchetto, S. De Vettori, A. Zambon, P. Miana, et al., Study on the toxicity of phenolic and phenoxy herbicides using the submitochondrial particle assay., Toxicol. in Vitro 19 (2005) 1035–43.
- [56] D. Barcelo, Trace Determination of Pesticides and their Degradation Products in Water, Elsevier, 1997.
- [57] D.G. Petty, K.D. Getsinger, K.B. Woodburn, A Review of the Aquatic Environmental Fate of Triclopyr and its Major Metabolites, J. Aquat. Plant Manage. 41 (2003) 69–75.
- [58] I.K. Wittmer, H.-P. Bader, R. Scheidegger, H. Singer, A. Lück, I. Hanke, et al., Significance of urban and agricultural land use for biocide and pesticide dynamics in surface waters, Water Res. 44 (2010) 2850–2862.
- [59] A. ter Halle, D. Lavieille, C. Richard, The effect of mixing two herbicides mesotrione and nicosulfuron on their photochemical reactivity on cuticular wax film, Chemosphere. 79 (2010) 482–487.
- [60] S.J. Gluck, M.H. Benkö, R.K. Hallberg, K.P. Steele, Indirect determination of octanol-water partition coefficients by microemulsion electrokinetic chromatography, J. Chromatogr., A 744 (1996) 141–146.
- [61] N.M. Satchivi, E.W. Stoller, L.M. Wax, D.P. Briskin, A Nonlinear Dynamic Simulation Model for Xenobiotic Transport and Whole Plant Allocation Following Foliar Application. III. Influence of Chemical Properties, Plant Characteristics, and Environmental Parameters on Xenobiotic Absorption and Translocation, Pestic. Biochem. Physiol.. 71 (2001) 77–87.
- [62] J. Kamga Wagheu, C. Forano, P. Besse-Hoggan, I.K. Tonle, E. Ngameni, C. Mousty, Electrochemical determination of mesotrione at organoclay modified glassy carbon electrodes., Talanta. 103 (2013) 337–43.
- [63] L.G. Freitas, H. Singer, S.R. Müller, R.P. Schwarzenbach, C. Stamm, Source area effects on herbicide losses to surface waters—A case study in the Swiss Plateau, Agric. Ecosyst. Environ. 128 (2008) 177–184.
- [64] E. Izadi-Darbandi, A. Aliverdi, H. Hammami, Behavior of vegetable oils in relation to their influence on herbicides' effectiveness, Ind. Crop. Prod. 44 (2013) 712–717.

- [65] A. Conrad, O. Dedourge, R. Cherrier, M. Couderchet, S. Biagianti, Leaching of terbumeton and terbumeton-desethyl from mini-columns packed with soil aggregates in laboratory conditions, Chemosphere. 65 (2006) 1600–1609.
- [66] H.-J. Pan, W.-H. Ho, Determination of fungicides in water using liquid phase microextraction and gas chromatography with electron capture detection, Anal. Chim. Acta 527 (2004) 61–67.
- [67] I. Carpinteiro, M. Ramil, I. Rodríguez, R. Cela, Determination of fungicides in wine by mixed-mode solid phase extraction and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry, J. Chromatogr., A 1217 (2010) 7484– 7492.
- [68] E. Hiller, Z. Krascsenits, S. Čerňanský, Sorption of Acetochlor, Atrazine, 2,4-d, Chlorotoluron, MCPA, and Trifluralin in Six Soils From Slovakia, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 80 (2008) 412–416.
- [69] M.L. Hladik, E.J. Bouwer, A.L. Roberts, Neutral degradates of chloroacetamide herbicides: occurrence in drinking water and removal during conventional water treatment, Water Res. 42 (2008) 4905–4914.
- [70] J.F. Kouzayha Abir ,Rabaa Abdul Rahman ,Al Iskandarani Mohamad ,Beh Daniel , Budzinski Hélène, Multiresidue Method for Determination of 67 Pesticides in Water Samples Using Solid-Phase Extraction with Centrifugation and Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Am. J. Anal. Chem.. 3 (2012) 257–265.
- [71] D.A. Lambropoulou, I.K. Konstantinou, T.A. Albanis, Factors Affecting Multiresidue Determination of Priority Herbicides when Using Solid-Phase Microextraction, J. AOAC Int. 85 (2002) 486–493.
- [72] P. Schröder, D. Daubner, H. Maier, J. Neustifter, R. Debus, Phytoremediation of organic xenobiotics Glutathione dependent detoxification in Phragmites plants from European treatment sites, Bioresour. Technol. 99 (2008) 7183– 7191.
- [73] P.P. Bolaños, R. Romero-González, A.G. Frenich, J.L.M. Vidal, Application of hollow fibre liquid phase microextraction for the multiresidue determination of pesticides in alcoholic beverages by ultra-high pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry, J. Chromatogr., A 1208 (2008) 16–24.
- [74] R.M. González-Rodríguez, B. Cancho-Grande, J. Simal-Gándara, Multiresidue determination of 11 new fungicides in grapes and wines by liquid–liquid extraction/clean-up and programmable temperature vaporization injection with analyte protectants/gas chromatography/ion trap mass spectrometry, J. Chromatogr., A 1216 (2009) 6033–6042.
- [75] E. Pose-Juan, R. Rial-Otero, M. Paradelo, J.E. López-Periago, Influence of the adjuvants in a commercial formulation of the fungicide "Switch" on the adsorption of their active ingredients: Cyprodinil and fludioxonil, on soils devoted to vineyard, J. Hazard. Mater. 193 (2011) 288–295.
- [76] R. Carabias Martínez, E. Rodríguez Gonzalo, M.E. Fernández Laespada, F.J. Sánchez San Román, Evaluation of surface- and ground-water pollution due to herbicides in agricultural areas of Zamora and Salamanca (Spain), J. Chromatogr., A 869 (2000) 471–480.
- [77] N. Fohrer, A. Dietrich, O. Kolychalow, U. Ulrich, Assessment of the Environmental Fate of the Herbicides Flufenacet and Metazachlor with the SWAT Model, J. Environ. Qual. DOI: 10.2135/jeq2011.0382
- [78] A.J.P. Brudenell, D.A. Baker, B.T. Grayson, Phloem mobility of xenobiotics: tabular review of physicochemical properties governing the output of the Kleier model, J. Plant Growth Regul. 16 (1995) 215–231.
- [79] S.J. Gluck, M.H. Benkö, R.K. Hallberg, K.P. Steele, Indirect determination of octanol-water partition coefficients by microemulsion electrokinetic chromatography, J. Chromatogr., A 744 (1996) 141–146.
- [80] K.E. Pallett, S.M. Cramp, J.P. Little, P. Veerasekaran, A.J. Crudace, A.E. Slater, Isoxaflutole: the background to its discovery and the basis of its herbicidal properties, Pest Manage. Sci. 57 (2001) 133–142.
- [81] W.L. Klotz, M.R. Schure, J.P. Foley, Determination of octanol-water partition coefficients of pesticides by microemulsion electrokinetic chromatography, J. Chromatogr., A 930 (2001) 145–154.

Annexe 5 : Avantages et inconvénients des appareils répertoriés pour l'analyse des paramètres physico-chimiques et de la toxicité (liste non exhaustive)

Appareil	Fournisseur	Avantages	Inconvénients
BioMonitor	LAR	En ligne	Mesure uniquement de la DBO
		Rapide (30s)	
		Mesure toutes les 3 - 4 min	
		Enregistrement des données	
RODTOX 2000	KELMA	En ligne	Température du réacteur constante
		Rapide (quelques min)	Mesure uniquement de la DBO
		Enregistrement des données	
Biox 1010	Endress + Hauser	En ligne	Mesure uniquement de la DBO
		Rapide (3 - 15 min)	
		Enregistrement des données	
		Pas de réactif requis	
MB-DBO	Biosensores SL	En ligne	Mesure uniquement de la DBO
		Rapide (quelques s)	
		Enregistrement des données	
		Faible coût d'analyse (1 euro)	
Optilis	LAC Instruments et systèmes	En ligne	Paramètres globaux uniquement
		Rapide (quelques s)	
		Calibration automatique	
		Sans filtration	
		Pas de réactif requis	
		Enregistrement des données	
		Multiparamètres	
Pastel UV	SECOMAM	Rapide (quelques s)	Hors ligne
		Enregistrement des données	Calibration manuelle
		Pas de réactif requis	Spectrophotométrie
		Multiparamètres	Paramètres globaux uniquement

Appareil	Fournisseur	Avantages	Inconvénients
Spectroly ::ser	S ::can	Rapide (quelques s)	In situ
		Pas de réactif requis	Calibration manuelle
		Simple d'utilisation	Paramètres globaux uniquement
		Multiparamètres	
AquapodLight	HOCER	En ligne	Filtration nécessaire
		Rapide (quelques s)	Paramètres globaux
		Pas de réactif requis	Quelques pesticides et HAP
		Simple d'utilisation	Spectrophotométrie
		Faible coût d'analyse	
		Enregistrement des données	
AquapodSPE	HOCER	En ligne	Réactifs
		Rapide (quelques s)	Spectrophotométrie
		Autonomie de 3 semaines	Paramètres globaux
		Enregistrement des données	Quelques pesticides et HAP
		Programmation des analyses	
QuickCODultra	LAR	En ligne	Mesure uniquement de la DCO
		Rapide (1 – 2 min)	
		Sans filtration	
		Pas de réactif requis	
		Faible coût d'analyse	
		Insensible au chlore	
		Enregistrement des données	
Elox 100	LAR	En ligne	Mesure uniquement de la DCO
		Rapide (3 – 4 min)	
		Temps de maintenance faible	
		Enregistrement des données	

Appareil	Fournisseur	Avantages	Inconvénients
COD on-line analyzer	AWA instrument	En ligne	Mesure uniquement de la DCO
		Rapide (quelques s)	
		Calibration automatique	
		Enregistrement des données	
QuickTOC	LAR	En ligne	Mesure uniquement du COT
		Rapide (2 - 3 min)	Réactifs
		Sans filtration	
		Enregistrement des données	
Biotector	НАСН	En ligne	Mesure uniquement du COT
		Rapide (6 min)	
		Enregistrement des données	
		Faible coût d'analyse	
		Sans filtration	
RDO Pro	Aqualyse	Rapide (quelques s)	Mesure uniquement de l'oxygène dissous
		Insensible au chlore	In situ
			Calibration manuelle
6-Series	LAC Instruments et systèmes	Rapide (quelques s)	In situ
		Multiparamètres	Paramètres globaux uniquement
			Calibration manuelle
HI 9142	HANNA Instruments	Rapide (quelques s)	In situ
			Mesure uniquement de l'oxygène dissous
			Calibration manuelle
Hydrolab MS5	НАСН	Rapide (quelques s)	In situ
		Multiparamètres	Calibration manuelle
			Paramètres globaux uniquement

Appareil	Fournisseur	Avantages	Inconvénients
pHmètre Cypberscan 510	VWR	Rapide (quelques s)	Hors ligne
			Calibration manuelle
			Mesure uniquement du pH
MC 226	Mettler Toledo	Rapide (quelques s)	Hors ligne
			Calibration manuelle
			Mesure uniquement de la conductivité
OBS3+	Campbell Scientific	Rapide (quelques s)	In situ
			Calibration manuelle
			Mesure uniquement de la turbidité
DS5X	Hydrolab	Rapide (quelques s)	In situ
		Enregistrement des données	Calibration manuelle
		Temps de maintenance faible	Paramètres globaux uniquement
2100Q Portable	HACH	Rapide (quelques s)	Hors ligne
		Enregistrement des données	Calibration manuelle
			Mesure uniquement de la turbidité
			Réactifs
Oakton T-100	Cole Parmer	Rapide (quelques s)	Hors ligne
		Enregistrement des données	Calibration manuelle
			Mesure uniquement de la turbidité
			Réactifs
MicroTOL Online	HACH	En ligne	Mesure uniquement de la turbidité
		Rapide (quelques s)	
		Enregistrement des données	
		Calibration automatique	
		Enregistrement des données	

Appareil	Fournisseur	Avantages	Inconvénients
Analyseur Azote total	ANAEL	En ligne	Mesure uniquement de l'azote total
		Rapide (2 - 4 min)	
		Calibration automatique	
4110	Shimadzu	En ligne	Mesure uniquement de l'azote total et du phosphore total
		Rapide (quelques min)	
		Calibration automatique	
		Enregistrement des données	
		Temps de maintenance faible	
PowerMon S	Bran + Luebbe	En ligne	Mesure uniquement de l'azote total et du phosphore total
		Rapide (quelques min)	Réactifs
		Calibration automatique	
		Enregistrement des données	
		Temps de maintenance faible	
Microtox	Modern Water	En ligne	Non spécifique
		Rapide (quelques s)	
		Détermination toxicité	
		Autonomie de 4 semaines	
		Enregistrement des données	
		Simple d'utilisation	
DeltaTOX	Modern Water	En ligne	Hors ligne
		Rapide (quelques min)	Non spécifique
		Faible coût d'analyse	Réactifs
		Enregistrement des données	
		Détermination toxicité	

Appareil	Fournisseur	Avantages	Inconvénients
TOXControl	MicroLAN	En ligne	Non spécifique
		Rapide (quelques min)	
		Faible coût d'analyse	
		Enregistrement des données	
		Simple d'utilisation	
		Détermination toxicité	
VibrioTOX	AppliTEK	En ligne	Non spécifique
		Rapide (quelques min)	
		Faible coût d'analyse	
		Enregistrement des données	
		Simple d'utilisation	
		Calibration automatique	
		Détermination toxicité	
Toximètre algues	BBE	En ligne	Non spécifique
		Rapide (quelques min)	
		Autonomie d'au moins 7 jours	
		Détermination toxicité	
Mosselmonitor	Mosselmonitor	En ligne/ in situ	Non spécifique
		Rapide (quelques min)	
		Détermination toxicité	
Daphtox II	BBE	En ligne	Non spécifique
		Rapide (quelques min)	
		Traitement de l'échantillon intégré	
		Détermination toxicité	

Appareil	Fournisseur	Avantages	Inconvénients			
Truitel TruitoSEM	CIFEC	En ligne	Non spécifique			
		Rapide (quelques min)				
		Insensible au chlore				
		Faible coût d'analyse				
		Enregistrement des données				
		Diminution des faux positifs				
		Détermination toxicité				
Gymnotox	ER Ingenierie	En ligne	Non spécifique			
		Rapide (quelques min)	Température du réacteur à 25°C			
		Insensible aux interférences électriques				
		Enregistrement des données				

Nom CAS	Structure	Log P	Log P calculé ¹	рКа	Charge (pH 6)	λ _{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
			Pesticides				
2,4-D* (CAS : 94-75-7)	CL CL	2,8 (b; c)	2,58±0,36	3,0 (b) 2,73 (c)	-1	1. 229 2. 284	1. $(6,9 \pm 0,3) \times 10^3$ 2. $(1,7 \pm 0,1) \times 10^3$
2,5-dichlorophénol (CAS : 582-78-8)	CI CI	3,06 (jjj)	2,88±0,24	7,5 (kkk)	0	1. 224 2. 281	1. $(1,1 \pm 0,1) \times 10^4$ 2. $(2,8 \pm 0,1) \times 10^3$
2,4-MCPA* (CAS : 94-74-6)		3,25 (a)	2,49±0,27	3,12 (a)	-1	na	na
2-nitrophénol (CAS : 88-75-5)	OH NO ₂	1,96 (k)	1,71±0,23	7,2 (l)	0	1.209 2.279 3.349	1. $(9,43 \pm 0,02) \times 10^{3}$ 2. $(4,15 \pm 0,02) \times 10^{3}$ 3. $(1,78 \pm 0,02) \times 10^{3}$
Acétochlore* (CAS : 34256-82-1)		4,14 (ii)	2,92±0,41	na	0	na	na
Alachlore* (CAS : 15972-60-8)		3,5 (b) 3,09 (c)	2,92±0,41	1,2 (b) 0,62 (c)	0	-	-
Atrazine* (CAS : 1912-24-9)		2,61 (d) 2,82 (n) 2,2-2,75 (r)	2,63±0,21	1,7 (d; n)	0	1. 222 2. 264	1. $(3,73 \pm 0,06) \times 10^4$ 2. $(3,5 \pm 0,1) \times 10^3$
Azoxystrobine* (CAS : 131860-33-8)		5,13 (rr)	6,17±0,71	0,67 (rr)	0	na	na

Annexe 6 : Molécules testées avec leurs caractéristiques physico-chimiques et spectrales

Nom CAS	Structure	Log P	Log P calculé ¹	рКа	Charge (pH 6)	λ_{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
			Pesticides				
Bentazone* (CAS : 25057-89-0)		2,34 ; 2,80 (a)	2,80±0,21	3,3 (pp)	-1	na	na
Boscalid* (CAS : 188425-85-6)		2,96 (tt)	4,31±0,41	na	0	na	na
Bromoxynil* (CAS : 1689-84-5)	N Br OH	2,8 (nn)	2,95±0,53	3,9 (oo)	-1	na	na
Carbaryl (CAS : 63-25-2)		2,36(c)	2,40±0,19	10,4 (c)	0	1. 220 2. 279	1. $(6.8 \pm 0.1) \times 10^4$ 2. $(4.89 \pm 0.07) \times 10^3$
Carbofuran* (CAS : 1563-66-2)		2,32 (f) 1,8 (cc)	1,76±0,26	Na	0	na	na
Chlorpyrifos (CAS : 2921-88-2)		4,66 (n) 5 (f)	4,77±0,40	Na	0	1. 228 2. 288	1. $(1,11 \pm 0,07) \times 10^3$ 2. $(5,8 \pm 0,4) \times 10^2$
Chlortoluron* (CAS : 15545-48-9)		2,5 (b) 2,29 (o)	2,46±0,31	0,1 ; 14,4 (b)	0	1. 210 2. 241	1. $(2,94 \pm 0,05) \times 10^4$ 2. $(1,41 \pm 0,02) \times 10^4$
Cyprodinil* (CAS : 121552-61-2)		4 (fff)	4,00±0,59	4,4 (fff)	0	na	na
Diazinon (CAS : 333-41-5)	∼oy¢° oy¢°o∽ ↓ N	3,81 (f) 3,69 (c)	2,75±0,40	2,6 (c)	0	1.247	1. $(3,7 \pm 0,4) \times 10^3$
Dicamba* (CAS : 1918-00-9)	сі р сі он сі	2,2 (a)	2,75±0,40	1,9 (a)	-1	na	na
Dichlorprop* (CAS : 120-36-5)	CI CI CI OH	2,86-3,5 (a)	2,93±0,37	3,43 (a)	-1	1. 229 2. 284	1. $(7,1 \pm 0,2) \times 10^3$ 2. $(1,52 \pm 0,04) \times 10^3$

Nom CAS	Structure	Log P	Log P calculé ¹	рКа	Charge (pH 6)	λ _{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
			Pesticides				
Diflufénican* (CAS : 83164-33-4)		4,9 (uu)	3,65±0,64	na	0	na	na
Diméthénamide* (CAS : 87674-68-8)		2,47 (jj)	2,15±0,82	na	0	na	na
Diméthoate (CAS : 60-51-5)	-o- ^{p'} o'sH	0,7 (c ; m) 0,78 (f)	0,48±0,40	Na	+1	-	-
Dinoterbe (CAS : 1420-07-1)		5,55 (t)	3,42±0,26	3,51 (t)	0	1. 214 2. 270 3. 373	1. $(9,0 \pm 0,2) \times 10^{3}$ 2. $(6,95 \pm 0,08) \times 10^{3}$ 3. $(7,5 \pm 0,1) \times 10^{3}$
Diquat (CAS : 85-00-7)		-4,6 (i)	-4,71±0,60	Na	+2	1.309	1. $(1,81 \pm 0,04) \times 10^4$
Diuron* (CAS : 330-54-1)	CI THE REPORT OF	2,87 (c) 2,68 (f)	2,78±0,33	13,6 (h)	0	1. 211 2. 248 3. 284	1. $(2,41 \pm 0,05) \times 10^4$ 2. $(1,46 \pm 0,03) \times 10^4$ 3. $(9,9 \pm 0,2) \times 10^2$
Epoxyconazole* (CAS : 133855-98-8)		3,44 (nn) 3,3 (c)	3,44±0,70	na	0	na	na
Fenpropidine* (CAS : 67306-00-7)	C, C	2,59 (gg)	5,87±0,27	10,1 (vv)	0	na	na
Fluroxypyr* (CAS : 69377-81-7)	C + C C C C C C C C C C C C C C C C C C	1,74 (ww) 2,2 ; 2,7 (bb)	3,16±0,77	2,94 (ww, bb)	-1	na	na

Nom CAS	Structure	Log P	Log P calculé ¹	рКа	Charge (pH 6)	λ_{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
			Pesticides				
Fluthiamide* (CAS : 142459-58-3)		3,2 (ggg)	3,98±1,07	na	0	na	na
Hexazinone (CAS : 51235-04-2)		1,36 (q)	1,85±0,40	Na	0	1.246	1. $(1,64 \pm 0,04) \times 10^4$
Imazaméthabenz- méthyl*		1,54-1,82 (xx)	3,86±0,36	na	0	na	na
(CAS : 81405-85-8)	U						
Ioxynil* (CAS : 1689-83-4)		3,9 (pp)	3,60±0,50	4,5 (pp)	-1	na	na
Isoproturon* (CAS : 34123-59-6)		2,9 (b) 2,5 (o)	2,32±0,29	0,9 (h)	0	1.202 2.239	1. $(2,36 \pm 0,07) \times 10^4$ 2. $(1,31 \pm 0,05) \times 10^4$
Isoxaben* (CAS : 82558-50-7)	$ = - \left(\sum_{h=0}^{l_{a}} \prod_{j=0}^{l_{a}} \sum_{j=0}^{l_{a}} \right) $	2,64 (yy)	3,25±0,46	1,3 (ww)	0	na	na
Isoxaflutole* (CAS : 141112-29-0)		2,19 (zz)	1,67±1,44	na	0	na	na
Linuron* (CAS : 330-55-2)		3,2 (f)	3,20±0,67	12,1 (p)	0	1. 210 2. 246 3. 283	1. $(2,65 \pm 0,01) \times 10^4$ 2. $(1,58 \pm 0,01) \times 10^4$ 3. $(9,9 \pm 0,3) \times 10^2$
Malathion (CAS : 121-75-5)		2,4 (b) 2,75 (c) 2,36 (f)	2,93±0,35	Na	0	-	-
Mécoprop* (CAS : 7085-19-0)	CI CI OF OF	3,1 ; 3,22 ; 3,6 (a)	2,83±0,27	3,1 ; 3,18 ;3,7 (a)	-1	na	na

Nom CAS	Structure	Log P	Log P calculé ¹	рКа	Charge (pH 6)	λ_{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
			Pesticides				
Mésotrione* (CAS : 104206-82-8)		0,11 (aaa)	-0,70±0,61	3,12 (bbb)	-1	na	na
Métazachlore* (CAS : 67129-08-2)	C ^u rv ⁱ La C	2,11 (h)	2,11±0,48	1,3 (h)	0	-	-
Métolachlore* (CAS : 51218-45-2)		3,13 (d; e ;f) 3,4 (c)	3,00±0,41	1,4 (g)	0	-	-
Métosulam* (CAS : 139528-85-1)		2,39 (ww)	2,35±1,18	5,34 (ww)	-1	na	na
Nicosulfuron* (CAS : 111991-09-4)		-0,35 (ccc)	0,05±1,11	4,78 ; 7,58 (hh)	-1	na	na
Oxadiazon* (CAS : 19666-30-9)	× ∼stra o	4,09 (ddd)	4,54±0,97	na	0	na	na
Oxadixyl* (CAS : 77732-09-3)	L N N N N N N N N N N N N N N N N N N N	0,7 (eee)	0,68±0,67	na	0	na	na
Paraquat (CAS : 1910-42-5)	-NN*-	-4,5 (j)	-4,58±0,71	na	+2	1.257	1. $(1,54 \pm 0,02) \times 10^4$
Parathion (CAS : 56-38-2)	^{\$μ} ₀ , ^{NO₂}	3,83 (c; f)	3,84±0,32	na	0	1.277	1. $(7,3 \pm 0,8) \times 10^3$
Pendiméthaline* (CAS : 40487-42-1)	$\overset{NO_2}{\underset{NO_2}{\overset{H}{\overset{C}}}}$	5,18 (f)	5,56±0,30	2,8 (lll)	0	na	na
Prochloraze* (CAS : 67747-09-5)		4,38 (yy) ; 3,53 (c)	3,98±0,67	3,8 (c)	0	na	na

Nom CAS	Structure	Log P	Log P calculé ¹	рКа	Charge (pH 6)	λ _{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
			Pesticides				
Propachlore* (CAS : 1918-16-7)	C A CI	2,41 (kk) 2,18 (f)	2,28±0,34	2,8 (g)	0	na	na
Simazine* (CAS : 122-34-9)		2,18 (b; f; q) 2,4 (n) 2,3 (c) 2,2-2,75 (r)	2,28±0,20	1,62 (c)	0	1.222 2.263	1. $(2,58 \pm 0,07) \times 10^4$ 2. $(2,21 \pm 0,03) \times 10^3$
Sulcotrione* (CAS : 99105-77-8)		-1,7 (hhh)	$0,21\pm0,56$	3,1 (iii)	-1	na	na
Tébuconazole* (CAS : 107534-96-3)	N-N-CI N=J OH	3,7 (m) 3,7 (c)	3,58±0,66	3,4 ; 13,7 (rr)	0	na	na
Tébutame* (CAS : 35256-85-0)		3 (11)	3,14±0,28	na	0	na	na
Terbuméton* (CAS : 33693-04-8)	-0_N_H-(- N_H N_H	2,7 (qq)	2,91±0,24	4,7 (qq)	0	na	na
Terbuthylazine* (CAS : 5915-41-3)	$\overset{\alpha}{\succ}_{\underline{n}}^{\alpha}$	3,02_3,74 (r)	2,98±0,22	1,95 (s)	0	1. 224 2. 261	1. $(3,35 \pm 0,07) \times 10^4$ 2. $(2,7 \pm 0,1) \times 10^3$
Terbutryne (CAS : 886-50-0)		3,38 (q) 3,74 (f)	3,44±0,23	4,38 (s)	0	1.224	1. $(3,2 \pm 0,1) \times 10^4$
Tétraconazole* (CAS : 112281-77-3)		3,56 (m)	3,19±0,85	5 (ss)	0	na	na

Nom CAS	Structure	Log P	Log P calculé ¹	рКа	Charge (pH 6)	λ _{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
			Pesticides				
Triclopyr* (CAS : 55335-06-3)	and a factor	-0,45 (gg)	2,98±0,42	2,7 (hh)	-1	na	na
	Produi	ts pharmaceutio	ques et d'hygi	ène corporel	lle (PPCP)		
1,7α-éthinylestradiol (CAS : 57-63-6)	HO HO	3,67 (e)	4,04±0,31	10,4 (e)	0	1.278	1. $(1,9 \pm 0,1) \times 10^3$
Acétaminophène (CAS : 103-90-2)	HO	0,46 (d; e) 0,34 (h) 0,5-0,9 (u) 1,7 (v)	0,34±0,21	9,38 (d)	0	1.243	1. $(1,02 \pm 0,01) \times 10^4$
Acide clofibrique (CAS : 882-09-7)	СІ-СІ-СІ-СІ-СІ-СІ-СІ-СІ-СІ-СІ-СІ-СІ-СІ-С	2,57-2,84 (v)	2,72±0,27	3,2 (h)	-1	1. 227 2. 279	1. $(9,1 \pm 0,2) \times 10^3$ 2. $(9,3 \pm 0,9) \times 10^2$
Anastrozole (CAS :120511-73-1)		2,31 (d)	0,97±0,56	2,25 (d)	0	-	-
Aténolol (CAS : 29122-68-7)		0,1 (h ; v) 0,2-0,5 (u)	0,10±0,28	9,16 ; 13,88 (v)	+1	1. 224 2. 274	1. $(7,2 \pm 0,2) \times 10^3$ 2. $(1,3 \pm 0,1) \times 10^3$
Caféine (CAS : 58-08-2)		-0,07 (d; e) -0,13 (h ; v)	-0,13±0,37	0,73 (v)	0	1. 205 2. 273	1. $(2,43 \pm 0,02) \times 10^4$ 2. $(8,96 \pm 0,09) \times 10^3$
Carbamazépine (CAS : 298-46-4)		2,45 (d) 2,25-2,45 (v)	2,67±0,38	13,9 (v)	0	1. 221 2. 285	1. $(2,87 \pm 0,06) \times 10^4$ 2. $(1,17 \pm 0,01) \times 10^4$

Nom CAS	Structure	Log P	Log P calculé ¹	рКа	Charge (pH 6)	λ _{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)			
	Produits pharmaceutiques et d'hygiène corporelle (PPCP)									
Ciprofloxacine	F CONTRACTOR	0,4 (v)	$0,65 \pm 1,44$	6,38 (v)	0	1.207	1. $(1,58 \pm 0,02) \times 10^4$			
(CAS : 85721-33-1)						2.277	2. $(3,99 \pm 0,01) \times 10^4$			
	\sim					3. 315	3. $(1,23 \pm 0,02) \times 10^4$			
						4.328	4. $(1,10 \pm 0,02) \times 10^4$			
Cyclophosphamide		0,3 (w)	$0,23\pm0,36$	4,5-6,5 (w)	0	-	-			
(CAS : 6055-19-2)										
Diatrizoate de sodium (CAS : 737-31-5)		1,8 (y)	0,45±0,95	3,4 (z)	-1	1.238	1. $(2,53 \pm 0,03) \times 10^4$			
Diclofénac	0 U	4,51 (d)	4,06±0,41	4,15 (d)	-1	1.276	1. $(1,05 \pm 0,02) \times 10^4$			
(CAS : 15307-79-6)	CI H COH	0,7 (e)								
		4,06 (h)								
Erythromycine	10. L. (9#0. L.	3,1 (d)	2,83±0,78	8,2 ; 13,1	+1	-	-			
(CAS : 59319-72-1)	of a factor			(d)						
Hydrochlorothiazide		-0,07 (mmm)	$0,84 \pm 0,28$	9,0 (mmm)	0	1.225	1. $(3,8 \pm 0,1) \times 10^4$			
(CAS : 58-93-5)	0 ⁻⁵ , 0 ⁻⁵ 0					2.271	2. $(2,1 \pm 0,1) \times 10^4$			
Ibuprofène	ОН	3,97 (d)	3,72±0,23	4,4 (v)	-1	1.221	1. $(8,7 \pm 0,4) \times 10^3$			
(CAS : 15687-27-1)		3,79-3,97 (v)								
Méthylparaben	L.	1,66 (x)	1,86±0,22	8,4 (l)	0	1.255	1. (1,38 ± 0,06) × 10^4			
(CAS : 99-76-3)	но, ~									
Sulfaméthoxazole	O SCO N-O	0,89 (d; e; h)	$0,89\pm0,42$	5,8;1,4	-1	1.265	1. $(1,52 \pm 0,05) \times 10^4$			
(CAS : 723-46-6)	HN CONTRACT	0,48 (v)		(h)						

Nom CAS	Structure	Log P	Log P calculé ¹	рКа	Charge (pH 6)	λ_{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)			
Produits pharmaceutiques et d'hygiène corporelle (PPCP)										
Triméthoprime (CAS : 738-70-5)		0,91 (d; e) 0,79 (h) 0,8-1,4 (u)	0,79±0,38	7,12 (d)	+1	1.203 2.273	1. $(4,85 \pm 0,04) \times 10^4$ 2. $(5,09 \pm 0,06) \times 10^3$			
Warfarine (CAS : 81-81-2)		2,7-2,89 (aa)	3,42±0,50	5,1 (l)	-1	1.204 2.284 3.305	1. $(3,79 \pm 0,09) \times 10^4$ 2. $(1,00 \pm 0,01) \times 10^4$ 3. $(1,13 \pm 0,01) \times 10^4$			
			Divers							
4,4'- diaminophénylméthane (CAS : 101-77-9)	H ₂ N	1,6 (dd)	1,64±0,22	Na	0	1.241 2.286	1. $(1,41 \pm 0,08) \times 10^4$ 2. $(2,2 \pm 0,1) \times 10^3$			
4-nonylphénol (CAS : 104-40-5)	но	4,0- 5,0 (m) 5,99 (n)	5,64±0,21	10,3 (n)	0	1. 220 2. 278	1. $(5,07 \pm 0,05) \times 10^3$ 2. $(2,20 \pm 0,08) \times 10^3$			
Acide urique (CAS : 69-93-2)		-2,66 (rrr)	-1,08±1,00	4,4 (sss)	0	1. 228 2. 290	1. $(1,23 \pm 0,04) \times 10^4$ 2. $(1,48 \pm 0,06) \times 10^4$			
Acénaphtène (CAS : 83-32-9)		4,15 (n)	4,19±0,20	na	0	1.226 2.290	1. $(2,24 \pm 0,01) \times 10^4$ 2. $(1,8 \pm 0,1) \times 10^3$			
Benzylbutylphtalate (CAS : 85-68-7)		4,84 (ff)	5,00±0,27	na	0	-	-			
Bisphénol A (CAS : 80-05-7)	HOLOCIC	3,32 (d) 3,43 (ee)	3,43±0,23	9,73 (ee)	0	1.225 2.276	1. $(1,44 \pm 0,07) \times 10^4$ 2. $(3,4 \pm 0,1) \times 10^3$			
Créatinine (CAS : 60-27-5)	N-/N-N-NH2	-1,76 (ttt)	-1,83±0,62	3,55 (sss)	0	1.234	1. $(7,3 \pm 0,1) \times 10^3$			

Nom CAS	Structure	Log P	Log P calculé ¹	рКа	Charge (pH 6)	λ_{max} (nm)	ε (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
			Divers				
Dibutylphtalate (CAS : 84-74-2)		4,61 (ff)	4,83±0,25	na	0	1. 224 2. 276	1. $(3,7 \pm 0,1) \times 10^3$ 2. $(6,3 \pm 0,2) \times 10^2$
DEHP (CAS : 117-81-7)	Jorde L	7,6 (m) 8,39 (ff)	8,71±0,26	na	0	1.204	1. $(2,5 \pm 0,1) \times 10^4$
Fluorène (CAS : 86-73-7)		4,18 (d) 4,02 (n)	4,16±0,25	na	0	1. 204 2. 262 3. 288 4. 298	1. $(4,11 \pm 0,09) \times 10^4$ 2. $(1,77 \pm 0,06) \times 10^4$ 3. $(5,8 \pm 0,5) \times 10^3$ 4. $(7,7 \pm 0,5) \times 10^3$
m-Toluidine (CAS : 108-44-1)	NH ₂	1,4 (bb)	$1,40\pm0,19$	4,7 (cc)	0	1. 232 2. 282	1. $(6,9 \pm 0,3) \times 10^3$ 2. $(1,38 \pm 0,05) \times 10^3$
Naphtalène (CAS : 91-20-3)		3,3 (d)	3,45±0,16	na	0	1. 219 2. 276	1. $(2,74 \pm 0,05) \times 10^4$ 2. $(1,52 \pm 0,03) \times 10^3$
Urée (CAS : 57-13-6)	H ₂ N NH ₂	-1,59 (ppp)	-2,11±0,19	0,2 (qqq)	0	-	-

* : molécules faisant parties du mélange de pesticides

na : non applicable

1 : log P calculé avec le logiciel libre ChemSketch

a : Wells et Yu, 2000; b : Moral et al., 2008; c : Mnif et al., 2011; d : Trenholm et al., 2006; e : Snyder et al., 2007; f : Gramatica et al., 2002; g : Schröder et al., 2008; h : Nödler et al., 2011; o : Chefetz et al., 2009; k : Millard et al, 2002; l : Thompson et Dawidow, 2004; m : Baugros et al., 2008; n : Tölgyessy et al., 2011; o : Chefetz et al., 2004; p : Chicharro et al., 2008; q : Liu et Quian, 1995; r : Gferer et al, 2002; s : Frias-Garcia et al., 2004; t : Lezamiz et Jönsson, 2007; u : Kaspryk-Hordern et al, 2007; v : Pavlovic et al, 2007; w : Wang et al., 2009; x : Tavares et al., 2009; y : Lang et Kohidai, 2012; z : Frost et al., 2010; a : Ran et al., 2002; b : Cai et al., 2010; c : Heinisch et Rocca, 2004; d : Do Luu et Hutter, 2000; e : Sambe et al., 2006; ff : Serodio et Nogueira, 2006; gg : Barcelo, 1997; h : Petty et al., 2003; ii : Hiller et al., 2008; ji : Hladik et al., 2008; k : Lambropoulou et al., 2002; l : Bolanos et al., 2008; p : Argese et al., 2005; qq : Conrad et al., 2006; rr : Carpinteiro et al., 2010; ss : Pan et Ho, 2004; t : González-Rodríguez et al., 2009; u : Carabias Martínez et al., 2000; v : European Food Safety Authority, 2007 : ww : Gluck et al., 1996; xx : Izadi-Darbandi et al., 2013; yy : Brudenell et al., 1995; zz : Pallett et al., 2011; aa : Wittmer et al., 2010; bb : Ter Halle et al., 2010; cc : Satchivi et al., 2001; dd : Klotz et al., 2001; ee : Kouzayha et al., 2012; ff : Pose-Juan et al., 2011; gg : Fohrer et al., 2001; dd : Klotz et al., 2001; ee : Kouzayha et al., 2012; ff : Pose-Juan et al., 2009; nun: Song et al., 2001; ooo: Breda et Barattè, 2010; pp: OECD, 1996; qg: Polo et Chow, 1976; rrr: Machatha et Yalkowsky, 2005; sss: Jen-Fon et al., 2002; tt: Huang et al., 2012;

Composé	Pureté (%)	Composé	Pureté (%)	Composé	Pureté (%)	Composé	Pureté (%)
Pesticides		Dicamba	≥98,5	Linuron	≥99,9	Tébutame	≥98
2-Nitrophénol	≥99	Diflufénican	≥98	Malathion	≥97,2	Terbuméton	≥99
2,4-D	≥99,8	Dichlorprop	≥99,4	Mécoprop	≥99,6	Terbuthylazine	≥98,8
2,4-MCPA	≥97	Diméthénamide	≥98	Mésotrione	≥99,9	Terbutryne	≥99,3
2,5-dichlorophénol	≥98	Diméthoate	≥99,6	Métazachlore	≥99,7	Tétraconazole	≥98,9
Acétochlore	≥99	Dinoterbe	≥99,9	Métolachlore	≥97,6	Triclopyr	≥99,9
Alachlore	≥99,2	Diquat	≥99,9	Métosulam	≥98,5		
Atrazine	≥98,8	Diuron	≥99,5	Nicosulfuron	≥99,5		
Azoxytrobine	≥98	Epoxyconazole	≥99	Oxadiazon	≥99,9		
Bentazone	≥99,7	Fenpropidine	≥96,5	Oxadixyl	≥99,9		
Boscalid	≥99	Fluroxypyr	≥98,5	Paraquat	≥99,9		
Bromoxynil	≥99,5	Fluthiamide	≥99,8	Parathion	≥99,7		
Carbaryl	≥99,8	Hexazinone	≥99,9	Pendiméthaline	≥98,5		
Carbofuran	≥99,1	Imazaméthabenz-méthyl	≥97	Prochloraze	≥99,5		
Chlorpyrifos	≥99,9	Ioxynil	≥99	Propachlore	≥99,8		
Chlortoluron	≥99,6	Isoproturon	≥99,9	Simazine	≥99,9		
Cyprodinil	≥99,9	Isoxaben	≥97,6	Sulcotrione	≥98,7		
Diazinon	≥98,3	Isoxaflutole	≥99,7	Tébuconazole	≥99		

Annexe 7 : Pureté des composés étudiés au cours de l'étude

Composé	Pureté (%)	Composé	Pureté (%)
НАР		Ibuprofène	≥99,9%
Acénaphtène	≥99,9	Méthyl paraben	≥99,9%
Fluorène	≥98	Sulfaméthoxazole	≥99,9%
Naphtalène	≥99,8	Trimethoprime	≥99,5%
РРСР		Ibuprofène	≥99,9%
1,7 α -éthinylestradiol	≥99,3	Méthyl paraben	≥99,9%
Acétaminophène	≥98	Sulfaméthoxazole	≥99,9%
Acide clofibrique	≥98	Trimethoprime	≥99,5%
Aténolol	≥98	Warfarin	≥99,9%
Cyclophosphamide	≥99	Autres	
Diatrizoate de sodium	≥98	4-Nonylphénol	≥99,9%
Caféine	≥99,6	4,4'-Diaminodiphénylméthane	≥97,5%
Carbamazépine	≥97	Benzylbutylphtalate	≥98,7%
Ciprofloxacine	≥99	Bisphénol A	≥99%
Diclofénac	≥99	DEHP	≥99,7%
Erythromycine	≥95,5	Dibutylphtalate	≥99,6%
Hydrochlorothiazide	≥99,7%	m-Toluidine	≥99,7%

Annexe 8 : Détermination des volumes minimaux d'élution sur le concentrateur

Des solutions de 100 µg/L de chacune des 5 molécules modèles (M1 : diclofénac, M2 : ibuprofène, M3 : caféine, M4 : carbamazépine, M5 : atrazine) sont percolées sur une cartouche Strata-SAX puis sur une cartouche Oasis-HLB.

La cartouche Strata-SAX est éluée avec l'éluant 1 (40/60 MeOH/NaCl 0,1M (V/V)) avec 12 fractions d'élutions successives de 500 $\mu L.$

La cartouche Oasis-HLB est éluée soit avec l'éluant 2 (30/70 ACN/EUP (V/V)) soit avec l'éluant 3 (70/30 ACN/EUP (V/V)) avec 12 fractions d'élutions successives de 500 μ L.

Les fractions collectées sont analysées par spectrophotométrie UV afin de déterminer quelles sont les fractions dans lesquelles l'une des 5 molécules modèle est éluée. Les bornes d'élution ont alors été affinées grâce à des volumes d'élution de plus en plus important jusqu'à déterminer le volume d'élution permettant une élution optimale de chacune des molécules. Le volume d'élution minimal de la cartouche Oasis-HLB a été dans un premier temps déterminé avec l'éluant 30/70 ACN/EUP (V/V) pour la molécule M3. Il a alors été vérifié que les molécules M4 et M5 n'étaient pas éluées dans cette fraction avant de procéder à leur élution avec l'éluant 70/30 ACN/EUP (V/V) (Figure A).



Figure A : Volume d'élution minimaux

Plusieurs fractions d'élutions sont récoltées :

- A1 et A2 pour la cartouche Strata-SAX : A1=1,1 mL ; A2= 4mL de l'éluant 40/60 MeOH/NaCl 0,1 M (V/V)
- E1 et E2 pour la cartouche Oasis-HLB de l'éluant 2 (30/70 ACN/EUP (V/V)) : E1=E2=1mL
- E3 et E4 pour la cartouche Oasis-HLB de l'éluant 3 (70/30 ACN/EUP (V/V)) : E3= 0,5 mL et E4= 2 mL

Annexe 9 : Du concentrateur à l'analyseur (schémas détaillés des séquences)

Cette annexe présente en détail les différentes étapes d'une séquence. L'intérêt est dans un premiers temps porté sur le concentrateur (conditionnement, percolation de l'échantillon, lavage et élution). Puis, les étapes de l'analyseur (conditionnement, percolation de l'échantillon, lavage et élution, acquisition de blancs et de spectres UV) sont détaillées et schématisées.

Concentrateur

Les changements de voies pour une séquence type, c'est-à-dire la percolation d'un échantillon à travers la cartouche Strata-SAX puis à travers la cartouche Oasis-HLB sont représentés dans les Figure A à Figure H. La récupération manuelle des élutions est effectuée en sortie du système.

La séquence complète (préconcentration et séparation des molécules) comporte 8 étapes principales.

Au démarrage, afin de sélectionner la cartouche Strata-SAX, la voie 1 des vannes V4 et V5 est placée en position 1.

Etape 1 : <u>Conditionnement de la cartouche Strata-SAX</u> : 6 mL d'ACN suivis de 10 mL d'EUP passent dans le circuit et percolent à travers la cartouche Strata-SAX à 5 mL/min en actionnant la voie 1 puis 2 de la vanne V3 et en plaçant la vanne V1 en position 1. L'ACN et l'EUP sont ensuite transférés dans le récipient des déchets en plaçant la vanne V2 en position 1 (Figure A).



Figure A : Schémas hydrauliques lors de l'étape 1 du concentrateur

Etape 2 : <u>Concentration de l'échantillon préalablement filtré sur la cartouche Strata-SAX</u> : un échantillon de 102 mL est percolé sur la cartouche Strata-SAX à 10 mL/min en actionnant la voie 3 de la vanne V3 et en plaçant la vanne V1 en position 1. L'échantillon est ensuite récupéré en sortie du système en plaçant la vanne V2 en position 2. L'échantillon est placé manuellement à la place de l'échantillon initial c'est-à-dire au niveau de la voie 3 de la vanne V3 (Figure B).



Figure B : Schéma hydraulique lors de l'étape 2 du concentrateur

Etape 3 : <u>Rinçage de la cartouche Strata-SAX</u> : la cartouche est lavée avec 20 mL d'EUP à 5 mL/min en plaçant les vannes V3 et V1 respectivement en position 2 et 1. L'eau de lavage est récupérée en sortie en plaçant la vanne V2 en position 2 (Figure C).



Figure C : Schéma hydraulique lors de l'étape 3 du concentrateur

Etape 4 : <u>Elution de la cartouche Strata-SAX</u> : la cartouche est éluée avec 1,1 mL puis avec 4 mL de l'éluant 1 (40/60 MeOH/NaCl 0,1 M (V/V)) à 1 mL/min en plaçant les vannes V3 et V1 respectivement en position 4 et 1. Les 2 élutions sont récupérées en sortie en plaçant la vanne V2 en position 2 (Figure D).



Figure D : Schéma hydraulique lors de l'étape 4 du concentrateur

Etape 5 : <u>Conditionnement de la cartouche Oasis-HLB</u> : désormais, les vannes V4 et V5 sont placées en position 2. 6 mL d'ACN suivis de 10 mL d'EUP circulent dans le circuit et percolent à travers la cartouche Oasis-HLB à 5 mL/min en actionnant la voie 1 puis 2 de la vanne V3 et en plaçant la vanne V1 en position 1. L'ACN et l'EUP sont ensuite transférés dans le récipient des déchets en plaçant la vanne V2 en position 1 (Figure E).</u>



Figure E : Schémas hydrauliques lors de l'étape 5 du concentrateur

Etape 6 : <u>Concentration de l'échantillon, après percolation sur la cartouche Strata-SAX,</u> <u>sur la cartouche Oasis-HLB</u> : 100 mL de cet échantillon sont percolés sur la cartouche Oasis-HLB à 10 mL/min en actionnant la voie 3 de la vanne V3 et en plaçant la vanne V1 en position 1. L'échantillon est ensuite récupéré en sortie du système en plaçant la vanne V2 en position 2 (Figure F).



Figure F: Schéma hydraulique lors de l'étape 6 du concentrateur

Etape 7 : <u>Rinçage de la cartouche Oasis-HLB</u> : la cartouche est lavée avec 20 mL d'EUP à 5 mL/min en plaçant les vannes V3 et V1 respectivement en position 2 et 1. L'eau de lavage est récupérée en sortie en plaçant la vanne V2 en position 2 (Figure G).



Figure G : Schéma hydraulique lors de l'étape 7 du concentrateur
Etape 8 : <u>Elution de la cartouche Oasis-HLB</u>. La cartouche est éluée avec 2*1 mL de l'éluant 2 (30/70 ACN/EUP (V/V)) puis avec 0,5 mL et 2 mL de l'éluant 3 (70/30 ACN/EUP (V/V)) à 1 mL/min en plaçant la vanne V1 en position 1 et la vanne V3 en position 5 puis en position 6. Les 4 élutions sont récupérées en sortie en plaçant la vanne V2 en position 2 (Figure H).



Figure H : Schémas hydrauliques lors de l'étape 8 du concentrateur

Analyseur

Avec l'analyseur, la procédure analytique est réalisée en 9 étapes principales. La procédure inclut des étapes d'acquisition de blancs et de spectres UV. L'ensemble de la procédure analytique est présenté de la Figure I à Figure R.

Elle consiste:

Etape 1 : <u>Acquisition du spectre de l'échantillon après filtration</u> : de l'EUP est prélevée
et est poussée vers la cuve de récupération 2
Ce volume d'EUP est alors transporté jusqu'à la cuve de mesure du spectrophotomètre UV à l'aide de la pompe péristaltique afin de réaliser le blanc. 2 mL d'échantillon sont prélevés

puis sont pompés jusque dans la cuve de mesure afin de réaliser un spectre UV de l'échantillon entre 200 et 400 nm (Figure I).

Acquisition du blanc avec EUP	
Acquisition du spectre de l'échantillon	

Figure I : Schémas hydrauliques lors de l'étape 1 de l'analyseur

Etape 2 : <u>Conditionnement de la cartouche Strata-SAX</u> : 6 mL d'ACN sont aspirés **Etape 2** : <u>Conditionnement de la cartouche Strata-SAX</u> : 6 mL d'ACN sont aspirés aspiré de la cuve de récupération 2 grâce à la pompe péristaltique vers le récipient des déchets solvant. Puis 10 mL d'EUP sont aspirés **Etape 2** et poussés à travers la cartouche puis sont aspirés de la cuve 2 vers le récipient des déchets solvant par la pompe péristaltique (Figure J).

Percolati	tion de 6 mL d'ACN à	à 5 mL/min		
Percolati	tion de 10 mL d'EUP	à 5 mL/min		

Figure J : Schémas hydrauliques lors de l'étape 2 de l'analyseur

Etape 3 : <u>Percolation de l'échantillon</u> : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
Etape 3 : <u>Percolation de l'échantillon</u> : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés
destination de l'échantillon : 10×10 mL puis 5 mL d'échantillon sont aspirés



Figure K : Schéma hydraulique lors de l'étape 3 de l'analyseur

Etape 4 : <u>Lavage de la cartouche Strata-SAX</u> : avec 2×10 mL d'EUP sont aspirés **Etape** puis injectés dans le système **etape**à 4 mL/min. L'eau est envoyée dans le récipient des déchets en activant la pompe péristaltique (Figure L).





Etape 5 : <u>Elution de la cartouche Strata-SAX</u> : avec 2 fractions de 1,1 et de 4 mL de l'éluant 1, mélange 40/60 MeOH/NaCl 0,1 M (V/V) prélevés **et poussés** à travers la cartouche **et poussés** à 1 mL/min.

Acquisition des spectres des élutions : réalisation d'un blanc avec l'éluant 1

puis après chaque élution, le volume récupéré dans la cuve est amené vers la cuve de mesure grâce la pompe péristaltique afin d'y réaliser un spectre (Figure M).

Acquisition du blanc avec 40/60 MeOH/NaCl 0,1 M (V/V)

Percolation de 1,1 et de 4 mL 40/60 MeOH/NaCl 0,1 M (V/V) à 1 mL/min	
Acquisition du spostro de l'élution	—

Figure M : Schémas hydrauliques lors de l'étape 5 de l'analyseur

Etape 6 : <u>Conditionnement de la cartouche Oasis-HLB :</u> 6 mL d'ACN sont aspirés **Etape** et poussés à travers la cartouche Oasis-HLB **Etape**. Le solvant est alors aspiré de la cuve de récupération 2 grâce à la pompe péristaltique. Puis 10 mL d'EUP sont aspirés **Etape** poussés à travers la cartouche puis sont aspirés de la cuve 2 vers le récipient des déchets par la pompe péristaltique (Figure N).

Percolation de 6 mL d'ACN à 5 mL/min	
Percolation de 10 mL d'EUP à 5 mL/min	

Figure N : Schémas hydrauliques lors de l'étape 6 de l'analyseur

Etape 7 : <u>Percolation de l'échantillon</u> : 10×10 mL d'échantillon sont aspirés
, percolés sur la cartouche Oasis-HLB
in the second de l'échantillon de l'échantillon sont aspirés dans le récipient des déchets aqueux (Figure O).



Figure O : Schéma hydraulique lors de l'étape 7 de l'analyseur

Etape 8 : Lavage de la cartouche Oasis-HLB : avec 2×10 mL d'EUP sont aspirés puis injectés dans le système au antimité à 4 mL/min. L'eau est envoyée dans le récipient des déchets aqueux (Figure P).



Figure P : Schéma hydraulique lors de l'étape 8 de l'analyseur

Etape 9 : <u>Elutions de la cartouche Oasis-HLB</u> :

<u>Eluant 2 : 2</u> élutions de 1 et 1,9 mL avec l'éluant 2, mélange 30/70 ACN/EUP (V/V) à 1 mL/min

Acquisition des spectres des élutions: le blanc est réalisé avec l'éluant 2

Puis après chaque élution, le volume récupéré dans la cuve est amené vers la cuve de mesure par l'activation de la pompe péristaltique afin de réaliser un spectre (Figure Q).

Acquisition du blanc avec 30/70 ACN/EUP (V/V)	
Percolation de 1 mL et de 1,9 mL 30/70 ACN/EUP (V/V) à 1 mL/min	
Acquisition du spectre des élutions	

Figure Q : Schémas hydrauliques lors de l'étape 9 avec l'éluant 30/70 ACN/EUP (V/V) de l'analyseur

<u>Eluant 3 : 2</u> élutions de 2,5 et 2 mL avec l'éluant 3, mélange 70/30 ACN/EUP (V/V) à 1 mL/min

Acquisition des spectres des élutions: Le blanc est réalisé avec l'éluant 3

Puis après chaque élution, le volume récupéré dans la cuve est amené vers la cuve de mesure par l'activation de la pompe péristaltique afin de réaliser un spectre (Figure R).

Acquisition du blanc avec 70/30 ACN/EUP (V/V)	
Percolation de 2.5 mL et de 2 mL 70/30 ACN/EUP (V/V) à 1 mL/min	
Acquisition du spectre des élutions	

Figure R: Schémas hydrauliques lors de l'étape 9 avec l'éluant 70/30 ACN/EUP (V/V) de l'analyseur

Annexe 10 : Séquences détaillées pour le pilotage du concentrateur et de l'analyseur

% Mesures	VA5 1	VA2 2	POM 11/0100	POM 1I	POM 1E	POM 1S0012
% Lampe P 0 0	POM 1S0012	VA4 1	POM 10	ETP WASH TUYAU	POM 1I	POM 1J
% Pompe UV P 0 1 % Pompe persée port 0	POM 1J POM 11/00016	VA5 1	POM 1H	VA3 3 VA1 1	Elution Oasis-	POM 100030 POM 10
2	POM 10	POM 1S0125	POM 1E	VA1 1 VA2 1	HLB ACN/ EUP	POM 10
% Vanne pesée P 0 3	POM 1H	POM 1J	POM 11	VA4 6	30/70	POM 1E
(OFF :rejet, ON:cuve)	POM 1E	POM 1U00500	Recuperation	VA5 6	30/70 2.4ml sortie	POM 1I
% POMPE PCM 1 0 % VANNE1 1 1	POM II	POM 10	Dáplacament	POM 180250	waste	Elution Oasis-
% VANNE2 12	Strate SAX	POM 1H	échantillon en	CHA 1U0025	VA3 5	HLB ACN/ EUP
% VANNE3 13	ETP WASH TUBE	POM 1E POM 11	entréee	POM 10	VA1 1 VA2 1	70/30 %ring3 ACN/EUR
% VANNE4 1 4	VA3 3	Flution Strata-	Conditionnement	POM 1H	VA2 1 VA4 6	70/30. 1ml. sortie cuve
% VANNES I 5 % POMPE CHI 1.6	VA1 1	SAX	Oasis-HLB	POM IE POM II	VA5 6	VA3 6
% Lampe UV P 2 6	VA2 1	%rinc2 MeOH/NaCl	%ETP CONDI HLB	%ETP CONC HLB	POM 180012	VA1 1
Conditionnement	VA4 0 VA5 6	1M 40/60, 2,4ml, sortie	VA1 2	VA3 3	POM 1J POM 11/0030	VA2 2 VA4 6
Strata-SAX	POM 180250	waste	VA2 2	VA1 1	POM 10	VA5 6
%ETP CONDI SAX	POM 11	VA34 VA11	VA3 1	VA2 2	POM 1H	POM 1S0025
% cond1 ACN, 6ml,	CHA 1U0250	VA2 1	VA4 2	VA4 2	POM 1E	POM 1J
VA1 2	POM 10	VA4 6	VA5 2	VA5 2	POM II %rinc3 ACN/EUP	POM 100025
VA2 2	POM 1H	VA5 6	POM @1	POM 1S0250	30/70. 1ml. sortie cuve	POM 1H
VA3 1	POM 1E	POM 130012	POM 1:0050	POM 1J	VA3 5	POM 1E
VA4 1	POM 11	POM 1U0030	POM 1L	CHA 1U2500	VA1 1	POM 1I
VA5 1	%ETF CONC SAX	POM 10	POM 1S0125	POM 10	VA2 2	ETP DRAWOFF
POM @1	VA3 3	POM 1H	POM 1J	POM 1H	VA4 0 VA5 6	70/30 ACN/EUP
POM 1)0050	VALL VA2 2	POM IE POM II	POM 1U0150	POM IE BOM II	POM 180025	VA3 6
POM 1+0040	VA4 1	%rinc3 MeOH/NaCl	POM 10	Rincage Oasis-	POM 1J	VA1 1
POMIL	VA51	1M 40/60, 1mlsortie	POM 1H	HLB	POM 100025	VA2 2
POM 180125	POM 1S0250	cuve	POM 1E	%rinc2 EUP, 2,4ml,	POM 10	VA4 0 VA5 6
POM IJ	POM 1J	VA34 VA11		sortie waste	POM 1E	POM 1S0050
POM 100150	CHA 1U2550	VA2 2	VA2.2	VA3 2	POM 1I	POM 1K
POM 10 POM 14	POM IO POM IH	VA4 6	VA12	VALL VA21	ETP DRAWOFF	POM 100005
POM 1E	POM 1E	VA5 6	VA22	VA4 6	30/70 ACN/EUP	POM 10 POM 1H
POM 1I	POM 1I	POM 180025	VA4 2	VA5 6	VA3 5	POM 1E
AA+	Rinçage Strata-	POM 1U0025	VA5 2	POM 1S0012	VA1 1	POM 11
%cond2	SAX	POM 10	POM 180125	POM 1J POM 1U0020	VA2 2	VA3 6
VA22	%rinc2	POM 1H	POM 1J	POM 100030	VA4 6 VA5 6	VALL VA2.1
VA52 VA12	EUP,2,4mlsortie waste	POM 1E POM 11	POM 11/0250	POM 1H	POM 180050	VA4 2
VAL2 VA22	VA1 1	ETP DRAWOFF	POM 10	POM 1E	POM 1K	VA5 2
VA4 1	VA2 1	AVANT ELUTION	POM 1H	POM II %ring3	POM 100005	POM 1S0012
VA5 1	VA4 6	40/60 MeOH/NaCl 1M	POM 1E	EUP. 1ml. sortie cuve	POM 10 POM 1H	POM 1J POM 1U00016
POM 180125	VA5 6 POM 150012	VA34	POM 1I	VA3 2	POM 1E	POM 10
POM 1J	POM 1J	VAL 2	Concentration	VA1 1	POM 11	POM 1H
POM 11/0250	POM 1U0030	VA4 6	Oasis-HLB	VA2 2	VA3 5	POM 1E
POM 10	POM 10	VA5 6	VA1 1	VA5 6	VALI VA21	FTP FLUTION 3 HLB
POM 1H	POM IE	POM 180050	VA2 1	POM 1S0025	VA4 2	VA36
POM 1E	POM 11	POM 1U0005	VA4 6	POM 1J	VA5 2	VALL
POM 1I	%rinc3 EUP, 1ml,	POM 10	VA5 6 POM 150012	POM 10025	POM 1S0012	VA2 2
%rinc2_EUP, 2,4mi, sortie waste	sortie cuve	POM 1H	POM 13	POM 10	POM 11 POM 11/00016	VA4 2
VA3 2	VA3 2 VA1 1	POM IE POM II	POM 1U0030	POM 1E	POM 10	VA5 2
VA1 1	VA2 2	%elut	POM 10	POM 1I	POM 1H	POM 1S0025
VA2 1	VA4 6	MeOH/NaCl 1M 40/60,	POM 1H POM 1E	ETP DRAWOFF	POM 1E	POM 1J
VA4 6 VA5 6	VA5 6	1,3ml, sortie	POM 11	%drawoff tuvau	ETP ELUTION 1 HLB	POM 1U0017
POM 1S0012	POM 150025	waste %fraction_waste	%rinc3	VA3 2	VA35	POM 10
POM 1J	POM 1U0025	VA3 4	EUP, 1ml, sortie cuve	VA1 1	VA11	POM 1H
POM 100030	POM 10	VA1 1	VA3 2	VA2 2 VA4 6	VA2 2	POM 1E
POM 1H	POM 1H	VA2 1	VA11 VA22	VA5 6	VA4 2	POM II %ETP
POM 1E	POM IE POM II	VA4 I VA5 I	VA4 6	POM 1S0050	VA5 2	Récunération
POM 1I	ETP DRAWOFF	POM 1S0012	VA5 6	POM 1K	POM 1S0030	manuelle
%rinc3 EUP, 1ml,	AVANT WASH	POM 1J	POM 180025	POM 100005	POM 1J	ELUTION 4 HLB
VA3 2	%drawoff tube	POM 1U00016	POM 1U0025	POM 1H	POM 1U0030	VA3 6
VA1 1	VA5 2 VA1 1	POM IO POM 1H	POM 10	POM 1E	POM 10	VA1 1
VA2 2	VA2 2	POM 1E	POM 1H	POM 1I	POM 1H	VA2 2
VA4 6	VA4 6	POM 11	POM 1E POM 1I	%elut EUP,1,3mlsortie	POM 1E	VA4 2
POM 180025	VA5 6	ETP ELUTION 1 SAX	%ETP DRAWOFF	%Fraction waste	POM II Décuménation	VA5 2
POM 1J	POM 180050	VA3 4	VA3 2	VA3 2	manualla	POM 1S0025
POM 1U0025	POM 1U0005	VA1 1	VA1 1	VA1 1	%ETP ELUTION 2	POM 1J
POM 10 POM 111	POM 10	VA2 2	VA2 2 VA4 6	VA2 1	HLB	POM 1U0050
POM 1F	POM 1H	VA4 1	VA5 6	VA5 2	VA3 5	POM 10
POM 11	POM IE POM II	VAST	POM 1S0050	POM 1S0012	VA1 1	POM 1H
%ETP DRAWOFF	%elut EUP,1,3mlsortie	POM 1S0025	POM 1K	POM 1J	VA2 2	POM IE POM II
VA3 2	waste	POM 1J	POM 100005	POM 1000016	VA4 2	Récupération
VALL VA2.2	%fraction waste	POM 1U0032	POM 10	POM 10 POM 1H	VA5 2	manuelle
VA4 6	VA5 2 VA1 1	POM IO POM IH	POM 1E	POM 1E	POM 180025	%ETP FIN
VA5 6	VA2 1	POM 1E	POM 11	POM 1I	POM 1J	VA3 2
POM 180050 POM 1K	VA4 1	POM 1I	weiut EUP,1,3misortie	%EIP WASH HLB EUP	POM 1U0025	VA12 VA22
POM 1U0005	VA5 1	Récupération	%Fraction waste	VA3 2	POM 10	VA4 2
POM 10	POM 150012 POM 1J	manuelle	VA3 2	VAJ 2 VAJ 1	POM 1H	VA5 2
POM 1H	POM 1U00016	%ETP ELUTION 2	VA11	VA2 2	POM IE POM 11	POM 1S0062
POM 1E POM 11	POM 10	SAX	VA2. 1 VA4 2	VA4 2	Récupération	POM 1J POM 1U0012
%elut	POM 1H POM 1E	VA54	VA5 2	VA5 2	manuelle	POM 10
EUP,1,3mlsortie waste	POM IE POM II	VALL VA2.2	POM 1S0012	POM 1S0125	%ETP WASH HLB	POM 1H
%fraction waste	%ETP WASH Sax	VA41	POM 1J	POM 1J	VA3 6	POM 1E
VA3 2	EUP	VA5 1	POM 1000016 POM 10	POM 1U00500	VA1 1 VA2 1	POM 11 #FIN
VA1 1 VA2 1	VA3 2	POM 150025	POM 1H	POM 10	VA2 I VA4 6	#F1IN
VA4 1	VA1 1	POM 11	POM 1E	POM 1H	VA5 6	
		I OIVI IJ				

Figure A: Séquence détaillée pour le pilotage du concentrateur (encadré vert : sélection des solvants et échantillons ; encadré rouge : sélection de cartouche ; encadré bleu : débit et volume)



Figure B: Séquence détaillée pour le pilotage de l'analyseur (encadré vert : sélection des solvants et échantillons ; encadré rouge : sélection de cartouche ; encadré bleu : débit et volume ; encadré noir : réalisation des blancs et acquisition des spectres