

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par **Coralie SOULIER**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : CHIMIE ANALYTIQUE ET ENVIRONNEMENT

**Présence et devenir des alkylphénols, de leurs dérivés et des
composés pharmaceutiques dans les effluents.**

Intérêt des échantillonneurs passifs

Directrice de recherche : Hélène Budzinski

Soutenue le : 27 novembre 2012

Devant la commission d'examen formée de :

Mme. GOMEZ, Eléna	Maître de conférences, Université Montpellier 1	Rapporteur
M. GAGNON, Christian	Chercheur, Centre Saint-Laurent, Montréal	Rapporteur
M. MAZZELIER, Patrick	Professeur, Université Bordeaux 4	Examineur
M. CHOUBERT, Jean-Marc	Ingénieur de recherche, IRSTEA Lyon	Examineur
Mme BUDZINSKI, Hélène	Directrice de recherche CNRS, Université Bordeaux 1	Directrice de thèse

A mon père,

Résumé

Le milieu aquatique est le réceptacle ultime de la pollution environnementale. De nombreux micropolluants y sont présents et montrent des effets toxiques envers les systèmes aquatiques (bioaccumulation dans les tissus, inhibition de la croissance, dysfonctionnement du système endocrinien, etc.). La Directive Cadre Eau (DCE), mise en place en octobre 2000, a comme objectif la restauration du bon état écologique et chimique des milieux aquatiques d'ici 2015. Pour cela, elle impose des Normes de Qualités Environnementales (NQE) faibles et une surveillance accrue des masses d'eau. Au-delà des micropolluants réglementés, certains dits « émergents » ont été détectés à de faibles concentrations (ng.L^{-1}) dans les systèmes aquatiques de par l'amélioration des techniques analytiques au cours de ces dernières années. Sous ce terme, sont regroupés les composés pharmaceutiques, certains pesticides, les hormones, etc. L'ensemble de ces micropolluants sont introduits dans l'environnement par plusieurs sources : dépôts atmosphériques, lessivage des sols, lixiviation et rejets industriels et/ou domestiques.

Ces travaux de thèse ont porté plus précisément sur les alkylphénols, présents sur la liste des contaminants prioritaires dangereux de la DCE, leurs dérivés éthoxylés, le bisphénol A et les composés pharmaceutiques. Dans un premier temps, une attention particulière a été portée à l'analyse de ces composés dans le but d'obtenir des limites de quantification faibles dans différentes matrices (phases dissoute et particulaire et boues issues de station d'épuration). Les méthodes analytiques de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse simple (LC-MS) et en tandem (LC-MS/MS) pour les alkylphénols ont été optimisées en améliorant les contrôles qualités et en portant une attention particulière à l'extraction des composés sensibles aux contaminations extérieures (manipulateur, ambiance, etc.). Pour pallier aux problèmes liés à la contamination des échantillons par ces composés lors de l'extraction, la microextraction sur phase solide (SPME) et une méthode d'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse simple (GC-MS) ont été développées. Dans un second temps, le devenir et le comportement des alkylphénols, de leurs dérivés éthoxylés et des composés pharmaceutiques dans les stations d'épuration (STEP), sources d'introduction dans les systèmes aquatiques avérées, ont été étudiés. Ces composés ont été analysés dans les phases dissoute et particulaire des eaux usées brutes et traitées (primaires, secondaires et tertiaires) ainsi que dans les boues. Cette étude a permis de mettre en évidence que les concentrations diminuent au cours des traitements dans les STEP pour tous les composés étudiés sauf pour l'acide alkylphénoxy acétique (NP1EC) qui est formé au cours des traitements secondaires ; la carbamazépine et dans une moindre mesure le diclofénac restent stables. Seuls les traitements tertiaires comme l'osmose inverse permettent une élimination significative de ces composés. La présence à plus de 50% des alkylphénols et de leurs dérivés éthoxylés dans la phase particulaire entraînent une adsorption non négligeable de ces composés dans les boues. Dans le but d'améliorer le suivi environnemental, les POCISTM standard (« Polar Organic chemical Integrative SamplersTM ») de configuration « pharmaceutiques » ont été développés lors d'expérimentations menées en laboratoire pour l'échantillonnage des alkylphénols, de leurs dérivés éthoxylés, du bisphénol A et des composés pharmaceutiques. Les alkylphénols et leurs dérivés éthoxylés sont accumulés avec un temps de latence dans les POCISTM standard montrant l'influence de la membrane sur le transfert de masse de ces composés. Les POCISTM standards ont été optimisés en changeant la

nature des membranes pour l'échantillonnage des alkylphénols et de leurs dérivés éthoxylés. Ces nouveaux outils sont nommés POCISTM-like. Les membranes en polyéthersulfone (PES) de porosité 0,1 µm des POCISTM standards ont été remplacées par des membranes en PES de porosité 0,45 µm, en polyéthylène basse densité (avec des cavités de 10 Å), en nylon de porosités 0,1, 1,1, 10 et 30 µm. Les POCISTM-Nylon 0,1 µm et 30 µm sont les POCISTM-like montrant un fort pouvoir concentrateur des alkylphénols, de leurs dérivés éthoxylés et du Bisphénol A (BPA) tout en éliminant le temps de latence observé dans leur accumulation dans les POCISTM standards. Ces POCISTM-like ont par la suite été validés en mésocosmes puis dans le milieu naturel afin de mettre en évidence leur caractère intégratif, permettant ainsi de s'affranchir de l'effet matriciel et de détecter certains composés à des concentrations inférieures aux limites de quantification.

Mots clés : alkylphénols, bisphénol A, composés pharmaceutiques, stations d'épuration, échantillonnage passif, POCISTM

Abstract

The aquatic environment is the ultimate receptacle of environmental pollution. Many micro-pollutants are present and show toxic effects to aquatic systems (bioaccumulation in tissues, inhibition of growth, endocrine dysfunction, etc.). The Water Framework Directive (WFD), adopted by European Union in October 2000, aims to restore the good ecological and chemical quality of aquatic environments by 2015. For this, it imposes low Environmental quality standards (EQS) and increased monitoring of water bodies. Beyond regulated micro-pollutants, some "emerging" have been detected at low concentrations (ng L^{-1}) in aquatic systems by the use of improved analytical techniques. Under this term are grouped pharmaceutical compounds, some pesticides, hormones, etc. All of these micro-pollutants are introduced into the environment through several sources: atmospheric deposition, soil leaching and industrial or domestic discharges.

This work is specifically focused on alkylphenols, present on the list of priority hazardous compounds in the WFD, their ethoxylated derivatives, bisphenol A and pharmaceutical compounds. As a first step, particular attention was paid to the analysis of these compounds in order to obtain low limits of quantification in different matrices (dissolved and particulate phases and sludges from WWTPs). Analytical methods of liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC / MS) and tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for alkylphenols were optimized by improving quality controls and paying attention to the extraction of sensitive compounds toward contamination (manipulator, atmosphere, etc.). To overcome the problems associated with sample contamination by these compounds during the extraction, solid phase microextraction (SPME) and a method of analysis by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) was developed. In a second step, the fate and behavior of alkylphenols, their ethoxylated derivatives and pharmaceutical compounds in sewage treatment plants (WWTPs), sources of introduction into aquatic systems proved, were studied. These compounds were analyzed in the dissolved and particulate phases of raw and treated wastewater (primary, secondary and tertiary) and in sludges. This study has allowed showing the decrease of concentrations during treatment in WWTPs for all compounds studied except for alkylphenoxy acetic acid (NP1EC) which is formed during secondary treatment, carbamazepine, and to a lesser extent diclofenac remain stable. Only tertiary treatments such as reverse osmosis allow significant removal of these compounds. The presence of more than 50% of alkylphenols and ethoxylated derivatives in the particulate phase lead to significant adsorption of these compounds in the sludge. In order to improve environmental monitoring, during experiments conducted in the laboratory POCISTM standard (Polar Organic Chemical Integrative Samplers), "pharmaceuticals" configuration, have been developed for sampling alkylphenols, their ethoxylated derivatives, bisphenol A and pharmaceutical compounds. Alkylphenols and their ethoxylated derivatives are accumulated with a lag phase in standard POCISTM showing the influence of the membrane on the mass transfer of these compounds. The standard POCISTM were optimized by changing the nature of the membranes for sampling alkylphenols and their ethoxylated derivatives. These new tools are named POCISTM-like. Membranes polyethersulfone (PES) of porosity 0.1 μm have been replaced by PES membranes porosity of 0.45 microns, low density polyethylene (with cavities of 10 Å), nylon porosities 0.1, 1.1, 10 and 30 μm . The POCISTM-Nylon 0.1 μm and 30 μm are POCISTM-like showing a strong power concentrator for alkylphénols, their

ethoxylated derivatives and BPA while eliminating the lag phase observed in standard POCISTM. These POCISTM-like were subsequently validated in mesocosms and in the environment in order to highlight their integrative nature, allowing to overcome the matrix effect and to detect some compounds at concentrations below the limits of quantification.

Keyword: alkyphenols, bisphenol A, pharmaceutical substances, waste water treatment plant, passive sampling, POCISTM

REMERCIEMENTS

Comment exprimer toute ma gratitude aux personnes qui ont contribué à la réalisation de ces travaux, ceux qui les ont lu et / ou évalué, sans oublier ceux qui m'ont soutenue. Je vais m'efforcer de citer-sans oublier- tous ceux qui m'ont apporté leur aide et leur soutien.

Je remercie madame Gomez, maître de conférences à l'université de Montpellier 1, et monsieur Gagnon, chercheur au centre Saint-Laurent (Montréal), de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer mon travail en tant que rapporteurs ainsi que pour leurs conseils et remarques avisés sur ce manuscrit. Je souhaite également exprimer ma reconnaissance à monsieur Choubert, ingénieur de recherche à IRSTEA, et monsieur Mazzelier, professeur à l'université Bordeaux 1 pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Un grand merci pour l'intérêt que vous avez porté à mes travaux et pour les échanges que nous avons pu avoir lors de ma soutenance.

Toute cette aventure et ce travail n'auraient pas vu le jour sans toi, Hélène. Je te suis sincèrement reconnaissante de m'avoir accueillie au sein du LPTC pour diriger ces travaux de thèse et bien plus ! Merci de m'avoir accordée ta confiance comme tu l'as fait tout au long de ces années. Mille mercis pour tes précieux conseils, ton œil critique, ton professionnalisme, ton investissement, et aussi pour les moments de convivialités que nous avons partagés, pour les opportunités de rencontres, de déplacements, etc. Je te remercie de m'avoir soutenue dans les moments difficiles auxquels j'ai été confrontés. J'ai énormément appris à tes côtés tant scientifiquement qu'humainement. Deux phrases que tu m'as souvent répétées me resteront à jamais gravées en mémoire et je pense me serviront dans le futur : « la communication est un art difficile » et « fais les choses dans les règles de l'art » (bien que tu m'ais plus souvent répété la première !!).

Merci beaucoup aux membres du LPTC pour leur soutien (clusters ATMO, TOX, AQUA) et particulièrement ceux du cluster AQUA qui ont contribué à ces travaux.

Tout d'abord, je vous suis reconnaissante Sylvie et Patrick pour votre patience et votre disponibilité face aux caprices du LC-MS ou encore de l'UPLC. Comme vous l'avez souvent dit, dès que je touche une machine il y a un problème !! Il s'avère que c'est vrai ! Ceci n'étant pas -ou presque pas- lié à mon savoir-faire mais plutôt à la classe de composés que j'analysais...Merci à vous deux ainsi qu'à Thomas d'avoir partagé la saga des alkylphénols avec moi...Ils nous auront fait suer : plus de signal, perte de sensibilité, contamination des blancs, et j'en passe ! Mais au final comme le dit Hélène, lorsqu'on sait analyser ces petits capricieux, on peut tout analyser. Et individuellement, merci Sylvie pour ton aide, ta bonne humeur, tes attentions et tes bougonneries quotidiennes ; merci Patrick pour ton savoir-faire, tes conseils, ton aide, ta bonne humeur et ton soutien ; et toi Thomas, merci pour ta simplicité, ton soutien, ton aide quotidienne et pour tout ce que tu es, je te souhaite pleins de bonnes choses pour la suite.

Merci infiniment à Karyn, pour l'apprentissage à la GC-MS et à la SPME et bien plus que dompter les caprices du passeur ! Merci pour tes conseils, ta réactivité, ta patience, ta disponibilité et un grand merci pour l'aide apportée sur le projet EMESTOX. C'est un plaisir et un enrichissement de travailler à tes côtés.

Toute ma gratitude à la team POCIS ; Sophie pour m'avoir encadrée au cours de mon stage de master 2 et m'avoir appris tout ce que tu savais sur les alkylphénols et les POCIS.

Malgré les années tu es restée présente pour me soutenir dans les mauvais comme dans les bons moments, et ça me touche beaucoup ! Cette team ne serait pas ce qu'elle est sans Ninette, Nathalie T. et Angel que je remercie vivement pour leur aide, conseils, et savoir-faire. Pensées amicales et reconnaissantes pour Ninette, tu as été d'un grand soutien tant professionnel que personnel et je te remercie pour tous ces bons moments partagés. Il est évident que tout n'était pas facile pour toi en arrivant en France mais je te tire mon chapeau car tu t'en es très bien sortie !

Merci beaucoup à Laurent, Marie-Hélène, Pierre L., Pierre V.D., Manu, Rami, Perrine, Julie, Hugues, Yann, Justine, Hoï, Nathalie D., Baptiste, Caro M., Mohamed, les miss Labex, Nadia...pour le quotidien au labo, leur soutien et aide. Et navrée d'avoir connu certains d'entre vous un peu tard !

Je n'aurai pas pu faire aboutir ce travail sans la présence des partenaires du projet AMPERES, et plus particulièrement Marina Coquery, Jean-Marc Choubert, Cécile Miège, Romain Jacquet, Virginie Gabet, Samuel Martin-Ruel, Mar Esperanza et Auguste Bruchet, et EMESTOX, et notamment Catherine Gourlay, Emmanuelle Uher, Matthieu Combe, Cécile Mirande, Catherine Lorgeoux, Gilles Varrault, Chantal Compere, Florence Mazéas, Claire Bertrand, Salomé Ansanay-Alex, Nicolas Marmier, Claire Lomenech, Charlotte Hurel, Kévin Cailleaud, Nicolas Lesage et Anne Bassere. Mille mercis à Marina et Jean Marc pour leur aide et leurs précieux conseils et à toute l'équipe des Rivières Pilotes.

Au cours de ces quatre années j'ai eu la chance de croiser le chemin de personnes aux caractères divers et variés mais avec lesquelles j'ai partagé de très bons moments et pour ça, un grand merci à Alexia, Fred, Chloé, le grand Matthieu et Caroline du 4^{ème},.... De belles amitiés sont nées et j'espère qu'elles perdureront et je tiens à vous témoigner, Marion-Justine, Amélie, Matthieu, Nico, Caro, Iris, Maylis et Salomé, ma plus grande reconnaissance ; le mot « merci » n'est pas assez fort pour être à la hauteur de ce que vous m'avez apporté. Amélie, Matthieu et Maylis, vous avez été mes piliers au sein du labo et d'un soutien inconditionnel !

Pour finir, merci infiniment à Thibault, Marion, Marie-Hélène, Adeline, Erika et Judith d'avoir été compréhensifs, de m'avoir fait confiance et de m'avoir apporté votre soutien. Un remerciement tout particulier à Nadège et Thomas. Je voudrais terminer en remerciant avec chaleur mes tantes et oncles (Christine V. Irène, Jojo, Jacquo Christine S. et Jean-Claude), mes grands-parents, mes cousins / cousines (Nanou, Sacha, Cyril, Pascale, Jorge et mes amours), Joëlle ainsi que mon père, ma mère, mon frère David et Alison qui n'ont cessé de me soutenir avec conviction et amour depuis le début de cette aventure.

Merci à ceux que j'aurai pu oublier et qui ont été de près ou de loin mêlés à cette aventure.

SOMMAIRE

RÉSUMÉ	3
ABSTRACT	7
SOMMAIRE	13
LISTE DES FIGURES	23
LISTE DES TABLEAUX	29
LISTE DES ABRÉVIATIONS, ACCRONYMES ET SYMBOLES	33
INTRODUCTION GÉNÉRALE	37
CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	43
I. LA POLLUTION DES SYSTÈMES AQUATIQUES	45
I.1 PRÉSENCE DANS LE MILIEU.....	45
I.1.1 <i>Bilan de la contamination dans les systèmes aquatiques</i>	45
I.1.2 <i>Bilan au niveau national</i>	47
I.1.3 <i>Réglementation</i>	48
I.1.4 <i>Composés émergents</i>	50
I.2 SOURCES DE CONTAMINATION	50
I.2.1 <i>Effluents industriels</i>	52
I.2.2 <i>Effluents de STEP</i>	53
I.3 CHOIX DES COMPOSÉS	55
II. COMPOSÉS ÉTUDIÉS	55
II.1 LES ALKYLPHÉNOLS POLYÉTHOXYLÉS (APEO)	55
II.1.1 <i>Généralités</i>	55
II.1.2 <i>Utilisation des APEO</i>	56
II.1.3 <i>Propriétés des APEO</i>	57
II.1.4 <i>Devenir des APEO dans l'environnement</i>	59
II.1.5 <i>Toxicité et perturbation endocrinienne</i>	61
II.1.6 <i>APEO et réglementations</i>	62
II.2 LE BISPHÉNOL A (BPA).....	62
II.2.1 <i>Généralités</i>	62
II.2.2 <i>Utilisation du BPA</i>	63
II.2.3 <i>Propriétés du BPA</i>	63
II.2.4 <i>Devenir du BPA dans l'environnement</i>	64
II.2.5 <i>Toxicité et perturbation endocrinienne</i>	65
II.2.6 <i>BPA et réglementations</i>	66
II.3 LES COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES	66
II.3.1 <i>Classification des composés pharmaceutiques</i>	66
II.3.2 <i>Consommation de composés pharmaceutiques</i>	66
II.3.3 <i>Présence des composés pharmaceutiques dans l'environnement</i>	68
II.3.4 <i>Toxicité et perturbation endocrinienne</i>	74
II.3.5 <i>Priorisation des composés pharmaceutiques</i>	75

III. PHASE DISSOUTE : POINTS CLÉS ET ÉCHANTILLONNAGE.....	75
III.1 CARACTÉRISTIQUES DE LA PHASE DISSOUTE	75
III.2 PRÉLÈVEMENTS.....	76
IV. LES ÉCHANTILLONNEURS PASSIFS.....	77
IV.1 GÉNÉRALITÉS.....	77
IV.2 PRINCIPE	78
IV.3 THÉORIE.....	79
IV.4 ECHANTILLONNEURS EXPLOITÉS DANS LE DOMAINE DE LA LINÉARITÉ.....	80
IV.4.1 <i>Echantillonneurs exploités à l'équilibre</i>	81
IV.4.2 <i>Facteurs ayant un impact sur l'échantillonnage passif</i>	81
IV.5 UTILISATION DE COMPOSÉS DE RÉFÉRENCE DE PERFORMANCE (PRC : PERFORMANCE REFERENCE COMPOUNDS).....	82
IV.6 QUELQUES EXEMPLES D'ÉCHANTILLONNEURS PASSIFS COURAMMENT UTILISÉS	83
IV.7 POCIS TM	86
IV.7.1 <i>Théorie</i>	86
IV.7.2 <i>Taux d'échantillonnage et influence des paramètres physico-chimiques et environnementaux</i>	87
IV.7.3 <i>Utilisation des PRC</i>	97
IV.7.4 <i>Application dans les systèmes aquatiques</i>	97
IV.7.5 <i>Application dans les effluents</i>	98
IV.7.6 <i>Couplage POCISTM-tests de toxicité</i>	99
IV.7.7 <i>Perspectives et pistes d'amélioration</i>	99
V. OBJECTIFS DE LA THÈSE	100
CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES	103
I. PRÉSENTATION DES PROJETS D'ÉTUDE.....	105
I.1 LE PROJET AMPERES	105
I.2 LE PROJET EMESTOX.....	105
II. SITES D'ÉCHANTILLONNAGE.....	106
II.1 STATION D'ÉPURATION (STEP).....	106
II.2 COLLECTE ET CONDITIONNEMENT DES ÉCHANTILLONS DANS LES STEP	108
II.2.1 <i>Filière eau</i>	109
II.2.2 <i>Filière boue</i>	111
III. DÉVELOPPEMENTS DES ÉCHANTILLONNEURS PASSIFS.....	111
III.1 MONTAGE DES POCIS TM	111
III.2 EXPÉRIMENTATIONS EN LABORATOIRE.....	111
III.2.1 <i>Contamination avec dopage journalier</i>	111
III.2.2 <i>Contamination en flux continu</i>	113
III.3 EXPÉRIMENTATIONS EN RIVIÈRES ARTIFICIELLES	118
III.3.1 <i>Injection de composés</i>	119
III.3.2 <i>Validation des échantillonneurs passifs en rivières artificielles</i>	119
III.4 EXPÉRIMENTATION SUR LE TERRAIN	122

IV. MÉTHODES ANALYTIQUES	123
IV.1 MATÉRIEL ET CONSOMMABLES	123
IV.2 ASSURANCE QUALITÉ	123
IV.2.1 <i>Traitement des échantillons</i>	123
IV.2.2 <i>Points clés de l'analyse</i>	124
IV.3 ANALYSE DES ALKYLPHÉNOLS POLYÉTHOXYLÉS ET DU BISPHÉNOL A	126
IV.3.1 <i>Composés sélectionnés</i>	126
IV.3.2 <i>Extraction de la phase dissoute (Lardy-Fontan 2008)</i>	127
IV.3.3 <i>Extraction de la phase solide (Lardy-Fontan 2008)</i>	128
IV.3.4 <i>Analyse</i>	129
IV.4 ANALYSE DES COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES	134
IV.4.1 <i>Composés sélectionnés</i>	134
IV.4.2 <i>Extraction de la phase dissoute (Lardy-Fontan 2008)</i>	136
IV.4.3 <i>Extraction de la phase solide (Togola 2006; Lardy-Fontan 2008)</i>	137
IV.4.4 <i>Analyse par LC-MS/MS</i>	137
IV.5 EXTRACTION DES POCIS TM	138
IV.5.1 <i>Extraction de la phase POCISTM</i>	138
IV.5.2 <i>Extraction des membranes</i>	139
IV.6 EXPLOITATION DES DONNÉES ISSUES DES STEP	140
IV.6.1 <i>Calcul de la fraction dissoute / particulaire</i>	140
IV.6.2 <i>Calcul des rendements d'élimination</i>	140
CHAPITRE 3 : PRÉSENCE ET DEVENIR DES ALKYLPHÉNOLS, LEURS DÉRIVÉS ET DES COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES DANS LES STATIONS D'ÉPURATION.....	143
PUBLICATION 1 : PRÉSENCE ET DEVENIR DES MICROPOLLUANTS ORGANIQUES DANS LES STATIONS D'ÉPURATIONS FRANÇAISES- PARTIE I : LES ALKYLPHÉNOLS ET LEURS DÉRIVÉS.....	145
I. INTRODUCTION.....	149
II. MATERIAL AND METHODS.....	151
II.1 CHEMICALS AND MATERIALS	151
II.2 STUDIED PROCESSES	152
II.3 SAMPLE COLLECTION	152
II.3.1 <i>Liquid phase</i>	152
II.3.2 <i>Sludges</i>	153
II.4 ANALYTICAL TREATMENT	156
II.4.1 <i>Extraction of APs, APEOs and NP1EC in dissolved phase</i>	156
II.4.2 <i>Extraction of APs, APEOs and NP1EC in solid phase</i>	156
II.4.3 <i>LC-MS/MS analysis method</i>	156
II.4.4 <i>Assurance and quality control</i>	157
II.5 DATA TREATMENT.....	158
II.5.1 <i>Partitioning (proportion in dissolved fraction)</i>	158
II.5.2 <i>Variability</i>	158
II.5.3 <i>Removal rates</i>	158

III. RESULTS AND DISCUSSION.....	159
III.1 METHOD PERFORMANCE	159
III.1.1 <i>Blanks and recoveries of APs, APEOs and NP1EC for extraction in solid and dissolved phases</i>	159
III.1.2 <i>Repeatability and reproducibility</i>	160
III.2 FIELD TESTS: BLANKS AND RECOVERIES	160
III.3 APs, APEOS AND NP1EC IN WATER: OCCURRENCE, VARIABILITY, PARTITIONING, 161	
III.3.1 <i>Partition of APs, APEOs and NP1EC between dissolved and solid phases of liquid samples</i>	161
III.3.2 <i>Occurrence in influents and effluents</i>	163
III.3.3 <i>Variability of concentrations</i>	167
III.4 REMOVAL OF APs, APEOS AND NP1EC BY WWTPs.....	169
III.4.1 <i>Primary treatments</i>	169
III.4.2 <i>Secondary treatments</i>	170
III.4.3 <i>Tertiary treatment</i>	173
III.5 OCCURRENCE OF APs, APEOS AND NP1EC IN SLUDGES.....	174
IV. CONCLUSIONS.....	176
PUBLICATION 2 : ZOOM SUR LES SUBSTANCES PHARMACEUTIQUES : PRÉSENCE, PARTITION, DEVENIR EN STATION D'ÉPURATION.....	181
I. INTRODUCTION.....	184
II. QUELQUES DÉFINITIONS	184
III. MATÉRIELS ET MÉTHODES	185
III.1 SUBSTANCES ÉTUDIÉES	185
III.2 EXTRACTION/ANALYSE.....	186
III.3 SITES D'ÉCHANTILLONNAGE ET COLLECTE DES ÉCHANTILLONS	187
III.4 CALCUL DES RENDEMENTS D'ÉLIMINATION	188
IV. RÉSULTATS ET DISCUSSION	188
IV.1 FRÉQUENCE DE QUANTIFICATION DANS LES EAUX USÉES BRUTES ET TRAITÉES	188
IV.2 CONCENTRATIONS DANS LES EAUX BRUTES ET TRAITÉES	189
IV.3 VARIABILITÉ INTER-JOURNALIÈRE SUR UNE MÊME STEP.....	191
IV.4 VARIABILITÉ INTER-STEP	192
IV.5 DIFFÉRENCES ENTRE STEP DES ZONES URBAINES ET RURALES	192
IV.6 PARTITION DISSOUS/PARTICULAIRE.....	193
IV.7 CONCENTRATION DANS LES BOUES	194
IV.8 RENDEMENT D'ÉLIMINATION	195
IV.8.1 <i>Traitements primaires</i>	195
IV.8.2 <i>Traitement secondaire : cas des boues activées aération prolongée</i>	195
M.....	196
IV.8.3 <i>Traitements tertiaires</i>	197
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	198

PUBLICATION 3 : PRÉSENCE ET DEVENIR DES COMPOSÉS ORGANIQUES DANS LES STATIONS D'ÉPURATION FRANÇAISES- PARTIE II : LES COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES	203
I. INTRODUCTION.....	208
II. MATERIAL AND METHODS.....	209
II.1 CHEMICALS AND MATERIALS	209
II.2 PROCESS STUDIED	212
II.3 SAMPLE COLLECTION	212
II.4 ANALYTICAL TREATMENT	212
II.4.1 <i>Extraction of PhACs in dissolved phase</i>	212
II.4.2 <i>Extraction of PhACs in solid phase</i>	212
II.4.3 <i>LC-MS/MS analysis method</i>	213
II.4.4 <i>Assurance and quality control</i>	213
II.5 DATA TREATMENT.....	214
III. RESULTS AND DISCUSSION.....	214
III.1 METHOD PERFORMANCE	214
III.1.1 <i>Recoveries of PhACs for extraction in solid and dissolved phases</i>	214
III.1.2 <i>Accuracy, validity and precision of method</i>	214
III.1.3 <i>Repeatability and reproducibility</i>	215
III.2 FIELD TESTS: BLANKS AND RECOVERIES	216
III.3 PHACs IN WATER: OCCURRENCE, VARIABILITY AND PARTITIONING.....	216
III.3.1 <i>Occurrence in raw wastewater</i>	217
III.3.2 <i>Occurrence in primary treated wastewater</i>	219
III.3.3 <i>Occurrence in secondary treated wastewater</i>	219
III.3.4 <i>Occurrence in tertiary treated wastewater</i>	220
III.3.5 <i>Variability of concentrations</i>	221
III.4 PARTITION BETWEEN DISSOLVED AND SOLID PHASES	222
III.5 REMOVAL OF PHACs BY WWTP	224
III.5.1 <i>Primary treatments</i>	224
III.5.2 <i>Secondary treatments</i>	225
III.5.3 <i>Tertiary treatment</i>	231
III.6 OCCURRENCE OF PHACs IN SLUDGES	235
IV. CONCLUSIONS.....	236
SYNTHÈSE SUR LA PRÉSENCE ET LE DEVENIR DES ALKYLPHÉNOLS ET DES COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES DANS LES STATIONS D'ÉPURATION	241
I. PARTITION ENTRE LES PHASES DISSOUTES ET PARTICULAIRES	242
II. FRÉQUENCE DE QUANTIFICATION ET OCCURRENCE DANS LES EAUX USÉES BRUTES	243
III. FRÉQUENCE DE QUANTIFICATION ET OCCURRENCE DANS LES EAUX TRAITÉES PRIMAIRES.....	245
IV. FRÉQUENCE DE QUANTIFICATION ET OCCURRENCE DANS LES EAUX TRAITÉES SECONDAIRES.....	246

V. FRÉQUENCE DE QUANTIFICATION ET OCCURRENCE DANS LES EAUX TRAITÉES TERTIAIRES	248
V.1 PROCÉDÉS TERTIAIRES D’AFFINAGE	248
V.2 PROCÉDÉS TERTIAIRES AVANCÉS.....	249
VI. EFFICACITÉ D’ÉLIMINATION DES TRAITEMENTS PRIMAIRES, SECONDAIRES ET TERTIAIRES	250
VI.1 TRAITEMENTS PRIMAIRES.....	251
VI.2 TRAITEMENTS SECONDAIRES.....	253
VI.2.1 <i>Efficacité des traitements à boues activées</i>	253
VI.2.2 <i>Efficacité du procédé bioréacteur à membranes (BRM)</i>	255
VI.2.3 <i>Efficacité des traitements à cultures fixées</i>	256
VI.3 TRAITEMENTS TERTIAIRES	257
VI.3.1 <i>Efficacité des traitements tertiaires d’affinage</i>	257
VI.3.2 <i>Efficacité des traitements tertiaires avancés</i>	259
VII. PRÉSENCE DANS LES BOUES	260
CHAPITRE 4 : DÉVELOPPEMENT DES ÉCHANTILLONNEURS PASSIFS	263
PUBLICATION 4 : CALIBRATION ET VALIDATION <i>IN SITU</i> DES POCISTM POUR L’ÉCHANTILLONNAGE DES COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES ET DES ALKYLPHÉNOLS DANS UNE RIVIÈRE FRANÇAISE	265
I. INTRODUCTION	270
II. THEORY AND MODELING (GREENWOOD ET AL., 2007)	270
III. MATERIAL AND METHODS	271
III.1 CHEMICALS AND MATERIALS	271
III.2 RECOVERIES OF SELECTED COMPOUNDS FROM POCIS TM	272
III.3 ANALYTICAL TREATMENT	272
III.3.1 <i>Extraction of selected compounds from POCISTM</i>	272
III.3.2 <i>Extraction of dissolved phase</i>	274
III.3.3 <i>Analysis</i>	275
III.3.4 <i>Assurance and quality control</i>	275
III.4 LABORATORY EXPERIMENTS	276
III.5 FIELD EXPERIMENTS	276
IV. RESULTS AND DISCUSSION	277
IV.1 LABORATORY DETERMINATION OF KINETIC PARAMETERS.....	277
IV.2 PARTITION OF COMPOUNDS BETWEEN MEMBRANE AND PHASE.....	282
IV.3 FIELD DEPLOYMENT	282
IV.3.1 <i>Site contamination</i>	282
IV.3.2 <i>Determination of TWA concentration</i>	283
V. CONCLUSION	285
PUBLICATION 5 : DÉVELOPPEMENT D’ÉCHANTILLONNEURS PASSIFS POUR L’EXTRACTION ET L’ÉCHANTILLONNAGE DES ALKYLPHÉNOLS, LEURS DÉRIVÉS ET DU BISPHÉNOL A	291

I. INTRODUCTION.....	296
II. MATERIAL AND METHODS.....	296
II.1 CHEMICALS AND MATERIALS	296
II.2 EXPERIMENTAL SYSTEM.....	299
II.3 ANALYTICAL TREATMENT.....	301
II.3.1 <i>Extraction of APs, APEOs, NP1EC and BPA in dissolved phase.....</i>	<i>301</i>
II.3.2 <i>Extraction of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent of POCISTM.....</i>	<i>301</i>
II.3.3 <i>Extraction of APs, APEOs, NP1EC and BPA in membrane of POCISTM.....</i>	<i>301</i>
II.3.4 <i>LC-MS/MS analysis method.....</i>	<i>301</i>
II.3.5 <i>Quality and assurance control.....</i>	<i>302</i>
II.4 THEORY.....	303
III. RESULTS AND DISCUSSION.....	304
III.1 POCIS TM WITH PES MEMBRANES	304
III.1.1 <i>Standard POCISTM.....</i>	<i>306</i>
III.1.2 <i>POCISTM-PES 0.45 μm.....</i>	<i>309</i>
III.1.3 <i>Influence of pore size of PES membranes.....</i>	<i>312</i>
III.2 POCIS TM WITH LDPE MEMBRANES.....	312
III.2.1 <i>Uptake kinetics.....</i>	<i>312</i>
III.2.2 <i>Accumulation in LDPE membranes.....</i>	<i>313</i>
III.2.3 <i>Sampling rates.....</i>	<i>314</i>
III.3 POCIS TM WITH NYLON MEMBRANES	314
III.3.1 <i>POCISTM-Nylon 0.1 μm.....</i>	<i>314</i>
III.3.2 <i>POCISTM-Nylon 1.2 μm.....</i>	<i>316</i>
III.3.3 <i>POCISTM-Nylon 10 μm.....</i>	<i>318</i>
III.3.4 <i>POCISTM-Nylon 30 μm.....</i>	<i>319</i>
III.3.5 <i>Accumulation in Nylon membranes.....</i>	<i>320</i>
III.3.6 <i>Influence of nylon membranes pore size.....</i>	<i>320</i>
III.4 COMPARISON OF TESTED POCIS TM VERSION.....	321
IV. CONCLUSIONS.....	322
SYNTHÈSE SUR LE DÉVELOPPEMENT DE NOUVELLES TECHNIQUES	
D'EXTRACTION / ÉCHANTILLONNAGE.....	327
I. DÉVELOPPEMENT SPME-GC/MS POUR L'ANALYSE DES ALKYLPHÉNOLS	
329	
I.1 CHOIX DE LA NATURE DE LA FIBRE D'EXTRACTION	329
I.2 PARAMÈTRES D'EXTRACTION.....	329
I.3 BLANCS FIBRES ET BLANCS EAU	329
I.4 TAUX DE QUANTIFICATION.....	331
I.5 LIMITES DE DÉTECTION ET DE QUANTIFICATION	332
I.6 COMPARAISON ENTRE SPE ET SPME.....	332
II. DÉVELOPPEMENT DE L'ÉCHANTILLONNAGE PASSIF POUR LES	
ALKYLPHÉNOLS, LEURS DÉRIVÉS, LE BISPHÉNOL A ET LES COMPOSÉS	
PHARMACEUTIQUES	333

II.1 DÉTERMINATION DES CINÉTIQUES D'ACCUMULATION DANS LES POCIS™ STANDARDS EN LABORATOIRE.....	334
II.1.1 Contamination par dopage journalier	334
II.1.2 Contamination par flux continu	336
II.1.3 Comparaison des cinétiques d'accumulation dans les POCIS™ standards.....	338
II.1.4 Influence des cages de protection	341
II.2 VALIDATION DES POCIS™ STANDARDS EN MILIEU NATUREL	342
II.3 DÉTERMINATION DES CINÉTIQUES D'ACCUMULATION DANS LES POCIS™-LIKE EN LABORATOIRE PAR CONTAMINATION EN FLUX CONTINU	344
II.3.1 Caractéristiques des membranes étudiées	344
II.3.2 Membranes PES 0,45µm.....	344
II.3.3 Membranes en LDPE.....	345
II.3.4 Membranes en nylon	346
II.4 COMPARAISON ENTRE LES POCIS™ STANDARDS ET LES POCIS™-LIKE POUR L'ÉCHANTILLONNAGE DES ALKYLPHÉNOLS, DE LEURS DÉRIVÉS ÉTHOXYLÉS ET DU BISPHÉNOL A.	350
III. VALIDATION DES POCIS STANDARDS ET POCIS-LIKE EN MÉSOCOSMES	
350	
III.1 INJECTION PRÉLIMINAIRE	350
III.2 CAMPAGNE CONTINUE.....	351
III.2.1 Concentration dans les canaux	352
III.2.2 Accumulation dans les POCIS™	352
III.2.3 Estimation des concentrations dans l'eau avec les POCIS™ standards et like	353
III.3 CAMPAGNE DISCONTINUE	354
III.3.1 Concentration dans les canaux	355
III.3.2 Accumulation dans les POCIS™	355
III.3.3 Estimation des concentrations dans l'eau avec les POCISTM standards et like	357
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	
359	
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	
365	
LISTE DES ANNEXES	
387	
ANNEXE 1 : SOURCES DE CONTAMINATION : COMPOSITION DES EFFLUENTS PAR COMPOSÉ.....	
389	
ANNEXE 2 : CLASSIFICATION ATC (ANATOMIQUE, THÉRAPEUTIQUE, CHIMIQUE) (WHO 2011).....	
393	
ANNEXE 3 : LISTE DES COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES PRIORITAIRES (BESSE ET GARRIC 2007)	
403	
ANNEXE 4 : CONDITIONS CONTRÔLÉES DES EXPÉRIMENTATIONS EN LABORATOIRE.....	
407	
ANNEXE 5 : MESURES PHYSICO-CHIMIQUES LORS DES CAMPAGNES DE PRÉLÈVEMENTS AUX RIVIÈRES ARTIFICIELLES	
411	

ANNEXE 6 : MESURES PHYSICO-CHIMIQUES ET SUIVI MÉTÉOROLOGIQUE LORS DE LA CAMPAGNE DE PRÉLÈVEMENTS DANS LA JALLES D'EYSINES	417
ANNEXE 7 : CONDITIONS D'ANALYSE EN LC/MS POUR LES AP, APEO ET BPA	419
ANNEXE 8 : CONDITIONS D'ANALYSE EN LC/MS/MS POUR LES AP, APEO ET BPA	423
ANNEXE 9 : CONDITIONS D'EXTRACTION ET D'ANALYSE EN SPME-GC-MS POUR LES ALKYLPHÉNOLS	427
ANNEXE 10 : CONDITIONS D'ANALYSE EN LC/MS/MS POUR LES COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES	429

Liste des figures

Figure 1 : Utilisation des ressources en eau disponibles (World Water Assessment Programme 2009).	45
Figure 2 : Gamme de concentrations ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de certaines classes de composés détectés dans différents systèmes aquatiques. Il s'agit de compilation de données issues des publications suivantes : (Cao et al. 2005; Vieno et al. 2007; Cespedes et al. 2008; Arias et al. 2009; Loos et al. 2009; Loos et al.2010; Murray et al. 2010; Navarro et al. 2010; Yoon et al. 2010; Cidu et al.2011; Kameda et al. 2011; Polkowska et al. 2011; Wu et al. 2011; Zou et al. 2011; Brix et al. 2012; Wang et al. 2012).	46
Figure 3 : Méthodologie en vue de la sélection des composés pertinents dans le cadre du Programme National d'Action (INERIS 2006).	48
Figure 4 : Liste des composés à surveiller dans les systèmes aquatiques.	50
Figure 5 : Fréquence de détection de certaines familles de micropolluants organiques dans les masses d'eau aux Etats-Unis (Focazio et al. 2008).	51
Figure 6 : Composition des effluents industriels en famille de composés (INERIS 2008)	53
Figure 7 : Composition des effluents de STEP industrielles ou mixtes (IC) en famille de composés (INERIS 2008)	54
Figure 8 : Composition des effluents de STEP urbaines en substances organiques prioritaires et pertinentes (INERIS 2008).	54
Figure 9 : Molécule d'alkylphénol polyéthoxylé.	56
Figure 10 : Schéma de biodégradation des APEO (Ahel et al. 1994b).	58
Figure 11 : Comparaison de la structure du 17- β - oestradiol et du 4-NP.	62
Figure 12 : Molécule de BPA.	63
Figure 13 : Données de consommation des composés pharmaceutiques dans sept pays européens (AFSSAPS 2011).	67
Figure 14 : Nombre annuel de publications concernant le développement et/ou l'application des échantillonneurs passifs pour les composés organiques et dans la phase dissoute (Recherche dans Scopus, mots clés : organic passive sampler and water ; Domaines de recherche : Life Sciences, Health Sciences and Physical Sciences).	77
Figure 15: Accumulation des composés dans un échantillonneur passif (Ouyang et Pawliszyn 2007).	80
Figure 16: Principe de l'échantillonnage passif (Mills et al. 2007).	82
Figure 17 : Principe des PRC : échanges isotropes entre l'adsorption et la désorption.	83
Figure 18 : Principaux échantillonneurs passifs pour les composés organiques. Les pourcentages représentent la part de chaque échantillonneur passif par rapport à l'ensemble de ceux existants. Ce pourcentage est calculé en fonction du nombre de publications citant chaque type d'échantillonneurs passifs, ces publications sont celles sélectionnées pour la figure 14.	84

Figure 19 : Conception d'un POCIS TM	86
Figure 20: Aspect général d'un POCIS TM	87
Figure 21 : Représentation des composantes au transfert de masse dans un POCIS TM (Alvarez et al. 2007).....	87
Figure 22 : Comparaison des taux d'échantillonnage entre les POCIS TM -Pest et les POCIS TM -Pharm (Mazzella et al. 2007; Arditsoglou et Voutsas 2008).....	88
Figure 23 : Comparaison des taux d'échantillonnage, R_s ($L \cdot j^{-1}$), en fonction de la surface d'échantillonnage (Arditsoglou et Voutsas 2008; Zhang et al. 2008).....	89
Figure 24 : Influence de la vitesse d'agitation sur les taux d'accumulation des composés pharmaceutiques dans les POCIS TM , composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (MacLeod et al. 2007).	90
Figure 25 : Influence du débit sur la quantité de composés pharmaceutiques accumulés dans les POCIS TM , composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Li et al. 2010b).	91
Figure 26 : Influence de la salinité sur l'accumulation des composés pharmaceutiques, composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Togola et Budzinski 2007).	92
Figure 27 : Comparaison des taux d'échantillonnage de trois pesticides déterminés avec une salinité différente, composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Mazzella et al. 2007; Martinez Bueno et al. 2009).....	92
Figure 28 : Effet de la température sur l'accumulation des composés pharmaceutiques, composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Togola et Budzinski 2007).	93
Figure 29 : Effet de la température sur l'accumulation de certains composés pharmaceutiques et perturbateurs endocriniens, composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Li et al. 2010a).	94
Figure 30 : Influence du pH sur l'accumulation des composés dans les POCIS TM , composés classés dans l'ordre croissant de basicité (Li et al. 2011).	95
Figure 31 : Effet de la teneur en matière organique sur l'accumulation des composés dans les POCIS TM (Li et al. 2011).	95
Figure 32 : Accumulation de certains pesticides échantillonnés par des membranes en silicone montrant un temps de latence (Nyoni et al. 2011).	97
Figure 33 : Répartition géographique des 21 STEP étudiées.....	107
Figure 34 : Schématisation des points de prélèvement au sein d'une station d'épuration pour la filière eau (EB : eau usée brute, ET : eaux traitées) et pour la filière boue (BL : boues liquides ; BS : boues sèches et RET : retour de tête).....	109
Figure 35 : Prélèvement et conditionnement des échantillons.....	110
Figure 36 : Evolution des concentrations en composés pharmaceutiques et des alkylphénols 24 heures après dopage (n=3.)	112

Figure 37 : Schéma du dispositif carrousel utilisé pour la calibration des POCIS TM standards.	112
Figure 38 : Fréquence de prélèvements lors de l'expérimentation carrousel.....	113
Figure 39 : Système expérimental à flux continu conçu pour la calibration des échantillonneurs passifs.	113
Figure 40 : Stabilité des concentrations ($\mu\text{g.L}^{-1}$) en alkylphénols polyéthoxylé et BPA dans le pilote expérimental avec un dopage en flux continu.....	114
Figure 41 : Fréquence de prélèvements lors de l'expérimentation 1 en flux continu.	115
Figure 42: Fréquence de prélèvements lors de l'expérimentation 2 en flux continu.	116
Figure 43: Fréquence de prélèvements lors de l'expérimentation 3 en flux continu	117
Figure 44 : Fréquence de prélèvements lors de l'expérimentation 4 en flux continu.	118
Figure 45 : Rivières artificielles.....	119
Figure 46 : Cycle d'injection du 4-NP et 4-t-OP lors de la campagne discontinue dans les rivières artificielles.....	120
Figure 47 : Cycle d'injection du 4-NP et 4-t-OP lors de la campagne accidentelle dans les rivières artificielles.....	121
Figure 48 : Sites d'échantillonnage dans la Jalle d'Eysines et la STEP de Cantinolle.	123
Figure 49 : Chromatogrammes obtenus pour les NP1EO et NP2EO, acquisition en mode SCAN	127
Figure 50 : Rendements d'extraction de la phase liquide des alkylphénols polyéthoxylés et du bisphénol A.	128
Figure 51 : Rendements d'extraction de la phase solide des alkylphénols polyéthoxylés et du bisphénol A.	129
Figure 52 : Gamme de linéarité du 4-NP et ses étalons internes.....	131
Figure 53 : Chromatogrammes d'analyses successives d'un échantillon et de blancs d'injection du 4-NP (a) et du NP2EO (b)	132
Figure 54: Rendements d'extraction de la phase liquide des composés pharmaceutiques. ...	137
Figure 55: Rendements d'extraction de la phase solide des composés pharmaceutiques.....	138
Figure 56 : Rendements d'extraction de la phase OASIS HLB® des alkylphénols, leurs dérivés éthoxylés, du bisphénol A et des composés pharmaceutiques (n=3)	139
Figure 57 : Positionnement des points d'échantillonnage pour le calcul des rendements R_2 (filrière eau) et R_4 (filrière globale)- EB : eau brute ; ET : eau traitée ; BL : boue liquide ; BS : boue sèche ; RET : retour en tête.(Choubert et al. 2011).....	140
Figure 58 : Illustration des règles de calcul des calculs des rendements R_2 (Choubert et al. 2011)	141
Figure 59 : Comparaison des rendements d'élimination en fonction de la température pour les substances prioritaires dangereuses et prioritaires et les autres composés étudiés..	254

Figure 60 : Comparaison des rendements d'élimination en fonction du temps de séjour hydraulique pour les substances prioritaires dangereuses et prioritaires et les autres composés étudiés.....	255
Figure 61 : Comparaison des rendements d'élimination des substances prioritaires dangereuses et prioritaires et des autres composés étudiés obtenus dans les traitements à boues activées (Σ BA, n = 6) et à bioréacteur à membrane (BRM)....	256
Figure 62 : Optimisation des paramètres d'extraction en SPME pour le 4-NP et 4-t-OP. a) Température d'extraction, b) Temps d'extraction, c) Agitation	331
Figure 63 : Suivi des blancs en 4-NP lors d'analyses en SPME-GC-MS. a) Blancs fibre, b) Blancs eau	332
Figure 64 : Taux de quantification du 4-NP et 4-t-OP en SPME-GC-MS (n=17).....	332
Figure 65 : Comparaison des techniques d'extraction (SPME et SPE) pour les 4-NP et 4-t-OP	333
Figure 66 : Variation des concentrations en alkylphénols et leurs dérivés, en BPA et en composés pharmaceutiques lors de l'exposition en dopage journalier	335
Figure 67 : Suivi de la concentration en alkylphénols et leurs dérivés dans le système d'exposition contaminé par flux continu au cours des 15 jours d'exposition.....	337
Figure 68 : Cages en acier inoxydable utilisées pour l'exposition en milieu aquatique des POCIS TM (Photos disponible sur le site internet d'Environmental Sampling Technologies).....	341
Figure 69 : Influence de la présence de cages protectrices sur les taux d'échantillonnage des composés pharmaceutiques (n=3).....	342
Figure 70 : Accumulation des composés ciblés dans les POCIS TM standards dans l'effluent de la station d'épuration de Cantinolle. Effet du débit sur l'accumulation des composés	343
Figure 71 : Cinétiques d'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du bisphénol A dans les POCIS TM -nylon	347
Figure 72 : Concentrations (ng.L ⁻¹) en 4-NP et 4-t-OP dans les canaux des rivières pilotes lors des injections préliminaires : variations spatiale et temporelle.....	351
Figure 73 : Evolution des concentrations (ng.L ⁻¹) en 4-NP et 4-t-OP dans les canaux 13 et 14 lors de la campagne continue.	352
Figure 74 : Accumulation du 4-NP dans les POCIS TM lors de la campagne continue a) POCIS TM standards et POCIS TM -Nylon 0,1 et 30 μ m. b) zoom dans les POCIS TM standards.....	353
Figure 75 : Compararaison des concentrations dans l'eau estimée par les POCIS TM standards, nylon 0,1et 30 μ m (n = 2) et par prélèvements ponctuels (n = 4 à T14 et n = 6 à T21).	354
Figure 76 : Evolution des concentrations (ng.L ⁻¹) dans les canaux 13 et 14 lors de la campagne discontinue.	355

Figure 77 : Accumulation du 4-NP dans les POCISTM lors de la campagne discontinue a) POCISTM standards et POCISTM-Nylon 0,1 et 30 μm . b) zoom dans les POCISTM standards..... 356

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales propriétés physico-chimiques des APEO, ^(a) (Ahel et Giger 1993a), (b)(Ahel et Giger 1993b), (c) (Ferguson et al. 2001), (d) (European commission 2003a).....	57
Tableau 2 : Présence des APEO dans les eaux usées brutes et les eaux traitées de STEP (concentrations en $\mu\text{g.L}^{-1}$ [min-max]).	59
Tableau 3 : Présence des APEO dans la phase dissoute dans les systèmes aquatiques (concentrations en $\mu\text{g.L}^{-1}$ [min-max]).	60
Tableau 4 : Présence des APEO dans les sédiments des systèmes aquatiques (concentrations en ng.g^{-1} de masse sèche [min-max]).	61
Tableau 5 : Présence du BPA dans les eaux usées brutes et traitées de STEP (concentrations en $\mu\text{g.L}^{-1}$ [min-max]) ^a compilation de 222 résultats pour les eaux usées brutes et 269 pour les effluents.	64
Tableau 6 : Présence du BPA dans la phase dissoute dans les systèmes aquatiques (concentrations en $\mu\text{g.L}^{-1}$ [min-max]).	65
Tableau 7 : Principales classes de médicaments consommées en France classées en fonction du nombre de DDJ. Il s'agit d'une DDJ moyenne sur 10 ans (1999-2009).	68
Tableau 8 : Présence dans la phase dissoute et taux d'élimination des composés pharmaceutiques dans les STEP (Miège et al. 2009a). Les concentrations données sont en $\mu\text{g.L}^{-1}$	70
Tableau 9 : Concentrations en $\mu\text{g.L}^{-1}$ des composés pharmaceutiques détectés dans les eaux usées brutes, traitées avec des procédés secondaires et tertiaires (Fatta-Kassinos et al. 2011).	71
Tableau 10 : Présence de composés pharmaceutiques dans la phase dissoute dans les systèmes aquatiques (concentrations en $\mu\text{g.L}^{-1}$ [min-max]).	71
Tableau 11 : Taux d'excrétion de substances libres et/ou conjuguées ainsi que le Fexcreta des composés pharmaceutiques les plus consommés et les plus présents dans l'environnement et leurs métabolites (Besse et Garric 2007).	73
Tableau 12 : Liste non exhaustive des échantillonneurs passifs pour les composés organiques couramment utilisés.....	85
Tableau 13 : Caractéristiques des 21 STEP étudiées au cours du projet AMPERES.	107
Tableau 14 : Fréquence de prélèvement des POCIS TM lors de la campagne continue dans les rivières artificielles.	119
Tableau 15 : Fréquence de prélèvement des POCIS TM lors de la campagne discontinue dans les rivières artificielles.....	121
Tableau 16 : Fréquence de prélèvement des POCIS TM lors de la campagne accidentelle dans les rivières artificielles.....	122
Tableau 17 : AP, APEO et BPA étudiés au cours de ces travaux de thèse.	125

Tableau 18 : Gamme de linéarité des alkylphénols polyéthoxylés en LC/MS et LC/MS/MS	130
Tableau 19 : Suivi des blancs de protocole de la phase dissoute et de la phase OASIS HLB®.	133
Tableau 20 : Composés pharmaceutiques étudiés au cours de ces travaux de thèse.	134
Tableau 21 : Concentrations des 26 composés quantifiés dans les eaux usées brutes présentés selon leur fréquence de quantification.* (Besse et Garric 2007). Se reporter aux tableaux 17 et 20 pour les abréviations.	244
Tableau 22 : Concentrations des 26 composés quantifiés dans les eaux traitées primaires présentés selon leur fréquence de quantification. Se reporter aux tableaux des 17 et 20 pour les abréviations.....	246
Tableau 23 : Concentrations des 26 composés quantifiés dans les eaux traitées secondaires présentés selon leur fréquence de quantification. Se reporter aux tableaux 17 et 20 pour les abréviations.....	247
Tableau 24: Concentrations des 26 composés quantifiés dans les eaux traitées tertiaires après traitements d’affinage présentés selon leur fréquence de quantification. Se reporter aux tableaux 17 et 20 pour les abréviations.	249
Tableau 25 : Concentrations des 26 composés quantifiés dans les eaux traitées tertiaires après traitements avancés présentés selon leur fréquence de quantification. Se reporter aux tableaux 17 et 20 pour les abréviations.	250
Tableau 26 : Rendements d’élimination (%) pour les alkylphénols, leurs dérivés et les composés pharmaceutiques pour les procédés de traitements primaires et secondaires.	252
Tableau 27 : Rendements d’élimination (%) pour les alkylphénols, leurs dérivés et les composés pharmaceutiques pour les procédés de traitement tertiaires.	258
Tableau 28 : Présence des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques dans les boues déshydratées : concentrations moyennes, médianes, minimums et maximums ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de masse sèche), RSD et fréquence de quantification (%) ...	260
Tableau 29 : Présence des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques dans les boues traitées : concentrations moyennes, médianes, minimums et maximums ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de masse sèche), RSD et fréquence de quantification (%) ...	261
Tableau 30 : Comparaison des paramètres de méthodes analytiques par SPME pour l’analyse des alkylphénols	330
Tableau 31 : Paramètres cinétiques extrapolés des composés ayant une accumulation curvilinéaire dans les POCIS TM lors de l’exposition en dopage journalier	335
Tableau 32 : Paramètres cinétiques extrapolés des composés ayant une accumulation linéaire successive à un temps de latence dans les POCIS TM lors de l’exposition en dopage journalier	336
Tableau 33 : Cinétique d’accumulation dans les POCIS TM standards et paramètres cinétiques des alkylphénols, leurs dérivés et du BPA lors de la calibration par contamination	

à flux continu. Les données entre parenthèse sont extrapolées en considérant seulement la partie linéaire.....	337
Tableau 34 : Comparaison des taux d'échantillonnage ($L \cdot j^{-1}$) des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA des deux calibrations avec la littérature	339
Tableau 35 : Observations des membranes en PES de 0,1 μ m de porosité au microscope électronique à balayage (QUANTA 2000, FEI Hillsboro, Oregon, USA).....	340
Tableau 36 : Comparaison des paramètres cinétiques d'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et le bisphénol A lorsque l'eau ou le méthanol est utilisé pour la récupération de la phase OASIS HLB®.....	341
Tableau 37 : Cinétique d'accumulation dans les POCIS TM -PES 0,45 μ m et paramètres cinétiques des alkylphénols, leurs dérivés et du BPA lors de la calibration par contamination à flux continu. Les données entre parenthèse sont extrapolées en considérant seulement la partie linéaire.	345
Tableau 38 : Cinétique d'accumulation dans les POCIS TM -PE et paramètres cinétiques des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA lors de la calibration par contamination à flux continu. Les données entre parenthèse sont extrapolées en considérant seulement la partie linéaire.....	346
Tableau 39 : Paramètres cinétiques des alkylphénols, leurs dérivés et du BPA dans les POCIS TM -Nylon lors de la calibration par contamination à flux continu. Les données entre parenthèse sont extrapolées en considérant seulement la partie linéaire.....	349

Liste des abréviations, accronymes et symboles

3RSDE : Action de Recherche et de Réduction des Rejets de Substances Dangereuses dans l'Eau
4-NP : 4-nonylphénol (mélange technique)
4-t-OP : 4-tert-octylphénol
A : Surface de la membrane
AFSSAPS : Agence Française d'expertise de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AMPERES : Analyse de Micropolluants Prioritaires et Emergents dans les Rejets et les Eaux Superficielles
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
AP : Alkylphénols
APEC : Acides alkylphénoxy acétiques
APEO : Alkylphénols Polyéthoxylés
ATC : Anatomique, Thérapeutique, Chimique
BA: Boue Activée
BCF : Facteur de BioConcentration
BDE : BromoDiphénylEther
BF: Biofiltre
BL : Boues Liquides
BPA : Bisphénol A
BRM : BioRéacteur à Membrane
BRM: BioRéacteur à Membranes
BS : Boues Solides
BTEX : Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylènes
CAS : Chemical Abstracts Service
Cf: Facteur de concentration
CNAMTS : Caisse Nationale de l'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés
CO₂ : Dioxyde de carbone
COD : Carbone Organique Dissous
COHV : Composés Organiques Halogénés Volatils
C_{PRC} : Concentration en PRC dans la phase réceptrice
C_{PRC0} : Concentration initiale en PRC dans la phase réceptrice
C_S : Concentration dans la phase réceptrice
C_w : Concentration dans l'eau
D_b : Coefficient de diffusion dans le biofilm
DBO5 : Demande Biologique en Oxygène en 5 jours
DCE : Directive Cadre Eau
DCO: DemandeCchimique en Oxygène
DDJ : Dose Définie Journalière
DDT : Dichloro-Diphényle-Trichloroéthane
DEHP : di(2-éthylhexyl)phtalate
D_m : Coefficient de diffusion dans la membrane
DM: Déshydratation Mécanique
DP: Décantation Primaire
DR: Décantation Rapide
DREAL : Directions Régionales Environnement, Aménagement et Logement
DRO : Dérivés Réactifs de l'Oxygène
DVB :DiVinylBenzène

D_w : Coefficient de diffusion dans l'eau
 E1 : œstrone
 E2 : 17- β -œstradiol
 EB: Eaux usées Brutes
 EC₅₀ : Concentration Effective pour 50% des organismes exposés
 EE2 : 17- α -éthinyloestradiol
 EH: Equivalent-Habitant
 EMEA : Agence Européenne D'Evaluation des Médicaments
 EMESTOX : Echantillonneurs passifs pour la MEsure des Substances chimiques et de la TOXicité associée dans l'eau et les effluents industriels
 ESI : Ionisation par ElectroSpray
 ET: Eaux Traitées
 FQ : Fréquence de Quantification
 H₂O : Eau
 HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
 HRT : Temps de séjour hydraulique
 IC : Installation Classée
 K₀ : Coefficient de transfert de masse global
 K_{bw} : Coefficient de partage biofilm/eau
 K_{e PRC in situ} : Constante de désorption du PRC calculé *in situ*
 K_{e PRC} : Constante de désorption du PRC calculé en laboratoire
 k_e : Constante de vitesse de désorption
 K_{mw} : Coefficient de partage membrane/eau
 K_{OC} : Coefficient de partage carbone organique-eau
 K_{OW} : Coefficient de partage octanol-eau
 K_{SW} : Coefficient de partition entre l'eau et l'échantillonneur
 k_u : Constante de vitesse d'absorption
 LC₅₀ : Concentration Létale pour 50% des organismes exposés
 LDPE : Low Density PolyEthylene
 LOD : Limite de Détection
 LOQ : Limite de Quantification
 MAX : Mixed-mode- Anion Exchange
 MCX : Mixed-mode- Cation Exchange
 MEB : Microscope Electronique à Balayage
 MES : Matière en Suspension
 MESCO : Membrane Enclosed Sorptive COating
 MOD: Matière Organique Dissoute
 MRM: Multiple Reaction Monitoring
 Ms: Masse de phase de contaminant accumulée dans la phase réceptrice
 Nd-SPME : negligible depletion-Solid Phase Micro Extraction
 NH₄ : Ammoniaque
 NO: Nitrites
 NO₃ : Nitrate
 NOEC : Concentration sans effets observés (No Observed Effect Concentration)
 NP1EC : Acide alkylphénoxy acétique
 NP1EO : Nonylphénol monoéthoxylé
 NP2EO : Nonylphénol diéthoxylé
 NPEO : Nonylphénols polyéthoxylés
 NQ : Norme de Qualité
 NQE : Normes de Qualité Environnementale
 NQEp : Norme de Qualité Environnementale provisoire
 NTK : Azote Kjeldahl
 O₃ : Ozonation

OI: Osmose-Inverse
 OMS : Organisation Mondiale de la Santé
 OP : Octylphénols
 PA : PolyAcrylate
 PBDE : PolyBromoDiphénylEthers
 PCB : PolyChloroBiphéyle
 PDB : Passive Diffusion Bag
 PDMS : PolyDiMéthylSiloxane
 PEC : Concentration prévisible dans l'environnement (Predicted Environmental Concentration)
 PES : PolyEther Sulfone
 pKa: Constante de dissociation
 PNEC : Concentration prévisible sans effet (Predicted No Effect Concentration)
 PO₄:Orthophosphates
 POCISTM : Polar Organic Chemical Integrative Sampler
 POPs : Polluants Organiques Persistants
 PRC : Composé de référence de performance
 PSU: Practical Salinity Unit
 Pt: Phosphore total
 PTFE : Poly TétraFluoroEthylène
 R2 : Rendement de la filière eau
 R4 : Rendement global
 REACH : enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des produits chimiques
 RET : RETour de tête
 RNB : Réseau National de Bassin
 RPM : Revolution Per Minute (tour par minute)
 R_S : Taux d'échantillonnage
 R_{S_{in situ}} : Taux d'échantillonnage corrigé par l'utilisation des PRC
 SIM : Single Ion Monitoring
 SPE : Extraction en Phase Solide
 SPMD : Semi Permeable Membrane Devices
 SPME : Solid Phase Micro Extraction
 STEP : STation d'EPuration
 t : temps
 t₅₀ : Temps de demi-équilibre
 TC: Transition de Confirmation
 TQ: Transition de Quantification
 TWA : concentration moyenne temporelle (« Time Weighted Average »)
 UE : Union Européenne
 UF: Ultra-Filtration
 V : Volume de phase réceptrice
 VLE : Valeur Limite d'Emission
 δ: Epaisseur efficace
 δ_b : Epaisseur efficace du biofilm
 δ_m : Epaisseur efficace de la membrane
 δ_w : Epaisseur efficace de la couche limite aqueuse
 τ₀ : Temps de latence

Introduction générale

Dans la seconde moitié du XX^{ème} siècle, le lien entre la pollution et ses effets a été reconnu. En 1952, les londoniens furent plongés dans un brouillard particulièrement dense durant 4 jours, appelé smog, qui fut à l'origine de plusieurs milliers de décès (Bell et al., 2004). Ce phénomène et ses effets ont attiré l'attention du grand public, des médias, du gouvernement et des scientifiques. Cet épisode de pollution a été reconnu comme celui ayant eu le plus d'impact sur la recherche environnementale, sur les réglementations mises en place et sur la prise de conscience du grand public (Bell et al., 2004). Puis en 1962, la parution du livre « Silent spring ; printemps sans oiseaux » de la biologiste Rachel Carson engendre des mouvements écologistes dans le monde occidental. Elle y décrit les effets d'un pesticide couramment utilisé, le Dichloro-Diphényle-Trichloroéthane (DDT), sur les oiseaux. Jusqu'alors, l'utilisation de composés chimiques, leurs rejets ainsi que leur toxicité n'étaient pas contrôlés. Ce livre fut à l'origine de l'interdiction du DDT dans plusieurs pays en commençant par la Norvège et la Suède. Par la suite, il y eut une prise de conscience des problèmes liés à la pollution de l'environnement tant par les citoyens que les politiques. Effectivement, des milliers de composés chimiques aux propriétés physico-chimiques diverses et variées ont été déversés dans l'environnement et certains le sont encore à l'heure actuelle tant pour des applications industrielles, domestiques, qu'agricoles. Depuis juin 2007, la réglementation REACH (enRegistrement, Evaluation, Autorisation et Restriction des produits CHimiques) est appliquée dans l'Union Européenne (UE)¹. Elle a pour but d'améliorer la protection de la santé humaine et de l'environnement en ayant un champ d'action sur tous les produits chimiques et sur leur libre circulation dans l'UE, tout en renforçant la compétitivité et l'innovation. Cette réglementation donne la responsabilité aux industries de l'évaluation et de la gestion des risques associés aux produits chimiques utilisés. Cependant, si un composé s'avère très dangereux, l'UE peut prendre des mesures complémentaires.

Le milieu aquatique est le réceptacle ultime de la pollution environnementale. Il occupe une place non négligeable dans les cycles globaux et les organismes aquatiques présents sont très sensibles à cette pollution. De plus, la croissance exponentielle de la population humaine entraîne une augmentation des exploitations des réserves en eaux douces. De ce fait, protéger les ressources en eau est devenu l'une des problématiques environnementales les plus importantes de ce XXI^{ème} siècle (Kolpin et al., 2002). Afin de préserver et de restaurer la qualité des eaux superficielles (eaux douces et côtières) et souterraines, le Conseil et le Parlement européen ont adopté la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) en octobre 2000 (Directive 2000/60/CE). Elle a pour objectif d'atteindre un bon état général des eaux d'ici 2015. Il est demandé d'améliorer la qualité chimique des eaux en inversant, là où cela est nécessaire, la tendance à la dégradation de la qualité des eaux souterraines et, pour les eaux superficielles, en réduisant progressivement les rejets de substances « prioritaires », les rejets devant être supprimés dans vingt ans pour des substances « prioritaires dangereuses ». En application de la Directive Cadre sur l'Eau, une première liste de 33 + 8 substances a été adoptée comprenant des métaux, des pesticides, des hydrocarbures, etc. Récemment, 15 substances ont été proposées pour compléter cette liste avec quelques pesticides et des composés pharmaceutiques (COM-2011-876). Au-delà de ces substances, la DCE pousse à prendre en compte les substances classifiées comme émergentes. Elles ne sont pas réglementées mais sont détectées dans les systèmes aquatiques et apparaissent toxiques envers les organismes

¹ Réglementation REACH: http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/reach/index_fr.htm

aquatiques (INERIS et ONEMA 2009). De nombreuses études ont été menées afin de détecter et de quantifier les composés présents dans l'environnement aquatique ainsi que leur source d'introduction dans le but de d'atteindre les objectifs fixés par la DCE.

Les contaminants organiques sont largement présents dans les systèmes aquatiques à des concentrations faibles comprises entre quelques $\mu\text{g.L}^{-1}$ et quelques ng.L^{-1} . La difficulté liée à ces composés est leur échantillonnage et leur analyse. En effet, la DCE fixe des Normes de Qualité Environnementale (NQE) pour les substances prioritaires. Ces concentrations sont faibles et souvent inférieures aux limites de détection analytique. Par exemple, la NQE de l'endosulfan (insecticide) est fixée à $0,5 \text{ ng.L}^{-1}$. Un des gros challenges de cette décennie est d'abaisser ces limites. De plus, les matrices peuvent être plus ou moins complexes, comme par exemple les eaux usées de stations d'épuration (STEP) qui sont riches en matières organiques, ceux-ci rendant l'analyse plus compliquée. La seconde difficulté est l'échantillonnage de ces composés qui détermine la représentativité de l'échantillon et la fiabilité des résultats. Le choix du matériel utilisé, le conditionnement et la préparation des échantillons peuvent être source de contamination de l'échantillon ou au contraire responsable de la perte des composés pas adsorption. L'utilisation d'échantillonneurs passifs pourrait permettre de s'affranchir de ces deux difficultés car d'une part, le nombre d'étapes lors de la préparation d'échantillon est diminué, et d'autre part, cet outil accumule les composés présents dans le milieu sur la durée totale d'exposition (de plusieurs jours à plusieurs semaines) et permet donc d'abaisser les limites de détection analytique.

C'est dans ce contexte que s'inscrivent ces travaux de thèse qui ont pour but, dans un premier temps, d'optimiser et / ou de développer des méthodes analytiques permettant de détecter et quantifier les composés organiques présents dans les systèmes aquatiques et, d'autre part, d'étudier le comportement et le devenir de ces composés dans les stations d'épuration, qui sont parmi leurs sources principales d'introduction dans les systèmes aquatiques.

Le premier chapitre de ce manuscrit s'attache à faire une synthèse bibliographique sur l'état des connaissances quant à la contamination des systèmes aquatiques par les composés organiques en identifiant leurs sources d'introduction. Trois classes de composés organiques ont été plus particulièrement détaillées : les alkylphénols et leurs dérivés éthoxylés, le bisphénol A et les composés pharmaceutiques. L'intérêt et le principe de nouvelles techniques d'échantillonnage y sont aussi discutés.

Les sites d'échantillonnage, les précautions prises aux cours des prélèvements des échantillons, les méthodologies analytiques utilisées ainsi que les développements sont détaillés dans le second chapitre du manuscrit.

Dans la troisième partie, sont présentés les résultats obtenus sur le comportement et le devenir des alkylphénols et de leurs dérivés éthoxylés ainsi que ceux des composés pharmaceutiques dans les stations d'épuration. Différents procédés d'épuration sont présentés et leur efficacité d'élimination vis-à-vis de ces composés est comparée. Cette partie est présentée sous forme de trois articles scientifiques suivit d'une synthèse reprenant les principaux résultats de ces travaux.

La quatrième partie regroupe deux articles, traitant du développement d'échantillonneurs passifs pour les alkylphénols, leurs dérivés éthoxylés, le bisphénol A et les composés pharmaceutiques, et une synthèse sur les développements de nouvelles techniques d'extraction et d'échantillonnage.

La conclusion et les perspectives de ces travaux clôturent ce manuscrit.

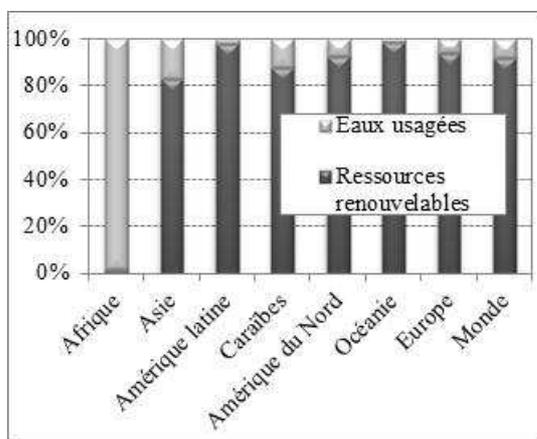
Cinq publications issues de ces travaux de thèse sont données dans une annexe supplémentaire dans le but d'apporter plus de précisions sur le projet Ampères.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

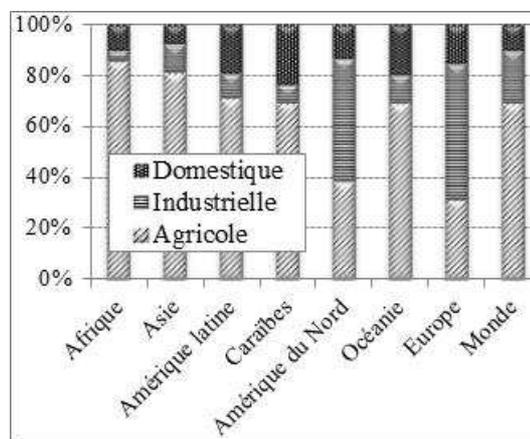
I. La pollution des systèmes aquatiques

L'eau est de nos jours une ressource importante et vitale mais cependant très utilisée. L'International Water Management Institute² (2007) distingue deux catégories d'eau présentes sur terre : l'eau douce, comprenant l'eau verte et la bleue et l'eau salée (International Water Management Institute 2007). La distinction entre eau bleue et eau verte a été proposée par Falkenberg en 1995. L'eau bleue est l'eau qui s'écoule (eau de rivières, lacs, nappes souterraines) et l'eau verte est contenue dans les sols et est disponible pour les plantes. L'irrigation et le drainage des sols permettent un échange entre ces deux types d'eau (bleue et verte).

La principale source d'eau est la pluie (110 000 km³/an) approvisionnant le milieu, dont 39% (43 500km³/an) alimentent les sources bleues (ressources renouvelables). À l'heure actuelle 9% des ressources d'eaux bleues sont utilisées chaque année dans le monde à des fins agricoles, industrielles et domestiques (World Water Assessment Programme 2009).



a- Pourcentage d'eau utilisée par an par rapport aux ressources disponibles



b- Répartition des utilisations d'eau à des fins agricoles, industrielles et domestiques

Figure 1 : Utilisation des ressources en eau disponibles (World Water Assessment Programme 2009).

Sur la majorité des continents, la part d'eau utilisée est inférieure à 20% des ressources en eau disponibles sauf pour l'Afrique utilisant quasiment la totalité de la quantité d'eau disponible sur son territoire (Figure 1-a). Des trois activités principales consommant l'eau, l'activité agricole est celle nécessitant le plus grand volume afin d'irriguer les champs. Cette part représente en moyenne 70% des ressources en eau renouvelables exploitées (Figure 1-b). L'Amérique du Nord et l'Europe ont des activités industrielles nécessitant une consommation d'eau supérieure à celle des autres pays du monde.

1.1 Présence dans le milieu

1.1.1 Bilan de la contamination dans les systèmes aquatiques

La part d'eau renouvelable utilisée est rejetée dans le milieu mais dans la majorité des cas du fait de son utilisation, elle est polluée. L'apparition d'effets toxiques sur certains organismes (Schwarzenbach et al. 2010) a poussé la communauté scientifique à se préoccuper

² L'International Water Management Institute est un centre de recherche international dont la mission est d'améliorer la gestion des ressources en terres et en eau pour la nourriture, les moyens de subsistance et l'environnement (<http://www.iwmi.cgiar.org>)

de la pollution des systèmes aquatiques. En effet, des milliers de substances naturelles ou synthétiques sont présentes dans le milieu aquatique à des concentrations allant du ng.L^{-1} au mg.L^{-1} (Schwarzenbach et al. 2010). Ces composés, appelés micropolluants, ont des propriétés physico-chimiques diverses et variées et sont présents dans des gammes de concentrations différentes (Figure 2).

Les micropolluants inorganiques sont les composés retrouvés en plus grande quantité dans les milieux aquatiques à des concentrations comprises entre quelques $\mu\text{g.L}^{-1}$ et plusieurs centaines de mg.L^{-1} . Ces composés ne sont pas soumis à la dégradation comme le sont les micropolluants organiques sauf avec des souches bactériennes très spécifiques. En effet, leurs transport, devenir et biodisponibilité sont majoritairement déterminés par des réactions d'oxydo-réduction, de complexation, d'adsorption, et de précipitation/dissolution (Schwarzenbach et al. 2010). Les micropolluants organiques sont quant à eux présents à des concentrations plus faibles (de quelques ng.L^{-1} à la dizaine de $\mu\text{g.L}^{-1}$) et sont très nombreux. Les classes de micropolluants les plus documentées sont les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), les PolyChloroBiphényles (PCB), les composés perfluorés, phénoliques, les phtalates, les pesticides et les composés pharmaceutiques (Figure 2).

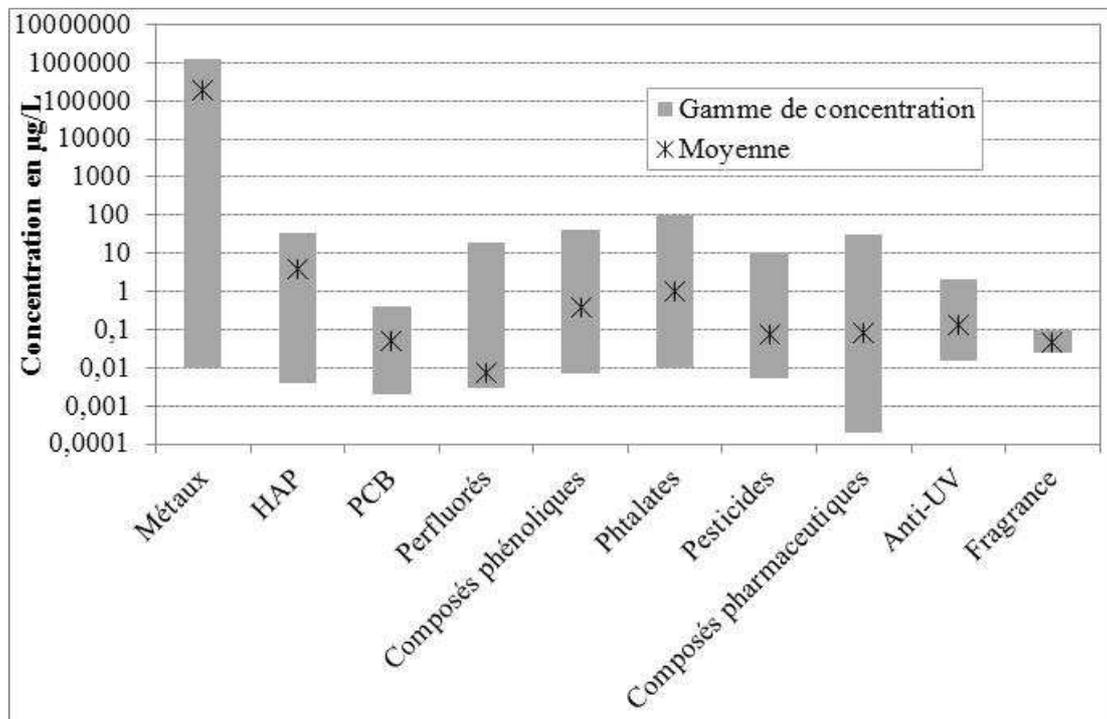


Figure 2 : Gamme de concentrations ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de certaines classes de composés détectés dans différents systèmes aquatiques. Il s'agit de compilation de données issues des publications suivantes : (Cao et al. 2005; Vieno et al. 2007; Cespedes et al. 2008; Arias et al. 2009; Loos et al. 2009; Loos et al. 2010; Murray et al. 2010; Navarro et al. 2010; Yoon et al. 2010; Cidu et al. 2011; Kameda et al. 2011; Polkowska et al. 2011; Wu et al. 2011; Zou et al. 2011; Brix et al. 2012; Wang et al. 2012).

Les premiers micropolluants organiques mis en évidence dans les systèmes aquatiques sont les Polluants Organiques Persistants (POPs). Sous ce terme sont compris les HAP, les composés chlorés (DDT, PCB, dioxines, etc.), les PolyBromoDiphénylEthers (PBDE), ou encore les composés perfluorés. Les POPs sont connus pour leur persistance dans l'environnement, leur transport sur de longues distances, leur capacité de bioaccumulation de par leurs propriétés lipophiles et leur toxicité sur les organismes aquatiques (Schwarzenbach et al. 2010). Ces composés sont produits en grande quantité soit de façon intentionnelle pour une application bien particulière soit de manière artefactuelle comme, par exemple, lors des

processus de combustion (Schwarzenbach et al. 2010). La majorité de ces composés sont soumis à réglementation au niveau international avec la convention de Stockholm et au niveau national avec la Directive Cadre Eau qui fixe les NQE. En parallèle de ces micropolluants d'autres composés comme les composés pharmaceutiques, les hormones, les pesticides hydrophiles ont été détectés plus récemment grâce aux progrès analytiques de ces dernières années. Effectivement ces composés sont retrouvés dans les systèmes aquatiques à des concentrations faibles, sont moins persistants que les POPs, ne sont pas sujets à des phénomènes de long transport mais sont présents de façon avérée, quasi généralisée de par leur émission continue dans les systèmes aquatiques. Ils sont donc préoccupants du fait de cette ubiquité mais aussi du fait de la formation de produits de dégradation (Schwarzenbach et al. 2006).

I.1.2 Bilan au niveau national

Dans le cadre du Programme National d'Action contre la pollution des milieux aquatiques, les Agences de l'Eau, mandatées par le Ministère de l'Ecologie, du Développement durable et de l'Energie, ont organisé des campagnes d'analyse et de surveillance afin de faire un état des lieux de la contamination des systèmes aquatiques français. La première action a été menée en 2005, il s'agissait de faire un état des lieux des systèmes aquatiques vis-à-vis des composés y étant présents, de sélectionner les plus pertinents et de définir les priorités d'action quant à la réduction de leurs apports (INERIS 2006). Cette campagne exceptionnelle concernait l'eau et les sédiments des cours d'eau, des plans d'eau et des eaux de transition et littorales (INERIS 2006). Au total, 194 composés ou familles (soit 311 composés individuels) ont été recherchés. Cette liste regroupe les 157 composés figurant dans le Décret n° 2005-378 du 20 avril 2005 relatif au Programme National d'Action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses ; et les substances prioritaires fixées par la DCE. A l'issue de cette action, de nombreux composés chimiques ont été identifiés et se sont révélés présents dans les systèmes aquatiques. Sur les 194 composés étudiés, 112 ont été quantifiés au minimum une fois. Il s'agit principalement de pesticides (DDT, endosulfan, atrazine, diuron, etc.); de HAP ; de benzène, toluène, éthylbenzène et xylène (BTEX) ; du di(2-éthylhexyl)phtalate (DEHP) ; d'alkylphénols (AP), etc. (INERIS 2006). Il a été mis en évidence qu'au-delà des 41 + 15 substances prioritaires définies par la DCE, d'autres composés présents dans les masses d'eau doivent être surveillés. Ces composés sont dits pertinents au titre du Programme National de réduction des substances dangereuses (INERIS 2006) : ils ont été sélectionnés en fonction de leur fréquence de quantification, norme de qualité et concentration (Figure 3). D'autres composés n'ont pas été détectés lors de cet inventaire et font l'objet de vérification par les agences de l'eau dans les données du Réseau National de Bassin (RNB). Ce réseau a pour vocation une connaissance générale et à long terme de la qualité des eaux superficielles³.

³ Réseau National de Bassin : <http://www.senat.fr/rap/102-215-2/102-215-229.html>

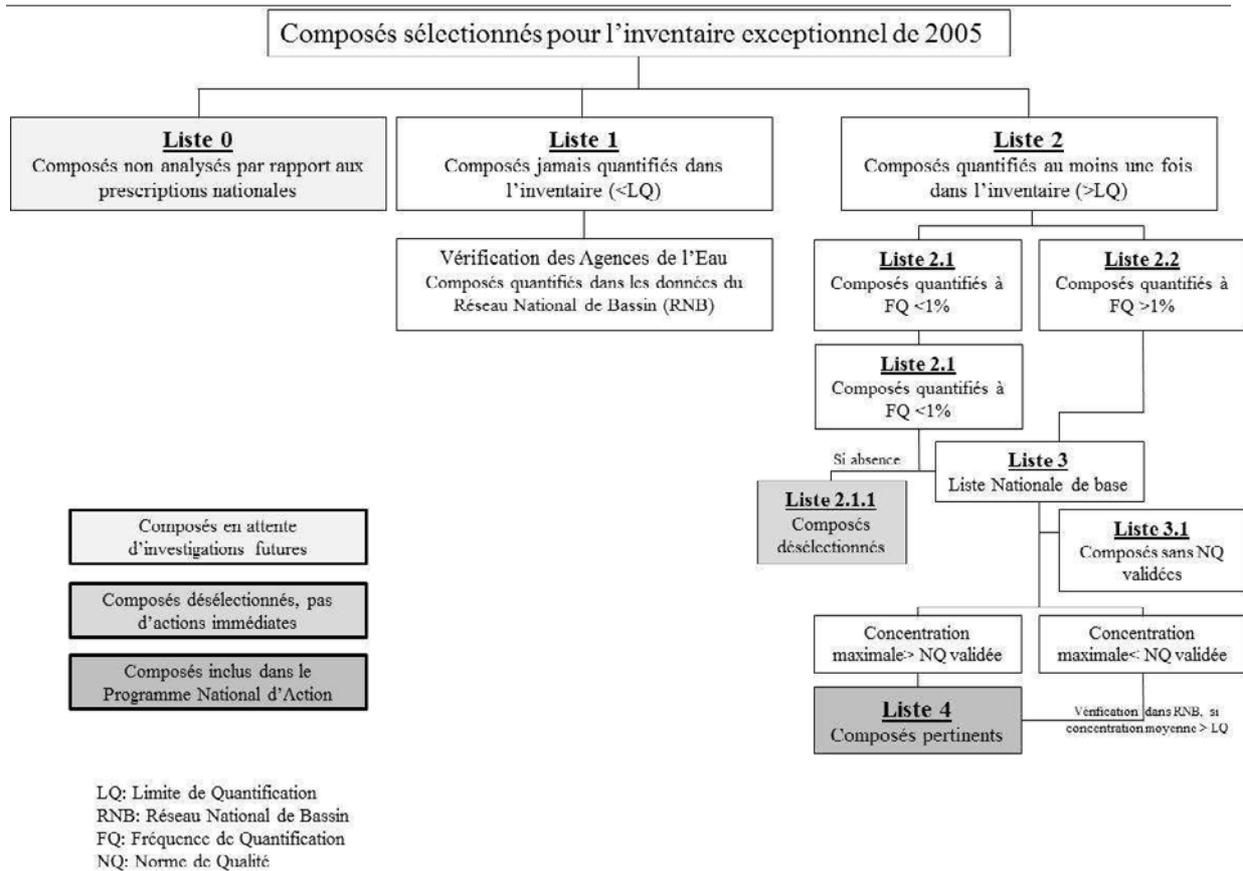


Figure 3 : Méthodologie en vue de la sélection des composés pertinents dans le cadre du Programme National d'Action (INERIS 2006).

I.1.3 Réglementation

Depuis juin 2007, tous les composés fabriqués, importés, mis sur le marché ou utilisés tels quels ou en mélange dans l'Union Européenne sont soumis à la réglementation REACH. Les industries sont tenues d'évaluer les risques sur la santé et l'environnement générés par un ou plusieurs produits chimiques intervenant dans leur production. Cette réglementation va permettre à terme de connaître et d'appréhender la toxicité de tous ces produits fabriqués, importés ou mis sur le marché en Europe⁴.

Au-delà de cette réglementation, des conventions, directives et arrêtés internationaux, européens ou encore nationaux ont été mis en œuvre dans le but d'améliorer la qualité des systèmes aquatiques et de supprimer les rejets de composés classés comme dangereux.

La convention de Stockholm⁵ a été signée en 2001 à l'échelle mondiale afin de réduire voire d'éliminer les rejets de composés organiques nommées POPs. L'utilisation de la majorité de ces composés doit être supprimée dans les états membres ou, pour certains, diminuée. Comme signifié dans les paragraphes précédents, les POPs sont des composés persistants dans l'environnement, ils ont une forte capacité de dispersion et présentent de fortes toxicités au niveau des organismes aquatiques ; en effet, ces composés sont facilement bioaccumulables.

Au niveau européen, plusieurs directives ont été élaborées faisant référence à la gestion de l'eau et des déchets. En 1975, la directive 75/442/CEE relative aux déchets établit la

⁴ Réglementation REACH : http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/reach/index_fr.htm

⁵ Convention de Stockholm : www.pops.int/

politique communautaire à suivre pour assurer l'élimination, le traitement ou le stockage des déchets. Elle encourage la prévention, le recyclage et la transformation des déchets dans le respect de l'environnement et notamment de l'eau. En 1976, suit la directive 76/464/CEE remplacée par la directive 2006/11/CE qui concerne la pollution causée par certains composés dangereux (toxiques, persistants et bioaccumulables) dans le milieu aqueux. Cette directive de 1976 établit une réglementation pour limiter, voire supprimer, les rejets de ces composés dans le milieu. Pour cela, deux listes ont été adoptées. La première (Liste I) regroupe 18 composés dangereux devant être éliminés dans les rejets. La seconde (Liste II) regroupe 139 composés devant être réduits des rejets. Tout rejet de ces composés doit être soumis à autorisation. Au fur et à mesure des avancées en termes de connaissance sur la pollution des systèmes aquatiques, d'autres directives européennes ont vu le jour et permettent de compléter celle de 1976. Les directives 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/240/CEE puis la 2006/11/CE fixent des valeurs limites d'émission (VLE) pour les industries et des normes de qualité (NQ) pour les milieux aquatiques pour les composés de la liste I de la directive 76/464/CEE. Pour les composés figurant sur la liste II de cette même directive, les états membres doivent mettre en œuvre des programmes de surveillance nationaux afin d'inventorier les composés pertinents et de fixer des normes d'émission pour préserver et améliorer la qualité de l'eau. Par la suite, une politique communautaire pour la gestion et la protection des eaux par grand bassin hydrographique a été mise en place : la Directive Cadre Eau (DCE ; 2000/60/ CE) à laquelle s'ajoute la proposition COM-2011-876. Elle vise à améliorer et protéger la qualité de l'environnement aquatique ainsi que ses ressources. Les états membres de l'Union Européenne doivent surveiller 56 substances de la DCE, 27 classées comme « prioritaires » devant être éliminées progressivement des rejets et 21 classées comme « prioritaires dangereuses » devant être supprimées ; et mettre en place des réseaux de surveillance. L'objectif est ainsi d'atteindre un bon état écologique et chimique des eaux et des milieux d'ici 2015. Une directive fille à la DCE (2008/105/CE) ainsi que la proposition COM-2011-876 fixent des normes de qualité environnementales (NQE) pour les 56 substances prioritaires dangereuses (33+15 de la DCE et 8 de la liste I de la directive 76/464/CEE).

En France, le Ministère de l'Ecologie, du Développement durable et de l'Energie est à l'origine de l'inventaire exceptionnel concernant certains composés présents dans les systèmes aquatiques mené en 2005 par les agences de l'eau dans le cadre du Plan National d'Action. Pour cela, des campagnes d'analyse et de surveillance ont été organisées. Au-delà des composés de la DCE, cette action nationale permet d'identifier des composés dits pertinents au regard de la pollution des systèmes aquatiques français et l'INERIS détermine pour ceux-ci des normes de qualité environnementales provisoires (NQE_p) afin de limiter leurs rejets. Pour résumer, le champ d'action actuel comprend les 33+15 substances de la DCE (dont 9 substances de la liste I de la directive 76/464/CEE), les 9 substances restantes de cette liste I et celles reconnues comme pertinentes au niveau national (liste II de la directive 76/464/CEE) (Figure 4).

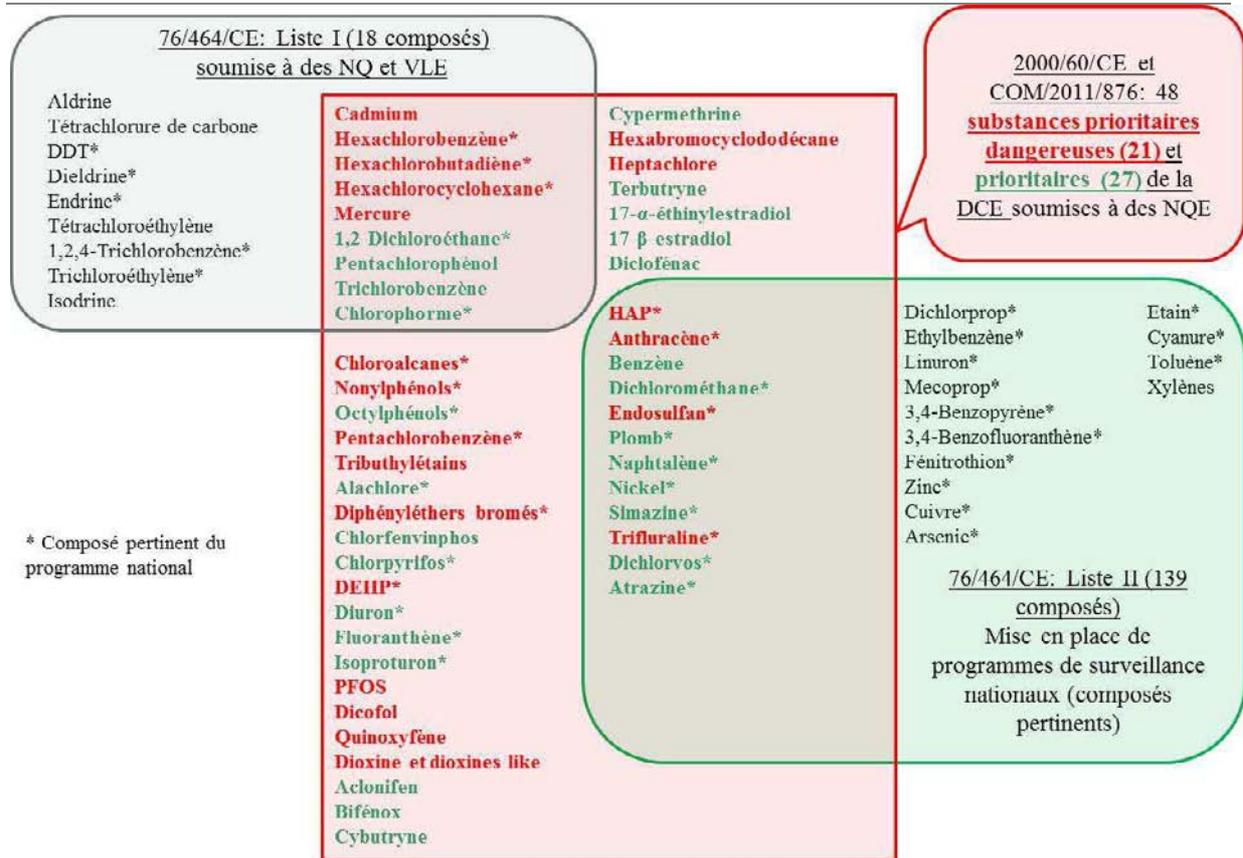


Figure 4 : Liste des composés à surveiller dans les systèmes aquatiques.

I.1.4 Composés émergents

Depuis quelques années, des phénomènes de perturbations endocriniennes sont apparus chez les organismes aquatiques, qui ne peuvent être corrélés à la présence de composés réglementés. Ces phénomènes ont amené la communauté scientifique à rechercher les composés présents dans les systèmes aquatiques capables d'engendrer ces effets. Ils sont reliés en partie à la présence de composés dits émergents, à de faibles concentrations (ng.L^{-1}) mais de manière constante. La DCE pousse les gestionnaires et les utilisateurs de l'eau à s'interroger sur la présence de ces composés dans les systèmes aquatiques car ils ne sont pas inclus dans les réglementations actuelles ni dans les programmes de surveillance. Cependant, ils sont identifiés par la communauté scientifique : il s'agit principalement de composés pharmaceutiques, de produits de soin corporel, etc. Ils sont présents à l'état de trace dans l'environnement et sont décelables seulement depuis une dizaine d'année de l'amélioration des techniques analytiques. Ces composés sont aussi retrouvés dans les eaux souterraines (Capdeville et Budzinski 2011; Vulliet et al. 2011a; Vulliet et al. 2011b; Amiridou et Voutsas 2011).

I.2 Sources de contamination

Il est important d'identifier les principales sources de contamination et les voies prédominantes d'introduction des micropolluants dans l'environnement tant de manière qualitative que quantitative. Ces sources sont nombreuses et les apports en composés vers les systèmes aquatiques sont dépendant des propriétés physico-chimiques de chacun.

Les micropolluants sont introduits dans les systèmes aquatiques via plusieurs sources : dépôts atmosphériques, lessivage des sols, lixiviation et rejets industriels et domestiques.

Certains composés comme les HAP peuvent être présents dans l'atmosphère. En effet, les HAP sont majoritairement introduits dans l'environnement par combustion et atteignent le milieu aquatique en partie par dépôts atmosphériques (Wu et al. 2011). D'autres composés comme les POPs, les pesticides ou encore les composés pharmaceutiques (par les activités d'élevage) peuvent atteindre les systèmes aquatiques par lessivage des sols par temps de pluie ou encore par lixiviation (Doong et al. 2010; Pal et al. 2010; Rasmussen et al. 2011; Wu et al. 2011; Vulliet et al. 2011b). Cependant, ces sources restent minoritaires comparées aux rejets industriels et domestiques (Schwarzenbach et al. 2010) pour des composés comme les composés pharmaceutiques ou les alkylphénols.

En effet, il est mis en évidence que certains composés ou famille de composés sont préférentiellement retrouvés dans les masses d'eau contaminées par des effluents d'origines domestiques industrielles ou / et agricoles (Kolpin et al. 2002; Focazio et al. 2008). Il apparaît (Figure 5) que les stéroïdes, les médicaments ne nécessitant pas de prescription médicale, les fragrances, les antibiotiques et les pesticides sont plus fréquemment détectés dans les eaux de surface. Ces résultats mettent aussi en évidence une empreinte industrielle avec la présence de retardateurs de flamme, de plastifiants, de détergents et de teintures, de résines et de fuels et une empreinte domestique avec la présence de détergents, de désinfectants, de médicaments en vente libre et d'antibiotiques.

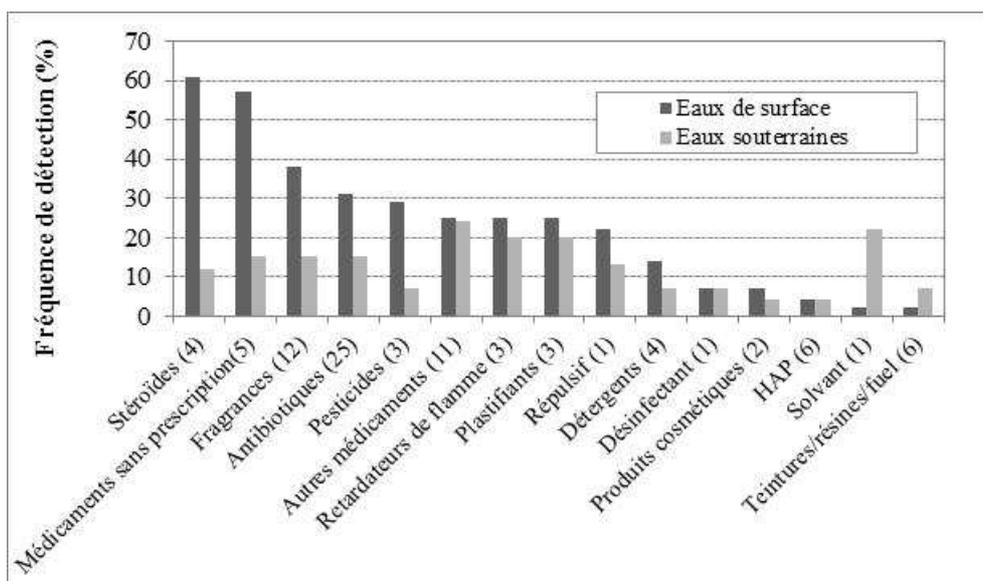


Figure 5 : Fréquence de détection de certaines familles de micropolluants organiques dans les masses d'eau aux Etats-Unis (Focazio et al. 2008).

Les rejets industriels sont majoritairement contrôlés depuis l'arrêté du 2 février 1998. Ce document constitue la réglementation française sur la pollution de l'eau (Bliefert et Perraud 2001). Cet arrêté impose aux industries de prendre des précautions afin de limiter la pollution de l'eau même accidentelle. La DREAL (Direction Régionale Environnement, Aménagement et Logement) effectue régulièrement des prélèvements afin de contrôler le respect des valeurs guides des concentrations des rejets dans le milieu.

Au niveau national, l'action de Recherche et de Réduction des Rejets de Substances Dangereuses dans l'Eau, nommée action 3RSDE, avait pour mission d'identifier les sources d'entrée de contaminants dans les systèmes aquatiques. Cette action a été menée sur environ 3000 établissements volontaires représentatifs des sites susceptibles de rejeter des substances dangereuses dans les systèmes aquatiques (installations classées, STEP, hôpitaux, etc.). Une

installation classée (IC) est une exploitation industrielle ou agricole susceptible de créer des risques ou de provoquer des pollutions ou nuisances, notamment pour la sécurité et la santé des riverains. Au total, 87 composés ou familles de composés (soit 106 composés individuels) ont été recherchés dans les rejets. Ceux-ci font partie des 33 premières substances prioritaires de la DCE (Directive 2000/60/CE), des listes I et II de la directive 74/464/CE auxquels ont été ajoutés 5 composés organiques. A l'issue de cette action, 59,4% des composés recherchés ont été quantifiés en sortie de STEP mixte ou industrielle et 76,4% dans les rejets urbains (INERIS 2008).

I.2.1 Effluents industriels

Les rejets industriels sont principalement contrôlés depuis la loi sur l'eau et les installations classées du 3 janvier 1992. Cette directive a pour objectif de préserver l'équilibre entre les différents usages de l'eau par une gestion intégrée du milieu aquatique.

La Figure 6 représente la composition des effluents industriels en famille de composés recherchés dans l'action 3RSDE. Le pourcentage de détection des 106 composés sélectionnés dans les effluents industriels est donné en annexe 1. Les différents secteurs industriels étudiés sont : les industries de la chimie (chimie et parachimie ; fabrication de peintures, pigments, colorants et plastiques ; pharmaceutiques et phytosanitaires ; et pétrolières) ; les industries agroalimentaires, les industries papetières ; les industries de traitements et revêtements de surface ; les industries métallurgiques, les industries de textile, cuirs et peaux ; les industries de traitements et stockages des déchets ; les cimenteries ; les verreries et cristalleries ; les installations nucléaires et les établissements hospitaliers.

Les 106 composés recherchés ont été détectés dans les effluents industriels, les 20 y étant les plus quantifiés sont : 5 composés organiques dangereuses prioritaires (DEHP[◇], 4-nonylphénol[◇] (4-NP), anthracène[◇], benzo(b)fluoranthène[◇] et le pentabromodiphényléther[◇]), 4 substances prioritaires (naphtalène[◇], chloroforme[◇], fluoranthène[◇] et diuron[◇]), 1 composé de la liste I (tétrachloroéthylène), 8 composés de la liste II (toluène[◇], tributylphosphate, monobutylétain, xylènes, dibutylétain, 2,4,6-trichlorophénol, biphényle[◇] et éthylbenzène[◇]) et 2 autres composés (4-tert-butylphénol et acénaphène) (INERIS 2008). Ces composés sont soit directement rejetés dans les systèmes aquatiques soit ils rejoignent les eaux résiduaires domestiques afin d'être traités dans les STEP mixtes.

◇ : substance pertinente

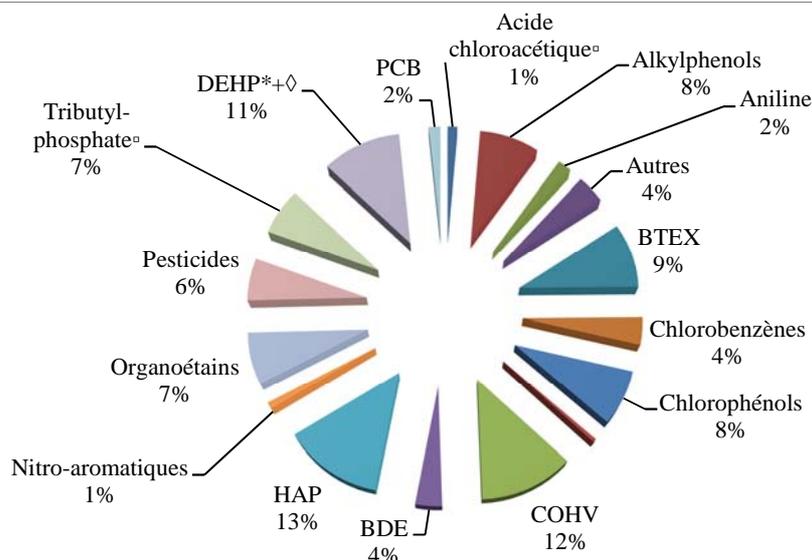


Figure 6 : Composition des effluents industriels en famille de composés (INERIS 2008)

COHV : Composés Organiques Halogénés Volatils ; BDE : BromoDiphénylEthers ; *+◇ : substance prioritaire dangereuse pertinente ; ◻ : composé de la liste II.

I.2.2 Effluents de STEP

Dans le cadre de l'action 3RSDE, les rejets de 39 STEP relevant de la nomenclature des IC (collectives industrielles⁶ ou mixtes⁷) et 167 STEP relevant de la loi sur l'eau (mixtes et non mixtes⁸) ont été analysés. Les stations d'épuration peuvent être mixtes ou non ; les mixtes reçoivent les eaux résiduaires domestiques et industrielles, les non mixtes reçoivent seulement les domestiques (INERIS 2008).

I.2.2.1 STEP industrielles ou mixtes (IC)

La figure 7 représente la composition des effluents de STEP industrielles ou mixtes en famille de composés organiques étudiés dans l'action 3RSDE. Le pourcentage de détection par composés est donné en annexe 1. Certains composés détectés dans les effluents industriels comme les PCB, quelques HAP (anthracène ou encore benzo(a)pyrène), les chlorobenzènes, les chlorophénols, les composés organiques halogénés volatils (COHV) et les pesticides ne le sont pas dans les effluents de STEP d'installations classées. Parmi les 106 composés recherchés, 61 ont été détectés dans les effluents des STEP d'IC dont les 20 plus détectés sont : 3 substances prioritaires dangereuses de la DCE (DEHP[◇], pentabromodiphényléther[◇], 4-NP[◇]), 8 substances prioritaires (chloroforme[◇], diuron[◇], naphthalène[◇], chlorure de méthylène[◇], atrazine[◇], 4-tert-octylphénol[◇] (4-t-OP), benzène, et pentachlorophénol), 3 de la liste I (tétrachloroéthylène, trichloréthylène[◇], tétrachlorure de carbone), 5 appartenant à la liste II (2,4,6-trichlorophénol, 1,4-dichlorobenzène, 2,4-dichlorophénol, monobutylétain et toluène[◇]) et le 4-tert-butylphénol (INERIS 2008). Les rejets de STEP mixtes ont une empreinte

⁶ Station d'épuration collective d'eaux résiduaires industrielles en provenance d'au moins une installation classée soumise à autorisation.

⁷ Station d'épuration mixte ayant une capacité nominale de traitement d'au moins 10 000 équivalent-habitants, lorsque la charge des eaux résiduaires industrielles en provenance d'installations classées autorisées est supérieure à 70% de la capacité de la station en demande chimique en oxygène.

⁸ Station d'épuration non mixte : ouvrage ne recevant que des eaux résiduaires domestiques.

industrielle, notamment avec la forte présence de composés organiques halogénés volatils, de BTEX et de composés chlorés.

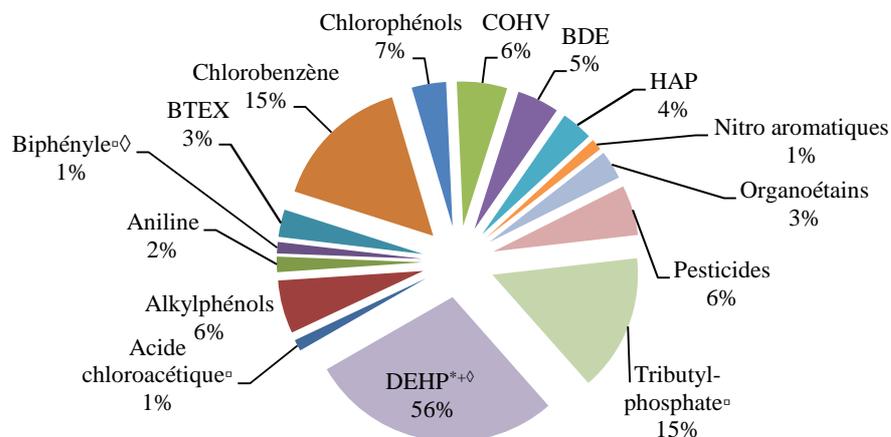


Figure 7 : Composition des effluents de STEP industrielles ou mixtes (IC) en famille de composés (INERIS 2008)

*+◇ : substance prioritaire dangereuse pertinente ; ° : composé de la liste II.

1.2.2.2 STEP urbaines

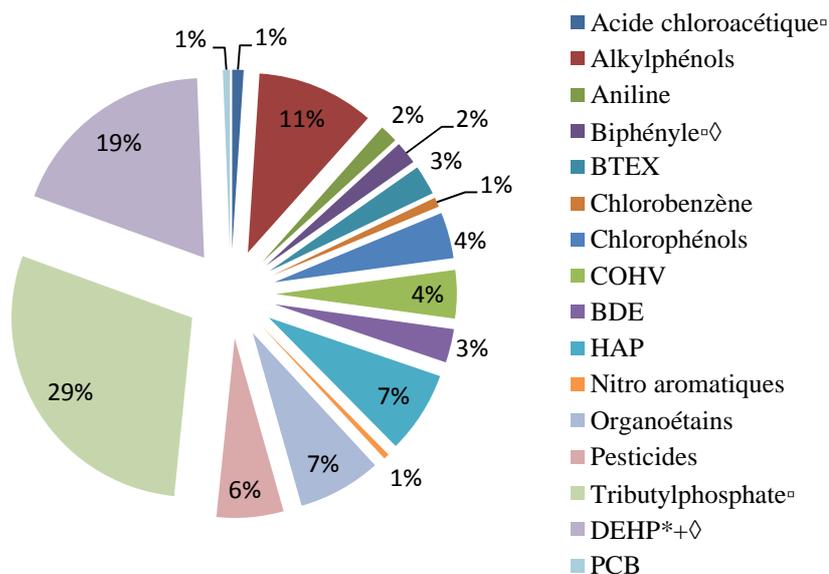


Figure 8 : Composition des effluents de STEP urbaines en substances organiques prioritaires et pertinentes (INERIS 2008)

*+◇ : substance prioritaire dangereuse pertinente ; ° : composé de la liste II ; °◇ : composé de la liste II et pertinent.

La Figure 8 représente la composition des effluents de STEP urbaines en famille de composés organiques étudiées dans l'action 3RSDE. La composition par composés est donnée en annexe 1. Dans les effluents de STEP urbaines, 81 composés sur 106 recherchés ont été détectés. Cependant les composés chlorés et bromés sont moins présents que dans les effluents de STEP d'installation classée. Les composés les plus quantifiés dans ces effluents sont 4 substances prioritaires dangereuses (DEHP[◇], 4-NP[◇], benzo(b)fluoranthène[◇], et benzo(a)pyrène[◇]), 7 substances prioritaires (diuron[◇], naphtalène[◇], fluoranthène[◇], 4-t-OP[◇], chloroforme[◇], atrazine[◇] et chlorure de méthylène[◇]), le tétrachloroéthylène appartenant à la liste

I, 5 composés de la liste II (tributylphosphate, monobutylétain, 2,4,6-trichlorophénol, toluène[◇] et 2,4-dichlorophénol) et 3 autres composés (4-tert-butylphénol, lindane[◇] et acénaphène).

1.3 *Choix des composés*

De nombreux composés sont présents dans les systèmes aquatiques. Certains sont réglementés au niveau européen (substances prioritaires dangereuses et prioritaires) et au niveau national (substances pertinentes) tandis que d'autres ne le sont pas (composés émergents). Les sources de contamination sont multiples et variées : dépôts atmosphériques, lessivage des sols, lixiviation et rejets industriels et/ou domestiques. Tous ces composés sont présents à de faibles concentrations dans les systèmes aquatiques (du ng.L⁻¹ au µg.L⁻¹) et certains d'entre eux sont détectés dans les effluents industriels ou de STEP.

Ces travaux de thèse se sont focalisés sur trois classes de composés : les alkylphénols et leurs dérivés éthoxylés, le bisphénol A et les composés pharmaceutiques. D'une part, les alkylphénols, surfactants non ioniques, sont très présents dans les systèmes aquatiques (Focazio et al. 2008). Le 4-NP (mélange technique) et le 4-t-OP sont classés comme substances prioritaires dangereuses de la DCE. Le bisphénol A (BPA), plastifiant, est aussi très présent dans les systèmes aquatiques. Les alkylphénols et le BPA sont largement utilisés dans les industries. Ces composés sont introduits continuellement dans les systèmes aquatiques par les effluents industriels, agricoles et domestiques (Dupuis et al. 2012). De plus, ces composés sont préoccupants pour la santé publique de par leur fort pouvoir d'exposition et leur toxicité avérée. Et d'un autre côté, les composés pharmaceutiques sont aussi régulièrement détectés dans les milieux aquatiques notamment ceux non soumis à la prescription médicale (Kolpin et al. 2002; Focazio et al. 2008; Miège et al. 2009a). Ces composés sont quant à eux non soumis à la réglementation et sont considérés comme émergents. Le diclofénac, le 17- α -éthinyloestradiol et le 17- β -estradiol ont été cependant proposés en tant que substances prioritaires de la DCE. Les composés pharmaceutiques sont largement utilisés et sont introduits dans les systèmes aquatiques principalement via les rejets de STEP.

II. Composés étudiés

II.1 *Les alkylphénols polyéthoxylés (APEO)*

II.1.1 Généralités

Les alkylphénols polyéthoxylés (APEO) font partie de la classe des surfactants non ioniques (EPA, 2010) : les plus répandus et les plus utilisés sont les nonylphénols polyéthoxylés (NPEO). Les NPEO représentent approximativement 80 à 85% du volume total des APEO (EPA 2010). En 1984, la communauté scientifique a montré que les produits de dégradation des alkylphénols éthoxylés étaient plus toxiques que les composés précurseurs. Certains APEO ont donc été soit interdits soit restreints d'utilisation en Europe (Renner 1997).

Les APEO ont un caractère amphiphile avec une queue hydrophile et polaire (chaîne éthoxylée) et une tête hydrophobe et apolaire (chaîne alkyle) (Figure 9).

R= C₈H₁₇

R= C₉H₁₉

m = n-1 avec 1 < n < 100

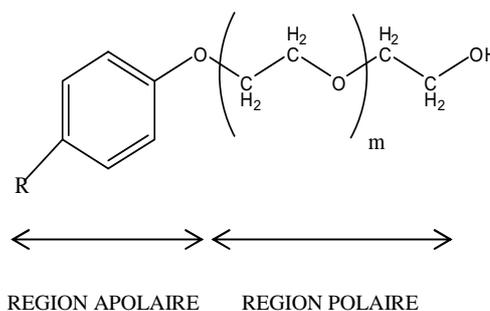


Figure 9 : Molécule d'alkylphénol polyéthoxylé.

Les AP sont largement utilisés en industrie et servent d'additifs ou d'antioxydants dans la production de plastique (Dupuis et al. 2012). Les APEO sont quant à eux largement utilisés en tant que surfactants (Dupuis et al. 2012) et engendrent la formation d'AP par dégradation dans l'environnement (Soares et al. 2008). Dans les mélanges commerciaux, 80% des AP sont des 4-NP (mélange technique) et 20% des octylphénols (OP). Le 4-NP est un mélange d'isomères composé de 3 à 6% d'ortho-NP, de 90 à 93% de para-NP et de 2 à 5% de décylphénol (Rabouan et al. 2012). Le terme OP désigne uniquement le 4-t-OP car seul cet isomère est utilisé en industrie. Les APEO sont des composés d'origine anthropique synthétique. A l'heure actuelle il n'y a pas d'exemple de synthèse naturelle (INERIS 2005a).

II.1.2 Utilisation des APEO

Les APEO sont des produits aux propriétés dispersantes⁹, émulsifiantes¹⁰ et mouillantes¹¹. Ces composés sont donc utilisés en combinaison avec d'autres produits au sein de formulations commerciales, dans une très vaste gamme d'applications dans différents secteurs industriels (INERIS 2005b). Leurs principaux usages sont (INERIS 2005b) :

- Production et formulation de produits destinés à divers secteurs industriels comme les produits détergents, dispersants, désinfectants ou les flocculants pour les eaux usées.
- Polymères en émulsion (polymérisation en phase aqueuse) et peintures ; dans ce cas les APEO sont présents dans les additifs dispersants.
- Produits phytosanitaires où les APEO sont utilisés comme agents mouillants, dispersants et émulsifiants.
- Les engrais : les APEO sont utilisés comme antimottants et anticollants pour la préparation de l'acide phosphorique.
- Industries électriques et électroniques où les APEO peuvent être utilisés dans des solutions de nettoyage des composants électroniques.
- Nettoyage industriel et domestique
- En tannerie : les APEO sont utilisés dans différents produits assurant diverses fonctions (fongicides, produits utilisés lors du dégraissage et produits pour la teinture) et en industrie textile.

⁹ Les agents dispersants permettent de fixer les particules hydrophobes dans une solution hydrophile.

¹⁰ Les agents émulsifiants permettent de mélanger deux liquides non miscibles.

¹¹ Les agents mouillants permettent un plus grand étalement d'un liquide sur un solide.

- Production de papier et de pâte à papier : les APEO sont utilisés dans les produits de désencrage des papiers à recycler, des produits anti-mousses et des dispersants.

II.1.3 Propriétés des APEO

II.1.3.1 Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des APEO dépendent de la longueur des chaînes alkyle et éthoxylée.

D'après les travaux menés par Ahel et Giger (Ahel et Giger 1993a), la solubilité aqueuse des APEO augmente avec la longueur de la chaîne éthoxylée et diminue lorsque la longueur du radical alkyle augmente (Tableau 1). Elle augmente aussi en fonction de la température entre 2°C et 25°C ; au-delà, les variations ne sont plus significatives (Ahel et Giger 1993a). Par exemple, le 4-NP a une solubilité aqueuse de 6,4 mg.L⁻¹ à 25°C et de 4,6 mg.L⁻¹ à 2°C ; le nonylphénol-monoéthoxylé (NP1EO) 3,4 mg.L⁻¹ à 25°C et 2,8 mg.L⁻¹ à 2°C et le nonylphénol-diéthoxylé (NP2EO) 3,7 mg.L⁻¹ à 25°C et 3,6 à 2°C (Ahel et Giger 1993a).

Le coefficient de partage octanol / eau (K_{OW}) augmente lorsque la longueur de la chaîne éthoxylée diminue (Ahel et Giger 1993b). Plus cette constante est élevée, plus le composé correspondant a des propriétés lipophiles (Tableau 1). La chaîne éthoxylée est le groupe polaire de ces composés : moins elle est présente, plus le caractère hydrophobe et lipophile du composé augmente. De ce fait, les composés à courte chaîne éthoxylée seront plus facilement accumulés dans les organismes aquatiques.

Le coefficient de partage carbone organique / eau (K_{OC}) permet de renseigner sur les propriétés d'adsorption d'un composé. Plus cette constante est élevée, plus le composé en question a une affinité pour la matière organique. D'après le Tableau 1, ce coefficient est compris entre 5,18 et 5,46 induisant une adsorption non négligeable des APEO sur la matière organique (sédiments, matières en suspension, sols). Cette adsorption peut être justifiée par différentes interactions : hydrophobes entre les chaînes alkyles et la phase particulaire (les capacités d'adsorption seront d'autant plus grandes lorsque la chaîne alkyle augmente) et hydrophiles (liaisons hydrogènes) entre les groupements éthoxylés et les sédiments (les capacités d'adsorption augmentent avec la longueur de la chaîne éthoxylées (Lara-Martin et al., 2008).

Les propriétés physico-chimiques de ces composés montrent qu'ils peuvent être retrouvés dans tous les compartiments des systèmes aquatiques : tant dans la phase dissoute que dans la phase particulaire mais aussi dans les sols. Ceci est d'autant plus vrai que le nombre de groupements éthoxylés diminue.

Tableau 1 : Principales propriétés physico-chimiques des APEO, ^(a) (Ahel et Giger 1993a), ^(b)(Ahel et Giger 1993b), ^(c) (Ferguson et al. 2001), ^(d) (European commission 2003a).

Composés	Numéro CAS	Masse Moléculaire (g/mol)	Solubilité Aqueuse (mg/L à 20,5°C)	Log K _{OW}	Log K _{OC}
4-NP	84852-15-3	220,3	5,43 ^(a)	4,48 ^(b)	5,39 ^(c)
NP1EO	104-35-8	281,4	3,02 ^(a)	4,17 ^(b)	5,46 ^(c)
NP2EO	20427-84-3	308,5	3,38 ^(a)	4,21 ^(b)	5,18 ^(c)
4-t-OP	140-66-9	206,3	12,6 ^(a)	4,12 ^(b)	5,18 ^(c)
BPA	80-05-7	228,29	300 ^(d)	3,4 ^(d)	6,57 ^(d)

II.1.3.2 Propriétés de dégradation

➤ Dégradation photochimique

Ahel et al. (1994a) ont mis en évidence qu'il fallait une énergie lumineuse équivalente à $0,09 \text{ m}^2 \cdot \text{kW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (correspondant à l'énergie lumineuse du soleil à midi en été) pour dégrader le 4-NP. Dans ce cas, 30% du 4-NP et du 4-t-OP présents dans les quelques centimètres de surface de la colonne d'eau sont dégradés en un seul jour. La dégradation photochimique des nonylphénols polyéthoxylés est quant à elle insignifiante (Ahel et al. 1994a).

➤ Biodégradation

La biodégradation (Figure 10) se déroule en deux étapes : la biodégradation primaire et la biodégradation ultime (Ahel et al. 1994b).

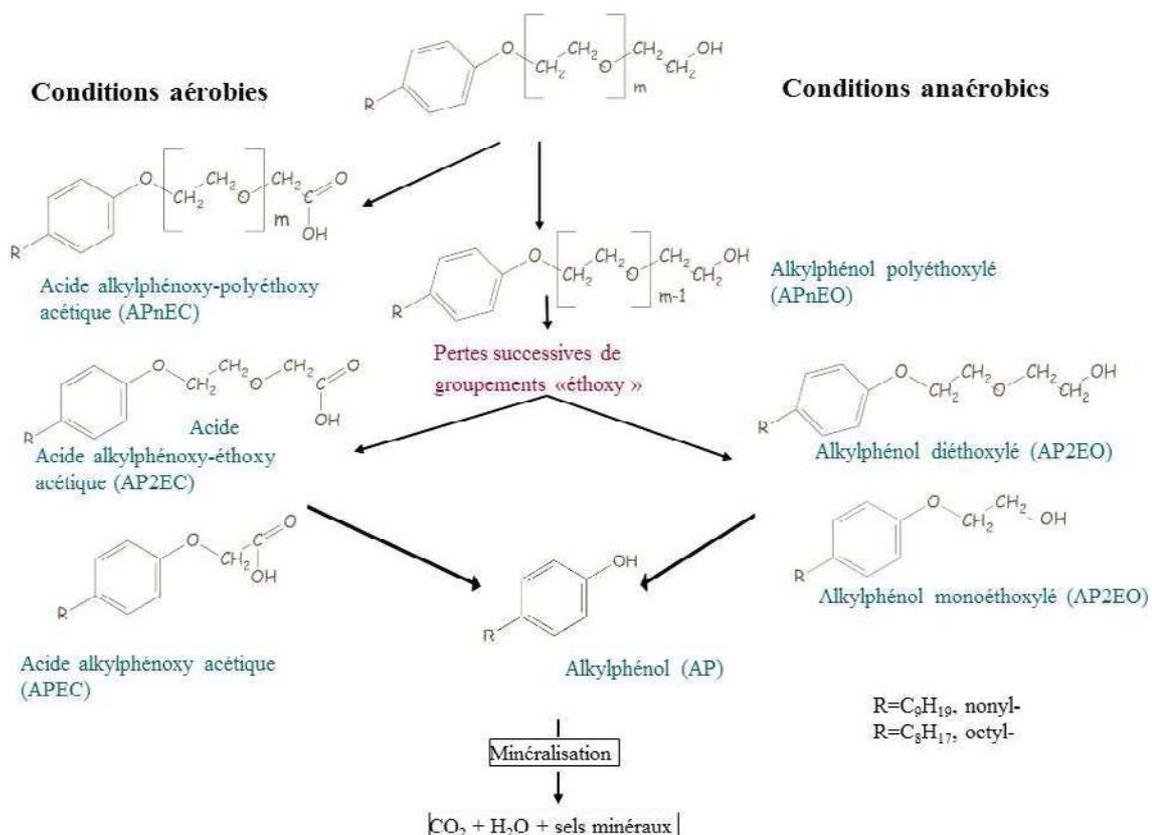


Figure 10 : Schéma de biodégradation des APEO (Ahel et al. 1994b).

La biodégradation primaire des APEO aboutit à la formation de métabolites persistants. La molécule initiale est oxydée et altérée afin de perdre ses propriétés de tensioactifs. En milieu aérobie, il y a formation d'acide alkylphénoxy-polyéthoxy acétique (APEC) perdant successivement des groupements éthoxylés. En milieu anaérobie, les APEO perdent au fur et mesure des groupements éthoxylés. D'une façon générale, la biodégradation primaire amène, si elle s'avère complète, à la formation de l'alkylphénol (4-NP et/ou 4-t-OP), composé persistant dans l'environnement. Ces composés sont formés en plus grande quantité en milieu anaérobie. La biodégradation ultime conduit à la conversion complète des molécules en dioxyde de carbone (CO₂), eau (H₂O) et sels minéraux (minéralisation).

II.1.4 Devenir des APEO dans l'environnement

II.1.4.1 Sources d'introduction des APEO dans les systèmes aquatiques

De par les domaines d'application des APEO, trois voies majoritaires sont responsables de leur introduction dans les systèmes aquatiques. La voie prédominante est celle des rejets de STEP de par les fortes concentrations retrouvées dans les effluents (Ahel et al. 1994b; Cespedes et al. 2008; Soares et al. 2008; Janex-Habibi et al. 2009). Les traitements épuratoires de ces installations permettent de diminuer ces concentrations mais de façon partielle amenant à un apport continu vers les systèmes aquatiques. Deux autres sources restent minoritaires : les apports dans les systèmes aquatiques par les eaux de ruissellement (utilisation d'engrais en agriculture, épandage de boues issues de STEP, retombés atmosphériques, etc) et par volatilisation (European commission 2002).

II.1.4.2 Devenir des APEO dans les STEP

La principale voie d'entrée des APEO dans les milieux aquatiques est le rejet des effluents de STEP. Les eaux en entrée de STEP contiennent de grosses quantités d'APEO, d'autant plus lorsque les bassins versants sont urbanisés et industrialisés (Tableau 2) (Coquery et al. 2011, annexe supplémentaire). Ces composés sont assez bien éliminés dans les STEP en fonction des traitements mis en œuvre mais restent présents à des concentrations élevées (Tableau 2) (Choubert et al. 2011a). Cependant, les phénomènes de biodégradation ainsi que la spéciation des composés amènent à une quantité non négligeable de 4-NP, NP1EO et NP2EO dans les boues (Cespedes et al. 2008; Janex-Habibi et al. 2009).

Tableau 2 : Présence des APEO dans les eaux usées brutes et les eaux traitées de STEP (concentrations en $\mu\text{g.L}^{-1}$ [min-max]).

Localisation	Espagne		France	
	Eaux usées brutes	Eaux traitées	Eaux usées brutes	Eaux traitées
4-NP	10,2 [5,6-17,5]	0,9 [0,3-2,1]	11,6 [1,0-101,6]	1,0 [0,1-7,8]
4-t-OP	2,6 [1,3-4,0]	0,2 [0,1-0,3]	1,0 [0,2-8,7]	0,2 [0,1-1,3]
NP1EO			14,3 [0,6-61,9]	2,6 [0,1-35,9]
NP2EO	6, 7 [1,5-10,3]	4,1 [3,6-5,0]	4,4 [0,3-12,9]	0,8 [0,1-4,0]
Références	(Cespedes et al. 2008)		(Janex-Habibi et al. 2009)	

Il a été montré par Ahel et son équipe (1994b) que l'élimination des APEO dans les STEP est incomplète. Ils estiment qu'au moins 60 à 65% des composés alkylphénoliques introduits dans les STEP sont rejetés dans l'environnement. 60% de ces composés s'avèrent être des métabolites lipophiles tels que le 4-NP, NP1EO et NP2EO. D'après cette étude, seule une faible partie du 4-NP atteint les systèmes aquatiques via les eaux traitées secondaires, la majorité du 4-NP se retrouvant plutôt dans les boues issues des STEP (Ahel et al. 1994b).

Une étude menée sur 13 STEP (Janex-Habibi et al. 2009) a montré que le 4-t-OP et le NP1EO sont éliminés de la phase dissoute à hauteur de 68 et 91% (valeur médiane). L'élimination des APEO dans les différentes STEP reste très variable du fait de leur dégradation et de leur spéciation. La formation de 4-NP est généralement induite en plus grande quantité en conditions anaérobies, allant jusqu'à 463% d'augmentation dans une des STEP étudiée.

Les 4-NP, 4-t-OP, NP1EO et NP2EO sont retrouvés entre 60 et 100% dans la phase particulaire des eaux usées brutes (Cespedes et al. 2008; Janex-Habibi et al. 2009). De ce fait, la diminution des concentrations de ces composés après les procédés primaires avec

traitements physico-chimiques laisse suggérer leur adsorption sur les boues (Ahel et al. 1994b). En effet la particularité de ces traitements est l'ajout d'une substance permettant la coagulation de la matière organique puis sa précipitation et, de ce fait entraînent une diminution de la teneur en matière en suspension (MES).

Les traitements secondaires majoritairement mis en œuvre en France sont des procédés biologiques à boues activées. Avec ces procédés, les AP et APEO sont majoritairement bien éliminés dans la phase dissoute mais sont retrouvés en grande quantité dans les boues (Janex-Habibi et al. 2009). L'acide alkylphénoxy acétique (NP1EC) est détecté à des concentrations plus fortes en sortie de STEP (Clara et al. 2005). En effet, d'après le schéma de biodégradation des APEO (Figure 10), les APEC sont formés en conditions aérobies et perdent au fur et à mesure leur groupement éthoxylé. Dans la majorité des traitements épuratoires des STEP, notamment les traitements à boues activées, la dégradation des APEO amènent à la formation des APEC dont le NP1EC.

Quelques paramètres comme la température ou encore le temps de résidence ont une influence sur le taux d'élimination des APEO. Les 4-NP, NP1EO et NP2EO sont préférentiellement éliminés à plus forte température (Ahel et al. 1994b; Tanghe et al. 1998), lorsque le temps de résidence est long, ce qui limite l'adsorption et la dégradation par les micro-organismes (Gonzalez et al. 2007), et lorsque le carbone et l'azote sont traités comme paramètres majeurs (McAdam et al. 2011). Les bioréacteurs à membranes permettent d'obtenir de meilleurs rendements d'élimination meilleurs que ceux obtenus avec les boues activées. Ce procédé permet une meilleure dégradation des composés et une diminution de leur adsorption dans les boues (Gonzalez et al. 2007; Cases et al. 2011).

II.1.4.3 *Devenir des APEO dans les systèmes aquatiques*

Un des premiers phénomènes ayant lieu est l'effet de dilution des composés dans la colonne d'eau. Après leur introduction dans les systèmes aquatiques, deux phénomènes se produisent majoritairement : la biodégradation et l'adsorption.

La concentration des composés alkylphénoliques varie en fonction du site de prélèvement, de la saison (étiage / crue) et du moment de la journée (fonctionnement des STEP) (Ahel et al. 1994c). Les valeurs de concentrations environnementales de la phase dissoute vont de quelques ng.L⁻¹ à plusieurs µg.L⁻¹ (Tableau 3).

Tableau 3 : Présence des APEO dans la phase dissoute dans les systèmes aquatiques (concentrations en µg.L⁻¹ [min-max]).

	Espagne, fleuve Llobregat	Rivières européennes	Espagne, fleuve l'Ebre	Chine, rivière Jialu	Espagne, rivière de Ter	USA, Baie de Jamaïque
4-NP	0,1 [0,02-0,5]	0,1 [nd-4,5]	1,2 [0,2-24,3]	0,6 [0,08-1,5]	0,3 [0,08-1,3]	0,2 [0,08-0,4]
4-t-OP	0,06 [0,06-0,9]	0,01 [nd-0,6]	0,07 [0,01-1,5]	0,04 [0,02-0,06]	0,3 [0,06-0,5]	0,003 [0,001-0,008]
NP1EC	1,8 [0,06-6,1]	0,06 [nd-7,5]				
NP1EO					1,6 [0,7-3,3]	0,1 [0,06-0,3]
NP2EO	0,3					0,2 [0,04-0,5]
Références	(Brix et al. 2012)	(Loos et al. 2009)	(Navarro et al. 2010)	(Zhang et al. 2011)	(Cespedes et al. 2008)	(Ferguson et al. 2001)

L'adsorption sur les MES se fait jusqu'à obtenir un équilibre entre la phase dissoute et la phase particulaire. D'après Isobe et al. (2001). 20% du 4-NP se trouve associé à la phase particulaire. La plupart des études menées sur la phase aqueuse ne tient compte que de la

phase dissoute et pas de la phase particulaire qui peut jouer un rôle sur l'état de contamination d'un milieu. Une étude menée par Cailleaud et al. (2007) rapporte que les MES de l'estuaire de Seine, au niveau de la ville de Tancarville, contiennent des concentrations de 204 ng.L⁻¹, 231 ng.L⁻¹, 167 ng.L⁻¹ et 1672 ng.L⁻¹ pour le NP1EC, le NP1EO, le NP2EO et le 4-NP respectivement. Cespedes et son équipe (2008) confirment qu'il est primordial d'analyser la phase particulaire. De par leur hydrophobicité, les NP et 4-t-OP sont préférentiellement adsorbés sur les MES.

De plus, les APEO sont retrouvés dans les sédiments qui peuvent jouer le rôle de puits. Les valeurs des concentrations environnementales trouvées dans les sédiments sont comprises entre quelques ng.g⁻¹ et plusieurs centaines de ng.g⁻¹ (Tableau 4).

Tableau 4 : Présence des APEO dans les sédiments des systèmes aquatiques (concentrations en ng.g⁻¹ de masse sèche [min-max]).

	Espagne, fleuve Llobregat	Espagne, fleuve l'Ebre	Chine, rivière Jialu	USA, Baie de Jamaïque
4-NP	15 [0-79]	876 [69-5999]	257 [145-349]	2108 [7-13700]
4-t-OP	3	28 [1-143]	21 [15-31]	7 [2-45]
NP1EC	50 [2-241]			
NP1EO				2617 [26-13300]
NP2EO				907 [16-3580]
Références	(Brix et al. 2012)	(Navarro et al. 2010)	(Zhang et al. 2011)	(Ferguson et al. 2001)

II.1.4.4 Devenir dans les organismes aquatiques

Les APEO sont principalement absorbés au niveau des branchies et/ou par la voie dermique chez les organismes aquatiques (Arukwe et al. 2000; Pickford et al. 2003). Cependant, la voie trophique ne peut pas être négligée et plus particulièrement lorsqu'il est question d'un milieu où la contamination en APEO s'avère chronique.

Dans une étude menée par Cailleaud et al. (2011), le 4-NP et le NP1EC sont accumulés dans un copépode (*Eurytemora affinis*) avec des facteurs de bioconcentration de 324 et 3,02 respectivement. Ces résultats laissent penser que les prédateurs de ces copépodes peuvent être contaminés par ces mêmes composés par une bioamplification le long de la chaîne trophique.

II.1.5 Toxicité et perturbation endocrinienne

A partir de tests de toxicité sur les APEO, les PNEC (Predicted No Effect Concentration) dans l'eau douce pour le 4-NP et le 4-t-OP ont été déterminées par l'INERIS (fiches substances¹²). Ils sont de 0,33 µg.L⁻¹ pour le 4-NP et de 0,061 µg.L⁻¹ pour le 4-t-OP. Si le rapport PEC (Predicted Environmental Concentration)/PNEC est supérieur à 1, des risques substantiels environnementaux peuvent exister (European commission 2003b). Cependant, les concentrations observées dans certains systèmes aquatiques sont supérieures aux PNECs fixées par l'INERIS (Tableau 3) et peuvent donc induire des effets toxiques sur les organismes aquatiques. Dans l'Ebre, en Espagne, les concentrations maximales en 4-NP sont 74 fois plus élevées que la PNEC fixée et 25 fois plus pour le 4-t-OP (Navarro et al. 2010) (Tableau 4).

Les APEO, et notamment le 4-NP, sont d'une préoccupation majeure pour la santé publique de par leur fort potentiel d'exposition et leur toxicité avérée en tant que perturbateur

¹² www.ineris.fr/substances/fr/

endocrinien (Dupuis et al. 2012). Les perturbateurs endocriniens sont des substances naturelles ou anthropiques qui altèrent les fonctions du système endocrinien en induisant des effets nocifs sur la santé des organismes et de ses descendants. Les APEO sont des perturbateurs endocriniens et, plus précisément, des oestrogéno-mimétiques ayant une action agoniste du 17- β -oestradiol (Figure 11).

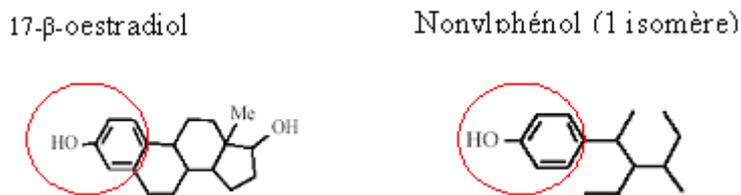


Figure 11 : Comparaison de la structure du 17- β -oestradiol et du 4-NP.

Les APEO induisent la synthèse de vitellogénine dans des cellules mâles (White et al. 1994; Jobling et al. 1996), une diminution de la croissance des testicules chez les truites arc-en-ciel mâles (*Oncorhynchus mykiss*) (Jobling et al. 1996), et une diminution faible de 17- β -oestradiol et significative de testostérone chez la moule (*Dreissena polymorpha*) (Riva et al. 2010). Le 4-NP et le NP1EC induisent la synthèse de pregnenolone et affectent la reproduction de *Eurytemora affinis* (copépodes) (Cailleaud et al. 2011).

II.1.6 APEO et réglementations

A la suite du plan d'action OSPAR en 1992, les NP et NPEO ont été inscrits sur la liste « OSPAR » des produits chimiques devant faire l'objet de mesures prioritaires en 1998 ; ceci découlant d'une étude d'évaluation des risques qui a révélé que le rapport PEC / PNEC des APEO était voisin de 1 dans certains systèmes aquatiques.

En 2000, les 4-NP et 4-t-OP entrent dans la liste des 33 substances classées comme « prioritaires » et « prioritaires dangereuses » de la Directive européenne Cadre sur l'Eau (DCE, 2000/60/CE). A la suite de cette directive, les 4-NP et NPEO ont fait l'objet d'une interdiction d'emploi et de mise sur le marché dans certaines applications à partir du 17 janvier 2005 (directive 2003/53/CE). Puis, la directive fille de la DCE (2008/105/CE) fixe des NQE dans les eaux de surface qui sont de 0,33 et 0,01 $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour le 4-NP et 4-t-OP respectivement.

Le 3 mai 2011, l'assemblée nationale a adopté une loi visant à interdire la fabrication, l'importation et la vente de produits contenant des APEO en France. En effet ces composés sont utilisés depuis de nombreuses années par les industriels et au-delà de leur présence dans les systèmes aquatiques, leur bioaccumulation dans les organismes est inquiétant. Il a été reconnu que ces composés et plus particulièrement le 4-NP ont une activité hormonale.

II.2 Le Bisphénol A (BPA)

II.2.1 Généralités

Le BPA est une molécule d'origine anthropique contenant deux groupements phénols (Figure 12). Ce composé est utilisé dans la fabrication de nombreux produits tant dans le domaine industriel que domestique. Il est principalement utilisé dans la production de polymères en tant qu'additif pour ces propriétés durcissantes et en tant que révélateur pour les papiers thermiques.

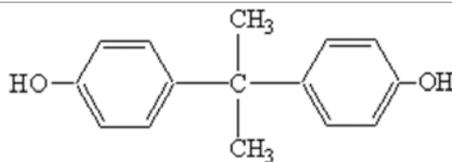


Figure 12 : Molécule de BPA.

La consommation de BPA au sein de l'Union Européenne était de 685 000 tonnes / an entre 1996 et 1999 et a augmenté de 37% entre 2005 et 2006 (1 084 870 tonnes / an) (European commission 2003a).

II.2.2 Utilisation du BPA

Le BPA est majoritairement employé dans la production de polycarbonates (487 000 tonnes / an dans l'Union Européenne). Il est cependant utilisé dans de nombreuses applications (European commission 2003a; INERIS 2010) :

- En tant que monomères dans la fabrication de polycarbonates, de résines époxy, de polyacrylates et de plastiques recyclés (vinyle ou polychlorure de vinyle). Les polycarbonates (plastiques rigides et transparents) ont de nombreuses applications, en lien avec l'alimentation (emballage, biberon, récipient, petit électroménager,...) ou non (pare-chocs automobiles, lunettes,...). Les résines époxy sont présentes dans les revêtements de cannettes et de conserves, les peintures,... Les polyacrylates sont utilisés pour la fabrication de matériel médical ainsi que dans les ciments dentaires.
- En tant qu'additifs dans les produits retardateurs de flammes.
- En tant que révélateur pour les papiers thermiques (reçus de carte bleue par exemple, badge d'identification,...).
- En tant que liant, plastifiant et durcisseur dans les peintures, laques,...

II.2.3 Propriétés du BPA

II.2.3.1 Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques du BPA sont regroupées dans le Tableau 1. Ce composé a une solubilité aqueuse de 300 mg/L à 20,5°C, une bonne affinité pour la matière organique (log K_{OC} de 6,57) et pour les lipides (log K_{OW} de 3,4). Le BPA n'est pas volatil et a un temps de vie très court dans l'atmosphère.

II.2.3.2 Propriétés de dégradation

Le BPA est sensible à la photodégradation dans les systèmes aquatiques. Ce processus nécessite une énergie suffisante et une période de temps assez longue (Barbieri et al. 2008). Trois procédés peuvent être utilisés pour dégrader le BPA (Gassara et al. 2011) : les procédés microbien, physico-chimique et enzymatique.

Le BPA peut être dégradé par différentes bactéries dans les systèmes aquatiques. Cette biodégradation est bactérie dépendante avec une bonne efficacité mais sur des périodes très longues (Gassara et al. 2011). Des métabolites sont formés, certains sont dégradés par ces mêmes bactéries et d'autres ne le sont pas. Lobos et al. (1992) ont étudié les voies de biodégradation du BPA en présence de bactéries anaérobies dans des boues issues de STEP.

Ils ont mis en évidence deux voies de dégradation. La voie majoritaire amène à la formation de deux métabolites (l'acide 4-hydroxy benzoïque et la 4-hydroxy acétophénone), rapidement dégradés en CO₂ (Staples et al. 1998).

D'autres procédés utilisant des substances chimiques (chlore, fer, ozone) ont été testés afin de dégrader le BPA. Ces traitements s'avèrent simples, rapides et peu coûteux mais sont à l'origine de la formation de nombreux métabolites (Gassara et al. 2011).

La catalyse enzymatique est plus efficace et plus rapide pour dégrader le BPA et les produits de dégradation issus de ce procédé sont moindres qu'avec les dégradations microbiennes et / ou physico-chimiques. Cependant, les procédés d'isolement et de production d'enzymes sont très coûteux et celles-ci sont très rapidement inactivées en présence de BPA (Gassara et al. 2011).

II.2.4 Devenir du BPA dans l'environnement

II.2.4.1 Sources d'introduction du BPA dans les systèmes aquatiques

Les sources majoritaires d'introduction du BPA dans les systèmes aquatiques sont les rejets liés à la production de matériaux le contenant. Ces rejets se font soit directement dans les STEP soit dans le milieu récepteur. L'usage domestique du BPA par l'utilisation de matériau fini reste une source non négligeable comme la dégradation de polycarbonates, papiers, plastiques divers, etc (Huang et al. 2012). Les émissions vers les eaux représentent 92,2% des émissions totales de BPA (INERIS 2010).

II.2.4.2 Devenir du BPA dans les STEP

Les concentrations mesurées en entrée et en sortie de STEP montrent que le BPA est bien éliminé (Tableau 5). Au vu de ses propriétés physico-chimiques, la voie majeure d'élimination du BPA est la biodégradation plutôt que son adsorption sur les boues. Nadaka et al. (Nadaka et al. 2006) mettent en évidence que le BPA est éliminé à hauteur de 92% dans les STEP ayant un traitement primaire suivi d'un traitement secondaire à boues activées.

Tableau 5 : Présence du BPA dans les eaux usées brutes et traitées de STEP (concentrations en µg.L⁻¹ [min-max])^a compilation de 222 résultats pour les eaux usées brutes et 269 pour les effluents.

Localisation	Eaux usées brutes	Eaux traitées	Traitements employés	Références
Chine, Tokyo	0,3 [0,2-0,5]	0,04 [0,01-0,1]	Primaire et secondaire à boues activées	(Nadaka et al. 2006)
Région des Balkans		0,5 [<LOD-2,1]	Primaire et secondaires	(Terzic et al. 2008)
Compilation de données ^a	2,1 [0,09-11,8]	0,6 [0,01-4,1]	Primaires, secondaires (boues activées) et parfois tertiaires	(Deblonde et al. 2011)

II.2.4.3 Devenir du BPA dans les systèmes aquatiques

Dès que les effluents de STEP sont rejetés dans les systèmes aquatiques, le premier phénomène ayant lieu est l'effet de dilution. Il est ensuite suivi de la biodégradation et l'adsorption, de même que pour les APEO.

Malgré une bonne élimination dans les STEP, le BPA est retrouvé dans les systèmes aquatiques (Tableau 6). D'après un recensement de données du BPA dans les STEP, le rendement d'élimination de ce composé est de 71% (Deblonde et al. 2011). Kang et Kondo (2002) ont mis en évidence que la dégradation du BPA dans les systèmes aquatiques dulçaquicoles est principalement due à la présence de bactéries, celle-ci étant meilleure à température élevée et en milieu aérobie. La biodégradation du BPA est donc dépendante de la teneur en bactéries et de la température des systèmes aquatiques. La dégradation dans les eaux de mer est plutôt chimique (Kang et Kondo 2005). La présence de sel induit une augmentation de la dégradation chimique du BPA par les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) présents dans le milieu marin. Les bactéries et / ou les flagellés peuvent avoir un effet important sur la dégradation chimique du BPA car elles peuvent produire des DRO.

Tableau 6 : Présence du BPA dans la phase dissoute dans les systèmes aquatiques (concentrations en $\mu\text{g.L}^{-1}$ [min-max]).

Localisation	BPA	Références
Rivières européennes	0,250 [--0,323]	(Loos et al. 2009)
Espagne (fleuve- l'Ebre)	1,198 [0,327-2,575]	(Navarro et al. 2010)
Chine (rivière Jialu)	1,535 [0,410-2,990]	(Zhang et al. 2011)

II.2.4.4 Devenir du BPA dans les organismes aquatiques

La dégradation du BPA plus lente dans les eaux de mer induit une présence plus importante dans les organismes marins que dans ceux d'eaux douces (Kang et Kondo 2005). Le facteur de bioconcentration du BPA a été calculé pour plusieurs espèces de poissons d'eau douce. Il est de 29, 49, 18 pour la carpe (*Cyprinus carpio*), le méné d'argent (*Anabarrilius alburnops*) et le carassin (*Carassius auratus*) respectivement.

II.2.5 Toxicité et perturbation endocrinienne

L'exposition au BPA a montré des effets défavorables sur des mollusques, des crustacés, des insectes, des poissons et des amphibiens ainsi que sur le développement embryonnaire (Oehlmann et al. 2009). La PNEC du BPA dans l'eau a été calculée par l'INERIS et est de $1,6 \mu\text{g.L}^{-1}$, avec un facteur d'extrapolation de 10. Afin de tenir compte de l'effet sur le développement des cellules du sperme, une PNEC conservatrice de $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ a été calculée avec une NOEC (Concentration observée sans effet) de $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Liu et al. 2011). Les valeurs des concentrations retrouvées dans les systèmes aquatiques (Tableau 6) comme en Chine ou en Espagne sont supérieures à la PNEC fixée (Navarro et al. 2010; Zhang et al. 2011), ceci indiquant la présence de risques toxiques potentiels pour les organismes aquatiques.

Une étude a montré que le BPA permet de moduler l'expression du gène récepteur de l'ecdysone des larves de *Chironomus riparius* (insecte) d'une manière comparable à celle observée pour les récepteurs des œstrogènes et autres récepteurs stéroïdiens bien caractérisés chez les vertébrés (Planello et al. 2008). Ce composé est maintenant reconnu en tant qu'œstrogéno-mimétique ayant des conséquences irréversibles sur les êtres vivants (Oehlmann et al. 2009).

II.2.6 BPA et réglementations

En France, le BPA n'était pas soumis à restriction jusqu'en 2011. La fabrication de biberons contenant du BPA est interdite depuis le 1^{er} mai 2011, son importation et sa mise sur le marché le sont depuis le 1^{er} juin 2011. En amont de cette réglementation, un grand nombre d'industriels français avait décidé de ne plus utiliser le BPA pour la formulation de certains produits dédiés à l'alimentation des nourrissons. Ces interdictions sont appliquées depuis 2008 au Canada et 2009 aux Etats-Unis (INERIS 2010).

II.3 *Les composés pharmaceutiques*

II.3.1 Classification des composés pharmaceutiques

Les composés pharmaceutiques peuvent être classés de différentes façons. Le système de classement le plus approprié est celui de l'ATC (Anatomique, Thérapeutique, Chimique) établi par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Elle classe les substances actives en fonction des organes ou des systèmes sur lesquels elles agissent et selon leurs propriétés thérapeutiques, pharmacologiques et chimiques. Cette classification est internationale et permet donc la comparaison des données entre différents pays. Les composés pharmaceutiques sont classés selon 5 niveaux. Le premier se réfère à l'organe ou les systèmes sur lesquels elles agissent (14 groupes principaux). Il y a également des sous-groupes permettant de les classer selon leurs propriétés chimiques, thérapeutiques et pharmacologiques (AFSSAPS 2011). Le classement ATC complet jusqu'au troisième niveau est donné en annexe 2. Le classement complet du paracétamol ci-dessous illustre la structure du code : N02BE01.

Niveau 1 : groupe « anatomique »

Exemple : N- Système nerveux

Niveau 2 : groupe « thérapeutique »

Exemple : N02- Analgésiques

Niveau 3 : sous-groupe « thérapeutique/ pharmacologique »

Exemple : N02B- Autres analgésiques et antipyrétiques

Niveau 4 : sous-groupe « chimique/ thérapeutique/ pharmacologique »

Exemple : N02BE- Anilides

Niveau 5 : sous-groupe « substance chimique »

Exemple : N02BE01- Paracétamol

II.3.2 Consommation de composés pharmaceutiques

Les composés pharmaceutiques sont largement consommés à travers le monde. Cependant, il s'avère difficile de comparer les données de consommation entre différents pays, d'une part à cause des différences dans les protections sociales ou dans les régimes d'administration publique dont bénéficient les habitants de chaque pays, et d'autre part, en fonction de la démographie, du conditionnement des médicaments, etc. En effet, les données de consommation peuvent être exprimées selon plusieurs indicateurs devant être identiques pour chaque pays afin que les comparaisons internationales soient valables (AFSSAPS 2011). Différents indicateurs sont cités ci-dessous :

- Les unités déclarées, qui correspondent au nombre de boîtes vendues. Les conditionnements des médicaments peuvent être différents (en fonction des années, pays, etc.) et, de ce fait, rendent cet indicateur imprécis, voire trompeur.
- Les unités standards, qui correspondent aux unités de prise. Cet indicateur ne prend pas en compte le dosage des substances actives présentes dans les médicaments. De ce fait, un cachet dosé à 125 mg est décompté de la même façon qu'un cachet dosé à 500 mg.
- Le nombre de Dose Définie Journalière (DDJ), qui correspond au nombre de boîtes vendues multiplié par le nombre de DDJ que contient chaque boîte de médicament vendue. Son calcul repose sur la détermination préalable d'une dose quotidienne de référence pour un adulte de 70 kg. Ces indicateurs sont présentés pour 1000 habitants et par jour.

Sur la Figure 13, la consommation de médicaments dans sept pays européens est comparée. Il s'agit d'une étude publiée par la Caisse Nationale de l'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés (CNAMTS) basée sur les unités standards par habitant. Elle se limite aux huit principales classes de médicaments (antidiabétiques oraux, antibiotiques, antiasthmatiques, hypolipémiants, médicaments de l'hypertension artérielle, antidépresseurs, tranquillisants et inhibiteurs de la pompe à proton). En 2009, ces classes représentaient en France 38% des remboursements de médicaments par l'ensemble des régimes et 28% des quantités consommées. Le Royaume-Uni est le pays le plus consommateur de ces médicaments devant la France. La consommation française a augmenté seulement de 0,5% entre 2006 et 2009 alors que le taux de croissance moyen de ces sept pays est de 3,2% sur 3 ans.

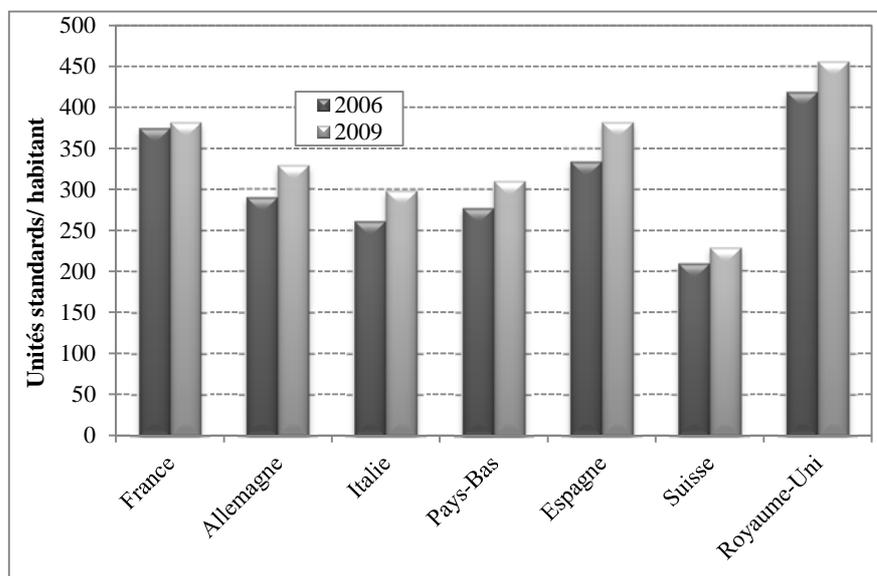


Figure 13 : Données de consommation des composés pharmaceutiques dans sept pays européens (AFSSAPS 2011).

D'après le rapport d'expertise de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS 2011), les classes de composés pharmaceutiques les plus consommées en France depuis 10 ans sont données dans le Tableau 7. Les données de consommation sont en nombre de DDJ pour mille habitants et par an : il s'agit d'une moyenne calculée sur les années allant de 1999 à 2009 inclus. La consommation d'hypolipémiants a subi un taux

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

d'augmentation d'environ 70% en dix ans, ils sont de nos jours fortement consommés avec une DDJ de 74,9. La consommation des psychoanaleptiques est en constante augmentation notamment avec les antidépresseurs. La consommation du paracétamol a considérablement augmenté. Cette constatation pourrait être due aux syndromes grippaux anormalement élevés en 2009 et au report partiel des ventes du Di-Antalvic® (contenant un mélange de dextropropoxyphène et de paracétamol) retiré progressivement des officines depuis juin 2009 et interdit à la vente depuis mars 2011.

Tableau 7 : Principales classes de médicaments consommées en France classées en fonction du nombre de DDJ. Il s'agit d'une DDJ moyenne sur 10 ans (1999-2009).

Code ATC	DDJ	Descriptifs	Code ATC	DDJ	Descriptifs
C09	107,2	Agents agissants sur le système rénine-angiotensine	C09A	42	Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
			C09C	31,7	Antagonistes de l'angiotensine
C10	74,9	Hypolipémiants	C10AA	48,6	Inhibiteurs de l'HMG-COA réductase (statines)
			C10AB	23,2	Fibrates
B01A	62,6	Agents antithrombotiques, la consommation de ces médicaments a augmentée d'environ 50% entre 1999 et 2009	B01AC	43,3	Inhibiteurs de l'agrégation plaquettaire, héparine exclue
N05B	56,8	Anxiolytiques	N05BA	48,7	Dérivés de la benzodiazépine
N06	56,4	Psychoanaleptiques	N06A	46,3	Antidépresseurs
			N06AA	30,6	Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine
A10	54,8	Médicaments contre le diabète	A10B	43,7	Antidiabétiques à l'exclusion de l'insuline
N02A	52,6	Opioides	N02AC	37,8	Dérivés de la diphénylpropylamine
C07	52,6	Bêta-bloquants	C07A	44,7	Bêta-bloquants
M01A	52,3	Produits anti-inflammatoires et antirhumatismaux non stéroïdiens			
A02B	48,5	Médicaments pour les ulcères peptiques et les pathologies gastro-œsophagiennes	A02BC	40,4	Inhibiteurs de la pompe à protons
C08	43,9	Inhibiteurs calciques	C08C	33	Inhibiteurs calciques sélectifs à effets vasculaires
N02BE01	34	Paracétamol			
J01	32,6	Antibactériens à usages systémiques			
C03C	26,6	Haut plafond diurétique			
N05CF	24,6	Hypnotiques et sédatifs apparentés aux benzodiazépines			
G03CA	21,5	Estrogènes naturels et hémi synthétiques non associés			
R03AC	18,5	Agonistes sélectifs de la bêta-2-adrénérique pour inhalation			

II.3.3 Présence des composés pharmaceutiques dans l'environnement

II.3.3.1 Sources d'introduction des composés pharmaceutiques dans les systèmes aquatiques

Les composés pharmaceutiques sont consommés pour des usages humains ou vétérinaires. Ils sont métabolisés par l'organisme afin de les rendre plus hydrosolubles et ainsi

faciliter leur élimination par voie biliaire ou rénale. Ces composés (sous forme libre ou conjuguée) arrivent jusqu'aux STEP où les moyens actuels mis en œuvre ne permettent pas leur dégradation complète. Les effluents hospitaliers sont aussi une source d'introduction de composés pharmaceutiques dans le milieu. Ils contribuent à moins de 15% aux apports de ces composés dans les STEP urbaines (Ort et al. 2010). Les usines de fabrication peuvent aussi libérer certains composés pharmaceutiques dans les milieux aquatiques même si des contrôles stricts sont effectués au niveau de leurs rejets.

Il existe également certaines décharges non contrôlées. Par temps de pluie, les composés présents dans ces décharges peuvent atteindre les nappes phréatiques et les systèmes aquatiques via les eaux de lixiviation ou de ruissellement (Capdeville et Budzinski 2011; Vulliet et al. 2011b).

II.3.3.2 Présence des composés pharmaceutiques dans les STEP

La plupart des composés étudiés sont incomplètement éliminés par les STEP et contaminent donc les systèmes aquatiques (Tableau 8). Généralement, plus de 60% des résidus de composés pharmaceutiques détectés en entrée des STEP ne le sont plus en sortie (Ternes 1998). Ternes a pu mettre en évidence que les taux d'élimination de la carbamazépine et de l'acide salicylique sont de 7% et de 99% respectivement. La carbamazépine peut parfois être retrouvée dans les effluents à des concentrations légèrement supérieures à celles en entrée de STEP (Fatta-Kassinos et al. 2011). En effet, ce composé est stable dans l'environnement et faiblement éliminé par les traitements secondaires appliqués dans les STEP (Miège et al. 2009a; Fatta-Kassinos et al. 2011). L'ibuprofène, anti-inflammatoire non stéroïdien, est présent en entrée de STEP à des concentrations supérieures au $\mu\text{g.L}^{-1}$. Ce composé est cependant éliminé à hauteur de 95% et est détecté dans les systèmes aquatiques à des concentrations de l'ordre du ng.L^{-1} (Buser et al. 1999). Certains antipyrétiques sont retrouvés à des concentrations comprises entre 24 et 52 ng.L^{-1} pour l'aspirine et 11 à 108 ng.L^{-1} pour le paracétamol (Togola et Budzinski 2008).

Miège et son équipe (2009a) ont créé une base de données concernant la présence et l'élimination des composés pharmaceutiques dans les STEP. Il s'agit d'une compilation de 115 publications internationales sur une période allant de janvier 1997 à février 2006 et de deux rapports de recherche français (de 1997 à 2007). Cette base de données rassemble 184 composés. Le Tableau 8 rassemble les composés ayant une forte concentration dans les STEP et ceux peu éliminés lors des traitements épuratoires à boues activées.

Les concentrations de chaque composé sont situées dans une gamme assez étendue. Par exemple, le naproxène est détecté à des concentrations allant de 2 à 611 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en entrée de STEP. Les apports de composés sont très variables pour chaque STEP et dépendent de la nature des effluents (nombre d'équivalent-habitant ; zone rurale / urbaine, hôpitaux, maison de retraite ou autres connectés au réseau ; période de l'année). Par exemple, certains antibiotiques et anti-inflammatoires sont détectés en plus grande quantité dans les STEP en hiver de par leur utilisation plus excessive à cette période (Castiglioni et al. 2006).

Tableau 8 : Présence dans la phase dissoute et taux d'élimination des composés pharmaceutiques dans les STEP (Miège et al. 2009a). Les concentrations données sont en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Composés	Classe ATC	Eaux usées brutes	Eaux traitées par Boues Activées	Taux d'élimination
Acide salicylique	Métabolites	212 [16-606]	2,5 [0,3-5]	98%
Paracétamol	N02BE01	80 [6-292]	-	100%
Naproxène	M01AE02	26 [2-611]	2 [0,2-34]	78%
Ibuprofène	M01AE01	15 [0,2-84]	2 [0-25]	74%
Iopromide	V08AB05	5 [0,03-8]	6 [0,3-9]	0%
Bézafibrate	C10AB02	2 [0,1-8]	0,8 [0,02-5]	68%
Gemfibrozil	C10AB04	2 [0,7-3]	0,6 [0,06-1]	51%
Diclofénac	M01AB05	1 [0,1-4]	0,7 [0,04-2]	32%
Kétoprofène	M01AE03	1 [0,08-6]	0,3 [0,04-2]	38%
Carbamazépine	N03AF01	1 [0,1-2]	0,7 [0,2-2]	8%
Aspirine	N02BA01	0,3 [0,02-0,7]	0,2 [0,04-0,2]	28%
Roxithromycine	J01FA06	0,06 [0,03-0,1]	0,05 [0,04-0,07]	37%
Aténolol	C07AB03	0,03	0,2 [0,01-0,4]	7%
17- β -oestradiol	G03CA03	0,02 [0,002-0,1]	0,003 [0-0,03]	88%

En sortie de STEP, les concentrations de chaque composé restent très variables. Le naproxène est détecté à des concentrations comprises entre 0,2 et 34 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Cette variabilité ne peut être clairement expliquée. Cependant, les apports et l'efficacité des traitements épuratoires sont en grande partie la cause de ces variations. Par exemple, l'efficacité d'élimination des traitements biologiques est meilleure lorsque les STEP opèrent avec un long temps de résidence (Jelic et al. 2011). En effet, plus le temps de contact entre un composé et, par exemple, une membrane ou bactéries est long, plus la dégradation sera bonne. Certains composés comme l'iopromide, le diclofénac, la carbamazépine ou encore l'aténolol ne sont pas complètement dégradés dans les STEP après des traitements secondaires à boues activées (Tableau 8). D'autres traitements secondaires s'avèrent efficaces vis-à-vis de ces composés, notamment le traitement basé sur des bioréacteurs à membranes. Ces traitements ont de meilleurs rendements d'élimination et sont supérieurs de 4 à 96% à ceux observés après les traitements à boues activées (Sipma et al. 2010). Malgré cela, certains composés tels que la carbamazépine ou encore le sotalol ne sont pas complètement éliminés.

Afin d'améliorer les performances d'élimination de certains composés, des traitements appelés tertiaires peuvent être appliqués comme l'ozonation, la filtration sur sable, l'osmose inverse ou encore l'irradiation par UV. Certains de ces traitements s'avèrent efficaces vis-à-vis de l'élimination de certains composés pharmaceutiques. Par exemple, les traitements tertiaires (filtration sur sable et ajout de chlore) permettent de réduire les concentrations de certains composés comme le diclofénac, le kétoprofène, le naproxène ou encore l'ofloxacine (Tableau 9) (Fatta-Kassinou et al. 2011). Les traitements tertiaires par ozonation permettent quant à eux une élimination à 55, 77, 94 et 98% de l'iopromide, de l'aténolol, du diclofénac et de la carbamazépine respectivement (Reungoat et al. 2010).

La présence continue de ces composés dans les systèmes aquatiques montre qu'ils ne sont pas entièrement dégradés dans les STEP. Cependant, la majorité de ces composés est moins présente après traitement dans la phase dissoute. Néanmoins, il n'est pas prouvé que la biodégradation de ces substances soit majoritaire. En effet, la plupart des études ne prennent

en compte que la phase dissoute, et très peu considèrent les MES. Certains composés peuvent être adsorbés sur les MES puis transférés dans les boues comme la carbamazépine, l'ibuprofène et le diclofénac retrouvés à des dizaines, voire centaines de $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Nieto et al. 2010).

Tableau 9 : Concentrations en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ des composés pharmaceutiques détectés dans les eaux usées brutes, traitées avec des procédés secondaires et tertiaires (Fatta-Kassinos et al. 2011).

Composés	Code ATC	Chypre		
		Eaux usées brutes	Eaux traitées secondaires	Eaux traitées tertiaires
Diclofénac	M01AB05	1,3 [0,6-2,4]	6,8 [2,1-15,4]	2,1 [0,1-5,5]
Paracétamol	N02BE01	264,1 [77,6-405,4]	0,09 [0,05-0,11]	0,08 [0,07-0,1]
Gemfibrozil	C10AB04	<LOD	<LOD	<LOD
Kétoprofène	M01AE03	1,0 [<LOD-1,8]	0,3 [<LOD-0,3]	<LOD
Naproxène	M01AE02	0,2 [<LOD-0,2]	0,03 [<LOD-0,03]	<LOD
Carbamazépine	N03AF01	5,9 [0,8-14,4]	8,9 [0,8-24,5]	9,7 [0,6-27,3]
Ofloxacine	J01MA01	38,9 [22,6-59,4]	4,1 [3-6]	2,7 [1,3-4,8]
Aténolol	C07AB03	4,1 [3,1-5,8]	0,6 [0,1-0,9]	0,6 [0,1-0,9]
Sotalol	C07AA07	3,5 [2,7-5]	0,6 [0,1-0,8]	0,5 [0,1-0,8]
Métoprolol	C07AB02	1,6 [1,3-2,1]	1,2 [0,9-1,3]	3,6 [0,7-9,6]
Ibuprofène	M01AE01	1,6 [1,3-2,2]	1,7 [0,3-4,3]	1,9 [<LOD-3,5]
Référence		(Fatta-Kassinos et al. 2011)		

II.3.3.3 *Devenir des composés pharmaceutiques dans les systèmes aquatiques*

La spéciation des composés pharmaceutiques varie en fonction de leurs propriétés physico-chimiques. Il existe peu d'études sur leur adsorption sur les MES.

Par leur élimination partielle dans les STEP, les composés pharmaceutiques sont détectés dans les milieux aquatiques à des concentrations de l'ordre du $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$, voire du $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Tableau 10). Ils sont aussi retrouvés dans les eaux marines (Togola et Budzinski 2007), les eaux souterraines (Fram et Belitz 2011; Vulliet et al. 2011b; Metcalfe et al. 2011) et les eaux potables (Fram et Belitz 2011; Vulliet et al. 2011a; Kleywegt et al. 2011).

Tableau 10 : Présence de composés pharmaceutiques dans la phase dissoute dans les systèmes aquatiques (concentrations en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ [min-max]).

Localisation	Rivière Vantaa, Finlande	Rivières européennes
Diclofénac		0,02 [--0,2]
Gemfibrozil		0,03 [--1,0]
Kétoprofène	0,02 [0,01-0,03]	0,01 [--0,2]
Naproxène	0,02 [0,01-0,03]	0,04 [--2,0]
Carbamazépine	0,04 [0,02-0,08]	0,2 [--11,6]
Ibuprofène	0,04 [0,01-0,07]	0,4 [--33,3]
Caféine		0,9 [--39,8]
Référence	(Vieno et al. 2007)	(Loos et al. 2009)

Ces composés sont largement présents dans les systèmes aquatiques même à faibles concentrations et peuvent être photodégradés, biodégradés et encore adsorbés sur les MES (Vieno et al. 2005).

De nombreux composés pharmaceutiques sont sensibles à la photodégradation (Boreen et al. 2003). Le naproxène et le diclofénac sont dégradables par photolyse directe avec un

temps de demi-vie respectif de 42 et 33 minutes (Packer et al. 2003). L'ibuprofène est dégradé par photolyse indirecte (Packer et al. 2003). Les benzodiazépines sont plutôt photodégradées par photolyse directe : le lorazépam, l'oxazépam, le diazépam et l'alprazolam ont des temps de demi-vie respectifs de 2, 6, 15, 28 et 865 heures (Calisto et al. 2011). Les ions nitrates peuvent entraîner une diminution du temps de demi-vie de certains composés comme le diclofénac ou la carbamazépine ; les substances humiques servent de filtres internes ou de photosensibilisants selon les composés (Andreozzi et al. 2003). Ces dégradations permettent d'éliminer une partie de ces composés présents dans les systèmes aquatiques mais sont à la base de la formation de métabolites (Boreen et al. 2003; Calisto et al. 2011).

Les deux autres phénomènes pouvant se produire sont la biodégradation et la sorption et sont parfois difficiles à différencier. L'influence de la température peut amener à une identification du phénomène qui est à l'origine de la perte d'un composé dans la phase dissoute. Effectivement, plus la température est élevée, plus la biodégradation augmente et la sorption diminue (Vieno et al. 2005). De par les propriétés physico-chimiques des composés pharmaceutiques, la biodégradation semble être le phénomène le plus probable car ces molécules sont plutôt hydrophiles. La carbamazépine semble être faiblement dégradée dans les milieux aquatiques (Andreozzi et al. 2002) et reste stable. Les benzodiazépines ne sont pas trop biodégradées. La présence d'oxazépam est diminuée de 40% par biodégradation mais ce pourcentage correspond à celui de la formation de son métabolite qui est biologiquement actif et persistant (Redshaw et al. 2008). Le diazépam quant à lui est très persistant : il n'est pas ou très peu biodégradé (Calisto et Esteves 2009). Cependant, ce composé peut être adsorbé sur les MES et est retrouvé dans les sédiments. Il s'avère aussi que certains anxiolytiques sont persistants et peu éliminés par biodégradation, ce qui est notamment le cas des barbituriques. De plus, la fluoxétine est principalement retrouvée dans les sédiments de par les phénomènes d'adsorption sur les MES : ce composé s'avère aussi persistant dans l'environnement (Calisto et Esteves 2009).

II.3.3.4 Devenir dans les organismes aquatiques

Dans l'organisme humain, les composés pharmaceutiques, composés actifs, sont métabolisés dans le but de les rendre plus hydrosolubles et ainsi faciliter leur élimination via les urines ou les fèces. Ces composés sont rejetés soit sous forme conjuguée soit sous forme libre. Le paramètre Fexcreta correspond à la fraction excrétée d'une molécule pharmaceutique active (Besse et Garric 2007). Il est calculé comme la somme des taux d'excrétion du composé non métabolisé et des conjugués hydrolysables dans les fèces et les urines. Ce facteur permet de prendre en compte le taux de métabolisation d'un composé. Ainsi, un composé très consommé et fortement métabolisé en substance non active n'engendrera pas d'effet sur l'environnement. Et, à l'inverse, un composé moins consommé et peu, voire pas métabolisé pourra atteindre les systèmes aquatiques à des concentrations engendrant des effets sur les organismes. De plus, les données de métabolisation d'un composé permettent de mettre en évidence la potentielle toxicité d'un métabolite actif. Les taux d'excrétion de la substance libre et conjuguée ainsi que le Fexcreta des composés les plus consommés et/ou les plus présents dans l'environnement sont donnés dans Tableau 11. Les valeurs du Fexcreta sont comprises entre 1 et 100% (Tableau 11).

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

Tableau 11 : Taux d'excrétion de substances libres et/ou conjuguées ainsi que le Fexcreta des composés pharmaceutiques les plus consommés et les plus présents dans l'environnement et leurs métabolites (Besse et Garric 2007).

Composé	Code ATC	Taux de molécules mères	Taux de molécules conjuguées	Fexcreta	Métabolites
Aténolol	C07AB03	40 à 50% dans les urines 50% dans les fèces	-	100%	
Oxprenolol	C07AA02	3%	95%	98%	
Sotalol	C07AA07	66 à 90% dans les urines		90%	
Iopromide	V08AB05	100%		100%	
Amoxicilline	J01CA04	70 à 80% dans les urines 5 à 10% dans la bile		90%	
Norfloxacine	J01MA06	26 à 32% dans les urines 60 à 65% dans les fèces		100%	
Roxithromycine	J01FA06	50%		50%	
Amitriptyline	N06AA09	1% dans les urines		ND	Nortriptyline
Fluoxétine	N06AB03	2,5 à 5% dans les urines	5,2%	10%	Norfluoxétine
Alprazolam	N05BA12	négligeable		1%	OH-alprazolam
Diazépam	N05BA01	< 0,1%		1%	Oxazépam
Lorazépam	N05BA06	< 10%	75%	85%	
Oxazépam	N05BA04	10%	90%	100%	
Aspirine	N02BA01	ND		ND	Acide salicylique
Diclofénac	M01AB05	négligeable	5 à 10% dans les urines 5% dans la bile	15%	
Ibuprofène	M01AE01	10%	15%	25%	Hydroxy-ibuprofen Carboxy-ibuprofène
Kétoprofène	M01AE03	10%	65 à 75%	85%	Métabolites hydroxylés
Naproxène	M01AE02	70%		70%	6-desméthyl-naproxène
Paracétamol	N02BE01	1 à 4%	60 à 80%	84%	
Bézafigrate	C10AB02	40%	60%	100%	
Gemfibrozil	C10AB04	< 2%	70%	72%	
Carbamazépine	N03AF01	3% dans les urines		ND	Métabolites 10,11-époxydes

Les composés pharmaceutiques sont plus ou moins bioaccumulés par les organismes aquatiques ; cela dépend en partie de leur coefficient de partage octanol / eau ($\log K_{OW}$). Les études menées par Schwaiger et al. (Schwaiger et al. 2004) sur la truite arc-en-ciel (*Rainbow trout*) montrent que le diclofénac s'accumule en plus grande quantité dans le foie, suivi par les reins et les branchies et en petite quantité dans les muscles. En fonction des concentrations en diclofénac testées, le facteur de bioconcentration (BCF) est compris entre 12 et 2732 dans le foie, 5 et 971 dans les reins, 3 et 763 dans les branchies et 0,3 et 69 dans les muscles (Schwaiger et al. 2004). La bioaccumulation de la carbamazépine, de l'ibuprofène et du bézafigrate a été étudiée sur des moules (*Dreissena polymorpha*). Il en résulte que le BCF de la carbamazépine est compris entre 17 et 92, celui de l'ibuprofène entre 450 et 535 et le bézafigrate n'a pas été bioaccumulé lorsque les moules ont été exposées à des concentrations d'environ 200 ng.L⁻¹ (Contardo-Jara et al. 2011). Il a aussi été montré que le BCF diminue

lorsque les concentrations d'exposition en composés augmentent. Ceci est une conséquence d'une quasi, voire complète, saturation des tissus pour les plus fortes concentrations testées. Ces composés sont ensuite susceptibles d'être bioamplifiés le long de la chaîne trophique (Contardo-Jara et al. 2011).

II.3.4 Toxicité et perturbation endocrinienne

Plusieurs effets toxiques ont été observés chez les organismes aquatiques tant au niveau des végétaux que des animaux. La majorité des études concernent la toxicité aigüe pour laquelle les valeurs d'EC₅₀¹³ ou LC₅₀¹⁴ sont de l'ordre de quelques mg.L⁻¹ et certaines classes de composés pharmaceutiques sont préférentiellement étudiées (les anti-inflammatoires, les antidépresseurs, les hypolipémiants, les hormones sexuelles et les antibiotiques). Par exemple, les EC₅₀ et LC₅₀ sont comprises entre 1 et 10 mg.L⁻¹ pour le naproxène sur *Thamnocephalus platyurus* (Isidori et al. 2005). La EC₅₀ pour le gemfibrozil est comprise entre 1 et 10 mg.L⁻¹ lors de test de toxicité aigüe sur les rotifères d'eau douce *Brachionus calyciflorus*, les crustacés *Ceriodaphnia dubia* et *Thamnocephalus platyurus* (Santos et al. 2010). Les antibiotiques ont une EC₅₀ inférieure à 0,1 mg.L⁻¹ pour les micro-organismes et comprise entre 0,1 et 1 mg.L⁻¹ pour les algues (Santos et al. 2010).

A des concentrations de l'ordre de la dizaine de µg.L⁻¹ en moyenne, des effets de certains composés ont été observés. Des effets cytologiques ont été détectés dans le foie, les reins et les branchies pour le diclofénac à des concentrations comprises entre 0,5 et 1 µg.L⁻¹ (Triebkorn et al. 2004; Hoeger et al. 2005). Les fibrates engendrent une inhibition de la différenciation cellulaire (Santos et al. 2010). Les bactéries développent des mécanismes de résistance aux antibiotiques (Santos et al. 2010) et la carbamazépine est cancérigène pour les rats (Santos et al. 2010).

Au-delà de ces effets pour le moins préoccupants, des perturbations des fonctions endocriniennes ont été observées. Certains composés entraînent une inhibition de la reproduction comme l'ibuprofène et le diclofénac (Schmitt-Jansen et al. 2007; Santos et al. 2010). L'ibuprofène, la miansérine et les œstrogènes induisent la synthèse de vitellogénine (Van der Ven et al. 2006; Flippin et al. 2007; Santos et al. 2010). Le gemfibrozil inhibe la production de testostérone (Mimeault et al. 2005) et la présence du 17- α -éthynylœstradiol (EE2) induit une augmentation de la production des œufs (Santos et al. 2010). Les hormones sexuelles agissent à faibles doses de l'ordre du ng.L⁻¹. Parrott et Blunt (Parrott et Blunt 2005) ont mis en évidence une augmentation de la population de femelles dans un milieu contenant 1 ng.L⁻¹ d'EE2 et les poissons sont complètement féminisés lorsque la concentration atteint 3,5 ng.L⁻¹.

Lors de ces différentes études de toxicité sur les composés pharmaceutiques envers les organismes aquatiques, les tests ont été effectués avec un seul composé et à des concentrations assez élevées. Cependant, plusieurs milliers de composés sont présents dans l'environnement et il est donc important de considérer l'effet de mélange. La présence de plusieurs composés pharmaceutiques à des concentrations environnementales peut entraîner des effets additifs de toxicité sur un organisme (Santos et al. 2010).

¹³ EC₅₀ : Concentration effective pour 50% des organismes exposés

¹⁴ LC₅₀ : Dose Létale pour 50% des organismes exposés

II.3.5 Priorisation des composés pharmaceutiques

Plusieurs milliers de composés pharmaceutiques sont présents dans l'environnement. Compte tenu du nombre important de ces molécules, il est nécessaire de faire une liste de composés prioritaires à surveiller. Les paramètres tels que les données de consommation, les sources d'introduction dans l'environnement, la présence dans les systèmes aquatiques, les taux d'élimination dans les STEP et la toxicité des composés pharmaceutiques doivent être pris en compte dans le choix des composés à surveiller. C'est en ce sens que s'inscrivent les travaux de Besse et Garric (2007). Ces travaux s'appuient sur la démarche de priorisation de l'Agence Européenne d'évaluation des médicaments (EMA) de 2006. Cette procédure permet d'évaluer le risque des composés en tenant compte des données de consommation mais aussi de la métabolisation dans l'organisme, de la dégradation dans les STEP, de l'adsorption sur les MES et de la toxicité de ces composés (Besse et Garric 2007). Trois grandes catégories de composés pharmaceutiques ont été distinguées pour la priorisation. La première est celles des hormones qui sont susceptibles d'entraîner des dérèglements hormonaux. Les composés cytotoxiques font partie de la seconde catégorie, ils ont la capacité de détruire des cellules tumorales et peuvent engendrer des effets mutagènes et carcinogènes. Et la dernière catégorie rassemble toutes les autres classes de composés. Une liste de priorisation est faite pour chaque catégorie puis celles-ci sont croisées afin d'obtenir une liste définitive. Cette liste est donnée en annexe 3.

III. Phase dissoute : points clés et échantillonnage

Il est nécessaire de surveiller les polluants présents dans les systèmes aquatiques, la plupart d'entre eux constituant une menace pour la santé humaine et les écosystèmes. Afin de répondre à la DCE, surveiller et mesurer les 56 substances classées prioritaires est essentiel pour garantir un bon état général des eaux. Cependant, ces composés sont présents dans les systèmes aquatiques à de faibles concentrations et dans certains cas, les NQE fixées sont inférieures aux limites de détection analytique. Par exemple, la NQE de l'endosulfan est fixée à $0,5 \text{ ng.L}^{-1}$. L'échantillonnage et l'analyse de ces polluants représentent donc un défi permanent pour les analyticiens.

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté. Il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donnée. L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'eau. Il convient de mettre en place une organisation structurée, de disposer d'un personnel qualifié, de développer une méthodologie d'échantillonnage adaptée à chaque cas, de procéder à un choix judicieux des points de prélèvement et d'utiliser un matériel convenable. Les résultats des analyses ne seront exploitables que si le prélèvement a un caractère représentatif. De plus, il est évident qu'un prélèvement correct est indispensable à l'obtention de résultats analytiques fiables. Le matériel utilisé doit faire l'objet d'une attention particulière et doit être en matériaux inertes et peu adsorbants afin de ne pas modifier les concentrations.

III.1 Caractéristiques de la phase dissoute

La présence de composés à des concentrations inférieures au $\mu\text{g.L}^{-1}$ rend l'analyse de la phase dissoute difficile. Les NQE fixées par la DCE pour certains composés sont parfois inférieures aux limites de détection analytique. De plus, certains composés ont des effets

toxiques à faibles concentrations comme les hormones stéroïdiennes (EE2) qui engendrent la féminisation des organismes aquatiques à partir de quelques ng.L^{-1} (Parrott et Blunt 2005). Un autre paramètre important est que la phase dissoute contient plusieurs milliers de composés appartenant à des classes différentes et ayant des propriétés physico-chimiques variées. La quantification d'une partie de ces composés s'avère presque infaisable avec un seul échantillon d'eau. De plus, la présence de matière organique dans la phase dissoute peut rendre l'analyse de celle-ci difficile. En effet, la présence de matrice complexe peut engendrer des biais dans l'analyse et entraîner soit une extinction / diminution, soit une augmentation de la réponse du signal. De ce fait, l'analyse d'eaux usées ou d'effluents est rendue plus compliquée.

Enfin, il s'avère difficile de faire un lien entre la présence et les effets toxiques engendrés par un composé présent dans les systèmes aquatiques. Comme évoqué précédemment, ces systèmes contiennent de nombreux micropolluants (sources et classes chimiques multiples) associés à de faibles concentrations (à l'état de traces voir ultra-traces) et à une variabilité spatiale et temporelle considérable (Devier et al. 2011). De ce fait, le lien entre l'analyse chimique et les réponses biologiques est rendu difficile de par la complexité du milieu aquatique.

III.2 Prélèvements

Le prélèvement ponctuel est le plus fréquemment utilisé pour faire des suivis environnementaux. Il est un reflet de la composition de l'eau qui a un caractère évolutif, notamment vis-à-vis des phénomènes de pollution. Une meilleure appréciation de ces variations, ou tout simplement, la détection de ces épisodes de pollution nécessitent une multiplication des prélèvements dans le temps et dans l'espace. La périodicité des analyses est fonction entre autre de la qualité de l'eau proprement dite, en particulier si celle-ci est soumise à des pollutions permanentes ou occasionnelles et du choix des paramètres analytiques représentatifs de la pollution. Les prélèvements ponctuels se font en général sur quelques litres d'eau à un moment bien précis, cela n'est pas représentatif de l'état de contamination d'un milieu hétérogène avec des variabilités spatiales et temporelles. Entre deux prélèvements, il peut y avoir un rejet ou un pic de pollution qui ne seront pas détectés lors des analyses.

Afin de caractériser correctement le flux de polluants émis au cours d'une période (généralement 24 heures), les industries ou encore les stations d'épuration utilisent des préleveurs automatiques. Ceux-ci permettent de constituer un prélèvement moyen représentatif correspondant à la somme de plusieurs échantillons prélevés en fonction du temps, du débit et du volumé écoulé (Pouzol 2010). Cette technique s'avère intéressante mais implique une multiplication des prélèvements et analyses pour faire des suivis sur plusieurs jours voire semaines. Les coûts liés aux conditionnements, extraction et analyses sont accrus.

Ceci met en évidence l'intérêt de développer de nouveaux outils d'échantillonnage qui permettent d'avoir une mesure intégrée moyennée sur du moyen/long terme de la concentration des composés, d'abaisser les limites de détection, de diminuer le nombre de prélèvement et le coût des analyses, etc.

IV. Les échantillonneurs passifs

IV.1 Généralités

Depuis quelques années, certains groupes de recherche se sont investis dans le développement de méthodes d'échantillonnage et d'extraction alternative permettant de simplifier les étapes d'échantillonnage et de préparation. L'échantillonnage passif semble être un outil prometteur. Il permet de s'affranchir des difficultés rencontrées au cours des prélèvements ponctuels ainsi qu'au cours de la préparation de l'échantillon. Ce système ne nécessite aucune source d'énergie et permet de donner une concentration moyenne sur une durée d'exposition allant de quelques heures à plusieurs semaines. Le nombre de prélèvements par site ainsi que le coût des analyses est donc diminué (un seul échantillonneur, voire un triplicat, est suffisant).

Les premières mesures effectuées par échantillonnage passif ont été réalisées dans l'air par un chimiste suisse, Schönbein, dans le milieu des années 1800. L'ozone troposphérique était mesuré en utilisant des « papiers tests » imprégnés d'iodure de potassium (Cox 2003). Dès les années 1970, les premiers échantillonneurs passifs basés sur la diffusion sont apparus pour la surveillance de la qualité de l'air (Vrana et al. 2005a). Depuis, cette technique de dosimétrie a été largement utilisée dans ce domaine et a été par la suite appliquée pour la surveillance des systèmes aquatiques.

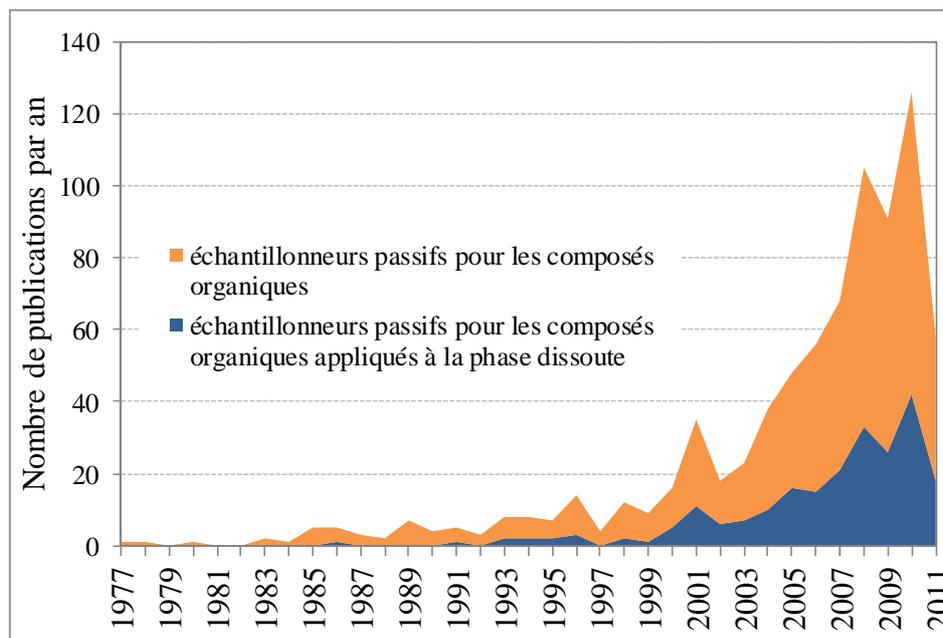


Figure 14 : Nombre annuel de publications concernant le développement et/ou l'application des échantillonneurs passifs pour les composés organiques et dans la phase dissoute (Recherche dans Scopus, mots clés : *organic passive sampler and water* ; Domaines de recherche : *Life Sciences, Health Sciences and Physical Sciences*).

En 1982, Black et al. (1982) mettent au point une technique intégrative simple pour détecter et localiser les sources d'entrée des HAP dans le milieu aquatique. Il s'agissait d'une membrane en polypropylène. Quelques années plus tard, Södergren (1987) a utilisé un sac en cellulose rempli d'hexane pour échantillonner des composés organiques hydrophobes. Depuis le milieu des années 80, les études portant sur le développement d'échantillonneurs passifs pour les composés organiques se sont multipliées et notamment dans la phase dissoute (Figure 14). La figure ci-dessous représente le nombre de publications parues sur les échantillonneurs

passifs adaptés aux composés organiques appliqués soit aux phases dissoutes et atmosphériques soit à la phase dissoute seulement.

IV.2 Principe

Un échantillonneur passif est défini comme un outil capable d'accumuler des composés présents dans le milieu durant une période de temps définie. L'échantillonneur est disposé dans le milieu aqueux où il va capter les molécules et les retenir sur une phase adsorbante ou adsorbante sur l'ensemble de la durée d'exposition. Ceci permet dans certains cas de concentrer les composés par rapport aux concentrations réelles du milieu. L'intérêt de ces nouveaux outils réside dans leur capacité à accumuler des composés sur une grande période de temps en permettant de s'affranchir des prélèvements ponctuels dans le milieu : la quantité présente dans l'échantillonneur correspond à la concentration moyenne temporelle (TWA, Time Weighted Average). De plus, dans certains cas, les propriétés accumulatrices de ces outils permettent d'envisager la détection de composés présents dans le milieu à des concentrations inférieures aux limites de détection analytiques associées aux prélèvements ponctuels. En effet, l'analyse de ces prélèvements se fait sur un litre d'eau, voire plus dans certains milieux dilués. Tel est l'exemple des métabolites de certains composés ou des stéroïdes, souvent présents dans l'environnement à des concentrations inférieures au ng.L^{-1} , non détectables mais identifiées comme toxiques (Petty et al. 2004). L'analyse ne portera pas sur quelques litres d'eau mais sur la quantité de composés accumulée au cours du temps et donc correspondant à des dizaines, voire des centaines de litres d'eau, pour une faible quantité de phase (Vrana et al. 2005a).

L'échantillonnage passif est basé sur le flux des molécules allant du milieu aqueux vers la phase réceptrice de l'échantillonneur, appelé transfert de masse. Il est possible de calculer la différence de potentiel chimique du composé entre les deux milieux. Cette différence de potentiel chimique est propre à un composé : le transfert de masse sera donc plus ou moins rapide en fonction du composé ciblé. Ce flux de molécules cesse à partir du moment où apparaît l'équilibre entre l'eau et la phase, ou lorsque la période d'exposition est terminée. Ce système d'échantillonnage ne nécessite aucune source d'énergie, seule la différence de potentiel chimique est importante. La phase réceptrice peut être un solvant, un réactif chimique ou une phase adsorbante poreuse (Vrana et al. 2005a). Cependant, plusieurs conditions doivent être réunies pour que cette approche soit pertinente. D'une part, la phase réceptrice de l'échantillonneur ne doit pas relarguer les composés dans le milieu, dans le cas où la concentration de la phase dissoute diminue. D'autre part, le taux d'échantillonnage, correspondant au nombre de litres d'eau épuré par unité de temps, doit rester constant tout au long de l'échantillonnage. Ceci est facilement obtenu lorsque les composés sont absorbés (dans une phase réceptrice liquide, par exemple) ou chimisorbés, mais ceci est plus difficile lorsque les composés sont adsorbés (Gorecki et Namiesnik 2002). La majorité des échantillonneurs est constituée d'une membrane permettant de séparer la phase réceptrice du milieu. Cette membrane sert de protection et / ou de confinement de la phase réceptrice, tout en exerçant éventuellement une sélection des composés. Elle permet aussi de réguler le phénomène passif, plus précisément, elle permet d'accumuler les composés sur une période d'exposition plus longue. En effet, sans membrane, l'équilibre entre la phase réceptrice et le milieu est atteint plus rapidement. L'accumulation des composés dans la phase réceptrice à travers la membrane dépend de la concentration des composés dans le milieu, de leurs propriétés physico-chimiques et du type d'échantillonneur utilisé (Mills et al. 2007). La

présence de la membrane permet : (1) de diminuer la sensibilité des échantillonneurs aux changements hydrodynamiques du milieu, (2) de prévenir la formation de biofilm et (3) d'étendre la période pendant laquelle l'accumulation est linéaire. Cependant, la diffusion des composés à travers la membrane est une résistance au transfert de masse. La vitesse de diffusion dépend de la nature physico-chimique du composé en question ainsi que de la nature de la membrane.

IV.3 Théorie

Le transfert de masse peut être décrit par la première loi de Fick. L'accumulation des composés dans les échantillonneurs passifs suit une loi cinétique du premier ordre (Alvarez et al. 2004) donnée par l'équation 1 :

$$\frac{dC_s}{dt} = k_u C_w - k_e C_s \quad \text{Équation 1}$$

Où, C_s est la concentration en contaminant dans la phase réceptrice (ng.g^{-1}), C_w est la concentration en contaminants dans l'eau (ng.L^{-1}), k_u ($\text{L.g}^{-1}.\text{j}^{-1}$) et k_e (j^{-1}) sont respectivement les constantes de vitesse d'adsorption et de désorption de chaque composé et t est le temps d'exposition en jours.

La solution générale de l'équation 1 est :

$$C_s(t) = C_w \left(\frac{k_u}{k_e} \right) \left(1 - e^{-k_e t} \right) \quad \text{Équation 2}$$

Cette accumulation est caractérisée par une phase initiale d'intégration linéaire, puis curvilinéaire jusqu'à atteindre un équilibre (Figure 15). Dans la phase intégrative, l'échantillonneur se comporte comme un puits infini pour les composés d'intérêts et l'absorption ou l'adsorption est linéaire. Cette phase permet d'estimer les concentrations moyennes sur la durée de l'exposition de l'échantillonneur. L'équilibre thermodynamique apparaît plus ou moins rapidement ($t > t_{50}$). Les échantillonneurs passifs seront exploités soit à l'équilibre avec la SPME¹⁵ (Mayer et al. 2003), la nd-SPME¹⁶ (Heringa et Hermens 2003), les PDB¹⁷ (Vroblesky et Hyde 1997), soit en régime linéaire avec les SPMD¹⁸ (Huckins et al. 1993), les ¹⁹POCISTM (Alvarez et al. 2004), les ChemcatcherTM (Kingston et al. 2000), les membranes en LDPE²⁰, des bandes de silicone (Booij et al. 2002) ou encore les MESCO²¹ (Vrana et al. 2001).

¹⁵ Solid Phase MicroExtraction (SPME)

¹⁶ Negligible depletion- Solid Phase MicroExtraction (nd-SPME)

¹⁷ Passive Diffusion Bag (PDB)

¹⁸ SemiPermeable Membrane Device (SPMD)

¹⁹ Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCISTM)

²⁰ Low Density PolyEthylene (LDPE)

²¹ Membrane Enclosed Sorptive COating (MESCO)

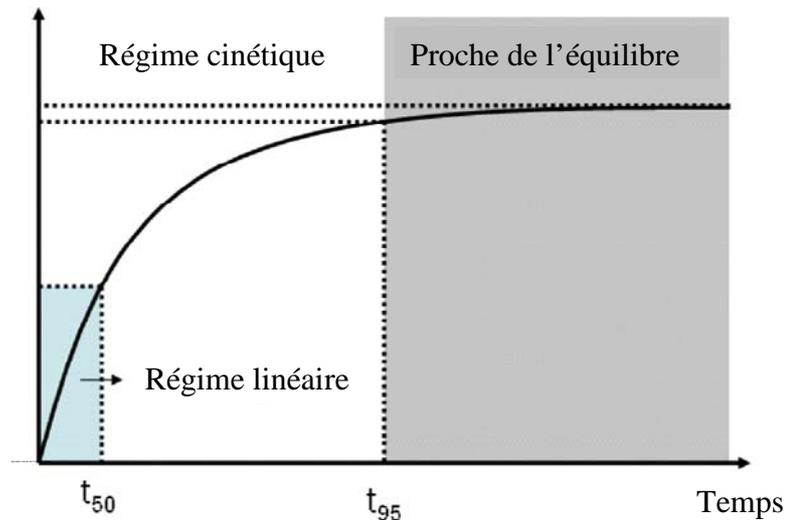


Figure 15: Accumulation des composés dans un échantillonneur passif (Ouyang et Pawliszyn 2007).

IV.4 Echantillonneurs exploités dans le domaine de la linéarité

Dans cette approche cinétique, le transfert de masse de l'eau vers la phase réceptrice doit être linéairement proportionnel à la différence d'activité chimique du composé dans l'eau et dans la phase. Au début de la période d'exposition de l'échantillonneur, le taux de désorption des contaminants de la phase vers l'eau est négligeable, le régime cinétique correspond donc à l'absorption ou l'adsorption des contaminants sur la phase. De ce fait, lorsque l'échantillonneur passif est exploité dans le régime linéaire, l'équation 2 peut s'écrire sous la forme (Vrana et al. 2005a) :

$$C_s(t) = C_w k_u t \quad \text{Équation 3}$$

L'équation 3 peut être réarrangée afin de donner l'équation 4 :

$$M_s(t) = C_w R_s t \quad \text{Équation 4}$$

Où M_s est la masse du contaminant accumulée dans la phase réceptrice (g) et R_s est le taux d'échantillonnage ($L \cdot j^{-1}$).

L'équation 4 peut être réarrangée pour donner l'équation 5 :

$$C_w = \frac{m_s C_s}{R_s t} \quad \text{Équation 5}$$

Le taux d'échantillonnage (R_s) correspond au nombre de litres d'eau épurés par unité de temps. Pour la plupart des échantillonneurs passifs, il ne varie pas avec la concentration des composés dans l'eau, mais il est souvent affecté par le débit, la température et le biofouling (Vrana et al. 2005a). Le taux d'échantillonnage dépend aussi de la surface de l'échantillonneur en contact avec le milieu à échantillonner comme le montre l'équation 6.

$$R_s = k_0 \cdot A \cdot \alpha \quad \text{Équation 6}$$

Où k_0 est le coefficient de transfert de masse global ($m \cdot s^{-1}$), A la surface de la membrane (m^2) et α est la surface de pore sur la totalité de la membrane.

Il est important d'immerger les échantillonneurs pendant une période de temps n'excédant pas le temps de demi-équilibre (t_{50}) afin de ne pas sortir du domaine

d'accumulation linéaire du composé (Figure 15). Le temps d'exposition maximum t_{50} peut être estimé si le coefficient de partition entre la phase et l'eau (K_{SW}) et le taux d'échantillonnage R_s sont connus (équation 7). Cependant, les valeurs de K_{SW} ne sont pas toujours déterminées et les taux d'échantillonnage sur le terrain ne sont pas exactement les mêmes que ceux déterminés en laboratoire. Le temps de demi-équilibre est mathématiquement identique à $t_{1/2}$ pour l'élimination, t_{50} peut donc être déterminé par l'équation 7 (Vrana et al. 2006a).

$$t_{50} = \ln 2 \left(\frac{KV}{R_s} \right) = \frac{\ln 2}{k_e} \quad \text{Équation 7}$$

Où V est le volume de la phase réceptrice

IV.4.1 Echantillonneurs exploités à l'équilibre

Dans le cas d'échantillonneurs exploités à l'équilibre, il faut que le temps d'exposition soit suffisamment long afin d'atteindre l'équilibre thermodynamique entre l'eau et la phase réceptrice. Il est alors considéré que le temps, t, tend vers l'infini, l'équation 1 peut alors s'écrire :

$$C_s = C_w \left(\frac{k_u}{k_e} \right) = C_w K_{sw} \quad \text{Équation 8}$$

Où $K_{sw} = \frac{k_u}{k_e}$ est le coefficient de partage phase / eau du composé.

La connaissance du coefficient de partage phase / eau, permet d'estimer la concentration des contaminants présents sous forme dissoute (Allan et al. 2006). Pour de tels échantillonneurs, il est préférable d'avoir des outils qui atteignent rapidement l'équilibre, en enlevant les membranes par exemple.

IV.4.2 Facteurs ayant un impact sur l'échantillonnage passif

Les composés doivent être transportés de la phase aqueuse vers la phase réceptrice, il s'agit du transfert de masse. Ils doivent tout d'abord passer à travers la couche limite aqueuse présente à la surface de la membrane de l'échantillonneur, cette couche est plus ou moins épaisse en fonction du courant ; puis à travers la membrane ; et enfin de la couche limite de la phase réceptrice jusqu'à être absorbés dans la phase réceptrice (Figure 16). Lors d'une exposition plus ou moins longue dans le milieu, un biofilm peut se former à la surface de la membrane, et participe également au transfert de masse.

La résistance au transfert de masse augmente avec l'épaisseur efficace (δ) et la diminution des coefficients de diffusion et de partition. Un certain nombre de méthodes a été mis au point afin de compenser l'effet des variables environnementales sur la performance de ces échantillonneurs (Vrana et al. 2005a).

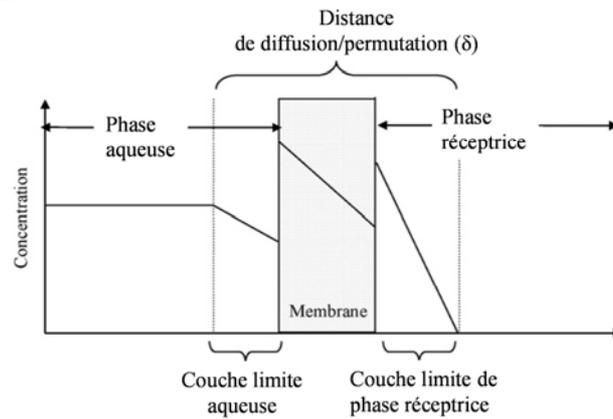


Figure 16: Principe de l'échantillonnage passif (Mills et al. 2007).

Le coefficient de transfert de masse global est affecté par la diffusion des composés au travers des différentes couches (Vrana et al. 2007). Cependant, la contribution de la phase réceptrice dans la résistance au transfert de masse est considérée comme négligeable (Vrana et al. 2005a; Vrana et al. 2005b). Toutes les résistances au transfert de masse sont additives et permettent d'accéder au coefficient de transfert global (équation 9).

$$\frac{1}{k_0} = \frac{\delta_w}{D_w} + \frac{\delta_m}{D_m K_{mw}} + \frac{\delta_b}{D_b K_{bw}} \quad \text{Équation 9}$$

Où δ_w , δ_m et δ_b , sont les épaisseurs efficaces de la couche limite aqueuse, de la membrane et du biofilm respectivement; D_w , D_m et D_b , sont les coefficients de diffusion dans l'eau, la membrane et le biofilm respectivement; et K_{mw} et K_{bw} sont les coefficients de partage membrane/eau et biofilm/eau respectivement.

IV.5 Utilisation de composés de référence de performance (PRC : Performance Reference Compounds)

De par l'effet des variables environnementales affectant la performance des échantillonneurs, la comparaison entre échantillonnage passif et ponctuel amène à une seule conclusion : la sous-estimation des concentrations dans le milieu, ce qui sous-entend une surestimation des R_S déterminés en laboratoire (Alvarez et al. 2004; Mac Leod et al. 2007; Z. Zhang et al. 2008). L'utilisation des PRC peut permettre de s'affranchir des variations environnementales et donc de corriger les R_S déterminés en laboratoire.

Les PRC sont des composés, généralement deutérés et non présents dans l'environnement, ayant des structures et des propriétés physico-chimiques proches de celles des composés d'intérêt. Ils sont introduits dans la phase réceptrice de l'échantillonneur avant exposition. La désorption des PRC et l'absorption ou l'adsorption des composés d'intérêt suivent des lois équivalentes (une cinétique de premier ordre). Le phénomène de désorption d'un « bon » PRC doit obéir aux mêmes lois que celles de l'absorption ou l'adsorption (équation 10). Leur utilisation est donc basée sur un principe d'échange isotrope (Huckins et al. 1993; Huckins et al. 2002) (Figure 17).

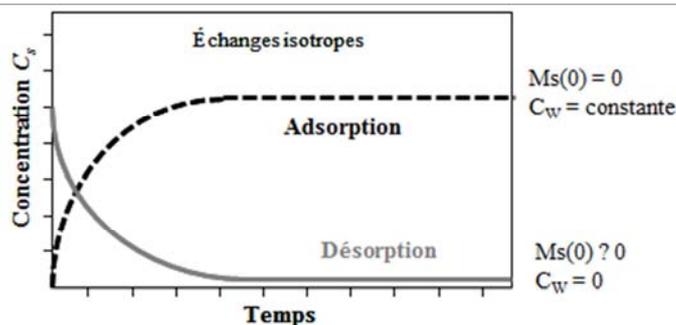


Figure 17 : Principe des PRC : échanges isotropes entre l'adsorption et la désorption.

Dans un premier temps, il faut déterminer la constante d'élimination du PRC en question lors de calibration (Equation 10) ainsi que le taux d'échantillonnage associé à un composé (Equation 5).

$$C_{PRC} = C_{PRC0} \exp(-k_{e-PRC}t) \quad \text{Équation 10}$$

Où C_{PRC0} est la concentration initiale en PRC dans la phase réceptrice ; C_{PRC} est la concentration en PRC dans la phase réceptrice après une exposition de temps t ; et k_{e-PRC} est la constante de désorption du PRC (j^{-1}).

Puis, il est ensuite possible de calculer un taux d'échantillonnage corrigé ($R_{s \text{ in situ}}$) à partir de celui déterminé en laboratoire (équation 11).

$$R_{S \text{ in situ}} = \left(\frac{k_{ePRC \text{ in situ}}}{k_{ePRC}} \right) R_S \quad \text{Équation 11}$$

Où $k_{ePRC \text{ in situ}}$ est la constante de désorption du PRC *in situ* et k_{ePRC} est celle calculée en laboratoire, R_S est le taux d'échantillonnage calculé en laboratoire et $R_{S \text{ in situ}}$ est celui du milieu corrigé par l'utilisation des PRC.

En utilisant le $R_{s \text{ in situ}}$, il est ensuite possible de remonter à la concentration dans le milieu à partir de l'équation 5. En effet, le principe des PRC est largement appliqué aux SPMD (Huckins et al. 1999; Petty et al. 2000; Booij et al. 2002; Huckins et al. 2002; Harman et al. 2009a) et depuis peu aux POCISTM (Mazzella et al. 2007; Mazzella et al. 2010).

IV.6 Quelques exemples d'échantillonneurs passifs couramment utilisés

Les échantillonneurs passifs combinent généralement l'échantillonnage, la sélectivité pour un ou plusieurs composés, la préconcentration et, dans certains cas, la conservation de la spéciation. Ils simplifient les opérations à effectuer sur le site d'échantillonnage. Une fois que l'échantillon est prélevé, il faut analyser les composés présents dans la phase. Ces outils ont été désignés dans le but de mimer l'exposition par voie respiratoire des organismes aquatiques sans les problèmes inhérents au métabolisme (Alvarez et al. 2005).

Il existe de nombreux échantillonneurs passifs pour les composés organiques. Par rapport à l'ensemble des échantillonneurs existants, les SPMD représentent 20%, les ChemcatcherTM 6%, les POCISTM 20%, les MESCO 2%, les membranes en LDPE et les bandes de silicone 29% (Figure 18). L'application de ces échantillonneurs est fonction des composés ciblés, de la sensibilité souhaitée et de l'adéquation entre extraction et moyens disponibles en laboratoire.

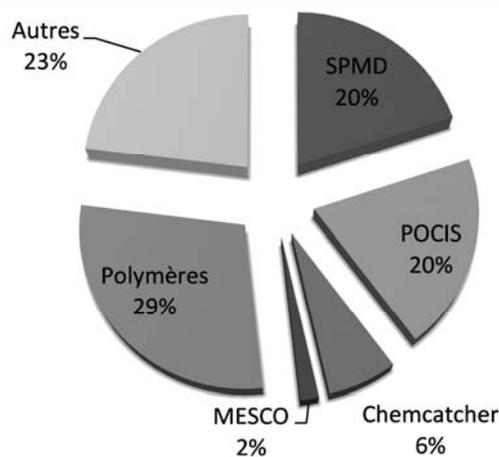


Figure 18 : Principaux échantillonneurs passifs pour les composés organiques. Les pourcentages représentent la part de chaque échantillonneur passif par rapport à l'ensemble de ceux existants. Ce pourcentage est calculé en fonction du nombre de publications citant chaque type d'échantillonneurs passifs, ces publications sont celles sélectionnées pour la figure 14.

Le Tableau 12 décrit brièvement les échantillonneurs passifs pour les composés organiques les plus couramment utilisés avec leurs avantages et inconvénients.

De nombreux échantillonneurs passifs pour les composés organiques existent. Ces travaux de thèse concernent plus particulièrement l'étude de composés hydrophiles et plus ou moins hydrophobes que sont les alkylphénols, alkylphénols polyéthoxylés, le bisphénol A et les composés pharmaceutiques. Les POCISTM, bénéficiant de nombreux avantages, sont préférentiellement utilisés au cours de ces travaux. Tout d'abord, ces outils permettent d'échantillonner de nombreux composés (Alvarez et al. 2005; Morin et al. 2012). Ils ont la capacité d'être très sensibles et faciles d'utilisation (Alvarez et al. 2005). De plus, il est possible de moduler ces outils en fonction des composés ciblés, comme par exemple le changement de phase réceptrice (Li et al. 2011) ou de membranes (Kohoutek et al. 2010).

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

Echantillonneurs passifs	Description	Composés échantillonnés	Avantages	Limites		Références
Semipermeable Membrane Devices (SPMD)	Tube en polyéthylène contenant de la trioléine (lipide)	Composés organiques ayant un $\log K_{ow} > 3$ (Composés hydrophobes semi-volatils)	Très sensible, données de calibration disponibles, largement utilisé, simple d'utilisation	Extraction lourde (temps, solvant...), étape de purification nécessaire, soumis au biofouling		(Huckins et al. 1993; Vrana et al. 2005a; Gourlay et al. 2005; Komarova et al. 2009; Mueller et al. 2011)
Chemcatcher™	Support en polytétrafluoroéthylène (PTFE) contenant un disque Empore™ (phase réceptrice) et une membrane	Composés organiques polaires et non polaires (en fonction du type de disque Empore™ utilisé)	Large domaine d'application de par les nombreuses combinaisons possible entre phase et membrane, simplicité de fabrication, de déploiement et d'extraction	Soumis au biofouling, approche PRC à approfondir		(Kingston et al. 2000; Vrana et al. 2005a; Shaw et al. 2009; Vermeirssen et al. 2009; O'Brien et al. 2011)
Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS™)	Membranes en polyéthersulfone (PES) contenant une phase solide adsorbante	Composés organiques hydrophiles ayant un $\log K_{ow} < 3$	Simplicité de fabrication, de déploiement et d'extraction, possibilité de changement de phase et membranes	Soumis au biofouling, approche PRC à approfondir		(Alvarez et al. 2004; Vrana et al. 2005a; Bartelt-Hunt et al. 2011; Miège et al. 2011; Tapie et al. 2011; Miège et al. 2012; Morin et al. 2012)
Membrane Enclosed sorptive coating (MESCO)	Sac en cellulose régénéré contenant un barreau en polydiméthylsiloxane (PDMS) ou en polyéthylène faible densité (LDPE)	Composés organiques polaires et non polaires	Extraction des composés par thermodésorption, réutilisation possible, format miniature, échantillonnage robuste, large domaine d'application	Membrane peu stable		(Vrana et al. 2001; Vrana et al. 2005a; Vrana et al. 2006b; I. Allan et al. 2010)
Membranes en LDPE et silicones	Bandes de LDPE et de silicone	Composés organiques non polaires	Faible coût, facilité à mettre en œuvre, Ke plus importants qu'avec les SPMD	Capacité d'échantillonnage plus faible qu'avec les SPMD, peu de données de calibration disponibles		(Booij et al. 2002; Vrana et al. 2005a; Allan, et al. 2009; I. Allan et al. 2010)

Tableau 12 : Liste non exhaustive des échantillonneurs passifs pour les composés organiques couramment utilisés.

IV.7 POCISTM

IV.7.1 Théorie

IV.7.1.1 Principe des POCISTM

Les POCISTM sont constitués de deux membranes en PolyEther Sulfone (PES) contenant une phase adsorbante (Figure 19). Les membranes en PES ont été choisies pour leur relative « inertie » chimique qui limite les interactions avec les substances polaires mais également pour leur résistance à la formation de biofilms (Alvarez et al. 2004). Les membranes en PES permettent le passage des composés grâce à leurs pores de 0,1 µm de diamètre. Elles retiennent les matières en suspension et limitent essentiellement l'échantillonnage à la fraction dissoute. Les POCISTM standards ont une surface d'échantillonnage maximale théorique de 45,8 cm², contiennent 200 mg de phase adsorbante, un rapport entre surface d'échantillonnage et masse de phase de 180 cm².g⁻¹, ont un diamètre interne de 5,4 cm et un diamètre externe de 10 cm. Le type de phase adsorbante peut changer en fonction des classes de composés ciblés. Deux types de phase ont été initialement développées (Vrana et al. 2005a):

- Les POCISTM, de configuration "générique" (POCISTM-Pest) possèdent une phase contenant un mélange de trois phases adsorbantes : une résine de polystyrène-divinylbenzène hydroxylée (Isolute ENV +) et un adsorbant carboné (Ambersorb 1500) dispersé sur un copolymère de styrène-divinylbenzène (S-X3 Biobeads) généralement utilisé pour la chromatographie d'exclusion stérique. Cette phase est prévue pour retenir la plupart des pesticides, des hormones naturelles et synthétiques et des composés organiques solubles dans l'eau.
- Les POCISTM, de configuration "pharmaceutique" (POCISTM-Pharm) possèdent une phase de type HLB[®] (Hydrophilic Lipophilic Balanced), copolymère de N-vinylpyrrolidone et de divinylbenzène, prévue pour échantillonner les composés pharmaceutiques.

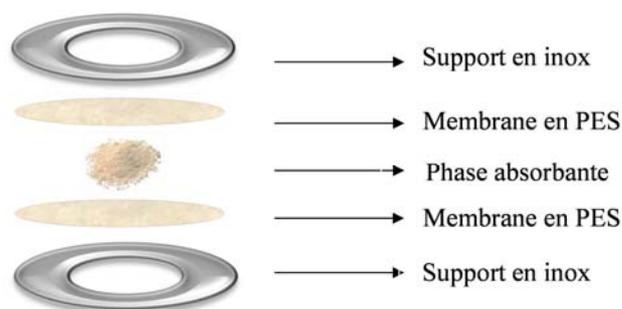


Figure 19 : Conception d'un POCISTM.

IV.7.1.2 Types de composés échantillonnés par les POCISTM

Les POCISTM (Figure 20) ont été développés afin de surveiller les contaminants hydrophiles avec un log K_{OW} inférieur à 3 (Alvarez et al. 2004), tels que les pesticides, les composés pharmaceutiques, les hormones et les produits de soin corporel.

Ces échantillonneurs permettent de déterminer les concentrations moyennes temporelles des composés présents dans le milieu sur plusieurs semaines (Vrana et al. 2005a). Il a les avantages d'être très sensible et facile d'utilisation (Alvarez et al. 2005) et de pouvoir moduler sa capacité d'échantillonnage en changeant la phase réceptrice (Li et al. 2011) et les membranes (Kohoutek et al. 2010). Pour l'analyse chimique, les composés sont extraits avec un seul solvant ou un mélange de solvants approprié (Vrana et al. 2005a).



Figure 20: Aspect général d'un POCIS™.

IV.7.1.3 Caractéristique d'accumulation dans les POCIS™

La plupart des composantes du transfert de masse dans les POCIS™ sont décrites par la Figure 21. Le transfert de masse des composés vers la phase adsorbante comporte plusieurs étapes : la circulation des composés organiques polaires ou hydrophiles dans le milieu, la diffusion à travers la couche limite aqueuse (le biofilm n'est pas considéré dans cet exemple), la diffusion à travers les pores de la membrane et la matrice de la membrane, la diffusion à travers la couche limite aqueuse associée à la surface de la membrane, et la diffusion à travers les composés déjà absorbés sur l'absorbant (Alvarez et al. 2007). C'est deux dernières composantes ne sont pas illustrées dans la Figure 21.

Les résistances au transfert de masse de chaque obstacle sont additives. Par conséquent, une diminution de la résistance au transfert de masse d'un obstacle entraîne une augmentation du taux d'adsorption. La plus grande augmentation du taux d'adsorption a lieu lorsque la résistance de la couche limite aqueuse diminue (Alvarez et al. 2007).

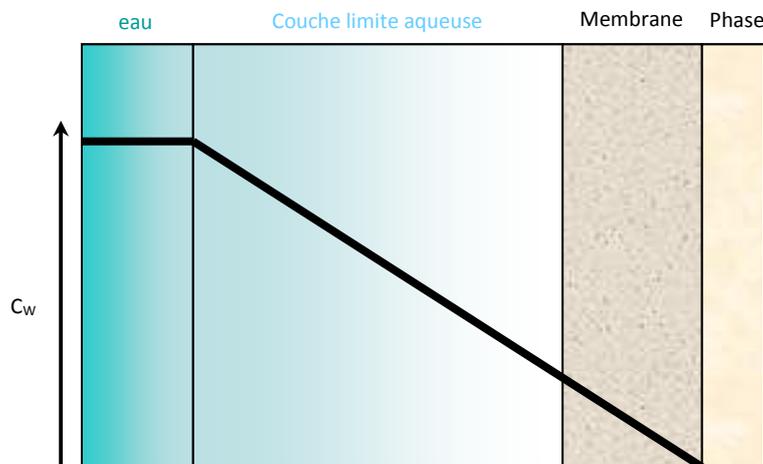


Figure 21 : Représentation des composantes au transfert de masse dans un POCIS™ (Alvarez et al. 2007).

Pour des composés avec un $\log K_{OW} < 3$, le taux d'adsorption est principalement contrôlé par la diffusion des composés à travers la couche limite aqueuse se trouvant sur la face externe de la membrane (Alvarez et al. 2007).

IV.7.2 Taux d'échantillonnage et influence des paramètres physico-chimiques et environnementaux

Il est nécessaire de calibrer les POCIS™ en laboratoire avant leur exposition dans le milieu pour déterminer le taux d'échantillonnage pour chaque composé étudié ce qui permettra par la suite de remonter à la concentration moyennée dans le milieu à partir de l'équation 5.

Les conditions environnementales comme la température (Togola et Budzinski 2007; Li et al. 2010a), la salinité (Togola et Budzinski 2007), la vitesse d'agitation (Mac Leod et al. 2007; Li et al.

2010b), le pH (Li et al. 2011), la teneur en matière organique (Li et al. 2011) et le biofouling (Harman, Boyum, et al. 2009) peuvent influencer sur le transfert de masse et donc sur la capacité d'accumulation des composés (Zhang et al. 2008). Cependant, il faut noter que la concentration du milieu n'a aucune influence sur l'accumulation des composés dans la phase réceptrice (Alvarez et al. 2004; Mazzella et al. 2007; Togola et Budzinski 2007; Ardisoglou et Voutsas 2008).

IV.7.2.1 *Comparaison entre POCISTM-Pest et POCISTM-Pharm*

Il existe deux configurations de POCISTM : les POCISTM-Pest et les POCISTM-Pharm.

La résine Isolute ENV+, présente dans les POCISTM-Pest, a été optimisée pour retenir les composés organiques polaires solubles dans l'eau. Selon Alvarez et al. (2004), le mélange des trois phases présentes dans les POCISTM-Pest s'avère plus efficace pour la diffusion et la rétention des pesticides et des hormones.

La phase OASIS HLB® présente dans les POCISTM-Pharm est plus adaptée pour échantillonner des composés ayant une large gamme de polarité, des composés neutres à ioniques et ayant de nombreux groupes fonctionnels. Le N-vinylpyrrolidone possède un site accepteur d'hydrogène améliorant l'adsorption des composés hydrophiles et le divinylbenzène peut avoir des interactions spécifiques avec les groupes aromatiques.

Quelques études ont été menées afin de comparer la capacité d'échantillonnage de ces deux configurations de POCISTM. Mazzella et son équipe (2007) mettent en évidence que les POCISTM-Pharm sont légèrement plus efficaces pour échantillonner les herbicides polaires (Figure 22). Dans cette étude, le diuron et le linuron ont un facteur de concentration dans les POCISTM-Pharm trois fois supérieur à celui obtenu dans les POCISTM-Pest. Les facteurs de concentrations obtenus avec les POCISTM-Pharm semblent être plus importants pour les herbicides ayant un log K_{OW} compris entre 1,2 et 3,2. Ardisoglou et Voutsas (2008) concluent qu'il n'y a pas de différences significatives d'accumulation entre les deux configurations de POCISTM pour les perturbateurs endocriniens. Les taux d'échantillonnage obtenus lors de ces deux études sont présentés Figure 22.

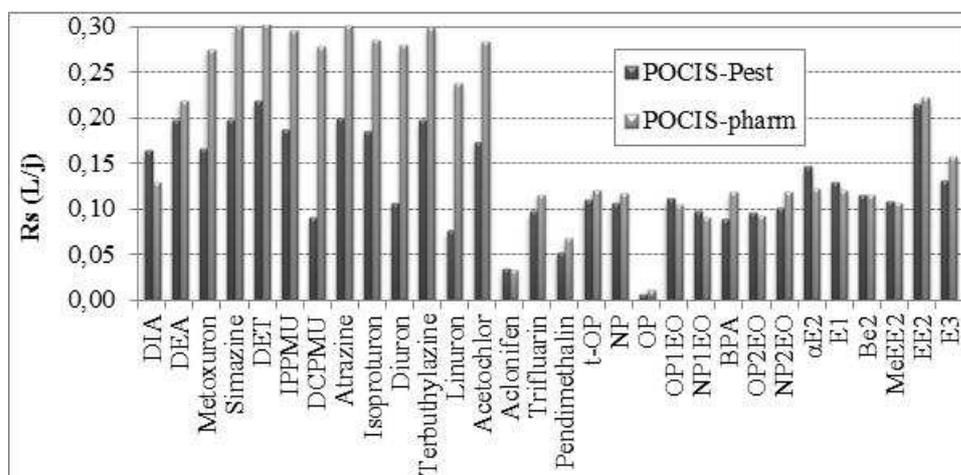


Figure 22 : Comparaison des taux d'échantillonnage entre les POCISTM-Pest et les POCISTM-Pharm (Mazzella et al. 2007; Ardisoglou et Voutsas 2008).

IV.7.2.2 *Influence de la surface d'échantillonnage*

Les POCISTM commercialisés ont une surface d'échantillonnage maximale théorique de 45,8 cm² avec un rapport entre surface d'échantillonnage et masse de phase de 180 cm².g⁻¹. La miniaturisation

de ces outils permet d'échantillonner des composés présents dans des masses d'eau « inaccessibles » avec les POCISTM standards, comme par exemple les nappes phréatiques. En effet, pour accéder à ces nappes, il est souvent nécessaire de passer par un piézomètre ayant un diamètre interne de l'ordre de 5 à 7 cm (Belles et al. 2011).

Plusieurs études ont traité l'influence de la surface d'échantillonnage des POCISTM sur l'accumulation des composés (Alvarez et al., 2004; Zhang et al., 2008). Zhang et son équipe (2008) mettent en évidence que l'accumulation des composés dans les POCISTM est proportionnelle à la surface d'échantillonnage. Une comparaison des taux d'échantillonnage sur des POCISTM de 11,5 cm² et 45,8 cm² (POCISTM standards) a été faite par les équipes de Zhang et Arditoglou (Arditoglou et Voutsas 2008; Zhang et al. 2008) et est présentée Figure 23.

Les taux d'échantillonnage augmentent avec la surface d'échantillonnage (Figure 23). L'accumulation du EE2, composé le plus hydrophobe avec un log de K_{OW} de 4,1 a une augmentation plus rapide que celles des autres composés. Cependant, l'hydrophobicité ne suffit pas à expliquer cette différence car les valeurs de log de K_{OW} de ces 4 composés sont proches, ils sont respectivement de 3,4 ; 3,9 et 3,6 pour l'œstrone (E1), le 17-β-œstradiol (E2) et le BPA. Il apparaît donc que le taux d'échantillonnage de l'EE2 est majoritairement contrôlé par la membrane de par la forte corrélation avec la surface d'échantillonnage (Vrana et al. 2005c). Les taux d'échantillonnage de E1, E2 et du BPA sont quant à eux contrôlés à la fois par la membrane mais aussi par d'autres composantes comme la couche limite.

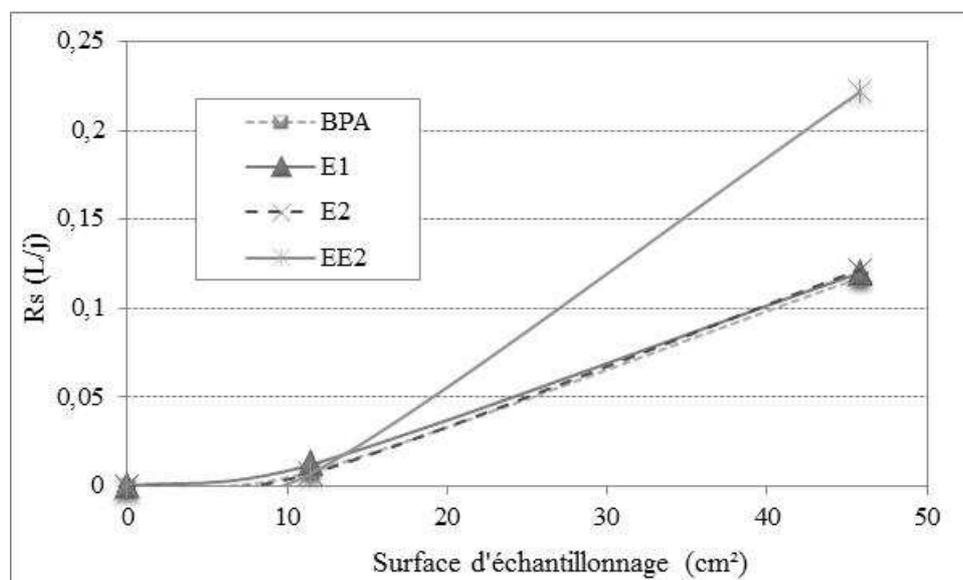


Figure 23 : Comparaison des taux d'échantillonnage, R_s ($L.j^{-1}$), en fonction de la surface d'échantillonnage (Arditoglou et Voutsas 2008; Zhang et al. 2008).

IV.7.2.3 Influence de la vitesse d'agitation

Les équipes de Li et Mac Leod (Mac Leod et al. 2007; Li et al. 2010b) ont mis en évidence que la vitesse d'agitation a une influence sur l'accumulation des composés dans les POCISTM.

Mac Leod (2007) a déterminé les taux d'échantillonnage de certains composés pharmaceutiques en fonction de deux vitesses (3 et 12 $cm.s^{-1}$). Les taux d'échantillonnage sont plus importants lorsque la vitesse augmente (Figure 24). Ceci peut être expliqué par une diminution de la couche limite aqueuse, présente à la surface de l'échantillonneur, ce qui facilite le passage des composés du milieu

vers la phase réceptrice. Cependant, tous les composés ne sont pas affectés de la même manière. Par exemple, l'accumulation de l'aténolol, du kétoprofène, du naproxène, du diclofénac et du gemfibrozil ne semble pas être influencée par la vitesse alors que celle de la codéine, du métoprolol, de la carbamazépine, du propranolol et du triclosan l'est plus ou moins. Il n'y a aucune corrélation avec l'hydrophobicité des composés (Figure 24). Ceci peut être expliqué par la différence peu importante des vitesses étudiées, celle-ci ne permettant pas de discerner leur influence pour certains composés.

L'étude menée par Li et son équipe (2010b) permet de confirmer l'hypothèse que l'augmentation de la vitesse induit une diminution de la couche limite et donc facilite l'accumulation des composés (Figure 25) comme le naproxène, la carbamazépine ou encore le triclosan.

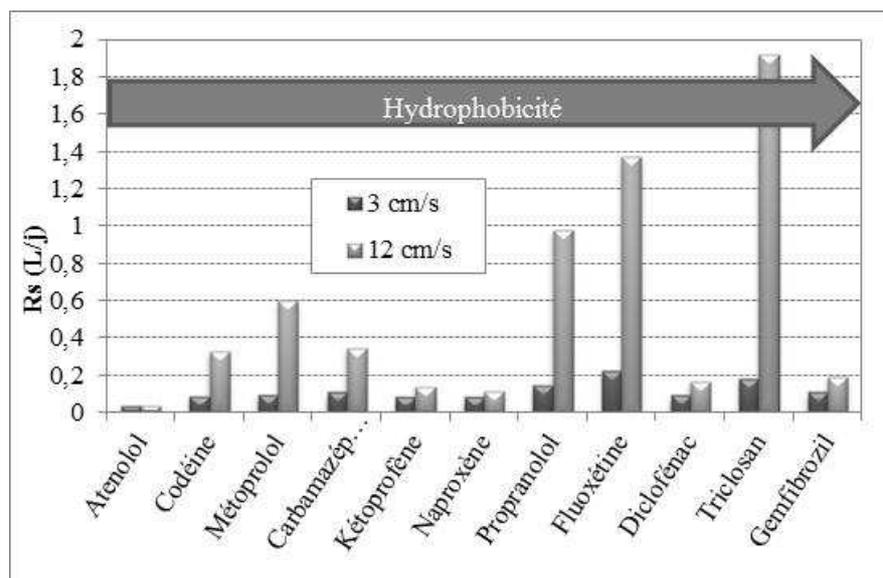


Figure 24 : Influence de la vitesse d'agitation sur les taux d'accumulation des composés pharmaceutiques dans les POCISTM, composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Mac Leod et al. 2007).

D'après ces deux études, il n'y a aucune corrélation systématique et générale entre l'accumulation des composés dans la phase réceptrice et la vitesse d'agitation. La seule explication plausible est que les propriétés physico-chimiques des composés complexes et variées influencent leur accumulation qui sera d'autant plus différente. Comme expliqué précédemment, la diffusion d'un composé du milieu vers la phase réceptrice de l'échantillonneur doit traverser plusieurs « barrières » dont deux principales qui sont la couche limite et la membrane. Plus les composés sont hydrophiles, moins la taille de la couche limite aura d'influence sur l'accumulation mais dans certains cas, d'autres paramètres entrent en compte comme l'encombrement stérique.

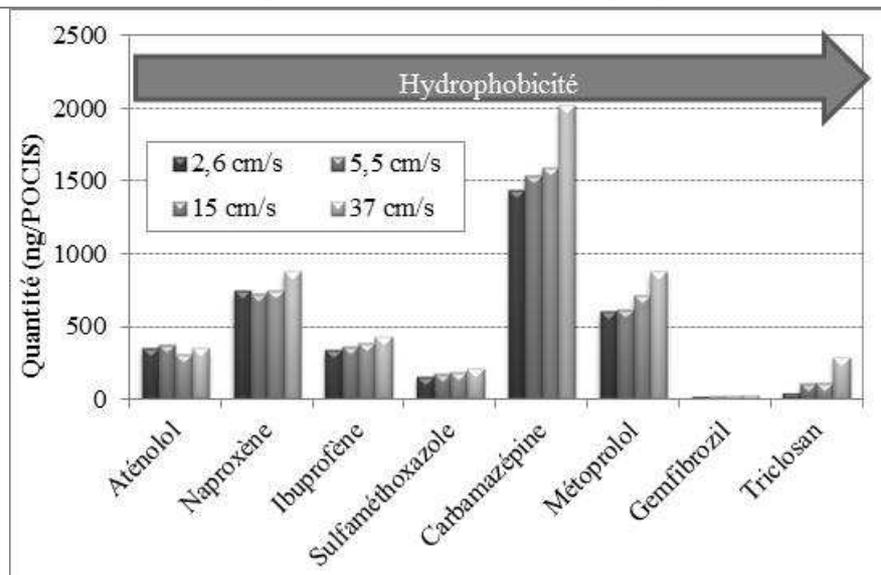


Figure 25 : Influence du débit sur la quantité de composés pharmaceutiques accumulée dans les POCIS™, composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Li et al. 2010b).

Cependant, il est important de noter qu'entre ces deux études, il y a des différences de comportement. Par exemple, l'accumulation de la fluoxétine semble être impactée par l'augmentation de la vitesse d'agitation dans la première étude (Mac Leod et al. 2007) alors que dans la seconde, elle ne semble pas l'être (Li et al. 2010b). Ces deux études ne sont pas réalisées dans les mêmes conditions : nature de l'eau de calibration, teneur en matière organique, etc. Ces différents facteurs peuvent donc s'ajouter au transfert de masse et l'effet de la vitesse d'agitation sur l'accumulation sera différent. Il est aussi important de noter les valeurs de vitesses d'agitation moyennes rencontrées dans les milieux naturels afin de situer celles qui ont été étudiées. Celles retrouvées dans les fleuves sont de l'ordre de 100 cm.s^{-1} . Dans la Garonne, la vitesse d'agitation est en moyenne de 300 cm.s^{-1} en surface et 150 cm.s^{-1} à un mètre de profondeur²² ; celle du Rhône est estimée entre 50 et 100 cm.s^{-1} (Vassas et al. 2008); celle en entrée du Bassin d'Arcachon est en moyenne de 200 cm.s^{-1} ; et celle de petites rivières s'élève à la dizaine de cm.s^{-1} . De ce fait, les vitesses de 15 et 37 cm.s^{-1} sont les plus réalistes et se rapprochent le plus de celles des petites rivières ou cours d'eau.

IV.7.2.4 Influence de la salinité

Il faut également prendre en compte l'effet de la salinité sur l'accumulation des composés. Ces outils sont utilisés dans différents systèmes aquatiques comme les rivières, les lacs, les eaux de stations d'épuration, les systèmes estuariens ou encore les eaux marines. En effet, la salinité améliore la force ionique de l'eau et permet ainsi de diminuer le caractère hydrophile des composés. Cela peut donc changer les propriétés physico-chimiques de certains composés et ainsi affecter les Rs.

Les taux d'échantillonnage déterminés par Togola (2007) sont représentés sur la Figure 26. Ils ont été calculés à 0 et 35 PSU (Practical Salinity Unit). Il n'est pas observé d'effets significatifs sur les composés acides comme le kétoprofène, le naproxène, l'ibuprofène, le diclofénac et le gemfibrozil. Cependant, pour les autres composés, l'accumulation diminue lorsque la salinité augmente. Cette différence est d'autant plus significative lorsque les composés sont hydrophobes.

²² Service d'observation de l'UMR CNRS EPOC, www.domino.u-bordeaux.fr/observation/

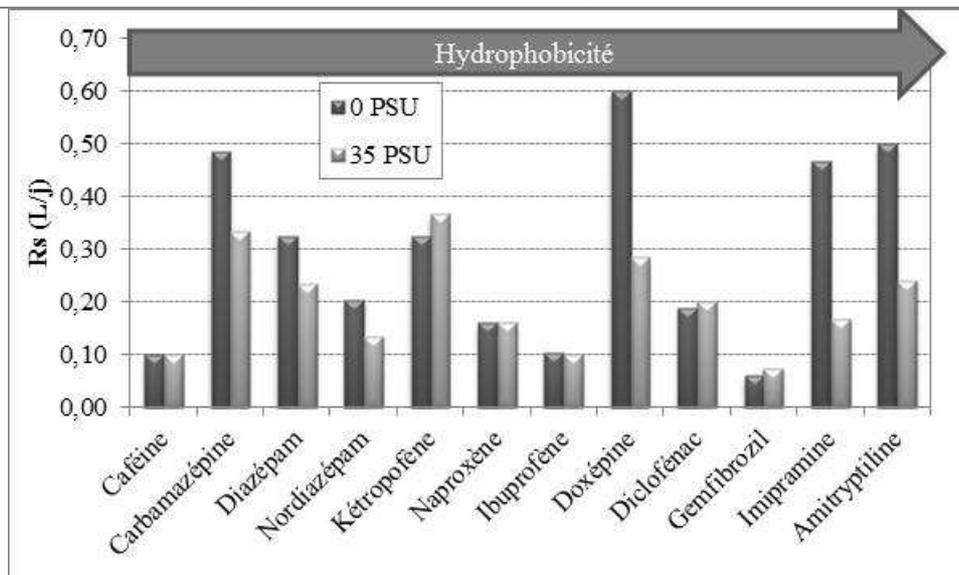


Figure 26 : Influence de la salinité sur l'accumulation des composés pharmaceutiques, composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Togola et Budzinski 2007).

Une comparaison des taux d'échantillonnage déterminés par Mazzella et al. et Martinez-Bueno et al. (Mazzella et al. 2007; Martinez Bueno et al. 2009) a été faite (Figure 27). Il s'agit de résultats obtenus à l'aide de deux calibrations en laboratoire, Martinez-Bueno et al. l'ont réalisé avec de l'eau de mer et Mazzella et al. avec de l'eau douce. La salinité semble avoir une influence sur la simazine, le diuron et l'atrazine. Ces composés ont un log K_{OW} de 2,2, 2,7 et 2,8, respectivement. D'autres paramètres peuvent malgré tout expliquer cette forte influence de la salinité sur l'accumulation de ces trois composés (le débit, la teneur en matière organique,...) puisque ces deux études ont été conduites séparément et dans des conditions différentes.

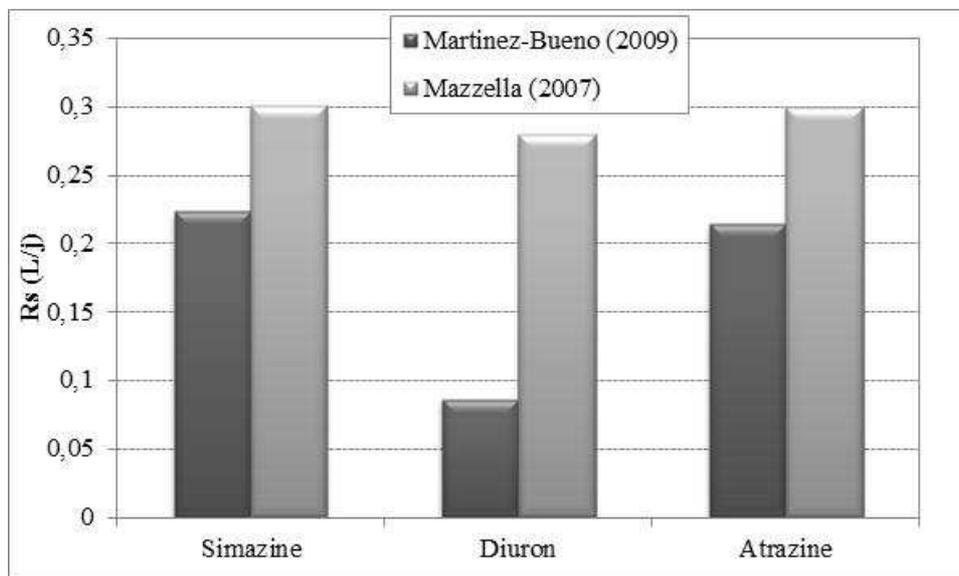


Figure 27 : Comparaison des taux d'échantillonnage de trois pesticides déterminés avec une salinité différente, composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Mazzella et al. 2007; Martinez Bueno et al. 2009)

IV.7.2.5 Influence de la température

La température de l'eau est un paramètre majeur. Les échantillonneurs sont disposés dans les systèmes aquatiques à travers les saisons, durant lesquelles la température peut varier en moyenne de 10°C. L'effet de ce paramètre sur l'accumulation des composés dans les POCISTM a été évalué lors de plusieurs études (Togola et Budzinski 2007; Li et al. 2010a).

Togola et Budzinski (2007) ont étudié l'accumulation des composés pharmaceutiques dans les POCISTM à 15 et 21°C (Figure 28). Les taux d'échantillonnage augmentent en fonction de la température. Cet effet est plus ou moins prononcé en fonction des composés : la carbamazépine n'est pas influencée alors que la doxépine, l'imipramine ou encore le kétoprofène le sont beaucoup. En effet, lorsque la température de l'eau augmente, la solubilité et le coefficient de partage octanol / eau peuvent être modifié, ceci facilitant le transfert d'un composé du milieu vers la phase réceptrice de l'échantillonneur. Cependant, les différences de Rs observées pour le naproxène, l'ibuprofène, le diclofénac et le gemfibrozil en fonction de la température sont faibles par rapport à celles de composés plus hydrophobes.

L'étude menée par Li et al. (2010a) permet de déterminer l'influence de la température sur l'accumulation de certains composés pharmaceutiques et perturbateurs endocriniens sur une gamme de température allant de 5°C à 25°C (Figure 29).

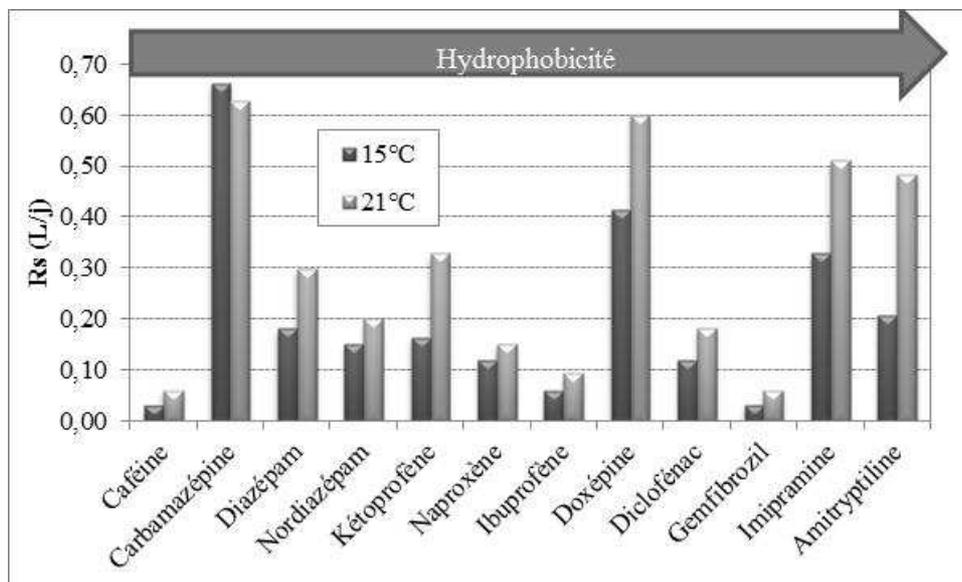


Figure 28 : Effet de la température sur l'accumulation des composés pharmaceutiques, composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Togola et Budzinski 2007).

De même que dans l'étude de Togola et Budzinski (2007), l'accumulation des composés augmente avec la température. De plus, cette différence d'accumulation en fonction de la température augmente avec l'hydrophobicité des composés. Il est à noter que la plus grosse différence de Rs est observée à 5°C notamment pour la caféine, la carbamazépine, l'ibuprofène, le gemfibrozil, la fluoxétine et le bisphénol A. Les différences de taux d'échantillonnage entre 15 et 25°C sont négligeables pour la caféine, la carbamazépine, le naproxène, le gemfibrozil et le bisphénol A. Ces résultats sont similaires à ceux observés dans l'étude de Togola et Budzinski (2007) et montrent qu'une température proche de 5°C, du fait d'une plus grande influence sur la solubilité des composés, impacte donc de manière plus forte l'accumulation des composés.

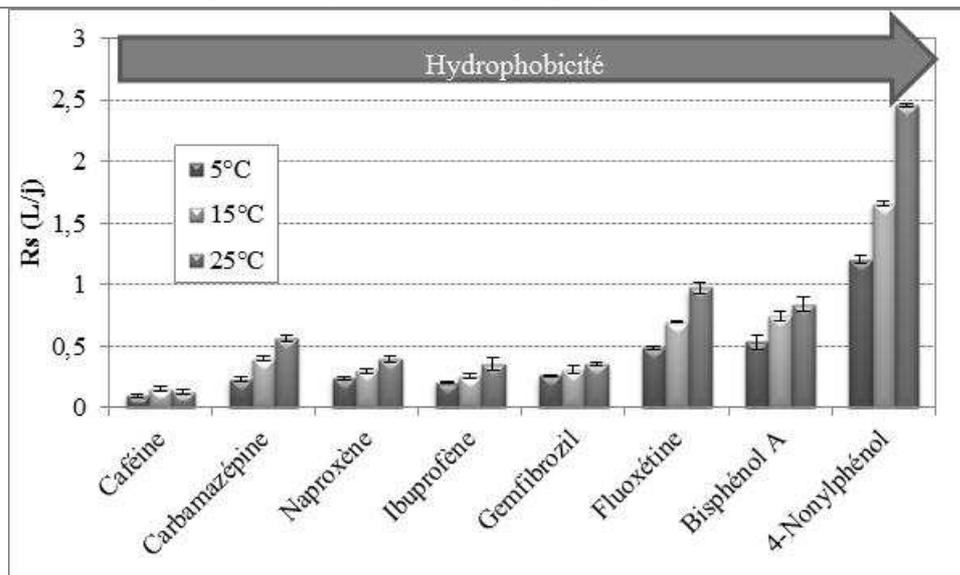


Figure 29 : Effet de la température sur l'accumulation de certains composés pharmaceutiques et perturbateurs endocriniens, composés classés dans l'ordre croissant d'hydrophobicité (Li et al. 2010a).

IV.7.2.6 Influence du pH

Le pH d'un milieu peut ioniser et / ou affecter la solubilité et l'hydrophobicité de certains composés. La spéciation chimique d'un composé est contrôlée par le pH du milieu dans lequel il se trouve en lien avec sa constante de dissociation (pKa) (Li et al. 2011). Li et son équipe (2011) ont étudié l'influence du pH (3,7 et 9) sur l'accumulation des composés pharmaceutiques et du bisphénol A dans les POCISTM (Figure 30).

Les taux d'échantillonnage varient en fonction du pH mais pas pour tous les composés. Ceux des composés pharmaceutiques acides (naproxène, gemfibrozil et ibuprofène) diminuent lorsque le pH augmente. Tandis que pour la fluoxétine, composé pharmaceutique basique, il augmente avec le pH. L'accumulation de la carbamazépine, composé neutre, et du bisphénol A, composé phénolique, n'est pas affectée significativement par la variation du pH. Aux pH testés, les composés pharmaceutiques acides et basiques sont soit sous forme neutre, soit ionique alors que les composés neutre ou phénoliques, avec un pKa supérieur à 10, sont uniquement sous forme neutre. Le naproxène, le gemfibrozil et l'ibuprofène ont un pKa inférieur à 5. De ce fait, ils sont sous leur forme neutre à pH 3 et sous forme ionique aux pH 7 et 9. Il est donc important de considérer le pH car ce paramètre pourrait avoir une incidence sur la détermination de la concentration d'un composé pharmaceutique acide dans le milieu naturel ayant un pH compris entre 6 et 8. Leur concentration estimée dans le milieu naturel serait sous-estimée d'un facteur 3 au maximum.

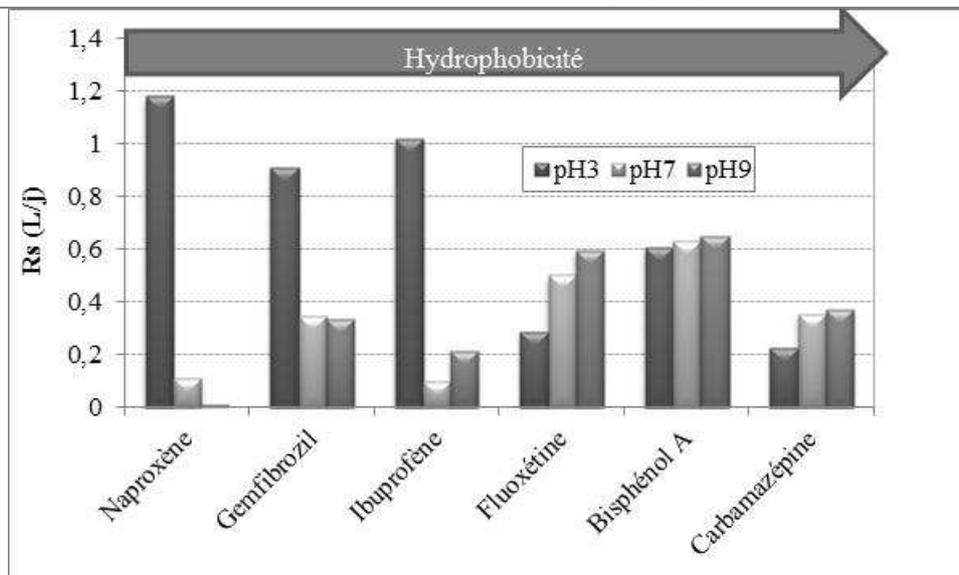


Figure 30 : Influence du pH sur l'accumulation des composés dans les POCISTM, composés classés dans l'ordre croissant de basicité (Li et al. 2011).

IV.7.2.7 Influence de la teneur en matière organique

Tous les systèmes aquatiques contiennent de la matière organique dissoute (MOD) mais leur teneur diffère d'un milieu à l'autre. La mesure de carbone organique dissous (COD) permet de mettre en évidence la présence plus ou moins prononcée de MOD. Les composés organiques, notamment les plus hydrophobes, ont plutôt tendance à s'adsorber sur la matière organique et donc à moins s'accumuler dans les échantillonneurs passifs prélevant la phase dissoute et seulement une partie de la phase particulaire.

Li et son équipe (2011) ont étudié l'influence de la MOD sur l'accumulation de certains composés dans les POCISTM (Figure 31). De la matière organique naturelle a été ajoutée dans de l'eau issue d'un lac oligotrophe d'Ontario. Ceci a permis d'obtenir trois concentrations différentes de MOD: la MOD 1 avec une concentration en COD de 3,33 mg.L⁻¹ ; la MOD 2 avec une concentration en COD de 3,86 mg.L⁻¹ et la MOD 3 avec une concentration en COD de 4,92 mg.L⁻¹.

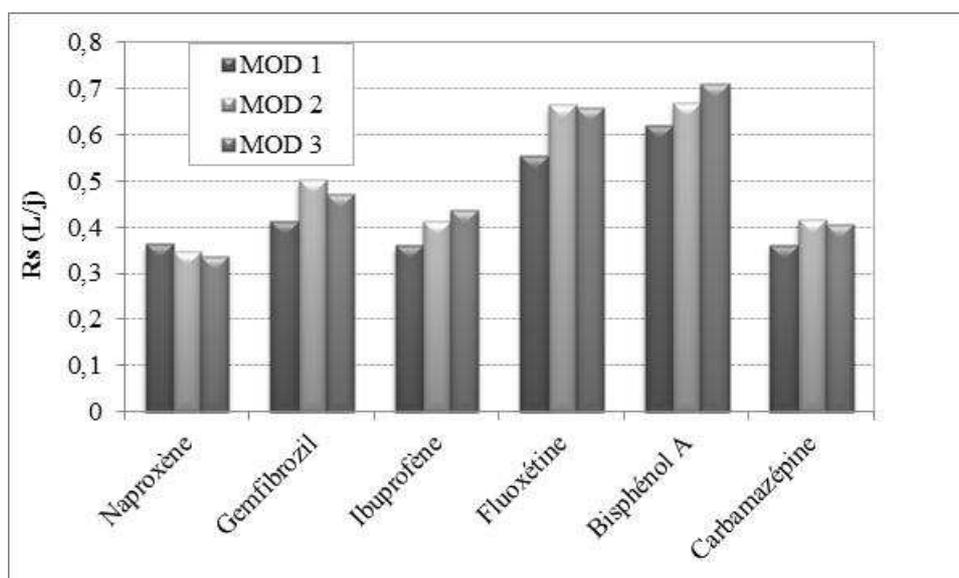


Figure 31 : Effet de la teneur en matière organique sur l'accumulation des composés dans les POCISTM (Li et al. 2011).

Il est observé une légère tendance d'augmentation du taux d'échantillonnage lorsque la concentration en COD augmente sauf pour le naproxène (Figure 31). Cependant, les concentrations en

COD restent très proches et ne permettent pas forcément de voir un effet sur l'accumulation des composés dans les POCISTM.

IV.7.2.8 *Influence du biofouling*

Les POCISTM peuvent être immergés dans un système aquatique pendant plusieurs semaines. De ce fait, il peut y avoir des développements d'algues, bactéries ou autres, à la surface des membranes. Cette couche de biofilm peut influencer sur l'accumulation des composés dans les POCISTM en «freinant» le passage des composés à travers la membrane.

Harman et son équipe (2009a) ont étudié l'impact du biofilm sur l'accumulation des alkylphénols dans les POCISTM. Des membranes en PES ont été exposées pendant 39 jours en automne dans des eaux peu profondes d'une piscine. Ces membranes ont été par la suite utilisées pour monter des POCISTM biofilmés. Une calibration en laboratoire a été menée afin de déterminer si le biofilm présent à la surface des membranes influait sur l'accumulation des composés dans les POCISTM. Les taux d'échantillonnage obtenus diffèrent peu lorsque les membranes sont biofilmées ou non : ils sont légèrement plus forts dans les POCISTM biofilmés. Ces résultats sont en contradiction avec l'hypothèse du transfert de masse. Il est donc nécessaire d'approfondir les recherches sur l'influence de ce paramètre sur l'accumulation des composés.

IV.7.2.9 *Temps de latence*

Kingston et al. (2000) ont mis en évidence que les échantillonneurs passifs avec des membranes en PES accumulent faiblement les composés non polaires. Ces membranes ont une grande affinité pour ces composés. Ceci entraîne un temps de latence, correspondant au temps nécessaire pour que les composés traversent la couche limite ainsi que la membrane, plus ou moins long en fonction de l'hydrophobicité des composés étudiés. Les composés ont une absorption biphasique dans la membrane en PES (Harman et al. 2008) : ils passent à la fois à travers les pores remplis d'eau de la membrane et à travers le polymère (Alvarez et al. 2007). Ce temps de latence, τ_0 , est relié au transfert de masse global et est donc inversement proportionnel au taux d'échantillonnage (Equation 12) (Vrana et al. 2001). De ce fait, les paramètres environnementaux diminuant le R_s , augmentent le temps de latence d'un même composé.

$$k_0 = \delta / \tau_0$$

Équation 12

Ce temps de latence a été observé dans plusieurs études (Kingston et al. 2000; Alvarez et al. 2007; Harman et al. 2008; Shaw et al. 2009; E. Vermeirssen et al. 2009; Nyoni et al. 2011; Thomatou et al. 2011). L'accumulation de certains pesticides dans des membranes en silicone est représentée sur la Figure 32. Pour ces composés, il est observé un temps de latence de quelques jours avant que l'accumulation ne devienne linéaire.

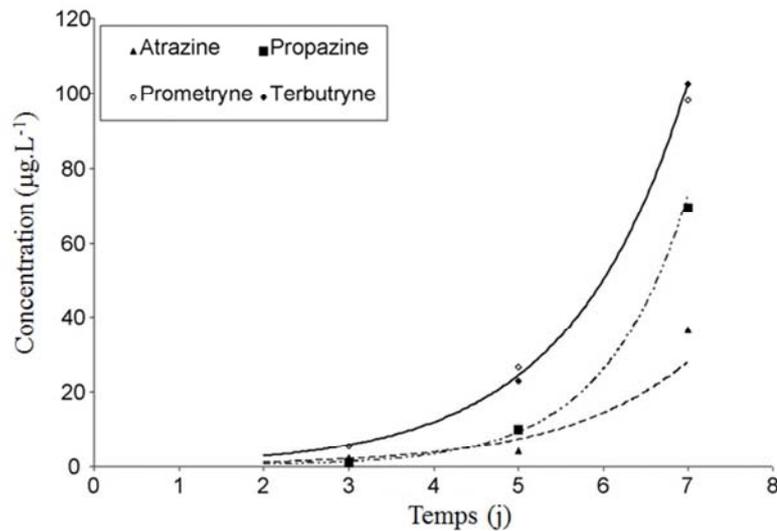


Figure 32 : Accumulation de certains pesticides échantillonnés par des membranes en silicone montrant un temps de latence (Nyoni et al. 2011).

Après analyse de la membrane en PES au bout de 48 heures d'exposition, Kingston et al. (2000) quantifie 982 ng de phénanthrène, 523 ng de dieldrine et seulement 65 et 10 ng pour le diuron et l'atrazine respectivement. Thomathou et al. (2011) observent, quant à eux, pour des membranes en PES un temps de latence d'environ trois jours pour les pesticides hydrophobes ayant un $\log K_{OW}$ supérieur à 4 comme le chlorpyrifos.

Si l'exposition des échantillonneurs avec une membrane en PES est courte (une semaine), il faut envisager d'extraire la phase mais aussi les membranes. Effectivement, si le temps de latence est de quelques jours, la majorité des composés à doser seront présents dans les membranes et non dans la phase. Afin d'être intégratif, il faut prendre en compte les deux puits de composés. Au contraire, si l'exposition est de plusieurs semaines (sans dépasser le temps d'équilibre), seule la quantité de composé présente dans la phase sera à considérer, celle de la membrane sera négligeable.

IV.7.3 Utilisation des PRC

Les PRC sont utilisés dans le but de corriger les taux d'échantillonnage des composés, déterminés en laboratoire, en fonction des paramètres environnementaux (débit, température, salinité, etc.). Plusieurs études menées par Mazzella et son équipe (2007 et 2010) ont mis en évidence que la désorption de la DIA d5 suit une cinétique du premier ordre et que le composé est donc potentiellement utilisable comme PRC. Par la suite, ce PRC a été utilisé pour déterminer les concentrations moyennes temporelles de certains pesticides (Vercaene-Eairmal et al. 2010; Pesce et al. 2011).

L'aténolol deutéré semble aussi être un bon candidat. Les premières estimations de désorption sont concluantes mais il est nécessaire d'approfondir les études en laboratoire (Jacquet et al. 2012).

IV.7.4 Application dans les systèmes aquatiques

Les POCISTM ont la capacité à échantillonner de gros volumes d'eau sur une période de temps allant de plusieurs jours à plusieurs semaines, de donner accès aux concentrations moyennes temporelles et de détecter les variations de concentrations en composés dans l'environnement (Mazzella et al. 2008). C'est pourquoi les POCISTM ont été utilisés dans des études environnementales comme outils semi-quantitatifs ou de bio-monitoring (Bartelt-Hunt et al. 2009; Kolok et al. 2007; Li et

al. 2010a; Metcalfe et al. 2011; Pesce et al. 2011), pour la comparaison entre l'échantillonnage passif et l'échantillonnage ponctuel (Alvarez et al. 2004; Alvarez et al. 2005; Zhang et al. 2008; Arditoglou et Voutsas 2008; Mazzella et al. 2010; Bartelt-Hunt et al. 2011; Thomatou et al. 2011; Tapie et al. 2011) ou encore couplés à des tests de toxicité (Vermeirssen et al. 2010; Grover et al. 2011; Pesce et al. 2011; Tapie et al. 2011).

Une étude menée par Alvarez (2005), consistant à comparer l'échantillonnage ponctuel et l'échantillonnage passif (utilisation des deux configurations disponibles), montre que les POCISTM permettent de détecter 32 composés contre 24 avec l'échantillonnage ponctuel. Ces outils ont donc la capacité de détecter des composés présents à des concentrations inférieures aux limites de détection analytique associées aux prélèvements ponctuels classiques.

De nombreux composés ont pu être détectés dans différents systèmes aquatiques (eaux de surface et eaux marines) comme les HAP (Tapie et al. 2011), les pesticides (Alvarez et al. 2004; Alvarez et al. 2005; Mazzella et al. 2007; Martinez Bueno et al. 2009; Tapie et al. 2011; Thomatou et al. 2011), les alkylphénols (Alvarez et al. 2005; Arditoglou et Voutsas 2008; Harman et al. 2009b; Li, et al. 2010a; Metcalfe et al. 2011), les composés pharmaceutiques (Alvarez et al. 2005; Mac Leod et al. 2007; Togola et Budzinski 2007; Zhang et al. 2008; Bartelt-Hunt et al. 2009; Martinez Bueno et al. 2009; Li et al. 2010a; Metcalfe et al. 2011) et les hormones (Alvarez et al. 2004; Zhang et al. 2008; Bartelt-Hunt et al. 2011).

D'après Mazzella et al. (2007), les POCISTM-Pharm sont probablement plus adaptés que les POCISTM-Pest pour échantillonner les herbicides. Elles semblent aptes à accumuler une large gamme de composés (composés pharmaceutiques, fongicides, herbicides et biocides) dans un environnement marin (Martinez Bueno et al. 2009). Li et son équipe (2010b), pour leur part, mettent en évidence que pour la majorité des composés pharmaceutiques, la capacité d'accumulation des POCISTM-Pest est significativement meilleure que celle des POCISTM-Pharm. Enfin, il a été montré par Vermeirssen et al. (2005) que les œstrogènes sont préférentiellement accumulés dans les POCISTM-Pest.

Dans la plupart des cas, la comparaison entre échantillonnage ponctuel et échantillonnage passif amène à une seule conclusion: la sous-estimation des concentrations dans le milieu, ce qui sous-entend une surestimation des Rs déterminés en laboratoire (Alvarez et al. 2004; Mac Leod et al. 2007; Zhang et al. 2008). Cette différence dépend des conditions environnementales. L'utilisation des PRC pourrait permettre de s'affranchir des variations environnementales et donc de corriger le Rs déterminé en laboratoire.

IV.7.5 Application dans les effluents

Il existe peu d'études concernant l'exposition des POCISTM dans les effluents de STEP et aucune dans les effluents industriels.

Jones-Lepp et al. (2004) ont exposé des POCISTM dans les effluents de trois stations d'épuration (situées dans le Nevada, dans l'Utah et en Caroline du sud). Certains composés ont été quantifiés à des concentrations inférieures au ng.L⁻¹ (méthamphétamine et MDMA). Cette étude met en évidence le fort pouvoir de concentration des POCISTM, leur capacité à abaisser les limites de quantification et surtout, de s'affranchir de l'effet matriciel. De plus, la détection de composés non visés lors de cette étude a été possible avec ces outils (composés ayant des groupements éthoxylés comme les APEO ou NPEO).

Une autre étude met en évidence que les concentrations de certains composés pharmaceutiques en aval d'une STEP sont significativement supérieures à celles présentes en amont (Bartelt-Hunt et al. 2009). Les POCISTM ont permis de détecter 17 composés pharmaceutiques sur les 20 étudiés.

De nombreuses classes de composés ont été détectées dans les effluents de STEP comme les composés pharmaceutiques (Jones-Lepp et al. 2004; Alvarez et al. 2005; Bartelt-Hunt et al. 2009), les alkylphénols (Alvarez et al. 2005) et les pesticides (Alvarez et al. 2005). Ces résultats sont cohérents avec les classes de composés retrouvées dans dans la phase dissoute avec des prélèvements ponctuels.

Ces études visent principalement les composés pharmaceutiques et certaines drogues. Cependant, certains détergents ont pu être détectés (Jones-Lepp et al. 2004). D'une manière générale, les concentrations estimées à partir des POCISTM sont en accord avec celles mesurées par prélèvement ponctuel.

IV.7.6 Couplage POCISTM-tests de toxicité

Comme discuté auparavant, dans certaines conditions, les POCISTM ont un fort pouvoir de concentration. L'échantillonnage passif permet d'être plus représentatif du milieu et d'identifier des composés non détectés par l'échantillonnage ponctuel. En effet, le volume d'eau épuré par ces outils est largement supérieur au volume d'eau nécessaire pour l'analyse d'un prélèvement d'eau classique. En ce sens, l'évaluation des risques environnementaux peut être améliorée en utilisant préférentiellement l'échantillonnage passif au ponctuel (Devier et al. 2011). Des bioessais ont été faits sur des extraits de POCISTM : ceux-ci ont montré des activités œstrogéniques et androgéniques (Grover et al. 2011; Tapie et al. 2011) qui ont été comparée pour des prélèvements ponctuels et passifs (Grover et al. 2011). Il s'avère que ces deux activités sont plus élevées avec l'échantillonnage passif par rapport au ponctuel. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les POCISTM ont été exposés à des effluents en continu pendant des périodes prolongées et ont pu accumuler des niveaux potentiellement élevés de composés ayant des activités androgénique ou oestrogénique.

IV.7.7 Perspectives et pistes d'amélioration

Malgré certains avantages, les POCISTM nécessitent encore de nombreux développements en laboratoire pour déterminer les phénomènes d'adsorption et l'influence des paramètres environnementaux sur l'accumulation des composés. Une des solutions apportées pour améliorer l'aspect quantitatif est l'approche des PRC. Les investigations doivent être poursuivies en ce sens.

Il serait également intéressant d'arriver à développer un échantillonneur plus "universel", capable d'accumuler une large gamme de composés. Tout en gardant le principe des POCISTM, différentes phases réceptrices (OASIS® MAX (Mixed- mode Anion-eXchange), OASIS® MCX (Mixed- mode Cation-eXchange), C18) et membranes (polyéthylène, nylon,...) commercialisées pourraient être utilisées. Li et son équipe (Li et al. 2011) ont utilisé les phases OASIS® MAX et MCX pour fabriquer des POCISTM. L'influence du pH sur les taux d'échantillonnage de ces deux POCISTM-like a été étudiée. Il s'avère que les POCISTM-pharm accumulent en plus grande quantité les composés pharmaceutiques basiques que les POCISTM-like. Cependant, il est nécessaire de continuer les développements dans cette voie pour mieux cerner et comprendre les phénomènes.

V. Objectifs de la thèse

Les objectifs de ces travaux de thèse s'inscrivent dans la problématique actuelle quant à l'amélioration et à la protection de la qualité des systèmes aquatiques imposée par la directive Cadre Eau. En effet, ces systèmes contiennent plusieurs milliers de composés chimiques présents à l'état de trace. Il s'avère important d'identifier les sources d'introduction de ces composés dans les systèmes aquatiques. De plus, les prélèvements d'eau classiques donnent une image instantanée de l'état de contamination et ne permettent pas d'avoir une vision globale intégrant les variabilités spatiales et temporelles du milieu. L'utilisation d'échantillonneurs passifs est une méthode alternative à ces contraintes.

Deux grandes classes de composés ont été étudiées au cours de ces travaux de thèse : les alkylphénols et leurs dérivés et les composés pharmaceutiques. Les alkylphénols (4-nonylphénol et 4-tert-octylphénol) sont inscrits sur la liste des substances prioritaires de la DCE. Ces deux composés sont toxiques et leur présence est avérée dans les eaux de surface à des concentrations supérieures aux Normes de Qualité Environnementales fixées par la DCE et aux concentrations prédites sans effet sur les organismes aquatiques (PNEC). Ils sont issus de la biodégradation des alkylphénols polyéthoxylés, utilisés en quantité importante dans les industries. Les alkylphénols ciblés dans cette étude sont le 4-nonylphénol (mélange technique) et le 4-tert-octylphénol, et leurs dérivés sont les nonylphénols éthoxylés à courtes chaînes (NP1EO et NP2EO) et l'acide alkylphénoxy acétique (NP1EC). Les composés pharmaceutiques ont été sélectionnés selon quatre critères : les données de consommation et de concentrations ainsi que leur toxicité. Compte tenu de ces paramètres et des composés pharmaceutiques analysés au laboratoire, le choix s'est porté sur les familles suivantes : les antidépresseurs, les anti-inflammatoires, les hypolipémients, les bronchodilatateurs, la caféine et théophylline (pour leurs diverses applications).

Le premier objectif de ces travaux de thèse était d'identifier les sources d'introduction de ces composés dans les systèmes aquatiques en étudiant plus précisément leurs comportements dans les stations d'épuration. A l'heure actuelle, il existe peu de données issues de la littérature sur les installations secondaires par cultures fixées, tertiaires et la filière boue. La majorité des données concerne principalement la phase dissoute et ne tient pas compte de la phase particulaire et des boues. Dans certains cas, l'analyse de la phase particulaire s'avère primordiale car certains composés bien éliminés de la filière eau peuvent se retrouver dans les boues du fait de leur faible biodégradabilité et de leur fort pouvoir d'adsorption. Dans le but de combler les lacunes trouvées dans la littérature et d'être représentatif des principaux procédés d'épuration français, 21 stations d'épuration de capacités nominales comprises entre 100 et 95 000 équivalents habitants ont été étudiées en échantillonnant tant la filière eau que celle des boues. La filière eau a été échantillonnée à différents niveaux de traitements. Les procédés primaires analysés sont la décantation primaire avec et sans physico-chimie. En ce qui concerne les secondaires, une attention plus importante a été donnée aux procédés à boues activées en aération prolongée qui est la configuration la plus répandue sur le territoire français. D'autres traitements secondaires ont été étudiés : à cultures libres (boues activées moyenne charge, bioréacteur à membranes) et à cultures fixées (biodisques, filtres plantés, biofiltres). Différents traitements tertiaires sont sélectionnés : d'affinage (décantation rapide, filtration sur sable et lagunage) et avancés (ozonation, filtration sur charbon actif et osmose inverse). Différents procédés ont été étudiés dans la filière boue : la déshydratation mécanique, la digestion anaérobie, le compostage, le séchage et le chaulage. L'analyse a été menée dans la phase dissoute, la phase particulaire et les boues

issues de ces STEP. Les concentrations des composés et les rendements d'élimination associés ont ainsi pu être comparés.

Le second objectif de ces travaux était d'améliorer les suivis environnementaux vis-à-vis des composés ciblés. En effet les composés organiques sont présents à de faibles concentrations et sous forme de mélange complexe dans les systèmes aquatiques. De plus, la phase dissoute a un caractère évolutif avec des variabilités spatiales et temporelles importantes. Il s'avère donc difficile de caractériser correctement l'état de contamination d'une masse d'eau en faisant un seul prélèvement ponctuel sur quelques litres d'eau. Pour améliorer les suivis environnementaux, il apparaît intéressant d'utiliser l'échantillonnage passif qui permet d'avoir accès à une concentration moyenne sur la durée d'exposition et plus précisément les « Polar Organic Chemical Integrative SamplerTM » (POCISTM). Ces outils sont adaptés pour échantillonner les composés pharmaceutiques (Mac Leod et al., 2007 ; Togola et Budzinski, 2007 ; Li et al., 2010a) et pour les alkylphénols et leurs dérivés (Arditsoglou et al., 2008 ; Harman et al., 2008a ; Li et al., 2010a ; Li et al., 2011). Les études issues de la littérature ont permis de déterminer des taux d'échantillonnage pour les composés ciblés et de mettre en évidence l'effet des paramètres environnementaux sur l'accumulation des composés (agitation, température, salinité, pH). Mais les calibrations mises en œuvre dans les laboratoires diffèrent les unes des autres et engendrent des résultats différents. Au cours de ces travaux de thèse la première étape était de mener des calibrations au laboratoire dans le but de déterminer des taux d'échantillonnage pour chaque composés en faisant notamment évoluer le système de contamination du milieu. Au début de ces travaux, le dopage de l'eau d'exposition se faisait manuellement au laboratoire, puis il s'est fait en flux continu afin de mimer au mieux le système naturel. Dans un second temps, les POCISTM ont été optimisés dans le but d'améliorer les cinétiques d'accumulation pour les alkylphénols et leurs dérivés et d'élargir la gamme de composés accumulés. Pour cela, des membranes de natures et de porosités différentes ont été testées (membranes en LDPE et en nylon) lors de calibration en laboratoire. Ces échantillonneurs « adaptés » sont nommés POCISTM-like. Dans un troisième temps, ces échantillonneurs ont été validés en milieu semi-contrôlés (mésocosmes) et confrontés à des scénarios de contamination continu, discontinu et accidentel en alkylphénols dans le but d'affirmer ou non leur caractère intégratif face à des variations de concentration dans le milieu.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

I. Présentation des projets d'étude

1.1 Le projet AMPERES

Le projet AMPERES (Analyse de Micropolluants Prioritaires et Emergents dans les Rejets et les Eaux Superficielles) a pour objectif principal de faire un inventaire des micropolluants présents dans les stations d'épuration et de mesurer l'efficacité d'élimination de différents traitements épuratoires vis-à-vis de ces composés. Dans cette optique, différentes filières conventionnelles (traitements à boues activées, biofiltration, etc.) ont été étudiées ainsi que des procédés plus innovants (ozonation, etc). Ce projet regroupe trois laboratoires : le CIRSEE (Suez Environnement), le LPTC (Université Bordeaux 1, laboratoire EPOC) et IRSTEA (UR MALY), coordinateur du projet.

Les 127 micropolluants ciblés dans cette étude regroupent des substances prioritaires ainsi que des composés pharmaceutiques. Une collecte des données d'études et inventaires nationaux comme l'étude de l'agence de l'eau Rhône Méditerranée et Corse (2003) ou encore les premiers résultats de l'action RSDE (2006) ont permis de sélectionner les substances dites prioritaires : des recherches bibliographiques ont permis de créer deux bases de données concernant la présence et l'élimination dans les STEP des substances prioritaires et émergentes (composés pharmaceutiques et hormones) (Martin-Ruel et al., 2008 ; Miège et al., 2009).

Le premier objectif du projet était de développer des méthodologies analytiques robustes appliquées à des matrices complexes ainsi que l'échantillonnage passif. En effet, les eaux et les boues issues des STEP sont des matrices complexes extrêmement riches en matière organique et parfois en polymères. D'autre part, le second objectif était d'approfondir les connaissances sur les capacités d'épuration des différents procédés de traitement appliqués dans les STEP françaises par des mesures en entrée et en sortie sur les phases liquides et solides (particules et boues).

1.2 Le projet EMESTOX

Le projet EMESTOX (Echantillonneurs passifs pour la MEsure des Substances chimiques et de la TOXicité associée dans l'eau et les effluents) a pour objectif de développer des échantillonneurs passifs qui seront par la suite capable d'aider au suivi de la contamination des systèmes aquatiques. L'échantillonnage passif, méthode alternative de surveillance des rejets et des masses d'eau, améliore la surveillance chimique (notamment en termes de sensibilité), permet une meilleure prise en compte de la variabilité temporelle de la contamination et renseigne sur les risques toxiques et écotoxiques associés aux substances présentes identifiées ou non, par le biais de bio-essais et d'indicateurs écologiques. Le but de ce projet est donc de tester les potentialités d'une approche combinant échantillonneurs passifs et bio-tests de toxicité (approche bioanalytique) dans une logique de suivi de la qualité chimique de l'eau. Ce projet nécessite la collaboration de plusieurs laboratoires : IRSTEA (UR HBAN), ECOMERS (Université de Nice Sophia Antipolis), IFREMER (Service IC), TOTAL (PERL), le LEESU et le LPTC (Université Bordeaux 1, laboratoire EPOC), coordinateur du projet.

Devant un nombre important de molécules potentiellement toxiques présent dans les masses d'eau et les rejets, il s'est avéré nécessaire d'effectuer une sélection selon des critères

pertinents. Pour cela les croisements de données des listes des substances prioritaires (annexes IX et X de la Directive Cadre Eau, de la circulaire RDSE du 5 janvier 2009 et de la Directive 2008/105 du 16 décembre 2008) et de l'adéquation des molécules par rapport aux besoins du partenaire industriel ont été effectués. Les molécules « modèles » couvrent une large gamme de propriétés physico-chimiques (volatilité, hydrophobicité et solubilité). De plus la prise en compte des limites de détection analytiques de ces molécules est primordiale afin de pouvoir être capable de détecter des concentrations de l'ordre du tiers des NQE fixées par la Directive 2008/105. Les molécules ciblées sont : des HAP (naphthalène, anthracène fluoranthène,...), BTEX, des métaux (arsenic, plomb, chrome, nickel,...), des pesticides (diuron, lindane,...) et des alkylophénols (4-NP, 4-t-OP).

Le premier objectif de ce projet concerne le développement et / ou l'optimisation des échantillonneurs passifs : mise au point de pilotes, de protocoles pour la détermination des constantes cinétiques, de nouvelles phases adsorbantes. Le second objectif est de valider les outils dans des mésocosmes en dynamiques contrôlées permettant de tester différents scénarios de contamination (continue, discontinue et accidentelle) puis dans le milieu naturel et les rejets industriels. Parallèlement à ces études, des biotests sont effectués sur les échantillonneurs.

II. Sites d'échantillonnage

II.1 Station d'épuration (STEP)

En s'appuyant sur différents critères comme la conformité, la bonne élimination des paramètres globaux, la proximité et la praticité, 21 STEP ont été sélectionnées. Les paramètres globaux mesurés pour chaque STEP sont le pH, la conductivité, le taux de MES, la demande en oxygène en 5 jours (DBO5), la demande chimique en oxygène (DCO), l'ammoniaque (NH₄), l'azote Kjeldahl (NTK), les nitrates (NO₃), les nitrites (NO), les orthophosphates (PO₄) et le phosphore total (Pt). Les filières eau et boue ont été suivies sur 15 STEP, la filière boue sur 2 STEP (SE7 et SE8) et la filière eau tertiaire sur 4 STEP (SEPA1, SEPA2, CAPA1 et CAPA2). Sur les 21 STEP étudiées, 2 sont espagnoles, 5 sont situées dans le quart sud-ouest, 10 dans le quart sud-est et 4 sont dans le nord du territoire français (Figure 33).

De façon à être représentatives des principaux procédés d'épuration français, 12 filières eau et 5 filières boue ont été sélectionnées. Pour les filières eau, il s'agit de traitements primaires (décantation primaire avec ou sans traitements physico-chimiques), secondaires conventionnels (boue activée, biofiltration, cultures fixées sur support mobile, filtres plantés de roseaux, lagunage, lit bactérien ou encore biodisques) et tertiaires (séparation sur lit de sable, décantation rapide, lagunage, osmose inverse, ozonation et filtration sur charbon actif). Pour les filières boue, il s'agit principalement des filières de déshydratation mécanique classique mais aussi des procédés de digestion anaérobie, de compostage, de séchage ou de chaulage. Au total, 21 STEP ont été étudiées, leurs caractéristiques sont données dans le Tableau 13.

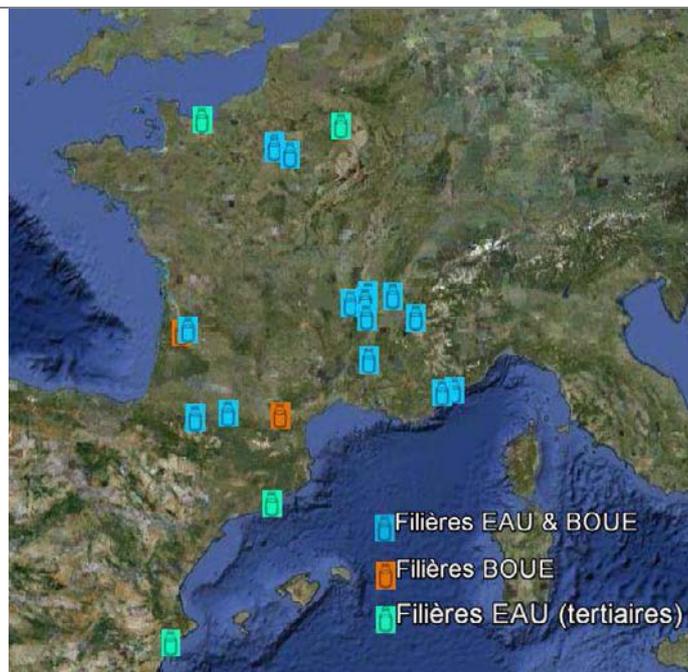


Figure 33 : Répartition géographique des 21 STEP étudiées.

Tableau 13 : Caractéristiques des 21 STEP étudiées au cours du projet AMPERES.

	Code station (Type de réseau)	Période d'échantillonnage	Capacité nominale (EH) (taux de charge (%))	Typologie des rejets	Traitement des filières eaux		Traitements des filières boues
					I ^{aire} et II ^{aire}	III ^{aire}	
Filières « eau » et « boue »	CA1 (unitaire)	5-8 fev 2007	2 900 (60%)	Hospitaliers Industriels Ruraux	BA (C+N)	-	Séchage sur lit planté de roseaux
	SE1 (mixte)	26 fev- 1 mars 2007	36 000 (80%)	Hospitaliers Industriels Urbains	BA (C+N+P)	-	DM
	CA2 (unitaire)	19-22 mars 2007	13 000 (50%)	Industriels Ruraux	BA (C+N)	-	Séchage sur lit planté de roseaux
	SE2 (mixte)	23-26 avril 2007	250 000 (60%)	Hospitaliers Industriels Urbains	DP + BA (C+N+P)	-	Digestion anaérobie + DM+ chaulage
	CA3 (unitaire)	21-24 mai 2007	950 000 (100%)	Hospitaliers Industriels Urbains	DP+ BAm (C) + BF (N)	-	DM avec polymère
	SE3 (séparatif)	11-14 juin 2007	50 000 (80%)	Hospitaliers Industriels Urbains	BA (C+N+P)	Décanteur rapide (lit de boue)	DM+ séchage thermique
	SE4 (mixte)	10-12 septembre 2007	110 000 (50%)	Hospitaliers Industriels Urbains	BA (C+N)	-	DM avec polymère
	SE5 (unitaire)	8-11 octobre 2007	24 000 (40%)	Urbains	BRM	-	DM avec polymère + chaulage
	SE6 (mixte)	15-17 octobre 2007	26 000 (80%)	Industries Urbains	DP physico- chimique + BF (C+N)	-	DM avec polymère
	CA4	3-5 décembre	1 000	Ruraux	Disques	Lagunage	Boues

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

	(unitaire)	2007	(100%)		biologiques + filtre planté de roseaux	naturel	séparées sur filtre vertical
	CA5 (unitaire)	4-6 février 2008	80 000 (60%)	Hospitaliers Industriels Urbains	DP physico- chimique + BF (C)		DM avec polymère
	CA6 (mixte)	10-12 mars 2008	100 (90%)	Ruraux	Filtre planté de roseaux vertical et horizontal conventionnel	Filtre horizontal avec portion d'apatite	Boues séparées sur filtre vertical
	SE9 (séparatif)	7-9 avril 2008	1 000 (60%)	Ruraux	Lit bactérien + filtre planté de roseaux	-	Boues séparées sur filtre vertical
	CA7 (mixte)	29 septembre- 1 octobre 2008	300 (80%)	Ruraux	Décanteur/ digesteur + lagunage naturel+ filtre horizontal planté de roseaux	-	-
	CA8 (mixte)	23-25 février 2009	17 000 (50%)	Ruraux	Culture fixée sur support mobile (C+N)	-	DM avec polymère
Filière « boue »	SE7	10-12 mars 2008	120 000 (65%)	Industriels Urbains	-	-	Compostag e
	SE8 (unitaire)	7-9 avril 2008	300 000	Industriels Urbains	-	-	Digestion anaérobie + séchage thermique)
Filière « eau » tertiaire	CAPA1 (unitaire)	26 mars 2008	50 000 (60%)		-	Filtre à sable rapide + O ₃	-
	CAPA2 (unitaire)	1 juillet 2008	470 000 (100%)		-	DR + filtration sur charbon actif	-
	SEPA1- STEP (unitaire)	19-22 mai 2008	191 000 (30%)		-	DR + filtre à sable + UV	
	SEPA1- pilote	19-22 mai 2008	-	-	-	Filtre silex + UF+ OI	
	SEPA2 (unitaire)	26-28 mai 2008	70 000 (80%)	-	-	Filtre à sable + microfiltrat ion + OI	

EH : Equivalent habitant ; BA : Boue activée aération prolongée ; DM : Déshydratation mécanique ; DP : Décantation primaire ; BAm: Boue activée moyenne charge ; BF : Biofiltre ; BRM : Bioréacteur à membranes ; O₃ : ozonation ; DR : décantation rapide ; UF : ultrafiltration ; OI : osmose inverse.

II.2 Collecte et conditionnement des échantillons dans les STEP

L'échantillonnage et le conditionnement des échantillons sont des paramètres clés. Ils déterminent la représentativité d'un échantillon et la fiabilité des résultats. Choubert et al. (2009) ont détaillé ces paramètres dans une revue en 2009. Des matériaux inertes chimiquement et peu absorbants ont été utilisés (tuyaux en Téflon, bouteilles en verre). Le matériel utilisé lors des prélèvements a été préalablement nettoyé avant chaque campagne.

Les prélèvements ont eu lieu principalement par temps sec pour être en conditions standards de traitement. En effet, par temps de pluie, le temps de séjour au sein d'une STEP est plus court et peut entraîner des rejets potentiels d'eau non traitée. Les dates des campagnes sont données dans le Tableau 13. Les analyses ont porté sur 17 échantillons de boues et 81 échantillons d'eaux, dont 32 étaient des eaux usées brutes, 33 des eaux traitées secondaires et 16 des eaux traitées tertiaires.

II.2.1 Filière eau

Dans chaque STEP, les échantillons d'eaux ont été prélevés sur 2 à 3 jours consécutifs tant en entrée qu'en sortie de traitement, éventuellement à un ou plusieurs points intermédiaires et aussi, en retour de tête (Figure 34). Le point de prélèvement appelé retour en tête correspond à l'eau présente dans les boues qui est récupérée après réduction de leur teneur en eau par séchage, déshydratation ou autre traitement. Cette eau est ramenée en entrée de filière pour être traitée avec les eaux usées brutes.

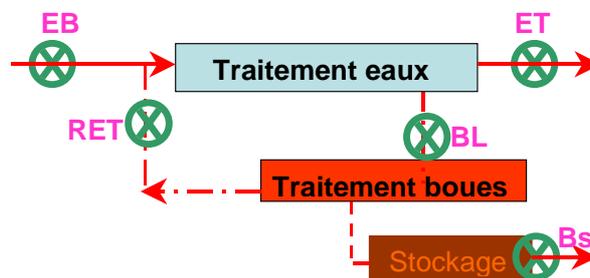


Figure 34 : Schématisation des points de prélèvement au sein d'une station d'épuration pour la filière eau (EB : eau usée brute, ET : eaux traitée) et pour la filière boue (BL : boues liquides ; BS : boues sèches et RET : retour de tête).

Les prélèvements, proportionnels au débit, ont été récoltés à l'aide d'un préleveur automatique réfrigéré à 4°C (Buhler 5010) mettant en œuvre des tuyaux en Téflon et des bouteilles en verre. En une journée, 25 litres sont échantillonnés et conditionnés dans des bouteilles en verre contenues dans le préleveur (Figure 35), puis homogénéisés sous agitation mécanique dans une bonbonne en verre de 34 litres. Pour limiter les contaminations possibles d'un échantillon à un autre, trois chaînes de conditionnement ont été utilisées : une pour les eaux usées brutes, une pour les eaux traitées et une pour les points intermédiaires. Les échantillons reconstitués ont ensuite été envoyés aux laboratoires pour analyses sans traitement *in-situ*. Le transport a été fait par glacière dans les 24h suivant les prélèvements afin d'avoir une meilleure conservation et d'éviter une dégradation potentielle des échantillons.



Figure 35 : Prélèvement et conditionnement des échantillons.

Assurance qualité des prélèvements

Afin d'assurer la qualité des résultats générés, des vérifications d'une chaîne de conditionnement ont été faites toutes les trois campagnes. Pour ce faire, des eaux usées brutes et de l'eau Evian ont été échantillonnées avant et après le passage dans la chaîne de conditionnement. L'analyse des eaux usées brutes permet de mettre en évidence une perte potentielle des composés par absorption sur le matériel utilisé. Celle de l'eau Evian, permet de mettre en évidence l'apport éventuel de pollution par relargage de composés absorbés sur le matériel de prélèvement (blanc terrain).

Le ratio des concentrations en alkylphénols et de leurs dérivés quantifiés dans l'eau Evian entre l'entrée et la sortie du préleveur automatique sont donnés dans la publication 1 (Figure 2). Les 4-t-OP et NP1EC ne sont pas détectés dans les blancs terrains lors des cinq campagnes. Le 4-NP a un ratio supérieur à 1 pour deux campagnes (CA-B1 et SE-B3) et inférieur à 1 pour les trois autres. Le NP1EO, détecté lors de toutes les campagnes, et le NP2EO, détecté lors de la première, ont des ratios inférieurs à 1. Un ratio inférieur à 1 équivaut à un gain de composé entre l'entrée et la sortie de la chaîne de prélèvement. Ceci implique que ces composés ont été relargués dans l'eau Evian lorsque celle-ci a été contact matériel de prélèvement (tuyaux ou autre). Des traces d'aspirine, d'ibuprofène, de gemfibrozil, de paracétamol, de caféine, de carbamazépine et de théophylline ont été détectées en sortie de chaîne de prélèvement (Publication 3, Figure 2). Cependant leur concentration ne dépasse pas la dizaine de ng.L^{-1} . Malgré leur présence dans les blancs terrains, les prélèvements de la phase dissoute ont été réalisés avec ces préleveurs automatiques. En effet, les concentrations mesurées dans les blancs terrains sont faibles et sont inférieures de plus d'un facteur 10 à celles mesurées dans les échantillons (Furlong et al. 2008; Capdeville et Budzinski 2011).

Les ratios des concentrations dans les eaux usées brutes en alkylphénols et de leurs dérivés entre l'entrée et la sortie du préleveur automatique sont supérieurs à 1 pour tous les composés (Publication 1, Figure 2). Ces résultats suggèrent qu'ils sont absorbés dans les matériaux avec lesquels l'échantillon est en contact. Le 4-NP et le 4-t-OP sont les composés les plus concernés avec une perte de 20ng au maximum. Aucune perte par absorption n'a été observée pour les composés pharmaceutiques (Publication 3, figure 2).

II.2.2 Filière boue

Les échantillons de boues sont issus de prélèvements manuels homogénéisés. Deux types de boues sont distingués : les boues liquides et pâteuses.

Des prélèvements ponctuels sont effectués en amont et aval de chaque filière (Figure 35). Ceux-ci sont le plus représentatifs possibles et sont proportionnels au rythme des cycles de séchage ou de traitement. Les prélèvements ponctuels sont ensuite homogénéisés pour obtenir un échantillon moyen représentatif (environ 4 litres). Ces échantillons sont moyennés dans l'espace (boues pâteuses) et temps le temps (boues liquides).

III. Développements des échantillonneurs passifs

III.1 *Montage des POCISTM*

Les POCISTM ont été montés au laboratoire pour la majorité des expérimentations. Tous ceux utilisés contiennent 200 mg de phase OASIS HLB®, avec une surface d'échantillonnage de 45,8 cm² et 5,4 cm de diamètre interne. Les membranes en polyéther sulfone (PES) de 0,1 µm de porosité et la phase sont préalablement nettoyées trois fois 10 minutes successives dans du méthanol. Les membranes sont séchées dans une étuve dédiée à 50°C et la phase sous vide.

III.2 *Expérimentations en laboratoire*

Plusieurs expérimentations en laboratoire ont été réalisées dans le cadre de cette étude. Les premières consistaient à déterminer les cinétiques d'accumulation des composés étudiés dans les POCISTM appelés « standard », faisant référence à la version de POCISTM pharmaceutiques commercialisées et développées par Alvarez (2004). En fonction des résultats obtenus, les expérimentations se sont portées sur l'utilisation de POCISTM appelés « like », se rapportant à des POCISTM avec des membranes de nature et de porosité différentes que celles en PES classiques.

III.2.1 Contamination avec dopage journalier

III.2.1.1 *Expérimentation test*

Une étude préliminaire a été réalisée dans le but d'observer la perte potentielle des composés durant 24 heures à 20°C lorsqu'ils sont absorbés par les POCISTM et le système expérimental. L'aquarium contenait 96 litres (Dimensions : 80 x 30 x 40cm) d'eau du robinet et 18 mL d'une solution méthanolique contenant les composés pharmaceutiques et les alkylphénols à 7 µg.g⁻¹ ont été ajoutés. 6 POCISTM ont été placés dans le système sur des carrousels (Figure 37). La concentration visée dans l'aquarium était de 1µg.L⁻¹. Trois caractérisations du milieu ont été réalisées en triplicat: une avant le dopage, une trente minutes après le dopage et une 24 heures après le dopage.

Pour la majorité des composés, la tendance est à la diminution de la concentration dans l'eau après le dopage (Figure 36). La concentration des APEO a tendance à baisser après le dopage. Le 4-NP et le 4-t-OP ont une diminution plus rapide que les composés pharmaceutiques. Il est intéressant de noter que quelques traces de 4-NP, NP1EO et NP2EO ont été détectées dans l'eau avant le dopage. Ces composés sont donc soit présents dans l'eau, soit désorbés du système expérimental. L'intérêt de cette étude était de mettre en évidence le comportement des composés dans l'eau de manière à déterminer la fréquence des dopages lors de l'expérimentation carrousel. Il en ressort que l'eau sera dopée tous les jours et en

quantité légèrement plus importante pour le 4-NP et le 4-t-OP que pour les autres composés car ils sont plus hydrophobes et leur perte est plus importante.

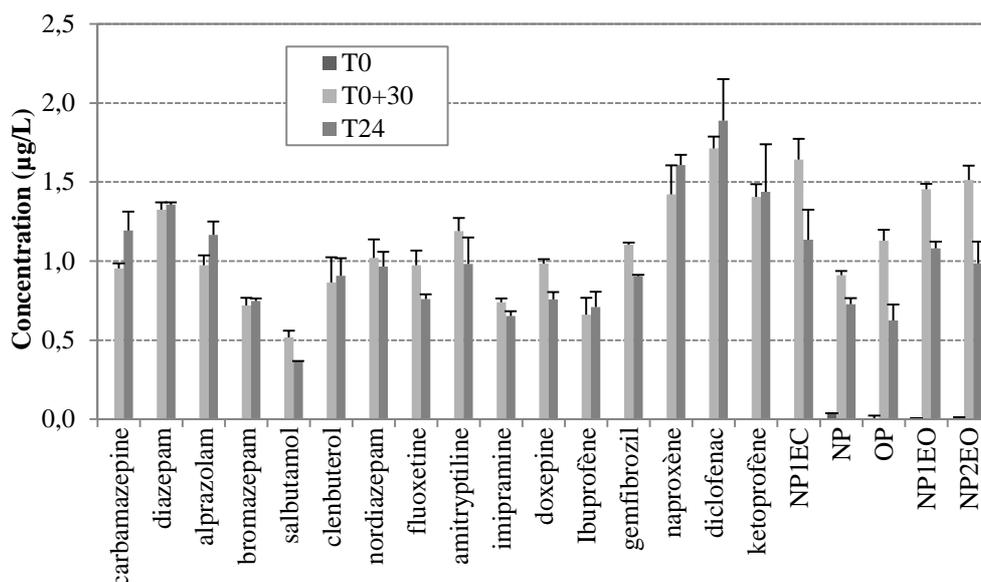


Figure 36 : Evolution des concentrations en composés pharmaceutiques et des alkylphénols 24 heures après dopage (n=3.)

III.2.1.2 Expérimentation carrousel

L'étude de l'adsorption des alkylphénols polyéthoxylés et des composés pharmaceutiques dans les POCISTM standards a été conduite dans un aquarium de 96 litres, contaminé par un dopage journalier, et les échantillonneurs étaient disposés sur deux carrousels tournants (Figure 37).

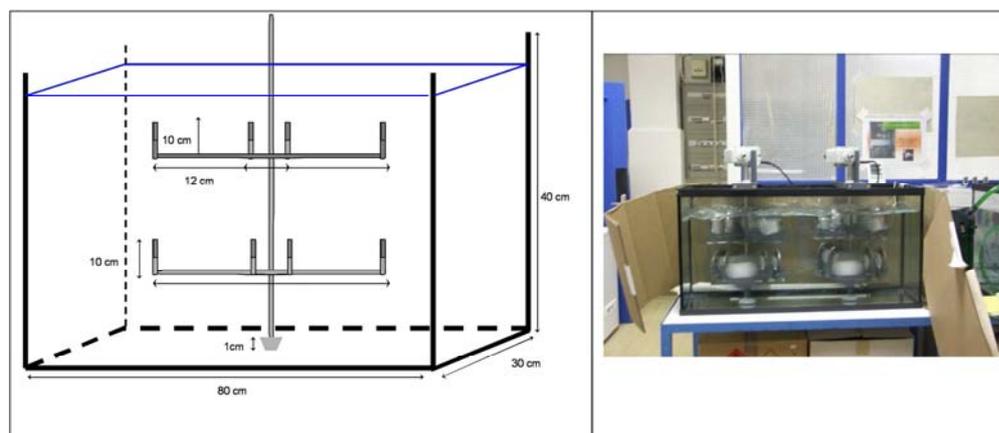


Figure 37 : Schéma du dispositif carrousel utilisé pour la calibration des POCISTM standards.

Cette expérimentation s'est déroulée à l'abri de la lumière sous température contrôlée (Annexe 4). Dans le but d'assurer une exposition uniforme et reproductible, les 24 POCISTM standards ont été disposés sur deux carrousels tournants. Chacun contenait 12 positions avec deux niveaux verticaux (positions internes et externes) permettant de simuler deux vitesses différentes (0,21 et 0,46 m.s⁻¹).

De l'eau du robinet (96 litres) a été introduite dans l'aquarium puis dopée en composés d'intérêt. Deux solutions de dopage ont été utilisées (15 µg.g⁻¹ dans du méthanol), une contenant les composés pharmaceutiques, NP1EC, NP1EO et NP2EO et une pour les 4-NP et

4-t-OP, ceci permettant un ajout plus important pour les deux composés les plus hydrophobes. La concentration nominale souhaitée était de $1 \mu\text{g.L}^{-1}$. A T_{0-1} , 7 mL de chaque solution ont été ajoutés au 81 litres d'eau. A T_0 , 24 POCISTM ont été introduits dans le système afin que tous les sites d'absorption potentiels soient saturés. Entre 1 et 4 mL de solution ont été ajoutés tous les jours afin de compenser les pertes par adsorption (Annexe 4). La fréquence des prélèvements des POCISTM est présentée sur la Figure 38. Les POCISTM prélevés n'ont pas été remplacés. Des prélèvements d'eau (400 mL) ont été faits tous les jours afin de suivre l'évolution des concentrations des composés ciblés.



Figure 38 : Fréquence de prélèvements lors de l'expérimentation carousel.

III.2.2 Contamination en flux continu

Afin d'obtenir une concentration stable dans les pilotes (Vrana et al. 2006a), la contamination par flux continu a été réalisée par la suite. Le système d'exposition en flux continu, inspiré de celui utilisé par Vrana et al. (2006a), est illustré sur la Figure 39.

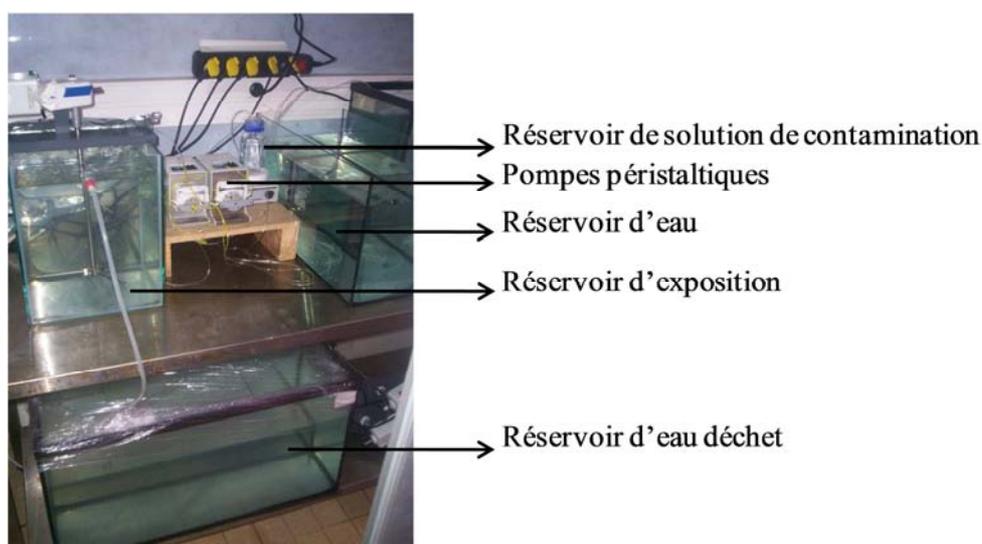


Figure 39 : Système expérimental à flux continu conçu pour la calibration des échantillonneurs passifs.

Ce système d'exposition est constitué de plusieurs compartiments (Figure 39) :

- Un réservoir d'eau, permettant l'apport régulier d'eau dans le bac d'exposition, ceci à l'aide de pompes péristaltiques (vérification du débit tous les jours).
- Un réservoir de solution de contamination, permettant l'apport régulier de contaminants dans le bac d'exposition, à l'aide de pompes péristaltiques (vérification du débit tous les jours).
- Un bac d'exposition alimenté en eau du robinet et en contaminant. Ce bac contient les échantillonneurs et a une agitation rotative à l'aide de pales²³ (en

²³ Dimensions des pales : Sur un axe il y a 3 pales en inox séparées de 120° . Chacune faisant 10 cm de longueur et 1 cm de diamètre.

général, 45 RPM²⁴). Il peut être de dimensions différentes en fonction des expérimentations (27, 54 ou 96 litres).

➤ Un réservoir d'eau « déchet » dans lequel arrive le surplus d'eau du bac d'exposition. L'eau contaminée est ensuite traitée sur du charbon actif avant d'être rejetée dans les égouts.

III.2.2.1 *Expérimentation test*

Une expérimentation a été réalisée pour évaluer la stabilité des concentrations en alkylphénols et BPA lorsque la contamination de l'eau se fait par flux continu (Figure 40). Celle-ci s'est faite dans un aquarium à débordement de 27 litres (dimensions : 30 x 30 x 30 cm) d'eau contaminée à $10 \mu\text{g.L}^{-1}$, sur 15 jours, dans l'obscurité, à 20°C . De l'eau du robinet est amenée dans le bac d'exposition à l'aide d'une pompe péristaltique à un débit moyen de $0,56 \text{ L.h}^{-1}$, l'agitation est assurée par une pale rotative allant à environ 45 RPM (Dimensions : sur un axe, 3 pales en inox séparées de 120°C chacune faisant 10 cm de longueur et 1 cm de diamètre). La solution de contamination (200 mL) est introduite dans le bac d'exposition par une pompe péristaltique à un débit de $138 \mu\text{L.min}^{-1}$. Elle est changée tous les jours et est continuellement agitée par agitation magnétique. Ces solutions de contamination sont conservées à -20°C et sont issues d'une solution méthanolique mère fortement concentrée (environ $2,7 \text{ mg.L}^{-1}$). Au début de l'expérimentation, un dopage initial du bac d'exposition a été réalisé en ajoutant 100 mL de la solution mère. Des prélèvements d'eau (100 mL) ont eu lieu à 3 et 6 jours puis tous les 2 jours. Ce mode de contamination permet d'obtenir des concentrations stables sur la période d'exposition des échantillonneurs.

La concentration de chaque composé reste stable sur les 15 jours de test (Figure 40). Les concentrations du NP1EC restent majoritairement supérieures à $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ tandis que celles des autres composés sont comprises entre 2 et $5 \mu\text{g.L}^{-1}$. Afin que les concentrations se stabilisent après le dopage initial, les POCISTM seront ajoutés deux à trois jours après le démarrage de la contamination.

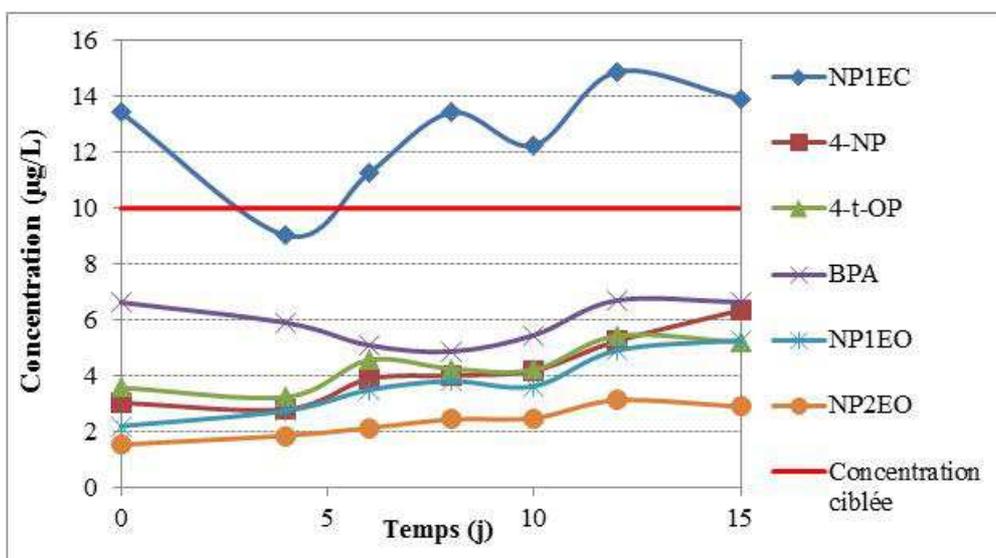


Figure 40 : Stabilité des concentrations ($\mu\text{g.L}^{-1}$) en alkylphénols polyéthoxylé et BPA dans le pilote expérimental avec un dopage en flux continu.

²⁴ RPM : Revolution Per Minute

III.2.2.2 *Effet cage*

L'influence des cages de protection sur l'accumulation des composés pharmaceutiques a été étudiée. Pour cela, deux triplicats de POCISTM ont été exposés selon trois paramètres différents dans un aquarium de 300 L contaminé à environ 500 ng.L⁻¹ : sur des holders seuls, dans des petites cages de protection et dans des grandes.

La contamination du système s'est faite en flux continu dans l'obscurité à température ambiante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) et l'agitation était laminaire à l'aide d'une pompe immergée. De l'eau du robinet est amenée dans l'aquarium d'exposition à l'aide d'une pompe péristaltique à un débit moyen de 6,25 L.h⁻¹. La solution de contamination (40 mL) est introduite dans le bac d'exposition par une pompe péristaltique à un débit de 24 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Elle est changée tous les jours et est continuellement agitée par agitation magnétique. Ces solutions de contamination sont conservées à -20°C et sont issues d'une solution méthanolique mère fortement concentrée (environ 770 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Au début de l'expérimentation, un dopage initial du bac d'exposition a été réalisé en ajoutant 190 mL de la solution mère. Le système a été stabilisé pendant 4 jours puis l'exposition a duré 15 jours. Pour chaque paramètre testé, un triplicat de POCISTM a été retiré à 7 et 15 jours. Les POCISTM prélevés au bout de 7 jours ont été remplacés par d'autres POCISTM dans le système afin de garder les mêmes conditions expérimentales. Des prélèvements d'eau ont été effectués tous les jours (100 mL).

III.2.2.3 *Expérimentation 1*

L'objectif de cette expérimentation était d'étudier l'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA dans les POCISTM standards.

Les POCISTM ont été exposés à une concentration d'environ 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ d'AP, APEO, NP1EC et BPA dans un bac à débordement contenant 27 litres (dimensions : 30 x 30 x 30 cm) d'eau contaminée par flux continu. L'exposition en flux continu s'est déroulée dans l'obscurité et à température ambiante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

De l'eau du robinet est amenée dans le bac d'exposition à l'aide d'une pompe péristaltique à un débit moyen de 0,56 L.h⁻¹, l'agitation est assurée par une pale rotative (dimensions : sur un axe, 3 pales en inox séparées de 120° chacune faisant 10 cm de longueur et 1 cm de diamètre) allant à environ 45 RPM. La solution de contamination (200 mL) est introduite dans le bac d'exposition par une pompe péristaltique à un débit de 130 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Elle est changée tous les jours et est continuellement agitée par agitation magnétique. Ces solutions de contamination sont conservées à -20°C et sont issues d'une solution méthanolique mère fortement concentrée (environ 2,7 mg.L⁻¹). Au début de l'expérimentation, un dopage initial du bac d'exposition a été réalisé en ajoutant 100 mL de la solution mère.

Douze POCISTM standards ont été exposés et prélevés à différentes périodes (Figure 41).

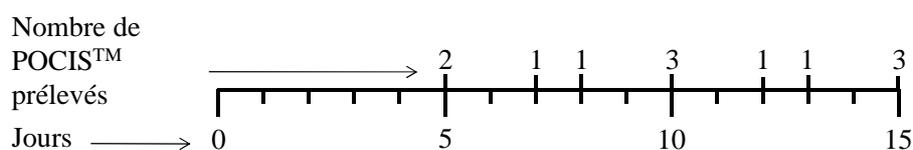


Figure 41 : Fréquence de prélèvements lors de l'expérimentation 1 en flux continu.

Le système de flux continu est équilibré 3 jours avant l'exposition des POCISTM et les prélèvements d'eaux (100 mL) sont effectués tous les deux jours.

III.2.2.4 *Expérimentation 2*

L'objectif de cette expérimentation est de comparer l'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA dans les POCISTM ayant des membranes en PES de 0,1 µm de porosité, en LDPE et en nylon de 0,1 et 1,2 µm de porosité. Les POCISTM standards et « like » ont été exposés à une concentration d'environ 10 µg.L⁻¹ d'AP, APEO et BPA dans deux bacs à débordement.

Le premier bac (bac 1) de 27 litres (dimensions : 30 x 30 x 30 cm) contenait des POCISTM avec des membranes en Nylon dont 9 avec une porosité de 0,1 µm et 3 de 1,2 µm. L'eau du robinet est amenée dans le bac d'exposition à l'aide d'une pompe péristaltique à un débit moyen de 0,56 L.h⁻¹, l'agitation est assurée par une pale rotative (même condition que précédemment) allant à environ 45 RPM. La solution de contamination (240 mL) est introduite dans le bac d'exposition par une pompe péristaltique à un débit de 130 µL.min⁻¹. Elle est changée tous les jours et est continuellement agitée par agitation magnétique. Ces solutions de contamination sont conservées à -20°C et sont issues d'une solution méthanolique mère fortement concentrée (entre 60 et 100 mg.L⁻¹). Au début de l'expérimentation, un dopage initial du bac d'exposition a été réalisé en ajoutant 4 mL de la solution mère.

Le second bac d'exposition (bac 2) de 54 litres (dimensions : 60 x 30 x 30 cm) contenait 9 POCISTM standards et 9 POCISTM avec des membranes en LDPE. L'eau du robinet est amenée dans le bac d'exposition à l'aide d'une pompe péristaltique à un débit moyen de 1,125 L.h⁻¹, l'agitation est assurée par deux pales rotatives (même conditions que précédemment) allant à environ 45 RPM. La solution de contamination (240 mL) est introduite dans le bac d'exposition par une pompe péristaltique à un débit de 130 µL.min⁻¹. Elle est changée tous les jours et est continuellement agitée par agitation magnétique. Ces solutions de contamination sont conservées à -20°C et sont issues d'une solution méthanolique mère fortement concentrée (environ 140 mg.L⁻¹). Au début de l'expérimentation, un dopage initial du bac d'exposition a été réalisé en ajoutant 4 mL de la solution mère.

Cette expérimentation s'est déroulée à température ambiante (20 ± 2°C). Le système de flux continu est équilibré 3 jours avant l'exposition des POCISTM. Les prélèvements d'eaux (100 mL) sont effectués tous les deux jours et les POCISTM sont prélevés à différentes périodes (Figure 42).

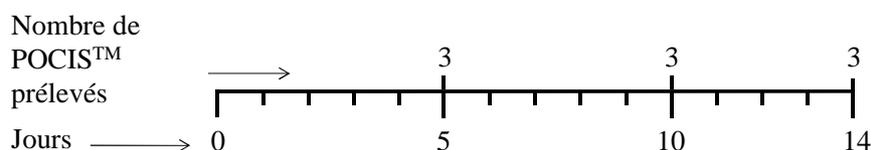


Figure 42: Fréquence de prélèvements lors de l'expérimentation 2 en flux continu.

Chaque triplicat de POCISTM standard a été traité comme suit : un a suivi le protocole d'extraction habituel de la phase OASIS HLB® (récupération de la phase avec de l'eau) et pour les deux autres, la phase a été récupérée avec du méthanol.

III.2.2.5 *Expérimentation 3*

L'objectif de cette expérimentation est de comparer l'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA avec des POCISTM ayant des membranes en PES de porosités différentes (0,1 et 0,45 μm). Les POCISTM ont été exposés à une concentration d'environ 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ d'AP, APEO, NP1EC et BPA dans un bac à débordement contenant 96 litres (dimensions : 80 x 30 x 40 cm) d'eau contaminée.

L'eau du robinet est amenée dans le bac d'exposition à l'aide d'une pompe péristaltique à un débit moyen de 2 L.h^{-1} , l'agitation est assurée par deux pâles rotatives (Dimensions : sur un axe, 3 pales en inox séparées de 120° chacune faisant 10 cm de longueur et 1 cm de diamètre) allant à environ 45 RPM. La solution de contamination (200 mL) est introduite dans le bac d'exposition par une pompe péristaltique à un débit de 100 $\mu\text{L.min}^{-1}$. Elle est changée tous les jours et est continuellement agité par agitation magnétique. Ces solutions de contamination sont conservées à -20°C et sont issues d'une solution méthanolique mère fortement concentrée (70 mg.L^{-1}). Au début de l'expérimentation, un dopage initial du bac d'exposition a été réalisé en ajoutant 6 mL de la solution mère.

Le système de flux continu est équilibré 3 jours avant l'exposition des POCISTM. Les prélèvements d'eau (100 mL) sont effectués tous les deux jours. L'exposition en flux continu s'est déroulée à température ambiante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) et à l'obscurité. Au total 15 POCISTM ont été exposés dont 9 POCISTM standards et 6 POCISTM avec des membranes en PES de porosité de 0,45 μm et prélevés à différentes périodes (Figure 43).

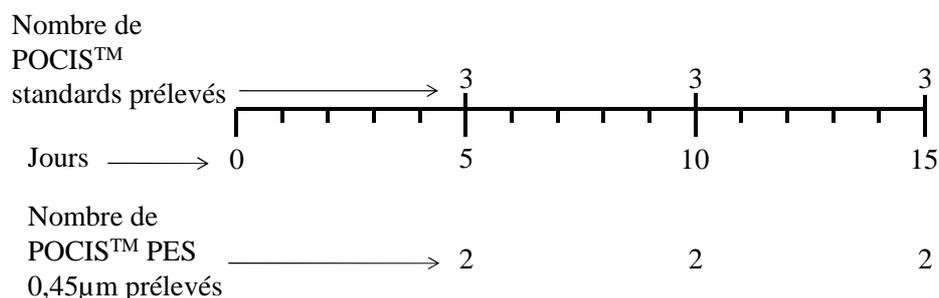


Figure 43: Fréquence de prélèvements lors de l'expérimentation 3 en flux continu

III.2.2.6 *Expérimentation 4*

L'objectif de cette expérimentation est de comparer l'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA dans des POCISTM ayant des membranes de nature et porosité différentes (PES 0,1 μm , nylon de 0,1, 1,2, 10 et 30 μm). Les POCISTM ont été exposés à une concentration d'environ 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ d'AP, APEO, NP1EC et BPA dans deux bacs à débordement. Le premier bac (bac 1) de 96 litres (dimensions : 80 x 30 x 40 cm) contenait des POCISTM dont 18 standards et 9 avec des membranes en Nylon de 0,1 μm de porosité. Dans le second bac d'exposition (bac 2) de 96 litres (dimensions : 80 x 30 x 40 cm), des POCISTM avec membranes en Nylon dont 9 avec 1,2 μm de diamètre de pore, 9 de 10 μm et 9 de 30 μm ont été exposés.

De l'eau du robinet est amenée dans les bacs d'exposition à l'aide d'une pompe péristaltique à un débit moyen de 0,033 L.h^{-1} dans les deux bacs. L'agitation est assurée par deux pâles rotatives (dimensions : sur un axe, 3 pales en inox séparées de 120° chacune faisant 10 cm de longueur et 1 cm de diamètre) dans chaque bac allant à environ 45 RPM. Dans le bac 1, les pâles sont remplacées par des carrousels sur lesquels sont placés 9

POCISTM standards. Les deux solutions de contamination mères sont indépendantes mais de même concentration. La solution de contamination (200 mL) est introduite dans le bac d'exposition par une pompe péristaltique à un débit de $100 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Elle est changée tous les jours et est continuellement agitée par agitation magnétique. Ces solutions de contamination sont conservées à -20°C et sont issues de solution méthanolique mère fortement concentrée ($110 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Au début de l'expérimentation, un dopage initial du bac d'exposition a été réalisé en ajoutant 4 mL de la solution mère.

L'exposition en flux continu s'est déroulée à température ambiante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) et dans l'obscurité. Le système est équilibré 3 jours avant l'exposition des POCISTM. Les prélèvements d'eaux (100 mL) sont effectués tous les deux jours et les POCISTM sont prélevés à différentes périodes (Figure 44).

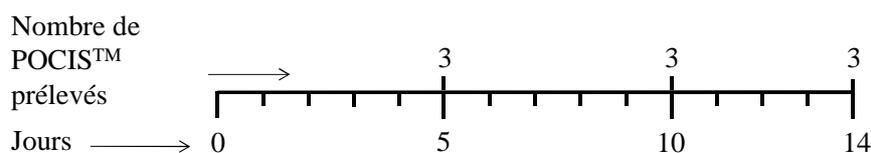
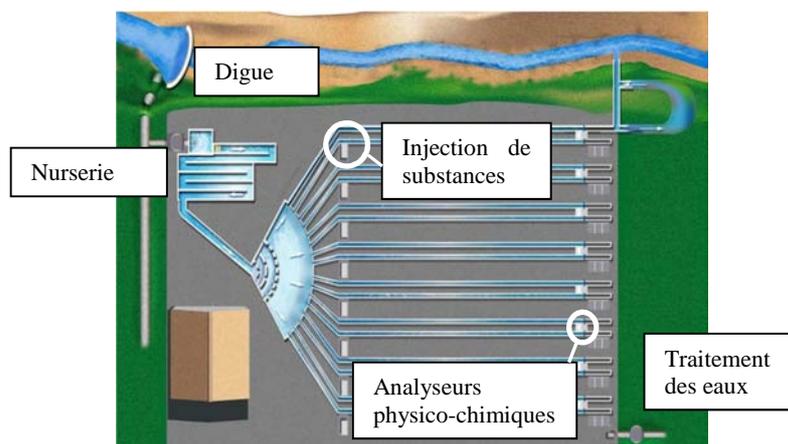


Figure 44 : Fréquence de prélèvements lors de l'expérimentation 4 en flux continu.

III.3 Expérimentations en rivières artificielles

Dans le cadre du projet EMESTOX, une validation intermédiaire des POCISTM standards et like a été lancée dans des rivières artificielles dans le but d'étudier les cinétiques d'accumulation du 4-NP et du 4-t-OP en milieu semi-contrôlé. Il s'agit de 16 mésocosmes dynamiques ouverts en plein air situés dans le sud-ouest de la France (Figure 45). Ils sont alimentés par le Gave de Pau à un débit de $200 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ par gravité (Champeau 2005). Chaque canal mesure 40 mètres de long et 50 cm de profondeur et de large. L'injection de composés se fait en amont des canaux. Les composés hydrophiles sont injectés directement dans l'eau par une pompe et ceux plus hydrophobes sont introduits dans les canaux par des vannes à cisaillement (Figure 45b). Le débit est identique dans chaque canal et est de $10 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Ces expérimentations permettent de faire une application à grande échelle (entre les aquariums au laboratoire et le milieu naturel).

Les paramètres physico-chimiques (la concentration en oxygène dissous, la conductivité, le pH et la température) sont mesurés au bout de chaque canal par des sondes (Figure 45a). L'eau peut être ensuite évacuée de trois façons différentes : dans le Gave, vers une lagune ou vers la station de retraitement de l'usine de Lacq. Le choix du rejet est évalué en fonction des composés injectés et de leur concentration.



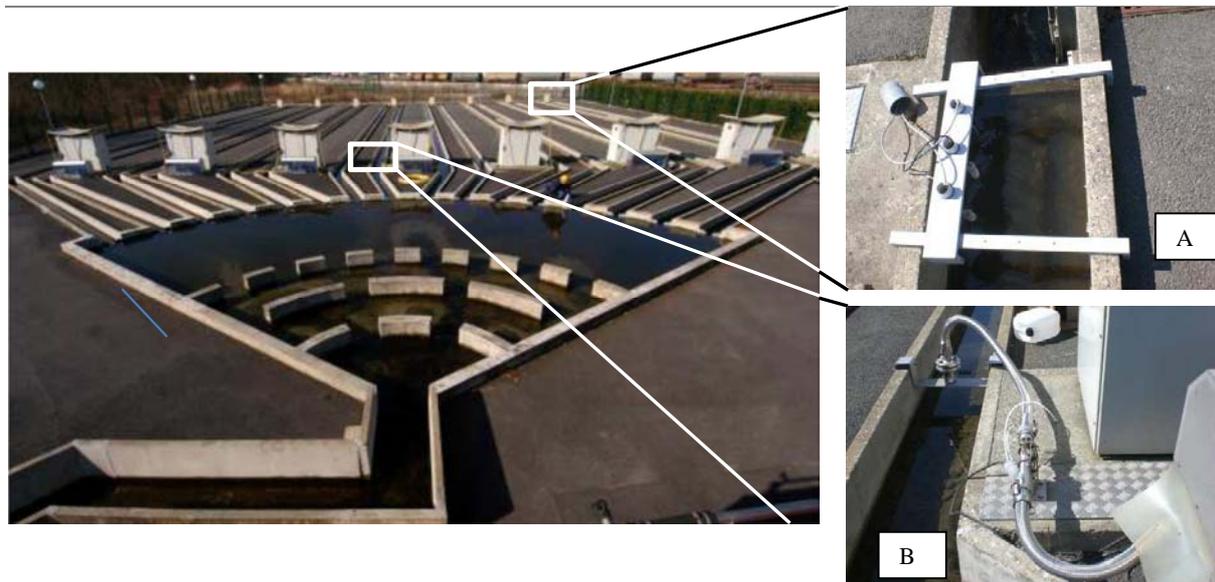


Figure 45 : Rivières artificielles.

III.3.1 Injection de composés

Le nonylphénol et l'octylphénol ont été sélectionnés en raison de leur présence sur la liste des substances dangereuses prioritaires. Ces composés sont mis en solution à des concentrations relativement fortes afin de minimiser les volumes de solution à stocker durant les campagnes (40 à 60 mg.L^{-1}). Au vue des propriétés hydrophobes des composés étudiés, il est apparu essentiel de vérifier qu'ils soient solubilisés en tout point des canaux. Les concentrations visées dans les canaux étaient le tiers de la NQE pour chaque composé (soit 100 ng.L^{-1} pour le 4-NP et 3 ng.L^{-1} pour le 4-t-OP). Pour cela, des tests d'injection ont été réalisés au cours du mois de janvier 2011. Le 4-NP et le 4-t-OP ont été injectées dans un canal des rivières artificielles durant 24 heures. Des prélèvements d'eau ont eu lieu à trois points dans les canaux (15, 25 et 35 mètres) au bout de 1, 5 et 24 heures d'injection. Les solutions mères ont été prélevées pour analyse à l'injection et 24 heures après.

III.3.2 Validation des échantillonneurs passifs en rivières artificielles

Les tests de validation des POCISTM standards et like ont commencé en mars 2011. Les POCISTM ont été exposés dans les canaux à une vitesse de 2 cm.s^{-1} durant 21 jours. Pour les deux composés, définis dans la section précédente, deux concentrations ont été testées, la NQE et le tiers de la NQE. Des canaux distincts ont été utilisés pour chaque concentration, soit au total 2 canaux. Cette configuration a été utilisée pour deux scénarii d'étude : campagne de contamination continue et campagne de contamination discontinue. Le troisième scénario réalisé est un déversement accidentel et pour celui-ci une seule concentration a été testée. Lors de ces trois scénarii, la même quantité de composés a été injectée mais sur des périodes de temps différentes. Les mesures physico-chimiques de chaque campagne sont données en annexe 5.

III.3.2.1 Campagne continue

Une injection en continue de 4-NP et 4-t-OP a été effectuée dans deux canaux des rivières artificielles. Dans le canal 14, les concentrations visées étaient les NQE soit 300 et 10 ng.L^{-1} et dans le canal 13, elles étaient de 100 et 3 ng.L^{-1} pour le 4-NP et le 4-t-OP respectivement.

Tableau 14 : Fréquence de prélèvement des POCISTM lors de la campagne continue dans les rivières artificielles.

Alkylphénols		
	1/3 NQE	NQE
T7		2 POCIS TM standards
		2 POCIS TM Nylon 0,1µm
		2 POCIS TM Nylon 30µm
T14		2 POCIS TM standards
		2 POCIS TM Nylon 0,1µm
		2 POCIS TM Nylon 30µm
T21	2 POCIS TM standards	2 POCIS TM standards
	2 POCIS TM Nylon 0,1µm	2 POCIS TM Nylon 0,1µm
		2 POCIS TM Nylon 30µm
T21- Amont de chaque canal	1 POCIS TM Nylon 0,1µm	1 POCIS TM Nylon 0,1µm

Des échantillons d'eau ont été prélevés dans des bouteilles en verre à 3, 7, 10, 14, 17 et 21 jours afin de suivre l'évolution de la concentration du milieu. Ces prélèvements ont eu lieu dans chaque canal en aval ainsi qu'à quelques mètres en amont des pompes de contamination. Les échantillons prélevés en amont permettent de caractériser le bruit de fond.

24 POCISTM ont été exposés : soit au total 8 POCISTM standards, 10 POCISTM avec des membranes en nylon de 0,1 µm de porosité et 6 POCISTM avec des membranes en nylon avec des diamètres de pores de 30 µm. La fréquence de prélèvement est donnée dans le Une injection en continue de 4-NP et 4-t-OP a été effectuée dans deux canaux des rivières artificielles. Dans le canal 14, les concentrations visées étaient les NQE soit 300 et 10 ng.L-1 et dans le canal 13, elles étaient de 100 et 3 ng.L-1 pour le 4-NP et le 4-t-OP respectivement.

Tableau 14.

III.3.2.2 Campagne discontinue

Une injection en discontinue de 4-NP et 4-t-OP a été effectuée dans deux canaux des rivières artificielles. Trois cycles d'injection se sont succédés au cours des 21 jours d'exposition (Figure 46).

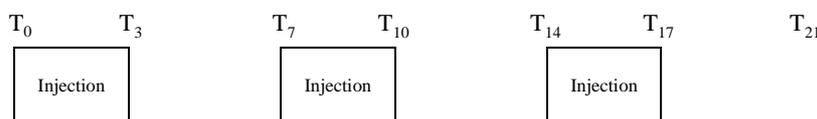


Figure 46 : Cycle d'injection du 4-NP et 4-t-OP lors de la campagne discontinue dans les rivières artificielles.

Des échantillons d'eau ont été prélevés dans des bouteilles en verre à 1, 3, 7, 8, 10, 14, 15, 17 et 21 jours afin de suivre l'évolution de la concentration du milieu. Ces prélèvements ont eu lieu dans chaque canal en aval ainsi qu'à quelques mètres en amont des pompes de contamination. 24 POCISTM ont été exposés : soit 8 POCISTM standards, 10 POCISTM avec des membranes en nylon de 0,1 µm de porosité et 6 POCISTM avec des membranes en nylon avec des diamètres de pores de 30 µm. La fréquence de prélèvement est donnée dans le Tableau 15.

Tableau 15 : Fréquence de prélèvement des POCISTM lors de la campagne discontinue dans les rivières artificielles.

Alkylphénols		
	1/3 NQE	NQE
T14		2 POCIS TM standards
		2 POCIS TM Nylon 0,1µm
		2 POCIS TM Nylon 30µm
T17		2 POCIS TM standards
		2 POCIS TM Nylon 0,1µm
		2 POCIS TM Nylon 30µm
T21	2 POCIS TM standards	2 POCIS TM standards
	2 POCIS TM Nylon 0,1µm	2 POCIS TM Nylon 0,1µm
		2 POCIS TM Nylon 30µm
T21- Amont de chaque canal	1 POCIS TM Nylon 0,1µm	1 POCIS TM Nylon 0,1µm

III.3.2.3 Campagne accidentelle

Une injection accidentelle de 4-NP et 4-t-OP a été effectuée dans un canal des rivières artificielles. Il s'agit d'une injection sur trois jours de la quantité totale injectée lors des campagnes continue et discontinue (Figure 47).

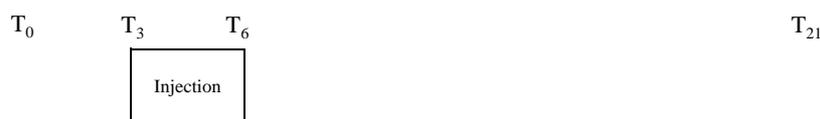


Figure 47 : Cycle d'injection du 4-NP et 4-t-OP lors de la campagne accidentelle dans les rivières artificielles

Des échantillons d'eau ont été prélevés dans des bouteilles en verre à 3, 6, 10, 14, 17 et 21 jours afin de suivre l'évolution de la concentration du milieu. Ces prélèvements ont eu lieu dans chaque canal en aval ainsi qu'à quelques mètres en amont des pompes de contamination. 19 POCISTM ont été exposés : soit 6 POCISTM standards, 7 POCISTM avec des membranes en nylon de 0,1 µm de porosité et 6 POCISTM avec des membranes en nylon avec des diamètres de pores de 30 µm. La fréquence de prélèvement est donnée dans le Tableau 16.

Tableau 16 : Fréquence de prélèvement des POCISTM lors de la campagne accidentelle dans les rivières artificielles.

Alkylphénols	
T3	2 POCIS TM standards
	2 POCIS TM Nylon
	0,1µm
	2 POCIS TM Nylon 30µm
T6	2 POCIS TM standards
	2 POCIS TM Nylon
	0,1µm
	2 POCIS TM Nylon 30µm
T21	2 POCIS TM standards
	2 POCIS TM Nylon
	0,1µm
	2 POCIS TM Nylon 30µm
T21- Amont de chaque canal	1 POCIS TM Nylon 0,1µm

III.4 Expérimentation sur le terrain

Après la calibration carrousel (§ III.2.1), des POCISTM standards ont été validés *in situ* sur une période d'exposition de 7 et 14 jours. Pour cette validation, le site de Cantinolle à Eysines a été choisi de par sa proximité avec le laboratoire et sa faible complexité. Des prélèvements ont eu lieu dans la STEP de Cantinolle et dans la Jalles d'Eysines en amont et aval du rejet de la STEP.

Le déploiement a été réalisé entre le 19 mars et le 2 avril 2008. Les prélèvements ont eu lieu dans la Jalles d'Eysines, en amont (400 m) et aval (1 200 m) du rejet de la station d'épuration de Cantinolle et dans la STEP. Deux sites ont été échantillonnés dans la STEP : le bac collecteur où l'eau était stagnante (appelé effluent bêche) et le canal de l'effluent avec une hauteur d'eau suffisante (appelé effluent canal). Cette station d'épuration a été conçue pour 85 000 équivalent-habitants, les traitements appliqués sont biologiques (boues activées). Les différents sites d'échantillonnage sont présentés dans la Figure 48 et les mesures physico-chimiques ainsi que le suivi météorologique sont donnés en annexe 6.

Dans la Jalles d'Eysines, 6 POCISTM standards ont été déployés sur chaque site, un triplicat a été récupéré après 7 et 14 jours d'exposition. Des POCISTM standards ont aussi été déployés dans la STEP de Cantinolle et un triplicat a été prélevé à 7 jours. En parallèle, de l'eau a été échantillonnée sur ces mêmes sites à 0, 2, 7, 9, 12 et 14 jours. Les échantillons d'eau issus de la STEP sont des prélèvements moyennés sur 24 heures.

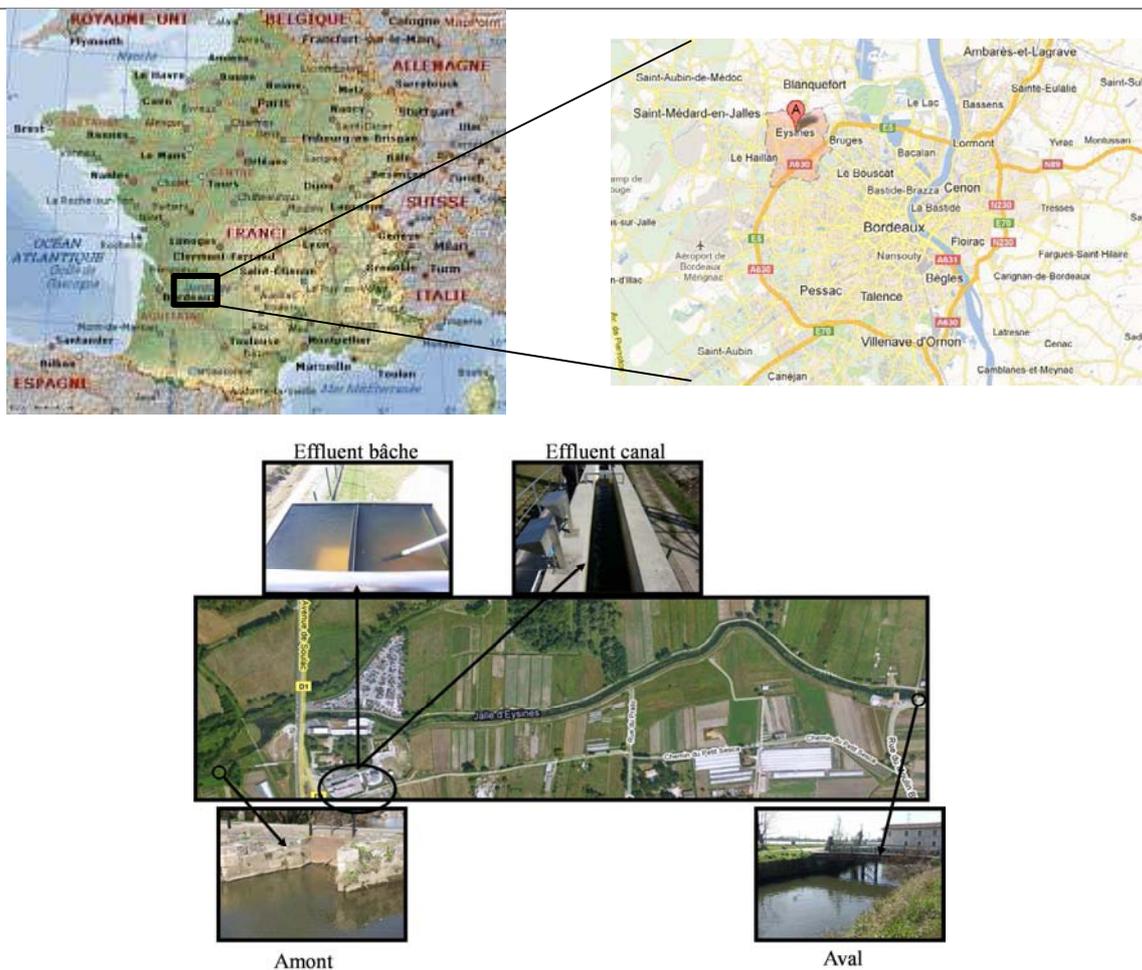


Figure 48 : Sites d'échantillonnage dans la Jalles d'Eysines et la STEP de Cantinolle.

IV. Méthodes analytiques

IV.1 Matériel et consommables

Tout le matériel utilisé lors du traitement, de l'extraction et de l'analyse des échantillons est préalablement nettoyé. La verrerie est lavée à l'eau puis au détergent et est ensuite calcinée à 450°C pendant six heures afin d'éliminer toute trace de composés organiques. Afin d'éviter toute contamination croisée, chaque verrerie est dédiée soit à un manipulateur soit à un type de matrice. Il en est de même pour les pièces de manipulation, chacune étant dédiée à un niveau de contamination.

Tous les solvants et réactifs sont de haute pureté et testés en terme de bruit de fond, notamment pour le 4-NP et le BPA.

IV.2 Assurance qualité

IV.2.1 Traitement des échantillons

Les échantillons sont généralement traités dans les 24 heures suivant leur prélèvement ou réception afin de limiter les phénomènes de biodégradation. Ils sont stockés dans des bouteilles en verre à 4°C. Quand cela n'est pas possible, les échantillons sont congelés après filtration dans des bouteilles en verre.

Avant toute extraction, les échantillons d'eau sont filtrés sur des filtres en fibre de verre Whatman GFF (VWR, Strasbourg, France) de 0,7 µm de porosité, préalablement

calcinés à 450°C pendant six heures, afin de séparer les phases particulaire et dissoute. Dans le cas de matrices chargées, particulièrement pour les eaux usées brutes, une première filtration est faite à l'aide de filtres de verre Whatman GFA (VWR, Strasbourg, France) de 1,2 µm de porosité. Cette étape permet d'éliminer une grande partie des particules et de faciliter la filtration à 0,7 µm. La phase dissoute est généralement extraite après la filtration et la phase particulaire présente sur les filtres est stockée dans des barquettes en aluminium à -20°C avant l'étape de lyophilisation.

Les échantillons de boues solides sont homogénéisés manuellement à l'aide de spatules et 50 g sont prélevés et stockés dans des barquettes en aluminium à -20°C avant l'étape de lyophilisation. Les échantillons de boues liquides sont aussi homogénéisés manuellement puis mis dans des falcons de 50 mL afin d'être centrifugés (Centrifugeuse réfrigérée UNIVERSAL 32R, Hettich, Marne la Vallée, France) deux fois à 2500 / 3000 tour.min⁻¹ pendant 10 minutes. Le culot est récupéré avec une spatule et stocké dans des barquettes en aluminium à -20°C avant l'étape de lyophilisation.

Les matrices solides (phase particulaire et boues) sont lyophilisées (lyophilisateur RP2V, CIRP, Argenteuil, France) puis pesées afin d'obtenir les masses sèches. Ces échantillons sont ensuite stockés à l'abri de la lumière et de l'humidité avant l'analyse.

IV.2.2 Points clés de l'analyse

Lorsqu'il est question d'analyser des composés à l'état de trace dans l'environnement, plusieurs paramètres de contrôle et de qualité sont à prendre en compte (Capdeville et Budzinski 2011).

Les étalons de référence utilisés doivent être de haute pureté (> 98%) et contenu dans une solution méthanolique. La quantification des composés étudiés est faite par étalonnage interne. Cette technique consiste à ajouter des étalons internes en quantité connue dans les échantillons. Ces étalons doivent être absents des échantillons mais de structure et comportement proches des composés ciblés (lors de l'extraction et de l'analyse). De ce fait, si les étalons internes sont convenablement choisis, ils permettent par exemple de s'affranchir des effets matriciels en mimant le comportement du composé étudié auquel il est associé.

Lors de l'identification analytique de chaque composé, quatre points d'identification doivent être vérifiés : le temps de rétention, la transition de quantification, la transition de confirmation et le rapport entre ces deux transitions. Avant chaque injection, une solution standard contenant les composés à doser ainsi que leurs étalons internes associés est injectée afin de déterminer la justesse et la validité de la méthode de quantification. Ceci permet de calculer un coefficient de réponse qui dépend des composés et du type d'appareil analytique ainsi que de son encrassement. Une seconde solution standard, indépendante de la première, est ensuite injectée pour vérifier la précision de la méthode et ainsi déterminer les taux de quantification par rapport à la première solution injectée. Ajoutés à ces contrôles, des blancs d'injection sont injectés après chaque échantillon afin de s'affranchir de l'effet mémoire potentiel du système analytique.

Lors de chaque série d'extraction, des blancs de protocole sont extraits parallèlement aux échantillons. Il s'agit d'un « échantillon » sans matrice qui est extrait, il permet de mettre en évidence une contamination apportée par la verrerie, le manipulateur ou encore l'ambiance de la pièce de manipulation. De la même façon, des dopages sont réalisés lors de chaque série

d'extraction, les eaux (matrices liquides) ou le solvant (matrices solides) sont supplémentés en quantité connues en composés d'intérêts. Ils servent de « contrôle » sur la qualité d'extraction, permettant de calculer l'efficacité de l'extraction.

Tableau 17.: AP, APEO et BPA étudiés au cours de ces travaux de thèse.

Composés	Abréviations	Numéro de CAS	Conditionnement (Pureté-%)	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹) (Log K _{OW}) pKa	
Acide nonylphénoxy-acétique ^a	NP1EC	3115-49-9	Solide visqueux (>98%)	278 (5,80 ^d) 3,10 ^e	
4-Nonylphénol ^b (Mélange technique)	4-NP	84852-15-3	Solide visqueux (100%)	220 (5,99 ^d) 10,30 ^e	
4-tert-octylphénol ^c	4-t-OP	140-66-9	Cristaux (>99%)	206 (5,50 ^d) 10,30 ^e	
Bisphénol A ^c	BPA	80-05-7	Cristaux (>99%)	228 (3,64 ^d)	
Nonylphénol monoéthoxyle ^b (mélange technique)	NP1EO	104-35-8	Solide visqueux (99%)	264 (5,58 ^d)	
Nonylphénol diéthoxyle ^b (mélange technique)	NP2EO	20427-84-3	Solide visqueux (99%)	308 (5,30 ^d)	
Acide nonylphénoxy-acétique d2 ^b	NP1EC d2	-	Cristaux (98,7%)	280	
p-n-nonylphénol ^a	p-n-NP	104-40-5	Solution (1,2 mL) 100 µg/mL dans le nonane (>98%)	220	
4-n-nonylphénol d8 ^b	4-NP d8	-	Solution (1,1 mL) 100 ng/mL dans le nonane	228	
p-n-nonylphénol ¹³ C ₆ ^a	p-n-NP C13	-	Solution (1,2 mL) 100 µg/mL dans le nonane (>96%)	226	
4-tert-octylphénol d2 ^c	4-t-OP d2	-	Solution (1 mL) 10 µg/mL dans l'acétone (>97%)	208	
Bisphénol A d16 ^c	BPA d16	-	Cristaux (>98%)	244	
p-n-nonylphénol monoéthoxyle ^a	p-n-NP1EO	104-35-8	Solution (1,2 mL) 100 µg/mL dans le nonane (>95%)	264	
Nonylphénol monoéthoxyle d2 ^b	NP1EO d2	-	Solution (1,1 mL) 10 ng/µL dans l'acétone (>97%)	266	

^a LGC Standard (Molsheim, France) Promochem (Molsheim, France)

^b Cluzeau Info Labo (Saint Foy la Grande, France)

^c Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France)

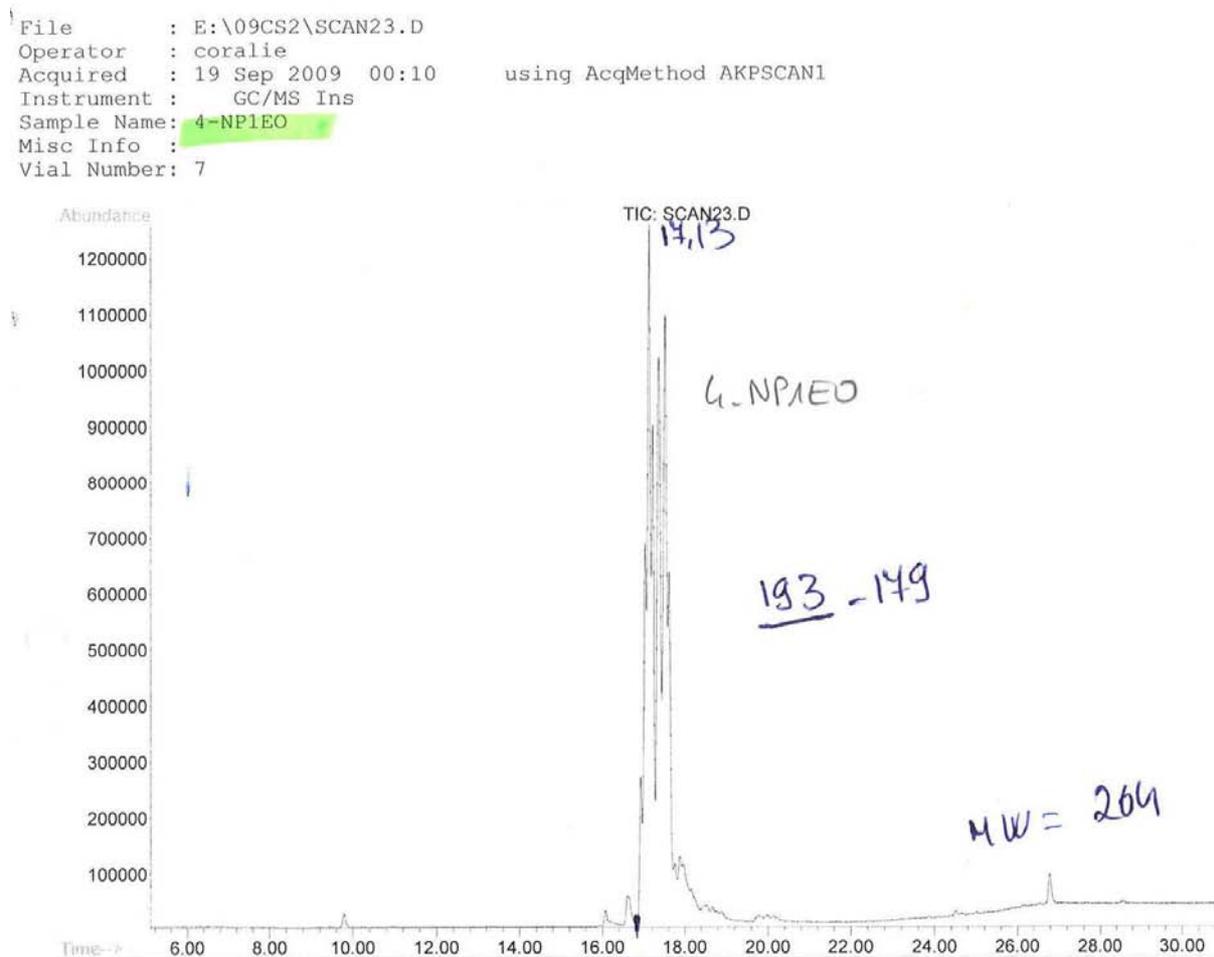
^d calculé par KOWWIN

^e calculé par ACD Phys Chem Suite

IV.3 Analyse des alkylphénols polyéthoxylés et du Bisphénol A

IV.3.1 Composés sélectionnés

Le numéro de CAS ainsi que le conditionnement des composés standards des AP, APEO et BPA étudiés au cours de ces travaux de thèse sont donnés dans le Tableau 17. Les numéros de CAS des NP1EO et NP2EO utilisés au cours de ces travaux sont associés aux formes linéaires (Strub, 2009), cependant leur analyse en GC-MS indique la présence de mélange technique (Figure 49).



File : E:\09CS2\SCAN24.D
 Operator : coralie
 Acquired : 19 Sep 2009 00:53 using AcqMethod AKPSCAN1
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name: 4-NP2EO
 Misc Info :
 Vial Number: 8

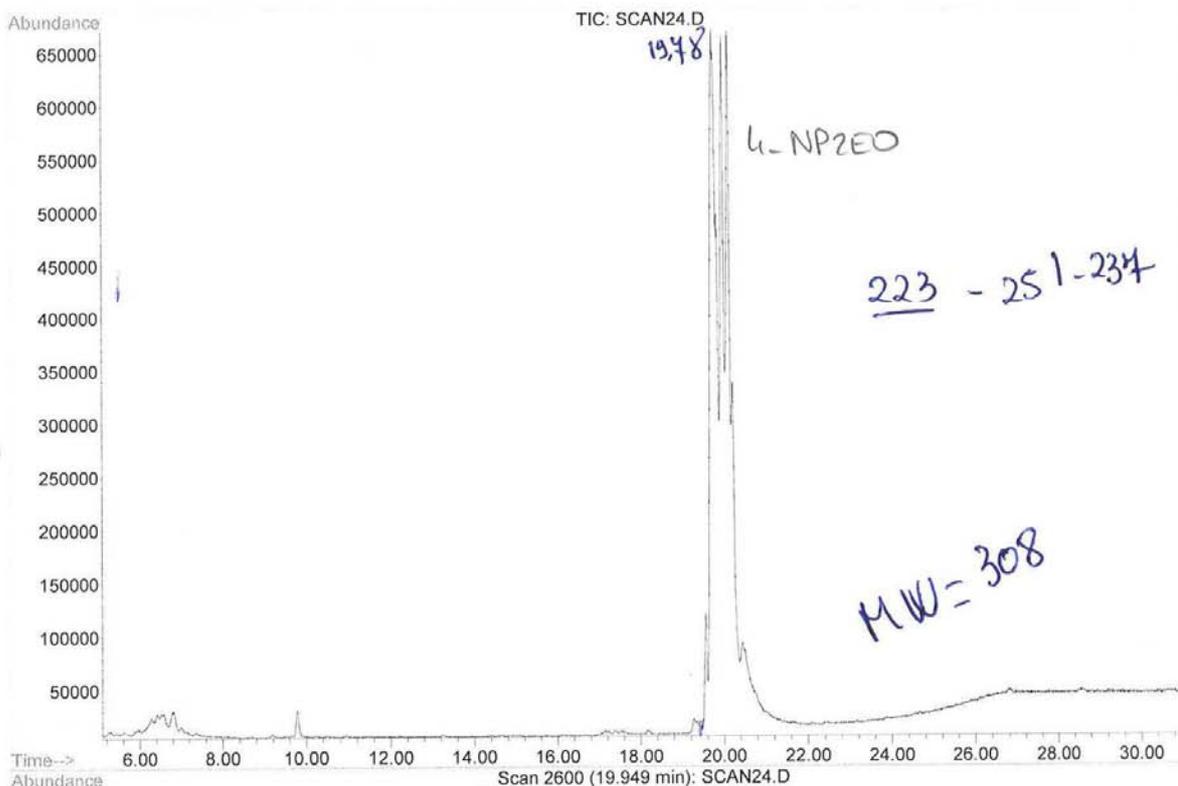


Figure 49 : Chromatogrammes obtenus pour les NP1EO et NP2EO, acquisition en mode SCAN

IV.3.2 Extraction de la phase dissoute (Lardy-Fontan 2008)

IV.3.2.1 Etape de pré-concentration

L'extraction en phase solide (SPE) est utilisée pour pré-concentrer la phase dissoute sur des cartouches BondElut® C18 de 200 mg (Varian, Courtabœuf, France). Avant dépôt de l'échantillon, les cartouches sont activées et conditionnées avec 5 mL de méthanol suivi de 5 mL d'eau Vittel® à pH 2. L'eau est acidifiée avec une solution diluée d'acide chlorhydrique diluée (solution 3,5 mM). L'échantillon, contenant les étalons internes, est ensuite déposé sur ces mêmes cartouches sous vide : 100 mL pour les eaux issues des calibrations, 300 mL pour les eaux issues de STEP et 500 mL pour les eaux de surface. A la fin de cette étape, la phase absorbante des cartouches est rincée avec 3 mL d'un mélange d'eau Vittel à pH 2 et de méthanol (50/50 ; v/v) afin d'éliminer les impuretés piégées dans la phase des cartouches. L'absorbant est ensuite séché sous vide pendant une heure puis les composés d'intérêt sont élués avec 5 mL d'un mélange de méthanol et de dichlorométhane (50/50 ; v/v). Les éluats sont évaporés à sec sous flux d'azote. Ils sont soit repris dans du méthanol pour injection, soit reconstitués dans un mélange de méthanol et de dichlorométhane (80/20 ; v/v ; 100 µL) pour l'étape de purification (uniquement pour les matrices chargées comme les eaux issues de STEP).

IV.3.2.2 Etape de purification

Après l'étape de pré-concentration, les échantillons peuvent subir une étape de purification. Celle-ci se fait sur des cartouches SPE Bondelut® HF-PSA de 500 mg (Varian)

qui sont activées et conditionnées avec 5 mL de méthanol puis 5 mL d'un mélange de méthanol et dichlorométhane (80/20 ; v/v). Les composés repris dans ce même mélange lors de l'étape de pré-concentration sont déposés sur les cartouches. L'élution des composés d'intérêt se fait avec 6 mL d'un mélange de méthanol et de dichlorométhane (80/20 ; v/v) puis 6 mL d'un mélange de méthanol, de dichlorométhane et d'acide trifluoroacétique (79/19/2 ; v/v/v). Les éluats sont ensuite évaporés à sec sous flux d'azote puis repris dans environ 200 μ L de méthanol avant injection.

IV.3.2.3 Validation du protocole d'extraction de la phase dissoute

Les rendements d'extraction du protocole de la phase dissoute sur 24 eaux supplémentées en composés sont compris entre 79 et 120% selon la molécule considérée (Figure 50). Les déviations standards relatives sont inférieures à 20% sauf pour le 4-t-OP. Ce composé a les rendements les plus faibles et les plus variables, ils sont compris entre 47 et 134%. Cette variabilité peut être expliquée par l'utilisation du p-n-NP comme étalon interne lors des premières extractions. Son remplacement par le 4-t-OP d2 a permis d'améliorer ces rendements d'extraction. La méthodologie mise en œuvre pour l'extraction de la phase liquide répond aux critères de répétabilité et de reproductibilité.

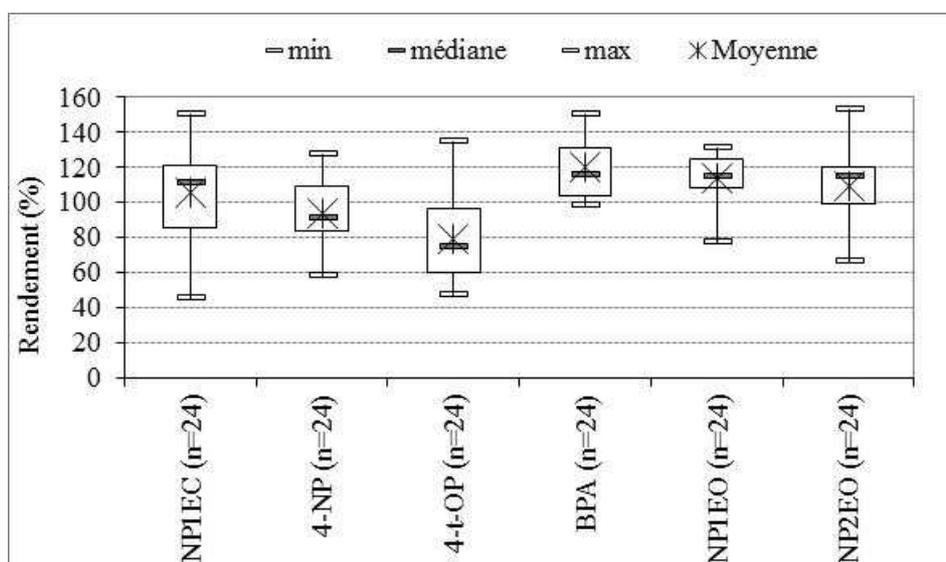


Figure 50 : Rendements d'extraction de la phase liquide des alkylphénols polyéthoxylés et du bisphénol A.

IV.3.3 Extraction de la phase solide (Lardy-Fontan 2008)

IV.3.3.1 Protocole d'extraction de la phase solide

Après lyophilisation, les échantillons solides sont extraits sous champ micro-ondes (Soxwave 100 apparatus, Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France) à pression atmosphérique dans un mélange de méthanol et de dichlorométhane (3/1 ; v/v ; 30 mL) contenant les étalons internes. La prise d'essai est de 0,1 g pour les boues et entre 0,01 et 0,2 g pour les MES. Chaque extrait est ensuite filtré sur du coton de verre (préalablement lavé 3 fois au dichlorométhane aux ultrasons) puis évaporé avec un reconcentrateur automatique (RapidVap, bioblock, Fontenay-sous-Bois, France). Les composés d'intérêt sont repris dans 60 mL d'eau Vittel à pH2 afin de suivre l'étape de pré-concentration et si besoin celle de purification, décrites dans le paragraphe IV.3.2.

IV.3.3.2 *Validation du protocole d'extraction de la phase solide*

Les rendements d'extraction de la phase solide des alkylphénols et de leurs dérivés éthoxylés lors de 7 séries de manipulation sont compris entre 93 et 102% selon la molécule considérée (Figure 51). Les déviations standards relatives sont inférieures à 20%. La méthodologie mise en œuvre pour l'extraction de la phase solide répond aux critères de répétabilité et de reproductibilité.

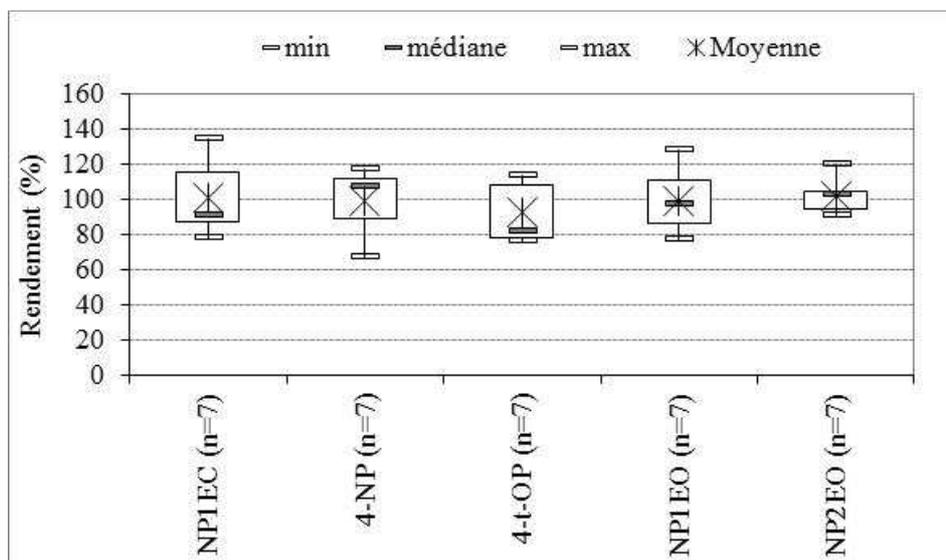


Figure 51 : Rendements d'extraction de la phase solide des alkylphénols polyéthoxylés et du bisphénol A.

IV.3.4 *Analyse*

Au début de ces travaux de thèse, une méthode d'analyse en chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse était disponible au laboratoire pour les AP, APEO, NP1EC et BPA pour les phases dissoutes et solides. Seul trois étalons internes étaient utilisés : le p-n-NP pour les 4-NP, NP1EC et 4-t-OP, le BPA d16 pour le BPA et le p-n-NP1EO pour les NP1EO et NP2EO. La disponibilité d'autres étalons internes, certains plus proches en termes de structure chimique et de propriétés physico-chimiques des composés à doser, a permis d'enrichir cette méthode analytique. De ce fait les NP1EC d2, 4-NP d8, p-n-NP C13, 4-t-OP d2 et NP1EO d2 ont été introduits. Cette méthode a ensuite été transposée en LC/MS/MS.

IV.3.4.1 *LC/MS (Lardy-Fontan 2008)*

L'analyse des AP, APEO et du BPA a tout d'abord été initiée en chromatographie en phase liquide (CHLP 1100, Agilent Technologies, Palo Alto, USA) couplée à un spectromètre de masse simple (GV 1946 VL, Agilent Technologies). La séparation des composés est effectuée par un gradient d'éluion d'eau et de méthanol. Les conditions d'analyse chromatographique sont données en annexe 7.

La source d'ionisation est une source à électrospray (ESI) à pression atmosphérique en mode d'ionisation positif et négatif. L'analyse est effectuée en mode SIM (Single Ion Monitoring). Les premières analyses réalisées au début de ces travaux de thèse ont été quantifiées par trois étalons internes, deux en mode négatif (p-n-NP et le BPA d16) et un en mode positif (p-n-NP1EO). A partir de décembre 2008, de nouveaux étalons internes ont été introduits (NP1EC d2, 4-NP d8, p-n-NP C13, 4-t-OP d2 et NP1EO d2). Les conditions d'analyse en spectrométrie de masse sont données en annexe 7.

IV.3.4.2 *LC-MS/MS*

L'arrivée d'un LC-MS/MS au laboratoire, un UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) Acquity connecté à un spectromètre de masse Quattro Premier XE triple quadrupole (Waters, Saint Quentin en Yvelines, France), a permis d'analyser les AP, APEO et BPA en améliorant la sensibilité, la résolution et la durée des analyses par rapport à une chromatographie en phase liquide traditionnelle. De l'eau milli Q et le méthanol sont utilisés pour la séparation des composés. Les conditions d'analyse chromatographique sont données en annexe 8.

Les composés sont ionisés par électrospray à pression atmosphérique. Le mode d'acquisition est le mode MRM (Multiple Reaction Monitoring). Pour chaque composé, deux transitions sont utilisées pour leur identification : les transitions de quantification (TQ) et de confirmation (TC). Seules des transitions de quantification ont été sélectionnées pour les étalons internes. Deux méthodes d'analyse ont été utilisées pour les AP, APEO et BPA. La première contenait seulement trois étalons internes (p-n-NP, BPA d16 et p-n-NP1EO) et la seconde sept (NP1EC d2, p-n-NP, 4-NP d8, p-n-NPC13, 4-t-OP d2, BPA d16, NP1EO d2). Les conditions d'analyse en spectrométrie de masse sont données en annexe 8.

Cette technique analytique a permis d'abaisser les limites de détection et d'élargir les gammes de linéarité de tous les composés étudiés (Tableau 18).

Tableau 18 : Gamme de linéarité des alkylphénols polyéthoxylés en LC/MS et LC/MS/MS

Composés	LC/MS	LC/MS/MS
	Linéarité (pg injecté)	Linéarité (pg injecté)
NP1EC	9-1880	0,13-4650
NP1EC d2	9-1795	0,4-4510
4-NP	4-1795	2-4443
4-NP d8	40-1225	1,3-3846
p-n-NP C13	30-1390	1,5-4139
p-n-NP	29-1330	4,9-362
4-t-OP	8-1665	2-4123
4-t-OP d2	9-1780	6,5-4615
BPA	22-1750	7-4322
BPA d16	23-1840	6,7-8250
NP1EO	7-1670	7-4126
NP2EO	7-1790	0,4-4440
NP1EO d2	1,8-1840	0,4-4398

IV.3.4.3 *Retour d'expérience sur l'analyse des AP, APEO et BPA en chromatographie liquide*

L'analyse des alkylphénols, des alkylphénols polyéthoxylés et du bisphénol A s'est avérée à certain moment difficile. A l'origine de ces difficultés on retrouve les blancs d'injection, la linéarité, les blancs de manipulation, etc.

Les blancs d'injection, insérés régulièrement dans les séquences d'analyse, permettent de connaître le bruit de fond du système, de mettre en évidence la présence d'interférents et

d'éviter une contamination potentielle des échantillons par des résidus d'échantillons fortement concentrés. En effet, cette contamination peut provenir des phases mobiles ou encore du système d'injection et / ou de la colonne si ceux-ci sont mal rincés entre deux analyses. Lors de l'analyse en LC-MS/MS, plusieurs injections de blancs sont nécessaires entre chaque échantillon. Ce nombre est à optimiser en fonction des composés à doser et du niveau de contamination. Par exemple, après injection d'un dopage, le 4-NP est détecté dans le premier blanc d'injection lui succédant et le second permet d'éliminer toute trace de ce composé dans le système (Figure 53). En ce qui concerne le NP2EO, composés pour lequel la sensibilité est plus importante, même après injection de trois blancs successifs à un dopage, il reste encore quelques traces de ce composé (Figure 53).

Dans certains cas, la quantification du 4-NP a été abérante. Les rendements d'extractions de la phase dissoute atteignaient presque 200%. En effet, le 4-NP et deux de ces étalons internes (4-NP d8 et p-n-NP C13) ne sont pas linéaires sur une gamme allant de 9 à 3445 pg injecté ; ils possèdent plusieurs domaines de linéarité (Figure 52). En fonction des quantités injectées, les réponses des étalons internes par rapport au 4-NP sont différentes (Figure 52). Pour améliorer la quantification de ce composé, deux solutions standards indépendantes sont injectées à six niveaux de concentration (de 10 à environ 4000 pg injecté). La première permet de déterminer les coefficients de réponse du 4-NP par rapport à ces étalons internes et la seconde d'obtenir des rendements de quantification associés. Le coefficient de réponse utilisé pour la quantification d'un échantillon doit posséder une aire équivalente à celle du 4-NP.

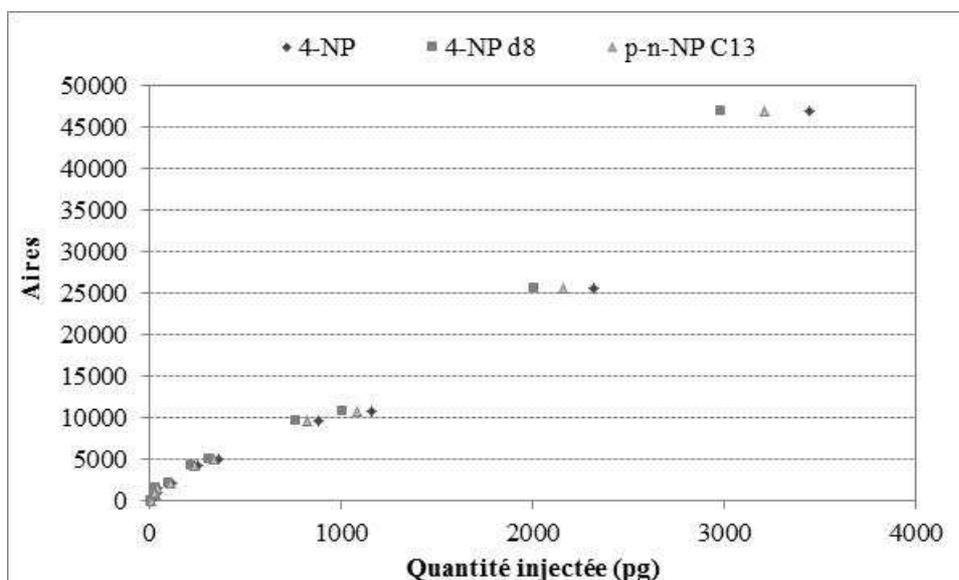


Figure 52 : Gamme de linéarité du 4-NP et ses étalons internes

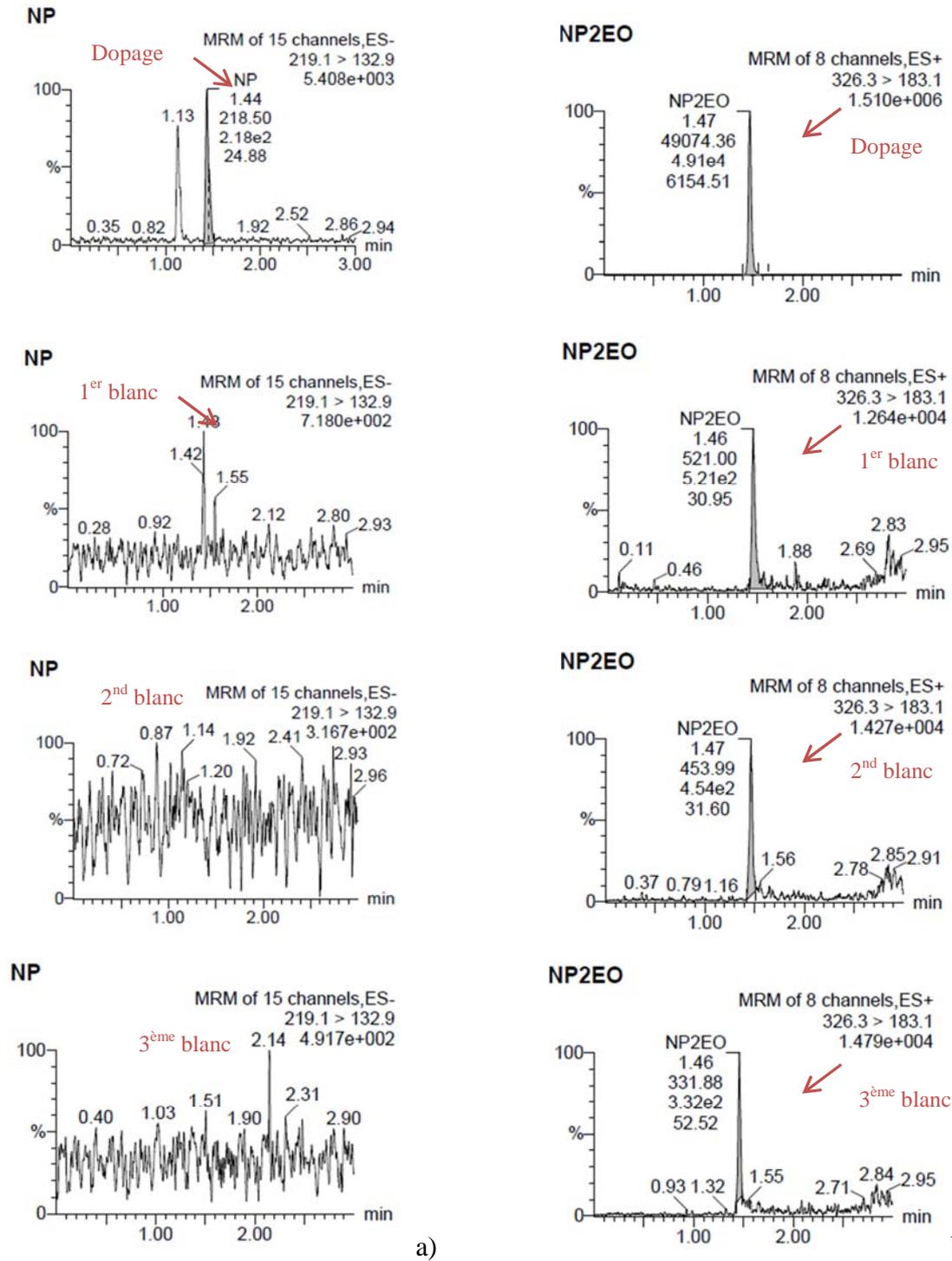


Figure 53 : Chromatogrammes d'analyses successives d'un échantillon et de blancs d'injection du 4-NP (a) et du NP2EO (b)

Les alkylphénols et leurs dérivés éthoxylés sont utilisés dans de nombreuses applications et peuvent contaminer les échantillons soit par l’ambiance, le matériel utilisé lors de l’extraction et / ou l’analyse ou encore par le manipulateur lui-même. Un suivi des blancs de protocole a été effectué sur 28 extractions de la phase dissoute et 8 de la phase OASIS HLB® des POCIS™ (Tableau 19). Les deux composés les plus quantifiés dans les blancs de protocole sont le 4-NP (28 ng) et le BPA (11 ng). Ces valeurs restent cependant faibles et compatibles avec l’analyse de traces de ces composés dans les matrices environnementales. Cependant, certains blancs de protocole se sont révélés contenir plusieurs nanogrammes de tous les composés étudiés du à des travaux réalisés dans le bâtiment.

Tableau 19 : Suivi des blancs de protocole de la phase dissoute et de la phase OASIS HLB®.

Composés	Phase dissoute					Phase OASIS HLB®				
	Moyenne (ng)	RSD(%)	Min (ng)	Max (ng)	n	Moyenne (ng)	RSD(%)	Min (ng)	Max (ng)	n
NP1EC	1	478	0	37	28	1	123	0	5	8
4-NP	28	77	0	77	28	14	74	3	37	8
4-t-OP	0	529	0	1	28	4	87	0	9	8
BPA	11	81	1	19	28	9	162	1	45	8
NP1EO	3	330	0	47	28	3	58	1	7	8
NP2EO	2	347	0	43	28	2	69	1	3	8

Afin de s’affranchir de ces limites dans la quantification des alkylphénols et plus précisément celles du 4-NP en LC/MS ou LC-MS/MS, leur analyse en SPME a été développée.

IV.3.4.4 Extraction et analyse en SPME-GC-MS

La Micro Extraction en Phase Solide (SPME) est une méthode d’extraction sans solvant de molécules organiques, à partir d’échantillons aqueux, solides ou gazeux, même à l’état de traces (Burgot et Pellerin 2003). Les composés sont extraits par absorption ou adsorption sur une fibre de silice fondue revêtue d’un polymère. Cette méthode respecte l’environnement et la structure des échantillons. Elle est automatisable, améliore les limites de détection et, suivant les applications, la fibre peut être réutilisée une centaine de fois. La fibre est soit introduite directement dans l’échantillon s’il s’agit de liquide ou de gaz, soit exposée à l’espace de tête pour les échantillons plus complexes. La désorption des molécules se fait par voie thermique dans l’injecteur d’un chromatographe en phase gazeuse ou par entraînement par la phase mobile si l’analyse est réalisée par chromatographie en phase liquide. Le phénomène d’adsorption ou de partage mis en jeu ne correspond pas à une extraction totale (Burgot et Pellerin 2003).

La fibre de silice fondue est enrobée d’une phase adsorbante, appelée aussi revêtement, et l’échantillon se distribue entre celui-ci et la matrice. Il existe trois groupes de revêtement (Burgot et Pellerin 2003):

- Les polymères liquides : le polydiméthylsiloxane (PDMS) qui est un liquide très visqueux, ou le polyacrylate (PA), avec lesquels l’échantillon se partage entre le polymère et la matrice.
- Les polymères poreux : divinylbenzène (DVB), associé au PDMS ou au carbowax®. Pour ce groupe, un isotherme d’adsorption peut être décrit par la loi de Langmuir si les concentrations des composés dans les deux phases restent faibles.

➤ Les polymères très poreux du type Carboxen® dont la capacité de rétention est très élevée. A la surface de l'adsorbant se déposent plusieurs couches de composés responsables d'isothermes non linéaires ce qui signifie que le rapport des concentrations n'est plus constant.

Tous les alkylphénols et alkylphénols polyéthoxylés sont séparés en GC-MS sauf le NP1EC. Aucune dérivation n'est nécessaire pour volatiliser les composés ciblés et l'analyse est faite en spectrométrie de masse en mode SIM.

Les conditions d'extraction et d'analyse en SPME-GC-MS du 4-NP et 4-t-OP sont données en annexe 9.

IV.4 Analyse des composés pharmaceutiques

IV.4.1 Composés sélectionnés

Les composés pharmaceutiques sélectionnés pour ces travaux de thèse sont donnés dans le Tableau 20. Ils sont classés selon le système de classification ATC (Anatomique, Thérapeutique, Chimique) de l'OMS. La sélection des composés pharmaceutiques repose sur leur utilisation, leur présence dans les systèmes aquatiques, leur mode d'action et leur toxicité. Certains d'entre eux font partie de la liste des composés pharmaceutiques prioritaires selon Besse et Garric (2007).

Tableau 20 : Composés pharmaceutiques étudiés au cours de ces travaux de thèse.

Organes ou systèmes ciblés	Classe thérapeutique	Classe pharmacologique	Classe chimique	Composés (abréviations)	Numéro CAS (ATC)	Conditionnement (Pureté)	Masse moléculaire (g.mol ⁻¹) (log K _{OW}) pKa	
C	10	A	B	Gemfibrozil ^a (GEM)	25812-30-0 (C10AB04)	Cristaux	250 (4,77 ^e) 4,90 ^f	
				Diclofénac ^a (DICLO)	15307-79-6 (M01AB05)		Cristaux	296 (4,02 ^e) 4,30 ^f
M	01	A	E	Ibuprofène ^a (IBU)	15687-27-1 (M01AE01)	Cristaux	206 (3,79 ^e) 4,30 ^f	
				Naproxène ^a (NAPROX)	22204-53-1 (M01AE02)		Cristaux	230 (3,10 ^e) 4,30 ^f
				Kétoprofène ^a (KETO)	22071-15-4 (M01AE03)		Cristaux	254 (3,00 ^e) 4,30 ^f
	02	B	A	Aspirine ^a (ASP)	50-78-2 (N02BA01)	Cristaux (> 99,5%)	180 (1,13 ^e) 3,50 ^f	
				Paracétamol ^a (PARA)	103-90-2 (N02BE01)		Cristaux (> 98%)	151 (0,27 ^e) 10,20 ^f
N	03	A	F	Carbamazépine ^a (CARBA)	298-46-4 (N03AF01)	Cristaux	236 (2,25 ^e)	
				Diazépam ^a (DZP)	439-14-5 (N05BA01)		Cristaux	285 (2,70 ^e) 3,20 ^f
	05	B	A	Bromazéпам ^a (BRZ)	1812-30-2 (N05BA08)	Cristaux	316 (1,93 ^e) 3,90 ^f	

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

			Alprazolam ^a (APZ)	28981-97-7 (N05BA12)	Cristaux	309 (3,87 ^e) 2,80 ^f	
			Nordazépam ^a (NDZ)	1088-11-5 (N05BA16)	Cristaux	271 (2,87 ^e) -	
06	A	A	Imipramine ^a (IMI)	113-52-0 (N06AA02)	Cristaux	317 (5,01 ^e) 9,40 ^f	
			Amitriptyline ^a (AMI)	549-18-8 (N06AA09)	Cristaux	314 (4,95 ^e) 9,10 ^f	
			Doxépine ^a (DOX)	1229-29-4 (N06AA12)	Cristaux (>82,5 %)	316 (3,99 ^e) 9,10 ^f	
		B		Fluoxétine ^a (FLUOX)	56296-78-7 (N06AB03)	Cristaux	346 (4,65 ^e) 9,90 ^f
	B	C		Caféine ^a (CAF)	58-08-2 (N06AC01)	Cristaux	194 (0,16 ^e) -
	R	03	A	C	Salbutamol ^a (SALBU)	18559-94-9 (R03AC02)	Cristaux
Terbutaline ^a (TERBU)					23031-32-5 (R03AC03)	Cristaux	274 (0,67 ^e) 9,20 ^f
Clenbutérol ^a (CLENBU)					21898-19-1 (R03AC13 ou 14)	Cristaux (> 95%)	314 (2,00 ^e) 9,20 ^f
		D	A	Théophylline ^a (THEO)	58-55-9 (R03DA04)	Cristaux (> 99%)	180 (-0,39 ^e) 8,70 ^f
Etalons internes			Gemfibrozil d6 ^b (GEM d6)	-	Cristaux (> 99,7%)	256	
			Diclofénac d4 ^b (DICLO d4)	153466-65-0	Cristaux (>92,8%)	300	
			Ibuprofène d3 ^c (IBU d3)	121662-14-4	Cristaux (> 99%)	209	
			Naproxène d3 ^b (NAPROX d3)	22204-53-1*	Cristaux (> 99,9%)	233	
			Kétoprofène d3 ^b (KETO d3)	159490-55-8	Cristaux (> 98,5%)	257	
			Paracétamol d4 ^b (PARA d4)	64315-36-2	Cristaux (> 98%)	155	
			Diazépam d5 ^a (DIAZ d5)	65854-76-4	Cristaux (> 99%) solution (1 mL)	290	
			Nordazépam d5 ^a (NDZ d5)	65891-80-7	1 mg.mL ⁻¹ MeOH (> 99,6%) solution (1 mL)	276	
			Amitriptyline d6 ^b (AMI d6)	549-18-8*	1 µg.mL ⁻¹ MeOH (> 98%)	320	
			Caféine C13 ^d (Caf C13)	-	Cristaux (> 99%)	199	
			Salbutamol d3 ^b (SALBU d3)	18559-94-9	Cristaux (> 99%)	242	
Etalon seringue			Imipramine d4 ^b (IMI d4)	-	Cristaux (> 98%)	321	

C : système cardiovasculaire ; M : système musculo-squelettique ; N : système nerveux ; R : système respiratoire ; (C)10 : agent modificateurs de lipides ; (M)01 : produits anti-inflammatoires et antipyrétiques ; (N)02 : analgésiques ; (N)03 : antiépileptiques ; (N)05 : psycholeptiques ; N(06) : psychoanaleptiques ; (R)03 : médicaments pour les maladies respiratoires obstructives ; (C10A)B : fibrates ; (M01)A : produits anti-inflammatoires et antipyrétiques non stéroïdiens ; (M01A)B : Dérivés de l'acide acétique et substances apparentées ; (M01A)E : Dérivés de l'acide propionique ; (N02)B : Autres analgésiques et antipyrétiques ; (N02B)A : acide salicylique et dérivés ; (N02B)E : anilides (N03)A : antiépileptiques, (N03A)F : Dérivés carboxamides ; (N05)B : anxiolytiques ; (N05B)A : Dérivés de la benzodiazine ; (N06)A : antidépresseurs ; (N06A)A : inhibiteurs non sélectifs de la recapture des monoamines ; (N06A)B : inhibiteurs sélectifs de la recapture des sérotonines ; (N06)B : psychostimulants et agents utilisés pour les TDAH et nootropiques ; (N06B)C : Dérivés de la xanthine ; (R03)A : substances adrénérique et inhalées ; (R03A)C : Substances sélectives agonistes des récepteurs β -2-adrénergiques ; (R03)D : autres médicaments systémiques pour les maladies respiratoires obstructives ; (R03D)A : xanthines.

^a Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France)

^b Cluzeau Info Labo (Sainte Foy la Grande, France)

^c Promochem (Molsheim, France)

^d Euriso top (Saint Aubin, France)

^e calculé par KOWWIN

^f calculé par ACD Phys chem suite

*unlabeled

IV.4.2 Extraction de la phase dissoute (Lardy-Fontan 2008)

IV.4.2.1 Protocole d'extraction de la phase dissoute

La phase dissoute est extraite par SPE sur des cartouches OASIS MCX de 60 mg (Waters). Celles-ci sont tout d'abord activées et conditionnées avec 3 mL d'acétate d'éthyle puis 3 mL d'eau Vittel à pH2. L'acidification de l'eau est faite avec une solution d'acide chlorhydrique (solution à 3,5 mM). 100 mL d'échantillon, contenant les étalons internes (diclofénac d4, kétoprofène d3, gemfibrozil d6, naproxène d3, ibuprofène d3, diazépam d5, nordazépam d5, amitryptiline d6, paracétamol d4, salbutamol d3 et caféine C13), sont ensuite déposés sur la cartouche sous vide. Les cartouches sont séchées puis les composés d'intérêt élués avec trois solvants et mélange de solvants successifs. La première élution est faite avec 3 mL d'acétate d'éthyle, la seconde avec 3 mL d'un mélange d'acétate d'éthyle et d'acétone (50/50 ; v/v) et la troisième avec 3 mL d'un mélange de méthanol, de dichlorométhane et d'hydroxyde d'ammonium (19/19/2 ; v/v/v). Les éluats sont ensuite évaporés à sec sous flux d'azote et repris dans 300 μ L d'acétonitrile dans lesquels est ajouté l'étalon seringue (imipramine d4). 100 μ L de chaque échantillon sont prélevés puis injectés en mode d'ionisation négatif. Pour celle en mode positif, 100 μ L d'échantillon sont évaporés jusqu'à en obtenir 20 μ L puis 180 μ L d'eau milliQ sont ajoutés afin d'améliorer la résolution lors de l'analyse.

1.3.1.1 Validation du protocole d'extraction de la phase dissoute

Les rendements d'extraction du protocole de la phase dissoute sur 60 eaux supplémentées en composés sont supérieurs à 60% (Figure 54) sauf pour l'aspirine (53%) et le salbutamol (58%). Les déviations standards relatives sont inférieures à 20% sauf pour le kétoprofène, le naproxène, le diclofénac et le salbutamol. La méthodologie mise en œuvre pour l'extraction de la phase liquide est considéré comme satisfaisante et validée.

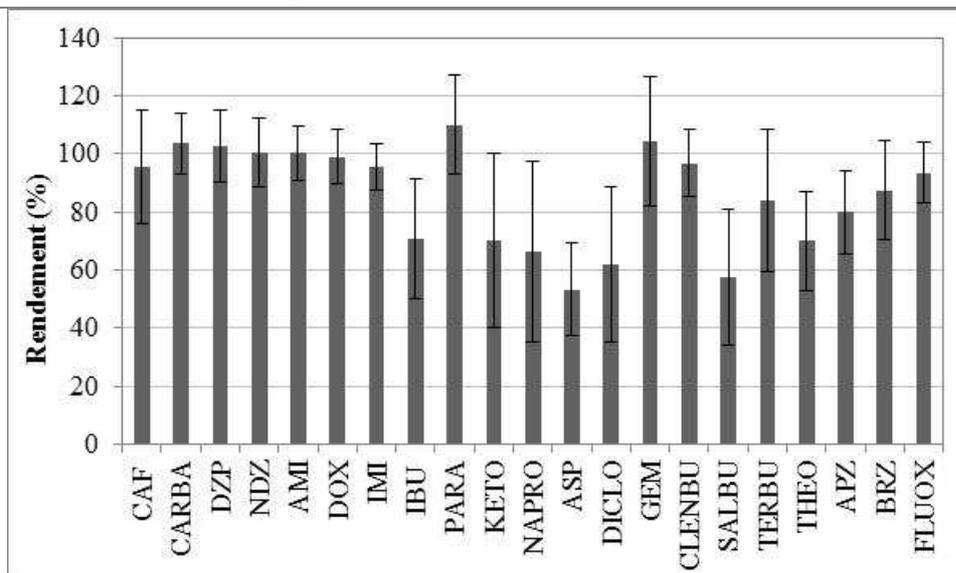


Figure 54: Rendements d'extraction de la phase liquide des composés pharmaceutiques.

IV.4.3 Extraction de la phase solide (Togola 2006; Lardy-Fontan 2008)

IV.4.3.1 Protocole d'extraction de la phase solide

Les échantillons (0,1 g pour les boues et entre 0,01 et 0,2 g pour les MES) sont extraits sous champ micro-ondes à pression atmosphérique dans un mélange d'acétonitrile et d'eau Vittel® acidifiée à pH 2 (3/1, v/v). Les étalons internes sont ajoutés avant l'extraction. Chaque extrait est ensuite filtré sur du coton de verre (préalablement lavé 3 fois au dichlorométhane aux ultrasons) puis évaporé au RapidVap®. Les composés d'intérêt sont repris dans 60 mL d'eau Vittel® à pH 2 afin de suivre l'étape de pré-concentration en SPE décrites dans le paragraphe IV.4.2.

IV.4.3.2 Validation du protocole d'extraction de la phase solide

Les rendements d'extraction de la phase solide des composés pharmaceutiques lors de 4 séries de manipulation sont supérieurs à 70% sauf pour l'aspirine et la théophylline (Figure 55). Les déviations standards relatives sont inférieures à 20% sauf pour le diclofénac. La méthodologie mise en œuvre pour l'extraction de la phase liquide est considérée comme satisfaisante et validée.

IV.4.4 Analyse par LC-MS/MS

L'analyse des composés pharmaceutiques est effectuée en chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem, RRLC-QQQ (Agilent Technologies, Massy, France). Les composés sont séparés par un gradient de solvant (acétonitrile et eau). Les conditions d'analyse chromatographique sont données en annexe 10 et dépendent du mode d'ionisation.

Les composés sont ionisés par électrospray à pression atmosphérique. Le mode d'acquisition est le mode MRM et deux modes d'injection sont nécessaires (ESI- et ESI+). Pour chaque composé, deux transitions sont utilisées pour son identification : les transitions de quantification et de confirmation. Seules des transitions de quantification ont été sélectionnées pour les étalons internes. Les conditions d'analyse en spectrométrie de masse sont données en annexe 10.

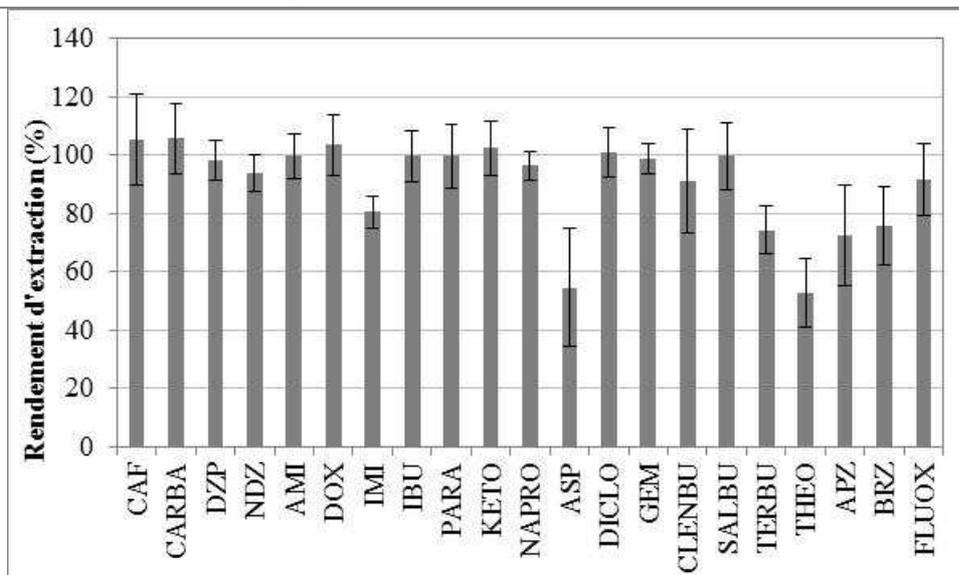


Figure 55: Rendements d'extraction de la phase solide des composés pharmaceutiques.

IV.5 Extraction des POCISTM

De retour du terrain ou après les calibrations, les POCISTM ont été congelés à -20°C. Lors de l'extraction, les deux anneaux en inox des POCISTM sont désassemblés et la phase et les membranes sont séparées. Les protocoles d'extraction sont décrits dans les paragraphes ci-dessous.

IV.5.1 Extraction de la phase POCISTM

La phase des POCISTM est récupérée de chaque membrane avec environ 2 mL d'eau Vittel® et déposée dans une cartouche SPE en verre dans laquelle elle est maintenue entre deux frittés en Téflon. Ceux-ci sont préalablement nettoyés 3 fois dans du méthanol pendant 15 minutes. La phase est séchée sous vide pendant une heure et demie à deux heures. Un blanc phase et de la phase spikée sont co-traités lors de chaque série d'extraction. Deux protocoles d'extraction combinés ont été utilisés en fonction des études menées. Les cartouches et les frittés sont tarés avant l'ajout de la phase de façon à obtenir la masse exacte de phase extraite.

IV.5.1.1 Protocole combiné AP, APEO, BPA et composés pharmaceutiques

Ce protocole d'extraction a été utilisé lors des calibrations et de la validation des POCISTM sur le terrain. Les composés sont élués en deux étapes successives. Une première avec 10 mL de méthanol et la seconde avec 10 mL d'un mélange de méthanol et de dichlorométhane (50/50 ; v/v). Les étalons internes sont ajoutés dans le flacon d'éluat. Si les deux classes de composés sont analysées (AP, APEO, BPA et composés pharmaceutiques), les éluats sont divisés en deux, puis chacun est évaporé par reconcentrateur automatique (RapidVap®). Après extraction, les cartouches sont à nouveau séchées sous vide puis pesées afin de déterminer la masse exacte de phase extraite.

IV.5.1.2 Protocole combiné AP, APEO, BPA, composés pharmaceutiques et pesticides

Ce protocole d'extraction a été utilisé lors des expérimentations en rivières artificielles. Les composés sont élués de la phase en trois étapes successives : 10 mL de méthanol, 10 mL d'un mélange de méthanol et de dichlorométhane (50/50 ; v/v) puis 10 mL de dichlorométhane. Les étalons internes sont ajoutés dans le flacon d'éluat. Les éluats sont

ensuite divisés en trois : un pour l'analyse des AP, APEO et BPA, le second pour les composés pharmaceutiques et le troisième pour les pesticides, qui faisaient partie des composés ciblés dans le projet EMESTOX. La phase extraite contenue dans les cartouches est séchée à nouveau sous vide et pesée.

IV.5.1.3 *Préparation des échantillons avant injection*

Les extraits à analyser en AP, APEO et BPA sont repris dans du méthanol puis injectés. Pour les composés pharmaceutiques, les extraits sont reconstitués dans l'acétonitrile et l'étalon seringue y est ajouté. 100 µL de chaque extrait sont prélevés puis injectés en mode d'ionisation négatif. Pour l'analyse en mode positif, 100 µL d'extrait sont évaporés jusqu'à obtenir 20 µL puis 180 µL d'eau milliQ sont ajoutés.

IV.5.1.4 *Validation du protocole d'extraction de la phase OASIS HLB®*

Les rendements d'extraction du protocole de la phase OASIS HLB® sur 5 dopages sont en moyenne de 80% (Figure 56). Ils sont supérieurs à 60% sauf pour la terbutaline (51%), l'amitriptyline (58%), la doxépine (52%) et l'aspirine (34%). Les déviations standards relatives sont inférieures à 20% pour la majorité des composés étudiés. La méthodologie mise en œuvre pour l'extraction de la phase OASIS HLB® répond aux critères de répétabilité et de reproductibilité.

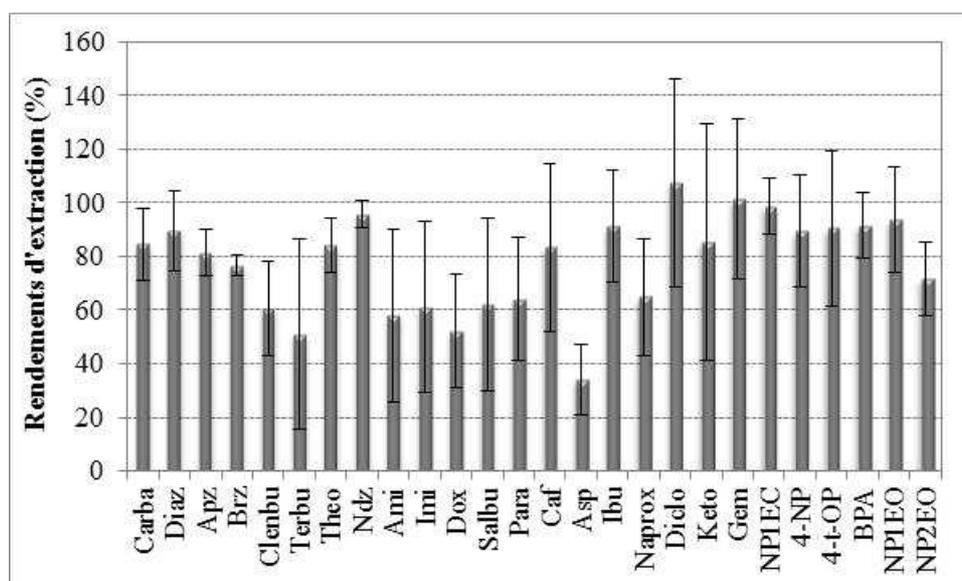


Figure 56 : Rendements d'extraction de la phase OASIS HLB® des alkylphénols, leurs dérivés éthoxylés, du bisphénol A et des composés pharmaceutiques (n=3)

IV.5.2 *Extraction des membranes*

Seuls les AP, APEO et BPA sont analysés dans les membranes car d'après une étude menée par Togola et Budzinski (Togola et Budzinski 2007), les membranes en PES ne retiennent pas de façon significative les composés pharmaceutiques.

Après décongélation, les membranes sont introduites dans des flacons de 22 mL contenant 10 mL d'hexane, puis extraites aux ultrasons pendant 10 minutes. Cette étape est répétée deux fois. Les membranes déjà extraites à l'hexane le sont de la même façon avec du méthanol. Ces deux solvants n'étant pas miscibles, les extraits d'hexane sont d'abord évaporés à sec au RapidVap® puis ceux au méthanol y sont ensuite ajoutés. Les étalons

internes sont ajoutés dans les extraits de méthanol avant évaporation au RapidVap®. Les extraits sont ensuite repris dans le méthanol avant injection.

IV.6 Exploitation des données issues des STEP

Plusieurs paramètres ont été calculés, notamment la fraction dissoute, les variabilités ainsi que les rendements d'élimination. Les calculs de ces paramètres sont brièvement développés dans les paragraphes suivants.

IV.6.1 Calcul de la fraction dissoute / particulaire

Les concentrations ont été mesurées dans les phases dissoutes ($\mu\text{g.L}^{-1}$) et particulaire ($\mu\text{g.g}^{-1}$ de masse sèche). Pour revenir à une concentration particulaire en $\mu\text{g.L}^{-1}$, il est nécessaire de posséder la teneur en MES (g.L^{-1}). Les valeurs de MES considérées sont celles calculées à partir de la masse de matière récupérée sur les filtres GFF par rapport au volume d'échantillon filtré associé. Les concentrations totales sont calculées en additionnant celles des phases dissoute et particulaire. Le pourcentage de composé présent dans la phase dissoute (fraction dissoute) est quant à elle obtenue en divisant la concentration dissoute par la concentration totale.

IV.6.2 Calcul des rendements d'élimination

Les rendements calculés sont moyennés sur plusieurs jours (2 à 3 jours, selon les périodes d'échantillonnage des STEP) à partir des concentrations et des flux moyens. Pour chaque campagne et chaque substance, deux rendements d'élimination ont pu être calculés : R_2 (rendement de la filière eau) et R_4 (rendement global) (Figure 57).

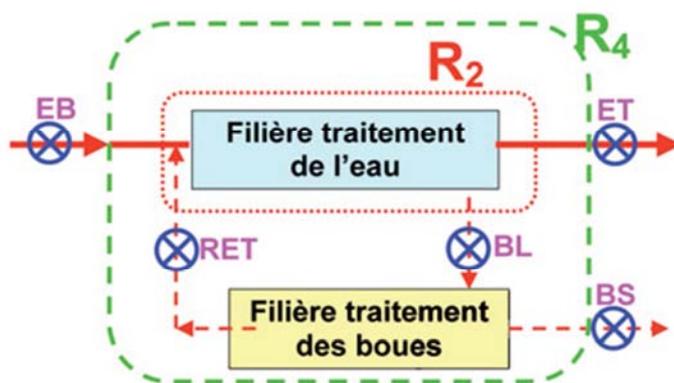


Figure 57 : Positionnement des points d'échantillonnage pour le calcul des rendements R_2 (filière eau) et R_4 (filière globale)- EB : eau brute ; ET : eau traitée ; BL : boue liquide ; BS : boue sèche ; RET : retour en tête.(Choubert et al. 2011)

Les rendements de la filière eau (R_2) rendent compte de la diminution de la concentration en micropolluant entre l'entrée et la sortie d'une STEP ou d'une étape de traitement. Ils tiennent compte de l'adsorption des composés sur les MES des eaux usées brutes, les processus d'adsorption / transfert dans les boues, de biodégradation et de volatilisation (Choubert et al. 2011, annexe supplémentaire). Les rendements globaux (R_4) prennent en compte le flux des composés transférés vers la filière boue et celui réintroduit dans la filière eau par le retour en tête. Seuls les rendements R_2 sont exploités par la suite. Les rendements R_4 sont quant à eux très variables en fonction de l'âge des boues. En effet, la filière boue ne voit pas les mêmes flux que ce qui est mesuré sur la filière eau sauf dans les réseaux séparatifs.

Les concentrations obtenues sont souvent faibles et proches des limites de quantification (LOQ), notamment pour les composés pharmaceutiques. De ce fait, afin de fiabiliser les valeurs de rendement, quelques règles de calcul ont été prises en compte. Deux classes de concentrations ont été définies pour chaque composé et matrice (eaux usées brutes, eaux traitées secondaires et eaux traitées tertiaires) : un niveau haut (avec une incertitude analytique estimée au maximum à 30%) et un niveau bas (avec une incertitude analytique comprise entre 50 et 100%). Ces classes sont séparées par un seuil égal à 10 LOQ (Figure 58) (Choubert et al. 2011, annexe supplémentaire).

➤ Calcul de R_2 possible :

-Cas 1 : la concentration en entrée est supérieure au seuil ($10 \cdot LOQ$) et la concentration en sortie est comprise entre LOQ et $10 \cdot LOQ$ (niveau bas).

-Cas 2a : la concentration en entrée est supérieure à $10 \cdot LOQ$ (niveau haut) et la concentration en sortie est inférieure à LOQ (non quantifiable). Dans ce cas, la concentration en sortie est remplacée par une valeur de $LOQ/2$.

-Cas 2b : la concentration en entrée est comprise entre LOQ et $10 \cdot LOQ$ (niveau bas) et la concentration en sortie est inférieure à LOQ (non quantifiable). Dans ce cas, la concentration en sortie est remplacée par une valeur de $LOQ/2$.

➤ Calcul de R_2 impossible :

-Cas 3 : les concentrations en entrée et en sortie sont toutes deux comprises entre LOQ et $10 \cdot LOQ$ (niveau bas). Dans ce niveau, les incertitudes analytiques sont comprises entre 50 et 100%. De ce fait il est difficile d'interpréter les différences entre les concentrations en entrée et en sortie.

-Cas 4 : la concentration en entrée est inférieure à la LOQ (non quantifiable).

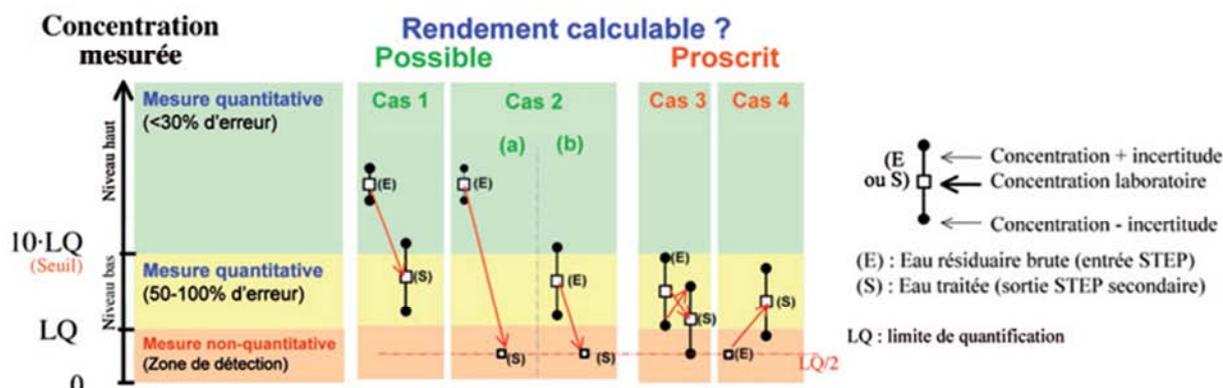


Figure 58 : Illustration des règles de calcul des rendements R_2 (Choubert et al. 2011)

Les rendements R_2 restent cependant très variables en fonction des incertitudes liées à l'échantillonnage et à l'analyse, les différences de conditions opératoires dans les STEP ainsi que par la variabilité des concentrations mesurées dans les eaux usées brutes. De ce fait, il a été préféré d'utiliser des gammes de rendement plutôt qu'une seule valeur pour tous les résultats. Trois gammes ont été utilisées : rendements inférieurs à 30%, rendements compris entre 30 et 70% et les rendements supérieurs à 70%.

*Chapitre 3 : Présence et devenir des
alkylphénols, leurs dérivés et des
composés pharmaceutiques dans les
stations d'épuration*

Publication 1 : Présence et devenir des
micropolluants organiques dans les
stations d'épurations françaises-
Partie 1 : les alkylphénols et leurs
dérivés

Présence et devenir des micropolluants organiques dans les stations d'épurations françaises-

Partie I : les alkylphénols et leurs dérivés

C. Soulier⁽¹⁾, J.M. Choubert⁽²⁾, S. Lardy⁽¹⁾, S. Augagneur⁽¹⁾, P. Pardon⁽¹⁾, M.H. Devier⁽¹⁾, S. Martin-Ruel⁽³⁾, M. Coquery⁽²⁾, H. Budzinski⁽¹⁾

⁽¹⁾ Université Bordeaux 1, EPOC-LPTC, UMR CNRS 5805, 351 Cours de la Libération, 33405 Talence Cedex (France)

⁽²⁾ IRSTEA, UR MALY, 5 rue de la Doua, CS 70077, 69626 VILLEURBANNE Cedex (France)

⁽³⁾ Cirsee, Suez Environnement, 38 rue du Président Wilson, 78230 Le Pecq (France)

Contact:

Hélène Budzinski: Tel.: 33 5 56 84 69 98; Fax: 33 5 56 84 69 98.

e-mail: h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

Résumé

Au cours du projet AMPERES, les eaux usées brutes, traitées et les boues issues de 21 stations d'épurations (STEP) ont été analysées afin d'étudier la présence et le devenir des alkylphénol polyéthoxylés (APEO) et des alkylphénols (AP). Ces composés sont d'origine anthropique, ils sont majoritairement utilisés dans les formulations commerciales. Les AP sont des métabolites de dégradation des APEO. Le nonylphénol (4-NP, mélange technique) fait partie de la liste des substances prioritaires dangereuses dont les rejets doivent être éliminés et ceux de l'octylphénol (4-t-OP), classée comme substances prioritaires, doivent être réduits selon la directive Cadre Eau (2000/60/CE). Les AP et APEO sont des composés ubiquistes dans l'environnement. Ils sont retrouvés dans les systèmes aquatiques à des concentrations allant de quelques ng.L⁻¹ à plusieurs µg.L⁻¹. Leur présence dans les eaux de surface est principalement due aux rejets des stations d'épuration qui contiennent ces composés en quantité importante. La biodégradation des APEO amène à la formation des AP, métabolites persistants dans l'environnement, formés en plus grande quantité en milieu anaérobie. La dégradation en milieu aérobie entraîne majoritairement la formation des acides alkylphénoxy-polyéthoxy acétiques (APEC). Ces composés doivent être étudiés dans un ensemble et non composé par composé.

Les objectifs de ce travail étaient d'une part le développement d'une méthode d'analyse fiable et robuste applicable aux matrices complexes issues des stations d'épuration tant dans les phases dissoute que solide et d'autre part la possibilité d'inventorier les rejets de ces composés dans les systèmes aquatiques en fonction des traitements appliqués en amont. Ces

études ont portées autant sur de grandes stations d'épuration (50 000 à 950 000 équivalents habitants) que sur celles dédiées à de plus petites communautés.

Ces travaux ont montré que les AP et APEO sont quantifiés dans la majorité des échantillons tant dans la phase dissoute que solide de par leur partition entre les deux phases dissoutes et particulaires. En moyenne 50% des APEO étudiés sont contenus dans les matières en suspension (MES). De ce fait ces composés sont transférés dans les boues. Les traitements primaires permettent un abattement considérable de MES et donc un abaissement des concentrations d'un facteur 2. Les traitements secondaires à cultures libres ou fixées entraînent un abattement de 80% des concentrations des AP et APEO, sauf pour le NP1EC dont la concentration en sortie de traitement est supérieure à celle d'entrée. L'utilisation de traitements tertiaires, comme l'ozonation, l'osmose inverse ou encore la filtration sur charbon actif, permet d'éliminer une grande partie des AP et APEO présents dans les eaux traitées secondaires même le NP1EC qui est formé lors des traitements secondaires.

Occurrence and fate of organic micropollutants in french wastewater treatment plants- Part I: Alkylphenols and their derivatives

C. Soulier⁽¹⁾, J.M. Choubert⁽²⁾, S. Lardy⁽¹⁾, S. Augagneur⁽¹⁾, P. Pardon⁽¹⁾, M.H. Devier⁽¹⁾, S. Martin-Ruel⁽³⁾, M. Coquery⁽²⁾, H. Budzinski⁽¹⁾

⁽¹⁾ Univ. Bordeaux, EPOC-LPTC, UMR 5805, F-33400 Talence (France)

CNRS, EPOC, UMR 5805, F-33400 Talence (France)

⁽²⁾ IRSTEA, UR MALY, 5 rue de la Doua, CS 70077, 69626 VILLEURBANNE Cedex (France)

⁽³⁾ Cirsee, Suez Environnement, 38 rue du Président Wilson, 78230 Le Pecq (France)

Corresponding author:

Hélène Budzinski: Tel.: 33 5 56 84 69 98; Fax: 33 5 56 84 69 98.

e-mail address: h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

Abstract

Within the framework of the AMPERES project, studies were conducted on twenty one wastewater treatment plants (WWTPs) located in France. The research work aimed at measuring the composition of raw and treated wastewaters regarding alkylphenols (APs) alkylphenol polyethoxylates (APEOs) and nonylphenoxyacetic acid (NP1EC), to determine the partitioning between dissolved and particulate phases and to estimate their elimination and adsorption in sludge. Various types of treatment (primary, secondary and tertiary) were investigated in order to link the fate of APs, APEOs and NP1EC to the elimination of conventional macropollutants like carbon, suspended particle matter or nitrogen.

Powerful methodologies using solid phase extraction and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry have been developed for the analysis of APs, APEOs and NP1EC in complex matrices (in aqueous and particulate phases, as well as in sludge). Analytical developments permitted to detect these compounds at very low concentrations (ng.L^{-1}) eliminating efficiently matrix effects.

All APs, APEOs and NP1EC were quantified with concentrations in the range of hundreds of ng.L^{-1} up to $\mu\text{g.L}^{-1}$ in raw wastewaters. These compounds were shown generally to be efficiently removed in WWTPs by secondary treatments. Attached and suspended growth biomass processes have an equivalent efficiency towards their elimination. Nevertheless we have demonstrated that nonylphenoxyethoxyacetic acid (NP1EC) was quantified at higher concentrations in effluents than in raw wastewaters. Only advanced tertiary treatments, like ozonation, reverse osmosis or activated carbon filtration, allow lowering concentrations of APs and APEOs including NP1EC. The presence of APs, APEOs and NP1EC in sludges is mainly due to the transfer by adsorption on suspended solid matter.

I. Introduction

The European Union (EU) adopted Water Framework Directive (WFD, 2000/60/EC) in October 2000 which aims to improve and protect the quality of the aquatic environment.

Member states of the EU must gradually reduce the discharge of substances classified as "priority" and phase out substances classified as "priority hazardous". The objective is to achieve good environmental status of water by 2015. For this, a list of 33 priority substances was first set-up (metals, pesticides, hydrocarbons, alkylphenols), and one with 8 substances from list I of directive 76/464/EEC. And recently a second list of 15 substances was added. 4-nonylphenol (4-NP) is a technical mixture (complex mixture of highly branched nonylphenols, largely mono-substituted in the *para*-position, but with small amounts of *ortho*- and di-substituted nonylphenols) designated by CAS number 84852-15-3 and involving more than 100 substitution isomers (EPA, 2010, Dupuis et al., 2012, Rabouan et al., 2012). It is a dangerous priority substance that must be eliminated according to the WFD. And 4-tert-octylphenol (4-t-OP) designated by CAS number 140-66-9 is a priority substance that must be reduced.

Alkylphenol polyethoxylates (APEOs) are compounds of anthropogenic origin and belong to the class of non-ionic surfactants (Arukwe et al., 2000, EPA, 2010) the most commonly used in commercial formulations. They are combined with other products to a very wide range of applications in different industrial sectors because they have dispersing, emulsifying and wetting properties. The most widely used are 4-NP and 4-t-OP (Dupuis et al., 2012). In commercial mixtures, 80 % of APs are 4-NP, as a mixture of isomers (technical NP); 20 % are octylphenols (OPs) that refers to the 4-tert-OP because only this isomer is used in industry (INERIS, 2005).

In 1984, it was discovered that the degradation products derived from APEOs are more toxic than the precursor compounds (Renner, 1997), thus their use have been restricted in Europe (Renner, 1997). Nevertheless APs and APEOs compounds are ubiquitous in environment and are present in aquatic systems at concentrations ranging from a few ng.L^{-1} to several $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Ahel et al. 1994a, Ferguson et al., 2001, Cespedes et al., 2008, Loos et al., 2009). High concentrations are reported in effluents of waste water treatment plants (WWTPs) (Ahel et al. 1994a, Clara et al., 2005, Cespedes et al., 2008, Soares et al., 2008, Janex-Habibi et al., 2009) because their removal is partial due to a complex biodegradation cycle (Ahel et al. 1994b). The biodegradation of APEOs results in the formation of persistent metabolites; the initial molecule is oxidized and altered to loose its properties of surfactants. Under aerobic conditions, there is formation of alkylphenoxy-polyethoxy acetic acids (APECs) loosing successively ethoxylated groups. Under anaerobic conditions, APEOs loose two ethoxylated groups. In general, the complete biodegradation of APEOs leads to the formation of alkylphenols (4-NP and / or 4-t-OP), persistent in the environment. Thus APs, APEOs and APECs cannot be considered substance by substance (Clara et al. 2005).

The research work was carried out in the framework of the AMPERES project (<https://projetamperes.cemagref.fr/>) that aimed to evaluate the removal efficiency of the different treatment processes (primary, secondary) in French WWTPs, and to identify promising tertiary treatments capable to eliminate micropollutants. This series of two articles is a part of this project. In this first paper we are focused on 4-NP (technical mixture), NP1EO, NP2EO due to their persistence into the aquatic environment and their moderately bioaccumulative character and their extremely toxicity to aquatic organisms (EPA, 2010); NP1EC due to its formation during aerobic processes of APEOs biodegradation and during secondary treatment in WWTPs (Clara et al., 2005); and the 4-t-OP due to its toxicity (Servos, 1999) since its predicted no effect concentrations (PNEC) are lower than 4-NP (technical

mixture). The objectives of this work were: 1) to develop a robust and reliable methodology applicable to the monitoring of WWTP influents and effluents independently from the type of matrices for APs, APEOs, NP1EC, and BPA; 2) to make an inventory of the emission of these compounds depending on the type of treatment processes; 3) to study the partitioning between dissolved and particulate phases in raw and treated wastewaters and 4) to evaluate the adsorption of APs, APEOs and NP1EC in sludges during treatment processes. The novelty of the work is that it provides a comprehensive inventory of the release of APs and APEOs into the aquatic systems dealing with the dissolved but also particulate phases and assesses their transformation occurring in treatment plants, including the formation of by-product (like NP1EC). Another originalities of the work is the link between the fate of APs and APEOs and the elimination of conventional pollutants (carbon, suspended particle matter, nitrogen), the investigations onto different systems, focusing either suspended-growth or attached-growth biomass, or looking at large WWTPs as well as setups dedicated to small communities.

II. Material and methods

II.1 *Chemicals and materials*

The list, the suppliers and the physico-chemical properties of APs, APEOs and NP1EC and their internal standard are presented in table 1. 4-nonylphenol (Technical mixture), nonylphenol monoethoxylate and nonylphenol diethoxylate were purchased from Cluzeau Info Labo (Saint Foy la Grande, France); 4-tert-octylphenol from Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France); and nonylphenoxy acetic acid, p-n-nonylphenol and p-n-nonylphenol monoethoxylate from LGC standards (Molsheim, France).

Table 1: List of studied compounds

Compounds	Purity	Internal standards	Purity	Log K _{ow} (pKa)	Limits of quantification (LOQ)	
					Water (ng.L ⁻¹)	Sludge (μg.g ⁻¹ dw)
4-Nonylphenol (Technical) ^a (4-NP)	100%			5.99 ^d (10.30 ^e)	10	0.100
4-tert-octylphenol ^b (4-t-OP)	>99%	p-n-nonylphenol ^c (p-n-NP)	Solution in nonane at 100μg/ml (>98%)	5.50 ^d (10.30 ^e)	10	0.100
Nonylphenoxy acetic acid ^c (NP1EC)	>98%			5.80 ^d (3.10 ^e)	10	0.100
Nonylphenol monoethoxylate ^a (NP1EO)	99%	p-n-nonylphenol monoethoxylate ^c (p-n- NP1EO)	Solution in nonane at 100μg/ml (>95%)	5.58 ^d (-)	10	0.100
Nonylphenol diethoxylate ^a (NP2EO)	99%			5.30 ^d (-)	10	0.100

^a bought at Cluzeau Info Labo (Sainte Foy la Grande, France)

^b bought at Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France)

^c bought at LGC Standard (Molsheim, France)

^d calculated by KOWWIN

^e calculated by ACD Phys Chem suite

dw: dry weight

All solvent used were previously tested to determine the background level which is necessary for APs, APEOs and NP1EC analysis (Capdeville et al., 2011). Methanol (Gradient Grade Lichrosolv for HPLC) was purchased from VWR (Strasbourg, France); dichloromethane (for residue and pesticides analysis) from Fischer Bioblock Scientific (Illkirch, France); Hydrochloric acid 37 % (Baker analysed) from Atlantic Labo (Bruges,

France); and trifluoroacetic acid (ACS) was purchased from Acros (Noisy le grand, France). Ultrapure deionized water was obtained with a Milli-Q system (Millipore, Saint Quentin en Yvelines, France). 200 mg Bondelut® C18 and 500 mg HF Bondelut® PSA SPE cartridges were purchased from Varian (Coutabœuf, France). Whatman GFF glass filters (pore size 0.7 µm) were purchased from VWR (Strasbourg, France).

II.2 Studied processes

15 water treatment processes and 6 sludge treatment processes were chosen to carry out the sampling. They covered conventional treatment processes located in French WWTPs, achieving removal of carbon pollution only (noted C) or removing both carbon and nitrogen pollution (noted C+N):

Primary settling tank, activated sludge (C and C+N), submerged biofilter (C and C+N), membranes mainly found in urban areas; stabilization pond, reed-bed filter, rotating biological contactors mainly found in rural areas. Their sludge dewatering lines were also investigated. Most of them used a mechanical centrifugation with polymer (but some of them carried out treatment of organic matter besides dewatering using either, drying on reed-beds) or sludge treatment (composting, anaerobic digestion, liming, thermal drying, reed-beds drying).

Two types of tertiary treatments were also studied: conventional and advanced tertiary treatments. Polishing stabilization pond, high rate chemical settler, and sand filtration are conventional tertiary treatments. Ozonation, activated carbon filtration (Filtrisorb-400) and reverse osmosis were advanced tertiary treatment. Conventional tertiary processes have as a main objective to reduce SPM or phosphorus level in discharge; they may provide a last step of treatment before discharge in aquatic system or protect advanced processes when they used before them. Advanced tertiary processes lead to disinfection and further purification of wastewaters.

With all these choices, 21 WWTPs were selected to be representative of the chosen processes (Martin-Ruel et al., 2010, Choubert et al., 2011). WWTPs were divided from rural (7 WWTPs) and urban (14 WWTPs) areas. The characteristics of these 21 WWTPs are given in table 2.

II.3 Sample collection

II.3.1 Liquid phase

For each studied WWTPs, 24 h flow-proportional composite samples were collected on 2 or 3 consecutive days at the input (raw wastewater) and the output (treated wastewater) of each different process (after primary, secondary and tertiary treatment). Sludges and waters from return of sludge were also sampled. To be under standard treatment, samples were preferentially collected at dry weather conditions. In fact when it is raining the residence time of influents is shorter and can lead a discharge of influent not treated in aquatic system. To collect samples, a specific sampling procedure was used using refrigerated (4 °C) automatic samplers (Buhler 5010) implemented with Teflon pipes and glass bottles previously cleaned (Choubert et al. 2009). These samplers were rinsed with water from the site before each sampling and they were dedicated to type of samples (influent or effluent). In order to have enough material for analysis (dissolved and particulate phases were analyzed separately), a volume of 25 liters was sampled in proportion to flow at each sampling point for the analysis

of all micropollutants studied in AMPERES project. This volume was placed under mechanical agitation and then divided for each class of compounds. For APs, APEOs and NP1EC analysis 2 liters was necessary. Samples were sent to the laboratory for analysis without in-situ pretreatment. The transport was performed within 24 hours in a cool box for better conservation and to avoid potential transformations (degradation/modification of partition) of samples.

To verify that the automatic samplers did not lead contamination, field tests (blanks and recoveries) were carried out. Evian water initially contained in glass bottle, and raw wastewater, were analyzed before and after their crossing in refrigerated automatic samplers (Choubert et al. 2009). The sampling of Evian water before and after the automatic sampler aimed at assessing the contamination of samples caused by the possible input of APs, APEOs and NP1EC from material (bank test) (n=5). The sampling of raw wastewater aimed at assessing the potential loss of APs, APEOs and NP1EC by absorption on the material (recovery test) (n=3).

II.3.2 Sludges

Spot samples of sludges were made in input and output of each treatment. They were representative as possible and were proportional to the cycles of drying or treatment. Spot samples were then homogenized to get a representative sample (approximately 4 liters). This was an averaged sample in space (pasty sludge) and in time (liquid sludge).

Table 2 : Characteristics of the 21 studied WWTPs.

WWTP code	WWTP type	Design plant capacity (PE)	Flow (m ³ .d ⁻¹)	Temperature (°C)	Primary and secondary water processes (sludge processes)	Tertiary processes
CA1	Rural, combined sewer	2,900	637	9	Activated sludge (C+N) (Drying on reed-bed)	-
SE1	Urban, combined sewer	36,000	4,200	15	Activated sludge (C+N+P) (Mechanical dewatering with polymer)	-
CA2	Rural, combined sewer	13,000	910	13	Activated sludge (C+N) (Drying on reed-bed)	-
SE2	Urban, combined sewer	250,000	28,000	20	Primary settling tank + Activated sludge (C+N+P) (anaerobic digestion+mechanical dewatering + liming)	-
CA3	Urban, combined sewer	950,000	306,900	20	Primary settling tank + activated sludge (C+N)+ biofilter (N) (Mechanical dewatering with polymer)	-
SE3	Urban, separate system	50,000	6,100	23	Activated sludge (C+N+P) (Mechanical dewatering + thermal drying)	High rate chemical settler (sludge bed)
SE4	Urban, mixte	110,000	14,500	20	Activated sludge (C+N) (Mechanical dewatering with polymer)	-
SE5	Urban, combined sewer	24,000	1,500	24	Membrane bioreactor (Zenon) (Mechanical dewatering with polymer+ liming)	-
SE6	Urban, combined sewer	26,000	3,750	21	Primary settling tank + Biofilter (C+N) (Mechanical dewatering with polymer)	-
CA4	Rural, combined sewer	1,000	133	10	Rotating biological contactors + Reed-bed filter (sludge separation on vertical filter)	Polishing stabilization pond
CA5	Urban, combined sewer	80,000	8,500	11	Primary settling tank + Biofilter (C) (Mechanical dewatering with polymer)	-
CA6	Rural, combined sewer	100	17	10	Vertical and horizontal reed-bed filter with gravel (sludge separation on vertical filter)	Horizontal filter with part of apatite

Water and sludge processes studied on a same facility

Chapitre 3 : Présence et devenir dans les stations d'épuration – Publication 1

	SE9	Rural, separate system	1 000	135	20	Trickling filter + reed-bed filter (sludge separation on vertical filter)	-
	CA7	Rural, combined sewer	300	36	20	Settling tank + stabilization pond + Reed-bed filter (sludge separation on vertical filter)	-
	CA8	Rural, combined sewer	17,000	1,200	10	Moving bed bioreactor (C+N) (Mechanical dewatering with polymer)	-
Sludge processes	SE7		120,000			Only sludge (composting)	-
	SE8		300,000			Only sludge (anaerobic digestion + thermal drying)	-
Water tertiary processes	CA- PA1		50,000	10,800	11	Activated sludge (C+N)	Sand-filter + ozonation
	CA- PA2		470,000	79,800	20	Activated sludge (C+N)	High rate chemical settler + activated carbon filter
	SE-PA1		191,000	4,000	20	Activated sludge (C+N)	High rate chemical settler + sand-filter + UV oxidation
	SE-PA1 pilot		191,000	4,000	20	Activated sludge (C+N)	Silex filter + ultrafiltration + reverse osmosis
	SE-PA2		70,000	31,900	20	Activated sludge (C+N)	Sand-filter + microfiltration + reverse osmosis

PE: Population Equivalent; C: Treatment of carbon only; C+N : Treatment of carbon and nitrogen (without denitrification); C+N+P: Treatment of carbon and nitrogen (with nitrification and denitrification).

II.4 Analytical treatment

Dissolved and particulate phases were separated upon receipt, that is to say 24 hours after sampling. Samples were filtered through glass microfiber filters, GFF (0.7 μm), previously heated at 450 °C for 6 hours prior to use. The dissolved and particulate phases as well as sludges were analyzed with the following extraction protocols.

II.4.1 Extraction of APs, APEOs and NP1EC in dissolved phase

The dissolved phase was pre-concentrated on Solid-Phase Extraction (SPE) cartridges. Internal standards (p-n-NP and p-n-NP1EO) were gravimetrically added in samples before extraction. The SPE procedure was previously described (Lardy-Fontan, 2008). Briefly, 3 ml cartridge (BondElut® C18, 200 mg, Varian) were activated and conditioned first with 5 ml of methanol and then with 5 ml of Vittel® water adjusted at pH 2. Between 300 to 500 ml of samples were passed through cartridge under vacuum. After pre-concentration, the sorbent was rinsed with a mixture of Vittel® water at pH 2 and methanol (50/50; v/v). This step allows eliminating impurities presents in the sorbent. Cartridges were then dried under vacuum during about one hour and then eluted with 5 ml of a mixture of methanol and dichloromethane (50/50; v/v). The eluates were evaporated to dryness under a flow of nitrogen and reconstituted with 2 ml of a mixture of methanol and dichloromethane (80/20; v/v), and then purified by SPE on 3 ml cartridge (Bondelut® HF-PSA, 500 mg, Varian). Cartridges were activated and conditioned with 5 ml of methanol and then 5 ml of a mixture of methanol and dichloromethane (80/20; v/v). After the deposition of samples, the elution of APs, APEOs and NP1EC was achieved by 6 ml of a mixture of methanol and dichloromethane (80/20; v/v) followed by 6 ml of a mixture of methanol, dichloromethane and trifluoroacetic acid (79/19/2; v/v/v). The eluates were evaporated to dryness under a flow of nitrogen and reconstituted with 200 μl of methanol before injection.

II.4.2 Extraction of APs, APEOs and NP1EC in solid phase

Initially suspended particle matter (SPM) and sludges were freeze-dried (RP2V, CIRP, Argenteuil, France). The extraction of APs, APEOs and NP1EC on solid phase (0.1 g) was performed by Microwave-Assisted Extraction (Soxwave 100 apparatus, Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France) at atmospheric pressure with a mixture of methanol and dichloromethane (3/1; v/v) where internal standards (p-n-NP and p-n-NP1EO) were gravimetrically added. Each extract was filtered on glass cotton and then evaporated with an automatic reconcentrator (RapidVap, Bioblock, Fontenay-sous-Bois, France). The extracts were reconstituted with 60 ml of Vittel® water at pH 2 and performed the same extraction protocol described in previous section was performed.

II.4.3 LC-MS/MS analysis method

Analysis was performed by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and acquisition was achieved in Multiple Reaction Monitoring (MRM) mode with an UPLC-Quattro Premier Waters (Saint Quentin en Yvelines, France). It consists in a HPLC separation with 1.7 μm , 50 x 2.1 mm i.d. C₁₈ reversed phase column (Acquity UPLC BEH C18). The injection volume was set at 5 μl . The separation was performed at a flow rate of 0.6 ml.min⁻¹ under gradient elution conditions using Milli Q water with 0.5 mM of ammonium acetate (A) and methanol (B) for the negative ionization. For positive ionization the separation was performed at a same flow rate under gradient elution

conditions using Milli Q water with 2.5 mM of ammonium acetate (A) and methanol (B). Gradient elution was the same for negative and positive ionizations and was from 60 % A, to 10 % A in 1 min, kept isocratic for 1 min, 0 % A at 2.5 min, kept isocratic for 0.5 min, to 60 % A at 3.1 min and kept isocratic to 3.8 min.

Under negative ionization APs, APEOs and NP1EC were quantified as $[M-H]^-$, whereas under positive ionization they were quantified under the form of ammonium adducts $[M + NH_4]^+$. 4-NP, 4-t-OP and NP1EC were quantified in negative ionization and NP1EO and NP2EO in positive ionization. The tandem mass spectroscopy conditions included the use of two transitions for each compound one for the quantification (QT) and one for the identity confirmation (CT). These transitions were given in table 3.

Table 3 : Conditions of mass spectrometry analysis of Aps, APEOs and NP1EC.

Negative ionization									
Compounds	Type of transition	Transitions	Ratio Q/C	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)	Internal standards	Transition	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
NP1EC	Q	277.2> 219.2	8.3	15	20				
	C	277.2> 133	(±30%)	15	42				
4-NP	Q	219.1> 132.9	9.9	30	30	p-n-NP	219.2> 106.2	45	20
	C	219.1> 146.9	(±30%)	30	30				
4-t-OP	Q	205> 132.9	26.2	20	25				
	C	205> 116.9	(±30%)	20	55				
Positive ionization									
Compounds	Type of transition	Transitions	Ratio Q/C	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)	Internal standards	Transition	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
NP1EO	Q	282.3> 127.1	1.6	20	8				
	C	282.3> 71	(±30%)	20	13	p-n-NP1EO	282.3> 265.3	20	10
NP2EO	Q	326.3> 183.1	6.6	18	12				
	C	326.3> 121	(±30%)	18	22				

II.4.4 Assurance and quality control

Several criteria were applied to provide a robust and reliable analytical method (Capdeville et al., 2011). The first one was the use of high-purity reference compounds and methanol as solvent for standard solution (Table 1). The second one concerns the identification of compounds which was made by four identification points: the retention time, two transitions (quantification and confirmation) and the ratio between these two transitions. The third one was the injection of standard solutions to determine the precision of the method. And the fourth one was the use of internal calibration. This technique consisted of adding internal standards in known amount in the samples. These standards must be away from the samples but their structure and behavior must be similar to the compounds studied during extraction and analysis. Therefore, if the internal standards were appropriately selected, they allowed overcoming matrix effects by mimicking the behavior of the compound studied.

Standard solutions were injected about every 10 samples and at the beginning and the end of series of injection. Added to these controls, blanks of injection were injected after each sample in order to overcome the memory's effect.

Vittel® water was used for blanks of extraction which were extracted in parallel with samples and allowed highlighting possible contamination. Blank corrections were made in the data. Similarly, spiked samples were made for each extraction, water (liquid matrices) or solvent (solid matrices) were supplemented with known amounts of compounds studied. They were used as "control" over the quality of extraction, and allowed calculating the extraction efficiency.

The implementation of these criteria allowed obtaining low limits of detection (LOD).

II.5 Data treatment

Several descriptors were calculated, including the presence in the dissolved fraction (partitioning), the variabilities (inter-day, intra-WWTP) and the removal efficiencies. Calculations of these descriptors are briefly developed in the following paragraphs.

II.5.1 Partitioning (proportion in dissolved fraction)

Concentrations were measured in the dissolved (ng.L^{-1}) and particulate ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dry weight) phases. To obtain the particulate concentration in ng.L^{-1} , it is necessary to have the concentration of SPM (g.L^{-1}) which are the ratio between mass of particle and filtered volume. Total concentrations are calculated by adding those of dissolved and particulate phases. The percentage of compound in the dissolved phase (dissolved fraction) is obtained by dividing the total by the dissolved concentration.

II.5.2 Variability

Inter-day variability

The inter-day variability is calculated for each compound. This is the difference of concentrations from one day to another. The values presented in this paper are the mean of the relative standard deviation (RSD) determined for each WWTP and matrix.

Inter-WWTP variability

The inter-WWTP variability is calculated for each compound. The concentrations determined after primary, secondary (treatment of carbon only and carbon and nitrogen) and tertiary treatment (conventional and advanced treatment) were compared. This is the RSD of total concentrations measured for each WWTP.

II.5.3 Removal rates

The calculated rates are averaged over several days (2 to 3 days, depending on the sampling periods of WWTP) from the concentrations and flow means. The removal rates of water treatment processes (R2) take into account the adsorption of compounds on SPM of raw wastewater, the adsorption / transfer to sludges and biodegradation.

The concentrations obtained were often weak and close to the limits of quantification (LOQ). Therefore, in order to give reliable values of removal rate, some calculation rules have been considered:

- Two classes of concentrations were defined for each compound and matrix (raw wastewater, secondary and tertiary treated water): a high level (with an estimated analytical uncertainty put 30 %) and low level (with an analytical uncertainty between 50 and 100 %). These classes were separated by a threshold equal to 10 LOQ.

- If the concentration values of influents are higher than 10 LOQ and those of effluents range from LOQ to 10 LOQ, it is possible to calculate R2
- If the concentration values of influents are higher than 10 LOQ and those of effluents are lower than LOQ, it is possible to calculate R2 but the concentration values of effluents are replaced by LOQ/2.
- If the concentration values of influents range from LOQ to 10 LOQ and those of effluents are lower than LOQ, it is possible to calculate R2 but the concentration values of effluents are replaced by LOQ/2.
- If the concentration values of influent and effluent of WWTPs together are below the LOQ, the calculation of the removal rate is not possible.
- If the concentration values of influent and effluent together range from LOQ to 10 LOQ, the calculation of removal rate is not possible. In this low level the analytical uncertainty range from 50 to 100 % and the differences between concentration values of influent and effluent are difficult to interpret.

The origins of large uncertainty for R2 are numerous:

- Variability associated with sampling and analysis,
- Variability associated with differences in operating conditions in the WWTPs,
- Variability of measured concentrations in raw wastewater.

Thus, it was preferred to use ranges of removal rates rather than a single value. Three ranges of removal rates were defined used: less than 30 % (poorly removed), between 30 and 70 % and above 70 % (correctly removed).

III. Results and discussion

III.1 Method performance

III.1.1 Blanks and recoveries of APs, APEOs and NP1EC for extraction in solid and dissolved phases

Some traces of 4-NP are detected in blanks of extraction (mean 40 ng) but this quantity representing less than 10 % of the sample content. This contamination may be caused by the working environment, technician or the equipment (Capdeville et al., 2011) due to the use of 4-NP in several application (detergent, painting, plastics, etc).

High recoveries and good reproducibilities were obtained for APs, APEOs and NP1EC extraction from dissolved and solid phases (Table 4). They ranged between 76±31% for 4-t-OP and 116±10 % for NP1EO for dissolved phase (n=20). Those obtained for the extraction the same compounds in solid phase ranged between 93±21 % for 4-t-OP and 102±10 % for NP2EO (n=7).

Table 4 : Recoveries (%) for APs, APEOs and NP1EC extraction from dissolved and solid phases.

Compounds	Dissolved phase ¹ (n=20)				Solid phase (SPM and sludge) (n=7)			
	Mean (%)	RSD (%)	Min (%)	Max (%)	Mean (%)	RSD (%)	Min (%)	Max (%)
4-NP	93	22	58	128	99	20	67	117
4-t-OP	76	31	47	130	93	21	76	114
NP1EC	105	24	45	135	101	23	78	135
NP1EO	116	10	92	132	100	19	77	128
NP2EO	115	13	80	153	102	10	91	120

1: obtained after filtration onto GFF filter (0.7 µm)

III.1.2 Repeatability and reproducibility

The quantification's rates of standard solution obtained ranged between $91\pm 11\%$ for NP1EO and $100\%\pm 10\%$ for NP1EC ($n=28$) (Figure 1). This injection allows checking the precision of the quantification method. The reproducibility, calculated on 20 spiked samples, is below 30 %. And limits of quantification in dissolved and particulate phases are low and are given in table 1. They are 10 ng.L^{-1} in dissolved phase for all compounds and $0.1\ \mu\text{g.g}^{-1}$ dw in solid phase.

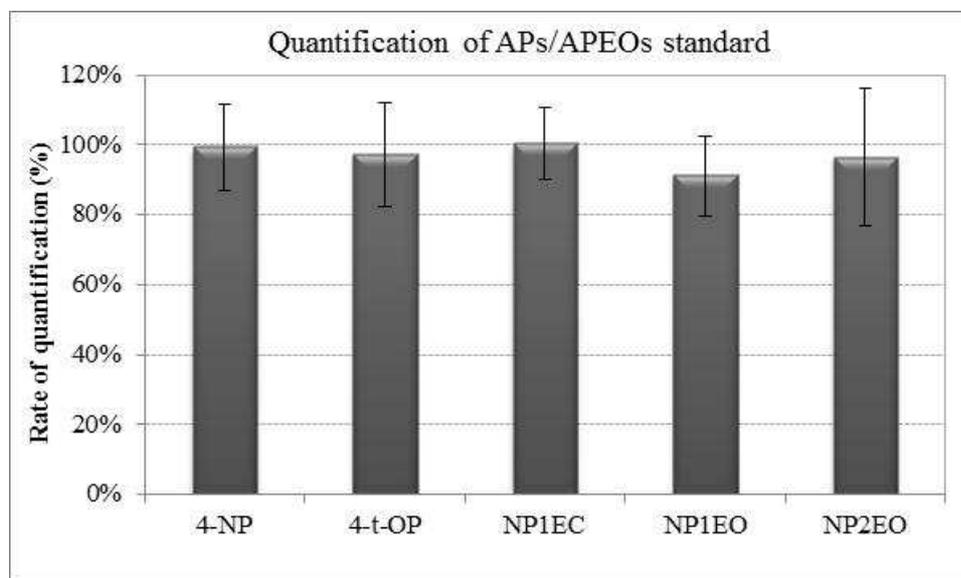


Figure 1 : Quantification of APs, APEOs and NP1EC for standard solution ($n=28$).

III.2 Field tests: blanks and recoveries

Blank tests carried out on five campaigns (Figure 2a). Concentration ratios of NP1EO between before and after the crossing of the automatic sampler are lower than 1 for all campaigns as NP2EO which is only detected in the first campaign (CA-B1). Concerning 4-NP there is a tendency to have a concentration ratios lower than 1. But for 2 campaigns (CA-B1 and SE-B2) this ratio is higher than 1 due to a concentration at output of sampler higher than these at input. Differences between these concentrations were very low (20 ng.L^{-1}) and close to LOQ and taking into account analytical uncertainties we can consider that the ratio was equal to 1. Thus, there is an input of these compounds (4-NP, NP1EO and NP2EO) from the material with which the sample was previously in contact, leading to a slight contamination in the order of few ng.L^{-1} . This input is certainly linked with the certain notion and the sampling material by previous samples showing the importance to have dedicated sampler to influents and dedicated sampler to effluents.

Recovery tests carry out on three campaigns (CA-B1, SE-B1 and SE-B3). Concentration ratios were higher than 1 for all compounds (Figure 2b). 4-NP and 4-t-OP are the most absorbed compounds in material compared to NP1EO, NP2EO and NP1EC. But only few ng.L^{-1} are absorbed.

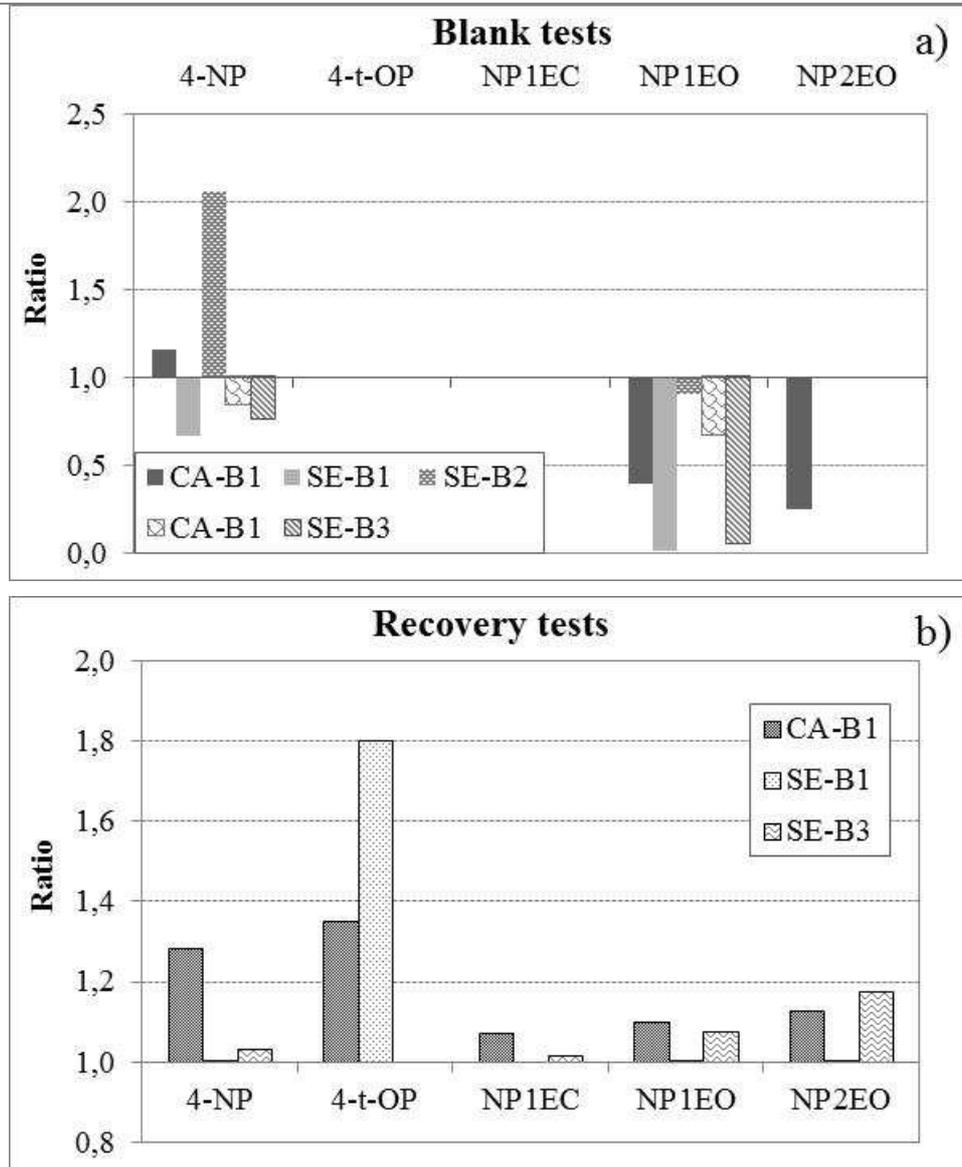


Figure 2 : Concentration ratios of APs, APEOs and NP1EC at input and output of automatic sampler: a) blank tests and b) recovery tests

III.3 APs, APEOs and NP1EC in water: occurrence, variability, partitioning,

III.3.1 Partition of APs, APEOs and NP1EC between dissolved and solid phases of liquid samples

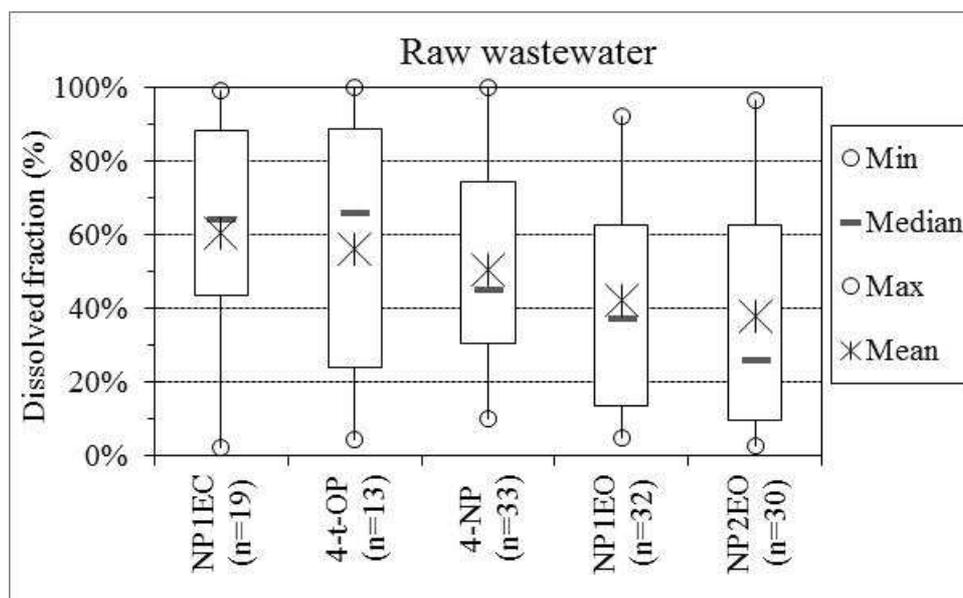
It is important to study the partition between dissolved and particulate phases in raw wastewaters because it allows anticipating the occurrence of the compounds in treated waters and sludges (Janex-Habibi et al., 2009), and also to determine which treatment type should be set-up.

In raw wastewaters NP1EC, 4-t-OP, 4-NP, NP1EO and NP2EO were quantified between 38 and 60 % in the dissolved phase (Figure 3). These results are correlated with the log K_{OW} values that are between 3.99 and 5.99. There was an important variability in the partition because of the nature of raw wastewater (due to the quantity or characteristic of SPM); and sometimes the low concentrations in particulate phase lead to increase of analytical uncertainty. NP1EO and NP2EO are the most compounds quantified in particulate phase (60 %) and the lower is NP1EC (40 %). These results are in agreement with the literature in raw wastewaters but the variability was high. According to Janex-Habibi et al.

(2009) and Cespedes et al. (2008), the highest fraction of 4-NP, 4-t-OP, NP1EO and NP2EO is mainly the particulate phase of raw wastewaters (60 to 100 %). Nevertheless no information is found in literature on the partition of NP1EC; in WWTP, only one publication (Cailleaud et al., 2007) deals with the partition of NP1EC in the Seine estuary water column and is in agreement with what we formed in this study.

In the secondary treated wastewaters NP1EC was mainly quantified in the dissolved phase (>80 %). The 4-NP, 4-t-OP, NP1EO and NP2EO were quantified in the dissolved phase at proportions higher than 60 %, that confirm the results of Isobe et al. (2001) who demonstrates that only 30 % of 4-NP and 10 % of 4-t-OP are in particulate phase in the secondary treated wastewaters. These observations suggest that the removal of APs and APEOs during secondary treatment was mainly due to the removal of SPM. The variability of partitioning is very important for secondary effluents. This is due to lower concentrations so higher analytical uncertainties, and differences in secondary treatment types: removal of carbon only, and removal of carbon and nitrogen.

Tertiary treatments allow eliminating almost all of SPM. Thus it should have been take several tens of liters of water to obtain few grams of SPM after filtration. Moreover particulate concentrations will be low and close to LOQ leading analytical uncertainty. Therefore particulate phase is not studied.



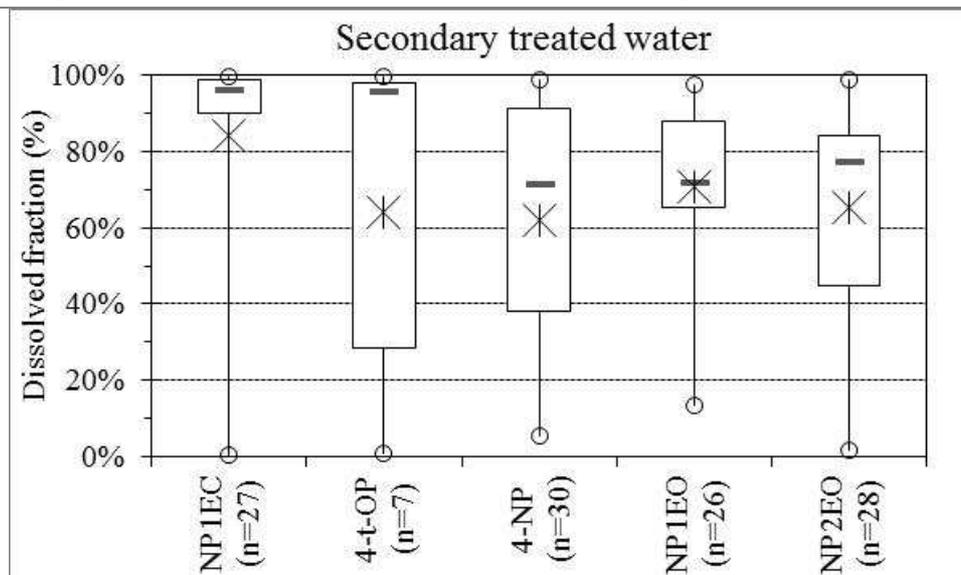


Figure 3 : Partition of APs, APEOs and NP1EC between dissolved and particulate phases in raw wastewaters and secondary treated waters.

III.3.2 Occurrence in influents and effluents

In order to overcome the variability of influents and the composition of different samples only the average total concentrations are considered as well as for raw as for treated wastewater and for each WWTP. The total concentrations are given as the sum of dissolved and particulate concentrations.

Table 5 presents the total concentrations in ng.L^{-1} of APs, APEOs and NP1EC measured in raw, primary, secondary and tertiary treated wastewaters. At the input of WWTPs concentrations range between 2,065 and 9,675 ng.L^{-1} and reach few ng.L^{-1} after secondary and tertiary treatments. These concentrations are in agreement with those already published (Clara et al., 2005, Cespedes et al., 2008, Janex-Habibi et al., 2009). The following paragraphs describe the composition of the various raw wastewaters and the efficiency of the different applied treatments.

Occurrence in raw wastewaters

All studied APs, APEOs and NP1EC were quantified in raw wastewaters (33 samples) with very good occurrence; the 4-NP and NP1EO were quantified in 97 % of the samples, the NP2EO in 94 %, the NP1EC in 91 % and the 4-t-OP in 79 % (Table 5). The average total concentrations were between 2,065 (NP1EC) and 9,675 ng.L^{-1} (4-NP) and were 4,141, 6,092, 2,453 ng.L^{-1} for 4-t-OP, NP1EO and NP2EO respectively. APEOs are manufactured and used in large quantities for many applications in households, institutions and industries (Ahel et al. 1994b). As shown in figure 4, the both types of raw (rural, urban) wastewaters have approximately the same profile but urban WWTP concentrations are higher than those of rural WWTPs. Furthermore concentrations of 4-NP are higher than those of NP1EO, NP2EO and NP1EC. Indeed 4-NP is the most sold of the APs representing approximately 85 % of the total APs (Corvini et al. 2006). And thus one of the main sources for the production of APs, 4-NP and 4-t-OP, is the biodegradation of APEOs. Therefore it is normal to quantified APs at higher total concentrations than APEOs. And by their uses (industrial and domestic applications) APs concentrations are more important in urban WWTPs by a factor 2 or 3.

Table 5 : Total concentrations (ng.L⁻¹) of APs, APEOs and NP1EC in raw and treated wastewaters.

Concentrations in raw wastewater							
Compounds	Mean (ng.L ⁻¹)	RSD (%)	Min (ng.L ⁻¹)	Max (ng.L ⁻¹)	Median (ng.L ⁻¹)	n	n>LOQ (%)
4-NP	9,675	108	523	39,295	5,913	32	97
NP1EO	6,092	191	258	61,930	2,605	32	97
NP2EO	2,453	97	163	8,845	1,599	31	94
NP1EC	2,065	157	74	13,656	784	30	91
4-t-OP	4,141	171	5	27,426	404	26	79
Concentrations in secondary treated wastewater (treatment of carbon only; CA5 and CA3 without biofilter)							
Compounds	Mean (ng.L ⁻¹)	RSD (%)	Min (ng.L ⁻¹)	Max (ng.L ⁻¹)	Median (ng.L ⁻¹)	n	n>LOQ (%)
4-NP	1,211	38	775	1,936	1,229	5	100
NP1EO	1,036	20	780	1,282	1,094	5	100
NP2EO	659	97	249	1,793	370	5	100
NP1EC	978	80	302	2,223	991	5	100
4-t-OP	903	62	419	1,828	859	5	100
Concentrations in secondary treated wastewater (treatment of carbon and nitrogen;CA1, CA2, SE1, SE2, SE3, SE4, CA3 with biofilter, SE6, CA6, SE5)							
Compounds	Mean (ng.L ⁻¹)	RSD (%)	Min (ng.L ⁻¹)	Max (ng.L ⁻¹)	Median (ng.L ⁻¹)	n	n>LOQ (%)
4-NP	845	144	109	4,363	313	24	100
NP1EO	335	116	45	1,462	181	24	100
NP2EO	248	102	39	898	120	24	100
NP1EC	1,633	97	163	5,359	798	24	100
4-t-OP	175	119	8	792	110	18	75
Concentrations in conventional tertiary treated wastewater (CA4, SE3, SEPA1, CAPA2)							
Compounds	Mean (ng.L ⁻¹)	RSD (%)	Min (ng.L ⁻¹)	Max (ng.L ⁻¹)	Median (ng.L ⁻¹)	n	n>LOQ (%)
4-NP	497	61	75	844	498	8	100
NP1EO	398	143	30	1,462	122	8	100
NP2EO	265	126	8	898	135	8	100
NP1EC	5,529	216	607	34,962	1,089	8	100
4-t-OP	65	68	10	134	68	6	75
Concentrations in advanced tertiary treated wastewater (CAPA1, CAPA2, SEPA1-pilot, SEPA2)							
Compounds	Mean (ng.L ⁻¹)	RSD (%)	Min (ng.L ⁻¹)	Max (ng.L ⁻¹)	Median (ng.L ⁻¹)	n	n>LOQ (%)
4-NP	179	83	36	400	149	6	86
NP1EO	17	104	0	50	9	7	100
NP2EO	41	123	0	146	16	7	100
NP1EC	407	103	2	956	201	7	100
4-t-OP	28	86	5	67	27	5	71

RSD: Relative Standard Deviation

n: number of analysed samples

n> LOQ: proportion of quantified data

The dissolved concentrations in raw wastewaters were 4,493, 1,996, 690, 1,675 and 2,407 ng.L⁻¹ for 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC and 4-t-OP respectively. The importance of quantifying the particulate phase is well illustrated by those results because the dissolved concentrations were lower than particulate ones except for 4-t-OP and NP1EC. Concentrations given in some studies are underestimated when particulate concentrations are not taken into account.

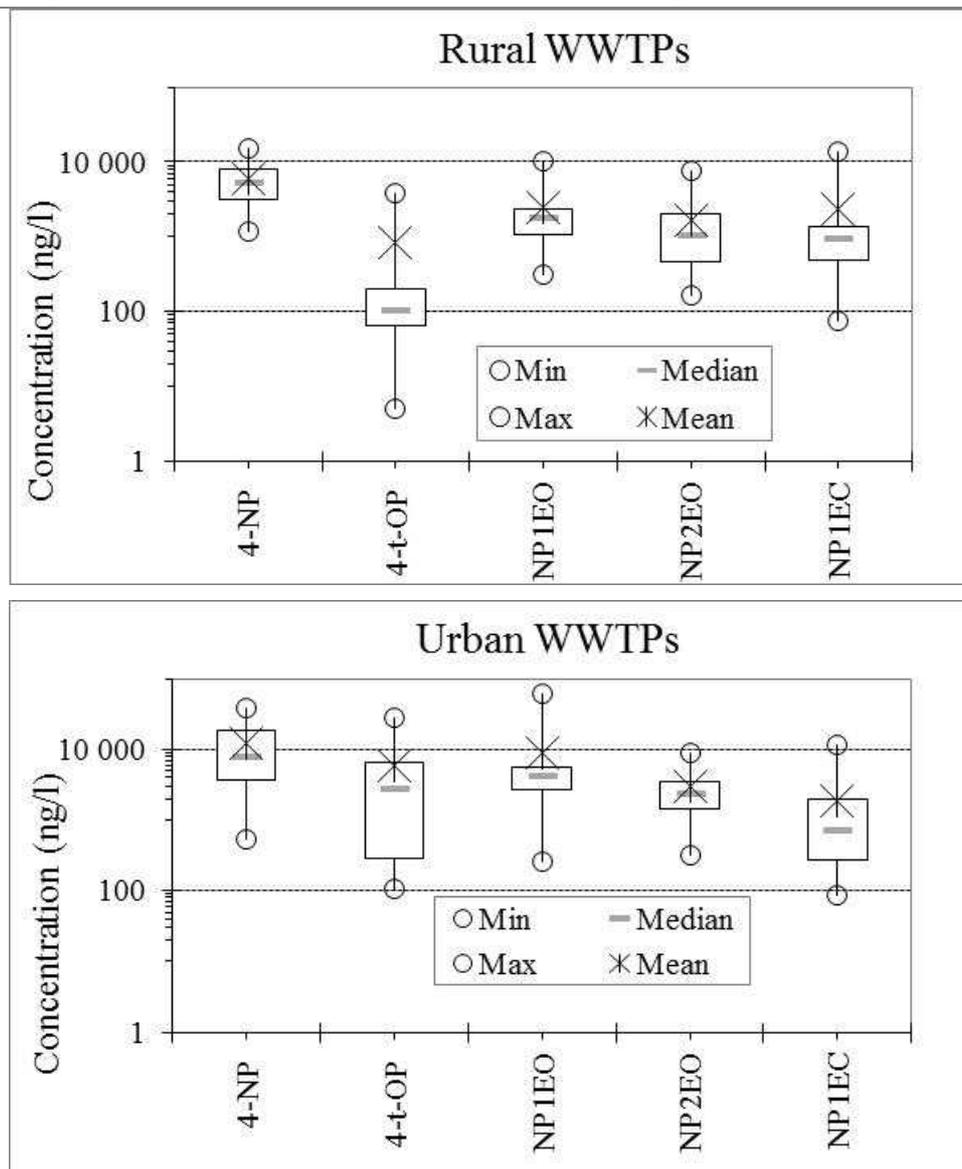


Figure 4 : Total concentrations (ng.L^{-1}) of APs, APEOs and NP1EC in raw wastewaters of rural ($n=14$ samples) and urban ($n=18$ samples) areas.

Occurrence in primary treated wastewaters

All studied APs, APEOs and NP1EC were quantified in primary treated wastewaters (6 samples); the 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC and 4-t-OP were quantified in 100 % of the samples. The average concentrations were between 3,193 and 7,388 ng.L^{-1} (Table 5). The occurrence of these compounds was better than in raw wastewater. This can be explained by a better analytical performance due to less complex matrices than in influents and thus due to the biodegradation of APEOs with more 3 ethoxylated groups which leads to the formation of NP2EO, NP1EO and 4-NP. It should be noted that only 6 samples are concerned by primary treatments and concentrations cannot be compared with those of raw wastewater (33 samples). Moreover concentrations of 4-NP, NP1EO, NP2EO and 4-t-OP had decreased after primary treatment, and concentration of NP1EC had lightly increased due to the biodegradation of APEOs. Under aerobic conditions APECs were formed. The main objectives of primary treatment are to remove coarse waste, sand, oil and SPM thus the discharge of SPM leads to decrease concentration of 4-NP, 4-t-OP, NP1EO and NP2EO due to their partitioning.

Among the three effluents from primary settling tank treatment type that were sampled (SE2, SE6 and CA5), SE2 had a primary settling tank without physico-chemical treatment whereas SE6 and CA5 had an addition of iron chloride. The addition of iron aimed at precipitating coagulate fraction of organic matter, decreasing the amount of released suspended solids.

Occurrence in secondary treated wastewaters

All studied APs, APEOs and NP1EC were quantified in secondary treated wastewaters (29 samples), the 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC were quantified in 100 % of samples and 4-t-OP in 73 %. This good occurrence is due to better analytical performance and biodegradation of APEOs with more 3 ethoxylated groups like primary treated wastewaters. The average concentrations were between 175 and 1,633 ng.L⁻¹ (Table 5).

Table 6 : Total concentrations (ng.L⁻¹) of APs, APEOs and NP1EC in secondary treated wastewaters.

Treatment of Carbon only (CA3)							
Compounds	Mean (ng.L ⁻¹)	RSD (%)	Min (ng.L ⁻¹)	Max (ng.L ⁻¹)	Median (ng.L ⁻¹)	n	n>LOQ (%)
4-NP	1,479	26	1,229	1,936	1,271	3	100
NP1EO	912	17	780	1,094	862	3	100
NP2EO	327	20	249	370	362	3	100
NP1EC	1,428	48	991	2,223	1,069	3	100
4-t-OP	1,191	46	859	1,828	887	3	100
Treatment of Carbon only with low amount of SPM (CA5)							
Compounds	Mean (ng.L ⁻¹)	RSD (%)	Min (ng.L ⁻¹)	Max (ng.L ⁻¹)	Median (ng.L ⁻¹)	n	n>LOQ (%)
4-NP	810	0	775	844	810	2	100
NP1EO	1,221	0	1,161	1,282	1,221	2	100
NP2EO	1,157	0	521	1,793	1,157	2	100
NP1EC	304	0	302	306	304	2	100
4-t-OP	471	0	419	523	471	2	100
Treatment of Carbon + Nitrogen with high residence time (CA1, CA2, SE1, SE2, SE3, SE4)							
Compounds	Mean (ng.L ⁻¹)	RSD (%)	Min (ng.L ⁻¹)	Max (ng.L ⁻¹)	Median (ng.L ⁻¹)	n	n>LOQ (%)
4-NP	1,220	120	118	4,363	541	15	100
NP1EO	442	118	56	2,002	189	15	100
NP2EO	895	282	69	9,991	123	15	100
NP1EC	2,254	75	299	5,359	2,069	15	100
4-t-OP	210	121	18	792	55	11	73
Treatment of Carbon + Nitrogen with short residence time (CA3, SE6, CA6)							
Compounds	Mean (ng.L ⁻¹)	RSD (%)	Min (ng.L ⁻¹)	Max (ng.L ⁻¹)	Median (ng.L ⁻¹)	n	n>LOQ (%)
4-NP	391	43	250	672	273	7	100
NP1EO	189	50	67	277	239	7	100
NP2EO	193	90	68	572	149	7	100
NP1EC	696	60	163	1,442	730	7	100
4-t-OP	104	94	8	257	86	7	100
Treatment of Carbon + Nitrogen with low amount of SPM (SE5)							
Compounds	Mean (ng.L ⁻¹)	RSD (%)	Min (ng.L ⁻¹)	Max (ng.L ⁻¹)	Median (ng.L ⁻¹)	n	n>LOQ (%)
4-NP	135	27	109	161	135	2	100
NP1EO	48	9	45	51	48	2	100
NP2EO	42	10	39	45	42	2	100
NP1EC	195	8	182	207	195	2	100
4-t-OP	0	0	0	0	0	0	0

RSD: Relative Standard Deviation

n: number of analysed samples

n> LOQ: proportion of quantified data

Several secondary treatments were studied with different parameters: treatment of carbon only, treatment of carbon and nitrogen, low amount of SPM and high or short residence time. It is interesting to compare the concentration obtained after each type of treatment in order to point out the best parameter for the elimination of APs, APEOs and particularly for NP1EC which have a tendency to be formed during some treatments.

As shown in table 6 the concentrations after secondary processes with the treatment of carbon and nitrogen were lower than those that achieved a removal of carbon only. Moreover the residence time had a significant effect on the elimination of APs and APEOs; the more it was long the more biodegradation phenomena occurred. In the treatment in which there were lower amounts of SPM, the concentrations of APs, APEOs and NP1EC were lower because as shown in the previous section about the half of total concentrations was associated to particles. Thus if there is less of SPM, total concentrations of APs, APEOs and NP1EC were lower.

Occurrence in tertiary treated wastewaters

All studied APs, APEOs and NP1EC were quantified in tertiary treated wastewater (Table 5). After conventional tertiary treatment processes (14 samples) all compounds were quantified in 100 % of samples except 4-t-OP (75 % of samples). Concentrations of 4-NP, NP1EO and NP2EO were lower than after secondary treatment processes and ranged between 265 and 497 ng.L⁻¹. The average concentration of NP1EC was 5,529 ng.L⁻¹ and was higher than this after secondary treatment. This compound was formed during these treatment processes. 4-t-OP was less detected because these applied treatments allow a good elimination of this compound. After advanced tertiary treatment processes (7 samples), NP1EO, NP2EO and NP1EC were quantified in 100 % of samples, 4-NP in 86 % and 4-t-OP in 71 %. All average concentrations of these compounds are lower than after conventional tertiary treatment processes and ranged between 17 (NP1EO) and 407 ng.L⁻¹ (NP1EC). This type of tertiary treatment allowed lowering concentrations of these compounds.

III.3.3 Variability of concentrations

Inter-day variability

The inter-day variability of APs, APEOs and NP1EC was studied for each WWTP in raw, secondary and tertiary treated wastewaters. Calculations which were drawn from concentrations measured on the 2 or 3 samples for a same WWTP (this according to the duration of campaign) are presented in table 7.

In raw wastewater the average inter-day variability was 37, 49, 102, 81 and 83 % for 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC and 4-t-OP respectively and the RSD was higher than 50 % (Table 7). The most important variability was observed for NP2EO, the lowest one for 4-NP. The variability is important due to several factors:

- The inputs of APs, APEOs and NP1EC in WWTPs can be variable (Cespedes et al., 2008). As previously shown by Ahel and Giger (1994b), the total influent load of APs, APEOs and NP1EC was more important during workdays and the maximum concentration was observed in the late afternoon followed by a minimal load at night. Moreover, the input

of urban WWTPs is higher than rural ones (see figure 4). This difference of concentrations leads to an important variability of inputs.

- Phenomena of degradation can occur in sanitary wastewater collection network. In fact the compounds can be biodegraded by present micro-organisms. This hypothesis can be checked because the variability of metabolites (NP1EO, NP2EO and NP1EC) is the highest due to the biodegradation of APEOs with long chain ethoxylated.

- Raw wastewaters are complex matrices and in some cases there might be an extinction of the signal and thus an underestimation of concentrations. This phenomenon can lightly increase the variability.

In secondary treated wastewaters, the average inter-day variability was lower than for raw wastewaters. It was 37, 39, 49, 32 and 49 % for 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC and 4-t-OP respectively and the RSD was higher than 50 % but lower than those in raw wastewater (Table 7). This variability was due of course to the variability of inputs but also to the applied secondary treatment themselves. It was also due to the biodegradation of APEOs that could be different from one day to another day. Thus the concentrations of APEOs metabolites (4-NP, 4-t-OP, NP1EO, NP2EO and NP1EC) were variable. This variability can be also assigned at the variability of SPM because the amount of SPM after secondary treatment is different from one facility to another.

Table 7 : Inter-day variability

Raw wastewaters						
Compounds	Mean (%)	RSD (%)	Min (%)	Max (%)	Median (%)	n
4-NP	37	67	4	77	36	15
NP1EO	49	86	6	119	39	15
NP2EO	102	181	3	749	61	15
NP1EC	81	111	4	372	61	14
4-t-OP	83	67	5	155	87	13
Secondary treated wastewaters						
Compounds	Mean (%)	RSD (%)	Min (%)	Max (%)	Median (%)	n
4-NP	37	92	2	140	29	16
NP1EO	39	85	2	108	32	16
NP2EO	49	86	6	129	30	16
NP1EC	32	77	1	78	32	16
4-t-OP	49	76	8	118	34	12
Tertiary treated wastewaters						
Compounds	Mean (%)	RSD (%)	Min (%)	Max (%)	Median (%)	n
4-NP	60	72	6	127	53	10
NP1EO	25	42	15	40	21	8
NP2EO	49	91	0	125	45	9
NP1EC	37	104	5	116	28	8
4-t-OP	52	90	0	122	46	8

RSD: Relative Standard Deviation

n: number of analysed samples

In tertiary treated wastewaters, the average inter-day variability was 60, 25, 49, 37 and 52 % for 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC and 4-t-OP respectively and the RSD was higher than 50 % except for NP1EO (42 %) (Table 7). The most important variability was observed for 4-NP and 4-t-OP which are the ultimate degradation products of APEOs. Moreover in some cases, the measured concentrations were close to LOQs and thus the analytical

variability was more important. The variability was large because concentrations after advanced tertiary treatment were lower than in conventional tertiary treatments.

Inter-WWTP variability

The inter-WWTP variability allows comparing the concentrations of each studied compound and after each treatment.

The variability of raw wastewater concentrations is high; it is of 108, 191, 97, 157 and 171 % for 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC and 4-t-OP respectively (Table 5). These RSD were calculated for all studied WWTPs in the project. Different factors can explain this high variability: the high inter-day variability; the inputs of compounds vary for each WWTP and depend on the nature of influent (person equivalent, rural or urban areas, etc.); biodegradation phenomena which occur in sanitary wastewater collection network; and potential extinction of the signal due to analysis of complex matrices.

The variability of secondary treated wastewater concentrations was lower than for raw wastewaters. When only the carbon was treated, RSDs were respectively 38, 20, 97, 80, 62 % for 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC and 4-t-OP (Table 5). Concentrations of NP1EC and NP2EO varied more due to their formation during the biodegradation phenomena. But when carbon and nitrogen were treated the variability was more important: 144, 116, 102, 97, 119 % for 4-NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC and 4-t-OP respectively (Table 5). This variability could be assigned at different applied treatments some of them being more effective than others. The most important variability was observed for 4-NP and 4-t-OP which are the final biodegradation products.

Tertiary treatments allowed lowering the concentrations of APs, APEOs and NP1EC but the variability was high. After conventional treatment the variability was high particularly for NP1EC (216 %) and the lower for 4-NP and 4-t-OP (61 and 68 %) (Table 5). During these treatments, biodegradation phenomena occurred and NP1EC was formed. The concentrations obtained after advanced tertiary treatment were low (few ng.L^{-1}) and RSDs were high, about 100 %. However the variability of NP1EC concentrations was 103 %. It was shown in a previous section that advanced tertiary treatment allowed a better reduction of APs and APEOs concentrations including NP1EC. This variability could be clearly explained by different factors: the difference in treatment implemented in WWTP, some more effective than others, allows obtaining high variability in concentration values; in tertiary treated wastewaters concentration values are closed to LOQ and may be caused high analytical uncertainty; and biodegradation phenomena can occur.

III.4 Removal of APs, APEOs and NP1EC by WWTPs

III.4.1 Primary treatments

The role of chemical precipitation with iron during primary treatment stage was evaluated by comparing the removal efficiencies measured at SE6, CA5 versus SE2. The physico-chemical treatment has significantly increased the removal of NP1EO and NP2EO: removal rates of 5 and 14 % were calculated respectively for SE2, whereas 65 and 43 % were obtained respectively for SE6 and CA5 using chemical precipitation. The removal rate of 4-NP, 4-t-OP and NP1EC were not calculable (Martin-Ruel et al., 2010, Choubert et al., 2011). In fact in some cases concentrations of these compounds after primary treatments are slightly higher than in raw wastewaters and in this case removal can be calculable. The physico-

chemical properties and the significantly decrease of amount of APs and APEOs in primary effluent especially with physico-chemical treatment suggest their transfer to sludge (Ahel et al. 1994b).

III.4.2 Secondary treatments

Various secondary treatments were assessed during the project but extended aeration activated sludge processes were the most studied ones (6 WWTPs: CA1, CA2, SE1, SE2, SE3, SE4) because it is the most common configuration used in France to meet the nitrogen discharge objective²⁵. Considering these 6 WWTPs together, the removal rates of 4-NP, 4-t-OP and NP1EO were higher than 80 %, those of NP2EO was higher than 60% and those of NP1EC were not calculable. Removal rates of NP1EC in CA1, CA2, SE1 and SE4. APEO with long ethoxylated chain loose successively ethoxylated groups until obtain NP2EO then NP1EO and 4-NP; NP2EO is widely formed by biodegradation and more than others compounds. NP1EO, formed by biodegradation of APEO with long ethoxylated chain, is oxidized to produce NP1EC.

Extended aeration activated sludge process was compared to membrane bioreactor (SE5) which treats carbon and nitrogen too and medium loaded activated sludge (CA3) which treats carbon only (short retention time), and to processes using attached growth biomass (CA5, CA6, CA8, SE6). The influence of temperature was also studied for activated sludge plants.

Influence of temperature in extended aeration activated sludge

Sampling at the 6 WWTPs with low loaded activated sludge were carried out in different periods. CA1, CA2 and SE1 were sampled between February and March with temperatures about 12 °C; SE2, SE3 and SE4 were sampled between April and September with temperatures about 21 °C. The concentrations of APs, APEOs and NP1EC in the different effluents at 12 °C and at 21 °C were compared (Figure 5). The average removal rates at 12°C and 21°C respectively for 4-NP were 71±28 % and 96±4 %, for 4-t-OP 80±16 % and 96±4 %, for NP1EO 83±14 % and 94±4 %, for NP2EO 62±54 % and 93±6 % and for NP1EC 0 and 41±43 %. The 4-NP and NP1EC had higher concentrations in effluent at 12°C than 21°C. These results obtained at 6 full-scale plants agree with a study carried out in lab scale activated sludge systems which shows that the removal of 4-NP is strongly dependent on the temperature and its total degradation is obtained at 28°C (Tanghe et al. 1998). Indeed Ahel and Giger (1994b) have observed that the elimination of APs and APEOs especially 4-NP, NP1EO and NP2EO is much higher in summer than in winter.

²⁵ ADEME : <http://www.ademe.fr/partenaires/boues/pages/f14.htm>

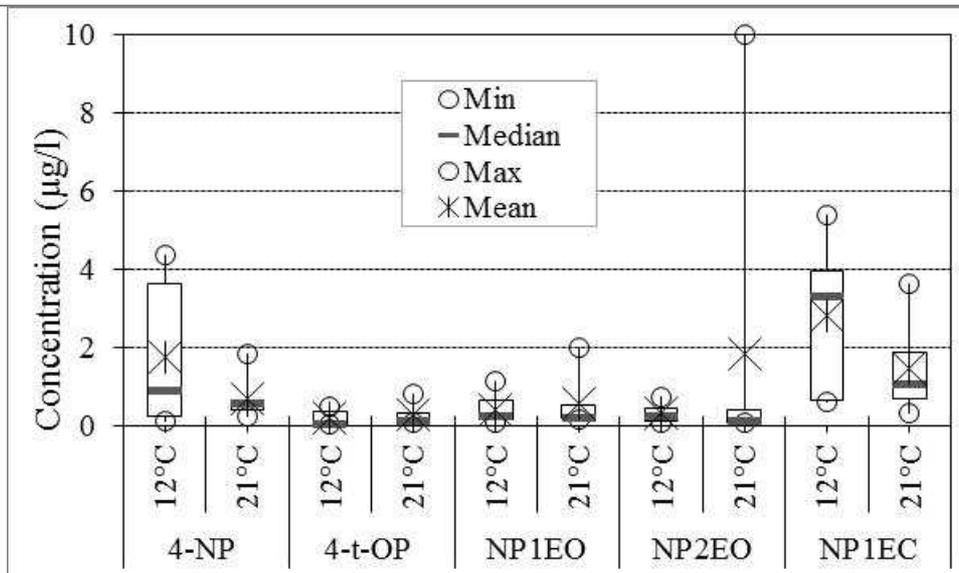


Figure 5 : Influence of temperature on concentrations of APs, APEOs and NP1EC in extended aeration (low loaded) activated sludges plants.

Influence of the loading rate of activated sludge processes

The 6 WWTPs (CA1, CA2, SE1, SE2, SE3 and SE4) were extended aeration activated sludge and treated carbon and nitrogen. These WWTPs were compared to one medium loaded activated sludge plant (CA3) which treated carbon only. Their concentrations and removal rates are presented in table 8.

The removal rate of NP2EO and NP1EC cannot be calculated in low loaded activated sludge plants as explained in previous section. For the other compounds the low loaded activated sludge plants were more effective than medium loaded activated sludge plants. The removal rates of 4-NP and 4-t-OP were almost similar (>80 %), nevertheless removal rates of NP1EO in low loaded activated sludge plants was higher than in medium one. However removal rates of NP2EO could be calculated in medium activated sludge plant and was 79 %. These results are in a good agreement with a study which shows that the biodegradation efficiency of APEOs and 4-NP was better in carbonaceous and nitrifying activated sludge plants (McAdam et al., 2011).

Comparison between activated sludge and membrane bioreactor (MBR)

The membrane bioreactor (SE5) and the low loaded activated sludge processes were compared in terms of removal rates (Table 8). The membrane bioreactor was a secondary advanced biological treatment which can be compared to activated sludges. The removal rates obtained for all APs and APEOs with MBR treatment were better than those with activated sludges, they were above 70% including the NP1EC. It is certainly linked to the process MBR being more effective than activated sludges. The difference is not an effect of sludge age because it is about 20 days for the two processes. Studies led by Cases and Gonzalez (Gonzalez et al., 2007, Cases et al., 2011) agree with these results showing that MBR process allows a better removal rate of APs, APEOs and NP1EC improving the degradation of compounds and not the sorption into SPM and then sludges (Gonzalez et al., 2007, Cases et al., 2011). The adsorption and biodegradation of APEOs can be enhanced by the MBR process because sludge and bacteria concentrations should be higher than in activated sludge processes, and because lower SPM are measured in the treated effluent of MBR.

Table 8 : Total concentrations (ng.L⁻¹) and removal efficiency range of APs, APEOs and NP1EC in secondary treatments

Sampling site	Sampling point	4-NP	4-t-OP	NP1EO	NP2EO	NP1EC
Low loaded activated sludge (C+N)						
CA1	Inflow	2,521	53	998	191	548
	Outflow	1,374	16	285	351	624
CA2	Inflow	10,468	1,405	3,119	3,180	920
	Outflow	3,169	390	690	430	3,959
SE1	Inflow	29,111	1,438	5,389	3,002	<LOQ
	Outflow	148	22	122	82	4,282
SE2	Inflow	29,945	17,002	3,802	3,460	4,019
	Outflow	447	473	205	75	2,840
SE3	Inflow	26,223	18,799	45,784	4,690	7,311
	Outflow	1,235	52	1,306	5,227	1,026
SE4	Inflow	5,080	109	1,540	2,449	455
	Outflow	404	<LOQ	160	107	458
CA1, CA2, SE1, SE2, SE3, SE4	Inflow	17,225	6,468	10,105	2,829	2,651
	Outflow	1,130	190	461	1,045	2,198
Medium loaded activated sludge (C)						
CA3	Inflow	7,598	6,381	2,991	1,542	956
	Outflow	1,479	1,191	912	327	1,428
Membrane bioreactor (C+N)						
SE5	Inflow	5,935	2,588	4,087	2,254	994
	Outflow	135	<LOQ	48	42	195
Biofilter (C)						
CA5	Inflow	3,067	14	3,982	2,836	342
	Outflow	810	471	1,221	1,157	304
Biofilter (N)						
CA3	Inflow	1,479	1,191	912	327	1,428
	Outflow	340	143	270	176	1,013
Biofilter (C+N)						
SE6	Inflow	1,275	693	424	372	51
	Outflow	269	9	184	324	212
Rotating biological contactors (C+N)						
CA4	Inflow	5,600	<LOQ	1,468	1,341	9,197
	Outflow	3,895	2,546	960	1,025	27,465
Vertical and horizontal reed-bed filter (C+N)						
CA6	Inflow	6,980	<LOQ	5,811	1,198	706
	Outflow	589	140	72	88	705
Moving bed bioreactor (C+N)						
CA8	Inflow	574	195	317	666	373
	Outflow	351	<LOQ	95	91	572
R < 30%	30% < R < 70%	R > 70%	Not calculable			

Comparison between suspended and attached growth biomass processes which treated carbon only

The medium loaded activated sludge process (CA3) and biofilter process (CA5) were compared in terms of removal efficiency of APs, APEOs and NP1EC (Table 8). For both processes the removal rate of NP1EC cannot be calculated because this compound was produced during applied treatment and output concentrations were higher than input ones. After medium loaded activated sludges the removal rate of NP1EO were between 30 and 70 % and those of 4-NP, 4-t-OP and NP2EO were upper 70 %. All calculated removal rates were upper 70% of efficiency after submerged biofiltration process. These results can be explained by a better removal of SPM by biofilter process.

Comparison between suspended and attached growth biomass processes which treated carbon and nitrogen

The suspended growth biomass process which treated carbon and nitrogen was the low loaded activated sludge. One of the 6 WWTPs with this treatment were CA1, CA2, SE1, SE2, SE3 and SE4. Their removal efficiency was compared with 5 WWTPs using attached growth biomass processes (Table 8): SE6 (biofilter), CA3 (biofilter), CA4 (rotating biological contactors), CA6 (vertical and horizontal reed-bed filter) and CA8 (moving bed bioreactor). The removal rates of NP1EC cannot be calculated because the concentrations were higher in effluent than in influent for all processes except for CA3. Input concentrations of 4-t-OP in CA4 and CA8 were lower than LOQ and thus their removal rates cannot be determined. The majority of removal efficiencies of 4-NP, 4-t-OP, NP1EO and NP2EO were upper than 70 %; only rotating biological contactor treatment shows removal efficiency lower than 30 % for all studied compounds. The respective efficiencies of treatments towards APs and APEOs were close for attached or suspended growth biomass when treatments of major parameters are the same regardless rotating biological contactor treatment.

III.4.3 Tertiary treatment

The concentrations and removal efficiency range of APs, APEOs and NP1EC for each tertiary studied treatment are given in table 9.

Conventional tertiary treatment

Conventional tertiary treatments had limited effectiveness for removing APs, APEOs and NP1EC. The studied conventional tertiary processes showed removal rates lower than 30 %, for polishing stabilization pond and high rates for chemical settler. The sand filtration reduced SPM and had efficiencies between 30 and 70 %. The concentrations obtained after these conventional processes do not exceed some hundreds ng.L^{-1} except for NP1EC for which concentrations could ever be higher after treatment in the order of $1\mu\text{g.L}^{-1}$.

Advanced tertiary treatment

The studied advanced tertiary processes have shown efficiencies higher than 30 % and allow removing the NP1EC up to 70 %. Reverse osmosis showed better removal rates for APs, APEOs and NP1EC upper than 70%.

However for these advanced treatments different questions rise up concerning the degradation products, the treatment of loaded membrane or charcoal and the additional required energy consumption. Ozonation may produce byproducts poorly known and controlled; with reverse osmosis we must provide the management of condensate. Finally, there is a lack of information about activated carbon lifetime and its regeneration costs. These techniques may lead to a doubling of annual cost of treatment in comparison with secondary processes. The use of these techniques must be meticulously examined.

Table 9 : Total concentrations (ng.L⁻¹) and removal efficiency range of APs, APEOs and NP1EC in tertiary treatment.

Sampling site	Sampling point	4-NP	4-t-OP	NP1EO	NP2EO	NP1EC
Conventional tertiary processes						
Polishing stabilization pond						
CA4	Inflow	489	16	154	127	15,274
	Outflow	701	<LOQ	139	122	19,187
High rate chemical settler						
SE3	Inflow	1,235	52	1,306	5,227	4,052
	Outflow	262	95	435	242	1,038
CA-PA2	Inflow	175	15	55	15	575
	Outflow	149	47	40	10	774
SE-PA1	Inflow	836	24	153	171	909
	Outflow	749	42	167	288	2,702
Sand filtration						
CA-PA1	Inflow	237	40	177	131	3,748
	Outflow	245	8	71	56	3,266
SE-PA1	Inflow	749	42	167	288	2,702
	Outflow	320	37	85	212	1,062
SE-PA2	Inflow	385	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,479
	Outflow	240	<LOQ	<LOQ	118	3,897
Advanced tertiary processes						
Ozonation						
CA-PA1	Inflow	245	8	71	56	3,266
	Outflow	171	9	8	101	166
Activated carbon filtration						
CA-PA2	Inflow	149	47	40	10	774
	Outflow	21	32	13	15	<LOQ
Reverse osmosis						
SE-PA1 pilote	Inflow	60	<LOQ	40	110	4,142
	Outflow	<LOQ	<LOQ	2	0	956
SE-PA2	Inflow	240	<LOQ	<LOQ	118	3,897
	Outflow	218	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
R < 30%	30% < R < 70%	R > 70%	Not calculable			

III.5 Occurrence of APs, APEOs and NP1EC in sludges

On the whole APs, APEOs and NP1EC were present in sewage sludges in inlet and outlet (all treatment types considered together) at high mean concentrations between 1,746 and 13,560 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw (Table 10).

The highest concentration in outlet was the one of NP1EC and the lowest was the 4-t-OP. Respectively 4-NP, 4-t-OP, NP1EO, NP2EO and NP1EC were quantified in 89, 83, 89, 89 and 83 % of cases (Table 10). Concentrations were in the same order of magnitude when sludge were treated or dried. After mechanical dewatering, studied compounds were detected in all samples at concentrations between 1,435 (4-t-OP) and 14,240 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw (NP1EO) (Table 10). APs, APEOs and NP1EC were detected in more than 90 % of sludges which had specific treatment such as liming, thermal drying, digestion, composting and drying bed. Concentrations were between 2,619 (4-t-OP) and 19,829 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw (NP1EC) (Table 10).

Table 101 : Concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$) in sludges.

Concentrations in inlet sludges							
Compounds	Mean ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	RSD (%)	Min ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	Max ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	Median ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	n	n>LOQ (%)
4-NP	7,909	68	830	16,635	7,497	16	100
4-t-OP	1,746	91	100	5,457	1,610	11	69
NP1EO	11,446	127	380	54,280	5,899	16	100
NP2EO	4,761	179	61	35,150	1,701	16	100
NP1EC	9,636	106	100	30,969	4,840	16	100
Concentrations in outlet sludges (all treatment types considered together)							
Compounds	Mean ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	RSD (%)	Min ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	Max ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	Median ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	n	n>LOQ (%)
4-NP	7,692	71	559	20,050	7,770	16	89
4-t-OP	1,938	128	69	9,449	900	15	83
NP1EO	8,296	94	53	29,900	7,303	16	89
NP2EO	3,694	106	60	11,960	2,585	16	89
NP1EC	13,560	173	100	76,110	5,737	15	83
Concentrations in outlet sludges after mechanical dewatering processes							
Compounds	Mean ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	RSD (%)	Min ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	Max ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	Median ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	n	n>LOQ (%)
4-NP	7,943	31	3,523	9,590	9,001	5	100
4-t-OP	1,435	73	100	2,620	1,923	5	100
NP1EO	14,240	63	7,480	29,900	10,876	5	100
NP2EO	3,364	78	1,047	6,978	2,550	5	100
NP1EC	6,342	86	100	11,809	6,065	5	100
Concentrations in outlet sludges after liming, thermal drying, digestion, composting and drying bed							
Compounds	Mean ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	RSD (%)	Min ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	Max ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	Median ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$)	n	n>LOQ (%)
4-NP	7,898	91	559	20,050	5,433	9	90
4-t-OP	2,619	123	69	9,449	1,500	8	80
NP1EO	5,668	112	53	18,280	2,602	9	90
NP2EO	3,934	122	60	11,960	2,620	9	90
NP1EC	19,829	158	650	76,110	4,230	8	80

The figure 6 shows the concentrations of APEOs in $\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$ in inlet and outlet sludges of the studied WWTPs. The concentrations are in the range of $\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$ to several tens of $\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$ which showed a significant adsorption for these compounds into sludges. Mean concentrations were in inlet 7,909, 1,746, 11,446, 4,761 $\mu\text{g.g}^{-1}$ and 9,636 $\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$ for 4-NP, 4-t-OP, NP1EO, NP2EO and NP1EC respectively. Mean concentrations in outlet were 7,298, 2,619, 5,668, 3,934, 19,829 $\mu\text{g.g}^{-1}\text{dw}$ for 4-NP, 4-t-OP, NP1EO, NP2EO and NP1EC respectively. The main compounds quantified in sludges were 4-NP, NP1EO and NP1EC. This trend is firstly due to the partitioning of 4-NP and NP1EO to the SPM during earlier stages of the wastewater treatment processes and secondly by electrostatic interactions between NP1EC and the bacterial wall present in activated sludges (Lardy-Fontan, 2008). 4-t-OP was quantified at lowest concentrations in the sludge, this could be attributed to its lower production volume (Ying et al. 2002).

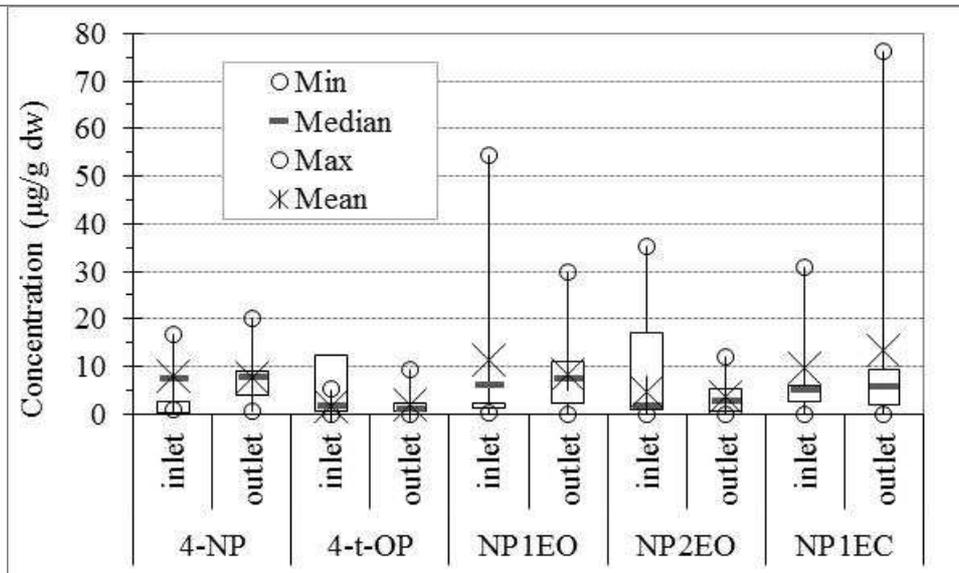


Figure 6 : Comparison of inlet and outlet concentrations ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ dw}$) of APs, APEOs and NP1EC in sludges (overall treatment types, $n=16$ samples)

The concentrations of 4-NP and NP1EC were significantly higher in outlet than inlet. This may show that a part of the removal of 4-NP in dissolved phase would be not only due to removal or biodegradation but to a transfer by adsorption to SPM then to sludges. The strong presence of 4-NP in outlet can also be due to the degradation of APEOs adsorbed to sludges which could lose their ethoxylated groups (Giger et al. 1984, Janex-Habibi et al., 2009). The high concentrations of NP1EC in outlet can be related to its formation during the secondary process. The concentrations of NP1EO and NP2EO are more or less homogeneous between inlet and outlet.

IV. Conclusions

In this study raw and treated wastewaters and treated sludges from 21 sewage treatment plants were studied and compared in terms of removal efficiency. 4-NP was present in field blanks in the order of few $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$. Nevertheless, APs and APEOs were quantified in most samples at concentrations significantly higher than in field blanks.

These compounds were found at concentrations in the order of tens of $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ in raw wastewaters and at hundreds of $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ in treated wastewaters. Due to their hydrophobic property, APs and APEOs were found about 50 % in the particulate phase and were also quantified in the sludges at levels close to ten $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ dw}$.

Primary treatments allowed eliminating SPM from raw wastewaters and lowering concentrations of APs and APEOs by a factor about 2 which suggested an adsorption into sludges. These substances were thus relatively well removed after secondary treatment but they were mainly transferred into sludges. The temperature, the loading rate of activated sludge processes and the applied treatments of major parameters had an influence on the removal efficiencies of APs and APEOs in dissolved phase. These substances were better removed at high temperature (summer), low loading rate and when carbon and nitrogen were treated. However NP1EC was found in the treated wastewaters at concentrations higher than those of raw wastewaters in all operating conditions, because NP1EC was formed during aerobic treatment and is a degradation product. The concentration of this compound was

higher too in effluent sludge than in influent due to its formation during the purification process and electrostatic interactions with bacteria wall. In other hand, 4-NP has similar compartment than NP1EC. A part of the removal of 4-NP in dissolved phase would be not only due to a removal or biodegradation but a transfer by adsorption in SPM then in sludge. These compounds were widely present in sludges at concentrations about ten $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{dw}$.

Advanced tertiary processes such as reverse osmosis, ozonation and activated carbon filtration drastically increased the elimination of these substances including recalcitrant NP1EC. However these facilities are still marginal in the field of purification in France, because of their cost and the limited development of the re-use of wastewaters in our country.

Acknowledgements

The authors wish to thank the French national research agency ANR AMPERES, the Aquitaine Region and the European Union (CPER A2E project) for financial support. Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund.

References

- Ahel, M., W. Giger, and C. Schaffner. 1994a. « Behaviour of alkylphenol polyandhoxylate surfactants in the aquatic environment- II Occurrence and biotransformation in rivers ». *Water Research* 28 (5): 1143-1152.
- Ahel, M., W. Giger, and M. Koch. 1994b. « Behaviour of alkylphenol polyandhoxylate surfactants in the aquatic environment- I. Occurrence and transformation in sewage treatment ». *Water Research* 28 (5): 1131-1142.
- Arukwe, A., A. Goksoyr, R. Thibaut, and J.P. Cravedi. 2000. « Metabolism and organ distribution of nonylphenol in Atlantic salmon (*Salmo salar*) ». *Marine Environmental Research* 50 (1-5): 141-145.
- Cailleaud, K., J. Forgard-Leray, S. Souissi, S. Lardy, S. Augagneur, and H. Budzinski. 2007. « Seasonal variation of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species *Eurytemora affinis* (Colonoïd, copepod). Part 2: Alkylphenol-polyandhoxylates. » *Chemosphere* 70 (2): 281-287.
- Capdeville, M.J., and H. Budzinski. 2011. « Trace-level analysis of organic contaminants in drinking waters and groundwaters ». *Trends in Analytical Chemistry* 30 (4): 586-606.
- Cases, V., V. Alonso, V. Argandona, M. Rodriguez, and D. Prats. 2011. « Endocrine disrupting compounds: A comparison of removal between conventional activated sludge and membrane bioreactor ». *Desalination* 272 (1-3): 240-245.
- Cespedes, R., S. Lacorte, A. Ginebreda, and D. Barcelo. 2008. « Occurrence and fate of alkylphenols and alkylphenol polyandhoxylates in sewage treatment plants and impact on receiving waters along the Ter River (Catalonia, NE Spain) ». *Environmental Pollution* 153 (2): 384-392.
- Choubert, J.M., S. Martin-Ruel, and M. Coquery. 2009. « Prélèvement and échantillonnage des substances prioritaires and émergentes dans les eaux usées ». *Techniques Sciences and méthodes* (4): 88-101.
- Choubert, J.M., S. Martin-Ruel, M. Esperanza, H. Budzinski, C. Miège, C. Lagarrigue, and M. Coquery. 2011. « Limiting the emissions of micro-pollutants: what efficiency can we expect from wastewater treatment plants? » *Water Science and Technology* 63 (1): 57-65.
- Clara, M., B. Strenn, E. Martinez, N. Kreuzinger, and H. Kroiss. 2005. « Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants ». *Water Research* 39 (19): 4797-4807.
- Corvini, P.F.X., A. Schäffer, and D. Schlosser. 2006. « Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols- our evolving view ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 72 (2): 223-243.
- Dupuis, A., V. Migeot, A. Cariot, M. Albouy-Llaty, B. Legube, and S. Rabouan. 2012. « Quantification of bisphenol A, 353-nonylphenol and their chlorinated derivatives in

- drinking water treatments plants ». *Environmental Science and Pollution Research in press*: 1-13.
- EPA. 2010. Nonylphenol (NP) and Nonylphenol Andhoxylates (NPEs): Action Plan.
- Ferguson, P., C. Iden, and B. Brownawell. 2001. « Distribution and fate of neutral alkylphenol andhoxylate mandabolites in a sewage impacted urban estuary ». *Environmental Science and Technology* 35 (12): 2428-2435.
- Giger, W., P.H. Brunner, and C Schaffner. 1984. « 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic mandabolites from nonionic surfactants ». *Science* 225 (4662): 623-625.
- Gonzalez, S., M. Pandrovic, and D. Barcelo. 2007. « Removal of a broad range of surfactants from municipal wastewater- Comparison bandween membrane bioreactor and conventional activated sludge treatment ». *Chemosphere* 67 (2): 335-343.
- INERIS. 2005. Edude de l'analyse des Alkylphénols. INERIS.
- Isobe, T., H. Nishiyama, A. Nakashima, and H. Takada. 2001. « Distribution and behaviour of nonylphenol, octylphenol, and nonylphenol monoandhoxylate in Tokio mandropolitan area: their association with aquatic particles and sedimentary distributions ». *Environmental Science and Technology* 35 (6): 1041-1049.
- Janex-Habibi, M.L., A. Huyard, M. Esperanza, and A. Bruchand. 2009. « Reduction of endocrine disruptor emissions in the environment: the benefit of wastewater treatment». *Water Research* 43 (6): 1565-1576.
- Lardy-Fontan, S. 2008. « Les substances émergentes dans les écosystèmes aquatiques français. Une application aux alkylphénol-polyéthoxylés and aux substances pharmaceutiques ». Bordeaux 1.
- Loos, R., B.M. Gawlik, G. Locoro, E. Rimaviciute, S. Contini, and G. Bidoglio. 2009. « EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters ». *Environmental Pollution* 157 (2): 561-568.
- Martin-Ruel, S., M. Esperanza, J.M. Choubert, I. Valor, H. Budzinski, and M. Coquery. 2010. « On-site evaluation of the efficiency of conventional and advanced secondary processes for the removal of 60 organic micropollutants ». *Water Science and Technology* 62 (12): 2970-2978.
- McAdam, E., J. Bagnall, A. Soares, Y. Koh, T. Chiu, M. Scrimshaw, J. Lester, and E. Cartmell. 2011. « Fate of alkylphenolic compounds during activated sludge treatment: impact of loading and organic composition ». *Environmental Science and Technology* 45 (1): 248-254.
- Rabouan, S., A. Dupuis, A. Cariot, M. Albouy-Llaty, B. Legube, and V. Migeot. 2012. « Analytical chemistry and mandrological issues related to nonylphenols in environmental health ». *Trends in Analytical Chemistry* 37: 112-123.
- Renner, R. 1997. « European Bans on surfactant trigger transatlantic debate ». *Environmental Science and Technology* 31 (7): 316-320.

- Servos, M.R. 1999. « Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenol polyandhoxyates ». *Water Quality Research* 34 (1): 123-177.
- Soares, A., B. Guieysse, B. Jefferson, E. Cartmell, and J.N. Lester. 2008. « Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters ». *Environment International* 34 (7): 1033-1049.
- Tanghe, T., G. Devriese, and W. Verstraande. 1998. « Nonylphenol degradation in lab scale activated sludge units is temperature dependant ». *Water Research* 32 (10): 2889-2896.
- Ying, G.G., B. Williams, and R. Kookana. 2002. « Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol andhoxyates - a review ». *Environment International* 28 (3): 215-226.

Publication 2 : Zoom sur les substances
pharmaceutiques : présence, partition,
devenir en station d'épuration

Zoom sur les substances pharmaceutiques : présence, partition, devenir en station d'épuration

C. Soulier¹, V. Gabet², S. Lardy¹, K. Lemenach¹, P. Pardon¹, M. Esperanza³, C.Miège², J.M.Choubert², S.Martin³, A. Bruchet³, M. Coquery², H. Budzinski¹

¹ Université Bordeaux 1, ISM-LPTC, UMR CNRS 5255, 351 Cours de la libération, 33405 Talence Cedex, France

² Cemagref, UR MALY, 3bis quai Chauveau, CP 220, 69336 Lyon Cedex 09, France

³ Cirsee, Suez Environnement, 38 Rue du Président Wilson, 78230 Le Pecq, France

Correspondance h.budzinski@ism.u-bordeaux1.fr

Publié dans Techniques Sciences et Méthodes n° 1/2, 2011, 63-77.

Résumé :

Dans le cadre du projet AMPERES (Analyse de micropolluants prioritaires et émergents dans les rejets et les eaux superficielles) des études ont été conduites sur 21 stations d'épuration (STEP) afin d'estimer la composition en substances pharmaceutiques des eaux usées et traitées et ainsi d'évaluer leur présence et leur dégradation en fonction des traitements. Des méthodologies performantes et fiables utilisant l'extraction en phase solide (SPE) associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (RRLC/MS/MS) ont été développées pour l'analyse de 38 substances dans des matrices complexes. Grâce à ces méthodologies, les phases dissoute et particulaire ainsi que les boues ont pu être analysées. Les substances pharmaceutiques sont détectées en moyenne dans 83% des cas en entrée de STEP, avec des concentrations totales moyennes faibles, en majorité inférieures au µg/L, sauf pour certaines substances largement utilisées dans la vie courante comme le paracétamol (179 µg/L), l'aspirine (129 µg/L), la théophylline (14 µg/L), l'ibuprofène (11 µg/L) et la caféine (4 µg/L). En sortie de STEP, les substances pharmaceutiques sont détectées en moyenne dans 70% des cas, avec des concentrations totales moyennes généralement inférieures au dixième de µg/L. Tous les substances détectées sont relativement bien éliminées dans les STEP par les traitements secondaires étudiés. Des rendements d'élimination supérieurs à 70% ont été mesurés sur les files eau des filières biologiques pour la caféine et la théophylline, les anti-inflammatoires (paracétamol, aspirine, ibuprofène) et les hormones. Le rendement d'élimination reste dans la gamme intermédiaire (30-70%) pour les deux antibiotiques recherchés (sulfaméthoxazole, roxithromycine) et trois bêtabloquants (oxprénolol, propranolol, sotalol) et restent stables. Cependant ces substances sont éliminées considérablement lors des traitements tertiaires tels que la filtration sur charbon actif, l'osmose inverse et l'ozonation. Les valeurs de concentration des substances pharmaceutiques dans les boues sont faibles, elles sont de l'ordre de la centaine de ng/g de masse sèche (MS). Les bilans de matières montrent que le phénomène prépondérant pour les substances pharmaceutiques n'est pas l'accumulation dans les boues, mais la dégradation. L'intérêt de cette étude a été : 1) de développer des méthodologies robustes et fiables, tout en

étant performantes en termes de limite de quantification, applicables à un suivi des stations d'épuration et ce quelque soit le type de matrices ; 2) de faire l'inventaire de la composition des rejets des substances pharmaceutiques selon le type de procédé de traitement utilisé.

Mots-clés : Substances pharmaceutiques, station d'épuration, partition dissous/particulaire, boues

I. Introduction

Aujourd'hui, près de 3000 produits pharmaceutiques à usage humain différents sont utilisés couramment en Europe. Ces molécules subissent souvent des transformations dans le corps humain et sont rejetées sous forme initiale, mais aussi sous forme de métabolites (formes conjuguées plus solubles par exemple). Ce mélange de médicaments, de métabolites et d'hormones naturelles rejoint les réseaux d'assainissement par le biais des urines et des fèces. Les stations d'épuration représentent ainsi le principal vecteur d'hormones et de médicaments vers le milieu aquatique (Ternes et Joss, 2006).

En Europe, la prise de conscience des risques environnementaux s'est traduite par la mise en place d'une politique communautaire pour la gestion et la protection des eaux par grand bassin hydrographique : la Directive Cadre sur l'Eau 2000/60/CE (DCE) (CE, 2000). La DCE impose la réduction des émissions de substances « prioritaires » (parmi lesquelles on retrouve des métaux, des pesticides et des hydrocarbures) à l'horizon 2015. Par ailleurs, de nouvelles substances, dites émergentes, ont été identifiées comme préoccupantes par la communauté scientifique à partir de l'examen de données écotoxicologiques et d'occurrence dans l'environnement. Il s'agit notamment de substances chimiques telles que les hormones, les nouveaux pesticides, les substances pharmaceutiques, les produits de beauté ou tout autre nouveau composé d'usage à grande échelle, pour lequel les connaissances actuelles ne permettent pas d'évaluer la persistance et la dangerosité dans l'environnement.

Le travail présenté dans cet article technique a été mené dans le cadre du projet AMPERES (Coquery *et al.*, 2011). Il présente la composition en substances pharmaceutiques des eaux usées brutes et traitées et des boues traitées (fréquence de quantification et concentrations). Les rendements d'élimination des procédés conventionnels ou par des ouvrages plus innovants sont également présentés.

II. Quelques définitions

- Les antibiotiques sont des substances capables de combattre les micro-organismes et plus précisément les bactéries.
- Les antidépresseurs sont des substances modifiant le psychisme, certains stimulent en agissant sur la fatigue psychique et physique, d'autres calment en diminuant l'angoisse, et d'autres sont des tranquillisants et stimulants à la fois.
- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des substances ayant une action anti-inflammatoire ou/et antipyrétique (combattant la fièvre) ou/et analgésique (combattant la douleur).
- Les bêtabloquants sont des substances ayant pour but de traiter l'hypertension, la tachycardie, l'insuffisance cardiaque chronique, la migraine et le glaucome.

- Les bronchodilatateurs sont des substances destinées à dilater les bronches pour améliorer la ventilation pulmonaire.
- Les hypolipémiants sont des substances actives contre l'excès de triglycérides.
- Une substance conjuguée est une substance à laquelle est ajouté un groupement chimique ; cette étape de conjugaison est essentielle pour faciliter l'élimination de cette substance via les urines ou les fèces.
- Le logarithme du coefficient de partage octanol/eau ($\log K_{OW}$) caractérise la solubilité d'une substance dans l'eau. Lorsque le $\log K_{OW}$ d'une substance est élevé, celle-ci est plus soluble dans les corps gras que dans l'eau et il s'agit d'une substance hydrophobe. A contrario si le $\log K_{OW}$ est faible, la substance sera hydrophile (soluble dans l'eau).

III. Matériels et méthodes

III.1 Substances étudiées

Le choix des substances étudiées a été réalisé selon trois critères. Dans un premier temps, les données de consommation de substances pharmaceutiques pour le territoire français ont été examinées. Il en est ressorti que les 100 produits pharmaceutiques les plus consommés en France représentent plus de 50% du marché total des médicaments (AFFSAPS, 2003). Parmi ces substances, on trouve notamment des antibiotiques, des antidépresseurs, des anti-inflammatoires non stéroïdiens et des bêtabloquants. Ensuite, la toxicité ainsi que les impacts de ces substances observés dans des études antérieures ont été examinés. Parmi ces familles de substances potentiellement dangereuses de par leur mécanisme d'action, mais pas nécessairement par les quantités consommées, on compte notamment les hormones. Enfin, les données de concentration des substances dans les eaux de surface ont été prises en compte (Besse et Garric, 2007). Il est apparu que les hormones, les analgésiques, les anti-inflammatoires et les antibiotiques sont les substances les plus étudiées, tandis que d'autres familles comme les bêtabloquants sont très peu documentées en terme d'occurrence et de niveau de concentration dans les rejets (Miege *et al.*, 2009a).

Compte tenu de ces différentes observations, le choix s'est porté sur les familles de substances suivantes :

- les hormones œstrogéniques en raison de leur toxicité importante (effet perturbateur endocrinien) (Fent *et al.*, 2006),
- les bêtabloquants qui font partie des médicaments les plus consommés en France (Besse et Garric, 2007) mais dont la littérature scientifique fait peu d'état,
- Les antibiotiques, antidépresseurs, anti-inflammatoires sont des familles de molécules utilisées couramment ; elles ont un potentiel toxique (Besse et Garric, 2007) et sont largement retrouvées dans les milieux aquatiques.

Les 38 substances pharmaceutiques étudiées, leurs propriétés physico-chimiques, ainsi que les limites de quantification associées pour les eaux et les boues sont listées dans le tableau 1.

Tableau 1. Liste des 38 substances pharmaceutiques étudiées dans le projet AMPERES, propriétés physico-chimiques et limites de quantification

Substances	Abréviations	Classes thérapeutiques	Log K _{OW}	Limites de quantification	
				Eaux (µg/L)	Boues (ng/g MS)
Œstrone	E1	Hormones œstrogéniques	3,13	0,001	1
17α-œstradiol	Ea2		4,01	0,001	2 – 4
17β-œstradiol	Eb2		4,01	0,001	2 – 4
Œstriol	E3		2,45	0,001 - 0,003	2 – 4
17α-éthynilœstradiol	EE2		3,67	0,001 - 0,003	5
Oxprénolol	OMP	Bétabloquants	1,83 ^a	0,002	0,2
Métoprolol	MET		1,69 ^a	0,001	0,1
Timolol	TIM		1,75 ^a	0,001	0,5
Propranolol	PROP		2,60 ^a	0,001	0,1
Nadolol	NAD		1,17 ^a	0,001	0,2
Bêtaxolol	BET		3,26 ^b	0,001	0,5
Bisoprolol	BIS		1,84 ^a	0,001	0,1
Acébutolol	ACE		1,42 ^a	0,001	0,2
Aténolol	ATE		-0,03 ^a	0,002	0,2
Sotalol	SOT		0,37 ^a	0,002	0,2
Sulfaméthoxazole	SFMX	Antibiotiques	0,89	0,002	3
Roxithromycine	ROXI		0,001	0,001	3
Carbamazépine	CARBA	Antidépresseurs	2,25 ^c	0,001	1
Diazépam	DIAZ		2,70 ^c	0,001	1
Nordiazépam	NORDIAZ		2,87 ^c	0,002	2
Amitriptyline	AMI		4,95 ^c	0,002	5
Doxépine	DOX		3,99 ^c	0,001	2
Imipramine	IMI		5,01 ^c	0,002	5
Alprazolam	APZ		3,87 ^c	0,001	1
Bromazépam	BRZ		1,93 ^c	0,001	1
Fluoxétine	FLUOX		4,65 ^c	0,001	1
Ibuprofène	IBU		Anti-inflammatoires	3,79 ^c	0,001
Paracétamol	PARA	0,27 ^c		0,002	5
Kétoprofène	KETO	3,00 ^c		0,0005	100
Naproxène	NAPRO	3,10 ^c		0,0005	3
Aspirine	ASP	1,13 ^c		0,002	5
Diclofénac	DICLO	4,02 ^c		0,0005	5
Gemfibrozil	GEM	Hypolipémiant	4,77 ^c	0,001	1
Clenbutérol	CLENBU	Bronchodilatateurs	2,00 ^c	0,001	1
Salbutamol	SALBU		0,64 ^c	0,001	1
Terbutaline	TERBU		0,67 ^c	0,001	1
Caféine	CAF	Autres	0,16 ^c	0,002	2
Théophylline	THEO		-0,39 ^c	0,001	1

^a Detroyer *et al.*, 2001^b Hernando *et al.*, 2007^c calculé par KOWWIN²⁶

III.2 Extraction/Analyse

Les eaux, la phase particulaire ou encore les boues issues des stations d'épuration (STEP) sont des matrices complexes extrêmement riches en matières organiques et parfois en polymères. De ce fait, l'analyse des substances pharmaceutiques en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse est rendue difficile dans ce type de matrice. L'apparition d'extinction matricielle, diminution ou plus rarement augmentation de la réponse du signal du spectromètre de masse, sont des difficultés fréquemment rencontrées. Dans ce cas là, deux solutions peuvent être envisagées : 1) l'utilisation d'étalons internes ou 2) la méthode des ajouts dosés. Les étalons internes, substances absentes des échantillons mais de structures

²⁶ www.vcclab.org/lab/alogps/start.html

proches des substances ciblées (mêmes comportements lors de l'extraction et de l'analyse), sont ajoutées en quantité connue dans les échantillons et suivent les protocoles d'extraction et d'analyse. Cela permet de vérifier l'absence de pertes de substances. La méthode des ajouts dosés consiste à diviser chaque échantillon en leur ajoutant une quantité croissante connue de substances recherchées. Ainsi une gamme croissante de concentration et de même matrice est obtenue et permet d'établir une gamme d'échantillonnage qui servira à quantifier l'échantillon ne contenant aucun ajout de substances.

Pour chaque série d'extraction (matrices liquides ou solides), des blancs de procédure ont été réalisés afin d'estimer la contamination éventuelle. Les eaux (matrices liquides) ou le solvant (matrices solides) ont été supplémentés avec les substances étudiées afin de déterminer les rendements d'extraction. Et enfin des étalons internes ont été ajoutés à chaque échantillon pour s'affranchir des effets matriciels.

Les échantillons d'eau ont été filtrés (sur des filtres GFF, 0,7 μ m, préalablement calcinés) dès leur arrivée au laboratoire. La phase dissoute (eau filtrée) subit directement une extraction en phase solide (SPE) et la phase particulaire (particules retenues sur les filtres) est lyophilisée avant d'être extraite. Dans le cas des estrogènes, une étape de déconjugaison est appliquée de façon à évaluer les formes libres + conjuguées (Miège *et al.*, 2009b). Les boues sont congelées, puis lyophilisées avant extraction. L'extraction des hormones dans les boues est décrite par Gabet-Giraud *et al.* (2010). Les concentrations sont exprimées en ng/g de matière sèche (MS).

Les concentrations calculées correspondent aux concentrations totales, c'est-à-dire à la somme des concentrations de la phase dissoute et de la phase particulaire, excepté pour les hormones, les bêtabloquants, les antibiotiques, l'ibuprofène, le kétoprofène, le naproxène, l'aspirine, le diclofénac et le gemfibrozil. Pour ces substances, ce sont seulement les concentrations en phase dissoute qui sont présentées ci-après.

III.3 Sites d'échantillonnage et collecte des échantillons

Au cours du projet 21 STEP ont été étudiées dont 12 avec des filières différentes (Coquery *et al.*, 2011 ; Choubert *et al.*, 2011). Les analyses ont porté sur 81 échantillons d'eaux, dont 32 eaux usées brutes, 33 eaux traitées secondaires et 16 eaux traitées tertiaires. Les prélèvements d'eau usées brutes et traitées ont été effectués à l'aide d'échantillonneurs automatiques réfrigérés mettant en œuvre des tuyaux en téflon et des flacons en verre préalablement nettoyés (Choubert *et al.*, 2009). Un volume de 25 litres environ a été échantillonné de façon proportionnelle au débit passant à chaque point de prélèvement, pendant 2 à 3 jours consécutifs, puis stocké dans des flacons collecteurs en verre. Afin de vérifier que l'échantillonneur automatique n'amenait pas de contamination, des blancs de prélèvements ont été effectués (Choubert *et al.*, 2009). Après prélèvement, les échantillons bruts sont placés sous agitation mécanique, puis répartis dans des flacons fournis par les laboratoires. Ils sont ensuite envoyés sans prétraitement *in-situ* aux laboratoires pour analyse. Des échantillons de boues ont également été prélevés, en sortie de filière eau et en sortie de filière boues (« boues traitées »).

Le transport a été fait dans des glacières pour une meilleure conservation et éviter les dégradations potentielles des échantillons. La filtration et l'extraction des eaux ont été réalisées dès réception des échantillons.

III.4 Calcul des rendements d'élimination

Le rendement de la filière eau (R2) a été calculé pour chaque STEP pour la durée de chaque campagne. Les règles de calculs précises décrites par Choubert *et al.* (2011) ont été appliquées. Les valeurs obtenues sont ensuite classées au sein de l'une des trois gammes de rendement auxquelles sont attribués des codes couleur : rendements inférieurs à 30% (rouge), rendements compris entre 30 et 70% (orange) et rendements supérieurs à 70% (vert).

IV. Résultats et discussion

IV.1 Fréquence de quantification dans les eaux usées brutes et traitées

La figure 1 représente les pourcentages de quantification des substances pharmaceutiques dans les eaux usées brutes (eaux en entrée de STEP), les eaux traitées secondaires (eaux après traitement secondaire) et les eaux traitées tertiaires (eaux après traitement tertiaire).

Pour les œstrogènes, l'œstrone est la molécule la plus fréquemment quantifiée ; on la retrouve dans 94% des eaux usées brutes analysées, dans 94% des eaux traitées secondaires et 69% dans les eaux traitées tertiaires. Viennent ensuite la 17 β -œstradiol et l'œstriol quantifiées dans 94% des eaux usées brutes, dans respectivement 36 et 24% des eaux traitées secondaires, et dans respectivement 13 et 0% des eaux traitées tertiaires. La 17 α -œstradiol quantifiée dans 67% des eaux usées brutes est quant à elle retrouvée dans 24% des eaux traitées secondaires et n'est plus détectée dans les eaux traitées tertiaires. Et enfin, l'éthynilœstradiol qui n'est jamais quantifiée dans les eaux usées brutes est quantifiée dans 10% des eaux traitées. Ces résultats s'expliquent en partie par la biotransformation du 17 β -œstradiol en œstrone qui a été montrée en condition aérobie (avec un procédé type boue activée) (Ternes *et al.*, 1999) et anaérobie (Czajka et Londry, 2006).

Concernant les bêtabloquants, l'acébutolol, l'aténolol, le propranolol, le bisoprolol, le métoprolol et le sotalol sont quantifiés dans 91 à 94% des eaux usées brutes, entre 91 et 97% dans les eaux traitées secondaires et entre 75 et 100% des eaux traitées tertiaires. Le bêtaxolol, l'oxprénolol, le nadolol et le timolol sont quantifiés dans seulement 30 à 70% dans les eaux usées brutes, entre 36 et 61% dans les eaux traitées secondaires et entre 25 et 69% dans les eaux traitées tertiaires.

Les deux antibiotiques, sulfaméthoxazole et roxithromycine ont été retrouvés dans 85% et 91% des eaux usées brutes, respectivement. Ces deux substances sont quantifiées dans toutes les eaux traitées secondaires analysées. Ce phénomène peut être lié soit à la libération de la substance présente en entrée sous forme conjuguée (Göbel *et al.*, 2004), soit une désorption à partir des matières en suspension.. Dans les eaux traitées tertiaires, le sulfaméthoxazole et la roxithromycine sont quantifiés à 88 et 50%, respectivement.

Les antidépresseurs, les anti-inflammatoires, le gemfibrozil, le salbutamol, la terbutaline, la caféine et la théophylline sont quantifiés dans 80 à 97% des échantillons dans les eaux usées brutes, entre 80 et 100% dans les eaux traitées secondaires et sont légèrement moins souvent quantifiés dans les eaux traitées tertiaires (de 50 à 81%), sauf pour la caféine et la théophylline qui sont quantifiés à plus de 80% en sortie tertiaire des STEP. La doxépine, l'imipramine et l'alprazolam sont quand à eux quantifiés dans moins de 60% des cas.

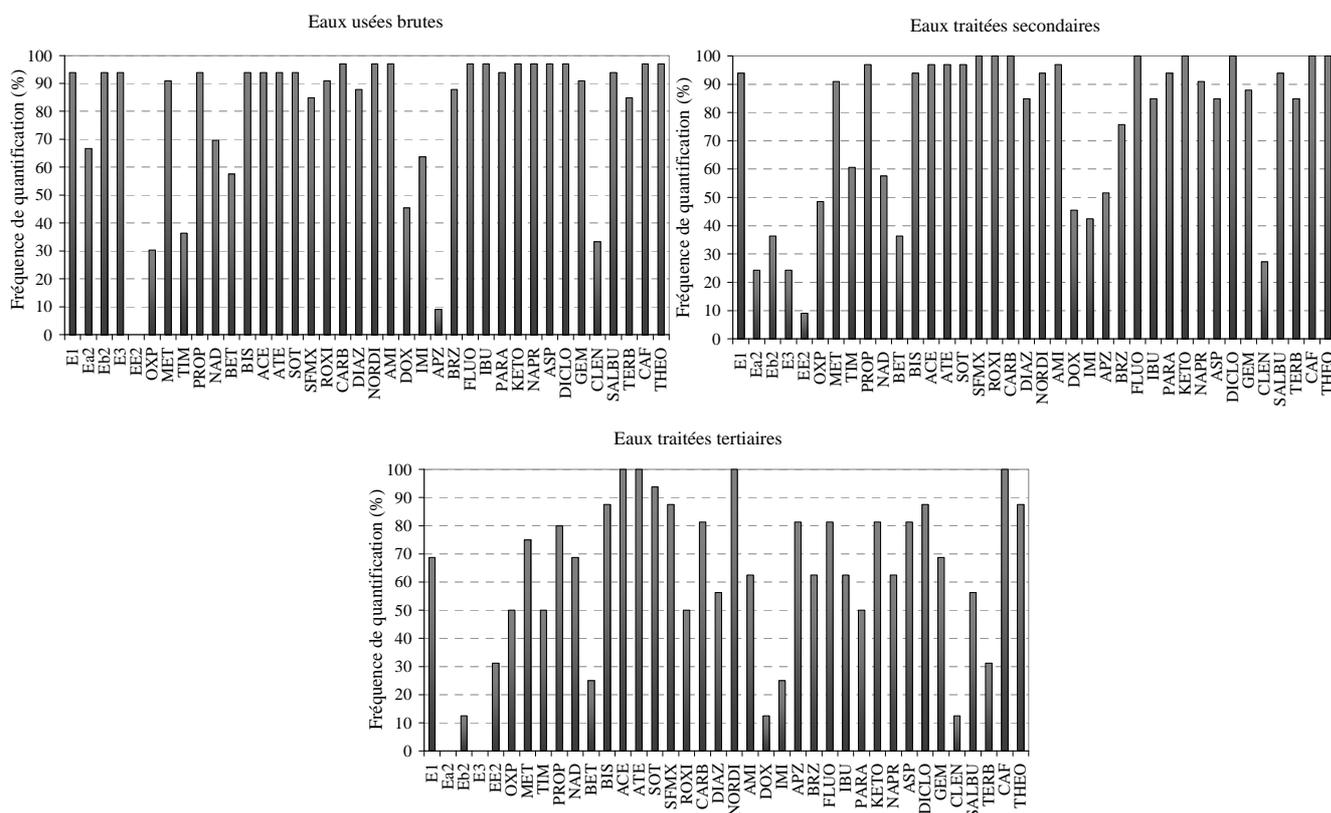


Figure 1 : Fréquence de quantification (%) des substances pharmaceutiques dans les eaux usées brutes et les eaux traitées (secondaires et tertiaires). Se reporter au tableau 1 pour la signification des abréviations du nom des substances

IV.2 Concentrations dans les eaux brutes et traitées

Comme l'illustre la figure 1, les substances sont souvent quantifiées à plus de 80% dans les eaux traitées par les STEP. Mais les concentrations auxquelles elles sont retrouvées restent faibles (exceptés pour l'ibuprofène, la théophylline, l'aspirine et le paracétamol) (figures 2, 3 et 4).

En entrée de STEP, trois groupes de substances peuvent être distingués : 1) 60% des substances pharmaceutiques sont quantifiées à des concentrations inférieures au $\mu\text{g/L}$; 2) l'acébutolol, l'aténolol, le sotalol, le sulfaméthoxazole, la roxithromycine, la caféine, la carbamazépine, l'ibuprofène, le kétoprofène, le naproxène, le diclofénac, le gemfibrozil et la théophylline, quantifiés dans des gammes de concentrations allant du centième de $\mu\text{g/L}$ à la dizaine de $\mu\text{g/L}$; 3) le paracétamol et l'aspirine, quantifiés à des concentrations de l'ordre de la centaine de $\mu\text{g/L}$ (figure 2). Ces niveaux de concentrations sont relativement bien corrélés aux quantités de médicaments consommés en France selon les informations connues (Besse et Garric, 2007).

En aval de traitements secondaires, seulement deux groupes de substances sont distingués : 1) 66% des substances pharmaceutiques sont quantifiées à des concentrations inférieures au $\mu\text{g/L}$; 2) l'acébutolol, l'aténolol, le sotalol, le sulfaméthoxazole, la roxithromycine, la caféine, la carbamazépine, l'ibuprofène, le paracétamol, le kétoprofène, le naproxène, le diclofénac et la théophylline, quantifiés dans des gammes de concentrations allant de quelques dixièmes de $\mu\text{g/L}$ à quelques $\mu\text{g/L}$ (figure 3).

En comparant les concentrations en entrée et en sortie de traitements secondaires, il est mis en évidence que les procédés d'épuration secondaires permettent une « bonne »

élimination des substances pharmaceutiques, sans éliminer totalement ces substances. Le paracétamol et l'aspirine quantifiés à des concentrations moyennes de 178,7 et 128,7 $\mu\text{g/L}$, respectivement, dans les eaux usées brutes, sont retrouvés en sortie de traitements secondaires à des concentrations moyennes de 0,121 et 0,210 $\mu\text{g/L}$, respectivement (figures 2 et 3). Toutes les substances pharmaceutiques ayant une concentration moyenne supérieure au $\mu\text{g/L}$ en entrée de STEP sont retrouvées à des concentrations moyennes inférieures au $\mu\text{g/L}$ en sortie. Cependant les concentrations de la carbamazépine et dans une moindre mesure celles du diclofénac et du sotalol restent stables.

Deux types de traitements tertiaires ont été étudiés lors de ces différentes campagnes : les traitements d'affinage (décantation rapide, filtration sur sable et lagunage tertiaire) et les traitements avancés (ozonation, filtration sur charbon actif et osmose inverse). La figure 4 met en évidence que les traitements tertiaires appliquent une élimination plus poussée des substances pharmaceutiques. Les concentrations moyennes de la plupart des substances mesurées après traitements secondaires sont diminuées, y compris celles de la carbamazépine, du diclofénac et du sotalol. Cette diminution des concentrations est plus grande après traitements tertiaires avancés (par rapport aux traitements d'affinage) où les concentrations moyennes sont de l'ordre du dixième de $\mu\text{g/L}$, sauf pour le kétoprofène et l'aspirine qui ont une concentration moyenne de 0,143 et 0,167 $\mu\text{g/L}$, respectivement.

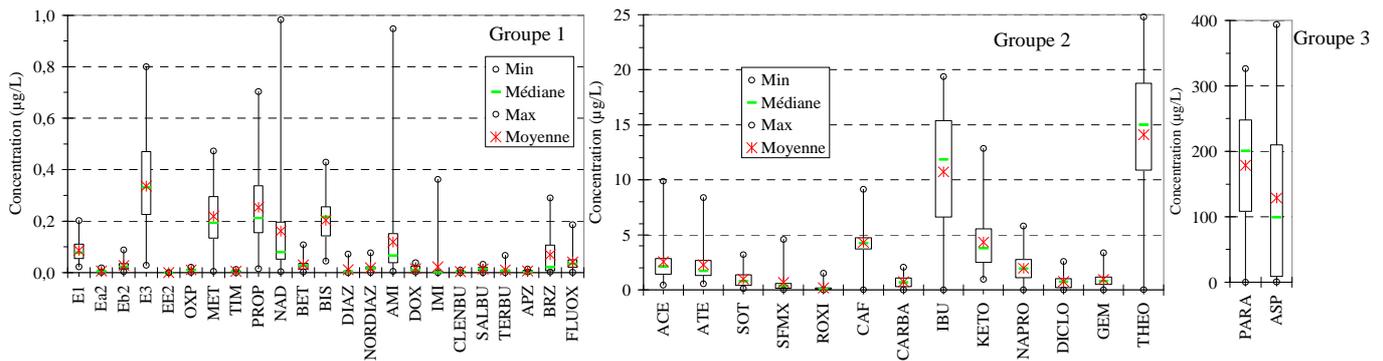


Figure 2 : Gamme de concentrations de substances pharmaceutiques quantifiées dans les eaux usées brutes

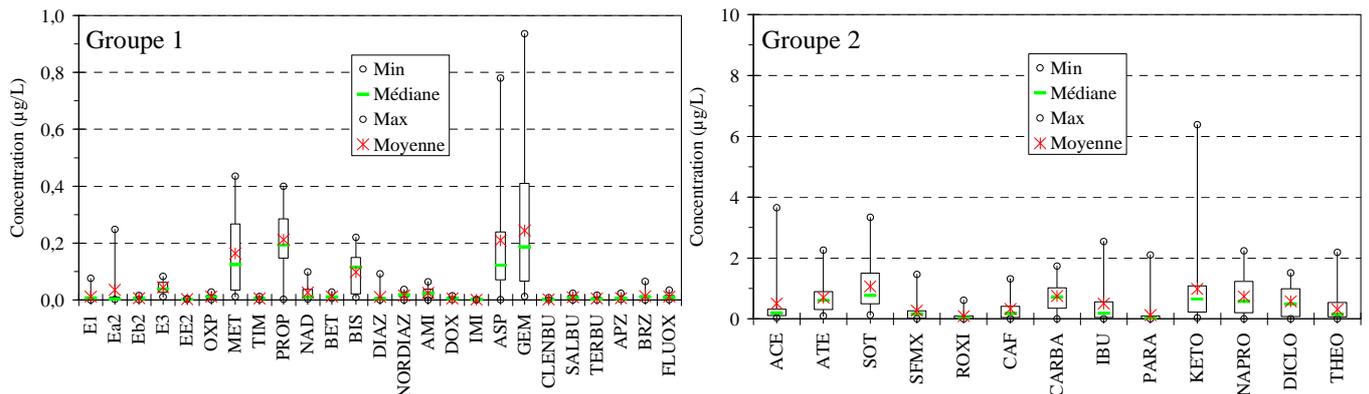


Figure 3 : Gamme de concentrations de substances pharmaceutiques quantifiées dans les eaux traitées secondaires

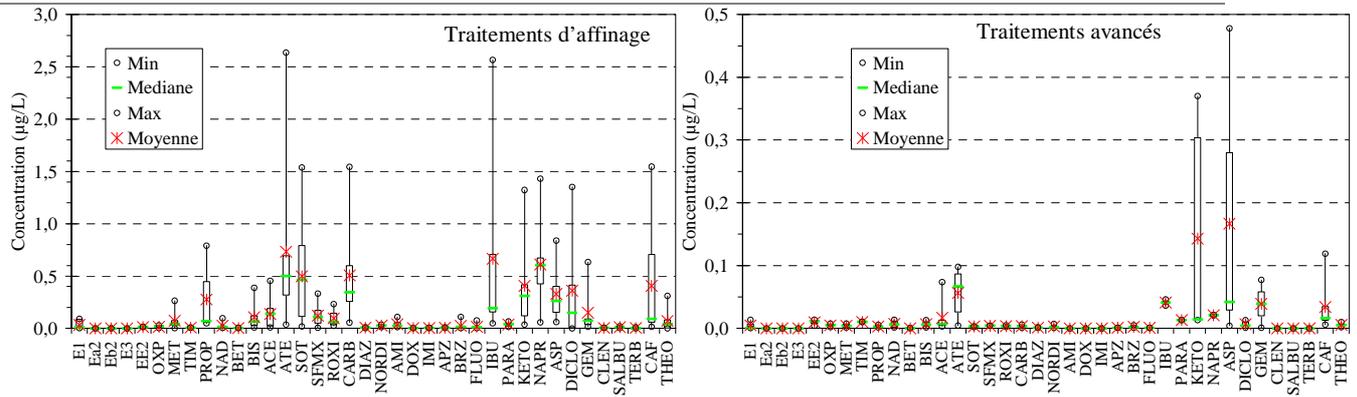


Figure 4 : Gamme de concentrations des substances pharmaceutiques quantifiées dans les eaux traitées tertiaires

IV.3 Variabilité inter-journalière sur une même STEP

La variabilité inter-journalière des concentrations mesurées sur trois jours dans les échantillons d'eau prélevés dans la station d'épuration SE1 décrit par Choubert *et al.* (2011) est présentée en figure 5 pour une sélection de substances. Lors des différentes campagnes, les prélèvements d'eau ont été effectués le plus possible par temps sec afin d'éviter les phénomènes de dilution. Cependant des précipitations ont eu lieu lors du troisième jour de prélèvement dans la station SE1, ce qui peut amener à une plus grande variabilité.

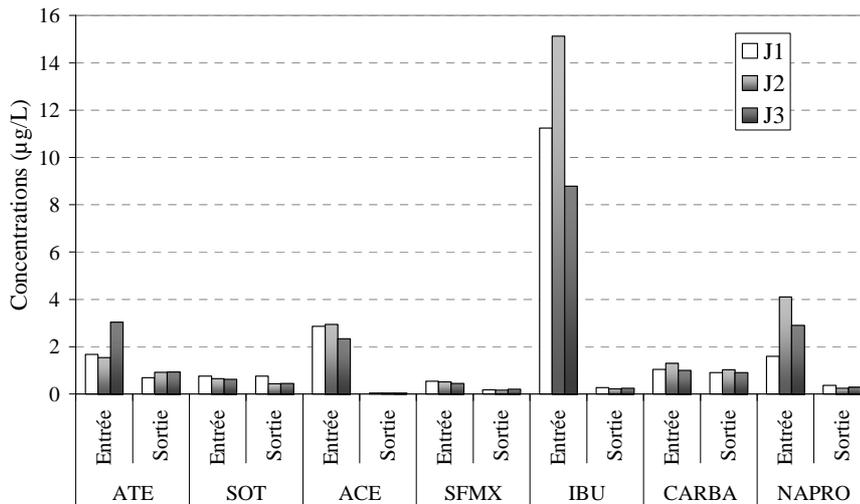


Figure 5 : Variabilité des concentrations totales d'une sélection de substances pendant trois jours consécutifs de prélèvement pour une même STEP (SE1)

Dans cette station, les œstrogènes, les antibiotiques et la plupart des bêtabloquants, ont une faible variabilité inter-journalière des concentrations mesurées dans les échantillons d'eau : entre 1 et 35% en entrée de STEP et entre 2 et 39% en sortie de STEP. Seuls l'aténolol en entrée de STEP et le sotalol en sortie de STEP présentent des variabilités légèrement plus importantes (20 et 39%, respectivement) (figure 5). La variabilité du sulfaméthoxazole est similaire en entrée et sortie, 10% environ (figure 5). La variabilité inter-journalière pour les antidépresseurs est comprise entre 13 et 140% en entrée et comprise entre 4 et 47% en sortie. En ce qui concerne les anti-inflammatoires, la variabilité en entrée est comprise entre 16 et 63% (63% pour le naproxène), et entre 2 et 78% en sortie (78% pour l'aspirine). Les

bronchodilatateurs, le gemfibrozil, la théophylline et la caféine ont une variabilité en entrée et sortie de STEP inférieure à 20%.

IV.4 Variabilité inter-STEP

La variabilité inter-STEP des concentrations en entrée de STEP est élevée : elle est en moyenne de 91% (toutes substances confondues) et varie entre 39 et 347%. Ces variabilités sont calculées sur l'ensemble des STEP étudiées pendant le projet AMPERES. Les apports de substances sont très variables pour chaque STEP et dépendent de la nature des effluents (nombre d'équivalent habitant ; zone rurale/ urbaine, hôpitaux, maison de retraite ou autres connectés au réseau ; période de l'année).

Dans les eaux traitées secondaires, la variabilité est en moyenne de 105% et varie de 45 à 306%. Et, dans les eaux traitées tertiaires, elle est en moyenne de 92% et varie de 6 à 210%. Cette importante variabilité ne peut être clairement expliquée. Cependant la différence de procédés mis en œuvre dans ces STEP, certains plus efficaces que d'autres sur les micropolluants (notamment les traitements tertiaires), la concentration des substances en entrée de STEP et l'incertitude analytique (plus importante lorsque les concentrations quantifiées sont proches des LQ) peuvent jouer un rôle.

IV.5 Différences entre STEP des zones urbaines et rurales

Comme le montre la figure 6, trois gammes de concentrations dans les eaux usées brutes sont mises en évidence autant pour les STEP urbaines que les rurales : 1) 60% des substances pharmaceutiques dont les concentrations sont inférieures au $\mu\text{g/L}$; 2) l'acébutolol, l'aténolol, le sotalol, le sulfaméthoxazole, la roxithromycine, la carbamazépine, l'ibuprofène, le kétoprofène, le naproxène, le diclofénac, le gemfibrozil, la caféine et la théophylline sont quantifiés dans des gammes de concentrations allant du $\mu\text{g/L}$ à la dizaine de $\mu\text{g/L}$; 3) le paracétamol et l'aspirine dont les concentrations sont de l'ordre de la centaine de $\mu\text{g/L}$. Il n'y a pas de différence significative et les profils de contamination sont approximativement les mêmes pour les STEP situées en zones urbaines et rurales.

Cependant, l'oxprénolol qui est quantifié dans plus de 60% des STEP situées en zone urbaine (de 0,007 à 0,018 $\mu\text{g/L}$) est seulement quantifié dans une des 6 STEP rurales étudiées (0,001 $\mu\text{g/L}$). Le bêtaxolol quantifié dans 90% des STEP situées en zone urbaine (de 0,007 à 0,051 $\mu\text{g/L}$) est quantifié dans seulement 30% des STEP situées en zone rurale (de 0,030 à 0,108 $\mu\text{g/L}$).

La variabilité des concentrations semble être légèrement plus élevée pour les STEP situées en zone rurale pour l'œstriol, le métoprolol, le nadolol, le bisoprolol, l'acébutolol, l'aténolol, le kétoprofène, la théophylline, l'aspirine et le sulfaméthoxazole.

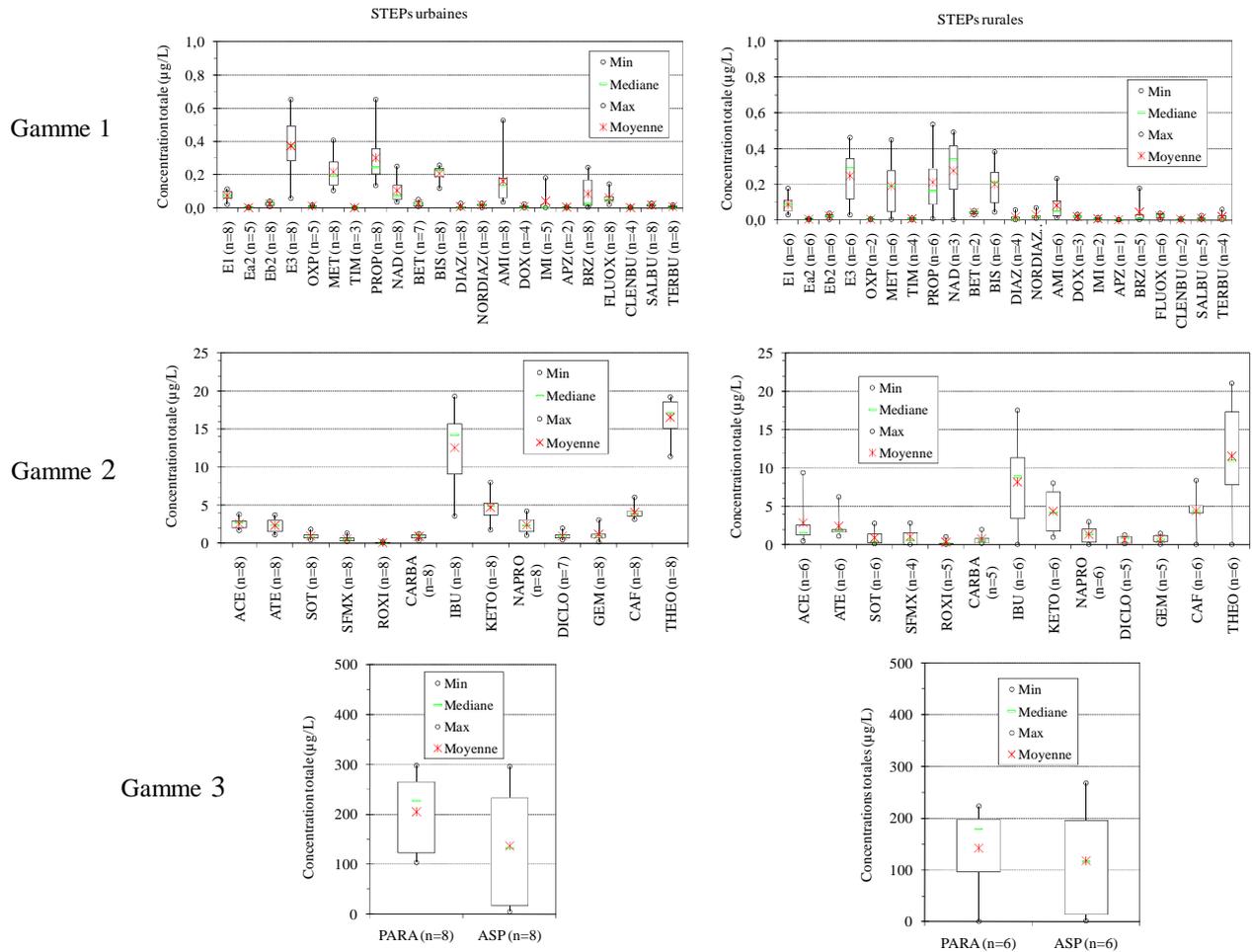


Figure 6 : Comparaison des concentrations dans les eaux usées brutes entre STEP urbaines et rurales

IV.6 Partition dissous/particulaire

Il n'y a aucune données sur la partition dissous/particulaire pour les antibiotiques et seulement sur deux stations d'épuration pour les hormones et les bêtabloquants, car seule la phase dissoute a été analysée.

Les hormones et les bêtabloquants ont été mesurés dans la phase particulaire dans les STEP CA2 et SE1. Les résultats obtenus montrent que la majeure partie des hormones se concentre dans la phase dissoute. En effet, que ce soit pour les eaux usées brutes ou traitées, plus de 90% des hormones sont généralement présentes sous forme dissoute (87 à 100% dans les influents et 90 à 99% dans les effluents). Cette observation est en accord avec la littérature qui met en évidence qu'en général, plus de 90% des œstrogènes étudiés (l'œstrone, la 17 α -œstradiol, 17 β -œstradiol et la 17 α -éthyniloœstradiol) se trouvent dans la phase dissoute (Janex-Habibi *et al.*, 2009). La plupart des bêtabloquants étudiés est majoritairement présente dans la phase dissoute en entrée et sortie de STEP (86 à 100%). Ces résultats s'expliquent par le caractère relativement hydrophile des substances étudiées pour lesquelles les valeurs de log Kow sont comprises entre 2,45 et 4,01 pour les œstrogènes et entre -0,03 et 3,26 pour les bêtabloquants.

Les résultats pour les autres substances pharmaceutiques sont présentés dans la figure 7. En entrée de STEP, le paracétamol, le salbutamol, la théophylline, la carbamazépine, la caféine, la terbutaline, le nordiazépam et le diazépam sont principalement quantifiés dans la

phase dissoute (>70%). L'amitriptyline, le bromazépam, la doxépine et la fluoxétine sont quantifiés à environ 50% dans la phase dissoute. Ces résultats sont directement corrélés aux valeurs de $\log K_{OW}$. Les substances quantifiées majoritairement dans la phase dissoute (>70%) ont un caractère hydrophile avec des valeurs de $\log K_{OW}$ comprises entre -0,39 et 2,87 ; alors que les autres substances sont plus hydrophobes ($\log K_{OW}$ compris entre 3,99 et 4,95) à l'exception du bromazépam considéré comme hydrophile ($\log K_{OW}$ de 1,93). Cependant, on observe une grande variabilité de cette partition du fait de la nature des eaux usées brutes, souvent différentes en fonction des réseaux d'assainissement, et de la faible teneur en substance des particules ; aussi, les concentrations sont souvent proches des LQ et l'incertitude analytique est plus élevée.

En sortie de traitement secondaire, toutes les substances sont quantifiées principalement dans la phase dissoute (> 70%), sauf la terbutaline et la fluoxétine quantifiées à environ 60% dans la phase dissoute (mais avec une variabilité très forte pour ces deux molécules) et le bromazépam quantifié principalement dans la phase particulaire. Ces résultats sont corrélés d'une part, à l'élimination des particules lors des traitements secondaires et d'autre part, à l'hydrophobicité des substances. Cependant la terbutaline et le bromazépam sont des substances plutôt hydrophiles et sont majoritairement retrouvées dans la phase particulaire. De plus, il y a une variabilité plus importante pour les mêmes raisons qu'en entrée de STEP, et aussi du fait de l'élimination des particules lors des traitements secondaires, ce qui engendre des incertitudes analytiques plus élevées et des concentrations mesurées inférieures à la LQ pour plusieurs substances.

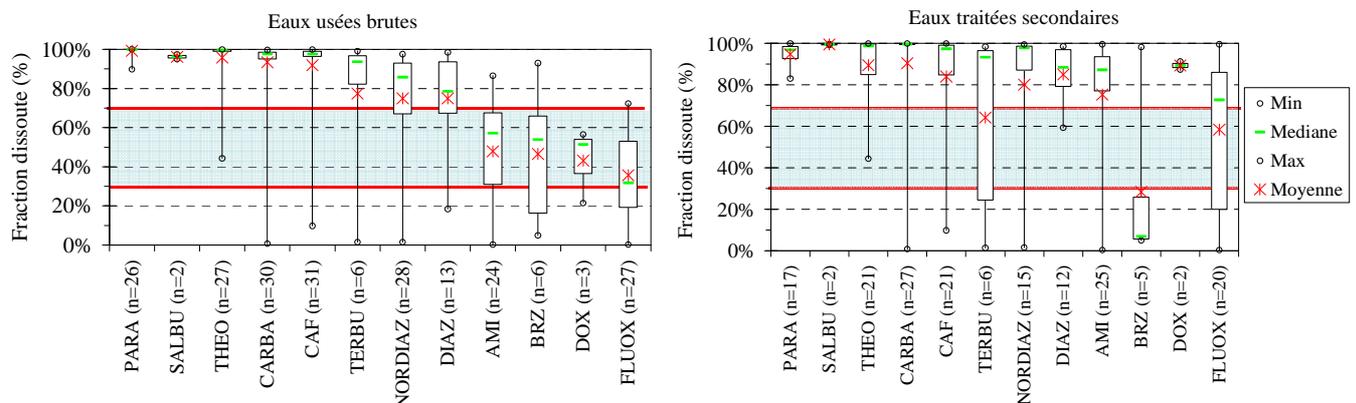


Figure 7 : Pourcentage de la fraction dissoute dans les eaux usées brutes et les eaux traitées secondaires

IV.7 Concentration dans les boues

L'analyse des boues a été faite sur 17 boues traitées. L'acébutolol et le propranolol sont retrouvés le plus fréquemment (98% des échantillons) et avec des teneurs moyennes de 78 et 126 ng/g, respectivement ; ces molécules correspondent (avec l'aténolol et le sotalol) aux bêtabloquants les plus concentrés dans la phase dissoute des eaux de STEP (influent et effluent). L'aténolol et le sotalol étant plus hydrophiles ($\log K_{ow} < 0,37$), il n'est pas surprenant de les retrouver à de plus faibles teneurs dans les boues (teneurs moyennes de 49 et 15 ng/g, respectivement et fréquence de quantification de 64 et 97%, respectivement). Suit l'œstrone quantifiée dans 91% des échantillons analysés à une teneur moyenne de 29 ng/g. La carbamazépine et l'amitriptyline sont quantifiés dans 78% des échantillons à des teneurs moyennes de 85 et 195 ng/g, respectivement. Suivent le nordiazépam quantifié dans 72% des échantillons analysés à une teneur moyenne de 12 ng/g, la caféine, l'ibuprofène, et la fluoxétine sont quantifiés dans 67% des cas à des teneurs moyennes de 245, 245 et 104 ng/g,

respectivement, et la théophylline quantifiée dans 61% des échantillons à une teneur moyenne de 160 ng/g. Les autres substances sont quantifiées dans moins de 50% des échantillons à des teneurs moyennes souvent inférieures à la centaine de ng/g, à l'exception de l'aspirine et du kétoprofène (quantifiés dans 33% et 28% des échantillons, respectivement) qui ont des teneurs moyennes de 7985 et 3799 ng/g. Les substances quantifiées aux concentrations les plus fortes dans les boues sont les mêmes que celles les plus concentrées dans la phase dissoute et ce sont les substances les plus hydrophobes.

IV.8 Rendement d'élimination

Trois catégories de rendement ont été choisies avec des codes couleurs associées : 1) les rendements inférieurs à 30%, représentés par le rouge ; 2) les rendements compris entre 30 et 70%, représentés par la couleur orange ; 3) les rendements supérieurs à 70%, représentés par le couleur verte.

IV.8.1 Traitements primaires

Les rendements moyens obtenus avec une étape de décantation primaire simple ou de décantation primaire avec traitement physico-chimique sont donnés dans le tableau 2. La filière primaire ne permet pas d'éliminer les substances pharmaceutiques sauf pour l'imipramine. Après la décantation primaire simple, 26% des rendements sont non calculables et 68% sont inférieurs à 30%. Il n'y a pas d'amélioration significative après ajout de réactif physico-chimique, 16% des rendements ne sont pas calculables, 74% sont inférieurs à 30% et 11% sont compris entre 30 et 70% (l'éthinylœstradiol, l'amitriptyline, l'alprazolam et la fluoxétine).

IV.8.2 Traitement secondaire : cas des boues activées aération prolongée

Il y a une nette augmentation des rendements d'élimination lors de l'application d'un traitement secondaire de type boues activées aération prolongée. Les rendements d'élimination ont pu être calculés pour 95% des substances pharmaceutiques pour les traitements secondaires par boues activées aération prolongée : 50% sont supérieurs à 70%, 21% sont compris entre 70 et 30% et 24% sont inférieurs à 30%. Les rendements ne sont pas calculables pour l'éthinylœstradiol qui n'est pas quantifiée dans les eaux usées brutes, et l'alprazolam dont les concentrations sont proches des LQ (cas n°3 définis dans Choubert et al., 2011). Pour l'oxprénolol, la carbamazépine, le diazépam et le nordiazépam, les rendements calculés sont négatifs à cause de concentrations en sortie supérieures à celles quantifiées en entrée, en raison de la dégradation des substances ou des formes conjuguées.

Le tableau 2 présente les rendements moyens (sur 6 STEP) de la filière eau après les traitements à boues activées, ainsi que l'écart type des rendements autour de la moyenne.

Sur une totalité de 38 substances pharmaceutiques, 19 ont des rendements d'élimination supérieurs à 70% dont l'œstrone, le 17 α -œstradiol, le 17 β -œstradiol, l'œstriol, le nadolol, le bêtaxolol, le bisoprolol, l'acébutolol, l'imipramine, le bromazépam, l'ibuprofène le paracétamol, le kétoprofène, le naproxène, l'aspirine, le gemfibrozil, le clenbutérol, la caféine et la théophylline. Parmi ces substances, 10 ont des concentrations après traitement supérieures au centième de $\mu\text{g/L}$. Les rendements d'élimination du métoprolol, du timolol, de

Tableau 2 : Rendements d'élimination (%) (valeur moyenne et écart-type) pour les filières eau (décantation primaire et boues activées aération prolongée)

rendements inférieurs à 30% comme l'oxprénolol, le propranolol, le sotalol, la carbamazépine, le diazépam, le nordiazépam, le diclofénac, le salbutamol et la terbutaline. Parmi ces substances, trois ont des concentrations après traitement supérieures au centième de µg/L.

Cependant pour 10 substances pharmaceutiques (métoprolol, aténolol, roxithromycine, carbamazépine, nordiazépam, kétoprofène, diclofénac, terbutaline, bromazépam et fluoxétine) il existe une grande variabilité sur les rendements d'élimination avec des écarts type supérieurs à 20%. De ce fait les écarts types des rendements recouvrent parfois plusieurs gammes. Par exemple, l'écart type des rendements de la fluoxétine se trouve sur les trois gammes de rendement définies. Cette variabilité peut être due aux paramètres opérationnels des STEP à boues activées, mais également aux incertitudes analytiques, dont l'influence est la plus importante pour la gamme de rendement d'élimination intermédiaire 30-70% (Choubert et al., 2011).

IV.8.3 Traitements tertiaires

Les rendements n'ont pas pu être calculés pour plusieurs substances (17α-œstradiol, 17β-œstradiol, bêtaxolol, doxépine, imipramine et clenbutérol) pour les six traitements tertiaires présentés dans le tableau 3. Leurs concentrations en sortie de traitement tertiaires sont proches des LQ.

Comme énoncé précédemment, les rendements sont classés en trois catégories : inférieurs à 30%, compris entre 30 et 70% et supérieurs à 70%.

Les traitements d'affinage comme la décantation rapide, la filtration sur sable et le lagunage n'apportent généralement pas un complément d'élimination par rapport aux traitements secondaires. Dans le cas de la décantation rapide, seules 4 substances ont des rendements d'élimination supérieurs à 30% (paracétamol, diclofénac, gemfibrozil et théophylline) ; après la filtration sur sable, seules 4 substances ont des rendements d'élimination supérieurs à 30% (oxprénolol, propranolol, bromazépam et gemfibrozil) ; et après le lagunage, seules 7 substances ont des rendements supérieurs à 30% (bisoprolol, aténolol, sotalol, fluoxétine, paracétamol, diclofénac et salbutamol) et 3 ont des rendements d'élimination supérieurs à 70% (propranolol, roxithromycine et kétoprofène).

Les différents traitements tertiaires avancés étudiés s'avèrent être très performants en ce qui concerne l'élimination des substances pharmaceutiques avec 53% des substances éliminées à plus de 70%. Cependant, après l'osmose inverse, l'œstrone est éliminée à moins de 30%, alors que l'éthynilœstradiol et l'oxprénolol ont des rendements d'élimination compris entre 30 et 70% ; après l'ozonation, l'aspirine est éliminée à moins de 30%, le nordiazépam et la caféine ont des rendements d'élimination compris entre 30 et 70% ; et après filtration sur charbon actif, l'éthynilœstradiol est éliminé à moins de 30%, le timolol et le nadolol ont des rendements d'élimination compris entre 30 et 70%.

Tableau 3 : Rendements d'élimination complémentaire (%) de la filière eau par traitements tertiaires

Classes thérapeutiques	Substances	Traitements tertiaires d'affinage			Traitements tertiaires avancés		
		Décantation rapide	Filtration sur sable	Lagunage de finition	Ozonation	Filtration sur charbon actif	Osmose inverse
Hormones oestrogéniques	œstrone						
	17 α -œstradiol	-	-	-	-	-	-
	17 β -œstradiol	-	-	-	-	-	-
	œstriol			-	-	-	-
	éthinyloœstradiol		-	-	-		
Bétabloquants	oxprénolol			-			
	métoprolol						
	timolol						
	propranolol						
	nadolol			-			
	bêtaxolol	-	-	-	-	-	-
	bisoprolol						
	acébutolol						
	aténolol						
	sotalol						
Antibiotiques	sulfaméthoxazole						
	roxithromycine						
Antidépresseurs	carbamazépine						
	diazépam			-	-		
	nordiazépam						
	amitriptyline						
	doxépine	-	-	-	-	-	-
	imipramine	-	-	-	-	-	-
	alprazolam			-	-		
	bromazépine			-			-
fluoxétine							
Anti-inflammatoires	ibuprofène						
	paracétamol						-
	kétoprofène						
	naproxène						
	aspirine						
	diclofénac						
Hypolipémiant	gemfibrozil			-			
Bronchodilatateurs	clenbutérol	-	-	-	-	-	-
	salbutamol						
	terbutaline			-			-
Autres	caféine						
	théophylline						

V. Conclusion et perspectives

Lors de cette étude, les eaux usées brutes, les eaux traitées et les boues de sortie ont été étudiées pour 21 stations d'épuration. Les substances pharmaceutiques ont été quantifiées dans la majorité des prélèvements effectués, cependant celles-ci sont présentes à des concentrations inférieures au $\mu\text{g/L}$, à l'exception de l'aspirine, du paracétamol, de l'ibuprofène, de la caféine, de la théophylline et du kétoprofène, pour lesquels les concentrations vont de la dizaine à la centaine de $\mu\text{g/L}$ dans les eaux usées brutes. Ces substances sont principalement présentes

dans la phase dissoute (faiblement absorbées sur la phase particulaire) et sont retrouvées à des faibles teneurs dans les boues « traitées » issues des filières boues de ces stations d'épuration (entre 1 et 245 ng/g), sauf pour l'aspirine et le kétoprofène (7985 et 3799 ng/g, respectivement).

Des rendements d'élimination ont été calculés et mettent en évidence une efficacité croissante lors de l'application des procédés primaires, secondaires, puis tertiaires. Les procédés primaires n'atteignent généralement qu'une faible élimination des substances pharmaceutiques, avec des rendements inférieurs à 30%. Les traitements biologiques secondaires type boues activées aération prolongée imposent des rendements supérieurs à 70% pour 50% des substances pharmaceutiques étudiées. Les stations d'épuration actuellement mises en œuvre n'ont pas été conçues pour éliminer les micropolluants organiques présents dans les systèmes aquatiques tels que les substances pharmaceutiques, les hormones naturelles ou de synthèse, composés de plus en plus utilisés associés à un mode de vie et de société. Néanmoins l'ajout de procédés tertiaires avancés comme l'osmose inverse, l'ozonation ou encore la filtration sur charbon actif pourrait intensifier l'élimination des substances pharmaceutiques, par exemple l'œstrone, l'éthinylœstradiol, l'aspirine, la caféine et l'oxprénolol. Cependant ces installations restent encore marginales dans le domaine de l'assainissement en France, du fait de leurs coûts et du développement limité de la ré-utilisation d'eaux usées dans nos régions. Ainsi, les problèmes posés par ces substances émergentes dont les effets au niveau des écosystèmes aquatiques sont encore peu connus, pourraient se manifester à de très faibles concentrations et être amplifiés par des phénomènes de synergie et pourraient à l'avenir se révéler de première importance, surtout si certaines d'entre elles s'avèrent persistantes et bio-accumulables.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'ANR PRECODD pour son soutien financier au projet AMPERES.

Référence

- AFFSAPS (2003). Analyse des ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux en France 1991-2001. Troisième édition.
- Besse J. P. et Garric J. (2007). Médicaments à usage humain : risques d'exposition et effets sur les milieux récepteurs, Rapport Phase 1, Proposition d'une liste de médicaments à usage humain à surveiller dans les eaux de surfaces continentales. Lyon, Cemagref.
- Choubert J.M., Martin-Ruel S., Budzinski, H., Miège, C., Esperanza, M., Lagarrigue, C., Coquery M. (2011). Rendements d'élimination de micropolluants par les filières d'épuration conventionnelles et avancées : apports méthodologiques et résultats du projet de recherche AMPERES. *Techniques Sciences et Méthodes*. 1/2: 44-62.
- Choubert J.M., Martin-Ruel S., Coquery M. (2009). Prélèvement et échantillonnage des substances prioritaires et émergentes dans les eaux usées: Les prescriptions techniques du projet de recherche AMPERES. *Techniques Sciences et Méthodes*, 4, 88-101.
- Communauté européenne (2000). 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, Journal officiel no L327 du 22/12/2000, 1-73.
- Coquery M., Pomiès M., Martin-Ruel S., Budzinski H., Miège C., Esperanza M., Soulier C., Choubert J.M. (2011). Concentrations et flux de micropolluants dans les eaux usées brutes et les rejets de stations d'épuration : méthodologie et principaux résultats du projet AMPERES. *Techniques Sciences et Méthodes*. 1/2: 25-43.
- Czajka C. P. et Londry K. L. (2006). Anaerobic biotransformation of estrogens. *Science of the Total Environment* 367 (2-3), 932-941.
- Detroyer A., Heyden Y. V., Carda-Broch S., Garcia-Alvarez-Coque M. C. et Massart D. L. (2001) Quantitative structure-retention and retention-activity relationships of beta-blocking agents by micellar liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 912 (2), 211-221.
- Fent K., Weston A. A. et Caminada D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals (vol 76, pg 122, 2006). *Aquatic Toxicology* 78 (2), 207-207.
- Gabet-Giraud V., Miège C., Herbreteau B., Hernandez-Raquet G., Coquery M. (2010). Development and validation of an analytical method by LC-MSMS for the quantification of estrogens in sewage sludge. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396, 1841-1851.
- Göbel A, McArdell C.S, Suter M, Giger W. (2004). Trace determination of macrolide and sulphonamide antimicrobials, a human sulphonamide metabolite and trimethoprim in wastewater using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 76, 4756-4764
- Hernando M. D., Gomez M. J., Aguera A. et Fernandez-Alba A. R. (2007). LC-MS analysis of basic pharmaceuticals (beta-blockers and anti-ulcer agents) in wastewater and surface water. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 26 (6), 581-594.

- Janex-Habibi M. L., Huyard A., Esperanza M. et Bruchet A. (2009) Reduction of endocrine disruptor emissions in the environment: The benefit of wastewater treatment. *Water Research*, 43 (6), 1565-1576.
- Miège C., Bados P., Brosse C., Coquery M. (2009b). Method validation for the analysis of estrogens (including conjugated compounds) in various aqueous matrices. *Trends in Analytical Chemistry*, 28 (2), 237-244.
- Miege C., Choubert J. M., Ribeiro L., Eusebe M. et Coquery M. (2009a). Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants - Conception of a database and first results. *Environmental Pollution*, 157 (5), 1721-1726.
- Ternes T. A. et Joss A. (2006). Human Pharmaceuticals, Hormones and Fragrances: The challenge of micropollutants in urban water management. IWA Publishing.
- Ternes T. A., Kreckel P. et Mueller J. (1999). Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Science of the Total Environment*, 225 (1-2), 91-99.

Publication 3 : Présence et devenir des
composés organiques dans les stations
d'épuration françaises -
Partie II : les composés
pharmaceutiques

Présence et devenir des micropolluants organiques dans les stations d'épurations françaises- Partie II : les composés pharmaceutiques

C. Soulier⁽¹⁾, J.M. Choubert⁽²⁾, S. Lardy⁽¹⁾, K. LeMenach⁽¹⁾, P. Pardon⁽¹⁾, M.H. Devier⁽¹⁾, S. Martin-ruel⁽³⁾, M. Coquery⁽²⁾, H. Budzinski⁽¹⁾

⁽¹⁾ Université Bordeaux 1, EPOC-LPTC, UMR CNRS 5805, 351 Cours de la Libération, 33405 Talence Cedex (France)

⁽²⁾ IRSTEA, UR MALY, 5 rue de la Doua, CS 70077, 69626 VILLEURBANNE Cedex (France)

⁽³⁾ Cirsee, Suez Environnement, 38 rue du Président Wilson, 78230 Le Pecq (France)

Contact:

Hélène Budzinski: Tel.: 33 5 56 84 69 98; Fax: 33 5 56 84 69 98.

e-mail: h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

Résumé

Cette publication a pour objectif de faire un inventaire concernant la présence et le devenir des composés pharmaceutiques dans les stations d'épuration (STEP) françaises. Ces composés sont d'origine anthropique, leur présence dans les systèmes aquatiques est principalement due aux rejets domestiques. Les traitements appliqués dans les STEP ont été conçus dans le but d'assainir les eaux usées en paramètres majeurs tels que le taux de matière en suspension, le carbone et l'azote, et non pour éliminer les composés organiques qui y sont présentes. De ce fait, dans le cadre du projet AMPERES, 21 STEP ont été étudiées dans le but d'acquérir et/ ou d'améliorer les connaissances sur l'efficacité des différents traitements appliqués (primaires, secondaires et/ ou tertiaires) vis-à-vis des composés pharmaceutiques.

La première partie de ces travaux consistait à développer une méthodologie analytique fiable et robuste permettant d'extraire et d'analyser ces composés dans des matrices complexes que sont les eaux usées et traitées ainsi que les boues. La seconde partie était d'évaluer leur efficacité d'élimination lors des différents traitements appliqués dans les STEP étudiées et ainsi approfondir les connaissances sur leur devenir.

Une méthodologie analytique a été mise en place et validée pour l'extraction et l'analyse de matrices dissoutes et solides (matières en suspension et boues) issues des STEP.

Tous les composés pharmaceutiques étudiés ont été quantifiés dans les différents échantillons à des concentrations plus ou moins élevées, de quelques ng.L⁻¹ à plusieurs centaines de µg.L⁻¹. Les composés les plus présents sont ceux non soumis à prescription médicale comme l'aspirine, l'ibuprofène, le paracétamol, la théophylline ou encore la caféine. Ces composés ont principalement été quantifiés dans la phase dissoute et en très faible concentrations dans les boues (quelques ng.g⁻¹ de masse sèche). Ces composés sont bien éliminés (à hauteur de 70 % à 80 %) lors des traitements secondaires à boues activées, procédés majoritaires dans les STEP françaises. Seule la carbamazépine et dans une moindre

mesure le diclofénac sont des composés récalcitrants après les traitements secondaires. Dans la majorité des cas, l'efficacité d'élimination des composés pharmaceutiques après les traitements secondaires suit les tendances : traitement du carbone seul < traitement du carbone et de l'azote avec faible de temps de résidence < traitement (C+N) avec long temps de résidence < traitement (C+N) avec faible taux de matière en suspension. Le procédé par bioréacteur à membrane est le traitement secondaire le plus efficace vis-à-vis de l'élimination de ces composés. Une dernière étape de traitement, utilisant des traitements tertiaires avancés (osmose inverse, ozonation ou encore filtration sur charbon actif), permet d'améliorer cette efficacité y compris pour les composés récalcitrants (carbamazépine et diclofénac).

Occurrence and fate of organic micropollutants in french wastewater treatment plants- Part II: Pharmaceutical compounds

C. Soulier⁽¹⁾, J.M. Choubert⁽²⁾, S. Lardy⁽¹⁾, K. LeMenach⁽¹⁾, P. Pardon⁽¹⁾, M.H. Devier⁽¹⁾, S. Martin-ruel⁽³⁾, M. Coquery⁽²⁾, H. Budzinski⁽¹⁾

⁽¹⁾ Univ. Bordeaux, EPOC-LPTC, UMR CNRS 5805, F- 33400 Talence (France)

⁽²⁾ IRSTEA, UR MALY, 5 rue de la Doua, CS 70077, 69626 VILLEURBANNE Cedex (France)

⁽³⁾ Cirsee, Suez Environnement, 38 rue du Président Wilson, 78230 Le Pecq (France)

Corresponding author:

Hélène Budzinski: Tel.: 33 5 56 84 69 98; Fax: 33 5 56 84 69 98.

e-mail address: h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

Abstract

Within the framework of the AMPERES project, research work was conducted on different French wastewater treatment plants (WWTPs) in order to measure the composition of raw/treated wastewaters and sludges regarding pharmaceutical compounds (PhACs), to determine the partitioning between dissolved and particulate phases and to estimate their elimination in WWTPs. Thus an inventory of the fate of PhACs in various treatments (primary, secondary and tertiary) was done according to the elimination of major parameters (carbon nitrogen and suspended particle matter).

The analysis of these compounds in aqueous and particulate phases, as well as in sludges, was performed by powerful methodologies using Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry. Analytical developments permitted to detect these compounds at very low concentrations minimizing efficiently matrix effects associated to this type of matrices.

All studied compounds were quantified at concentrations in the range of hundreds of ng.L⁻¹ up to µg.L⁻¹ in raw wastewaters. PhACs were shown generally to be efficiently removed about 70 % by secondary treatment or more depending on applied treatment in WWTPs. Nevertheless some of them were poorly removed: concentrations of carbamazepine and to a lesser extent of diclofenac, remain stable along the treatments and are not efficiently removed. Preliminary tertiary treatments such as polishing pond, sand filtration or high rate chemical settler processes had low effect on removal efficiency of PhACs. However activated carbon and reverse osmosis processes used as advanced tertiary treatments allowed better removal efficiency for all studied PhACs including carbamazepine and diclofenac. Majority of PhACs were quantified in treated sludge samples at concentrations lower than hundredths

$\mu\text{g.g}^{-1}$ of dry weight (dw). Aspirin concentration was quantified at highest level in treated sludge samples ($1.267 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw).

I. Introduction

Since the Water Framework Directive (2000/60/EC, WFD) was adopted by the European Union, their member states must gradually reduce the discharge of substances classified as "priority" and phase out substances classified as "priority hazardous". These substances are 56 and are listed and put different classes of compounds (pharmaceuticals compounds, hormones, alkylphenols polyethoxylates, etc.). These compounds are widely present in aquatic systems (Focazio et al., 2008, Loos et al., 2009, Miège et al., 2009, Zhang et al., 2011), are studied for more than 10 years now because of their proven occurrence and their potential effects such as endocrine disruption in aquatic organisms (Parrott et Blunt, 2005; Santos et al., 2010; Dupuis et al., 2012).

Pharmaceutical compounds (PhACs) are used extensively throughout the world. The increase of the permit to market of new drugs increases the number of active molecules with a specific biochemical action, some of which are still poorly understood. These compounds are released into the environment continuously through mainly domestic discharges (Daughton et Ternes, 1999). They are more or less stable depending on their chemical structure. Pharmaceutical compounds used for human or veterinary use are metabolized to make them more water-soluble molecules and facilitating their elimination via the liver or kidney. These compounds are both present under free and conjugated forms. The main way to reach the environment is the treated water discharged from wastewater treatment plants (WWTPs) in which there is a partial degradation, especially for carbamazepine, atenolol, oestrone and erythromycin (Castiglioni et al., 2006, Togola et Budzinski, 2008, Miège et al., 2009;). Hospital effluents are the other source of introduction of PhACs in the environment (Ort et al., 2010). These compounds have been already identified in influent, effluent and sludge of WWTPs (Miège et al., 2009).

To increase knowledge about the performance of processes used in WWTPs towards PhACs sampling campaigns were conducted in the AMPERES project. The dissolved phases, particulate phases and sludges were analyzed in raw and treated wastewaters of WWTPs. The choice of pharmaceutical compounds studied was carried out according to three criteria. Initially, the consumption data of pharmaceuticals for the French territory were discussed. It was found that the 100 most consumed drugs in France represented more than 50% of the total drug consumption. Among these compounds there are in particular antibiotics, anti-depressants, anti-inflammatory, lipid regulator and beta blockers. Then, their toxicity and impacts observed in previous studies were reviewed. Finally, concentration data of compounds in surface water were considered too. In this respect, anti-inflammatory, anti-depressant, beta blockers, estrogens, lipid regulator and other drugs were chosen for this study. The occurrence and removal rate of beta blockers and estrogens coming from the same study are detailed in another article (Gabet-Giraud et al., 2010). Estrogens, acebutolol and nodolol were well removed by biological processes; the removal rates of atenolol, betaxolol, bisoprolol and metoprolol ranged from 40 to 70 %; and sotalol and propranolol had removal rate below 20 %. The use of tertiary treatments like ozonation, reverse osmosis and activated carbon filtration allows improving the removal efficiency of beta blockers.

This study is the second part of series of two articles. The novelty of this study is that it provides a comprehensive inventory of the release of PhACs into the aquatic systems focusing on various compounds in dissolved and particulate phases and in sludges, and assesses their transformation occurring in treatment plants. This article focused on anti-depressant, anti-inflammatory, lipid regulator, bronchodilatator, caffeine and theophylline. Beta blockers behavior is treated in another article (Gabet-Giraud et al., 2010). Antibiotics have not focused in this study due to the necessity of a specific protocol for extraction and analysis.

II. Material and methods

II.1 *Chemicals and materials*

The list, the suppliers and the physico-chemical properties of PhACs and their internal standard are presented in table 1.

All solvent used were previously tested to determine the background level. Ethyl acetate (Multisolvant Grade HPLC ACS ISO UV VIS), acetone (Multisolvant Grade HPLC ACS ISO UV VIS) and acetonitrile (Baker, Ultra gradient HPLC) were purchased from Atlantic Labo (Bruges, France). Methanol (Gradient Grade Lichrosolv for HPLC) was purchased from VWR (Strasbourg, France). Hydrochloric acid 37% (Baker analysed) and Formic acid 98% (Baker analyzed) were purchased from Atlantic Labo (Bruges, France); dichloromethane from Fisher Bioblock Scientific (Illkirch, France); and ammonium hydroxide from Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). Ultrapure deionized water was obtained with a Milli-Q system (Millipore, Saint Quentin en Yvelines, France). 60 mg OASIS SPE cartridges were purchased from Waters (Saint Quentin en Yvelines, France). Whatman GFF glass filters (pore size 0.7 μm) were purchased from VWR (Strasbourg, France) and previously heated at 450°C for 6 hours prior to use.

Table 1 : List of studied compounds.

Therapeutic class	Compounds (abbreviation) Purity	Log K _{ow}	Type of transition	Transitions	Ratio Q/C	Fragmentor energy (V)	Collision energy (V)	Internal standards (abbreviation) Purity	Transitions	Fragmentor energy (V)	Collision energy (V)	Limits of quantification (LOQ)						
												Water (ng.L ⁻¹)	Sludge (µg.g ⁻¹ dw)					
Lipid regulator	Gemfibrozil ^a (GEM)	4.77	Q	249.2>120.8		90	12	Gemfibrozil d6 ^b (GEM d6) >99.7%	255.4>120.8	90	12	1	0.001					
			C	249.2>126.8		70	4											
Anti-depressant	Ibuprofen ^a (IBU)	3.79	Q	205.9>160.9		80	1	Ibuprofen d3 ^c (IBU d3) >99%	208.2>163.9	70	1	1	0.010					
	Aspirin ^a (ASP) >99.5%	1.13	Q	136.8>92.6		80	14											
			C	136.8>64.9		90	30					2	0.005					
	Ketoprofen ^a (KETO)	3.00	Q	253.2>209		60	1	Ketoprofen d3 ^b (KETO d3) >98.5%	256.2>212	60	1	1	0.100					
	Naproxen ^a (NAPRO)	3.10	Q	229.1>169.9		60	10	Naproxen d3 ^b (NAPROX d3) >99.9%	232.1>172.9	60	12	1	0.003					
			C	229.1>184.9		70	1											
	Diclofenac ^a (DICLO)	4.02	Q	294.1>249.9		90	6	Diclofenac d4 ^b (DICLO d4) >92.8%	298.1>253.9	90	6	1	0.005					
			C	294.1>214		80	18											
	Diazepam ^a (DZP)	2.70	Q	285>154		120	28	Diazepam d5 ^a (DZP d5) >99%	290>154	120	30	1	0.001					
			C	285>256.7		120	22											
	Alprazolam ^a (APZ)	3.87	Q	309>281		120	26											
			C	309>205		130	42											
Bromazepam ^a (BRZ)	1.93	Q	316.1>182		120	34												
		C	316.1>209		130	28												
Carbamazepine ^a (CARBA)	2.25	Q	237>194		130	20												
		C	237>192		120	20												
Nordazepam ^a (NDZ)	2.87	Q	271>140		130	27	Nordazepam d5 ^a (NDZ d5) >99.6%							276>140	120	30	2	0.002
		C	271>164.7		130	30												
Amitriptyline ^d (AMI)	4.95	Q	278>91		110	24	Amitriptyline d6 ^b (AMI d6) >98%							284.3>233	120	20	2	0.005
		C	278>232.4		130	20												
Doxepin ^a (DOX)	3.99	Q	280>107		120	24												
		C	280>84.1		130	24												

Chapitre 3 : Présence et devenir dans les stations d'épuration - Publication 3

	>82.9%												
	Imipramine ^a (IMI)	5.01	Q	281>86	120	20						2	0.005
	Fluoxetine ^a (FLUOX)	4.65	Q	310.1>43.8	110	30						1	0.001
			C	310.1>148	100	22							
			C	152>110	110	8							
	Paracetamol ^a (PARA)	0.27	Q	152>93	100	16	Paracetamol d4 ^b (PARA d4)	156>114	100	18		2	0.005
	>98%		C		110	26	>98%						
	Clenbuterol ^a (CLENBU)	2.00	Q	277>203	110	16							
	>95%		C	277>259	110	12	Diazepam d5 ^a (DZP d5)	290>154	120	30		1	0.001
	Terbutaline ^a (TERBU)	0.67	Q	226>152	100	14	>99%					1	0.001
			C	226>125	110	24							
Broncho- dilatator	Salbutamol ^a (SALBU)	0.64	Q	240>148	100	18	Salbutamol d3 ^b (SALBU d3)	243>151	100	18		1	0.001
			C	240>166	110	15	>99%						
	Caffeine ^a (CAF)	0.16	Q	195>138	130	18	Caffeine C13 ^d (CAF C13)	196>139	130	20		2	0.002
			C	195>41.7	130	30	>99%						
Others	Theophylline ^a (THEO)	-0.39	Q	181>124	110	18	Diazepam d5 ^a (DZP d5)	290>154	120	30		1	0.001
			C	181>96	120	26	>99%						

ESI-	ESI+
------	------

^aSigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France)

^bCluzeau Info Labo (Sainte Foy la Grande, France)

^cPromochem (Molsheim, France)

^dEuriso top (Saint Aubin, France)

II.2 Process studied

During the AMPERES project, 21 WWTPs were studied (15 water and 6 sludge treatment processes). Among them different processes were studied: primary, secondary and tertiary for water processes and dehydration, liming, thermal drying, anaerobic digestion, composting and drying on reed bed for sludge processes.

Selected treatments and characteristics of WWTPs have been detailed in the first paper of this series (Publication 1).

II.3 Sample collection

Samples of raw and treated wastewater were carried out by using refrigerated (4°C) automatic samplers (Buhler 5010) implemented with Teflon pipes and glass bottles previously cleaned (Choubert et al. 2009) which allow obtaining 24 h flow-proportional composite samples. Field tests were carried out: Evian water (blank tests) and raw wastewater (recovery tests) were analyzed before and after their crossing in automatic sampler to assess the potential input or loss of PhACs. All precaution employed during sample collection and field tests were detailed in the first part of this series of two articles (Publication 1).

II.4 Analytical treatment

Samples were filtered through glass microfiber filters, GFF (0.7 µm) and allow separating dissolved and particulate phases. The dissolved and particulate phases so sludges were analyzed with the following extraction protocols.

II.4.1 Extraction of PhACs in dissolved phase

The dissolved phase was pre-concentrated on Solid-Phase Extraction (SPE) cartridges. The SPE procedure was previously described (Togola et Budzinski, 2008) and adapted. Briefly, 3 mL cartridge (OASIS MCX, 60 mg, Waters) were activated and conditioned first with 3 mL of ethyl acetate and then with 3 ml of Vittel® water adjusted at pH 2. Internal standards (diazepam d5, nordazepam d5, amitriptyline d6, ibuprofen d3, paracetamol d4, ketoprofen d3, naproxen d3, diclofenac d4, gemfibrozil d6, salbutamol d3 and caffeine C13: table 1) were gravimetrically added in 100 mL of samples which were passed through cartridge under vacuum. After pre-concentration, cartridges were dried under vacuum during about one hour. Then they were eluted with 3 mL of ethyl acetate, 3 mL of a mixture of ethyl acetate and acetone (50/50; v/v), and next 3 mL of a mixture of methanol, dichloromethane and ammonium hydroxide (19/19/2; v/v/v). The eluates were evaporated to dryness under a flow of nitrogen and reconstituted with 300 µL of acetonitrile. Then control internal standard (imipramine d4) was finally added. Eluates were then divided in 3 parts. 100 µL is used for analysis in negative ionization mode. The second part (100 µL) is used for analysis in positive ionization mode, they were evaporated to dryness under flow of nitrogen until 20 µL and then 180 µL of Milli Q water were added. The third part was 100 µL to keep in spare sample.

II.4.2 Extraction of PhACs in solid phase

Initially suspended particle matter and sludges were freeze-dried (RP2V, CIRP, Argenteuil, France). The extraction of PhACs on solid phase (0.1 g of sludge and 0.01-0.2 g of SPM) was performed by Microwave-Assisted Extraction (Soxwave 100 apparatus, Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France) at atmospheric pressure with a mixture of acetonitrile and Vittel® water adjusted at pH 2 (3/1; v/v) (Togola, 2006). Internal standards (diazepam d5,

nordazepam d5, amitriptyline d6, ibuprofen d3, paracetamol d4, ketoprofen d3, naproxen d3, diclofenac d4, gemfibrozil d6, salbutamol d3 and caffeine C13: table 1) were added before extraction. Each extract was filtered on glass cotton and then evaporated with an automatic reconcentrator (RapidVap, Bioblock, Fontenay-sous-Bois, France). The extracts were reconstituted with 60 mL of Vittel® water at pH 2 and was applied the same extraction protocol as the one described in previous section.

II.4.3 LC-MS/MS analysis method

Analysis was performed by liquid chromatography (Agilent 1200 series Rapid Resolution Liquid Chromatography (RRLC)) coupled with tandem mass spectrometry and acquisition was achieved in Multiple Reaction Monitoring (MRM) mode with an Agilent QQQ 6410 triple quadrupole (Massy, France). It consists in a HPLC separation with 1.8 μm , 50 x 2.1 mm i.d. C₁₈ reversed phase column (Zorbax SB C18). The injection volume was set at 5 μL . The separation was performed at a flow rate of 0.5 mL.min⁻¹. For the negative ionization, gradient elution uses Milli Q water (A) and acetonitrile (B) and is: 100% A, kept isocratic for 10 min, to 35% A in 1 minute, to 0% A in 3 minutes and then to 100% A in 5 minutes. For positive ionization the gradient elution uses Milli Q water with 0.1% of formic acid (A) and acetonitrile with 0.1% of formic acid (B) and is: 100% A, kept isocratic for 12 min, to 35% A in 1 minute, to 0% A in 1 minute and then to 100% A in 6 minutes.

Under negative ionization PhACs were recorded as $[\text{M}-\text{H}]^-$, whereas under positive ionization they were quantified as $[\text{M} + \text{H}]^+$. Ibuprofen, ketoprofen, naproxen, aspirin, diclofenac and gemfibrozil were quantified using negative ionization. Carbamazepine, diazepam, nordazepam, amitriptyline, doxepin, imipramine, alprazolam, bromazepam, fluoxetine, paracetamol, clenbuterol, salbutamol, terbutaline, caffeine and theophylline were quantified using positive ionization. The tandem mass spectroscopy conditions included the use of 2 transitions for each compound: one for the quantification (QT) and one for the identity confirmation (CT). These transitions are given in table 1 Table. The quantification of PhACs was done by internal calibration; internal standards were quantified using a “syringe” standard. This standard allows quantifying internal standards added on the beginning of extraction and assessing the loss of PhACs during protocol. In negative ionization internal standards used were ibuprofen d6, ketoprofen d3, naproxen d3, diclofenac d4 and gemfibrozil d6. Diazepam d5, nordazepam d5, amitriptyline d6, paracetamol d4, salbutamol d3 and caffeine C13 were used in positive ionization. The “syringe” standard, imipramine d4, was only used to quantify internal standards used for positive mode.

II.4.4 Assurance and quality control

Several criteria must be checked to provide robust and reliable method (Capdeville et Budzinski, 2011). Reference compounds were of high purity (Table 1).

Standard solution was injected to determine the accuracy and the validity of the quantification method and allow calculating response factors of each compound. Another independent standard solution was used to test the precision of the method. These standard solutions were injected about every 10 samples and at the beginning and the end of each injection series. Added to these controls, blanks of injection were used after each sample to free contamination from needle. Vittel® water was used for blanks of extraction which were extracted in parallel with samples and allow highlighting possible contamination. Blank corrections were made in the data. Similarly, spiked samples were made for each extraction,

Vittel® water (dissolved phase extraction) or solvent (solid phase extraction) were supplemented with known amounts of studied compounds. They were used as control over the quality of extraction, and allowed calculating the extraction efficiency.

II.5 Data treatment

The partitioning between dissolved and particulate phases, the variability (inter-day and inter-WWTP variabilities) and calculation rules of removal rate are detailed in the first paper of this series of two articles (Publication 1).

III. Results and discussion

III.1 Method performance

III.1.1 Recoveries of PhACs for extraction in solid and dissolved phases

High recoveries and good reproducibilities were obtained for the extraction of PhACs in dissolved and solid phases. They are given in table 2. Recoveries obtained for the extraction of PhACs in dissolved phase ($n = 29$) ranged between $53 \pm 16\%$ for aspirin and $110 \pm 17\%$ for paracetamol and the global average is 86%. Recoveries obtained for the extraction of PhACs in solid phase ($n = 4$) ranged between $53 \pm 12\%$ for theophylline and $106 \pm 12\%$ for carbamazepine and the global average is 90%.

Table 2 : Recoveries (%) for PhACs extraction from dissolved ($n = 29$) and solid phases ($n = 4$). See table 1 for abbreviation of compounds.

Compounds	Dissolved phase ¹ ($n = 29$)				Solid phase (SPM and sludge) ($n = 4$)			
	Mean (%)	RSD (%)	Min (%)	Max (%)	Mean (%)	RSD (%)	Min (%)	Max (%)
CARBA	104	10	78	134	106	12	92	117
DZP	103	12	72	143	98	7	90	105
NDZ	101	12	76	125	94	6	86	99
AMI	100	9	71	127	100	8	90	108
DOX	99	9	71	118	103	10	91	115
IMI	96	8	75	117	80	6	73	84
APZ	80	15	47	109	72	17	62	98
BRZ	88	17	52	118	76	14	61	93
FLUOX	93	10	72	121	91	1	74	101
IBU	71	21	33	126	100	9	88	107
PARA	110	17	76	174	100	11	89	115
KETO	70	30	33	146	102	9	97	116
NAPRO	66	31	26	130	96	5	89	100
ASP	53	16	28	72	54	20	35	77
DICLO	62	27	28	107	101	8	94	112
GEM	104	22	69	174	99	5	91	103
CLENBU	97	12	75	130	91	18	73	116
SALBU	58	23	20	109	99	12	84	111
TERBU	84	24	4	136	74	8	62	80
CAF	96	20	59	140	105	16	82	117
THEO	70	17	33	123	53	12	44	70

¹: obtained after filtration onto GFF filter (0.7 μm)

III.1.2 Accuracy, validity and precision of method

Direct injections of solutions and spiked samples allow determining the accuracy of the quantification method. The rates of quantification of standard solutions obtained were between 88% (aspirin) and 101% (paracetamol) and deviation standard did not exceed 15% (aspirin) (Figure 1). The quantification rates of internal standards were $104 \pm 15\%$ for

diazepam d5, $108 \pm 18\%$ for nordazepam d5, $128 \pm 59\%$ for salbutamol d3, $94 \pm 24\%$ for caffeine C13, $99 \pm 16\%$ for amitriptyline d6, $58 \pm 13\%$ for paracetamol d4, $139 \pm 49\%$ for ibuprofen d3 and $76 \pm 14\%$ for gemfibrozil d6. Imipramine d4 can be used for the quantification of internal standard in spite of the rate and RSD of salbutamol d3, ibuprofen d3 and gemfibrozil d6.

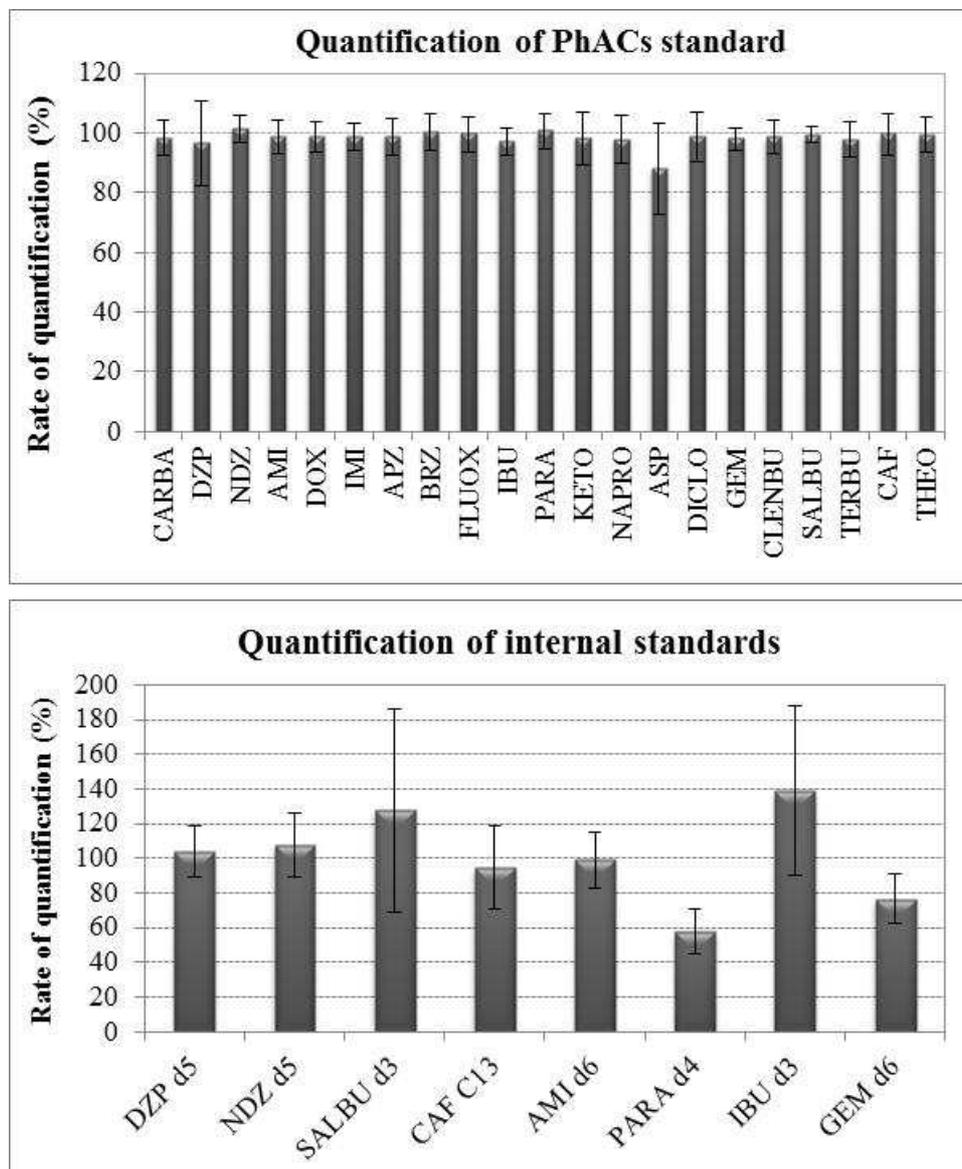


Figure 1 : Quantification of PhACs and of internal standards for standard solutions ($n = 28$). See table 1 for abbreviation of compounds.

III.1.3 Repeatability and reproducibility

Reproducibility is measured on triplicates of spiked samples; it is between 2 and 9% except for paracetamol with a RSD of 28%. Reproducibility is below 20% except for ketoprofen (30%), naproxen (31%), diclofenac (27%) and terbutaline (24%); it is measured on 60 spiked samples.

Limits of quantification (LOQ) in dissolved and solid phases were measured and are given in table 1. They are low, of the order on ng.L^{-1} or ng.g^{-1} of dry weight (dw).

III.2 Field tests: blanks and recoveries

Blank tests were carried out on 5 campaigns. They allow validating the whole sampling step (Capdeville et Budzinski, 2011). Only traces of aspirin, ibuprofen, gemfibrozil, paracetamol, caffeine, carbamazepine and theophylline were quantified in Evian water after the crossing in automatic sampler (Figure 2). The PhACs supply by automatic sampler was low and this sampling technique can be used for dissolved phase. In fact, concentrations of blank tests are lower by a factor more than 10 compared to raw and treated wastewater ones (Furlong et al., 2008). Another study carried out by Focazzio et al. (2008) has detected caffeine in field blank in the range of 3 from 162 ng.L⁻¹.

Two types of raw wastewater have been used for recovery tests. No significant differences are observed between the concentrations of raw wastewater before/ after crossing an automatic sampler equipped with glass containers and Teflon pipes (Figure 2). No compound was adsorbed on the material of automatic sampler.

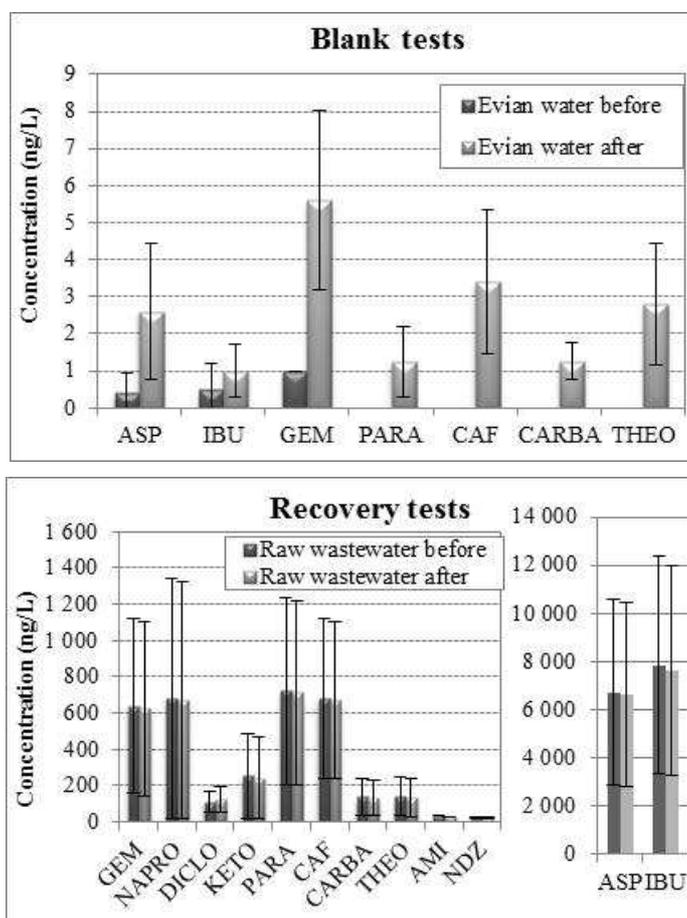


Figure 2 : Concentrations of PhACs during blank and recovery tests. See table 1 for abbreviation of compounds.

III.3 PhACs in water: occurrence, variability and partitioning

In order to overcome the variability of influents and of the composition of different samples only the averaged total concentrations were considered as well as for raw wastewaters than for treated wastewaters and for each WWTP. The total concentrations were considered as the sum of dissolved and particulate concentrations.

Figure presents the range of total concentrations in ng.L⁻¹ of PhACs measured in raw, primary, secondary and tertiary treated wastewaters. These concentrations are coherent with those published (Clara et al., 2005, Terzic et al., 2008, Cespedes et al., 2008, Janex-Habibi et

al., 2009, Nieto et al., 2010, Fatta-Kassinou et al., 2011). The following paragraphs describe the composition of raw wastewaters and the efficiency of the different applied treatment.

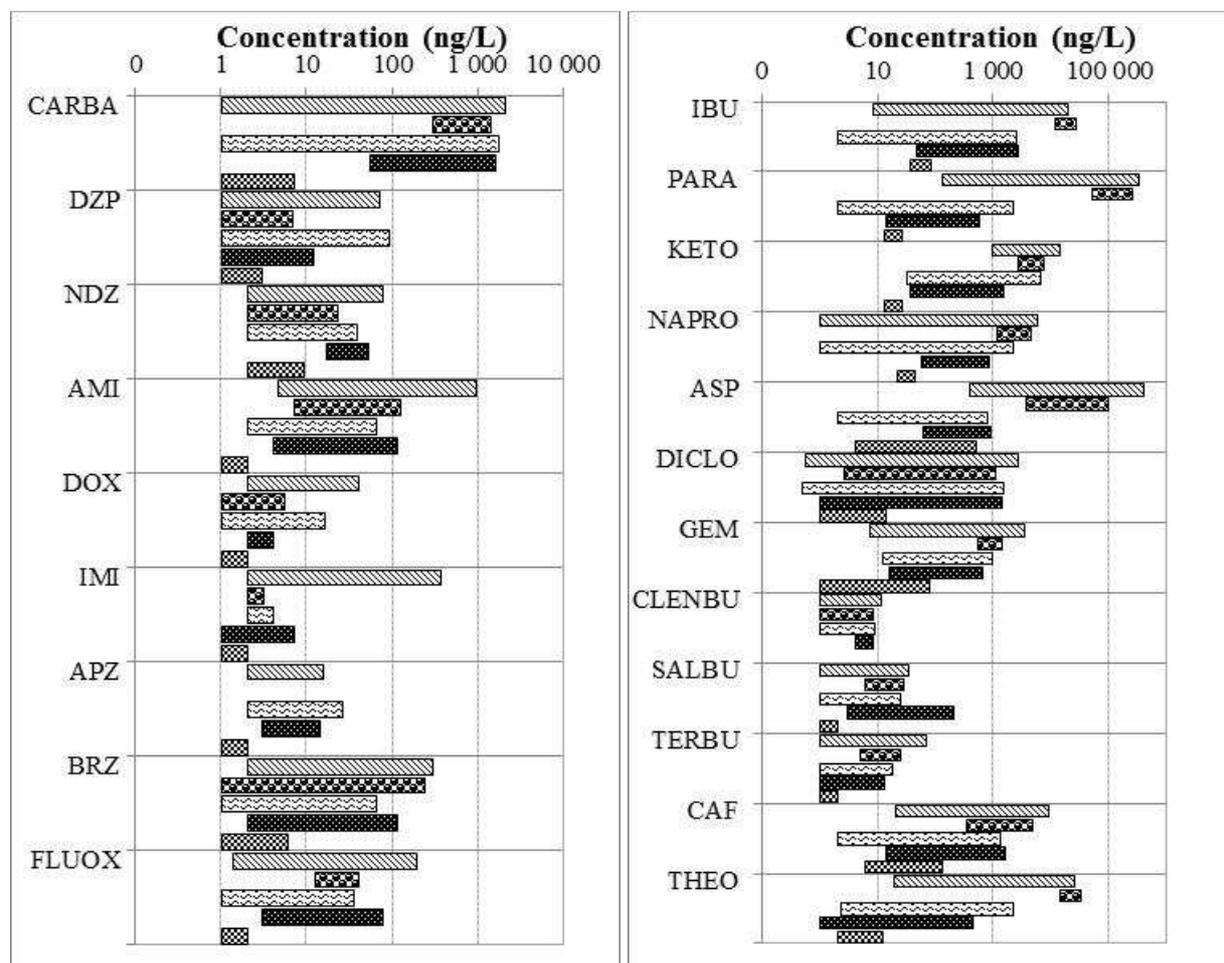


Figure 3 : Range of concentrations (ng.L^{-1}) of PhACs in raw and treated wastewaters.

III.3.1 Occurrence in raw wastewater

All studied PhACs were quantified in raw wastewaters (Figure 3). Carbamazepine, nordazepam, amitriptyline, fluoxetine, ibuprofen, paracetamol, ketoprofen, naproxen, aspirin, diclofenac, gemfibrozil, salbutamol, caffeine and theophylline were quantified in more than 90% of the cases at concentrations below $4,000 \text{ ng.L}^{-1}$. Ibuprofen was quantified at mean concentrations level at $10,719 \text{ ng.L}^{-1}$; paracetamol was quantified at $178,670 \text{ ng.L}^{-1}$, aspirin at $128,656 \text{ ng.L}^{-1}$ and theophylline at $14,092 \text{ ng.L}^{-1}$. Diazepam, imipramine, bromazepam and terbutaline were quantified in more than 60% of the samples. Doxepin, alprazolam and clenbuterol were quantified in less than 50% of the cases. For these two last classes, concentrations were below tens ng.L^{-1} . According to the already known information, these levels of concentration are well correlated to the amount of drugs consumed in France (Besse et Garric 2008; Miège et al. 2009). Our values are in agreement with the literature (Miège et al., 2009; Fatta-Kassinou et al., 2011; Verlicchi et al., 2012).

We have observed that there is no significant difference between the profile of contamination in WWTPs situated in rural and urban areas (Figure 4). However the variability of concentrations in rural WWTPs was higher than those in urban ones. The use of PhACs is

mainly domestic. Thus this variability can be explained by: (1) the seasonal consumption of these drugs, some compound being preferentially used in winter (Vieno et al. 2005; Castiglioni et al., 2006); (2) the design plant capacity of WWTPs. In the case of the rural studied WWTPs (CA1, CA2, CA4, CA6, CA7 and SE9), the population equivalent (PE) range between 100 to 13,000 and for urban ones the design plant capacity range between 24,000 to 950,000 PE (Publication 1). In fact, the release of PhACs intensifies with increasing the WWTPs capacity and should expect higher variability of influent PhACs concentrations in smaller capacity like rural WWTPs. A study conducted by Teerlink et al. (2012) confirms this hypothesis. The PhACs influent concentrations stemmed from small WWTP capacity are more variable than high WWTP capacity ones.

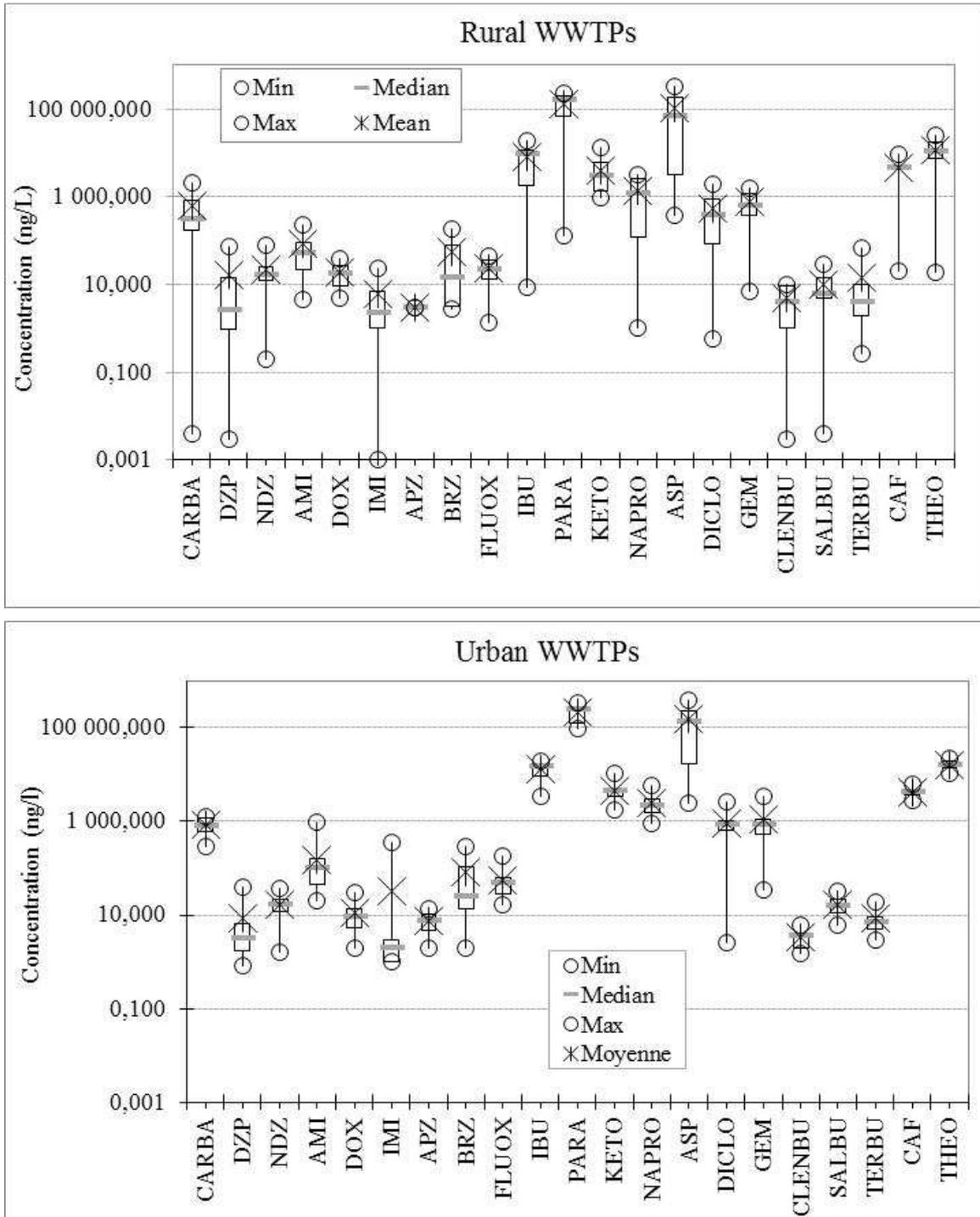


Figure 4 : Total concentrations (ng.L⁻¹) of PhACs in rural and urban raw wastewaters.

III.3.2 Occurrence in primary treated wastewater

Three effluents from primary settling tank were sampled (SE2, SE6 and CA5). All studied PhACs were quantified in primary wastewater except alprazolam (6 samples) (Figure 3). Carbamazepine, nordazepam, amitriptyline, fluoxetine, ibuprofen, paracetamol, ketoprofen, naproxen, aspirin, diclofenac, gemfibrozil, salbutamol, terbutaline, caffeine and theophylline were quantified in 100% of the cases at concentrations below 4,000 ng.L⁻¹. Ibuprofen was quantified at mean concentration level at 13,566 ng.L⁻¹, paracetamol at 152,935 ng.L⁻¹, aspirin at 23,560 ng.L⁻¹, and theophylline at 15,991 ng.L⁻¹. Diazepam, imipramine and bromazepam were quantified in more than 60% of the cases and doxepin and clenbuterol at 50% and concentrations of these two compounds were below hundreds ng.L⁻¹. Even if primary treatment were studied on 6 samples, average concentrations of PhACs were in the same order of magnitude than raw wastewater ones (calculated on 33 samples). The concentration of imipramine in primary treated waters was lower than those in raw wastewaters. This is a hydrophilic compound which should adsorb into SPM. Our values are in agreement than those quantified in primary effluents for amitriptyline and fluoxetine in study conducted by Lajeunesse et al. (2012). Carballa et al. (2004) have shown that ibuprofen and naproxen are not removed by primary treatments because these two compounds are mainly in the aqueous phase due to their acidic structure (negative charge at pH 7) (Verlicchi et al., 2012).

III.3.3 Occurrence in secondary treated wastewater

All studied PhACs were quantified in secondary treated wastewaters (29 samples) (Figure 3). Carbamazepine, nordazepam, amitriptyline, fluoxetine, paracetamol, ketoprofen, naproxen, diclofenac, salbutamol, caffeine and theophylline were quantified in more than 90% of the cases at concentrations lower than 1,000 ng.L⁻¹. Diazepam, bromazepam, ibuprofen, aspirin, gemfibrozil and terbutaline were quantified in more than 60% of the cases at concentrations lower than 500 ng.L⁻¹. Doxepin, imipramine, alprazolam and clenbuterol were quantified in less than 50% of the cases at concentration lower than ten ng.L⁻¹. Secondary processes removed some compounds such as paracetamol and aspirin which were quantified respectively at 178,670 and 128,656 ng.L⁻¹ in raw wastewaters and at 121 and 210 ng.L⁻¹ in secondary treated wastewaters. All PhACs with concentrations higher 1,000 ng.L⁻¹ in raw wastewaters were quantified at concentrations below 1,000 ng.L⁻¹ in secondary effluents. However the concentrations of carbamazepine and to a lesser extent those of diclofenac were almost constant which is in agreement with previous workers (Cespedes et al. 2008; Ort et al. 2010). In addition to physico-chemical properties of PhACs, many other factors such as operating parameter employed in activated sludge processes (biomass concentration, temperature, solid retention time (SRT), hydraulic retention time (HRT), etc.) could contribute to the removal efficiency (Verlicchi et al., 2012).

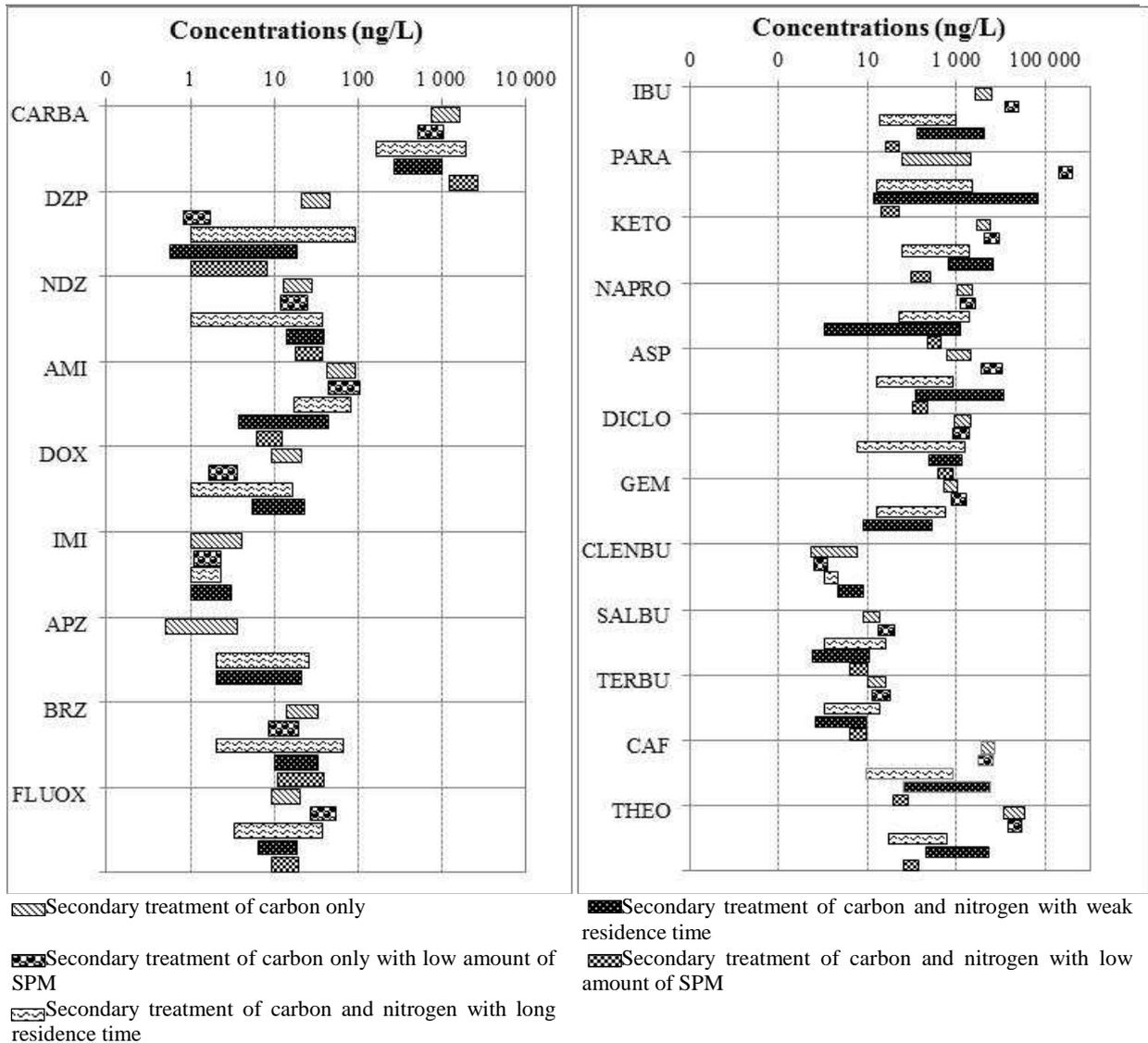


Figure 6 : Range of concentrations (ng.L⁻¹) of PhACs in secondary treated wastewaters.

The figure 5 shows that the concentrations of PhACs obtained after secondary processes with the treatment of carbon and nitrogen were lower than in the case of treatment of carbon only. The difference was greater for the anti-inflammatory, caffeine and theophylline. In most of the cases, concentrations of PhACs were decreasing in the following order: treatment with carbon only = treatment with carbon only with low amount of SPM > treatment of carbon and nitrogen with weak residence time > treatment of carbon and nitrogen with long residence time > treatment of carbon and nitrogen with low amount of SPM. Concentrations of diclofenac and gemfibrozil after treatment with low SRT were lower than with one long SRT. Other compounds particularly anti-depressants and bronchodilators were present at low concentrations in raw and secondary treated wastewaters and there are no significant differences that allow concluding for a treatment being more effective than another.

III.3.4 Occurrence in tertiary treated wastewater

Two types of tertiary treatments were studied in these different campaigns: preliminary and advanced treatments. Preliminary tertiary treatments include polishing pond (CA4), high rate chemical settler (SE3, SE-PA1 and CA-PA2) and sand filtration (CA-PA1, SE-PA1 and SE-PA2). Advanced tertiary treatments include ozone oxidation (CA-PA1), activated carbon filtration (Filtrisorb-400) (CA-PA2) and reverse osmosis (SE-PA1 and SE-PA2). Preliminary

tertiary processes have as main objective to reduce the grade of SPM in discharge; they may provide a last step of treatment before discharge in aquatic system or a first step of tertiary treatment to protect advanced processes situated downstream. Advanced tertiary processes lead to a disinfection and further purification of wastewaters. The range of concentrations of PhACs after the both tertiary treatment are given in figure 3.

Preliminary tertiary treatment

After preliminary tertiary treatments, all PhACs were quantified in 43 to 93% of the cases with averaged concentrations ranging between 4 (imipramine) and 719 ng.L⁻¹ (ibuprofen). Doxepin and clenbuterol were quantified in 14 and 7% of samples respectively with an average concentration of 2 and 4 ng.L⁻¹ respectively.

Advanced tertiary treatment

After advanced tertiary treatments, only caffeine, theophylline and nordiazepam were quantified in 100% of samples at very low concentrations (34, 5 and 3 ng.L⁻¹ respectively). Amitriptyline, imipramine, salbutamol, terbutaline, clenbuterol and doxepin were not quantified in tertiary effluents. The rest of the PhACs were quantified in 14 to 74% of the cases with levels below one hundred of ng.L⁻¹, including carbamazepine and diclofenac (substances with weak elimination using only secondary processes).

III.3.5 Variability of concentrations

Inter-day variability

Table 3 : Inter-day variability in raw and treated wastewaters.

Compounds	Raw wastewaters (n=14)			Secondary treated wastewaters (n=20)			Tertiary treated wastewaters (n=7)		
	Mean (%)	Min (%)	Max (%)	Mean (%)	Min (%)	Max (%)	Mean (%)	Min (%)	Max (%)
CARBA	14	1	43	8	1	29	3	1	7
DZP	38	2	113	34	0	106	25	13	47
NDZ	21	2	40	24	0	140	15	6	41
AMI	36	2	122	20	0	75	11	0	29
DOX	39	27	66	34	0	124	5	5	5
IMI	83	3	140	26	0	77	14	0	28
APZ	96	71	131	47	0	163	33	0	120
BRZ	47	2	108	35	4	120	60	8	122
FLUOX	36	6	78	21	0	66	20	0	74
IBU	11	0	31	26	0	104	21	0	70
PARA	16	3	36	51	2	146	14	11	19
KETO	20	0	85	27	1	107	35	0	122
NAPRO	42	0	139	28	2	136	19	7	39
ASP	49	5	121	61	11	141	37	14	59
DICLO	28	5	74	22	0	130	28	11	55
GEM	20	1	116	21	1	96	14	1	47
CLENBU	73	3	120	50	0	130	58	58	58
SALBU	21	0	74	41	0	139	29	0	97
TERBU	43	0	123	45	0	152	53	7	101
CAF	5	1	21	32	0	96	29	2	67
THEO	12	0	33	40	3	131	34	2	94

The inter-day variability of PhACs was studied for each WWTP in raw, secondary and tertiary treated wastewaters and is given in table 3. It was calculated from the measured

concentrations for the 2 or 3 samples obtained for each WWTP (this according to the duration of the campaign).

In raw wastewaters the average inter-day variability was 36%. The lowest was 5% for caffeine, and the highest was 96% for alprazolam. The variability was more important for PhACs which require medical prescription such as imipramine (83%), alprazolam (96%) or clenbuterol (73%); those used more regularly and without medical prescription exhibited lower variability such as paracetamol (16%), ibuprofen (11%) or caffeine (5%). In addition, the variations of human excretion mainly carried out in diurnal hours (Joss et al., 2005) could contribute to the variability.

In secondary treated wastewaters, the average inter-day variability was 33%. The lowest was 8% for carbamazepine, and the highest was 61% for aspirin. In tertiary treated wastewaters, the average variability was 26%. The lowest was 3% for carbamazepine and the highest 60% for bromazepam. This low variability could be due to the measured concentrations which were close to LOQ.

Inter-WWTP variability

The concentrations of studied PhACs quantified in raw and treated wastewaters were compared. The average variability calculated in raw wastewaters was about 98%. The least variable compound was caffeine (39%) and the most variable imipramine (347%). All studied WWTPs were taken into account. Thus this high variability may be explained by a highly variable supply of compounds for each WWTP and by the nature of effluents in terms of population equivalent, season and drainage basin (presence of hospital, pharmaceutical industry or retirement house). Moreover some compounds exhibited weak concentrations close to LOQ and this of course led to more important analytical uncertainties.

After primary treatments the average variability was 54%. The lowest was for imipramine (6%) and the highest for aspirin (145%). As mentioned previously, these treatments don't allow having a decrease of PhACs concentrations except for imipramine. The reasons for this variability are the same than in raw wastewaters.

The average variability after secondary treatments was 109%. It could be explained by the difference of applied treatments, some being more effective than others. For example when only carbon was treated as major parameters, average variability was 51%; and it was 128% when carbon and nitrogen were treated. As mentioned previously, processes with treatment of these two parameters had lower PhAC concentrations and this higher variability could be explained by low concentrations which were closer to LOQ.

Tertiary treatments demonstrated high variability around 92%. The lowest was for clenbuterol (35%) and the highest was for theophylline (210%). The variability was lower after advanced tertiary treatments than after preliminary ones. It could be explained by the low concentrations of compounds obtained after these tertiary treatments which allowed a better removal of compounds and as a consequence lowered their concentrations, close to LOQ, thus the analytical uncertainty was higher.

III.4 Partition between dissolved and solid phases

It is important to study the partition between dissolved and particulate phases in the raw wastewaters because it allows anticipating the occurrence of compounds in treated waters and

sludges (Nieto et al., 2010); it also help to determine which treatment type should be set-up for more efficient treatment. The partition between dissolved and particulate phase in raw and secondary treated wastewaters are given in figure 6.

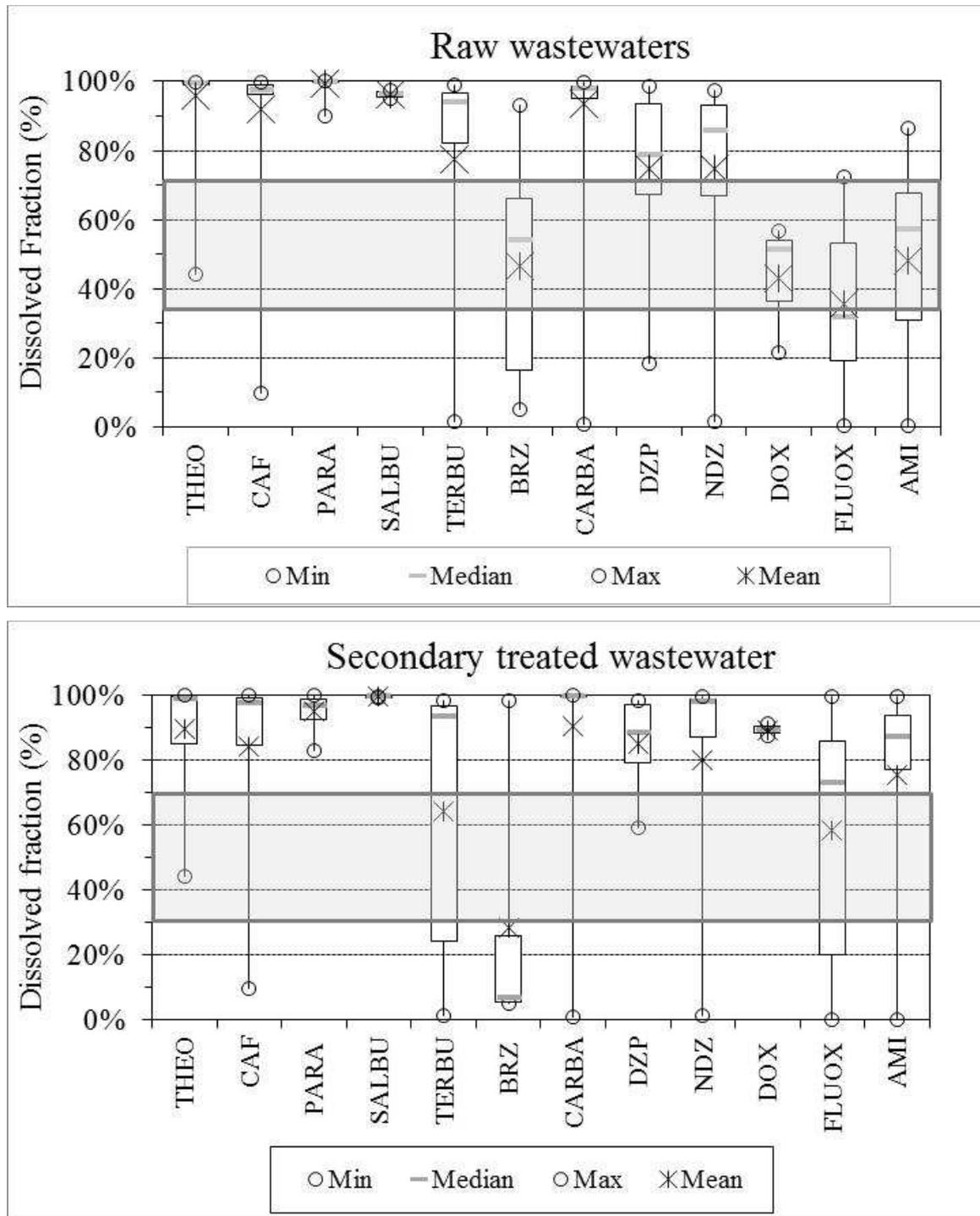


Figure 6 : Partition of PhACs between dissolved and particulate phases in raw and secondary treated wastewaters.

In raw wastewaters, paracetamol, salbutamol, theophylline, carbamazepine, caffeine, terbutaline, nordazepam and diazepam were mainly quantified in the dissolved phase (dissolved fraction > 70%). Amitriptyline, bromazepam, fluoxetine and doxepin were quantified at about 50% (dissolved fraction) in the dissolved phase. These results are directly correlated to the values of $\log K_{OW}$. The majority of compounds quantified in the dissolved phase (dissolved fraction > 70%) have a hydrophilic character with $\log K_{OW}$ values between -

0.39 and 2.87, while other compounds more hydrophobic ($\log K_{OW}$ between 3.99 and 4.95) with the exception of bromazepam considered hydrophilic ($\log K_{OW}$ 1.93) were more present in particulate phase. However, there was a great variability of partition for terbutaline, bromazepam, diazepam, nordazepam, doxepin, fluoxetine and amitriptyline because of the nature of raw wastewaters (due to the quantity or characteristic of SPM), and also due to the low concentrations in particulate phase for these compounds. Indeed the concentrations were often close to the LOQ and the analytical uncertainty was quite high causing intrinsic analytical variability.

In secondary treated wastewaters, all compounds were quantified mainly in the dissolved phase (dissolved fraction > 70%), except terbutaline and fluoxetine quantified at about 60% in the dissolved phase (but with a very strong variability for these two substances) and bromazepam quantified mainly in the particulate phase. These results are correlated on the one hand with the removal of particles during secondary treatments and on the other hand, with the hydrophobicity of the compounds. However terbutaline and bromazepam are compounds that are more hydrophilic and are mostly found in the particulate phase suggesting that other interactions such as dipole-dipole interactions could be at the origin of this sorption on SPM. There was important variability for some compounds which could be assigned to the different applied treatments some more efficient on SPM removal than others. These results are in agreement with the fact that the most important mechanisms for the removal of PhACs are the biodegradation and transformation but the sorption could play a role (Jelic et al., 2012).

III.5 Removal of PhACs by WWTP

III.5.1 Primary treatments

In the three studied primary effluents, two had a physico-chemical treatment (SE6 and CA5). A physico-chemical treatment in primary processes aimed to decrease the amount of SPM and thus increase the removal rate of hydrophobic compounds (Besse et Garric 2008). Thus the effect of physico-chemical treatment during primary processes on the removal efficiency of PhACs could be compared (Figure 7). SE2 had a primary settling tank without physico-chemical treatment and SE6 and CA5 has a primary settling tank with physico-chemical treatment, an addition of iron chloride.

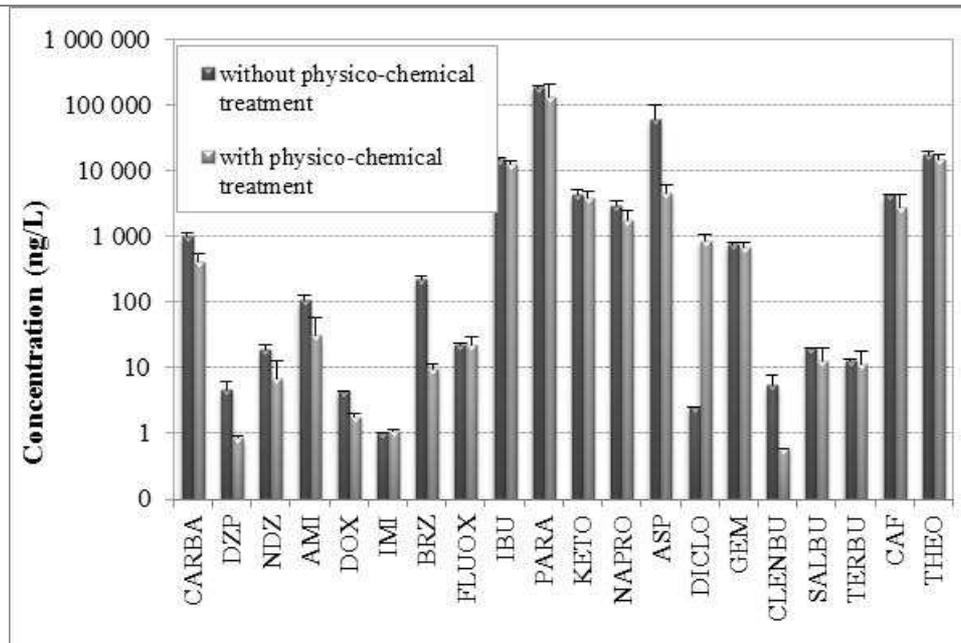


Figure 7 : Total concentrations ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) of PhACs in primary wastewaters with or without physico-chemical treatment.

The majority of studied PhACs were not affected by the physico-chemical treatment (Figure 7). Most compounds were hydrophilic or concentrations were close to the LOQ. Without physico-chemical treatments the removal efficiency cannot be calculated for diazepam, bromazepam, aspirin, diclofenac, carbamazepine, gemfibrozil, salbutamol, fluoxetine and caffeine because their concentrations in output were equivalent or higher than output ones; for doxepin, alprazolam and clenbuterol because their influent and/or effluent concentrations were below LOQ (Martin-Ruel et al., 2010; Choubert et al., 2011). Primary physico-chemical treatments removal rates of doxepin, imipramine, bromazepam and clenbuterol cannot be calculated because their influent and effluent concentrations were below LOQ; and for aspirin this was due to their concentrations in output which were higher than output ones. In SE2 the removal efficiency of amitriptyline was between 30 and 70%; it was the same observation for amitriptyline, alprazolam and fluoxetine in CA5 and SE6. Only imipramine had removal efficiency higher than 70% without physico-chemical treatment. Indeed from Gagnon and co-workers (2008), ibuprofen, naproxen, carbamazepine and diclofenac seem to be insensitive to physico-chemical treatment, and advocate a treatment stage of biological treatment, or disinfection like ozonation which could increase their removal efficiency. Our results are in good agreement with this previous study.

III.5.2 Secondary treatments

The extended aeration activated sludge process is the most common configuration to meet discharge objective on carbon and/ or nitrogen in Europe (Miège et al., 2009). In this respect this process was the most studied in this study (6 WWTPs). There was a significant removal efficiency of PhACs with this process. Carbamazepine, diazepam, nordazepam, diclofenac, salbutamol and terbutaline had a removal efficiency lower than 30%; amitriptyline, doxepin and fluoxetine between 30 and 70%. The other compounds were eliminated over 70%. The mechanisms of elimination of PhACs in WWTPs are not well known however the biodegradation, transformation and sorption are the major removal processes (Jelic et al. 2012).

Various other secondary treatments were investigated during the project: membrane bioreactor (SE5), medium activated sludge (CA3) and processes using attached growth biomass (CA5, CA6, CA8, SE6). These treatments were compared in terms of removal of PhACs (table 4). The influence of temperature was also studied for activated sludge plants.

Influence of temperature in extended aeration activated sludge

The extended aeration activated sludge process was studied in 6 WWTPs (CA1, CA2, SE1, SE2, SE3 and SE4). CA1, CA2 and SE1 were sampled in winter between February and March with temperature about 12°C and SE2, SE3 and SE4 were sampled in summer between April and September with temperature about 21°C. Some compounds have no seasonal variability consumption as for example carbamazepine, nordazepam, amitriptyline, doxepin, imipramine, alprazolam, bromazepam, fluoxetine, clenbuterol, salbutamol, terbutaline and gemfibrozil. These compounds are antidepressant, lipid regulator and bronchodilator drugs, and are generally consumed throughout the year. However ibuprofen, paracetamol, ketoprofen, naproxen, aspirin, diclofenac, caffeine and theophylline are more consumed in winter.

Table 4 : Concentrations (ng.L⁻¹) in influents and effluents, and removal efficiency ranges of PhACs in secondary treatments.

Sampling site	Sampling point	Carba	Diaz	Nordiaz	Ami	Dox	Imi	Apz	Brz	Fluox	Ibu	Para	Keto	Napro	Asp	Diclo	Gem	Clenbu	Salbu	Terbu	Caf	Theo
Extended aeration (low loaded) activated sludge (C+N)																						
CA1, CA2, SE1, SE2, SE3, SE4	Influent	862	15	20	157	11	36	2	109	46	9,601	172,914	4,112	2,570	116,261	744	1,302	6	19	7	4,500	15,607
	Effluent	896	16	21	37	5	1	6	16	16	226	213	536	622	184	679	177	1	14	7	172	139
Medium loaded activated sludge (C)																						
CA3	Influent	682	28	15	179	23	2	7	22	46	3,600	103,691	1,795	1,046	7,840	460	560	2	7	4	3,763	17,362
	Effluent	843	23	14	45	10	2	1	17	10	3,167	1,015	2,861	1,071	1,043	1,070	527	2	9	12	3,470	17,337
Membrane bioreactor (C+N)																						
SE5	Influent	1,050	22	19	136	<LoQ	<LoQ	<LoQ	178	47	15,531	298,118	5,086	1,566	218,925	966	194	<LoQ	19	10	4,107	11,398
	Effluent	1,319	4	19	6	<LoQ	<LoQ	<LoQ	20	10	25	26	130	215	108	409	<LoQ	<LoQ	5	5	39	66
Biofilter (C)																						
CA5	Influent	522	1	12	52	2	1	<LoQ	10	27	11,927	200,478	4,375	1,249	5,112	932	790	1	19	16	3,259	13,648
	Effluent	634	6	15	43	<LoQ	<LoQ	4	10	23	1,797	108	5,787	1,648	246	1,058	802	1	19	7	827	1,215
Biofilter (N)																						
CA3	Influent	843	23	14	45	10	2	1	17	10	3,167	1,015	2,861	1,071	1,043	1,070	527	2	9	12	3,470	17,337
	Effluent	681	16	16	38	6	2	8	15	10	190	94	1,038	888	617	857	253	2	9	2	409	704
Biofilter (C+N)																						
SE6	Influent	307	<LoQ	1	10	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	19	13,940	70,126	3,411	2,227	4,358	821	597	<LoQ	6	8	2,288	16,837
	Effluent	364	<LoQ	<LoQ	8	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	7	132	37	661	503	60	422	55	<LoQ	3	3	116	209
Rotating biological contactors (C+N)																						
CA4	Influent	481	<LoQ	14	15	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	32	17,536	197,844	5,876	2,152	268,316	196	<LoQ	<LoQ	11	<LoQ	4,081	13,363
	Effluent	496	1	17	14	<LoQ	<LoQ	2	6	55	424	281	1,062	699	163	379	<LoQ	<LoQ	9	<LoQ	543	416
Vertical and horizontal reed-bed filter (C+N)																						
CA6	Influent	288	4	19	5	15	1	7	6	10	3,429	49,049	3,398	7	9,202	467	9	3	4	4	5,601	4,714
	Effluent	309	3	16	5	7	<LoQ	8	9	4	967	76	1,764	<LoQ	280	255	14	4	3	2	1,274	655
Culture fixed on carriages (C+N)																						

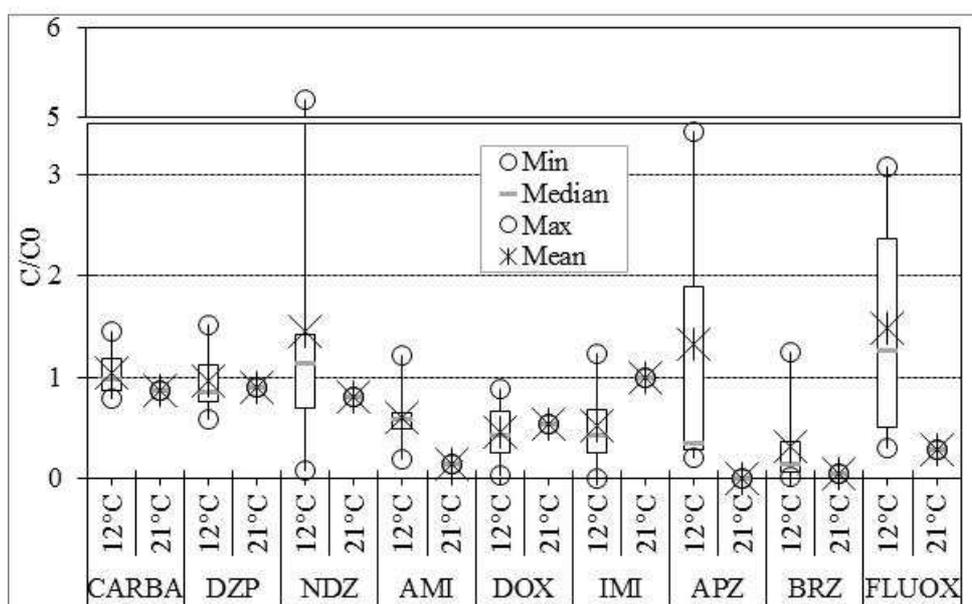
CA8	Influent	322	2	3	26	<LoQ	<LoQ	<LoQ	2	20	15,143	271,064	3,174	2,372	239,643	1,135	511	<LoQ	11	8	4,829	10,858
	Effluent	336	1	3	21	<LoQ	1	<LoQ	<LoQ	8	2,443	3	899	1,761	40	955	416	<LoQ	10	9	952	654
	R < 30%	30% < R < 70%		R > 70%																		

The figure 8 illustrates the relative concentrations of PhACs between secondary effluent and influent in extended aeration activated sludge process at 12°C and at 21°C. The increase of temperatures leads better elimination efficiency for nordazepam, amitriptyline, alprazolam, bromazepam, fluoxetine, ketoprofen, naproxen, diclofenac, gemfibrozil, clenbuterol, salbutamol, terbutaline, ibuprofen, caffeine and theophylline contrary to doxepin and imipramine which have higher concentration at 21°C than 12°C. The removal efficiency of carbamazepine, diazepam, paracetamol and aspirin does not seem to be influenced by the temperature. Our results are in agreement with others studies (Vieno et al. 2005; Castiglioni et al., 2006; Verlicchi et al., 2012). A study conducted by Castiglioni et al. (2006) have shown that the elimination of several compounds, such as ibuprofen, is less effective in cold season probably due to a lower biodegradation which more effective at higher temperatures (Vieno et al. 2005). Removal efficiency of carbamazepine is close to 0% and not depends of temperature (Castiglioni et al. 2006). The phenomenon of sorption is higher at lower temperature and could explain the increase of concentration of doxepin and imipramine with the temperature (Vieno et al. 2005).

Influence of the load applied to activated sludge process

The 6 WWTPs (CA1, CA2, SE1, SE2, SE3 and SE4) were extended aeration activated sludge and treated carbon and nitrogen. These WWTPs were compared at one medium loaded activated sludge plant (CA3) which treated carbon only. Their concentration and removal rate were compared and are given in table 4.

The extended aeration activated sludge processes allowed a better elimination of PhACs than medium loaded activated sludge process. In both cases, carbamazepine, diazepam, nordazepam, diclofenac, salbutamol and terbutaline had very low removal efficiency. Ibuprofen, paracetamol, ketoprofen, naproxen, aspirin, caffeine and theophylline had removal efficiency higher than 80% at concentrations not exceeding hundreds of ng.L^{-1} in output of extended aeration activated sludge process. However with medium loaded activated sludge process these compounds had low removal efficiency. Only paracetamol and aspirin had still removal efficiency higher than 80% at concentrations upper $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ at output of process. To better remove PhACs while using existing processes, the activated sludge process which is capable to eliminate the carbon and nitrogen pollution should be preferred.



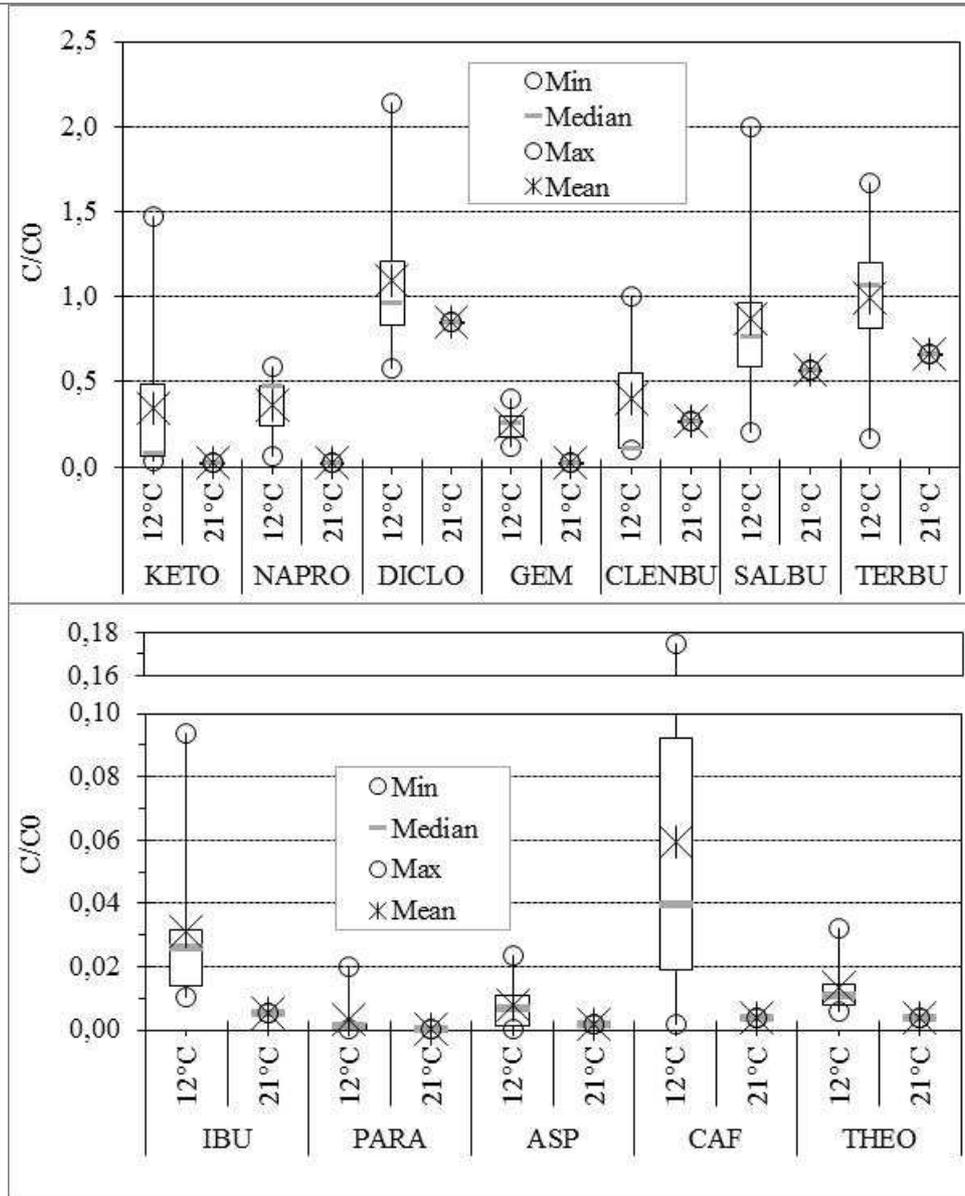


Figure 8 : Influence of temperature on removal efficiency of PhACs in extended aeration activated sludge process. Relative concentration of selected PhACs: ratio between concentration in raw wastewaters (C_0) and concentration in secondary treated wastewaters (C).

Comparison between activated sludge and membrane bioreactor (MBR)

The membrane bioreactor (SE5) and the extended aeration activated sludge processes were compared in terms of concentrations and removal rate (Table 4). The MBR process is a secondary advanced biological treatment which can directly be compared to activated sludges and allows to reduce SPM in effluent.

The removal rates for all PhACs with MBR treatment were better than those with activated sludge. Carbamazepine and nordazepam had removal rates of -26 and 4%, respectively. Removal rates of diclofenac and terbutaline were respectively 58 and 55%. Other studied PhACs had removal rates above 80%. Concentrations quantified in effluent of MBR not exceed 500 ng.L^{-1} . Our results are in agreement with other studies which reported that in general, treatment by MBR resulted in significant better removal rates compared to activated sludge process but carbamazepine had still low removal (Kimura et al., 2005, Bernhard et al., 2006; Sipma et al., 2010). One explanation of the poor removal of

carbamazepine could be its release into effluent by enzymatic cleavage of its glucuronic conjugate (Verlicchi et al., 2012).

Comparison between suspended and attached-growth biomass processes which treated carbon only

Two processes which treated only carbon as major parameter were compared (Table 4); one was suspended-growth biomass which used medium loaded activated sludge (CA3) and another an attached-growth biomass which used biofiltration (CA5). This latter had the characteristic to have a low level of SPM. These two processes had the same efficiency towards the studied PhACs except for ibuprofen, caffeine and theophylline. These compounds were better removed with biofiltration with removal rates of 88, 77 and 92% for ibuprofen, caffeine and theophylline respectively; removal rates were of 12, 8 and 0% respectively after medium activated sludge process.

Comparison between suspended and attached-growth biomass processes which treated carbon and nitrogen

Suspended-growth biomass processes as extended aeration activated sludge (CA1, CA2, SE1, SE2, SE3 and SE4) were compared to attached-growth biomass processes as biofilter (SE6), medium activated sludge followed by nitrifying biofilter (CA3), rotating biological contactors (CA4), vertical and horizontal reed-bed filter (CA6) and culture fixed on carriages (CA8). These processes allow treating carbon and nitrogen as major parameters. The comparison of the efficiency of each process is given in table 4.

Carbamazepine and diazepam had removal efficiency lower than 30% for all applied treatments except after nitrifying biofiltration. But this treatment generated lower removal than other ones for bromazepam, fluoxetine, ketoprofen, naproxen, aspirin and gemfibrozil. Rotating biological contactors process had about the same efficiency than extended aeration activated sludges. The other three treatments allow a better removal of some compounds such as fluoxetine and diclofenac after reed-bed filter, diclofenac, salbutamol and terbutaline after biofiltration and fluoxetine, naproxen and diclofenac after culture fixed on carriages. We can conclude that attached growth biomass processes which treated carbon and nitrogen were more efficiency than extended aeration activated sludge for the removal of PhACs.

III.5.3 Tertiary treatment

Preliminary tertiary treatment

Concentrations (ng.L^{-1}) in influents and effluents, and range of removal rates of PhACs after polishing pond, high rate chemical settler and sand filtration are given in table 5. These processes showed removal efficiency lower than 30% except for fluoxetine and paracetamol with polishing pond (45 and 69% respectively) and paracetamol, diclofenac, gemfibrozil and theophylline for high rate chemical settler (41, 42, 39 and 44% respectively). These preliminary tertiary treatments did not have a better efficiency towards studied PhACs than secondary treatments. Our results are in agreement with study conducted by Fatta-Kassinos and co-workers (2011) which quantified residues of carbamazepine, diclofenac and ibuprofen in effluent of three tertiary WWTPs treatment (sand filtration).

Advanced tertiary treatment

Concentrations (ng.L^{-1}) in influents and effluents, and range of removal efficiencies of PhACs after ozone oxidation, activated carbon filtration and reverse osmosis are presented in

table 5. According to our results these processes allowed a better elimination of PhACs with an average efficiency of 90%.

After the ozone oxidation process the majority of studied PhACs showed removal efficiency above 70% at concentrations not exceeding the tens of ng.L^{-1} in output except for ibuprofen and ketoprofen (41 and 337 ng.L^{-1} respectively). Nordazepam and caffeine had removal efficiencies of 70 and 56% at 6 and 35 ng.L^{-1} in output of treatment respectively; aspirin was quantified at 379 ng.L^{-1} with a removal efficiency of 4% in the output of WWTP. Carbamazepine, amitriptyline, doxepin, imipramine, paracetamol, naproxen, clenbuterol, salbutamol and terbutaline are lower than limits of quantification (between 0.5 and 2 ng.L^{-1} , see table 1). The ozone oxidation is the least expensive but is the least reliable. The fate and toxicity of by-products is a problem which must be investigated. However some studies have not shown a potential toxicity of by-products formed by ozonation (Reungoat et al., 2010; Gartiser et al., 2012). Gagnon and co-workers (2008) have shown that ozone disinfection, placed after primary treatment, allowed better removal efficiency (upper than 70%) for 6 of 8 studied compounds such as salicylic acid, clofibrac acid, naproxen, triclosan, carbamazepine and diclofenac.

Reverse osmosis generated a good removal efficiency of studied PhACs above 90% and are quantified below the limits of quantification (between 0.5 and 2 ng.L^{-1} , see table 1) at the output of treatment. Diazepam, nordazepam, and theophylline had removal efficiency upper than 70% and were quantified in effluent at concentrations lower than 10 ng.L^{-1} . Ketoprofen, aspirin, diclofenac, gemfibrozil and caffeine were removed over 70% at effluent concentrations ranged to 10 from 119 ng.L^{-1} . These results are in agreement with the literature (Dolar et al. 2012). This technology using membrane allowed the application to a wide range of compounds but it is expensive and membranes are very sensitive to biofouling (Dolar et al. 2012).

Activated carbon filtration was similar to reverse osmosis in terms of efficiency towards studied PhACs. All studied compounds had removal efficiency above 80% and were quantified below limits of quantification in effluents (between 0.5 and 2 ng.L^{-1} , see table 1). Removal efficiency of carbamazepine, alprazolam, bromazepam, caffeine and theophylline were upper than 80% but they were detected in effluent at concentrations lower than 10 ng.L^{-1} . The activated carbon filtration appears to be an interesting alternative (Reungoat et al. 2010) but there is a lack of information about charcoal lifetime and its regeneration costs.

Table 5.: Concentration (ng.L⁻¹) in influents and effluents, and removal efficiency ranges of PhACs in tertiary treatments

Sampling site	Sampling point	Carba	Dzp	Ndz	Ami	Dox	Imi	Apz	Brz	Fluox	Ibu	Para	Keto	Napro	Asp	Diclo	Gem	Clenbu	Salbu	Terbu	Caf	Theo
Preliminary tertiary processes																						
Polishing pond																						
CA4	Influent	492	1	17	2	<LoQ	<LoQ	2	<LoQ	6	167	68	619	537	174	353	<LoQ	<LoQ	5	<LoQ	201	198
	Effluent	437	<LoQ	14	1	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	3	162	23	37	1,328	188	148	<LoQ	<LoQ	2	<LoQ	350	293
High rate chemical settler																						
SE3	Influent	1,667	5	29	52	<LoQ	<LoQ	5	14	30	19	73	371	590	68	914	67	<LoQ	12	8	54	57
	Effluent	1,534	5	31	90	<LoQ	<LoQ	6	59	49	<LoQ	60	409	629	95	699	59	<LoQ	10	2	75	28
CA-PA2	Influent	638	4	25	26	<LoQ	<LoQ	4	13	14	46	18	51	74	401	358	39	<LoQ	20	10	56	79
	Effluent	653	6	25	24	<LoQ	<LoQ	4	17	11	50	16	50	79	630	342	35	<LoQ	20	11	60	89
SE-PA1	Influent	243	10	31	22	<LoQ	4	7	3	10	825	30	271	451	390	662	2,310	<LoQ	15	5	820	369
	Effluent	243	9	34	23	<LoQ	5	9	16	12	1,640	<LoQ	301	551	562	<LoQ	87	2	14	<LoQ	1,379	<LoQ
Sand filtration																						
CA-PA1	Influent	327	1	19	59	2	<LoQ	4	12	23	249	68	955	443	393	1,136	773	<LoQ	13	12	100	91
	Effluent	344	1	20	58	2	<LoQ	4	12	19	192	44	1,299	418	396	1,299	614	<LoQ	13	11	80	54
SE-PA1	Influent	243	9	34	23	<LoQ	5	9	16	12	1,640	<LoQ	301	551	562	<LoQ	87	2	14	<LoQ	1,379	<LoQ
	Effluent	264	11	33	23	<LoQ	5	7	<LoQ	11	1,287	24	378	660	269	<LoQ	88	<LoQ	12	<LoQ	891	<LoQ
SE-PA2	Influent	62	7	31	21	1	5	7	<LoQ	6	<LoQ	<LoQ	159	25	83	240	68	<LoQ	5	2	20	26
	Effluent	58	8	29	11	<LoQ	<LoQ	9	1	3	<LoQ	<LoQ	169	<LoQ	166	34	20	<LoQ	<LoQ	1	17	32
Advanced tertiary processes																						
Ozone oxidation																						
CA-PA1	Influent	344	1	20	58	2	<LoQ	4	12	19	192	44	1,299	418	396	1,299	614	<LoQ	13	11	80	54
	Effluent	<LoQ	1	6	<LoQ	<LoQ	<LoQ	1	4	1	41	<LoQ	337	<LoQ	379	9	1	<LoQ	<LoQ	<LoQ	35	6
Activated carbon filtration																						
CA-PA2	Influent	653	6	25	24	<LoQ	<LoQ	4	17	11	50	16	50	79	630	342	35	<LoQ	20	11	60	89
	Effluent	1	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	1	1	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	13	5
Reverse Osmosis																						
SE-PA1 pilote	Influent	302	8	27	5	<LoQ	1	7	<LoQ	5	7,204	<LoQ	300	1,097	102	808	2,429	<LoQ	16	7	1,874	1,949
	Effluent	6	2	2	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	2	<LoQ	<LoQ	13	13	21	4	13	77	<LoQ	<LoQ	<LoQ	119	5

Chapitre 3 : Présence et devenir dans les stations d'épuration – Publication 3

SE-PA2	Influent	58	8	29	11	<LoQ	<LoQ	9	1	3	<LoQ	<LoQ	169	<LoQ	166	34	20	<LoQ	<LoQ	1	17	32	
	Effluent	<LoQ	1	2	<LoQ	<LoQ	<LoQ	1	<LoQ	1	<LoQ	<LoQ	14	<LoQ	36	3	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	11	5
R < 30%		30% < R < 70%		R > 70%																			

III.6 Occurrence of PhACs in sludges

Sludge samples collected during the project were classified into two categories: dehydrated sludges (primary, mixed or biological sludges having undergone only mechanical dewatering) and treated sludges (sludges having undergone a specific treatment: liming, thermal drying, anaerobic digestion, composting and drying on reed bed).

Average concentrations and variabilities of PhACs quantified in dehydrated sludges are classified according to their frequency of quantification and are given in table 6. On the five dehydrated sludge samples, caffeine, carbamazepine, nordazepam, amitriptyline, paracetamol and fluoxetine were quantified in 60% of samples and their averaged concentrations ranged to 0.014 (nordazepam) to 0.879 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw (paracetamol). Doxepin, theophylline, ketoprofen and aspirin were quantified in 40% of samples; average concentrations of the first two compounds were 0.005 and 0.089 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw respectively, ketoprofen and aspirin were quantified at highest levels with average values 8.862 and 21.421 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw respectively. Average concentrations of diazepam and gemfibrozil were lower than 10 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw, naproxen and ibuprofen ones were respectively 21 and 245 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw. These four compounds were quantified in one sample. Seven compounds were not quantified in dehydrated sludges such as imipramine, alprazolam, bromazepam, diclofenac, clenbuterol, salbutamol and terbutaline.

Table 6 : Quantified PhACs in dehydrated sludges classified according to their frequency of quantification: concentrations, medians, minimum and maximum values ($\mu\text{g/g}$ of dry weight), RSD and frequency of quantification (%)

Compounds	Average concentration ($\mu\text{g/g}$ dw)	RSD (%)	Min ($\mu\text{g/g}$ dw)	Max ($\mu\text{g/g}$ dw)	Median ($\mu\text{g/g}$ dw)	n	Quantification frequency (%)
CAF	0.501	70	0.177	0.876	0.450	3	60
CARBA	0.123	55	0.059	0.193	0.116	3	60
NDZ	0.014	59	0.005	0.021	0.015	3	60
AMI	0.245	69	0.132	0.439	0.163	3	60
PARA	0.879	59	0.558	1.481	0.598	3	60
FLUOX	0.136	34	0.097	0.188	0.123	3	60
DOX	0.005	55	0.003	0.007	0.005	2	40
KETO	8.862	130	0.737	16.988	8.862	2	40
ASP	21.421	83	8.791	34.051	21.421	2	40
THEO	0.089	31	0.070	0.108	0.089	2	40
DZP	0.008		0.008	0.008	0.008	1	20
IBU	0.245		0.245	0.245	0.245	1	20
NAPRO	0.021		0.021	0.021	0.021	1	20
GEM	0.003		0.003	0.003	0.003	1	20

Nine samples of treated sludges were analyzed. The average concentration of PhACs in these samples and their variabilities classified according to their frequency of quantification are given in table 7. Carbamazepine and amitriptyline were the two most quantified compounds (78% of the quantification frequency) in treated sludge samples at concentration 0.099 and 0.238 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw respectively. Quantified in 67% of the samples, nordazepam had concentration of 15 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw. Caffeine, paracetamol, theophylline and fluoxetine were quantified in 56% of the samples at average concentration in the order of hundreds ng.g^{-1} dw. Average concentration of aspirin was 1.267 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw, diazepam and gemfibrozil ones were respectively 0.086 and 0.118 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw. These three compounds were detected in 44% of the samples. Imipramine, clenbuterol, salbutamol, terbutaline and bromazepam were quantified in less than 22% of the samples at concentrations in the order of $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw. Alprazolam, ibuprofen and naproxen were not quantified in 9 treated sludge samples.

Table 7 : Quantified PhACs in treated sludges classified according to their frequency of quantification: concentrations, medians, minimum and maximum values ($\mu\text{g/g}$ of dry weight), RSD and frequency of quantification (%)

Compounds	Average concentration ($\mu\text{g/g}$ dw)	RSD (%)	Min ($\mu\text{g/g}$ dw)	Max ($\mu\text{g/G}$ dw)	Median ($\mu\text{g/g}$ dw)	n	Quantification frequency (%)
CARBA	0.099	83	0.003	0.219	0.072	7	78
AMI	0.238	109	0.002	0.674	0.095	7	78
NDZ	0.015	103	0.002	0.040	0.007	6	67
CAF	0.119	44	0.013	0.206	0.113	5	56
PARA	0.163	90	0.028	0.326	0.086	5	56
THEO	0.128	100	0.064	0.358	0.071	5	56
FLUOX	0.140	180	0.017	0.589	0.028	5	56
DZP	0.086	192	0.002	0.335	0.004	4	44
ASP	1.267	81	0.037	2.528	1.214	4	44
GEM	0.118	86	0.001	0.204	0.133	4	44
DOX	0.080	104	0.002	0.167	0.071	3	33
KETO	0.423	57	0.248	0.700	0.321	3	33
DICLO	0.430	120	0.002	1.012	0.240	3	33
IMI	0.005	16	0.004	0.005	0.005	2	22
CLENBU	0.001		0.001	0.001	0.001	1	11
SALBU	0.001		0.001	0.001	0.001	1	11
TERBU	0.002		0.002	0.002	0.002	1	11
BRZ	0.020		0.017	0.020	0.020	1	11

Carbamazepine and amitriptyline were the two most quantified compounds in dehydrated and treated sludge samples and their concentrations were in the same order of magnitude in both cases. Aspirin and ketoprofen had the highest concentrations in two categories of sludges. Generally, average concentrations in treated sludge samples were lower than dehydrated sludge samples ones. Imipramine, bromazepam, clenbuterol, salbutamol and terbutaline were quantified in treated sludge samples at very low concentrations but were not in dehydrated sludge ones. Diclofenac, not quantified in dehydrated sludge samples, had a concentration of $0.430\mu\text{g.g}^{-1}$ dw in treated sludge samples. As mentioned previously, the elimination of diclofenac and imipramine during secondary treatment could be due to sorption mechanisms (Vieno et al. 2005). This phenomenon could be explained by the presence of these two compounds in treated sludge samples. In our study substances quantified in highest concentrations, such as paracetamol, aspirin, ibuprofen or caffeine in sludges are the same than the most concentrated in the dissolved phase as observed Nieto et al. (2010). The values of measured concentrations in sludges are low; they are on the order of the hundredths of $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw. Our values are in the same order of magnitude than Jelic and co-workers (2011) ones.

IV. Conclusions

In this study, raw, treated wastewaters and sludges were studied for 21 WWTPs. PhACs were quantified in the majority of samples; however they were present at concentrations below the $\mu\text{g.L}^{-1}$, except for aspirin, paracetamol, ibuprofen, caffeine, theophylline and ketoprofen, for which concentrations ranged from ten to hundreds of $\mu\text{g.L}^{-1}$ in raw wastewaters. These substances were mainly present in the dissolved phase (weakly absorbed on the SPM) and were found at low levels in treated sludges (lower than $0.5\mu\text{g.g}^{-1}$ dw) except for aspirin which were quantified at $1.267\mu\text{g.g}^{-1}$ dw.

Removal efficiencies were calculated and showed an increasing efficiency for primary to secondary and tertiary processes. Primary processes typically reached only a small removal of PhACs, with removal below 30%. Biological secondary treatments (activated sludge) allowed higher removals up to 70% for 50% of studied PhACs. Advanced tertiary treatment such as activated carbon filtration and reverse osmosis allowed having good removal efficiency even for recalcitrant compounds. Studied PhACs were quantified at concentrations above hundreds ng.L-1 with these tertiary treatments. Treatment plants currently being implemented were not designed to remove organic micropollutants present in water systems such as pharmaceuticals, hormones, natural or synthetic compounds used increasingly associated with a lifestyle and society. However the addition of advanced tertiary processes such as reverse osmosis, ozonation or activated carbon filtration could increase the removal of PhACs, such as carbamazepine, diazepam aspirin and caffeine. However these WWTPs are still marginal in the field of sanitation in France, because of their cost and the limited development of the re-use of wastewater in our country.

Acknowledgements

The authors wish to thank the French national research agency ANR AMPERES, the Aquitaine Region and the European Union (CPER A2E project) for financial support. Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund.

References

- Bernhard, M., J. Müller, and T. Knepper. 2006. « Biodegradation of persistent polar pollutants in wastewater: Comparison of an optimised lab-scale membrane bioreactor and activated sludge treatment ». *Water Research* 40 (18): 3419-3428.
- Besse, J.P., and J. Garric. 2008. « Human pharmaceuticals in surface waters- Implementation of a prioritization methodology and application to the french situation ». *Toxicology Letters* 176 (2): 104-123.
- Capdeville, M.J., and H. Budzinski. 2011. « Trace-level analysis of organic contaminants in drinking waters and groundwaters ». *Trends in Analytical Chemistry* 30 (4): 586-606.
- Carballa, M., F. Omil, J.M. Lema, M. Llompart, C. Garcia-Jares, I. Rodriguez, M. Gomez, and T. Ternes. 2004. « Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant ». *Water Research* 38 (12): 2918-2926.
- Castiglioni, S., R. Bagnati, R. Fanelli, F. Pomati, D. Calamari, and E. Zuccato. 2006. « Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy ». *Environmental Science and Technology* 40 (1): 357-363.
- Céspedes, R., S. Lacorte, A. Ginebreda, and D. Barcelo. 2008. « Occurrence and fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates in sewage treatment plants and impact on receiving waters along the Ter River (Catalonia, NE Spain) ». *Environmental Pollution* 153 (2): 384-392.
- Choubert, J.M., S. Martin-Ruel, and M. Coquery. 2009. « Prélèvement and échantillonnage des substances prioritaires and émergentes dans les eaux usées ». *Techniques Sciences and méthodes* (4): 88-101.
- Choubert, J.M., S. Martin-Ruel, M. Esperanza, H. Budzinski, C. Miège, C. Lagarrigue, and M. Coquery. 2011. « Limiting the emissions of micro-pollutants: what efficiency can we expect from wastewater treatment plants? ». *Water Science and Technology* 63 (1): 57-65.
- Clara, M., B. Strenn, E. Martinez, N. Kreuzinger, and H. Kroiss. 2005. « Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants ». *Water Research* 39 (19): 4797-4807.
- Daughton, C., and T. Ternes. 1999. « Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agent of subtle change? ». *Environmental Health Perspectives* 107 (S6): 907-938.
- Dolar, D., T. Zokic, K. Kosutic, D. Asperger, and D.M. Pavlovic. 2012. « RO/NF membrane treatment of veterinary pharmaceutical wastewater: comparison of results obtained on a laboratory and a pilot scale ». *Environmental Science and Pollution Research* 19 (4): 1033-1042.
- Dupuis, A., V. Migeot, A. Cariot, M. Albouy-Llaty, B. Legube, and S. Rabouan. 2012. « Quantification of bisphenol A, 353-nonylphenol and their chlorinated derivatives in drinking water treatment plants ». *Environmental Science and Pollution Research* in press: 1-13.
- Fatta-Kassinos, D., E. Hapeshi, A. Achilleos, S. Meric, M. Gros, M. Pandrovic, and D. Barcelo. 2011. « Existence of Pharmaceutical compounds in tertiary treated urban wastewater that is utilized for reuse applications ». *Water Resources Management* 25 (4): 1183-1193.

- Focazio, M.J., D.W. Kolpin, K.K. Barnes, E.T. Furlong, M.T. Meyer, S.D. Zaugg, L.B. Barber, and M.E. Thurman. 2008. « A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States- II) Untreated drinking water sources ». *Science of the Total Environment* 402: 201-216.
- Furlong, E.T., S.L. Werner, B.D. Anderson, and J.D. Cahill. 2008. « Dandermination of human-health pharmaceuticals in filtered water by chemically modified styrene-divinylbenzene resin-based solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography/mass spectromandry ». In *Laboratory Analysis. U.S. Geological Survey. Vol. Section B. Techniques and Mandhods Book 5*.
- Gabet-Giraud, V., C. Miège, J.M. Choubert, S. Martin-Ruel, and M. Coquery. 2010. « Occurrence and removal of estrogens and banda blockers by various processes in wastewater treatments plants ». *Science of the Total Environment* 408 (19): 4257-4269.
- Gagnon, C., A. Lajeunesse, P; Cejka, F. Gagné, and R. Hausler. 2008. « Degradation of selected acidic and neutral pharmaceutical products in a primary treated wastewater by disinfection processes ». *Ozone: Science and Engineering* 30 (5): 387-392.
- Gartiser, S., C. Hafner, K. Kronenberger-Schäfer, O. Happel, C. Trautwein, and K. Kümmerer. 2012. « Approach for dandecting mutagenicity of biodegraded and ozonated pharmaceuticals, mandabolites and transformation products from drinking water perspective ». *Environmental Science and Pollution Research* 19 (8): 3597-3609.
- Hai, F.I., K. Tessmer, L.N. Nguyen, J. Kang, W.E. Price, and L.D. Nghiem. 2011. « Removal of micropollutants by membrane bioreactor under temperature variation ». *Journal of Membrane Science* 383 (1-2): 144-151.
- Janex-Habibi, M.L., A. Huyard, M. Esperanza, and A. Bruchand. 2009. « Reduction of endocrine disruptor emissions in the environment: the benefit of wastewater treatment ». *Water Research* 43 (6): 1565-1576.
- Jelic, A., F. Fatone, S. Di Fabio, M. Pandrovic, F. Cecchi, and D. Barcelo. 2012. « Tracing pharmaceuticals in a municipal plant for integrated wastewater and organic solid waste treatment ». *Science of the Total Environment* 433: 352-361.
- Jelic, A., M. Gros, A. Ginebreda, R. Cespedes-Sanchez, F. Ventura, M. Pandrovic, and D. Barcelo. 2011. « Occurrence, partition, and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment ». *Water Research* 45 (3): 1165-1176.
- Joss, A., E. Keller, A.C. Alder, A. Göbel, C.S. McArdell, T. Ternes, and H. Siegrist. 2005. « Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment ». *Water Research* 39 (14): 3139-3152.
- Kimura, K., H. Hara, and Y. Watanabe. 2005. « Removal of pharmaceutical compounds by submerged membrane bioreactors (MBRs) ». *Desalination* 178 (1-3): 135-140.
- Lajeunesse, A., S.A. Smyth, K. Barclay, S. Sauvé, and C. Gagnon. 2012. « Distribution of antidepressant residues in wastewater and biosolids following different treatment processes by municipal wastewater treatment plants in Canada ». *Water Research* 46 (17): 5600-5612.
- Loos, R., B.M. Gawlik, G. Locoro, E. Rimaviciute, S. Contini, and G. Bidoglio. 2009. « EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters ». *Environmental Pollution* 157 (2): 561-568.
- Martin-Ruel, S., M. Esperanza, J.M. Choubert, I. Valor, H. Budzinski, and M. Coquery. 2010. « On-site evaluation of the efficiency of conventional and advanced secondary processes for the removal of 60 organic micropollutants ». *Water Science and Technology* 62 (12): 2970-2978.

- Miège, C., J.M. Choubert, L. Ribeiro, M. Eusèbe, and M. Coquery. 2009. « Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants- Conception of a database and first results ». *Environmental Pollution* 157 (5): 1721-1726.
- Niando, A., F. Borrull, E. Pocurull, and R.M. Marcé. 2010. « Occurrence of pharmaceuticals and hormones in sewage sludge ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (7): 1484-1489.
- Ort, C., M. Lawrence, J. Reungoat, G. Eaglesham, S. Carter, and J. Keller. 2010. « Dandermining the fraction of pharmaceutical residues in wastewater originating from a hospital ». *Water Research* 44 (2): 605-615.
- Parrott, J.L., and B.R. Blunt. 2005. « Life-Cycle exposure of fathead minnows (*Pimephales promelas*) to an andhynylestradiol concentration below 1ng/L reduces egg fertilization success and demasculinizes males ». *Environmental Toxicology* 20 (2): 131-141.
- Reungoat, J., M. Macova, B. Escher, S. Carswell, J. Mueller, and J. Keller. 2010. « Removal of micropollutants and reduction of biological activity in a full scale reclamation plant using ozonation and activated carbon filtration ». *Water Research* 44 (2): 625-637.
- Santos, L., A.N. Araujo, A. Fachini, and A. Pena. 2010. « Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment ». *Journal of Hazardous Materials* 175 (1-3): 45-95.
- Sipma, J., B. Osuna, N. Collado, H. Monclus, G. Ferrero, J. Comas, and I. Rodriguez-Roda. 2010. « Comparison of removal of pharmaceuticals in MBR and activated sludge systems ». *Desalination* 250 (2): 653-659.
- Teerlink, J., A.S. Hering, C.P. Higgins, and J.E. Drewes. 2012. « Variability of trace organic chemical concentrations in raw wastewater at three distinct sewershed scales ». *Water Research* 46 (10): 3261-3271.
- Terzic, S., I. Senta, M. Ahel, M. Gros, M. Pandrovic, D. Barcelo, J. Müller, and al. 2008. « Occurrence and fate of emerging wastewater contaminants in Western Balkan Region ». *Science of the Total Environment* 399 (1-3): 66-77.
- Togola, A. 2006. « Presence and devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques ». Bordeaux 1.
- Togola, A., and H. Budzinski. 2008. « Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples ». *Journal of Chromatography A* 1177 (1): 150-158.
- Verlicchi, P., M. Al Aukidy, and E. Zambello. 2012. « Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment- A review ». *Science of the Total Environment* 430: 109-118.
- Vieno, N., T. Tuhkanen, and L. Kronberg. 2005. « Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from sewage treatment plant and in the recipient water ». *Environmental Science and Technology* 39 (21): 8220-8226.
- Zhang, Y.Z., X.F. Song, A. Kondoh, J. Xia, and C-Y Tang. 2011. « Behavior, mass inventories and modelling evaluation of xenobiotic endocrine-disrupting chemicals along an urban receiving wastewater river in Henan Province, China ». *Water Research* 45 (1): 292-302.

*Synthèse sur la présence et le devenir
des alkylphénols et des composés
pharmaceutiques dans les stations
d'épuration*

Lors du projet AMPERES, la présence et le devenir des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques ont été étudiés sur 21 STEP utilisant des traitements primaires, secondaires et tertiaires divers. Ce paragraphe résume les résultats obtenus en termes d'occurrence et d'efficacité d'élimination vis-à-vis de ces composés. Ils font l'objet de nombreuses publications dans des revues françaises (Choubert et al. 2009; Choubert et al. 2011b; Coquery et al. 2011; Miège et al. 2011, annexe supplémentaire) et internationales (Gabet-Giraud et al. 2010; Martin-Ruel et al. 2010; Choubert et al. 2011a; Martin-Ruel et al. 2011; Miège et al. 2012) ainsi que les publications 1, 2, 3 et 5 de ce manuscrit.

I. Partition entre les phases dissoutes et particulaires

Il est important d'étudier la partition entre les phases dissoutes et particulaires pour appréhender et comprendre les comportements des composés étudiés lors des procédés de traitement dans les STEP et leur potentielle adsorption sur les boues (Janex-Habibi et al. 2009; Nieto et al. 2010).

Les composés pharmaceutiques analysés en mode d'ionisation positif (ibuprofène, kétoprofène, naproxène, aspirine, diclofénac et gemfibrozil) sont interférés dans certains échantillons correspondants à la phase particulaire des eaux usées brutes. De ce fait, aucun résultat n'est communiqué sur la présence ou non de ces composés dans la phase particulaire.

En entrée de STEP, la théophylline, la caféine, le paracétamol, le salbutamol, la terbutaline, la carbamazépine, le diazépam et le nordazépam sont principalement quantifiés dans la phase dissoute (>70% de la fraction dissoute) (Publication 2, figure 7 ; Publication 3, Figure 6). Le bromazépam, la doxépine, la fluoxétine, l'amitriptyline, le NP2EO, le 4-t-OP, le NP1EO, le NP1EC et le 4-NP sont quantifiés entre 30 et 50% dans la phase dissoute (Publication 1, figure 3 ; Publication 3, Figure 6). Ces résultats sont directement corrélés aux valeurs de $\log K_{OW}$. Les composés quantifiés majoritairement dans la phase dissoute (> 70% de la fraction dissoute) ont un caractère hydrophile avec des valeurs de $\log K_{OW}$ comprises entre -0,39 et 2,87 ; alors que les autres composés sont plutôt hydrophobes ($\log K_{OW}$ compris entre 3,99 et 5,99) à l'exception du bromazépam considéré comme hydrophile ($\log K_{OW}$ de 1,93). Même si les mécanismes majoritaires d'élimination des composés pharmaceutiques connus sont la biodégradation et la transformation, certains phénomènes de sorption peuvent intervenir (Jelic et al. 2012). Le bromazépam se trouve sous forme ionique dans un milieu à pH neutre et des interactions dipôle-dipôle peuvent être à l'origine de son adsorption sur les MES. Ces résultats sont en accord avec ceux présents dans la littérature, notamment pour les alkylphénols et leurs dérivés (Cailleaud et al. 2007; Cespedes et al. 2008; Janex-Habibi et al. 2009). Une grande variabilité est observée dans la partition entre les phases dissoutes et particulaires. Elle peut être attribuée d'une part à la nature des eaux usées brutes, qui s'avère souvent différente en fonction des réseaux d'assainissement, et d'autre part à la faible concentration en phase particulaire de certains composés. En effet, les concentrations des composés les plus hydrophiles sont souvent proches des LOQ ce qui implique que l'incertitude analytique est plus élevée.

En sortie de traitement secondaire, tous les composés sont quantifiés principalement dans la phase dissoute (> 70% de la fraction dissoute). La terbutaline, la fluoxétine, le NP2EO, le 4-t-OP, le NP1EO et le 4-NP sont quantifiés entre 60% et 70% dans la phase dissoute (Publication 1, figure 3 ; Publication 3, Figure 6). Le bromazépam est quantifié

principalement dans la phase particulaire (Publication 3, Figure 6) comme dans les eaux usées brutes. Ces résultats sont liés d'une part à l'élimination des MES lors des traitements secondaires et d'autre part à l'hydrophobicité des composés. Cependant le bromazépam et la terbutaline, composés plutôt hydrophiles sont majoritairement retrouvés dans la phase particulaire ce qui laisse présager que leur élimination dans la phase dissoute est lié à un phénomène de sorption. Et, le NP1EC, composé plutôt hydrophobe ($\log K_{OW}$ de 5,80) est principalement retrouvé dans la phase dissoute (Publication 1, figure 3). Ce composé est un acide et est présent sous forme ionique dans le milieu naturel, il est de ce fait rendu plus hydrophile. La variabilité de la partition entre les phases dissoutes et particulaires est plus importante dans les eaux traitées secondaires que dans les eaux brutes. En effet, la partition a été étudiée sur 33 échantillons d'eaux traitées secondaires provenant de traitement plus ou moins efficace vis-à-vis de l'élimination des MES. De plus, l'élimination des particules lors de ces procédés secondaires peut engendrer des incertitudes analytiques plus élevées car dans certains cas, les concentrations particulaires sont inférieures à la LOQ.

Les résultats discutés par la suite correspondent aux concentrations totales (ng.L^{-1}) qui sont la somme des concentrations dissoutes et particulaires. Les concentrations présentées de l'ibuprofène, du kétoprofène, du naproxène, de l'aspirine, du diclofénac et du gemfibrozil sont celles de la phase dissoute uniquement.

II. Fréquence de quantification et occurrence dans les eaux usées brutes

Les concentrations moyennes, minimales, maximales et médianes en ng.L^{-1} des 26 composés étudiés dans les eaux usées brutes sont classées selon leur fréquence de quantification dans le Tableau 21. Ces concentrations moyennes sont calculées sur les eaux usées brutes issues des 15 STEP dont les filières eau et boue ont été traitées simultanément (Tableau 13). Dans chacune des STEP, les prélèvements ont été effectués pendant 2 à 3 jours consécutifs, ce qui représente 32 échantillons.

Dans le cas des alkylphénols et de leurs dérivés, le 4-NP et le NP1EO sont quantifiés dans 97% des échantillons à des concentrations moyennes de 9 675 et 6 092 ng.L^{-1} , respectivement. Les NP2EO, NP1EC et 4-t-OP sont quantifiés respectivement dans 94, 91 et 79% des cas à des concentrations moyennes de 2 453, 2 065 et 4 141 ng.L^{-1} . La concentration moyenne du 4-NP est supérieure à celle du 4-t-OP ce qui coïncide avec l'utilisation plus importante du 4-NP. En effet 80% des mélanges commerciaux sont des 4-NP (mélange d'isomères) et 20% sont des octylphénols et plus précisément du 4-t-OP, seul isomère utilisé en industrie (INERIS 2005a) La variabilité des concentrations des alkylphénols et de leurs dérivés est importante (RSD compris entre 97 et 191%) et peut être expliquée par plusieurs facteurs : les apports et la biodégradation de ces composés et leur analyse. Les apports de ces composés dans les STEP sont fluctuants, ils sont plus conséquents pendant les jours ouvrés notamment en fin d'après-midi et sont au plus bas la nuit (Ahel et al. 1994b). De plus, les alkylphénols et leurs dérivés sont largement utilisés dans des formulations commerciales destinées à des applications industrielles (INERIS 2005b; Dupuis et al. 2012) et implique que les apports soient différents en zones rurales par rapport aux zones urbaines. Les procédés de biodégradation des dérivés éthoxylés peuvent se produire dans les réseaux de collecte en présence de micro-organismes et ainsi entraîner une production variable de métabolites à chaîne éthoxylée plus courte. L'analyse de ces composés est rendue difficile dans les eaux usées brutes qui sont des matrices complexes car elles sont riches en matières organiques. De

ce fait il peut y avoir des effets matriciels impliquant une sous-estimation des concentrations qui peut légèrement augmenter la variabilité.

En ce qui concerne les composés pharmaceutiques, la caféine, la carbamazépine, le nordazépan, l'amitriptyline, l'ibuprofène, le kétoprofène, la naproxène, l'aspirine, le diclofénac, la théophylline, la fluoxétine, le paracétamol, le salbutamol et le gemfibrozil sont détectés dans plus de 90% des échantillons à des concentrations moyennes inférieures à la centaine de ng.L⁻¹ sauf pour la caféine (4 306 ng.L⁻¹), l'ibuprofène (10 719 ng.L⁻¹), le kétoprofène (4 335 ng.L⁻¹), le naproxène (1 969 ng.L⁻¹), l'aspirine (128 656 ng.L⁻¹), la théophylline (14 092 ng.L⁻¹) et le paracétamol (178 670 ng.L⁻¹). Ces composés sont largement utilisés et sont non soumis à des réglementations ou des restrictions. Ces niveaux de concentrations sont relativement bien corrélés aux quantités de médicaments consommés en France selon les informations connues (Besse et Garric, 2007) (Tableau 21). Pour certains composés pharmaceutiques, comme par exemple l'amitriptyline, l'aspirine, le diazépam ou encore l'imipramine, les variabilités sont importantes (RSD de 96 à 147%). Celles-ci peuvent être expliquées d'une part, par l'apport fluctuant de ces composés dans les eaux usées brutes des STEP qui diffèrent en fonction du nombre d'équivalent-habitant, de la saison ou encore du bassin versant. Ce qui est le cas de l'aspirine par exemple. Et d'autre part, cette variabilité peut être corrélée à l'incertitude analytique pour des composés comme l'imipramine. En effet, ce composé est quantifié à des concentrations proches de sa LOQ.

*Tableau 21 : Concentrations des 26 composés quantifiés dans les eaux usées brutes présentés selon leur fréquence de quantification. * (Besse et Garric 2007). Se reporter aux tableaux 17 et 20 pour les abréviations.*

Composés	Moyenne (ng/L)	Ecart type relatif (%)	Minimum (ng/L)	Maximum (ng/L)	Médiane (ng/L)	n	Fréquence de quantification (%)	Données de consommation en kg (2004)*
4-NP	9 675	108	523	39 295	5 913	32	97	
NP1EO	6 092	191	258	61 930	2 605	32	97	
CAF	4 306	39	20	9 138	4 246	32	97	
CARBA	732	71	<LOQ	2 051	685	32	97	33514
NDZ	19	84	<LOQ	76	17	32	97	236.73
AMI	119	141	5	948	66	32	97	
IBU	10 719	56	8	19 376	11 840	32	97	240024
KETO	4 335	62	959	12 848	3 788	32	97	21697
NAPRO	1 969	69	1	5 800	1 948	32	97	37332
ASP	128 656	96	378	393 765	99 315	32	97	396212
DICLO	751	81	1	2 590	735	32	97	9896
THEO	14 092	41	19	24 794	15 000	32	97	
FLUOX	41	89	1	186	34	32	97	3740
NP2EO	2 453	97	163	8 845	1 599	31	94	
PARA	178 670	50	128	326 374	200 606	31	94	3303077
SALBU	14	63	<LOQ	32	14	31	94	
NP1EC	2 065	157	74	13 656	784	30	91	
GEM	951	81	7	3 360	804	30	91	
DZP	11	165	<LOQ	71	3	29	88	526
BRZ	69	135	2	290	22	29	88	2604
TERBU	11	141	<LOQ	67	7	28	85	
4-t-OP	4 141	171	5	27 426	404	26	79	
IMI	23	347	<LOQ	361	2	21	64	
DOX	15	74	2	38	10	15	45	
CLENBU	4	80	<LOQ	10	4	11	33	
APZ	6	102	2	13	3	3	9	178

Les concentrations des eaux usées brutes issues des zones rurales et urbaines ont été comparées pour les composés étudiés (Publication 1, Figure 4 ; Publication 2, Figure 6 et Publication 3, figure 4). Sur les 15 STEP étudiées, 9 étaient des STEP urbaines (CA3, CA5, CA8, SE1, SE2, SE3, SE4, SE5 et SE6) et 6 des STEP rurales (CA1, CA2, CA4, CA6, CA7 et SE9). Les eaux usées brutes issues des STEP urbaines et rurales ont approximativement le même profil. Les concentrations des alkylphénols et de leurs dérivés dans les STEP urbaines sont plus élevées que celles dans les STEP rurales d'un facteur 2 à 3 (Publication 1, figure 4). Dans les deux catégories de STEP, la concentration du 4-NP reste supérieure à celles des NP1EO, NP2EO et NP1EC. Les alkylphénols (4-NP et 4-t-OP) sont issus de leur utilisation tels quels dans les mélanges commerciaux mais aussi par la biodégradation de leurs dérivés (NP1EO, NP2EO et NP1EC) (Soares et al. 2008; Dupuis et al. 2012). La concentration du 4-t-OP est plus faible que celle du 4-NP, du fait de leur utilisation. Les concentrations moyennes des composés pharmaceutiques sont similaires dans les eaux usées brutes issues des deux catégories de STEP (Publication 2, Figure 6 et Publication 3, figure 4), leur utilisation étant principalement domestique. Cependant leurs concentrations sont plus variables dans les STEP rurales par rapport aux STEP urbaines. Deux explications peuvent être données à cette variabilité. La première est la période d'échantillonnage car la consommation de certains composés pharmaceutiques est saison dépendante, ils sont plus utilisés en hiver (Castiglioni et al. 2006). En effet, sur les 9 STEP urbaines, 6 ont été échantillonnées lorsque les températures étaient comprises entre 20 et 24°C et dans le cas des STEP rurales, 4 l'ont été à des températures comprises entre 9 et 13°C. La différence de capacité des STEP peut être la seconde raison de cette variabilité. Effectivement, les STEP rurales ont une capacité de 100 à 13 000 équivalent-habitant (EH) et les urbaines entre 24 000 to 950 000 EH. Les rejets de composés pharmaceutiques s'intensifient lorsque la capacité d'une STEP augmente ce qui induit une plus grande variabilité des concentrations des eaux usées brutes dans les STEP de faible capacité comme celle des STEP urbaines (Teerlink et al. 2012).

III. Fréquence de quantification et occurrence dans les eaux traitées primaires

Les concentrations moyennes, minimales, maximales et médianes en ng.L^{-1} des 26 composés étudiés dans les eaux traitées primaires sont classées selon leur fréquence de quantification dans le Tableau 22. Ces concentrations moyennes sont calculées sur les eaux traitées primaires issues de 3 STEP (SE2, SE6 et CA5). Dans chacune de ces STEP, les prélèvements ont été effectués pendant 2 à 3 jours consécutifs, ce qui représente 6 échantillons. Il est important de noter que les valeurs obtenues pour seulement 6 échantillons d'eaux traitées primaires ne peuvent pas être directement comparées à celles obtenus sur 33 échantillons d'eaux usées brutes.

Les alkylphénols et leurs dérivés étudiés au cours du projet AMPERES ont été quantifiés dans tous les échantillons d'eaux traitées primaires (Tableau 22). L'alprazolam n'est pas détecté. La doxépine et le clenbutérol sont quantifiés dans 50% des échantillons ; le diazépam, l'imipramine et le bromazépam le sont dans 67% des cas. Le reste des composés pharmaceutiques étudiés est quantifié dans tous les échantillons. Les concentrations des composés pharmaceutiques dans les eaux traitées primaires sont du même ordre de grandeur que celles dans les eaux usées brutes y compris pour l'ibuprofène, le paracétamol, l'aspirine et la théophylline dont les concentrations sont toujours supérieures à 10 000 ng.L^{-1} . Les

concentrations des alkylphénols, de leurs dérivés ainsi que celles de l'imipramine ont diminué après les traitements primaires. Elles sont comprises entre 3 006 et 7 388 ng.L⁻¹ pour les composés alkylphénoliques et est de 57 ng.L⁻¹ pour l'imipramine. Les concentrations du NP1EC sont légèrement supérieures dans les eaux traitées primaires par rapport aux eaux usées brutes. D'après le schéma de biodégradation des dérivés des alkylphénols donné par Ahel et al. (1994b) (Figure 10), les acides alkylphénoxyéthoxy acétiques (APEC) dont le NP1EC sont formés en milieu aérobie ce qui pourrait expliquer l'augmentation de la concentration de ce composé dans les eaux traitées primaires.

Tableau 22 : Concentrations des 26 composés quantifiés dans les eaux traitées primaires présentés selon leur fréquence de quantification. Se reporter aux tableaux des 17 et 20 pour les abréviations.

Composés	Moyenne (ng/L)	Ecart type relatif (%)	Minimum (ng/L)	Maximum (ng/L)	Médiane (ng/L)	n	Fréquence de quantification (%)
4-NP	6 253	108	821	17 903	3 066	6	100
4-t-OP	3 976	187	9	18 908	693	6	100
NP1EO	3 193	117	352	9 454	1 614	6	100
NP2EO	3 006	115	330	9 368	1 770	6	100
NP1EC	7 388	228	30	41 720	346	6	100
CAF	3 280	47	341	4 363	3 826	6	100
CARBA	624	55	294	1 102	522	6	100
NDZ	11	74	1	21	12	6	100
AMI	57	79	7	120	52	6	100
IBU	13 566	11	11 832	15 320	13 656	6	100
PARA	152 935	43	50 743	206 964	185 964	6	100
KETO	4 015	21	2 572	4 832	4 104	6	100
NAPRO	2 155	43	11 56	3 300	2 102	6	100
ASP	23 560	145	3 574	89 560	5 726	6	100
DICLO	585	80	3	1 060	737	6	100
GEM	725	16	521	843	758	6	100
SALBU	15	48	6	22	18	6	100
TERBU	12	38	5	19	12	6	100
THEO	15 991	14	13 640	18 970	15 812	6	100
FLUOX	23	24	12	28	25	6	100
DZP	3	87	1	6	2	4	67
IMI	1	6	1	1	1	4	67
BRZ	115	107	8	240	106	4	67
DOX	3	59	2	4	2	3	50
CLENBU	4	83	1	7	4	3	50

Sur les trois STEP étudiées, deux d'entre elles avaient un traitement physico-chimique (SE6 et CA5) qui consistait à un ajout de chlorure de fer permettant de faire coaguler la matière organique puis de la faire précipiter. Seules les concentrations des NP1EO et NP2EO sont nettement diminuées lors des procédés primaires avec traitement physico-chimique. Ces résultats sont cohérents avec la littérature et laissent suggérer l'accumulation de ces composés dans les boues (Ahel et al. 1994b).

IV. Fréquence de quantification et occurrence dans les eaux traitées secondaires

Le Tableau 23 contient les concentrations moyennes, minimales, maximales et médianes (ng.L⁻¹) des 26 composés étudiés dans les eaux traitées secondaires. Ils sont classés selon leur fréquence de quantification. Ces concentrations moyennes sont calculées sur 15 STEP de la filière eau (Tableau 13) ce qui représente 33 échantillons d'eaux traitées secondaires.

En sortie des STEP secondaires, les 4-NP, NP1EO et NP2EO sont quantifiés dans 100% des échantillons à des concentrations moyennes nettement diminuées par rapport à celles des eaux usées brutes. Elles sont respectivement de 773, 368 et 613 ng.L⁻¹. Le NP1EC est quantifié dans tous les échantillons mais à une concentration moyenne plus forte par rapport à celle obtenue en entrée de STEP, elle est de 2 267 ng.L⁻¹. Le 4-t-OP est quantifié dans 73% des échantillons à une concentration moyenne de 168 ng.L⁻¹. Ces tendances peuvent être expliquées par le schéma de biodégradation de ces composés. En effet en milieu aérobie comme par exemple lors des traitements à boues activées, la dégradation des APEO amène à la formation des APEC dont le NP1EC (Ahel et al. 1994b; Clara et al. 2005).

Tableau 23 : Concentrations des 26 composés quantifiés dans les eaux traitées secondaires présentés selon leur fréquence de quantification. Se reporter aux tableaux 17 et 20 pour les abréviations.

Composés	Moyenne (ng/L)	Ecart type relatif (%)	Minimum (ng/L)	Maximum (ng/L)	Médiane (ng/L)	n	Fréquence de quantification (%)
4-NP	773	138	108	4 363	352	33	100
NP1EO	368	119	45	2 002	189	33	100
NP2EO	613	285	39	9 991	149	33	100
NP1EC	2 267	179	120	22 070	730	33	100
CAF	328	118	2	1 314	177	33	100
CARBA	750	66	0	1 738	722	33	100
KETO	982	139	31	6 380	654	33	100
DICLO	577	82	0	1 510	490	33	100
THEO	307	137	2	2 188	142	33	100
FLUOX	11	83	1	34	8	33	100
AMI	25	74	0	64	23	32	97
NDZ	16	59	0	36	18	31	94
PARA	121	306	1	2 101	31	31	94
SALBU	10	75	0	24	8	31	94
NAPRO	739	92	1	2 236	573	30	91
GEM	244	93	12	936	187	29	88
DZP	11	181	0	91	4	28	85
IBU	505	146	2	2 544	187	28	85
ASP	210	102	1	780	122	28	85
TERBU	5	84	0	17	4	28	85
BRZ	13	97	0	65	11	25	76
4-t-OP	168	126	4	792	52	24	73
APZ	6	97	2	24	5	17	52
DOX	5	67	1	15	5	15	45
IMI	1	45	0	2	1	14	42
CLENBU	2	119	1	8	1	9	27

Tous les composés pharmaceutiques étudiés sont quantifiés à des concentrations inférieures à 1 000 ng.L⁻¹. La carbamazépine, la fluoxétine, le kétoprofène, le diclofénac, la caféine et la théophylline sont quantifiés dans la totalité des échantillons avec des concentrations moyennes comprises entre 11 (fluoxétine) et 982 ng.L⁻¹ (kétoprofène). L'alprazolam, la doxépine, l'imipramine et le clenbutérol sont quantifiés dans moins de 50% des échantillons avec des concentrations moyennes faibles, comprises entre 1 et 6 ng.L⁻¹. Le reste des composés pharmaceutiques est quantifié entre 50 et 97% des échantillons à des concentrations moyennes comprises entre 5 (terbutaline) et 739 ng.L⁻¹ (naproxène). Les concentrations obtenues après les traitements secondaires sont abaissées pour tous les composés y compris pour la caféine, l'ibuprofène, le kétoprofène, le naproxène, l'aspirine, la théophylline et le paracétamol. Ces composés étaient quantifiés à plus de 4 000 ng.L⁻¹ dans les eaux usées brutes et le sont à moins 500 ng.L⁻¹ sauf pour le kétoprofène (982 ng.L⁻¹) et le naproxène (739 ng.L⁻¹). Seule la concentration de la carbamazépine et du diclofénac reste

stable après les traitements secondaires. Ces résultats sont en accord avec ceux donnés dans la littérature : les traitements secondaires permettent une bonne élimination des composés pharmaceutiques sauf la carbamazépine et le diclofénac, composés récalcitrants (Cespedes et al. 2008; Ort et al. 2010; Verlicchi et al. 2012).

La variabilité des concentrations en alkylphénols et leurs dérivés est importante et est comprise entre 119 à 185%. Celle des concentrations en composés pharmaceutiques est comprise entre 45 et 306%. Elle peut être attribuée d'une part aux différents traitements secondaires appliqués dans ces 15 STEP dont certains sont plus efficaces que d'autres pour l'élimination de ces composés. D'un autre côté, la biodégradation des alkylphénols polyéthoxylés et les mécanismes de dégradation / transformation des composés pharmaceutiques fluctuent en fonction de différents paramètres comme la température ou encore le temps de résidence appliqués lors des traitements (Ahel et al. 1994b; Tanghe et al. 1998; Gonzalez et al. 2007; Verlicchi et al. 2012) et peut engendrer des variations dans les concentrations de ces composés. L'importante variabilité pour certains composés pharmaceutiques peut provenir de leurs faibles concentrations qui sont parfois proches des LOQ comme c'est le cas du clenbutérol.

V. Fréquence de quantification et occurrence dans les eaux traitées tertiaires

Deux sortes de procédés tertiaires ont été étudiés: les procédés tertiaires d'affinage des paramètres conventionnels qui permettent la diminution des teneurs en MES des rejets ; et les procédés tertiaires avancés conduisant à une désinfection et à une épuration plus poussée des eaux usées, ils sont situés en fin de filière tertiaire après une ou plusieurs étapes d'affinage.

V.1 *Procédés tertiaires d'affinage*

Le Tableau 24 présente les concentrations moyennes, minimales, maximales et médianes (ng.L^{-1}) des 26 composés étudiés dans les eaux traitées tertiaires après traitement d'affinage, classés selon leur fréquence de quantification. Ces concentrations sont calculées sur 6 STEP (14 échantillons d'eaux traitées). La décantation rapide est étudiée sur 3 STEP (SE3, CA-PA2 et SE-PA1), la filtration sur sable 3 STEP (CA-PA1, CA-PA2 et SE-PA2) et le lagunage tertiaire sur une STEP (CA4).

Après les procédés tertiaires d'affinage, les 4-NP, NP1EO et NP2EO sont quantifiés dans tous les échantillons à des concentrations de l'ordre de la centaine de ng.L^{-1} . Le NP1EC est aussi retrouvé dans 100% des cas mais à une concentration moyenne de $5\,751\text{ ng.L}^{-1}$. Le 4-t-OP est quantifié dans 79% des échantillons avec une concentration moyenne de 507 ng.L^{-1} . La concentration moyenne du NP2EO a légèrement diminué, celle du NP1EO reste stable, celle du 4-NP et du 4-t-OP ont légèrement augmenté et celle du NP1EC a augmenté par rapport aux concentrations déterminées dans les eaux traitées secondaires. Ces traitements tertiaires d'affinage permettent de poursuivre la biodégradation de ces composés. En effet, le 4-NP et le 4-t-OP sont formés par biodégradation des composés à chaînes éthoxylés plus ou moins courtes mais il y a aussi formation du NP1EC qui est le métabolite principal formé en milieu aérobie.

Tableau 24: Concentrations des 26 composés quantifiés dans les eaux traitées tertiaires après traitements d'affinage présentés selon leur fréquence de quantification. Se reporter aux tableaux 17 et 20 pour les abréviations.

Composés	Moyenne (ng/L)	Ecart type relatif (%)	Minimum (ng/L)	Maximum (ng/L)	Médiane (ng/L)	n	Fréquence de quantification (%)
4-NP	903	144	75	4 281	380	14	100
NP1EO	379	134	24	1 462	89	14	100
NP2EO	354	117	10	1 437	220	14	100
NP1EC	5 751	171	607	35 419	1 608	14	100
CAF	435	118	14	1 545	91	14	100
CARBA	513	92	55	1 544	344	14	100
NDZ	27	24	17	35	28	14	100
AMI	35	84	4	108	24	14	100
KETO	524	90	35	1 396	371	14	100
ASP	326	77	60	839	246	14	100
DICLO	393	119	0	1 352	330	14	100
THEO	89	161	0	438	39	14	100
FLUOX	23	99	3	75	15	14	100
DZP	6	56	1	11	6	13	93
APZ	6	42	3	11	5	13	93
NAPRO	506	45	57	766	605	12	86
GEM	150	145	16	633	72	12	86
SALBU	13	37	3	20	12	12	86
4-t-OP	507	257	8	4 382	68	11	79
TERBU	4	117	0	12	1	11	79
IBU	719	118	47	2 566	424	10	71
BRZ	22	142	2	110	14	10	71
PARA	94	179	14	541	47	9	64
IMI	4	59	1	6	4	6	43
DOX	2	0	2	2	2	2	14
CLENBU	4	0	4	4	4	1	7

La caféine, la carbamazépine, le nordazépam, l'amitriptyline, le kétoprofène, l'aspirine, le diclofénac, la théophylline et la fluoxétine sont quantifiés dans tous les échantillons à des concentrations moyennes de l'ordre de la centaine voire la dizaine de ng.L^{-1} . La doxépine et le clenbutérol sont quantifiés dans 14 et 7% des échantillons avec une concentration moyenne de 2 et 4 ng.L^{-1} respectivement. Le reste des composés pharmaceutiques est quantifié entre 93 et 43% avec des concentrations moyennes comprises entre 719 (ibuprofène) et 4 ng.L^{-1} (imipramine). Les concentrations moyennes en composés pharmaceutiques sont légèrement abaissées par ces traitements sauf celles de la carbamazépine et du diclofénac qui restent stables.

Ces traitements tertiaires d'affinage ne permettent pas d'obtenir une efficacité d'élimination significative pour ces composés. La variabilité des concentrations reste forte pour les alkylphénols et leurs dérivés (de 117 à 257%) et est abaissée pour les composés pharmaceutiques (de 24 à 179%).

V.2 Procédés tertiaires avancés

Les concentrations moyennes, minimales, maximales et médianes (ng.L^{-1}) des 26 composés étudiés dans les eaux traitées tertiaires après traitement avancés sont données dans le Tableau 25. Les composés y sont classés selon leur fréquence de quantification. Trois procédés ont été étudiés : l'ozonation (CA-PA1), la filtration sur charbon actif (CA-PA2) et l'osmose inverse (SE-PA1 et SE-PA2). Au total, 7 échantillons ont été analysés.

Tableau 25 : Concentrations des 26 composés quantifiés dans les eaux traitées tertiaires après traitements avancés présentés selon leur fréquence de quantification. Se reporter aux tableaux 17 et 20 pour les abréviations.

Composés	Moyenne (ng/L)	Ecart type relatif (%)	Minimum (ng/L)	Maximum (ng/L)	Médiane (ng/L)	n	Fréquence de quantification (%)
NP1EO	10	85	0	24	9	7	100
NP2EO	43	117	0	146	20	7	100
NP1EC	187	186	1	956	15	7	100
CAF	34	119	6	119	16	7	100
NDZ	3	84	1	7	2	7	100
THEO	5	45	2	10	5	7	100
4-NP	137	121	2	400	47	6	86
DICLO	6	80	1	13	5	6	86
4-t-OP	22	58	5	35	29	5	71
KETO	143	125	13	370	14	5	71
ASP	167	124	4	478	42	5	71
DZP	1	48	1	2	1	4	57
APZ	1	14	1	1	1	4	57
BRZ	3	69	1	5	2	4	57
FLUOX	1	30	1	1	1	3	43
CARBA	4	101	1	6	4	2	29
IBU	41	17	36	46	41	2	29
GEM	39	138	1	77	39	2	29
PARA	13	0	13	13	13	1	14
NAPRO	21	0	21	21	21	1	14

Dans le cas des alkyphénols et de leurs dérivés, les concentrations moyennes sont largement diminuées après ce type de procédé. Quantifiés dans tous les échantillons les NP1EO et NP2EO ont des concentrations inférieures à 50 ng.L⁻¹, alors que celles-ci étaient comprises entre 400 et 600 ng.L⁻¹ après les traitements secondaires ; et celle du NP1EC est de 187 ng.L⁻¹ contre 2 267 ng.L⁻¹. Les 4-NP et 4-t-OP sont quantifiés respectivement dans 86 et 71% des échantillons à une concentration moyenne de 137 et 22 ng.L⁻¹. Ces traitements permettent d'éliminer considérablement le NP1EC des effluents.

En ce qui concerne les composés pharmaceutiques, l'amitriptyline, la doxépine, l'imipramine, le clenbutérol, le salbutamol et la terbutaline ne sont plus quantifiés dans les échantillons après les traitements tertiaires avancés. Tous les composés sont quantifiés à des concentrations inférieures à 100 ng.L⁻¹ sauf le kétoprofène (143 ng.L⁻¹) et l'aspirine (167 ng.L⁻¹). Les composés considérés comme récalcitrants sont éliminés efficacement avec ces procédés. La carbamazépine est quantifiée en moyenne à 4 ng.L⁻¹ (n = 2) et le diclofénac à 6 ng.L⁻¹ (n = 6).

La variabilité des concentrations est moins élevée après les traitements tertiaires avancés du fait de la présence de ces composés à plus faibles concentrations. Elle est comprise entre 58 et 186% pour les alkyphénols et leurs dérivés et entre 14 et 138% pour les composés pharmaceutiques.

VI. Efficacité d'élimination des traitements primaires, secondaires et tertiaires

Les rendements d'élimination exploités dans cette partie sont moyennés sur plusieurs jours à partir des concentrations et des flux moyens déterminés au cours du projet AMPERES. Ils reflètent la diminution potentielle de la concentration d'un composé entre l'entrée et la sortie d'un traitement. Ces rendements tiennent compte de l'adsorption des composés sur les MES des eaux usées brutes, des processus d'adsorption / transfert dans les boues, de la

biodégradation et de la volatilisation. La variabilité observée dans les concentrations des composés entraînent une variabilité des rendements. De ce fait, l'utilisation d'une gamme de rendement plutôt qu'une seule valeur pour tous les résultats a été préférée. Trois gammes ont été utilisées : rendements inférieurs à 30% (rouge), rendements compris entre 30 et 70% (orange) et rendements supérieurs à 70% (vert) (Choubert et al. 2011b).

VI.1 Traitements primaires

Les traitements primaires permettent d'éliminer une grande partie des MES. Deux types de procédés ont été étudiés : la décantation primaire avec ou sans traitement physico-chimique (addition de chlorure de fer). Cette addition permet de faire coaguler les MES et ainsi les faire précipiter. Les traitements primaires seuls ne permettent pas une bonne élimination des composés, les rendements d'élimination sont majoritairement inférieurs à 30% (Tableau 26).

Après décantation primaire simple (SE2), les rendements d'élimination de 46% des composés étudiés ne sont pas calculables car leurs concentrations en sortie de traitements primaires sont équivalentes ou légèrement supérieures à celles en entrée ; pour 12% des composés (doxépine, alprazolam et clenbutérol) ils ne sont pas calculables car leurs concentrations en entrée et / ou en sortie de traitement sont inférieures à leur LOQ (Tableau 26). Les rendements de 35% des composés sont inférieurs à 30% dont certains composés hydrophiles (paracétamol, terbutaline). Cette tendance pourrait être expliquée par leur présence à des concentrations très élevées en entrée de traitement. L'amitriptyline est éliminé à environ 40% et l'imipramine à plus de 70%. Ces résultats sont corrélés à leur caractère hydrophobe ainsi que leur partition entre les phases dissoute et particulaire. En effet, l'amitriptyline, le NP1EO et le NP2EO sont présents entre 50 et 60% dans la phase particulaire. De ce fait leur élimination de la phase dissoute par les traitements primaires est principalement due à celle des MES sur lesquelles ces composés sont adsorbés. L'imipramine est un composé hydrophobe mais est présent à des concentrations très faibles notamment dans la phase particulaire (< LOQ), il a été difficile d'étudier sa partition entre les phases dissoutes et solides lors de ce projet.

Lorsque des traitements physico-chimiques ont eu lieu, les rendements d'élimination des NP1EO, NP2EO, de l'amitriptyline, de l'alprazolam et de la fluoxétine ont été améliorés (Tableau 26) ; ils sont compris entre 30 et 70%. Leur caractère hydrophobe, leur présence majoritaire dans la phase particulaire ainsi que leur élimination lors des traitements primaires suggère qu'ils sont adsorbés sur les boues. Les rendements d'élimination de 42% des composés étudiés ne sont pas calculables car leurs concentrations en sortie de traitements primaires sont équivalentes ou légèrement supérieures à celles en entrée ; pour 15% des composés (doxépine, alprazolam, imipramine et clenbutérol) ils ne sont pas calculables car leurs concentrations en entrée et / ou en sortie de traitement sont inférieures à leur LOQ.

Chapitre 3 : Présence et devenir dans les stations d'épuration - Synthèse

Tableau 26 : Rendements d'élimination (%) pour les alkyphénols, leurs dérivés et les composés pharmaceutiques pour les procédés de traitements primaires et secondaires.

Composés	Traitements primaires		Traitements secondaires													
			C + N								C					
	SE2	SE6 + CA5	Cultures libres								Cultures fixées			Cultures libres	Cultures fixées	
			CA1	CA2	SE1	SE2	SE3	SE4	ΣBA	SE5	CA4	CA6	SE6	CA3	CA5	
DP sans Physico-Chimie	DP avec Physico-Chimie	BA : T : 9 C HRT : 25h	BA : T : 13°C HRT : 16h	BA : T : 15 C HRT : 27h	BA : T : 20 C HRT: 13h	BA : T : 24 C HRT : 26h	BA : T : 20 C HRT : 18h	Moyenne	Bioréacteurs à membranes	Biodisques	Filtres plantés (2 étages)	DP avec Physico-Chimie + biofiltres	BA moyenne charge : T : 20°C HRT : 5h	Biofiltres		
Substance prioritaire dangereuse																
4-NP			44	70	99	99	97	91	84	98		91	92	96	80	40
Substance prioritaire																
4-t-OP			67	76	98	97	100	92	88	100				95	81	86
DICLO			15		32		27	14	7	58			81	47		
Autres composés																
NP1EO	5	65	70	80	98	96	96	89	88	99		90	99	95	69	90
NP2EO	14	43		88	97	99	90	89	63	98		91	92	61	79	86
NP1EC						38	85			80				58		
CAF		6	97	87	99	99	99	100	97	99		95	84	97	8	77
CARBA		10	7		17	17		18								
DZP		19			2					82				24	18	
NDZ	28	27				37				4					7	
AMI	42	55	53	63	44	82	90	70	67	96			76	76	74	67
DOX				67	57			44	28				79		56	
IMI	95			93	99	89			47							
IBU	1		98	95	98	100	100	99	98	100		99	90	99	12	88
PARA	9	7	100	99	100	100	100	100	100	100		100	100	100	99	100
KETO	10		93	40	95	94	90	98	85	97		89	81	81		
NAPRO	12		100	54	90	95	77	99	86	86		75	98	77		
ASP			98	100	100	100	100	99	99	100		100	100	100	88	95
GEM		8	72	73	87	92	97	98	86	100				94	7	7
CLENBU			85													
SALBU		8	27		21	17	40	43	24	74		55				
TERBU	20					58			8	55						32
THEO	1		99	98	99	100	100	99	99	99		99	92	99		92
APZ		46														
BRZ			94	83		95	92	70	71	89				90	24	28
FLUOX		56		45	88		33	86	41	80		83	91	91	78	66
Rendements non calculables			Rendements inférieurs à 30%			Rendements compris entre 30 et 70%				Rendements supérieurs à 70%						

C + N : traitement de la DCO et de l'azote ; C : traitement de DCO seulement ; DP : décantation primaire ; BA : boue activée ; T : température, HRT : temps de séjour hydraulique.

Certains composés dont le rendement n'est pas calculable sont hydrophobes et majoritairement retrouvés adsorbés sur les MES comme les 4-NP ou encore le 4-t-OP. Leur concentration reste équivalente due aux phénomènes de dégradation qui induise leur formation. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés dans la littérature montrant que les traitements physico-chimiques lors des procédés primaires n'avaient aucun effet sur l'élimination de l'ibuprofène, du naproxène, de la carbamazépine et du diclofénac (Gagnon et al. 2008) mais en avaient sur les alkyphénols polyéthoxylés (Ahel et al. 1994b).

VI.2 Traitements secondaires

Différents traitements secondaires ont été étudiés : à cultures libres (les boues activées et le bioréacteur à membranes) et à cultures fixées (biofiltres, biodisques et filtres plantés).

VI.2.1 Efficacité des traitements à boues activées

Six STEP à traitements à boues activées ont été étudiées (CA1, CA2, SE1, SE2, SE3 et SE4) celles-ci diffèrent, entre autre, en terme de température d'échantillonnage et de temps de séjour hydraulique (HRT).

De manière générale, 47% des composés étudiés sont éliminés à plus de 70%. 15% d'entre eux ont un rendement d'élimination compris entre 30 et 70% (le NP2EO, l'amitriptyline, l'imipramine et la fluoxétine) et 19% sont éliminés à moins de 30% (le diclofénac, la doxépine, le clenbutérol, le salbutamol et la terbutaline) (Tableau 26). Les rendements d'élimination des 19% de composés restants ne sont pas calculables. Les concentrations du NP1EC sont plus élevées en sortie de traitement (Tableau 21 et 3) de par sa formation en milieu aérobie, ceci implique que son rendement d'élimination soit négatif. La carbamazépine, le diazépam, le nordazépam et l'alprazolam ont des concentrations équivalentes en entrée et sortie de traitements secondaires (Tableau 21 et Tableau 23) et de ce fait le rendement d'élimination de ces composés ne peut pas être calculé.

Les traitements à boues activées aération prolongées permettent une bonne élimination des alkyphénols (rendement d'élimination supérieur à 80%) et de leurs dérivés (rendement d'élimination supérieur à 60%). Le NP1EC est quant à lui formé au cours des procédés de traitement. La majorité des composés pharmaceutiques a des rendements d'élimination supérieurs à 70%. Les composés comme l'imipramine, l'amitriptyline, le salbutamol, la terbutaline, le clenbutérol, la doxépine ou encore la fluoxétine sont moins bien éliminés mais sont présents à des concentrations faibles en sortie de traitement (comprises entre 1 et 25 ng.L^{-1}). Cependant la carbamazépine et le diclofénac sont difficilement éliminés par les traitements à boues activées (rendement d'élimination inférieur à 30%). Plusieurs études confirment nos observations. Elles mettent en évidence une bonne élimination des alkyphénols et de leurs dérivés dans la phase dissoute sauf pour le NP1EC qui est formé au cours des traitements secondaires (Clara et al. 2005; Janex-Habibi et al. 2009) ainsi que celle des composés pharmaceutiques (Ternes 1998; Miège et al. 2009). Le cas de la carbamazépine est aussi retrouvé dans les études menées par Miège et Fatta-Kassinou (Miège et al. 2009; Fatta-Kassinou et al. 2011).

Les rendements d'élimination propre à chaque STEP à boues activées diffèrent significativement en fonction de la température, du temps de séjour hydraulique ou de l'âge des boues (Tableau 26). Les rendements d'élimination des composés étudiés ont été comparés en fonction de la température d'échantillonnage. Les rendements des STEP CA1, CA2 et SE1,

échantillonnées entre 9 et 15°C, ont été moyennés ainsi que ceux des STEP SE2, SE3 et SE4, échantillonnées entre 20 et 24°C (Figure 59).

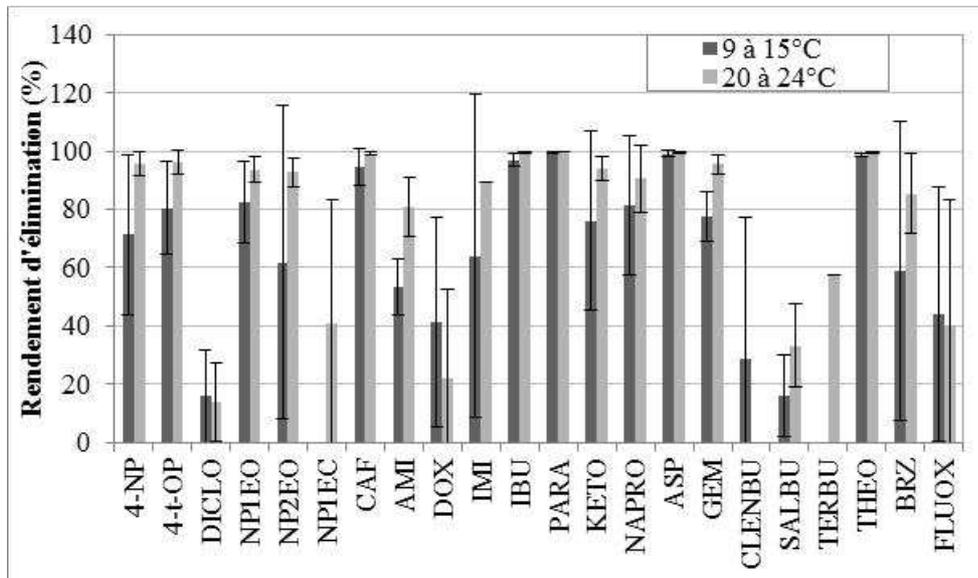


Figure 59 : Comparaison des rendements d'élimination en fonction de la température pour les substances prioritaires dangereuses et prioritaires et les autres composés étudiés.

L'augmentation de la température a un effet positif sur les rendements d'élimination de 50% des composés étudiés : le 4-NP, le 4-t-OP, le NP1EO, le NP2EO, le NP1EC, l'amitriptyline, l'imipramine, le kétoprofène, le naproxène, le gemfibrozil, le salbutamol, la terbutaline et le bromazépam (Figure 59). L'écart type entre les rendements d'élimination de certains de ces composés (NP1EC, imipramine et bromazépam) est élevé du fait que dans certains cas, leurs rendements ne soient pas calculables. Les rendements d'élimination de 42% des autres composés ne sont pas influencés par la température : le diclofénac, la caféine, l'ibuprofène, le paracétamol, l'aspirine, la théophylline, la fluoxétine, la carbamazépine, l'alprazolam, le diazépam et le nordazépam (Figure 59). Cependant ceux de la doxépine et du clenbutérol sont supérieurs lorsque la température augmente (Figure 59). Le clenbutérol est présent à des concentrations faibles dans les effluents secondaires (2 ng.L⁻¹ en moyenne) et dans certains cas, elles sont inférieures à sa LOQ et les rendements d'élimination n'ont pu être calculés. De ce fait, nous ne pouvons pas conclure sur l'effet potentiel de la température sur l'élimination de ce composé.

Les composés dont les rendements ne sont pas influencés par la température sont relativement bien dégradés au cours des traitements à boues activées, comme la caféine ou encore le paracétamol et coïncide avec les résultats obtenus par Castiglioni et al. (2006). Cette tendance à une meilleure élimination des composés alkylphénoliques et de certains composés pharmaceutiques avec l'augmentation de la température a déjà été mise en évidence dans les stations d'épuration (Ahel et al. 1994b; Isobe et al. 2001; Castiglioni et al. 2006; Verlicchi et al. 2012). La température des effluents au sein des STEP est contrôlée par celle de l'air ambiant et joue un rôle primordial sur la qualité des rejets (Canler et al. 2007). En effet, la température intervient sur les cinétiques biologiques, plus elle est élevée meilleur est le développement bactérien. Il a été observé une diminution d'un facteur 2 de la croissance de bactéries lorsque les températures au sein d'un réacteur biologique passe de 20 à 10°C (Canler et al. 2007). Quand les températures sont inférieures à celles optimales pour les bactéries, leur activité métabolique diminue et par la même occasion la vitesse de dégradation des polluants

(Canler et al. 2007). Les composés mieux éliminés à températures élevées (proches de 20°C) sont principalement éliminés par biodégradation. Cependant le cas de la doxépine est intéressant, son comportement en fonction de la température est inversé par rapport aux autres composés. En effet, il est mieux éliminé lorsque la température est basse. Ce phénomène peut être associé à des mécanismes de sorption qui sont meilleurs à faibles températures (Vieno et al. 2007).

Les STEP CA3 et SE4 ont des temps de séjour hydraulique (HRT) différents; ils sont respectivement de 5 et 18 jours et ont une température d'échantillonnage identique (Tableau 26). Leurs rendements d'élimination ont été comparés (Figure 60).

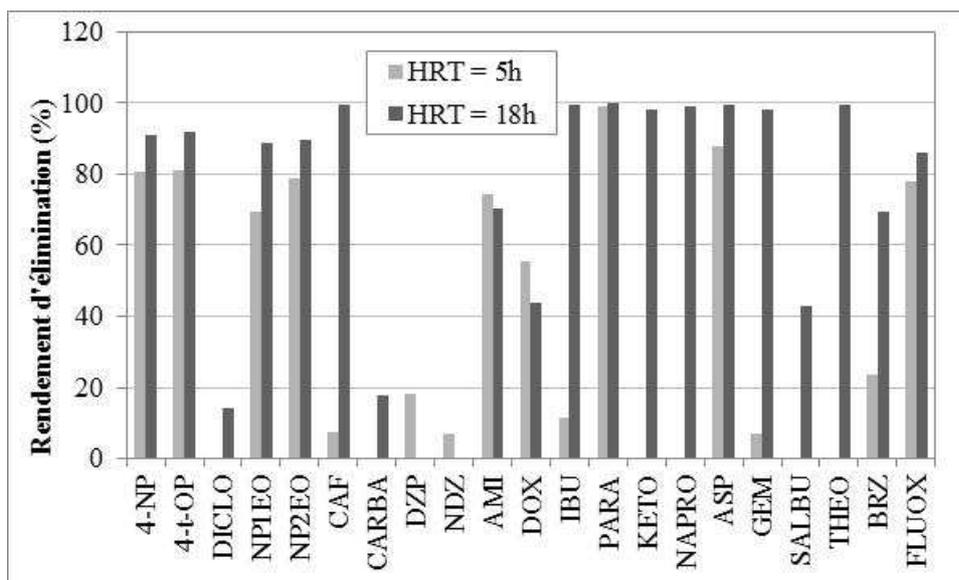


Figure 60 : Comparaison des rendements d'élimination en fonction du temps de séjour hydraulique pour les substances prioritaires dangereuses et prioritaires et les autres composés étudiés.

L'augmentation du temps de séjour hydraulique a un effet positif sur les rendements d'élimination de 58% des composés étudiés (Figure 60). 27% d'entre eux sont très significativement meilleurs lorsque ce temps de séjour est plus élevé (la caféine, l'ibuprofène, le kétoprofène, le naproxène, le gemfibrozil, le salbutamol et la théophylline). Aucune influence du temps de séjour hydraulique sur les rendements d'élimination de 31% des composés étudiés n'a été mise en évidence (l'amitriptylline, le paracétamol, la fluoxétine, l'alprazolam, le NP1EC, l'imipramine, le clenbutérol et la terbutaline) (Figure 60). Les rendements d'élimination de l'alprazolam, du nordazépam et de la doxépine n'ont pu être seulement déterminés dans la station CA4 car leurs concentrations, proches des LOQ, étaient équivalentes en entrée et sortie de traitement de la station SE4. La « meilleure » élimination de ces composés dans la STEP CA4 n'est en aucun cas liée à la variation du temps de séjour hydraulique. Plus le temps hydraulique est long, plus les polluants seront en contact avec les bactéries et donc meilleure sera la dégradation de ces composés (Clara et al. 2005; Jelic et al. 2011). D'autres études montrent que l'augmentation du temps de séjour permet une meilleure élimination de la majorité des composés (Tanghe et al. 1998; Jelic et al. 2011; McAdam et al. 2011).

VI.2.2 Efficacité du procédé bioréacteur à membranes (BRM)

Les deux types de traitements à cultures libres ont été comparés. D'un côté, il y a les 6 STEP avec des traitements à boues activées (CA1, CA2, SE1, SE2, SE3 et SE4) et de l'autre

côté il y a le bioréacteur à membrane (SE5). Leurs rendements d'élimination ont été comparés (Figure 61). Malgré une variation des rendements obtenus avec les traitements à boues activées supérieur à 20% pour certains composés, le procédé BRM semble avoir une meilleure efficacité d'élimination (Figure 61).

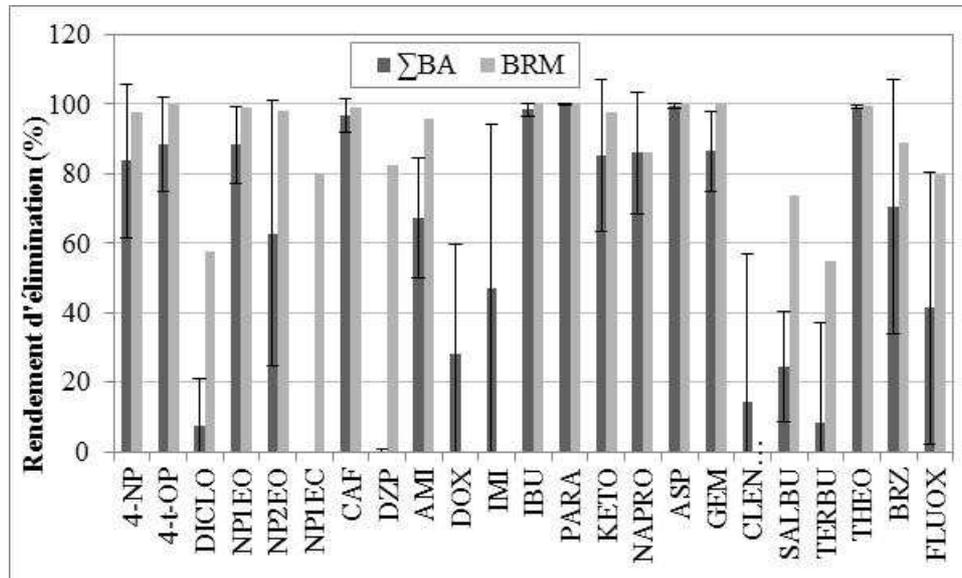


Figure 61 : Comparaison des rendements d'élimination des substances prioritaires dangereuses et prioritaires et des autres composés étudiés obtenus dans les traitements à boues activées (Σ BA, $n = 6$) et à bioréacteur à membrane (BRM).

Les rendements d'élimination du 4-NP, du 4-t-OP, du NP1EO, de la caféine, de l'ibuprofène, du paracétamol, du kétoprofène, du naproxène, de l'aspirine, du gemfibrozil et de la théophylline frôlent les 100% après le procédé BRM. Ces composés sont correctement éliminés par les traitements à boues activées (efficacité supérieure à 80%) mais sont supérieurs après le BRM. Une meilleure élimination est observée pour le NP2EO, l'amitriptyline et le bromazépan. Leurs rendements d'élimination sont supérieurs à 90% après le BRM alors qu'ils étaient aux alentours de 60% après les traitements à boues activées. Les composés difficilement éliminés par les traitements à boues activées comme le diclofénac, le NP1EC, le diazépam, le salbutamol, la terbutaline et la fluoxétine sont éliminés à plus de 50% après le BRM. Cependant aucune amélioration n'est apportée pour la doxépine, l'imipramine, le clenbutérol ou encore la carbamazépine avec le BRM par rapport aux boues activées.

Le procédé BRM possède une concentration en boue plus élevée que celle présente dans les traitements à boues activées à âges de boues comparables (Martin-Ruel et al. 2010; Choubert et al. 2011a). Cette caractéristique permet d'avoir des bactéries plus développées et donc de favoriser les phénomènes de biodégradations et de sorptions. L'élimination des composés est donc améliorée avec le procédé BRM contrairement aux observations de Clara et al. (2005). D'après plusieurs études, la biodégradation est le mécanisme permettant l'élimination des composés (Gonzalez et al. 2007; Martin-Ruel et al. 2010; Choubert et al. 2011a). En effet après analyse des boues, il s'avère que ces composés ne sont pas éliminés par des phénomènes de sorption (Gonzalez et al. 2007).

VI.2.3 Efficacité des traitements à cultures fixées

Les traitements à cultures fixées étudiés ont une efficacité équivalente. Avec le traitement par biodisques (CA4), environ 42% des composés sont éliminés à plus de 70%, 4%

sont éliminés entre 30 et 70% et 12% des composés sont éliminés à moins de 30%. Les rendements d'élimination de 54% des composés ne sont pas calculables soit car leur concentration en sortie de traitement est supérieure à celle en entrée, ce qui est le cas du NP1EC et de la carbamazépine ; soit car leur concentration est faible (proche des LOQ) ou que la concentration en entrée et / ou en sortie est inférieure à la LOQ. Les filtres plantés de roseaux (CA6) permettent une épuration des composés étudiés équivalente aux traitements par boues activées. 54% des composés sont éliminés à plus de 70% dans les effluents. Le rendement des autres composés n'est pas calculable soit par des concentrations en sortie de traitement supérieures à celles en entrée (NP1EC et carbamazépine) soit par des concentrations proches des LOQ ou inférieures au LOQ. Ce procédé a permis d'éliminer le diclofénac à hauteur de 81%. Les traitements par biofiltres permettent d'éliminer 54% des composés à plus de 70%, 3% des composés sont éliminés entre 30 et 70% et 3% des composés le sont à moins de 30%. Les rendements d'élimination ne sont pas calculables pour 31% des composés. Le diclofénac et le NP1EC, composés récalcitrants, sont éliminés à 47 et 58% respectivement. De manière générale, les traitements à cultures fixées ont des efficacités équivalentes aux traitements à boues activées. Les composés récalcitrants tels que la carbamazépine, le diclofénac et le NP1EC sont partiellement voire pas éliminés au cours de ces traitements. La majorité des rendements d'élimination est supérieure à 70%.

VI.3 Traitements tertiaires

En sortie de procédés secondaires, des traitements tertiaires peuvent être appliqués dans le cas de concentrations en micropolluants trop élevées pour le rejet dans le milieu ou en cas de réutilisation de l'eau. Deux sortes de traitements tertiaires ont été étudiées: les traitements d'affinage (décantation rapide, filtration sur sable et lagunage) et avancés (ozonation, filtration sur charbon actif et osmose inverse). Les traitements tertiaires d'affinage permettent d'améliorer l'élimination des paramètres conventionnels tels que les MES et le phosphore et peuvent être employés avant des traitements tertiaires avancés qui eux sont généralement utilisés en potabilisation ou en traitement industriel.

VI.3.1 Efficacité des traitements tertiaires d'affinage

Les traitements d'affinage permettent de compléter le traitement des matières en suspension ainsi que l'élimination de certains micropolluants (Tableau 27). La décantation rapide permet d'affiner l'élimination d'environ 40%, par rapport aux traitements secondaires, du diclofénac et du gemfibrozil, par adsorption de par leur caractère hydrophobe ; et celle du paracétamol et la théophylline, composés très hydrophiles mais pouvant être adsorbés sur les MES par des interactions électrostatiques de type dipôle-dipôle. Le 4-NP, la carbamazépine et le salbutamol sont éliminés à moins de 10% après ce type de procédé. Aucun abattement supplémentaire n'est observé pour les autres composés étudiés.

La filtration sur sable semble être légèrement plus intéressante pour compléter l'élimination des alkylphénols (4-NP, 4-t-OP), de leurs dérivés (NP1EO et NP2EO) et de certains composés pharmaceutiques légèrement hydrophobes (le diclofénac, l'amitriptyline, l'ibuprofène, le gemfibrozil, l'alprazolam et la fluoxétine) (Tableau 27). Ces composés sont retenus par adsorption lors de la filtration. Les composés pharmaceutiques hydrophiles comme la caféine, le nordazépam, le salbutamol, la terbutaline et la théophylline ont une élimination supplémentaire inférieure à 20% (Tableau 27) due à une dégradation potentielle générée par la présence d'une biomasse sur la surface du filtre.

Des mécanismes comme la biodégradation et / ou dans certains cas la photolyse ont permis un abattement supplémentaire pour 38% des composés étudiés lors du lagunage (Tableau 27). L'élimination du NP1EO et du NP2EO est principalement due à la biodégradation générant ainsi du 4-NP. Les composés pharmaceutiques ont pu être dégradés par photolyse comme pour le diclofénac ou encore le kétoprofène (Packer et al. 2003). En effet de nombreux composés pharmaceutiques sont sensibles à la biodégradation (Boreen et al. 2003). Le lagunage permet d'éliminer à plus de 90% le kétoprofène présent dans les eaux traitées issues de procédé secondaires (biodisques).

Tableau 27 : Rendements d'élimination (%) pour les alkylphénols, leurs dérivés et les composés pharmaceutiques pour les procédés de traitement tertiaires.

Composés	Traitements tertiaires d'affinage			Traitements tertiaires avancés		
	Décantation rapide	Filtration sur sable	Lagunage	Ozonation	Filtration sur charbon actif	Osmose inverse
	SE3, CA-PA2, SE-PA1	CA-PA1, SE-PA1, SE-PA2	CA4	CA-PA1	CA-PA2	SE-PA1-pilote SE-PA2
Substances dangereuses prioritaires						
4-NP	7	31		30		48
Substances dangereuses						
4-t-OP		46				
DICLO	42	15	58	99	99	98
Autres composés						
NP1EO		54	4	79	25	25
NP2EO		41	50			82
NP1EC				95	99	89
CAF		23		56	78	94
CARBA	1		11	100	100	99
DZP					91	89
NDZ		2	18	70	96	94
AMI		17		98	96	91
DOX						
IMI						
IBU		22	3	79	99	100
PARA	41		69	98	94	
KETO			94	74	95	96
NAPRO				99	97	98
ASP				4	100	96
GEM	39	32		100	99	97
CLENBU						
SALBU	10	8	60	96	97	97
TERBU		4		95	95	
THEO	44	9		89	94	100
APZ		5			81	93
BRZ		46		71	96	
FLUOX		13	45	95	95	90
Rendements non calculables		Rendements < 30%		30% < rendements < 70%		Rendements > 70%

Les traitements d'affinage étudiés permettent de compléter l'élimination de certains composés comme les alkylphénols et leurs dérivés et quelques composés pharmaceutiques (paracétamol, diclofénac, gemfibrozil) à moins de 30% en moyenne. Dans la majorité des cas, les concentrations quantifiées en sortie de ces traitements sont modérées voire faibles en fonction des composés mais sont en moyenne inférieures à 700 ng.L⁻¹. Ces procédés tertiaires ne permettent cependant pas d'améliorer l'abattement du NP1EC ou encore de la carbamazépine, composés récalcitrants et persistants dans les effluents. Néanmoins, la filtration sur sable permet une meilleure élimination des composés adsorbables.

VI.3.2 Efficacité des traitements tertiaires avancés

Les traitements avancés étudiés (ozonation, filtration sur charbon actif et osmose inverse) semblent plus efficaces pour compléter l'élimination des composés étudiés (Tableau 27). Les concentrations obtenues après ces traitements sont inférieures à 200 ng.L⁻¹ pour les alkylphénols et leurs dérivés et à 100 ng.L⁻¹ pour les composés pharmaceutiques.

L'ozonation permet de compléter l'élimination de plus de 70% pour 63% des composés étudiés (Tableau 27) y compris le diclofénac, le NP1EC et la carbamazépine, composés non éliminés lors des traitements secondaires ou tertiaires d'affinage. Les taux d'abattement de la caféine, du 4-NP et de l'aspirine sont respectivement de 56, 30 et 4%. Les rendements d'élimination du 4-t-OP, du diazépam, de la doxépine, de l'imipramine, du clenbutérol et de l'alprazolam n'ont pas pu être calculés car leur concentrations sont proches des LOQ tant en entrée qu'en sortie de traitement. Les concentrations obtenues après ce procédé sont inférieures à la dizaine de ng.L⁻¹ pour la majorité des composés. Le 4-NP, le NP1EO, le NP2EO, le kétoprofène et l'aspirine ont des concentrations comprises entre 100 et 350 ng.L⁻¹.

73% des composés étudiés sont éliminés à plus de 70% après la filtration sur charbon actif y compris le diclofénac, le NP1EC et la carbamazépine, composés éliminés à moins de 30% voir quasiment pas dans lors des traitements secondaires (Tableau 27). Tant en entrée qu'en sortie de traitement, la doxépine, l'imipramine et le clenbutérol ont des concentrations inférieures à leur LOQ et le 4-NP, le 4-t-OP et le NP1EO ont des concentrations faibles voir proches des LOQ, de ce fait leurs rendements d'élimination n'ont pas pu être calculés. Les concentrations mesurées après les traitements tertiaires sont inférieures à la dizaine de ng.L⁻¹ pour tous les composés étudiés. Ce procédé a été étudié à l'échelle de pilote avec une faible charge (rétention de 2 heures) mais permet de mettre en évidence la potentialité de cette technologie.

L'osmose inverse permet d'augmenter significativement l'efficacité d'élimination de 65% des composés étudiés (taux d'abattement supérieur à 70%), y compris pour les composés récalcitrants après les traitements secondaires (NP1EC, diclofénac et carbamazépine) (Tableau 27). Le 4-NP et le NP1EO sont éliminés à 48 et 25% respectivement. Le 4-t-OP, la doxépine, l'imipramine, le paracétamol, le clenbutérol, la terbutaline et le bromazépam sont présents à des concentrations proches ou inférieures à leur LOQ et leurs rendements d'élimination n'ont pas pu être déterminés. Les concentrations en sortie de traitement par osmose inverse sont inférieures à la dizaine de ng.L⁻¹ sauf pour la caféine.

Les traitements tertiaires avancés permettent d'affiner l'élimination des dérivés des alkylphénols et des composés pharmaceutiques notamment le NP1EC, le diclofénac et la carbamazépine. L'ozonation, placée après les traitements primaires permet une élimination de plus de 70% de la carbamazépine et du diclofénac (Gagnon et al. 2008) et les métabolites produits ne présentent pas de potentielle toxicité (Reungoat et al. 2010; Gartiser et al. 2012). Par l'utilisation de différentes membranes, cette technique peut être appliquée à une large gamme de composés seulement les membranes sont assez chères et sensibles au développement de biofouling ce qui diminue leur temps d'utilisation (Dolar et al. 2012). La filtration sur charbon actif semble être un procédé alternatif (Reungoat et al. 2010) mais nécessite d'études complémentaires quant à la durée d'utilisation du charbon, etc.

VII. Présence dans les boues

Les boues traitées échantillonnées au cours du projet ont été classées en deux catégories : les boues déshydratées qui correspondent aux boues primaires, mixtes ou biologiques ayant subi une étape de déshydratation mécanique et les boues traitées ayant subi un traitement spécifique (chaulage, séchage thermique, digestion, compostage ou lit de séchage). Les composés quantifiés dans les eaux brutes sont présents dans les boues traitées même si dans certains cas leurs concentrations sont faibles.

Tableau 28 : Présence des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques dans les boues déshydratées : concentrations moyennes, médianes, minimums et maximums ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de masse sèche), RSD et fréquence de quantification (%)

Composés	Moyenne ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ms)	RSD (%)	Min ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ms)	Max ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ms)	Médiane ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ms)	n	Fréquence de quantification (%)
4-NP	6,817	41	3,523	9,590	7,840	5	100
4-t-OP	1,501	68	0,250	2,620	1,923	5	100
NP1EO	12,941	33	7,480	18,280	12,070	5	100
NP2EO	6,731	81	1,047	12,900	5,199	5	100
NP1EC	6,779	54	1,929	11,809	6,065	5	100
CAF	0,501	70	0,177	0,876	0,450	3	60
CARBA	0,123	55	0,059	0,193	0,116	3	60
NDZ	0,014	59	0,005	0,021	0,015	3	60
AMI	0,245	69	0,132	0,439	0,163	3	60
PARA	0,879	59	0,558	1,481	0,598	3	60
FLUOX	0,136	34	0,097	0,188	0,123	3	60
DOX	0,005	55	0,003	0,007	0,005	2	40
KETO	8,862	130	0,737	16,988	8,862	2	40
ASP	21,421	83	8,791	34,051	21,421	2	40
THEO	0,089	31	0,070	0,108	0,089	2	40
DZP	0,008		0,008	0,008	0,008	1	20
IBU	0,245		0,245	0,245	0,245	1	20
NAPRO	0,021		0,021	0,021	0,021	1	20
GEM	0,003		0,003	0,003	0,003	1	20

Les concentrations moyennes des composés présents dans les boues déshydratées, classés selon leur fréquence de quantification, sont données dans le Tableau 28. Les composés quantifiés dans tous les échantillons sont les alkylphénols et leurs dérivés. Leurs concentrations sont élevées et comprises entre 1,501 (4-t-OP) et 12,941 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de masse sèche (NP1EO) (Tableau 28). La caféine, la carbamazépine, le nordazépam, l'amitriptyline, le paracétamol et la fluoxétine sont quantifiés dans 60% des échantillons à des concentrations inférieures au $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de masse sèche (Tableau 28). La doxépine, le kétoprofène, l'aspirine et la théophylline sont présents dans 40% des échantillons à des concentrations respectives de 0,005, 8,862, 21,421 et 0,089 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de masse sèche (Tableau 28). Malgré leur caractère plutôt hydrophile, le kétoprofène et l'aspirine sont présents à des niveaux très élevés dans les boues déshydratées, ce phénomène pourrait être attribué à leur présence à de fortes concentrations dans les eaux usées brutes. Le diazépam, l'ibuprofène, le naproxène et le gemfibrozil sont quantifiés dans 20% dans un seul échantillon à des concentrations faibles (inférieures au dixième de $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de masse sèche) (Tableau 28). Sept composés, plutôt hydrophiles, n'ont pas été quantifiés dans les boues déshydratées: l'imipramine, l'alprazolam, le bromazépam, le diclofénac, le clenbuterol, le salbutamol et la terbutaline.

Les concentrations dans les boues ayant subi un traitement spécifique sont inférieures à celles dans les boues déshydratées. En effet, en ce qui concerne les composés pharmaceutiques, les concentrations du kétoprofène ou encore de l'aspirine sont diminuées ;

elles sont respectivement de 0,423 et 1,267 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de masse sèche (Tableau 29). Les concentrations obtenues dans les boues traitées pour les alkylphénols, leurs dérivés et les composés pharmaceutiques sont données dans le Tableau 29 ; les composés y sont classés selon leur fréquence de quantification.

Le 4-NP, le NP1EO et le NP2EO sont quantifiés dans 89% des échantillons. Leurs concentrations sont supérieures au $\mu\text{g.g}^{-1}$ de masse sèche (Tableau 29). Le 4-t-OP, le NP1EC, la carbamazépine et l'amitriptylline sont présents dans 78% des cas. Dans plus de 50% des échantillons, le nordiazépam, la caféine, le paracétamol, la théophylline et la fluoxétine ont des concentrations entre 0,015 et 0,163 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de masse sèche (Tableau 29). L'alprazolam, l'ibuprofène et le naproxène ne sont pas quantifiés dans les boues traitées. Les autres composés pharmaceutiques sont détectés dans moins de 50% des échantillons à des concentrations inférieures au centième de $\mu\text{g.g}^{-1}$ de masse sèche sauf pour l'aspirine, le kétoprofène et le diclofénac (Tableau 29).

Tableau 29 : Présence des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques dans les boues traitées : concentrations moyennes, médianes, minimums et maximums ($\mu\text{g.g}^{-1}$ de masse sèche), RSD et fréquence de quantification (%)

Composés	Moyenne ($\mu\text{g.g}^{-1}$ ms)	RSD (%)	Min ($\mu\text{g.g}^{-1}$ ms)	Max ($\mu\text{g.g}^{-1}$ ms)	Médiane ($\mu\text{g.g}^{-1}$ ms)	n	Fréquence de quantification (%)
4-NP	10,063	60	0,295	20,050	8,351	8	89
NP1EO	6,526	62	0,320	12,700	6,976	8	89
NP2EO	3,844	99	0,320	11,814	3,179	8	89
4-t-OP	2,955	112	0,295	9,449	1,923	7	78
NP1EC	24,858	126	0,069	76,110	7,057	7	78
CARBA	0,099	83	0,003	0,219	0,072	7	78
AMI	0,238	109	0,002	0,674	0,095	7	78
NDZ	0,015	103	0,002	0,040	0,007	6	67
CAF	0,119	44	0,013	0,206	0,113	5	56
PARA	0,163	90	0,028	0,326	0,086	5	56
THEO	0,128	100	0,064	0,358	0,071	5	56
FLUOX	0,140	180	0,017	0,589	0,028	5	56
DZP	0,086	192	0,002	0,335	0,004	4	44
ASP	1,267	81	0,037	2,528	1,214	4	44
GEM	0,118	86	0,001	0,204	0,133	4	44
DOX	0,080	104	0,002	0,167	0,071	3	33
KETO	0,423	57	0,248	0,700	0,321	3	33
DICLO	0,430	120	0,002	1,012	0,240	3	33
IMI	0,005	16	0,004	0,005	0,005	2	22
CLENBU	0,001		0,001	0,001	0,001	1	11
SALBU	0,001		0,001	0,001	0,001	1	11
TERBU	0,002		0,002	0,002	0,002	1	11
BRZ	0,020		0,017	0,020	0,020	1	11

Les concentrations élevées des alkylphénols et de leurs dérivés montrent une adsorption non négligeable de ces composés dans les boues. En effet, le 4-NP, le NP1EO et le NP2EO ont un caractère hydrophobe et sont majoritairement présents dans la phase particulaire. De plus, la présence importante de 4-NP dans les boues et aussi due à la dégradation des éthoxylés adsorbés dans celles-ci. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études (Giger et al. 1984; Janex-Habibi et al. 2009). Le NP1EC, présent sous forme ionique à pH neutre, est présent dans les boues à des niveaux élevés du à des interactions électrostatiques (Lardy-Fontan 2008) et la biodégradation se produisant dans celles-ci.

Les niveaux de concentrations des composés pharmaceutiques dans les boues sont faibles comparé à ceux des alkylphénols et de leurs dérivés. Les composés quantifiés à de

fortes concentrations dans la phase dissoute le sont dans les boues, notamment dans celles ayant subi seulement une étape de déshydratation, comme l'aspirine, le paracétamol, la caféine, le kétoprofène et l'ibuprofène. Une étude menée par Nieto et al. (2010) donne lieu à des résultats similaires au notre. La présence de composé amphiphile tel que les alkylphénols polyéthoxylés peut permettre la création d'interaction avec les composés pharmaceutiques et ainsi leur adsorption dans les boues. D'autres composés comme l'amitriptyline et la fluoxétine, présents à des concentrations inférieures à 100 ng.L^{-1} dans la phase dissoute sont quantifiés dans plus de 50% des échantillons à des concentrations respectives de 0,245 et $0,136 \mu\text{g.g}^{-1}$ de masse sèche. Ces composés sont adsorbés dans les boues de par leur caractère plutôt hydrophobe avec un $\log K_{OW}$ compris entre 4,65 et 4,95.

Chapitre 4 : Développement des échantillonneurs passifs

Publication 4: Calibration et validation
in situ des POCLISTM pour
l'échantillonnage des composés
pharmaceutiques et des alkylphénols
dans une rivière française

Calibration et validation *in situ* des POCIS™ pour l'échantillonnage des composés pharmaceutiques et des alkylphénols dans une rivière française

Coralie Soulier, Sophie Lardy-Fontan, Marie-Hélène Devier, Hélène Budzinski
Université Bordeaux 1, EPOC-LPTC, UMR CNRS 5805, 351 Cours de la Libération, F-33400 Talence (France)

Contact:

Hélène Budzinski: Tel.: 33 5 56 84 69 98; Fax: 33 5 56 84 69 98.

e-mail: h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

Résumé

Les Polar Organic Integrative Sampler (POCIS™) sont aptes à accumuler les composés pharmaceutiques ainsi que les alkylphénols et alkylphénols polyéthoxylés mais leur accumulation au sein de la phase réceptrice reste à approfondir. Une calibration des outils en laboratoire a été menée et les résultats sont présentés dans cet article. La contamination du système d'exposition a été faite dans un pilote développé au laboratoire, aucun changement d'eau n'a eu lieu mais les pertes de composés par adsorption sur les matériaux et / ou dans les POCIS™ ont été compensées par l'ajout journalier d'une solution de contamination. Il en résulte que 17 composés polaires ont une accumulation linéaire sur 14 jours d'exposition ; les composés très polaires ont une accumulation logarithmique en atteignant un équilibre au bout de quelques jours seulement ; et ceux un peu plus hydrophobes ont une accumulation de type exponentielle, l'accumulation de ces composés dans la phase réceptrice se fait avec un temps de latence de quelques jours. En effet ces composés sont en premier lieu absorbés dans les membranes en polyéthersulfone (PES) et lorsque l'équilibre est atteint, ils sont ensuite adsorbés sur la phase des POCIS™. Ces échantillonneurs ont ensuite été validés *in situ*, en amont et aval d'une station d'épuration (STEP) et dans l'effluent. L'utilisation de ces outils intégratifs a permis de mettre en évidence la présence de composés pharmaceutiques dans l'effluent de STEP non détectables par prélèvement ponctuel. De plus les concentrations estimées par l'échantillonnage passif, déterminées à l'aide des constantes cinétiques obtenues lors de la calibration, sont du même ordre de grandeur que celles mesurées lors des prélèvements ponctuels.

Certains taux d'échantillonnage obtenus lors de cette étude sont différents de ceux trouvés dans la littérature. Cet écart peut être expliqué par plusieurs paramètres influençant l'accumulation des composés dans les POCIS™ comme la température, la nature de l'eau utilisée, le débit, etc. Il est donc important de standardiser les calibrations permettant de déterminer les constantes cinétiques.

Laboratory and Field Validation of POCISTM for the Monitoring of pharmaceutical substances and alkylphenols in French River Basin

Coralie Soulier, Sophie Lardy-Fontan, Marie-Hélène Devier, Hélène Budzinski*

Université Bordeaux 1, EPOC-LPTC UMR 5805

351 cours de la libération F-33400 Talence

*Corresponding author. Tel.: +33 5 56 84 69 98; Fax: +33 5 56 84 22 67.

E-mail address: h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

Abstract

The Water Framework Directive (WFD; 2000/60/EC) which aims at protecting and improving the quality of the aquatic environment and resources encourages member states of the European Union to reduce releases of priority toxic substances and to set up a monitoring network. Within the framework of the project AMPERES "Analyse de Micropolluants Prioritaires et Emergents dans les Rejets et les Eaux Superficielles", studies were conducted on different wastewater treatment plants (WWTPs) to measure the composition of raw and treated wastewaters regarding to organic micropollutants (priority and emerging substances).

Powerful methodologies for the analysis of complex matrices (for the aqueous and particulate phases of raw and treated wastewater and sludges) have been developed and validated for the substances targeted in the framework. Nevertheless the screening of surface water by grab sampling is still difficult to interpret due to sample heterogeneity and variability. Thus compared with the grab sampling, the passive sampling has been studied to show its relevance for monitoring micropollutants in wastewaters and aquatic systems impacted by these WWTP effluents.

For this purpose, the Polar Organic Compound Integrative Samplers (POCISTM) for hydrophilic organic compounds was used for the sampling of alkylphenolic compounds and pharmaceutical substances. These samplers provide time weighted average (TWA) concentrations on the duration of exposure. The first step for the use of these tools is a laboratory calibration to determine the accumulation regime and kinetic parameters of studied compounds. 17 compounds have linear regime: their uptake rate constant and sampling rate have been determined by linear regression. 6 compounds seem to have reached equilibrium: their uptake and elimination rate constants and sorbent / phase partition coefficient have been determined by nonlinear regression. And 4 compounds have an exponential accumulation because these compounds are too hydrophobic for this type of passive tool. In a second step, POCISTM were exposed in a river downstream and upstream of an effluent and in effluent. Water concentrations determined by passive sampling are in the same order of magnitude as those determined by grab sampling. This tool allows overcoming matrix effects. POCISTM proved to be good tool to sample studied compounds.

I. Introduction

The monitoring of environmental pollutants represents an ongoing challenge for environmental chemists. In Europe, the implementation of the Water Framework Directive (WFD) (2000/60/EC) whose aim is to protect and provide good water quality status of water bodies has led to the reevaluation of the chemical monitoring approaches (Allan et al., 2006). Under WFD, monitoring approach has been divided in surveillance monitoring (assessment of long-term changes in natural conditions or as a result of anthropogenic activities), operational monitoring (classification of the status of water bodies identified as being at risk of failing their environmental objectives) and investigative monitoring (understanding the causes of objective failure, and assessment of the impact of accidental pollution events); it needs monitoring tools able to provide improved chemical data (Allan et al., 2006). Water pollution by emerging pollutants as Endocrine Disruptors Compounds (EDC), pharmaceutical compounds (PhACs) and personal care products (PCPP) became of first interest because of their ubiquity and ecotoxic and toxic concerns (Enick et Moore, 2007; Soares et al., 2008; Togola et Budzinski, 2008; Loos et al., 2009; Miège et al., 2009; Brix et al., 2010; Murray et al., 2010). The grab sampling is a reflexion of water composition which has important spatial and temporal variabilities. Better appreciations of these variabilities or episodic pollutions require a multiplication of samples in time and space. To overcome those limitations, at a realistic cost, passive sampling devices are able to provide time weighted average (TWA) concentrations, which are the averaged concentrations over the exposure time of this type of tool. These passive samplers have been designed and are commercially available (Gorecki et Namiesnik, 2002; Namiesnik et al., 2005; Vrana et al., 2005; Greenwood et al., 2007; Seethapathy et al., 2008). Among the various types of existing passive samplers, Polar Organic Compound Integrative Samplers (POCISTM) have been designed to sequester hydrophilic with $\log K_{OW} < 3$: pesticides (Alvarez et al., 2004; Alvarez et al., 2005; Mazzella et al., 2007; Martinez-Bueno et al., 2009; Mazzella et al., 2010; Thomatou et al., 2011), PhACs (Alvarez et al., 2004; Jones-Lepp et al., 2004; Alvarez et al., 2005; Mac Leod et al., 2007; Togola et Budzinski, 2007, Bartelt-Hunt et al., 2009, Li et al., 2010a, Bartelt-Hunt et al., 2011; Li et al., 2011; Tapie et al., 2011), and EDC (Matthiessen et al., 2006; Arditoglou et Voutsas, 2008; Harman et al., 2008; Zhang et al., 2008; Harman et al., 2009a; Li et al., 2010a; Vermeirssen et al., 2010; Tapie et al., 2011; Rujiralai et al., 2011).

The aim of this study is to develop the POCISTM samplers (pharmaceutical configuration) from their laboratory calibration to their application in the field. Targeted compounds with this type of tool are hydrophilic and mid-polar compounds such as alkylphenols (APs), alkylphenol polyethoxylates (APEOs), nonylphenoxyacetic acid (NP1EC), bisphenol A and PhACs.

II. Theory and modeling (Greenwood et al., 2007)

The POCISTM are made as follows: two microporous polyethersulfone (PES) membranes enclosing a 200 mg solid-phase sorbent or mixture of sorbent and maintained by two compression steel rings. Two standard configurations exist (Vrana et al., 2005): 1) a “pesticide” configuration contains a triphasic mixture of Isolute ENV+ polystyrene divinylbenzene resin (80% weight) and Amborsorb 1500 carbon lightly dispersed on S-X3 biobeads (20% weight). This phase is used for sampling pesticides, hormones, etc.; 2) a

“pharmaceutical” configuration contains OASIS HLB[®] (Hydrophilic Lipophilic balanced) sorbent. This phase is used for sampling mainly pharmaceutical substances and EDCs (Alvarez et al., 2004).

Accumulation of compounds follows a first order kinetics which is characterized by a kinetic regime and an equilibrium one. The kinetics exchange between a passive sampler and water can be described by a first order equation that describes the two regimes (Vrana et al., 2005):

$$C_s(t) = C_w \left(\frac{k_u}{k_e} \right) (1 - e^{-k_e t}) \quad (1)$$

Where C_s is the concentration of target compound in sorbent ($\mu\text{g.g}^{-1}$), C_w is the water concentration ($\mu\text{g.L}^{-1}$), t is the exposure time (d) and k_u ($\text{L.g}^{-1}.\text{d}^{-1}$) and k_e (d^{-1}) are the uptake and elimination rate constants, respectively.

During the integrative phase, the POCISTM acts as an integrative sink for compounds and the elimination rate constant of compounds is negligible. The equation 1 can be written as (Vrana et al., 2005):

$$C_s(t) = C_w k_u t \quad (2)$$

Equation 2 can be rearranged to equivalent relationships (Vrana et al., 2005):

$$M_s(t) = C_w R_s t \quad (3)$$

$$R_s = \frac{C_s \cdot M_s}{C_w \cdot t} = C_f \cdot \frac{M_s}{t} \quad (4)$$

Where M_s is the mass of sorbent (g), R_s is the sampling rate in L.d^{-1} and has to be defined in laboratory and C_f is the concentration factor.

The sampling rate can be described as the volume of water refines per unit of exposure time for a given compound. When R_s is determined, the TWA concentration can be calculated (Vrana et al., 2005).

During equilibrium regime the thermodynamic equilibrium between water and receiving phase is reached. And equation (1) can be reduced to (Vrana et al., 2005):

$$C_s = C_w \frac{k_u}{k_e} = C_w K_{sw} \quad (5)$$

$$K_{sw} = \frac{k_u}{k_e} \quad (6)$$

Where K_{sw} is the sorbent/water partition coefficient.

III. Material and methods

III.1 *Chemicals and materials*

Pharmaceutical compounds, Bisphenol A (BPA) and BPA d16 were obtained from Sigma Aldrich (St Quentin Fallavier, France; purity > 98%). Deuterated products (imipramine d4, ibuprofen d3, paracetamol d4, salbutamol d3, amitriptyline d6, nordazepam d5 and diazepam d5) used for pharmaceutical quantification were purchased from CDN Isotopes-

Cluzeau Info Labo (Sainte Foy la Grande, France, purity > 98%) and caffeine $^{6}\text{C}_{13}$ was purchased from Euriso-Top (St Aubin, France; purity > 98%). Nonylphenoxyacetic acid (ring chain isomers) (98%+, NP1EC) and internal standards p-n-nonylphenol (p-n-NP) and p-n-nonylphenol monoethoxylate (p-n-NP1EO) were purchased from PROMOCHEM (Molsheim, France). 4-nonylphenol (100%, 4-NP, Technical mixture, CAS number 84852-15-3), 4-tert-octylphenol (99.5%, 4-t-OP), nonylphenol-monoethoxylate (99.5%, NP1EO), nonylphenol-diethoxylate (99.5%, NP2EO) were purchased from laboratory Dr. Ehrenstorfer-Schäfers (Augsburg, Germany). POCISTM AQUASENSE-P Pharmaceuticals[®] were purchased from Exposmeter (Tavelsjö, Sweden). Acetone, dichloromethane, ethyl acetate and methanol (HPLC reagent grade, Scharlau) were purchased from ICS (Belin-Beliet, France); Vittel[®] water from France Boisson (Lormont, France). Hydrochloric acid 37% (reagent grade) was obtained from Atlantic Labo (Eysines, France). Ultrapure deionised water was obtained with a Milli-Q system (Millipore, Molsheim, France). 60 mg Oasis MCX[®] cartridges and bulk HLB[®] sorbent were purchased from Waters (St Quentin en Yvelines, France); 200 mg Bondelut[®] C18 were purchased from Varian (Courtabœuf, France). Whatman GF-F glass fibre filters (pore size: 0.7 μm) were purchased from VWR International (Fontenay-sous-Bois, France). All the glassware was washed with osmosed water and then calcinated at 450°C for six hours prior to use. Glass fibre filters were also calcinated at 450°C during six hours prior to use. Glass cotton was pre-cleaned 3 baths (during 30min each) with dichloromethane under sonication and then dried at 150°C overnight.

III.2 Recoveries of selected compounds from POCISTM

Into an empty glass micropipette blocked with glass cotton, 200 mg of OASIS HLB[®] phase were spiked with methanolic compounds of interest solution (1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 100 ng compound, gravimetrically controlled) and internal standards (methanolic solution 1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 100 ng compounds, gravimetrically controlled). A blank was joined to each extraction series. Four elution mixtures were tested in triplicate for recoveries and standard deviations : 1) 10 mL of methanol followed by 10 mL of a mixture of methanol / dichloromethane (80/20; v/v); 2) 10 mL of methanol followed by 10 mL of a mixture of methanol / dichloromethane / toluene (80/10/10; v/v/v); 3) 10 mL of methanol followed by 10 mL of a mixture of methanol / dichloromethane (50/50; v/v); 4) 20 mL of a mixture of acetone / ethyl acetate (50/50; v/v). Table 1 gives average recoveries and standard deviations obtained for each elution procedure. The elution number 3 was chosen for its satisfactory recovery, except for aspirin and terbutaline, and low standard deviation (less than 15 %, except for caffeine and salbutamol) but this is the best compromise.

III.3 Analytical treatment

III.3.1 Extraction of selected compounds from POCISTM

Extraction of receiving phase HLB[®]

After retrieval, POCISTM were carefully disassembled. Oasis HLB[®] phase was transferred with 20 mL Vittel[®] water into a glass micropipette maintained in a vacuum manifold. Prior to vacuum drying (90 min, 10 mmHg); internal standards (ibuprofen d3, paracetamol d4, salbutamol d3, amitriptyline d6, nordazepam d5, diazepam d5, caffeine C13, p-n-NP and p-n-NP1EO) were added to each sample (methanolic solution at 1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 100 μL , gravimetrically controlled). Elution of compounds was carried out with test elution number 3 (see table 1). Extracts were then divided for the different analysis prior to be reconcentrated

under a gentle stream of nitrogen and transferred to appropriate injection solvent (methanol for APEOs / BPA; acetonitrile for PhACs). After elution, POCISTM phases were freeze-dried and weighted.

Table 1: Average recoveries (%) and standard deviations of POCISTM extraction for the 27 selected compounds achieved by the four tested elution mixtures

Exposed Compound	<u>Test 1:</u> -10ml Methanol -10ml Methanol/dichloromethane (80/20;v/v)		<u>Test 2:</u> -10ml Methanol -10ml Methanol/ dichloromethane/ toluene (80/10/10;v/v/v)		<u>Test 3:</u> -10ml Methanol -10ml Methanol/ dichloromethane (50/50;v/v)		<u>Test 4:</u> -20ml acetone/ ethyl acetate	
	Recoveries (%)	CV	Recoveries (%)	CV	Recoveries (%)	CV	Recoveries (%)	CV
Carbamazepine (Carba)	68	2	82	4	71	6	61	2
Diazepam (Dzp)	101	2	103	2	105	2	103	3
Alprazolam (Apz)	70	4	85	4	88	2	73	3
Bromazepam (Brz)	75	3	96	10	75	9	72	10
Terbutaline (Terbu)	13	8	35	6	18	6	4	1
Salbutamol (Salbu)	32	14	39	9	58	40	10	2
Clenbuterol (Clenbu)	45	5	56	3	51	9	46	5
Nordazepam (Ndzp)	95	1	97	3	99	1	102	5
Fluoxetine (Fluox)	178	7	148	43	123	16	142	8
Amitriptyline (Ami)	92	2	90	17	97	3	108	7
Imipramine (Imi)	87	4	92	9	82	13	74	9
Doxepin (Dox)	66	3	76	4	58	15	52	5
Paracetamol (Para)	45	18	61	4	53	4	52	5
Caffeine (Caf)	42	12	66	1	77	41	49	6
Theophylline (Theo)	77	13	109	3	81	19	84	2
Aspirin (Asp)	50	2	53	12	32	23	7	1
Ibuprofen (Ibu)	83	4	77	3	71	12	75	10
Gemfibrozil (Gem)	268	135	190	1	152	15	173	12
Naproxen (Napro)	74	9	71	4	61	21	138	109
Diclofenac (Diclo)	313	76	296	24	177	26	186	21
Ketoprofen (Keto)	64	3	58	5	44	14	62	7
BPA	95	7	103	3	93	2	90	2
4-NP	98	4	108	8	96	6	85	2
4-t-OP	91	6	78	5	75	3	52	11
NP1EC	84	7	85	8	78	4	88	4
NP1EO	89	1	88	5	97	7	77	25
NP2EO	77	4	77	1	85	11	78	29

Extraction of membranes

PES membranes were kept and frozen (-20°C) before extraction which were carried out by ultrasonication: two baths of 10 min with hexane (2×10 mL) followed by two baths of 10 min with methanol (2×10 mL). Hexane extract was evaporated under nitrogen flow then methanol extract was added and homogenized before being divided; internal standards (ibuprofen d3, paracetamol d4, salbutamol d3, amitriptyline d6, nordazepam d5, diazepam d5, caffeine C13, p-n-NP and p-n-NP1EO) were added to the extract prior to evaporation (methanolic solution at $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; $100 \mu\text{L}$, gravimetrically controlled).

III.3.2 Extraction of dissolved phase

Water samples have been characterized by two distinct analytical methodologies previously published (Publications 1 and 2) (Lardy-Fontan, 2008, Togola and Budzinski, 2008)

APs, APEOs, NP1EC and BPA

APs, APEOS, NP1EC and BPA in dissolved phase were extracted by Solid Phase Extraction (SPE) with BondElut® C18 cartridges (200 mg, 3 cc, Varian). This SPE procedure was previously described (Lardy-Fontan, 2008). Before extraction internal standards (p-n-NP and p-n-NP1EO) were gravimetrically added in samples. Briefly cartridges were conditioned with 5 mL of methanol and then 5 mL of Vittel® water adjusted at pH 2 with hydrochloric acid (3.5 mM). 500 mL of samples were passed through cartridge under vacuum. Cartridges were rinsed with 3 mL of a mixture of Vittel® water at pH 2 and methanol (50/50; v/v) and afterwards dried under vacuum during about one hour. After drying, compounds were eluted with 5 mL of a mixture of methanol and dichloromethane (50/50; v/v). The eluates were evaporated to dryness under a flow of nitrogen and reconstituted with $200 \mu\text{L}$ of methanol before injection.

PhACs

The dissolved phase was extracted by SPE with OASIS HLB® cartridges (60 mg, 3 cc, Waters). The adapted SPE procedure was previously described (Togola and Budzinski, 2008). Internal standards (ibuprofen d3, paracetamol d4, salbutamol d3, amitriptyline d6, nordazepam d5, diazepam d5 and caffeine C13) were gravimetrically added in samples before extraction. Briefly, cartridges were conditioned with 3 mL of ethyl acetate and then 3 mL of Vittel® water adjusted at pH 2 with hydrochloric acid (3.5 mM). 100 mL of samples were passed through cartridges under vacuum which were afterwards dried during about one hour. PhACs were eluted with three successive solvents: 3 mL of ethyl acetate, 3 mL of a mixture of ethyl acetate/acetone (50/50; v/v) and 3 mL of a mixture of methanol / dichloro-methane / ammonium hydroxide (19/19/2; v/v/v). The eluates were evaporated to dryness under a flow of nitrogen and reconstituted with $300 \mu\text{L}$ of acetonitrile before injection. Control internal standard (imipramine d4) was finally added. Eluates were then divided in three parts. The first part was $100 \mu\text{L}$ used for analysis in negative ionization mode. The second part was $100 \mu\text{L}$ used for analysis in positive ionization mode. They were evaporated to dryness under flow nitrogen until $20 \mu\text{L}$ and then $180 \mu\text{L}$ of milliQ water were added. The third part was $100 \mu\text{L}$ to keep in spare sample.

III.3.3 Analysis

APs, APEOs, NP1EC and BPA

Analysis of APs, APEOs, NP1EC and BPA was performed by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and acquisition was achieved in Multiple Reaction Monitoring (MRM) mode with an UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography)- Quattro Premier Waters (Saint Quentin en Yvelines, France). Separation of analytes was achieved using a C₁₈ reverse phase column (1.7 µm, 50x2.1 mm i.d.; Acquity UPLC BEH C18). The injection volume was set at 5 µL. The separation was performed at a flow rate of 0.6ml.min⁻¹ under gradient elution conditions using milliQ water with 2.5 mM of ammonium acetate (A) and methanol (B) for the positive ionization and milliQ water with 0.5mM of ammonium acetate (A) and methanol (B) for the negative ionization. Gradient elution was the same for both ionizations and was from 60% A, to 10% A in 1min, kept isocratic for 1min, 0% A at 2.5 min, kept isocratic for 0.5min, to 60% A at 3.1 min and kept isocratic to 3.8 min. Analytical conditions were more detailed in publication 1.

PhACs

Analysis of PhACs was performed by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) using a C₁₈ reverse phase column (1.8 µm, 50x2.1 mm i.d.; Zorbax SB C18). Analyses were realized with a chromatograph Agilent 1200 series RRLC (Rapid Resolution Liquid Chromatography) and a mass spectrometer Agilent QQQ 6410 triple quadrupole. The injection volume was 5 µL. The separation was performed at a flow rate of 0.5 mL.min⁻¹. For the negative ionization, gradient elution used milliQ water (A) and acetonitrile (B) and was: 100% A, kept isocratic for 10 min, to 35% A in 1 min, to 0% A in 3 min and then 100% A in 5 min. For positive ionization the gradient elution used milliQ water with 0.1% of formic acid (A) and acetonitrile with 0.1% of formic acid (B) and was: 100% A, kept isocratic for 12 min, to 35% A in 1 min, to 0% A in 1 min and then to 100% A in 6 min. Analytical conditions were more detailed in publication 2.

III.3.4 Assurance and quality control

For the analysis of APs, APEOs, NP1EC, BPA and PhACs, several criteria (Capdeville and Budzinski, 2011) were checked to provide robust and reliable method.

Reference compounds were of high purity (> 98%), methanol was used as solvent for standard solutions and the quantification was made by the use of internal calibration. The identification of each studied compound was made by four identification points such as the retention time, two transitions (quantification and confirmation) and the ratio between these two transitions.

Standard solution was injected to determine the accuracy and the validity of the quantification method and allow calculating response factors of each compound. Another independent standard solution was used to test the precision of the method and the quantification rate obtained ranged between 91 ± 11% and 100 ± 10% for APs, APEOs, NP1EC and BPA between 88 ± 15% and 101 ± 6% for PhACs. These standard solutions were injected about every 10 samples and at the beginning and the end of each injection series. Added to these controls, blanks of injection were used after each sample to free contamination from needle. Vittel® water was used for blanks of extraction which were extracted in parallel with samples and allow highlighting possible contamination. Blank corrections were made in the data. Similarly, spiked samples were made for each extraction, Vittel® water (dissolved

phase extraction) or cleaned phase OASIS HLB® (POCIS™ sorbent extraction) were supplemented with known amounts of studied compounds. They were used as control over the quality of extraction, and allowed calculating the extraction efficiency. Recoveries of the studied APs, APEOs, NP1EC and BPA by SPE procedure ranged between $76 \pm 31\%$ (4-t-OP) and $116 \pm 10\%$ (NP1EO) and for PhACs $53 \pm 16\%$ (aspirin) and $110 \pm 17\%$ (paracetamol). POCIS™ samplers were analyzed in triplicate.

III.4 Laboratory experiments

The system consisted in a 96 L glass tank (Figure 1), operating in a temperature controlled dark room ($20.5 \pm 2^\circ\text{C}$). A twelve position carousel has been designed to receive POCIS™. The two horizontal levels (6 POCIS™ per vertical level): internal and external ones lead to the simulation of two exposition speeds (0.21 and $0.46 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$). Tap water was fed to the system and controlled for background level of compounds of interest before the beginning of the experiment. Test chemicals were dissolved in methanol ($15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) and the initial appropriate amounts of stock solution (7 mL) were added to the system in order to obtain a nominal concentration of $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (T_{0-2}). Between 1 and 4 mL were added every day in order to compensate for sorption and hydrolysis phenomena. At T_0 , 24 POCIS™ were added to the system. The exposure lasted 14 days, during which supplementation of the tank was adapted to the losses. Water concentrations were controlled daily. Triplicates POCIS™ were removed from each speed simulation places at 3, 7, 10 and 14 days. No replacement of sampled POCIS™ was performed. 400 mL of water were sampled every day.

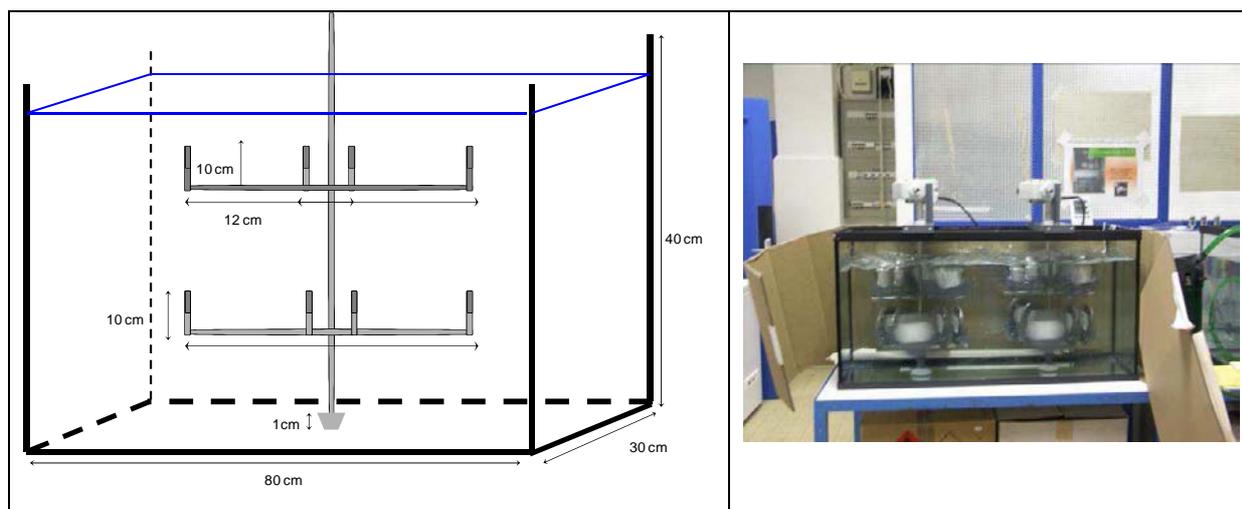


Figure 1: Experimental tank with the experimental carousel developed for the calibration of POCIS™

III.5 Field experiments

The small river of Eysines was chosen for field validation of POCIS™ because of its closeness from laboratory and its relatively reduced complexity: one main source of contamination (WWTP effluent of Eysines) leading to a contrast between upstream and downstream waters of the effluent loads (Figure 2). A two week deployment campaign was conducted between 19 March and 2 April 2008. POCIS™ were suspended vertically from a small bridge (water depth of 50 cm), upstream (400 m) and downstream (1,200 m) of the WWTP effluent. Six POCIS™ were deployed at each site; retrieval occurred at days 7 and 14. In parallel, POCIS™ devices were placed in the effluent of the WWTP of Cantinolle at two sites: the pipe (characterized by a high velocity) and the tank (characterized by a no stirred conditions) for a period of 7 days. This WWTP was designed for 85,000 inhabitant-equivalents and biological treatment was applied (activated sludges). All deployment were

realised in triplicates. During the deployment episode, water was sampled by classical approach at days 0, 2, 7, 9, 12 and 14 (24 hour composite average samples for the effluent; grab samples for downstream and upstream sites). Between 500 mL and 1L of filtered waters (GF-F, 0.7 μm) were extracted according the protocol described above. All samples, POCISTM and waters, underwent analytical treatment in the first 24 hours following sampling to prevent from degradation phenomena.

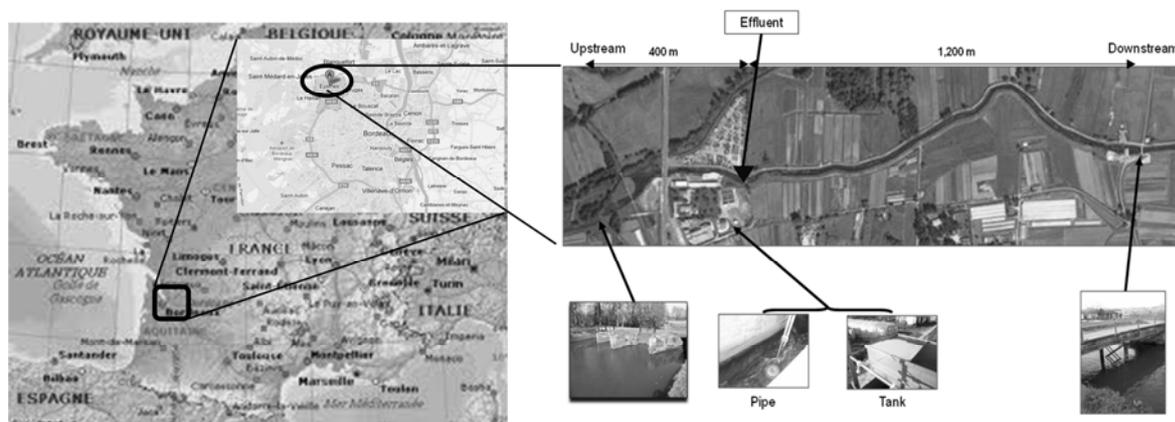


Figure 2: Field trial in the river of Eysines and sampling stations

IV. Results and discussion

IV.1 Laboratory determination of kinetic parameters

A daily predictive spike provided the contamination of the system without changing water. Concentrations of 14 compounds were considered as stable with relative deviation standards (RSD) lower than 30% (diazepam, alprazolam, bromazepam, nordazepam, fluoxetine, amitriptyline, imipramine, doxepin, paracetamol, caffeine, theophylline, ibuprofen, BPA and NP1EC) (Table 2). Concentrations of the thirteen other compounds were unstable with RSD higher than 30% and terbutaline, 4-NP and NP1EO had a RSD higher than 50% (Table 2). This variability could be explained by the mode of contamination which was based on predictive spiked considering potential loss of compounds in the system. These losses could be assigned to an adsorption of compounds into passive sampler and sometimes to an adsorption on system (aquarium or carousel) such as hydrophobic compounds especially for APs and APEOs.

The kinetic parameters of studied compounds during the laboratory calibration have been determined by using equations (2) and (5). These parameters were equivalent for the two exposition rates for most compounds with relative standard deviations lower than 20% except for salbutamol, paracetamol, theophylline, aspirin, diclofenac, NP1EO and NP2EO. Only the results obtained with the highest rate were shown. Accumulation regimes and kinetic parameters for each studied compounds were given in table 3.

During this laboratory calibration, 17 studied compounds had a linear accumulation in POCISTM for 14 days such as carbamazepine, diazepam, alprazolam, bromazepam, clenbuterol, nordazepam, fluoxetine, amitriptyline, imipramine, doxepin, ibuprofen, gemfibrozil, naproxen, diclofenac, ketoprofen, 4-t-OP and NP1EC. Uptake rate constants (k_u) were determined by linear regression and then sampling rates were calculated considering the

mass of sorbent equal to 0.2 g (example of carbamazepine on figure 3) and they were given in table 3.

Table 2: Stability of concentrations in water: mean concentrations ($\mu\text{g.L}^{-1}$) and relative standard deviations (RSD) expressed in percentage for studied compounds ($n=14$).

Compounds with RSD < 30%		Compounds with RSD < 50%		Compounds with RSD > 50%	
Compounds	Mean concentration (RSD)	Compounds	Mean concentration (RSD)	Compounds	Mean concentration (RSD)
Diazepam	0.912 (25%)	Carbamazepine	1.107 (36%)	Terbutaline	0.084 (103%)
Alprazolam	1.051 (30%)	Salbutamol	0.783 (50%)	4-NP	0.980 (60%)
Bromazepam	1.035 (27%)	Clenbuterol	0.791 (34%)	NP2EO	1.163 (61%)
Nordazepam	0.954 (25%)	Aspirin	6.912 (50%)		
Fluoxetine	0.320 (28%)	Gemfibrozil	1.969 (33%)		
Amitriptyline	0.427 (26%)	Naproxen	3.991 (39%)		
Imipramine	0.749 (24%)	Diclofenac	3.082 (41%)		
Doxepin	0.575 (23%)	Ketoprofen	2.974 (38%)		
Paracetamol	1.691 (30%)	4-t-OP	0.969 (47%)		
Caffeine	1.446 (25%)	NP1EO	1.238 (50%)		
Theophylline	2.037 (27%)				
Ibuprofen	2.671 (30%)				
BPA	0.852 (29%)				
NP1EC	1.228 (26%)				

Six compounds had a curvilinear accumulation like salbutamol, paracetamol, terbutaline, caffeine, theophylline and aspirin. These compounds seemed to be quickly accumulated in the phase to reach an equilibrium between water and sorbent after some days. Sorbent / water partition coefficients (K_{SW}) and elimination rate constants (k_e) were determined by nonlinear regression with equation (1) and uptake rate constants (k_u) were calculated by equation (6) and given in table 3. Regime of accumulation of caffeine was given in figure 4 as example. Kinetic parameters of salbutamol and paracetamol could not be modeled because equilibrium was reached at first sampling. The common characteristic of these compounds is their hydrophilic property with $\log K_{OW}$ between -0.39 and 1.13. Hypotheses will be that these compounds were rapidly accumulated in sorbent because they are small and hydrophilic until equilibrium; aspirine, caffeine and paracetamol were quickly degradable (Joss et al., 2005) and could be degraded in sorbent even if these compounds continue to accumulate and lead to equilibrium in sorbent.

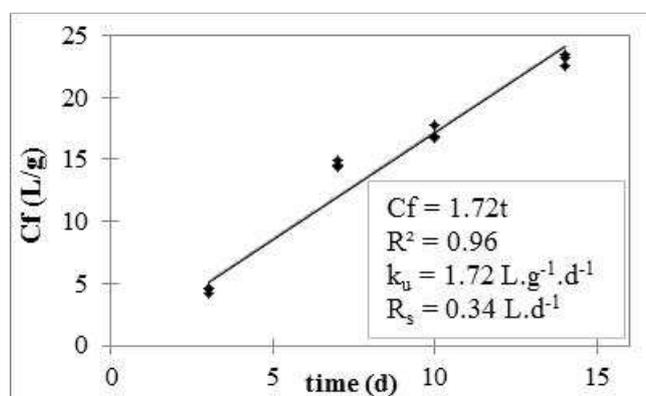


Figure 3: Example of linear regime of accumulation (carbamazepine)

Table 3: Accumulation regime and kinetic parameters for studied compounds in POCISTM

Compounds	Regime	Equation of model	R ²	k _u (L.g ⁻¹ .d ⁻¹)	R _s (L.d ⁻¹)	K _{SW} (L.g ⁻¹)	k _e (d ⁻¹)	Log K _{OW} (pKa)
Carbamazepine	linear	Cf=1.72t	0.96	1.72	0.34	-	-	2.25 ^(a) (-)
Diazepam	linear	Cf=1.86t	0.92	1.86	0.37	-	-	2.70 ^(a) (3.20 ^b)
Alprazolam	linear	Cf=2.39t	0.95	2.39	0.48	-	-	3.87 ^(a) (2.80 ^b)
Bromazepam	linear	Cf=2.04t	0.86	2.04	0.41	-	-	1.93 ^(a) (3.90 ^b)
Clenbuterol	linear	Cf=1.96t	0.95	1.96	0.39	-	-	2.00 ^(a) (9.20 ^b)
Nordazepam	linear	Cf=1.86t	0.89	1.86	0.37	-	-	2.87 ^(a) (3.20 ^b)
Fluoxetine	linear	Cf=1.11t	0.84	1.11	0.22	-	-	4.65 ^(a) (9.90 ^b)
Amitriptyline	linear	Cf=1.93t	0.83	1.93	0.39	-	-	4.95 ^(a) (9.10 ^b)
Imipramine	linear	Cf=1.38t	0.86	1.38	0.28	-	-	5.01 ^(a) (9.40 ^b)
Doxepin	linear	Cf=1.89t	0.85	1.89	0.38	-	-	3.99 ^(a) (9.10 ^b)
Ibuprofen	linear	Cf=1.49t	0.90	1.49	0.30	-	-	3.79 ^(a) (4.30 ^b)
Gemfibrozil	linear	Cf=3.84t	0.98	3.84	0.77	-	-	4.77 ^(a) (4.90 ^b)
Naproxen	linear	Cf=0.76t	0.79	0.76	0.15	-	-	3.10 ^(a) (4.30 ^b)
Diclofenac	linear	Cf=0.69t	0.82	0.69	0.14	-	-	4.02 ^(a) (4.30 ^b)
Ketoprofen	linear	Cf=0.71t	0.80	0.71	0.14	-	-	3.00 ^(a) (4.30 ^b)
4-t-OP	linear	Cf=0.48t	0.83	0.48	0.096	-	-	5.50 ^(a) (10.30 ^b)
NP1EC	linear	Cf=1.51t	0.85	1.51	0.30	-	-	5.80 ^(a) (3.10 ^b)
Salbutamol	Modeling is impossible because equilibrium is reached at the first sampling							0.64 ^(a) (8.60 ^b)
Paracetamol	Modeling is impossible because equilibrium is reached at the first sampling							0.27 ^(a) (10.20 ^b)
Terbutaline	equilibrium	Cf=23.48 (1-exp ^{-0.04t})	0.86	0.94	-	23.48	0.04	0.67 ^(a) (9.20 ^b)
Caffeine	equilibrium	Cf=15.24 (1-exp ^{-0.17t})	0.86	2.59	-	15.24	0.17	0.16 ^(a) (-)
Theophylline	equilibrium	Cf=1.15 (1-exp ^{-0.74t})	0.62	0.85	-	1.15	0.74	-0.39 ^(a) (8.70 ^b)
Aspirin	equilibrium	Cf=9.18 (1-exp ^{-0.10t})	0.36	0.92	-	9.18	0.10	1.13 ^(a) (3.50 ^b)
BPA	lag phase	Cf=0.31 exp ^{0.08t}	0.50	-	-	-	-	3.64 ^(a) (3.64 ^b)
4-NP	lag phase	Cf=0.49 exp ^{0.08t}	0.35	-	-	-	-	5.99 ^(a) (10.30 ^b)
NP1EO	lag phase	Cf=0.16 exp ^{0.11t}	0.48	-	-	-	-	5.58 ^(a) (-)
NP2EO	lag phase	Cf=0.03exp ^{0.17t}	0.67	-	-	-	-	5.30 ^(a) (-)

^(a) Calculated by KOWWIN

^(b) Calculated by ACD Phys chem Suite

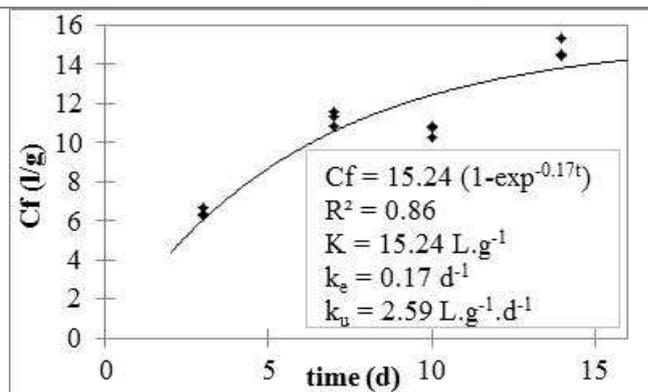


Figure 4: Example of equilibrium regime of accumulation (caffeine)

4-NP, NP1EO and NP2EO were represented by the presence of a lag phase followed by a linear accumulation. Any kinetic parameter could be determined with this type of accumulation for these compounds which had $\log K_{OW}$ higher than 5. The passive sampler with PES membranes accumulates weakly hydrophobic compounds (Kingston et al., 2000). The compounds have a biphasic absorption in the PES membrane (Harman et al., 2008). They pass both through the water-filled pores of the membrane and through the polymer (Greenwood et al., 2007). This causes a lag time corresponding to the time required for the compounds cross the boundary layer and the membrane. This time depends on the studied compounds and hydrodynamic conditions. The example of accumulation of NP1EO in POCISTM was shown in figure 5.

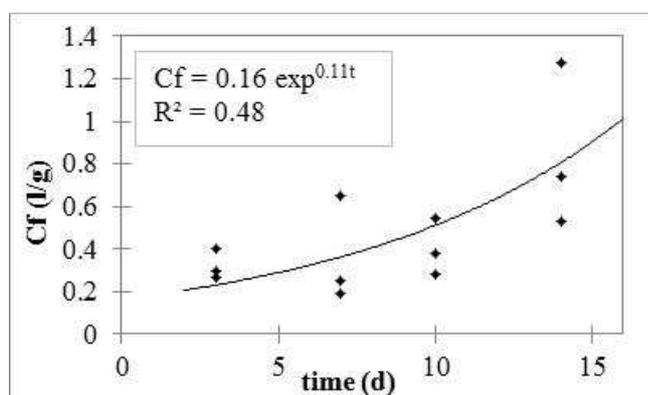


Figure 5: Example of regime of accumulation with a lag phase (NP1EO)

Sampling rates calculated in this study were in the same order of magnitude as those previously published (Table 4). Effectively sampling rates of carbamazepine, fluoxetine, amitriptyline, ibuprofen, naproxen, diclofenac, ketoprofen and 4-t-OP were in agreement with those determined by Togola (2006), Mac Leod et al. (2007), Arditsoglou et al. (2008) and Li et al. (2010). Sampling rates of diazepam and nordazepam were equal in this study (0.37 L.d^{-1}) and in the study of Togola (2006) too (0.25 L.d^{-1}). These comparisons with literature allow showing that determined kinetic values are not aberrant.

Sampling rates of salbutamol, paracetamol, terbutaline, caffeine, aspirine, BPA, 4-NP, NP1EO and NP2EO were determined by (Togola, 2006; Arditsoglou et Voutsas, 2008; Li et al., 2010a). In order to compare these sampling rates with those of our study, accumulation was considered as linear for studied compounds which had reached equilibrium or a lag phase. Obtained values were given in brackets in table 4.

Sampling rates of salbutamol, paracetamol and terbutaline were in the same order of those published by Togola (2006). However this is not the case for others compounds like APs, APEOs or caffeine and aspirin. It is established that the velocity, the temperature, the pH, etc. can affect the mass transfert (Mac Leod et al., 2007; Togola et Budzinski, 2007; Harman et al., 2009b; Li et al., 2010a; Li et al., 2010b; Li et al., 2011). These compounds seem to be more affected than others studied compounds by hydrodynamic conditions and time of exposure which are not the same. Interestingly, except Mazella (Mazzella et al., 2007) and Togola (Togola et Budzinski, 2007) who mentioned water, all publications (Alvarez et al., 2004; Mac Leod et al., 2007; Arditoglou et Voutsas, 2008; Harman et al., 2008; Bartelt-Hunt et al., 2009; Li et al., 2010a) indicated the use of methanol as recovery solvent for sorbent (when dismantling POCISTM). Methanol is a strong eluting solvent, and as it has been highlighted, significant portion of compounds may be sorbed on the membrane. However, a need for standardization of the experimental procedures for the determination of sampling rates as well as analytical methodologies of treatment of these tools (calibration design, sort of contamination, stirring, presoaking, recovery solvents, etc.) appear more than necessary in order to be able to ensure the comparability of data and thus to allow a mutualisation of the efforts aiming to the development of a quantitative tool for the monitoring of aquatic environments (Munaron et al., 2012).

Table 4: Comparison of sampling rates of studied compounds with the literature

Compounds	This study	(Togola, 2006)	(Mac Leod et al., 2007)		(Arditsoglou et al., 2008)	(Li et al., 2010a)			(Bartelt-Hunt et al., 2011)
			Quiescent	Flowing		15°C	25°C	Quiescent	
Carba	0.34	0.36	0.11	0.35		0.40	0.56	0.24	0.29
Dzp	0.37	0.25							
Apz	0.48								
Brz	0.41								
Clenbu	0.39								
Ndzp	0.37	0.25							
Fluox	0.22		0.22	1.37		0.69	0.97	0.43	
Ami	0.39	0.40							
Imi	0.28	0.36							
Dox	0.38	0.48							
Ibu	0.30	0.09	NA	NA		0.25	0.35	0.20	0.40
Gem	0.77		0.11	0.19		0.31	0.35	0.22	
Napro	0.15	0.13	0.08	0.12		0.30	0.39	0.20	
Diclo	0.14	0.15	0.09	0.17					
Keto	0.14	0.26	0.08	0.14					
4-t-OP	0.10				0.12				
NP1EC	0.30								
Salbu		0.08							
Para		0.02							
Terbu	(0.15)	0.15							
Caf	(0.23)	0.07	NA	NA		0.315	0.13	NA	0.04
Theo	(0.02)								
Asp	(0.001)	0.01							
BPA	(0.019)				0.12	0.74	0.84	0.48	
4-NP	(0.027)				0.12	1.65	2.46	0.92	
NP1EO	(0.014)				0.09				
NP2EO	(0.017)				0.12				

NA : parameters could not be calculated

(-): if regime of accumulation is considered as linear

IV.2 Partition of compounds between membrane and phase

The microporous PES membrane acts as a semipermeable membrane device between the sorbent and the surrounding aqueous environment. Upon deployment of POCISTM, water rapidly permeates the pore structure of membrane and makes direct contact with the sorbent. Membrane is usually not considered in POCISTM because it is not supposed to compete for sorption. Togola (2007) have found that membranes did not retain PhACs. But when considering APs and APEOs the question rises up considering their properties of lipophily and amphiphily. Figure 6 presents the quantity of APs, APEOs, NP1EC and BPA sorb in the phase and in the membrane for each compound in function of time. Except for NP1EC which is quantified at more than 90 % in the sorbent, other compounds are quantified in significant amount in the membrane. This quantity seems decrease according to time. The main reason for a presence of lag phase is the PES membrane which has a low affinity for hydrophobic compounds like APs, APEOs and leads an increase of mass transfert of these compounds in receiving phase of POCISTM. Sorption of mid polar compounds seems to follow a two step kinetics: firstly sorption to the membrane followed by a passage through the phase HLB®, final sorption site.

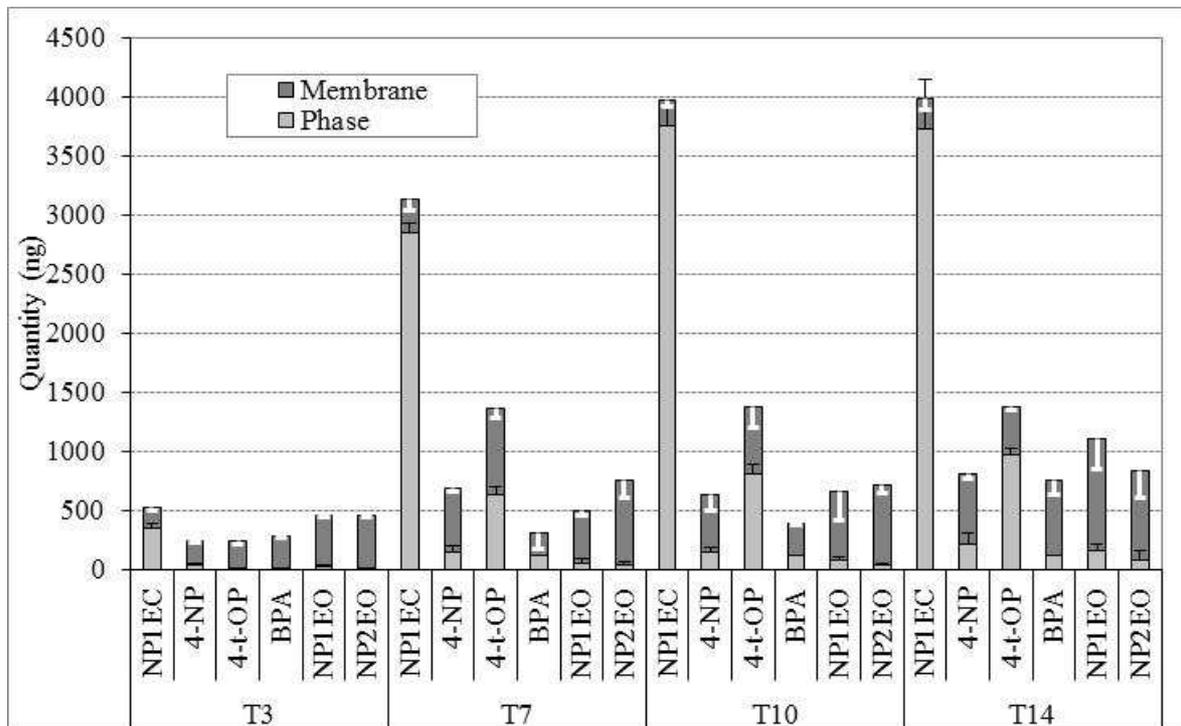


Figure 6: Partition of compounds between phase and membrane during the overall laboratory experiment for APEOs

IV.3 Field deployment

IV.3.1 Site contamination

The Eysines River presents a straightforward profile of contamination. The upstream area displays a weak contamination seeming to be connected with an environmental background noise with measured average concentrations (n=6) ranging between low ng.L⁻¹ (<LoD for antidepressants; 15 ng.L⁻¹ for ibuprofen) to a few hundreds of ng.L⁻¹ (87 ng.L⁻¹ for NP1EC, 282 ng.L⁻¹ for caffeine). The downstream area presents a profile of contamination more significant, coherent with the load of the effluent of WWTP of Cantinolle, with average concentrations (n=6) higher than hundreds ng.L⁻¹ for the main compounds (234 ng.L⁻¹ for

NP1EC, 146 ng.L^{-1} for 4-NP, 37 ng.L^{-1} for carbamazepine). Comparison between upstream and downstream concentrations for some compounds was shown in figure 7. Precipitation occurring during the experiment resulted in the change of flow and increased level of Eysines River, which implies a dilution of compounds. Thus, there is variability in the sampling point between the first samples (dry, cold and sunny) and those which follow (rain) and could explain the high variability of concentrations (Figure 7). The effluent displays a profile of contamination, in terms of occurrence as abundance, in agreement with treatment schemes applied in the WWTP and European ways of consumption.

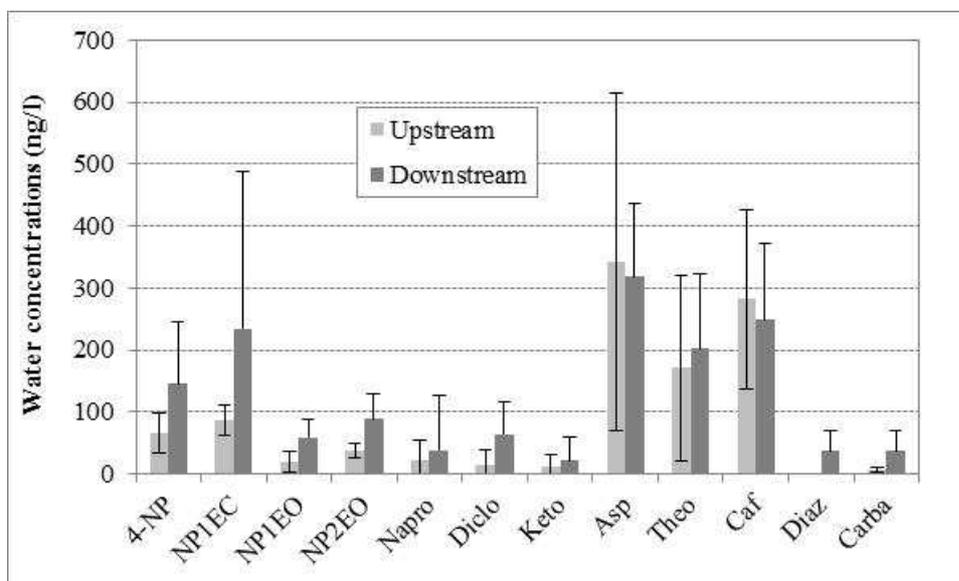


Figure 7: Water concentrations (ng.L^{-1}) in upstream and downstream of Eysines River ($n=6$)

IV.3.2 Determination of TWA concentration

For each deployment, concentrations of target compounds were derived from grab samples (one replicate, six times) and triplicate POCISTM. The TWA concentrations were determined from equation (4) by using kinetic parameters determined in laboratory calibration.

In general, good agreement was observed between water concentration derived by grab and passive sampling in upstream and downstream (Figure 8), suggesting that estimated sampling rates determined by laboratory calibration were reasonable. Passive sampling variability was lower than grab sampling one; this suggested that POCISTM have integrative character.

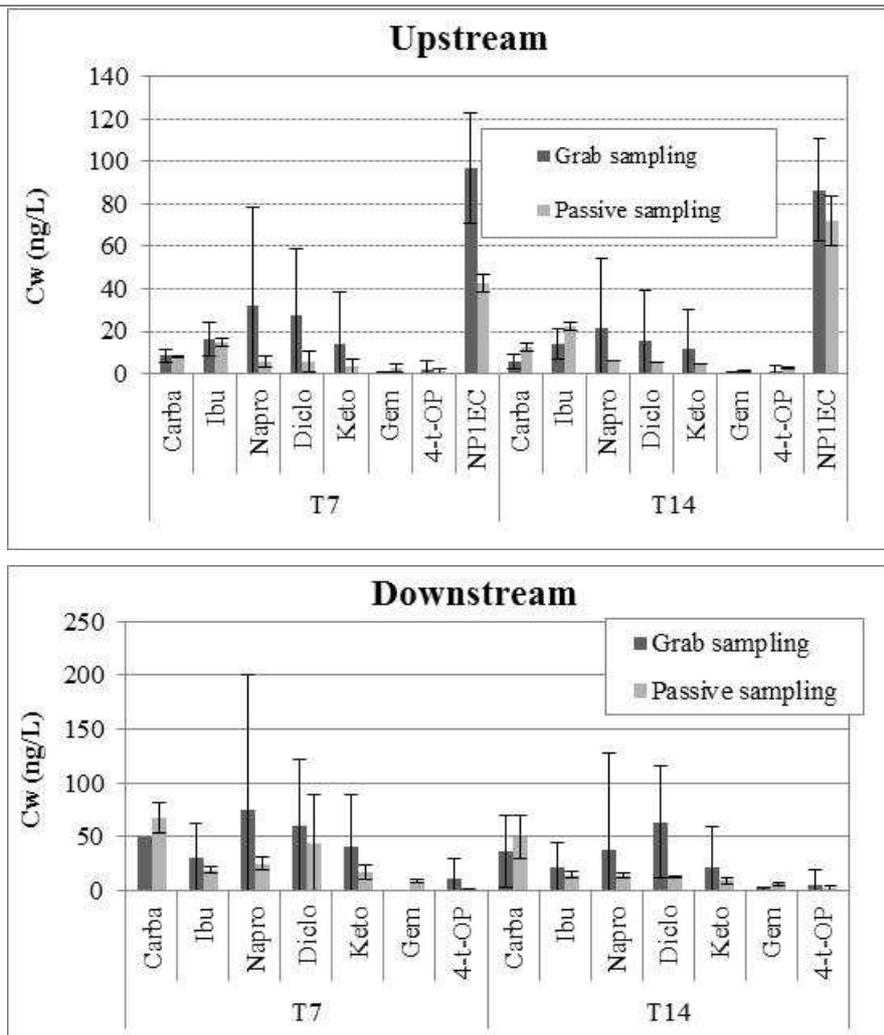


Figure 8: Comparison of grab ($n=3$ at T_7 and $n=6$ at T_{14}) and passive ($n=3$) sampling in the Eysines River: a) Upstream and b) Downstream.

Water concentration derived by passive sampling was lower than one of grab sampling. Membranes of POCISTM were covered by biofouling after 7 days of exposure and this parameter could affect the accumulation of compounds by increasing the mass transfer leading to an underestimation of TWA concentrations (Mills et al., 2007). However a study conducted by Harman (Harman et al., 2009b) shows contrary results to the hypothesis of mass transfer. Even if biofouling is present on PES membranes of POCISTM, passive sampling can overcome matrix effects for naproxen, diclofenac and ketoprofen (Figure 9). In fact, there is a suppression of signal during analysis for these three compounds with grab sampling in effluent. POCISTM could be playing the role of filter because the porosity of PES membranes is $0.1 \mu\text{m}$ and dissolved phases are filtered on GFF filter at $0.7 \mu\text{m}$ before analysis. TWA concentrations don't inform the same dissolved concentrations whereas those obtained by grab sampling ($< 0.7 \mu\text{m}$).

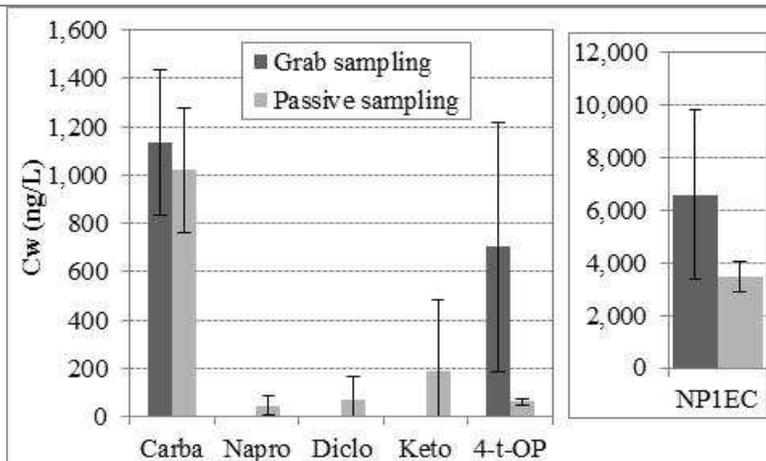


Figure 9: comparison of grab (n=6) and passive sampling (n=3) in the effluent of WWTP of Cantinolle after 7 days of exposure

V. Conclusion

This study allows determining accumulation regime and kinetic parameters for studied compounds. Seventeen compounds have a linear accumulation and their uptake rate constant (k_u) and sampling rate (R_s) could be determined. Sampling rates already published are in the same order of magnitude than those determined in this study. Six compounds (salbutamol, paracetamol, terbutaline, caffeine, theophylline and aspirin) reached equilibrium during exposure time. Their sorbent / water partition coefficient (K_{sw}), elimination and uptake rate constants (k_e and k_u) have been calculated. These compounds are very hydrophilic. BPA, 4-NP, NP1EO and NP2EO, hydrophobic compounds, have an exponential accumulation and kinetic parameters could not be calculated. In fact this is any or low accumulation during first hours or days and then a linear accumulation of compounds in the sorbent of POCISTM. This phenomenon is called lag phase.

To validate this passive tool, POCISTM were exposed in downstream and upstream of effluent. TWA concentrations are in the same order of magnitude than water concentrations determined by grab sampling. POCISTM allow showing their integrative character and overcoming matrix effect. This type of sampling is an alternative to grab sampling. However it appears that many environmental parameters can affect the compounds accumulation (flow, temperature, biofouling, etc.) This is why it is important to work on the performance reference compounds (PRC) which desorb proportionally to the accumulation of compounds into the sorbent of POCISTM. This approach allows overcoming the effect of environmental factors because.

Acknowledgements

The authors wish to thank the French national research agency ANR AMPERES, The Aquitaine Region, the European Union (CPER A2E project), the Feder and Lyonnaise des Eaux for their financial support. Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund.

References

- Allan, I.J., G.A. Mills, B. Vrana, J. Knutsson, A. Holmberg, N. Guigues, S. Laschi, A.M. Fouillac, and R. Greenwood (2006). « Strategic monitoring for the European Water Framework Directive ». *Trends in Analytical Chemistry* 25 (7): 704-715.
- Alvarez, D., P.E. Stackelberg, J.D. Petty, J.N. Huckins, E.T. Furlong, S.D. Zaugg, and M.T. Meyer (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 (5): 610-622.
- Alvarez, D., J.D. Petty, J.N. Huckins, T.L. Jones-Lepp, D.T. Getting, J.P. Goddard, and S.E. Manahan (2004). « Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (7): 1640-1648.
- Arditsoglou, A., and D. Voutsas (2008). « Passive sampling of selected endocrine disrupting compounds using polar organic chemical integrative samplers ». *Environmental Pollution* 156 (2): 316-324.
- Bartelt-Hunt, S., D. Snow, T. Damon-Powell, D. Brown, G. Prasai, M. Schwarz, and A. Kolok (2011). « Quantitative evaluation of laboratory uptake rates for pesticides, pharmaceuticals, and steroid hormones using POCIS ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 30 (6): 1412-1420.
- Bartelt-Hunt, S.L., D.D. Snow, T. Damon, J. Shockley, and K. Hoagland (2009). « The occurrence of illicit and therapeutic pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters in Nebraska ». *Environmental Pollution* 157 (3): 786-791.
- Brix, R., C. Postigo, S. Gonzalez, M. Villagrasa, A. Navarro, M. Kuster, M. Lopez de Alda, and D. Barcelo (2010). « Analysis and occurrence of alkylphenolic compounds and estrogens in a European river basin and an evaluation of their importance as priority pollutants ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396 (3): 1301-1309.
- Capdeville, M.J., and H. Budzinski (2011). « Trace-level analysis of organic contaminants in drinking waters and groundwaters ». *Trends in Analytical Chemistry* 30 (4): 586-606.
- Enick, O.V., and M.M. Moore (2007). « Assessing the assessments: Pharmaceuticals in the environment ». *Environmental Impact Assessment Review* 27 (8): 707-729.
- Gorecki, T., and J. Namiesnik (2002). « Passive sampling ». *Trends in Analytical Chemistry* 21 (4): 276-291.
- Greenwood, R., G. Mills, and B. Vrana (2007). *Passive sampling techniques in environmental monitoring*. Vol. 48. Comprehensive Analytical Chemistry. ELSEVIER.
- Harman, C., K. Thomas, K.E. Tollefsen, S. Meier, O. Boyum, and M. Grung (2009a). « Monitoring the freely dissolved concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and alkylphenols (AP) around Norwegian oil platform by holistic passive sampling ». *Marine Pollution Bulletin* 58 (11): 1671-1679.
- Harman, C., O. Boyum, K. Thomas, and M. Grung (2009b). « Small but different effect of fouling on the uptake rates of Semi Permeable Membrane Devices and Polar Organic

- Chemical Integrative Samplers ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 28 (11): 2324-2332.
- Harman, C., K.E. Tollefsen, O. Boyum, K. Thomas, and M. Grung (2008). « Uptake rates of alkylphenols PAHs and carbazoles in semipermeable membrane devices (SPMDs) and polar organic chemical integrative samplers (POCIS) ». *Chemosphere* 72 (10): 1510-1516.
- Jones-Lepp, T.L., D. Alvarez, J.D. Petty, and J.N. Huckins (2004). « Polar Organic Chemical Integrative Sampling and Liquid Chromatography- Electrospray/ Ion-Trap Mass Spectrometry for Assessing Selected Prescription and Illicit Drugs in Treated Sewage Effluents ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47 (4): 427-439.
- Joss, A., E. Keller, A.C. Alder, A. Göbel, C.S. Mc Ardell, T. Ternes, and H. Siegrist (2005). « Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment ». *Water Research* 39 (14): 3139-3152.
- Kingston, J, R. Greenwood, G. Mills, M. Morrison, and L.B. Persson (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 (5): 487-495.
- Lardy-Fontan, S (2008). « Les substances émergentes dans les écosystèmes aquatiques français. Une application aux alkylphénol-polyéthoxylés et aux substances pharmaceutiques ». Bordeaux 1.
- Li, H., P. Helm, G. Paterson, and C. Metcalfe (2011). « The effects of dissolved organic matter and pH on sampling rates for Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) ». *Chemosphere* 83 (3): 271-280.
- Li, H., Paul A. Helm, and Chris D. Metcalfe (2010a). « Sampling in the Great Lakes for pharmaceuticals, personal care products, and endocrine-disrupting substances using passive Polar Organic Chemical Integrative Sampler ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (4): 751-762.
- Li, H., E. Vermeirssen, P. Helm, and C. Metcalfe (2010b). « Controlled field evaluation of water flow rate effects on sampling polar organic compounds using Polar Organic Chemical Integrative Samplers ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (11): 2461-2469.
- Loos, R., B.M. Gawlik, G. Locoro, E. Rimaviciute, S. Contini, and G. Bidoglio (2009). « EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters ». *Environmental Pollution* 157 (2): 561-568.
- MacLeod, S.L., E.L. McClure, and C.S. Wong (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 (12): 2517-2529.
- Martinez Bueno, M.J., M.D. Hernando, A. Agüera, and A.R. Fernandez-Alba (2009). « Application of passive sampling devices for screening of micro-pollutants in marine aquaculture using LC-MS/MS ». *Talanta* 77 (4): 1518-1529.

- Matthiessen, P., D. Arnold, A.C. Johnson, T.J. Pepper, T.G. Pottinger, and K.G.T. Pulman (2006). « Contamination of headwater streams in the United Kingdom by oestrogenic hormones from livestock farms ». *Science of the Total Environment* 367 (2-3): 616-630.
- Mazzella, N., J.F. Dubernet, and F. Delmas (2007). « Determination of kinetic and equilibrium regimes in the operation of polar organic chemical integrative samplers Application to the passive sampling of the polar herbicides in aquatic environments ». *Journal of Chromatography A* 1154 (1-2): 42-51.
- Mazzella, N., S. Lissalde, S. Moreira, F. Delmas, P. Mazellier, and J. Huckins (2010). « Evaluation of the use of performance reference compounds in an Oasis-HLB adsorbent based passive sampler for improving water concentration estimates of polar herbicides in freshwater ». *Environmental Science and Technology* 44 (5): 1713-1719.
- Miège, C., J.M. Choubert, L. Ribeiro, M. Eusèbe, and M. Coquery (2009). « Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants- Conception of a database and first results ». *Environmental Pollution* 157 (5): 1721-1726.
- Mills, G.A., B. Vrana, I.J. Allan, D. Alvarez, J.N. Huckins, and R. Greenwood (2007). « Trends in monitoring pharmaceuticals and personal-care products in the aquatic environment by use of passive sampling devices ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (4): 1153-1157.
- Munaron, D., N. Tapie, H. Budzinski, B. Andral, and J.L. Gonzalez (2012). « Pharmaceuticals, alkylphenols and pesticides in Mediterranean coastal waters: Results from a pilot survey using passive samplers ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 114: 82-92.
- Murray, K., S. Thomas, and A. Bodour (2010). « Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment ». *Environmental Pollution* 158 (12): 3462-3471.
- Namiesnik, J., B. Zabiegala, A. Kot-Wasik, M. Partyka, and A. Wasik (2005). « Passive sampling and/or extraction techniques in environmental analysis: a review ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381 (2): 279-301.
- Rujiralai, T., I.D. Bull, N. Llewellyn, and R.P. Evershed (2011). « In situ polar organic chemical integrative sampling (POCIS) of steroidal estrogens in sewage treatment works discharge and river water ». *Journal of Environmental Monitoring* 13: 1427-2434.
- Seethapathy, S., T. Gorecki, and X. Li (2008). « Passive sampling in environmental analysis ». *Journal of Chromatography A* 1184 (1-2): 234-253.
- Soares, A., B. Guieysse, B. Jefferson, E. Cartmell, and J.N. Lester (2008). « Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters ». *Environment International* 34 (7): 1033-1049.
- Tapie, N., M.H. Devier, C. Soulier, N. Creusot, K. Le Menach, S. Aït-Aïssa, B. Vrana, and H. Budzinski (2011). « Passive samplers for chemical substance monitoring and associated toxicity assessment in water ». *Water Science and Technology* 63 (10): 2418-2426.

- Thomatou, A, I. Zacharias, D. Hela, and I. Konstantinou (2011). « Passive sampling of selected pesticides in aquatic environment using polar organic chemical integrative samplers ». *Environmental Science and Pollution Research* 18 (7): 1222-1233.
- Togola, A. (2006). « Presence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques ». Bordeaux 1.
- Togola, A., and H. Budzinski. (2007). « Development of Polar Organic Chemical Integrative Samplers for Analysis of Pharmaceuticals in Aquatic Systems ». *Analytical Chemistry* 79 (17): 6734-6741.
- Togola, A., and Budzinski (2008). « Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples ». *Journal of Chromatography A* 1177 (1): 150-158.
- Vermeirssen, E., J. Hollender, N. Bramaz, J. Van der Voet, and B. Escher (2010). « Linking toxicity in algal and bacterial assays with chemical analysis in passive samplers deployed in 21 treated sewage effluents ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (11): 2575-2582.
- Vrana, B, G Mills, I Allan, E Dominiak, K Svensson, J Knutsson, G Morrison, and R Greenwood (2005). « Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water ». *Trends in Analytical Chemistry* 24 (10): 845-868.
- Zhang, Zulin, Andrew Hibberd, and John L. Zhou (2008). « Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling ». *Analytica Chimica Acta* 607 (1): 37-44.

Publication 5 : Développement
d'échantillonneurs passifs pour
l'extraction et l'échantillonnage des
alkylphénols, leurs dérivés et du
Bisphénol A

Développement d'échantillonneurs passifs pour l'extraction et l'échantillonnage des alkylphénols, alkylphénols polyéthoxylés et du Bisphénol A

C. Soulier⁽¹⁾, N. Abou Mrad⁽¹⁾, A. Belles⁽¹⁾, T. Geny⁽¹⁾, F. Mazéas⁽²⁾, N Gayet⁽³⁾, C. Compère⁽²⁾
and H. Budzinski⁽¹⁾

⁽¹⁾ Univ. Bordeaux, EPOC-LPTC, UMR 5805, 351 Cours de la Libération, F-3340 Talence (France)

⁽²⁾ IFREMER, Service Interfaces et Capteurs, Unité Recherche et Développements Technologiques, Centre Bretagne, BP 70, 29280 Plouzané (France)

⁽³⁾ IFREMER, Laboratoire Environnement Profond, Unité Etude des Ecosystèmes Profonds, Centre Bretagne, BP 70, 29280 Plouzané (France)

Contact:

Hélène Budzinski: Tel.: 33 5 56 84 69 98; Fax: 33 5 56 84 69 98.

e-mail address: h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

Résumé

Les Polar Organic Integrative Sampler (POCISTM) standards de type pharmaceutique sont constitués de 200 mg de phase OASIS HLB® contenue entre deux membranes en PolyEther Sulfone (PES) de 0,1 µm de porosité. Ces outils intégratifs permettent une accumulation linéaire des composés polaires comme les composés pharmaceutiques mais pas pour les composés un peu plus hydrophobes comme certains alkylphénols et leurs dérivés. En effet dans cet article il est montré que les 4-nonylphénol (4-NP ; mélange technique), les nonylphénol mono et di éthoxylates (NP1EO et NP2EO ; mélange technique) ont une accumulation de type exponentielle dans les POCISTM standards. Un temps de latence de quelques jours est observé dans l'accumulation de ces composés dans la phase réceptrice. Il a été retrouvé de fortes concentrations de ces composés dans les membranes en PES. Lorsque l'équilibre est atteint dans celles-ci, ces composés passent dans la phase et ce phénomène implique le temps de latence.

Afin de s'affranchir du temps de latence pour les 4-NP, NP1EO et NP2EO, des POCISTM-like ont été développés. Il s'agit de POCISTM contenant 200 mg de phase OASIS HLB® mais avec des membranes de nature et de porosité différentes. Les membranes suivantes ont été étudiées : PES de 0,45 µm de porosité, polyéthylène de faible densité (LDPE), et nylon de 0,1, 1,2, 10 et 30 µm de porosité. Il en résulte que le temps de latence observé dans les POCISTM standards est atténué voire supprimé avec l'utilisation de POCISTM-like. Mais ceci implique dans certains cas d'avoir un temps d'exposition inférieur à une dizaine de jours pour ne pas atteindre l'équilibre dans la phase afin de rester linéaire et du coup être intégratif.

Development of passive sampler for alkylphenols, alkylphenol polyethoxylates and Bisphenol A

C. Soulier⁽¹⁾, N. Abou Mrad⁽¹⁾, A. Belles⁽¹⁾, T. Geny⁽¹⁾, F. Mazéas⁽²⁾, N Gayet⁽³⁾, C. Compère⁽²⁾
and H. Budzinski⁽¹⁾

⁽¹⁾ Univ. Bordeaux, EPOC-LPTC, UMR 5805, 351 Cours de la Libération, F-3340 Talence (France)

⁽²⁾ IFREMER, Service Interfaces et Capteurs, Unité Recherche et Développements Technologiques, Centre Bretagne, BP 70, 29280 Plouzané (France)

⁽³⁾ IFREMER, Laboratoire Environnement Profond, Unité Etude des Ecosystèmes Profonds, Centre Bretagne, BP 70, 29280 Plouzané (France)

Corresponding author:

Hélène Budzinski: Tel.: 33 5 56 84 69 98; Fax: 33 5 56 84 69 98.

e-mail address: h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

Abstract

The European Union adopted the Water Framework Directive (WFD; 2000/60/CE) in 2000 which aims at improving and protecting the quality of the aquatic environment and its resources. The main objective is to achieve good water status by 2015. Alkylphenols (APs), alkylphenol polyethoxylates (APEOs), nonylphenoxy acetic acid (NP1EC) and bisphenol A (BPA), mid-polar compounds, are ubiquitous in the environment. They are on the list of “priority” and “priority hazardous” substances of the WFD. Their concentrations are often above environmental guidelines. In order to control their release in aquatic systems in a better way, it is necessary to develop new sampling tools which would make it possible to do without grab sampling. Indeed, despite its usefulness, grab sampling is not representative of a heterogeneous environment of spatial and temporal variability. Passive sampling tools allow getting access to Time Weighted Average (TWA) concentrations during the deployment period. Different passive samplers are developed and used for environmental monitoring. Semi-Permeable Membrane Devices (SPMD) are adapted for these compounds but the extraction of these tools is highly. It takes a long time, a lot of solvent and one step of extraction. On the contrary, Polar Organic Integrative Samplers (POCISTM) is easy to extract. But they are adapted for polar compounds such as pesticides, pharmaceuticals substances or steroids.

Calibrations of POCISTM (pharmaceutical type) were conducted in the laboratory in tanks contaminated by APs, APEOs, NP1EC and BPA with a flow through system under controlled temperature and hydrodynamic conditions. In standard POCISTM, APs and APEOs were firstly accumulated in the hydrophilic PolyEther Sulfone (PES) membrane and then in the receiving phase. This is a lag phase of few days. Thus others membrane than PES were used as Nylon and Low Density PolyEthylene membranes (LDPE) in order to improve the accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA. Nylon membranes allow a linear accumulation of these compounds in the POCISTM-like without a lag phase but equilibrium is reached rapidly.

I. Introduction

With the increase of human activity thousands of chemical substances were discharged into the environment. Aquatic systems are largely impacted by these releases. The exponential growth of human population leads to increase exploitation of stock in freshwater. Protecting water resources is one of the most important environmental issues of the 21st century (Kolpin and al., 2002). The European Union (EU) adopted the Framework Directive (WFD; 2000/60/CE) in October 2000 and aims to improve and protect the quality of the aquatic environment as well as resources. Member states of the EU must gradually reduce the discharge of substances classified as "priority" and phase out substances classified as "priority hazardous" and set up monitoring networks. The objective is to achieve a good status and environments by 2015. For this, a list of 56 priority substances (metals, pesticides, hydrocarbons, alkylphenols) is adopted (33 of annex X of the WFD, 8 of annex IX of the WFD and 15 of COM-2011-876). It is reviewed every four years, and evolves with the progress of studies on the so-called emerging contaminants.

Alkylphenols (APs) which are part of priority hazardous substances, alkylphenol polyethoxylates (APEOs) and alkylphenoxy acetic acid and Bisphenol A (BPA) are widely used and monitored (Ahel and al., 1994; Zhang and al., 2011; Brix and al., 2012). To better control their release into aquatic systems, it is necessary to develop new tools that allow sampling overcoming drawbacks of the grab sampling. Despite its usefulness, grab sampling is not representative of a heterogeneous medium with spatial and temporal variability. Passive sampling tools allow getting access to Time Weighted Average (TWA) concentrations during the deployment period. Semi-Permeable Membrane Devices (SPMD) are adapted for hydrophobic compounds such as APs (Harman and al., 2008a) but the extraction of these tools is time and solvent consuming. On the contrary, Polar Organic Integrative Samplers (POCISTM) are easy to extract but they are adapted for polar compounds such as pesticides, pharmaceuticals substances or steroids. These samplers are used to determine the concentrations of compounds in the environment over several weeks. This approach is integrative and can remain in the aqueous medium over two months (Vrana and al., 2005a). It has the advantages of being very sensitive (Alvarez and al., 2005), able to modulate its sampling capacity by changing the receiving phase (Li and al., 2011) or membrane (Kohoutec and al., 2010). For chemical analysis, the compounds are extracted with a single solvent or mixture of solvents (Vrana and al., 2005a).

In this study standard POCISTM (pharmaceutical type), which consists of two 0.1 μm PolyEther Sulfone (PES) membranes containing a sorbent (OASIS HLB[®]), are studied towards the accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA. These compounds are accumulated in standard POCISTM but this is a lag phase because 4-NP, NP1EO and NP2EO are firstly accumulated in PES membranes before adsorption in sorbent. Thus different membranes were tested: Low Density PolyEthylene (LDPE) and Nylon membranes with varying porosity. These "adapted" tools are called POCISTM-like.

II. Material and methods

II.1 *Chemicals and materials*

The list, the suppliers and the log K_{OW} of APs, APEOs, NP1EC, BPA and their internal standards were presented in table 1.

Table 1 : List of APs, APEOs, NP1EC, BPA and their internal standards

Compounds	Purity	CAS (Chemical Abstract Service) number	Internal standards	Purity	Log K _{ow}	Linearity range (pg injected)
4- Nonylphenol (Technical mixture) ^a (4-NP)	100%	84852-15-3	p-n-nonylphenol ^c (p- n-NP) 4-n-nonylphenol d8 ^a (4-NP d8)	Solution in nonane at 100µg/ml (>98%) Solution in acetone at 100ng/ml (>98%)	5.99 ^d	2-4443
4-tert-octylphenol ^b (4-t-OP)	>99%	140-66-9	p-n-nonylphenol ¹³ C ₆ ^c (p-n-NP C13) 4-tert-octylphenol d2 ^b (4-t-OP d2)	Solution in nonane at 100µg/ml (>96%) Solution in acetone at 10µg/ml (>97%)	5.50 ^d	2-4123
Nonylphenoxy acetic acid ^c (NP1EC) Nonylphenol monoethoxylate ^a (Technical mixture) (NP1EO)	>98% 99%	3115-49-9 104-35-8	Nonylphenoxy acetic acid d2 ^a (NP1EC d2) Nonylphenol monoethoxylate d2 ^a (NP1EO d2)	Crystals (98.7%) Solution in acetone at 10ng/µl (>97%)	5.80 ^d 5.58 ^d	0.1-4650 7-4126
Nonylphenol diethoxylate ^a (Technical mixture) (NP2EO) Biphenol A ^b (BPA)	99% 99%	20427-84-3 80-05-7	Biphenol A d16 ^b (BPA d16)	Crystals >98%	5.30 ^d 3.64 ^d	0.4-4440 6.7-8250

a bought at Cluzeau Info Labo (Sainte Foy la Grande, France)

b bought at Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France)

c bought at LGC Standard (Molsheim, France)

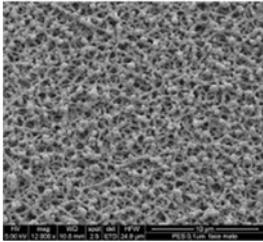
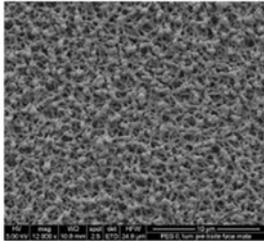
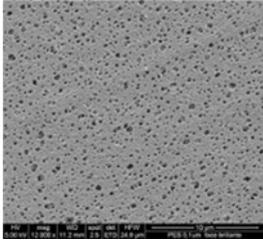
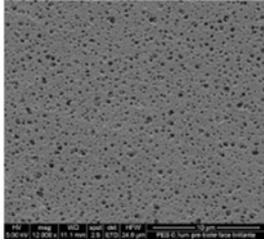
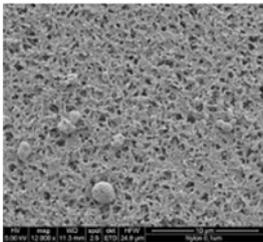
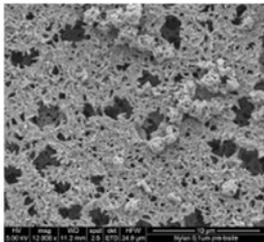
d calculated by KOWWIN

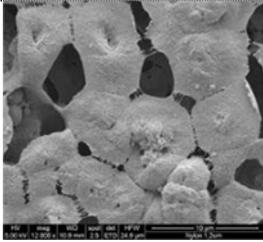
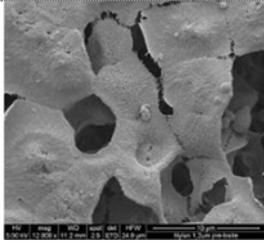
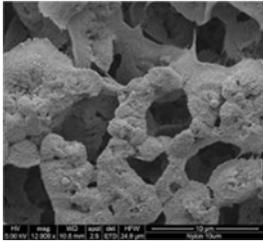
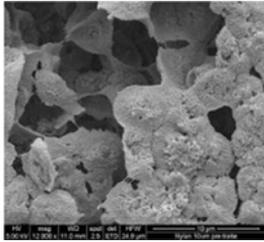
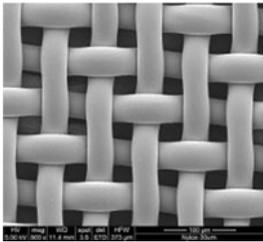
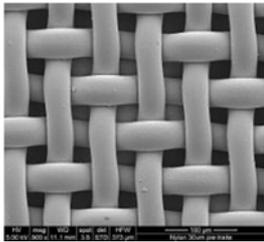
All solvent used were previously tested to determine the background level. Methanol (Gradient Grade Lichrosolv for HPLC) was purchased from VWR (Strasbourg, France); dichloromethane (for residue and pesticides analysis) from Fischer Bioblock Scientific (Illkirch, France); hydrochloric acid 37% (Baker analysed) and methanol (Baker HPLC analyze) from Atlantic Labo (Bruges, France); and Vittel® water from France Boisson (Lormont, France). Ultrapure deionized water was obtained with a Milli-Q system (Millipore, Saint Quentin en Yvelines, France) and ammonium acetate (purity 98%) from Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). 200mg Bondelut® cartridges were purchased from Varian (Coutabœuf, France). OASIS HLB® bulk sorbent (60 µm) was purchased from Waters (Saint Quentin en Yvelines, France). PES membranes (0.1 µm; 90 mm) were purchased from VWR; Nylon membranes (0.1, 1.2, 10 and 30 µm; 90 mm) and PES membranes (0.45 µm; 90 mm) from Fisher bioblock scientific. Glass Solid Phase Extraction cartridges of 6ml and PTFE frits (pore diameter 20 µm) were purchased from Sigma Aldrich. Membranes, phase and PTFE frits are washed three times in methanol for remove possible trace of studied compounds.

POCIS™ are homemade and are as follow: two membranes enclosing OASIS HLB® phase by two compression steel rings. Design features of standard POCIS™ are: two PES

membranes, 200 mg of OASIS HLB® phase, 45.8 cm² of surface area and 5.4 cm of internal diameter. POCIS™-like used in this study have different types and porosities of membranes (Table 2). Two different surfaces are visible on PES membranes with a porosity of 0.1 µm (Table 2). For the assembly of standard POCIS™ the direction of each surface of membrane is controlled in order to have bright one and matt one outside.

Table 2 : Characteristics of studied membranes

Membrane Porosity (Designation)	Polarity	Particularity	Pictures ^a	
			Before washing	After washing
PolyEther Sulfone (PES) 0.1 µm (Standard POCIS™)	Hydrophilic	<ul style="list-style-type: none"> • Two different surfaces are visible on this membrane : a matt and bright surface • The matt surface have a granular structure which don't allow calculating a porosity • The bright surface is smooth and porosity is established at 345.9 ± 195.8 nm before and 300.6 ± 142.5 nm after washing. • The washing of membrane have no influence on their structure 	Matt surface (x12,000)	Matt surface (x12,000)
				
			Bright surface (x12,000)	Bright surface (x12,000)
				
PES 0.45 µm (POCIS™-PES 0.45 µm)	Hydrophilic		No observations of SEM	
Low Density PolyEthylene (LDPE) Non porous membranes with transient cavities with diameter up to about 10Å (POCIS™-PE)	Hydrophobic		No observations of SEM	
Nylon 0.1 µm (POCIS™-Nylon 0.1 µm)	Hydrophilic	<ul style="list-style-type: none"> • The membrane structure consists of a fiber entanglements which don't allow calculating a porosity • The washing leads to increase the spacing between fiber. 	(x12,000)	(x12,000)
				
Nylon 1.2 µm (POCIS™-Nylon 1.2 µm)	Hydrophilic	<ul style="list-style-type: none"> • The membrane structure consists of cavities with variable geometry which don't allow calculating a porosity 	(x12,000)	(x12,000)

		<ul style="list-style-type: none"> The washing of membrane have no influence on their structure. 		
			(x12,000)	(x12,000)
Nylon 10 µm (POCIS TM -Nylon 10 µm)	Hydrophilic	<ul style="list-style-type: none"> The membrane structure consists of cavities (>cavities of Nylon 1.2µm) with variable geometry which don't allow calculating a porosity The washing of membrane have no influence on their structure. 		
			(x800)	(x800)
Nylon 30 µm (POCIS TM -Nylon 30 µm)	Hydrophilic	<ul style="list-style-type: none"> The membrane structure consists of regular weaving of fiber and porosity is established at $30.9 \pm 1.8 \mu\text{m}$ before and $29.3 \pm 1.6 \mu\text{m}$ after washing. The washing of membrane have no influence on their structure. 		

^a Observations of Scanning Electron Microscope (SEM, QUANTA 2000, FEI Hillsboro, Oregon, USA) after metallization with a thin layer of gold.

II.2 Experimental system

Four laboratory calibrations were made in order to develop the sampling of APs, APEOs, NP1EC and BPA by POCISTM or their adapted version (POCISTM-like). The change of membrane will modify the mass transfer and then the kinetic parameters of accumulation of compounds. The characteristics and details of each experiment are described in Table 3. Laboratory calibrations were performed with adapted experimental system described by Vrana and their co-workers (2006). A flow through exposure system was used to maintain constant the water concentrations. The targeted concentrations range between 5 and 10 µg.L⁻¹ of APs, APEOs, NP1EC and BPA in an aquarium with an overflow to waste. Tap water was pumped into the exposure tank by a peristaltic pump, and stirring was insured using one or two rotating blades (about 120 RPM). Studied compounds were dissolved in methanol and stored at -20°C; an aliquote of stock solution was changed every day and is continuously agitated by magnetic stirring. It was introduced into the system using peristaltic pump. At the beginning of the calibration an aliquote of stock solution was added in exposure tank in order to have the targeted concentration. Exposure system was equilibrated during 3 days to stabilize concentrations of compounds before the addition of POCISTM. This equilibration period allows the potential saturation of adsorption sites towards studied compounds. The flow through exposure system was conducted at ambient temperature (20 ± 2°C) in darkness. Replicate POCISTM were collected at different periods and water samples every two days.

Water concentrations are constant during the experimentation particularly for the NP1EC after an equilibration period of 72 h. Concentrations of other compounds found in the

tank were lower by a factor 3 or 4 than the target concentrations. NP1EC was more variable than other and its concentration found in tank was higher than target concentration.

Table 3 : Description of four laboratory calibrations

Experiment	Exposure tank volume (l)	Averaged flow rate of water (l.h ⁻¹)	Averaged flow rate of methanolic solution (μl.min ⁻¹)	Type of passive sampling (quantity)	Frequency of sampling (replicates)	Concentration range (μg.l ⁻¹)
1	27	0.479 ± 0.037 (n = 17)	131 ± 6 (n = 17)	Standard POCIS TM (12)	T5 (2); T7 (2); T8 (1); T10 (3); T12 (1); T13 (1); T15 (3)	1.538-14.883
2	27	0.520 ± 0.033 (n = 16)	91 ± 33 (n = 16)	POCIS TM -Nylon 0.1 μm (9)	T5 (3 or 1) T10 (3 or 1) T15 (3 or 1)	1.665-15.396
	54	1.003 ± 0.049 (n = 16)	91 ± 38 (n = 16)	Standard POCIS TM -PE (9)		
3	96	1.355 ± 0.104 (n = 15)	100 ± 37 (n = 15)	Standard POCIS TM (9) POCIS TM -PES 0.45 μm (6)	T5 (3 or 2) T10 (3 or 2) T15 (3 or 2)	0.650-7.650
4	96	1.509 ± 0.191 (n = 17)	91 ± 31 (n = 17)	Standard POCIS TM (18) POCIS TM -Nylon 0.1 μm (9)	T5 (3) T10 (3) T15 (3)	0.410-7.264
	96	1.417 ± 0.087 (n = 17)	97 ± 14 (n = 17)	POCIS TM -Nylon 1.2 μm (9) POCIS TM -Nylon 30 μm (9)		

The first laboratory calibration was conducted in order to determine kinetic parameters of APs, APEOs, NP1EC and BPA with standard POCISTM (pharmaceutical type), designed by Alvarez and their co-workers (2004). The second one was conducted in order to study in one hand the influence of solvent used for recovery sorbent (water or methanol) and in other hand the effect of change of membranes on accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA, and for this, POCISTM-like were used. In this second experiment LDPE membranes were used. In the third experiment the porosity of PES membranes were studied and compared (0.1 and 0.45 μm). And in the fourth experiment nylon membranes were tested with different porosity (0.1, 1.2, 10 and 30 μm).

II.3 Analytical treatment

II.3.1 Extraction of APs, APEOs, NP1EC and BPA in dissolved phase

The dissolved phase was pre-concentrated on Solid-Phase Extraction (SPE) cartridges. The SPE procedure was previously described (Lardy-Fontan, 2008). Briefly, 3 mL cartridge (BondElut® C18, 200 mg, Varian) were activated and conditioned first with 5 mL of methanol and then with 5 mL of Vittel® water adjusted at pH 2. Internal standards (NP1EC d2, p-n-NP, 4-NP d8, p-n-NP C13, 4-t-OP d2, BPA d16 and NP1EO d2) were added in 100 mL of samples which were then passed through cartridge under vacuum. After pre-concentration, the sorbent was rinsed with 3 mL of a mixture of Vittel® water at pH 2 and methanol (50/50; v/v). This step allows eliminating impurities presents in the sorbent. Cartridges were then dried under vacuum during about one hour and then eluted with 5 mL of a mixture of methanol and dichloromethane (50/50; v/v). The eluates were evaporated to dryness under a flow of nitrogen and reconstituted with 200 µL of methanol before injection.

II.3.2 Extraction of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent of POCIS™

Extraction of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent were previously described (Tapie and al., 2011) but slightly modified (publication 4). After retrieval steel rings of POCIS™ were disassembled. OASIS HLB® sorbent was transferred in glass SPE cartridge with about 3 mL of Vittel® water. Sorbent was dried under vacuum during about 2 hours. Internal standards (NP1EC d2, p-n-NP, 4-NP d8, p-n-NP C13, 4-t-OP d2, BPA d16 and NP1EO d2) were added in elution flask before elution of sorbent by 10 mL of methanol followed by 10 mL of a mixture of methanol / dichloromethane (50/50; v/v). Extracts were then evaporated to dryness under a flow of nitrogen and reconstituted with 200 µL of methanol before injection. Sorbent were dry to vacuum and then weighted. Membranes were kept in freezer before extraction.

II.3.3 Extraction of APs, APEOs, NP1EC and BPA in membrane of POCIS™

All types of membranes were extracted as follow (publication 4). Membranes were initially extracted twice in 10 mL of hexane during 10 min in ultrasound. Extracts were then evaporated to dryness under a flow of nitrogen. Extracts of second step of extraction were added and consisted in 10 mL of methanol during 10 min in ultrasound. Internal standards (NP1EC d2, p-n-NP, 4-NP d8, p-n-NP C13, 4-t-OP d2, BPA d16 and NP1EO d2) were then added. Extracts were then evaporated under a flow of nitrogen until obtained 200 µL before injection.

II.3.4 LC-MS/MS analysis method

Analysis was performed by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and acquisition was achieved in Multiple Reaction Monitoring (MRM) mode with an UPLC-Quattro Premier Waters (Saint Quantin en Yvelines, France). It consists in a HPLC separation with 1.7 µm, 50 x 2.1 mm i.d. C₁₈ reversed phase column (Acquity UPLC BEH C18). The injection volume was set at 5 µL. The separation was performed at a flow rate of 0.6 mL.min⁻¹ under gradient elution conditions using Milli Q water with 0.5 mM of ammonium acetate (A) and methanol (B) for the negative ionization. And for positive ionization the separation was performed at the same flow rate under gradient elution conditions using Milli Q water with 2.5 mM of ammonium acetate (A) and methanol (B). Gradient elution was the same for negative and positive ionizations and was from 60% A,

to 10% A in 1 min, kept isocratic for 1 min, 0% A at 2.5 min, kept isocratic for 0.5 min, to 60% A at 3.1 min and kept isocratic to 3.8 min.

Under negative ionization studied compounds were detected as $[M-H]^-$, whereas under positive ionization they were detected from ammonium adducts $[M + NH_4]^+$. 4-NP, 4-t-OP, NP1EC, BPA, 4-NP d8, p-n-NP C13, p-n-NP, 4-t-OP d2, NP1EC d2 and BPA d16 were detected in negative ionization and NP1EO, NP2EO and NP1EO d2 in positive ionization. The tandem mass spectroscopy conditions included the use of 2 transitions for each compound one for the quantification (QT) and one for the identity confirmation (CT). These transitions and conditions of mass spectrometry analysis were given in table 4. The quantification of APs, APEOs, NP1EC and BPA are given by internal standards a five point calibration curve generated for each compound.

Table 4 : Conditions of mass spectrometry analysis of APs, APEOs, NP1EC and BPA

Negative ionization									
Compounds	Type of transition	Transitions	Ratio Q/C	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)	Internal standards	Transition	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
NP1EC	Q	277.2> 219.2	8.3	15	20	NP1EC d2	279.2> 219.1	20	20
	C	277.2> 133	(±30%)	15	42				
4-NP	Q	219.1> 132.9	9.9 (±30%)	30	30	p-n-NP 4-NP d8	219.2> 106.2 227> 119.9	45	20
	C	219.1> 146.9		30	30		p-n-NP C13	225.1> 111.9	40
4-t-OP	Q	205> 132.9	26.2	20	25	4-t-OP d2	206.9> 134.9	35	30
	C	205> 116.9	(±30%)	20	55				
BPA	Q	227> 212.1	1.8	40	22	BPA d16	241.2> 223.2	40	20
	C	227> 132.9	(±30%)	40	25				
Positive ionization									
Compounds	Type of transition	Transitions	Ratio Q/C	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)	Internal standards	Transition	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
NP1EO	Q	282.3> 127.1	1.6	20	8	NP1EO d2	284.2> 126.9	15	8
	C	282.3> 71	(±30%)	20	13				
NP2EO	Q	326.3> 183.1	6.6	18	12				
	C	326.3> 121	(±30%)	18	22				

II.3.5 Quality and assurance control

Reference compounds used are of high purity (> 96%), methanol is used as solvent for standard solutions and the quantification is made by the use of internal calibration. The identification of each studied compounds is made by four identifications points such as the retention time, two transitions (quantification and confirmation) and the ratio between these two transitions.

Standard solution is injected to determine the accuracy and the validity of the quantification method and allow calculating response factors of each compound. Another independent standard solution is used to test the precision of the method and the quantification rate is $91 \pm 18\%$ for NP1EC, $108 \pm 16\%$ for 4-NP, $103 \pm 29\%$ for 4-t-OP, $105 \pm 14\%$ for BPA, $105 \pm 13\%$ for NP1EO and $103 \pm 11\%$ for NP2EO. These standard solutions

are injected about every 10 samples and at the beginning and the end of each injection series. Added to these controls, blanks of injection are used after each sample to free contamination from needle. Vittel® water is used for blanks of extraction which are extracted in parallel with samples and allow highlighting possible contamination. Blank corrections are made in the data. Similarly, spiked samples are made for each extraction, Vittel® water (dissolved phase extraction) or cleaned phase OASIS HLB® (POCIS™ sorbent extraction) are supplemented with known amounts of studied compounds. They are used as control over the quality of extraction, and allow calculating the extraction efficiency. Recoveries of the studied APs, APEOs, NP1EC and BPA by SPE procedure range between $77 \pm 18\%$ for NP2EO and $129 \pm 27\%$ for BPA. The one obtained for the extraction of POCIS™ sorbent is ranged between $72 \pm 13\%$ for NP2EO and $104 \pm 33\%$ for BPA. POCIS™ samplers are analyzed in replicate. All additions of standards or solvents are gravimetrically controlled.

APs, APEOs, NP1EC and BPA are linear on a range between 0.1 at about 4,000 pg injected except for p-n-NP (362 pg injected) and BPA d16 (8250 pg injected) as shown in table 1.

II.4 Theory

Mass transfer from the medium to the sorbent can be described by Fick's first law. The accumulation of compounds in passive samplers follows a first order kinetics (Alvarez and al., 2004) given by equation 1:

$$\frac{dC_s}{dt} = k_u C_w - k_e C_s \quad (1)$$

C_s and C_w are respectively the concentration of compound in sorbent (ng.g^{-1}) and water (ng.L^{-1}) and k_u ($\text{L.g}^{-1}.\text{d}^{-1}$) and k_e (d^{-1}) are respectively the uptake and elimination rate constants of each compound.

The general solution of equation 1 is:

$$C_s(t) = C_w \left(\frac{k_u}{k_e} \right) \left(1 - e^{-k_e t} \right) \quad (2)$$

t is the exposure time in days.

This accumulation is characterized by a linear phase followed by a curvilinear phase to achieve at equilibrium. In the integrative phase the sampler behaves as an infinite sink for compounds and the absorption is linear. The elimination rate constant of compounds is negligible. In these conditions TWA concentrations can be estimated and the equation 2 can be written as (Vrana and al., 2005a):

$$C_s(t) = C_w k_u t \quad (3)$$

Equation 3 can be rearranged to equivalent relationships (Vrana and al., 2005a):

$$M_s(t) = C_w R_s t \quad (4)$$

$$R_s = \frac{C_s \cdot M_s}{C_w \cdot t} = Cf \cdot \frac{M_s}{t} \quad (5)$$

Where M_s is the mass of sorbent (g), R_s is the sampling rate in L.d^{-1} and has to be defined in laboratory and Cf is the concentration factor.

R_s is the volume of water cleared of compound per unit of exposure time. For the most passive samplers the sampling rate does not vary with the concentration of compounds in water, but is often affected by the flow, temperature, biofouling,... (Vrana and al., 2005b).

During equilibrium regime the thermodynamic equilibrium between water and receiving phase is reached. And equation (2) can be reduced to (Vrana and al., 2005a):

$$C_s = C_w \frac{k_u}{k_e} = C_w K_{sw} \quad (6)$$

$$K_{sw} = \frac{k_u}{k_e} \quad (7)$$

Where K_{sw} is the sorbent/water partition coefficient.

Compounds must be transported from the aqueous medium to the receiving phase, it is the mass transfer. They must first pass through the water boundary layer (WBL) on the surface of the membrane, this layer is more or less thick depending on the flow and other environmental parameters, then through the stagnant water filled pore and polymer of the membrane, and they were adsorbed into the receiving phase. At an exhibition more or less longer in the environment, can form a biofilm on the surface of the membrane, and is also involved in mass transfer. Flow, temperature, biofouling can influence the mass transfer of compounds as shown in equation 8.

$$R_s = k_{ov} \cdot A \alpha \quad (8)$$

k_{ov} is the overall mass transfer coefficient ($m.s^{-1}$); A is the surface membrane area (m^2); and α is the pore area of the membrane as fraction of total membrane area.

Some compounds have not a linear accumulation in sorbent, it is instead exponential. This phenomenon can be interpreted as the time required for a compound passes through the membrane; this is the lag phase τ_0 (s). It is related to the overall mass transfer and is inversely proportional of sampling rate:

$$k_0 = \frac{\delta}{\tau_0} \quad (9)$$

δ is the total diffusion of path length (m).

III. Results and discussion

III.1 POCISTM with PES membranes

Two types of PES membranes were studied for POCISTM. First of all PES membranes with 0.1 μm pore size used in standard POCISTM were tested towards accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA. And then PES membranes with 0.45 μm pore size were used in order to evaluate the influence of porosity on accumulation of these compounds.

Table 5 : Kinetic data of APs, APEOs, NP1EC and BPA in standard POCISTM and POCISTM-like during 15 days exposure- (extrapolated kinetic parameters on linear pattern).

Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in standard POCIS TM						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Regime	linear	linear	linear	lag phase	lag phase	lag phase
Equation of model	Cf=1.20t	Cf=1.75t	Cf=1.33t	Cf=0.33 exp ^{0.20t}	Cf=0.78 exp ^{0.18t}	Cf=0.39 exp ^{0.22t}
R ²	0.92	0.97	0.89	0.96	0.96	0.98
ku (L.d ⁻¹ .g ⁻¹)	1.20	1.75	1.33	(0.79)	(1.23)	(1.27)
Rs (L.d ⁻¹)	0.24	0.35	0.27	(0.16)	(0.25)	(0.25)
τ ₀ (days)				6.22	5.62	6.47
Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS TM -PES 0.45μm						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Regime	burst effect	linear	burst effect	lag phase	lag phase	linear
Equation of model	Cf=6.84+1.14t	Cf=2.40t	Cf=7.33+1.49t	Cf=2.40 exp ^{0.14t}	Cf=3.94 exp ^{0.11t}	Cf=1.57t
R ²	0.96	0.98	0.95	0.99	0.94	0.93
ku (L.d ⁻¹ .g ⁻¹)	(1.14)	2.40	(1.49)	(1.80)	(1.59)	1.57
Rs (L.d ⁻¹)	(0.23)	0.48	(0.30)	(0.36)	(0.32)	0.31
τ ₀ (days)				4.23	1.42	
Accumulation of APS, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS TM -PE						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Regime			linear	lag phase	lag phase	lag phase
Equation of model			Cf=0.11t	Cf=0.44 exp ^{0.16t}	Cf=0.42 exp ^{0.16t}	Cf=0.10 exp ^{0.19t}
R ²			0.99	0.99	0.95	0.99
ku (L.d ⁻¹ .g ⁻¹)			0.11	(0.50)	(0.41)	(0.19)
Rs (L.d ⁻¹)			0.02	(0.10)	(0.08)	(0.04)
τ ₀ (days)				5.75	3.65	6.68
Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS TM -Nylon 0.1μm						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Regime	equilibrium	linear	equilibrium	lag phase	equilibrium	equilibrium
Equation of model	Cf=37.69 (1-exp ^{-0.04t})	Cf=0.45t	Cf=34.51 (1-exp ^{-0.02t})	Cf=1.21 exp ^{0.16t}	Cf=19.25 (1-exp ^{-0.04t})	Cf=110.61 (1-exp ^{-0.005t})
R ²	0.94	0.77	0.71	0.98	0.94	0.92
ku (L.d ⁻¹ .g ⁻¹)	1.58	0.45	0.72	(0.99)	0.81	0.55
Rs (L.d ⁻¹)	(0.28)	0.09	(0.13)	(0.20)	(0.14)	(0.10)
K _{SW} (L.g ⁻¹)	37.69		34.51		19.25	110.61
k _e (d ⁻¹)	0.04		0.02		0.04	0.004
τ ₀ (days)				2.83		
Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS TM -Nylon 1.2μm						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Regime	equilibrium	equilibrium	equilibrium	burst effect	equilibrium	equilibrium
Equation of model	Cf=35.00 (1-exp ^{-0.04t})	Cf=56.26 (1-exp ^{-0.03t})	Cf=49.91 (1-exp ^{-0.02t})	Cf=7.96+0.60t	Cf=25.26 (1-exp ^{-0.07t})	Cf=29.13 (1-exp ^{-0.04t})
R ²	0.89	0.45	0.85	0.06	0.81	0.94
ku (L.d ⁻¹ .g ⁻¹)	1.23	1.52	1.20	(0.60)	1.77	1.14
Rs (L.d ⁻¹)	(0.22)	(0.26)	(0.22)	(0.12)	(0.27)	(0.19)
K _{SW} (L.g ⁻¹)	35.00	56.26	49.91		25.26	29.13

k_e (d ⁻¹)	0.04	0.03	0.02		0.07	0.04
Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS TM -Nylon 10µm						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Regime	lag phase	equilibrium	equilibrium	equilibrium	equilibrium	equilibrium
Equation of model	$Cf=1.48 \exp^{0.17t}$	$Cf=25.94 (1-\exp^{-0.11t})$	$Cf=32.11 (1-\exp^{-0.06t})$	$Cf=60.77 (1-\exp^{-0.04t})$	$Cf=27.94 (1-\exp^{-0.05t})$	$Cf=21.73 (1-\exp^{-0.06t})$
R ²	0.99	0.90	0.56	0.77	0.94	0.85
ku (L.d ⁻¹ .g ⁻¹)	(1.91)	2.93	1.77	2.55	1.54	1.35
Rs (L.d ⁻¹)	(0.39)	(0.38)	(0.28)	(0.40)	(0.25)	(0.21)
K _{SW} (L.g ⁻¹)		25.94	32.11	60.77	27.94	21.73
k_e (d ⁻¹)		0.11	0.06	0.04	0.05	0.06
τ_0 (days)	5.53					
Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS TM -Nylon 30µm						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Regime	equilibrium	equilibrium	equilibrium	equilibrium	equilibrium	equilibrium
Equation of model	$Cf=34.86 (1-\exp^{-0.09t})$	$Cf=43.55 (1-\exp^{-0.11t})$	$Cf=35.66 (1-\exp^{-0.17t})$	$Cf=58.74 (1-\exp^{-0.06t})$	$Cf=22.81 (1-\exp^{-0.14t})$	$Cf=24.53 (1-\exp^{-0.14t})$
R ²	0.86	0.53	0.48	0.93	0.93	0.94
ku (L.d ⁻¹ .g ⁻¹)	3.31	4.62	6.17	3.23	3.28	3.57
Rs (L.d ⁻¹)	(0.47)	(0.58)	(0.69)	(0.53)	(0.39)	(0.40)
K _{SW} (L.g ⁻¹)	34.86	43.55	35.66	58.74	22.81	24.53
k_e (d ⁻¹)	0.09	0.11	0.17	0.06	0.14	0.14

III.1.1 Standard POCISTM

III.1.1.1 Uptake kinetics

The standard POCISTM have been developed for monitoring hydrophilic compounds with log K_{OW} above 3 (Alvarez and al., 2004) like pesticides, pharmaceutical substances, etc. Alvarez and al. (2004) have chosen PES membranes with 0.1 µm pore size as a diffusion limiting membrane because they show the best combination like durability, minimal surface biofouling, and high uptake rate for polar compounds. But alkylphenolic compounds are quantified in standard POCISTM (Arditsoglou and Voutsas, 2008; Harman and al., 2008a; Li and al., 2010; Tapie and al., 2011; Miège and al., 2012). The accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in standard POCISTM was studied in experiment 1. All studied compounds were detected in sorbent; they have a log K_{OW} values range from 3.64 (BPA) at 5.99 (4-NP) (Table 1). Two types of accumulation were observed: linear and exponential trends. The uptake kinetic curves of compounds studied in standard POCISTM after their exposure of 5, 10 and 15 days is shown in figure 1.

Kinetic data from accumulation of studied compounds in standard POCISTM are given in table 5. NP1EC, BPA and 4-t-OP have a linear trend throughout the 15-day exposure. The correlation coefficients (R²) of the linear regression are 0.92, 0.97 and 0.89 and the relative standard deviations of the calculated concentration factors (Cf) are 28, 23 and 27% respectively for NP1EC, BPA and 4-t-OP. Uptake rate constants (k_u) are determined by linear regression and then sampling rates are calculated considering with equation 5; the mass of sorbent equal to 0.2 g and range between 0.24 and 0.35 L.d⁻¹.

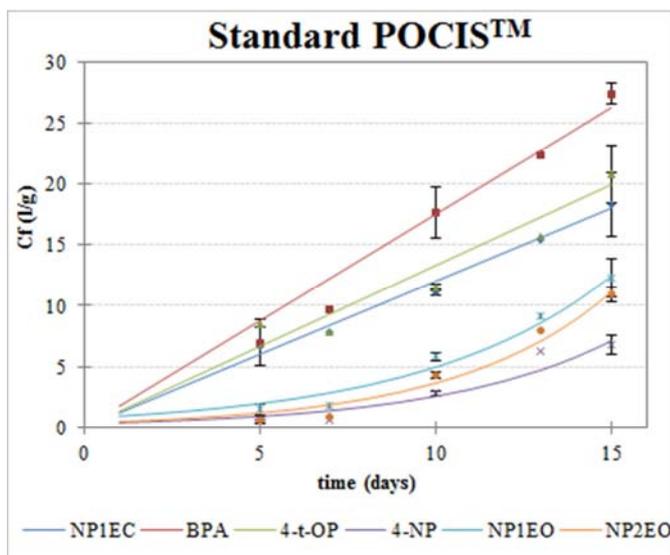


Figure 1 : Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent of standard POCISTM

4-NP, NP1EO and NP2EO have an exponential trend throughout 15-day exposure. The correlation coefficient of the exponential regression are 0.94, 0.96 and 0.98 and the relative standard deviations of Cf are 31, 27 and 31% respectively for 4-NP, NP1EO and NP2EO. These compounds are accumulated with a lag time. Kingston and their co-workers (2000) have shown that passive samplers with PES membranes accumulate weakly non polar compounds. This causes a lag phase corresponding to the time required for the compounds cross the water boundary layer and the membrane, longer depending on the hydrophobicity of the compounds studied. They have a biphasic absorption in the PES membrane (Harman and al., 2008a), they pass both through the water-filled pores of the membrane and through the polymer (Alvarez and al., 2007). This latency was observed in several studies (Kingston and al., 2000; Alvarez and al., 2007; Vermeirssen and al., 2009; Shaw and al., 2009; Thomatou and al., 2011; Nyoni and al., 2011). In this study 4-NP has a lag time of about 6.22 days, NP1EO about 5.62 days and NP2EO about 6.47 days. Integrated uptake is not achieved and therefore TWA concentrations cannot be estimated. The sampling rates of these compounds were variable over exposure time particularly up to five days of experiment. The resistance to mass transfer is more important for these compounds and leads a lag effect especially during the first days of experiment.

III.1.1.2 Accumulation in 0.1 µm PES membrane

The presence of a lag phase leads that the compounds are sorpted in membrane during the earlier stage of exposure. Thus PES membranes are analyzed in order to realize the amount of compounds accumulated. The partition of APs, APEOs, NP1EC and BPA between PES membranes with 0.1 µm pore size and sorbent is given in figure 2a. After 5 days of exposure NP1EC, BPA and 4-t-OP were present less than 20% in PES membrane and less than 10% after 15 days. However 4-NP, NP1EO and NP2EO were present at 77, 60 and 81% respectively in PES membrane after 5 days of exposure and at 50% after 15 days. These three later compounds are thus sorpted in the PES membrane before their absorption in sorbent. A constant accumulation rate in sorbent is only achieved when the concentrations of target compounds in the membrane reach a steady state (example of 4-NP, figure 2b). The lag time

indicates that the uptake of 4-NP, NP1EO and NP2EO into the standard POCISTM is controlled by the PES membrane.

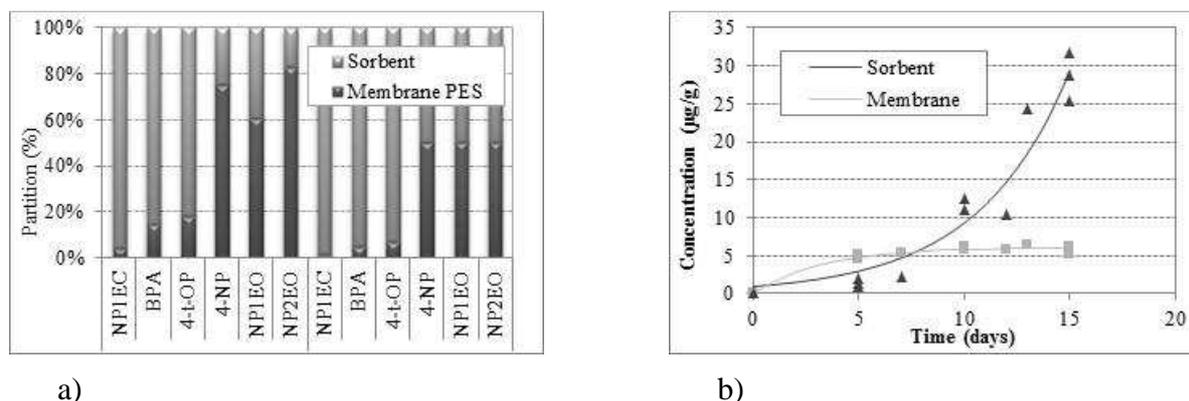


Figure 2 : Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in PES membrane with 0.1 µm pore size. a) Partition of APs, APEOs, NP1EC and BPA between sorbent and PES membrane with 0.1 µm pore size, b) Example of accumulation in sorbent and PES with 0.1 µm pore size of standard POCISTM (4-NP).

III.1.1.3 Sampling rates

Sampling rates of NP1EC, BPA and 4-t-OP in standard POCISTM are given in table 5. They are determined throughout 15-day exposure and can be used for the determination of TWA concentrations because they have a linear pattern. Extrapolated sampling rates are calculated for 4-NP, NP1EO and NP2EO on linear pattern of exponential trend. They are given in brackets (Table 5) and range between 0.16 and 0.25 L.d⁻¹. Sampling rates and extrapolated ones increase when the log K_{OW} decreases (Figure 3).

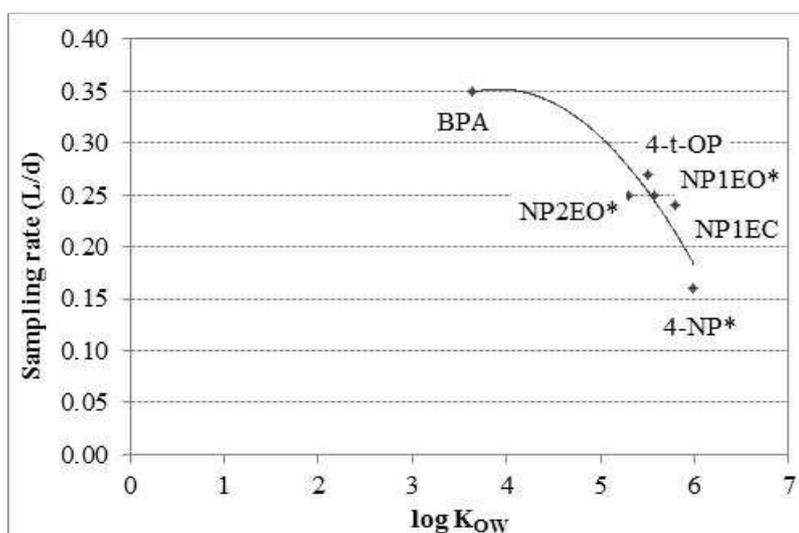


Figure 3 : Correlation between log K_{OW} and sampling rates (L.d⁻¹) and extrapolated ones (*) for APs, APEOs, NP1EC and BPA

Sampling rate of BPA is 0.35 L.d⁻¹ in this study. The values determined previously are 0.12 and 0.84 L.d⁻¹ by Arditoglou and al. (2008) and Li and al. (2010) respectively. In this study Rs value of 4-t-OP is 0.27 L.d⁻¹ which is 2-fold and 4-fold greater than the value of 0.12 L.d⁻¹ determined by Arditoglou (2008) and 0.06 L.d⁻¹ by Harman and al. (2008). 4-NP is not detected in standard POCISTM by Harman and al. (2008) but its Rs value is determined by Arditoglou and al. (2008) and Li and al. (2010). These values are 0.12 L.d⁻¹ for Arditoglou and al. (2008) which is the same range of our value (0.16 L.d⁻¹ with extrapolated data) and 0.92 L.d⁻¹ for Li and al. (2010). The extrapolated Rs for NP1EO and NP2EO are 0.25 L.d⁻¹ in

this study and the values determined previously by Arditoglou and co-workers (2008) were 0.12 L.d^{-1} . No study concerning the accumulation of APs and APEOs in standard POCISTM mentions the lag phase for 4-NP, NP1EO and NP2EO. Differences of R_s values between several studies can be explained by the mode of contamination (static renewal exposure against flow through system), the flow (quiescent against static), solvent used for recovery sorbent when dismantling POCISTM, etc. Likewise PES membranes with $0.1 \mu\text{m}$ pore size have two different visible surfaces: matt and bright surface (Table 2). The positioning of membranes during assembly of POCISTM should have an influence on accumulation of compounds. And this should play a role in the differences of sampling rates. In the same way the lag phase is depending too of these parameters because they leads a variation of water boundary layer and then the mass transfer of compounds.

III.1.1.4 *Influence of solvent used for recovery sorbent*

Many studies (Alvarez and al., 2004; Mac Leod and al., 2007; Arditoglou and Voutsas, 2008; Harman and al., 2008b; Bartelt-Hunt and al., 2009; Li and al., 2011) mention the use of methanol for transfer the sorbent when dismantling POCISTM except Mazzella and al. (2007) and Togola and Budzinski (2007) which use water. In order to test the influence of solvent used for recovery sorbent, two standard POCISTM were sampled at 5, 10 and 15 days and sorbent was transferred in glass column with 2 mL of methanol instead of 2 mL of Vittel® water. The accumulation trend of APs, APEOs, NP1EC and BPA is the same in both cases but kinetic parameters are lower when methanol is used as recovery sorbent than water (Table 6). This would suggest that compounds sorpted into the POCISTM (sorbent and membrane) are take off by methanol which is a strong eluent solvent when sorbent is transferred in glass column.

It would be interesting to standardize calibrations and treatments of POCISTM in order to compare data.

Table 6 : Comparison of kinetic parameters of APs, APEOs, NP1EC and BPA accumulation when water or methanol is used for the recovery sorbent

Compounds	Solvent used	Regime	Equation of model	R ²	$k_u (\text{L.d}^{-1}.\text{g}^{-1})$	$R_s (\text{L.d}^{-1})$
NP1EC	Methanol	linear	$Cf=0.04t$	0.98	0.04	0.007
	water	linear	$Cf=1.20t$	0.92	1.20	0.24
BPA	Methanol	linear	$Cf=0.23t$	0.73	0.23	0.05
	water	linear	$Cf=1.75t$	0.97	1.75	0.35
4-t-OP	Methanol	linear	$Cf=0.24t$	0.75	0.24	0.05
	water	linear	$Cf=1.33t$	0.89	1.33	0.27
4-NP	Methanol	lag phase	$Cf=0.11\exp^{0.20t}$	0.90	(0.29)	(0.06)
	water	lag phase	$Cf=0.33\exp^{0.20t}$	0.94	(0.79)	(0.16)
NP1EO	Methanol	lag phase	$Cf=0.06\exp^{0.23t}$	0.93	(0.26)	(0.05)
	water	lag phase	$Cf=0.78\exp^{0.18t}$	0.96	(1.23)	(0.25)
NP2EO	Methanol	lag phase	$Cf=0.06\exp^{0.23t}$	0.94	(0.27)	(0.05)
	water	lag phase	$Cf=0.39\exp^{0.22t}$	0.98	(1.27)	(0.25)

III.1.2 POCISTM-PES $0.45 \mu\text{m}$

4-NP, NP1EO and NP2EO are sorpted in PES membranes with $0.1 \mu\text{m}$ pore size up to 50% after 15 days. These compounds seem to have biphasic absorption in the PES membrane, they pass both through the water-filled pores of the membrane and through the polymer. Thus increasing the porosity of PES membranes should reduce mass transfer. Thus POCISTM-like with PES membranes $0.45 \mu\text{m}$ of pore size were studied in order to delete this lag phase.

III.1.2.1 *Uptake kinetics*

The accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in PES membranes 0.45 μm of pore size was studied in experiment 3. Two POCISTM-PES 0.45 μm were sampled at 5, 10 and 15 days. The uptake kinetic curves are given in figure 4. There are several types of accumulation: linear and exponential trends. Kinetic data obtained from experiment 3 are given in table 5.

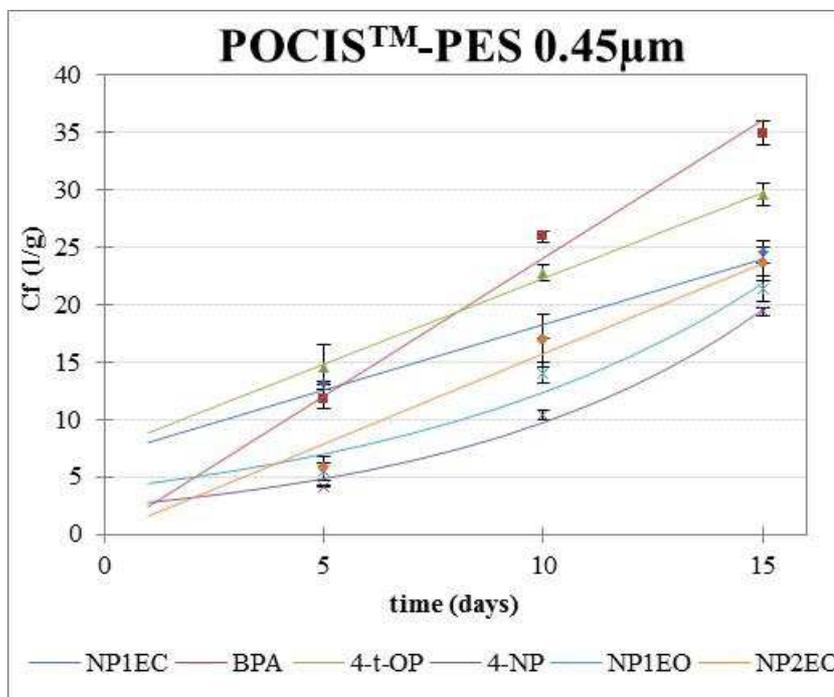


Figure 4 : Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent of POCISTM-like with PES 0.45 μm pore size membrane

The accumulation of BPA and NP2EO has a linear trend during the 15-day exposure. Correlation coefficients of the linear regression are 0.98 and 0.93; relative standard deviations of the calculated Cf are 11 and 20% respectively for BPA and NP2EO. Accumulation of BPA is still linear and the lag phase has disappeared for NP2EO in comparison with standard POCISTM. Increasing the porosity of PES membrane allows decreased the mass transfer of NP2EO leading a linear trend. TWA concentrations can be estimated for these compounds using equation 5.

A lag phase is still observed for 4-NP and NP1EO but it is lower than PES membrane with 0.1 μm pore size. Their correlation coefficient of nonlinear regression is 0.99 and 0.94; the relative standard deviation of Cf is 8 and 11% respectively. 4-NP has a lag time of about 4.23 days and NP1EO about 1.42 days (Table 5). The decrease of lag phase allows decreasing the mass transfer of these two compounds.

For others compounds like NP1EC and 4-t-OP, a burst effect is observed instead linear trend with standard POCISTM. This phenomenon is characterized by a quick accumulation of compounds in the beginning of exposure. Alvarez (1999) assigns the burst effect to solvation of the membrane. Indeed, when the membrane is wet for the first time, a large amount of water are brought into and around the membrane and leading a lower mass transfer of compound. Their correlation coefficient of linear regression is 0.96 and 0.95 for NP1EC and 4-t-OP respectively.

III.1.2.2 *Accumulation on 0.45µm PES membranes*

The partition of APs, APEOs, NP1EC and BPA between 0.45 µm PES membranes and sorbent is given in Figure 5. After 5 days of exposure NP1EC, BPA and 4-t-OP were present less than 10% in PES membrane with 0.45 µm pore size and less than 5% after 15 days. However 4-NP, NP1EO and NP2EO were present at 40, 35 and 55% in 0.45 µm PES membrane after 5 days of exposure and less than 20% after 15 days. These compounds are accumulated firstly into the water filled pore and then in the polymer until reach a steady state in the membrane like standard POCISTM; afterwards they are linearly accumulated in sorbent.

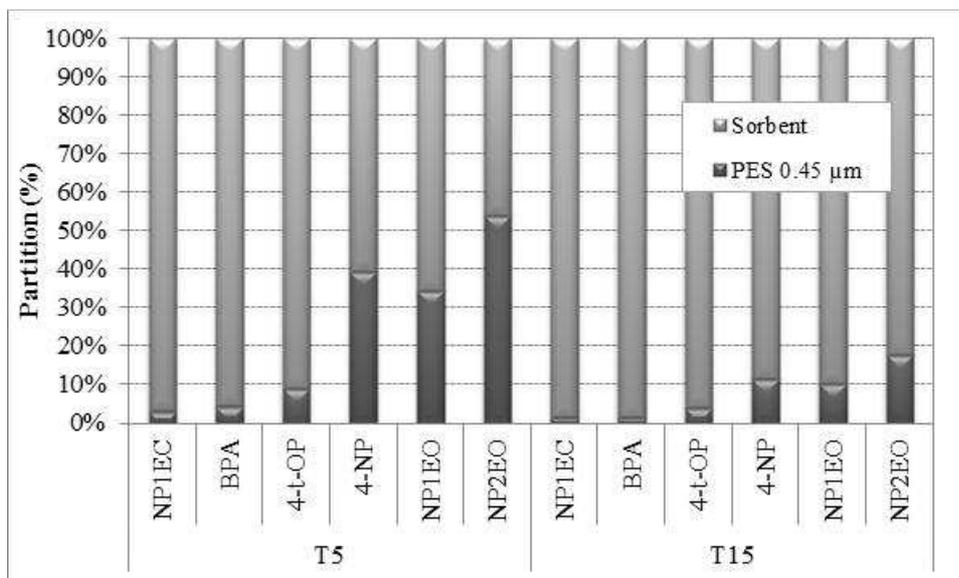


Figure 5 : Partition of APs, APEOs, NP1EC and BPA between sorbent and PES membrane with 0.45 µm pore size.

III.1.2.3 *Sampling rates*

Sampling rates of BPA and NP2EO in POCISTM-like with 0.45 µm PES membranes are given in table 5 and are 0.48 and 0.31 L.d⁻¹ respectively. They are determined throughout 15-day exposure and can be used for the determination of TWA concentrations because they have a linear pattern. Extrapolated sampling rates are calculated for NP1EC, 4-t-OP, 4-NP and NP1EO on linear pattern. They are given in brackets (Table 5) and ranged between 0.23 and 0.36 L.d⁻¹. Sampling rates and extrapolated ones decrease when the log K_{OW} increases (Figure 6).

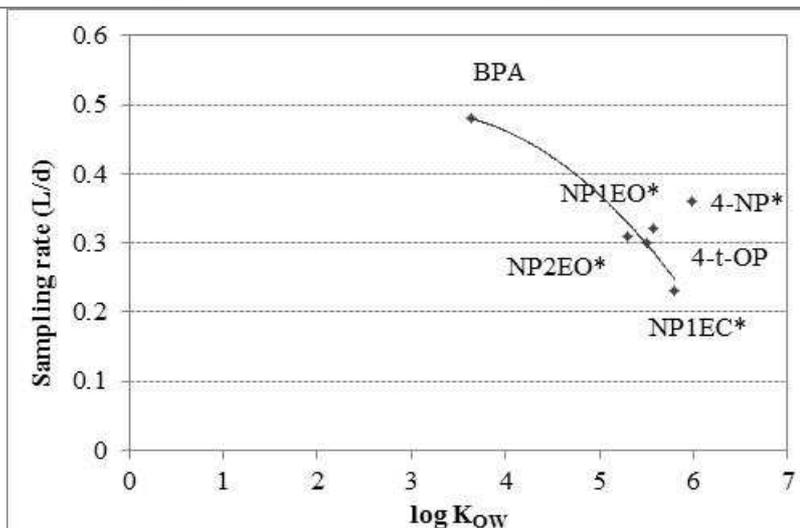


Figure 6 : Correlation between $\log K_{OW}$ and sampling rates ($L \cdot d^{-1}$) and extrapolated ones (*) for APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCISTM-PES0.45

III.1.3 Influence of pore size of PES membranes

The increase of pore size of PES membranes seems to improve the accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent of POCISTM. NP2EO have a linear pattern throughout 15-day exposure with PES membrane with 0.45 μm pore size. The lag time of 4-NP and NP1EO decreases when the pore size increases (Table 5). The sampling rates of all APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCISTM-like (with 0.45 μm PES membranes) were greater than those in standard POCISTM. The increase of membrane porosity could lead to sampling more particulate matter or colloids which hydrophobic compounds like APs, APEOs should be adsorbed. Porosity of bright surface of PES 0.1 μm membrane established during observation of scanning electron microscope is about 0.3 μm and great variability of pore size (Table 2). It would be interesting to establish the real porosity of PES 0.45 μm membrane by an observation of scanning electron microscope and thus compare them to those of PES 0.1 μm membrane.

III.2 POCISTM with LDPE membranes

Generally hydrophobic compounds like APs are sampled rather by the SPMD (Harman and al., 2008a; Harman and al., 2008b) developed by Huckins and their co-workers (Huckins and al., 1990). SPMD consists of LDPE tubing containing 1 mL of triolein. LDPE is non-porous hydrophobic membranes with transient cavities with diameter up to about 10 Å.

III.2.1 Uptake kinetics

The accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCISTM-PE was studied in experiment 2. The uptake kinetic curves are shown in figure 7 and kinetic data are given in table 5.

NP1EC and BPA are not sampled by this type of POCISTM-like after 15 days. Only few $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ were detected after 5 days in sorbent. No kinetic data could be calculated for these two compounds. The use of nonporous membrane leads a highly selective to compound permeation (Alvarez and al., 1999). NP1EC and BPA seems have no affinity with LDPE membrane.

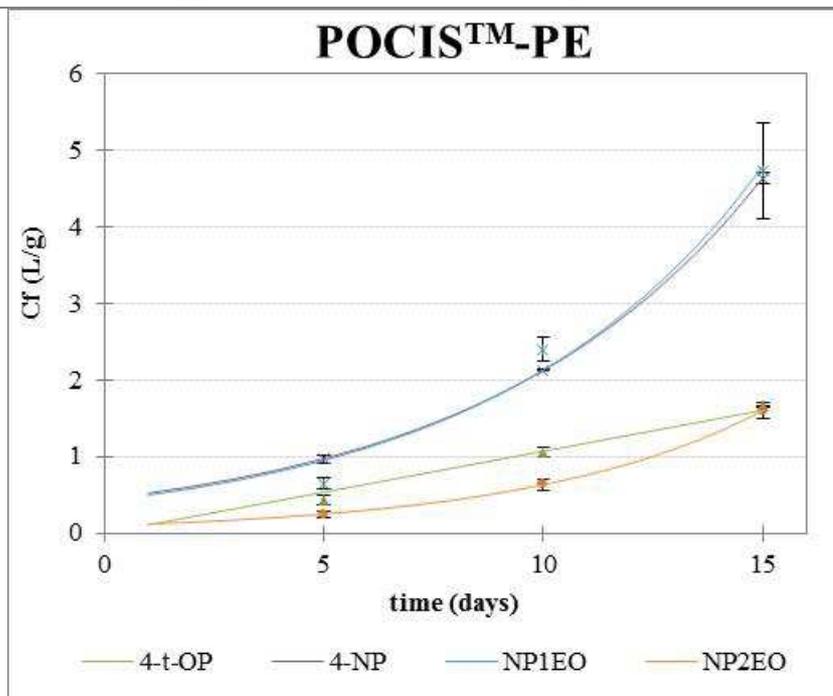


Figure 7: Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent of POCIS™-like with PE membrane

4-t-OP has a linear trend like with PES 0.1 μm pore size with 0.99 as correlation coefficient. 4-NP, NP1EO and NP2EO have an exponential throughout 15-day exposure similarly to standard POCIS™ and POCIS™-PES 0.45 μm (for 4-NP and NP1EO). The correlation coefficient of the exponential regression are 0.99, 0.95 and 0.99 and the relative standard deviations of Cf are 9, 13 and 17% respectively for 4-NP, NP1EO and NP2EO. These compounds are accumulated with a lag time. In POCIS™-PE, 4-NP and NP1EO have a lag time lower than those with standard POCIS™ and higher than POCIS™-PES 0.45 μm ones. They are about 5.75 days and 3.65 for 4-NP and NP1EO respectively. This of NP2EO is about 6.68 days which is lightly higher than in standard POCIS™. The accumulation of these compounds is not linear and thus the sampling rates associated are variable over exposure time particularly earlier of experiment.

III.2.2 Accumulation in LDPE membranes

The partition of APs, APEOs, NP1EC and BPA between LDPE membranes and sorbent is given in figure 8. After 5 days of exposure NP1EC and BPA were present higher than 50% in LDPE membranes and at 40 and 85% after 15 days respectively. These compounds don't diffuse through the polymer, they are partially adsorbed. However 4-t-OP, 4-NP, NP1EO and NP2EO were present lower than 10% in LDPE membranes after 5 days of exposure and less than 10% after 15 days. In LDPE membranes the amount of NP1EO and NP2EO decreases according to time and 4-t-OP and 4-NP one stays stable. The use of LDPE membranes causes an increase of overall mass transfer in comparison to standard POCIS™.

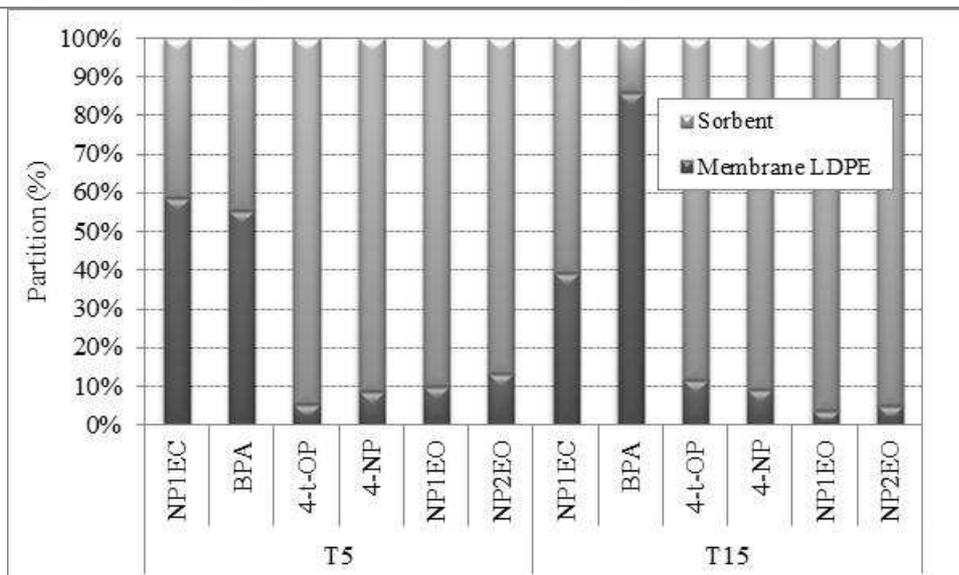


Figure 8 : Partition of APs, APEOs, NP1EC and BPA between sorbent and LDPE membrane

III.2.3 Sampling rates

The sampling rate of 4-t-OP and extrapolated ones of 4-NP, NP1EO and NP2EO in POCISTM-PE are given in table 5. They are 0.02 for 4-t-OP, 0.10 for 4-NP, 0.08 for NP1EO and 0.04 L.d⁻¹ for NP2EO. This version of POCISTM-like is not applied to accumulate APs, APEOs, NP1EC and BPA compared to POCISTM with PES membrane with 0.1 or 0.45 µm pore size. The sampling rates of APs in SPMD are 0.40 and 7.43 L.d⁻¹ for 4-t-OP and 4-NP respectively in seawater according to Harman and their co-workers (Harman and al., 2008a) and 1.34 L.d⁻¹ for 4-NP in drinking water (Harman and al., 2008b).

III.3 POCISTM with Nylon membranes

Nylon membranes were chosen because of their low absorbent power. First of all 0.1 µm of pore size were selected in order to compare to standard POCISTM. Then different porosities (1.2, 10 and 30 µm) were tested to study their influence on accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA.

III.3.1 POCISTM-Nylon 0.1 µm

III.3.1.1 Uptake kinetics

The accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCISTM with Nylon membranes (0.1 µm of pore size) was studied in experiment 4. A triplicate of this version of POCISTM-like are sampled at 5, 10 and 14 days. The uptake kinetic curves are given in figure 9. The accumulations of compounds have a logarithmic trend. Kinetic data obtained from experiment 4 are given in table 5.

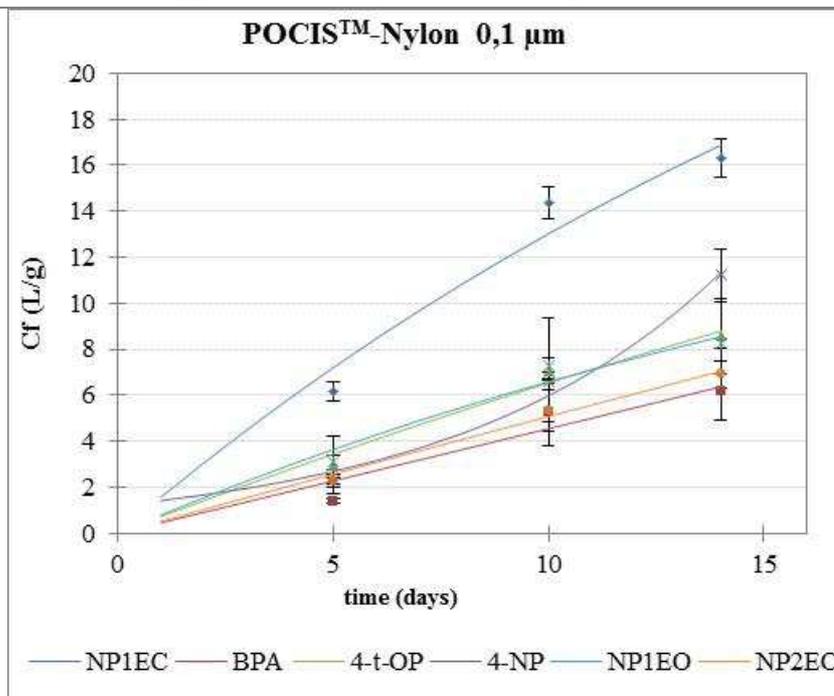


Figure 9 : Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent of POCIS™-like with Nylon membrane with 0.1 µm pore size

BPA has a linear pattern throughout 14-day exposure like standard POCIS™, and POCIS™-PES 0.45 µm. The correlation coefficient of the linear regression is 0.77 and the relative standard deviation of Cf is 34%.

The lag phase is still observed for 4-NP. The correlation coefficient of the exponential regression is 0.98. POCIS™-Nylon 0.1 µm leads a decrease of 4-NP lag time (2.83 days) compare other tested version of POCIS™. The use of nylon membranes allows decreasing mass transfer and thus increasing the accumulation of compounds in sorbent.

The accumulations of NP1EC, 4-t-OP, NP1EO and NP2EO have a logarithmic trend during the 14-day exposure. The correlation coefficients of the regression are of 0.94, 0.71, 0.94 and 0.92; the relative standard deviations of the calculated Cf are 14, 31, 14 and 16% respectively for NP1EC, 4-t-OP, NP1EO and NP2EO. These compounds are accumulated in larger quantities during the first days of exposure until reached a pseudo equilibrium between water and sorbent. The nonlinear regressions allow determining the sorbent / water partition coefficients (K_{SW}), elimination and uptake rate constants (k_e and k_u). Extrapolated sampling rates are calculated for these compounds on linear pattern.

III.3.1.2 Sampling rates

The sampling rates and extrapolated ones of APs, APEOs, NP1EC and BPA in nylon membranes with 0.1 µm pore size are given in table 5. They are calculated on the linear trend except for BPA which have linear pattern throughout 14 days. At “potential” equivalent porosity, the extrapolated sampling rates of NP1EC and 4-NP are lightly higher than those of standard POCIS™ (Table 5). Others sampling rates are lower especially that of BPA. However the washing of Nylon membrane with 0.1 µm pore size before their use leads an increase of the porosity or the spacing between fibers (Table 2). Therefore the real porosity of these membranes after their washing is not known and could be close to the real porosity of

PES 0.1 μm membranes. Sampling rates of this version of POCISTM-like increase when $\log K_{\text{OW}}$ are upper than 4.5 (Figure 10).

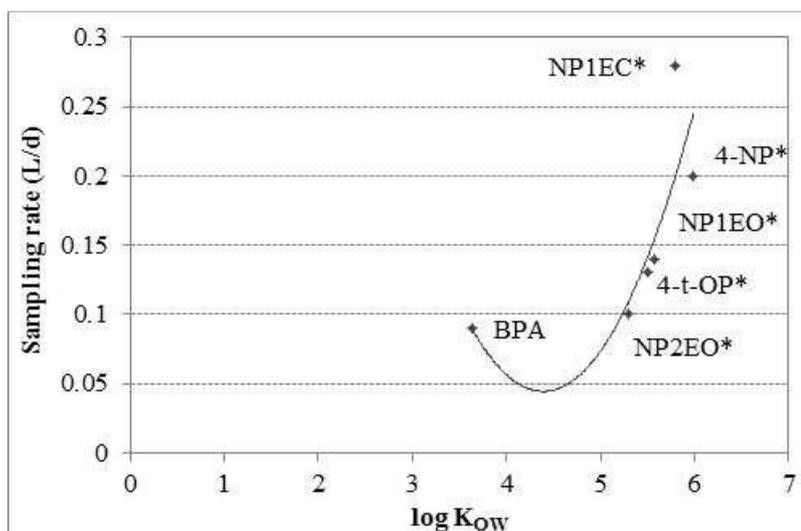


Figure 10 :: Correlation between $\log K_{\text{OW}}$ and sampling rates ($L.d^{-1}$) and extrapolated ones (*) for APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCISTM-Nylon 0.1 μm

III.3.2 POCISTM-Nylon 1.2 μm

III.3.2.1 Uptake kinetics

The accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCISTM-like with Nylon membranes with 1.2 μm pore size is studied in experiment 4. A triplicate of these POCISTM-Nylon 1.2 μm is sampled at 5, 10 and 14 days. The uptake kinetic curves are given in figure 10. Contrary to POCISTM-like with 0.1 μm Nylon membranes, a burst effect is observed for 4-NP instead of a lag phase. The use of Nylon membrane with 1.2 μm of pore size allows decreasing mass transfer of 4-NP in sorbent. The correlation coefficient is however very low (0.06) due to high variability between replicate and the relative standard deviation at 10 days is 86%. The accumulation of others compounds in sorbent have exponential pattern throughout 14-day exposure with linear trend during 10 days and then a pseudo equilibrium is reached. Kinetic data obtained from experiment 4 are given in table 5. The correlation coefficients of the nonlinear regression are 0.89, 0.45, 0.85, 0.81 and 0.94; the relative standard deviations of the calculated Cf are 18, 52, 21, 21 and 13% respectively for NP1EC, BPA, 4-t-OP, NP1EO and NP2EO. The concentration factor of BPA is very variable between replicate.

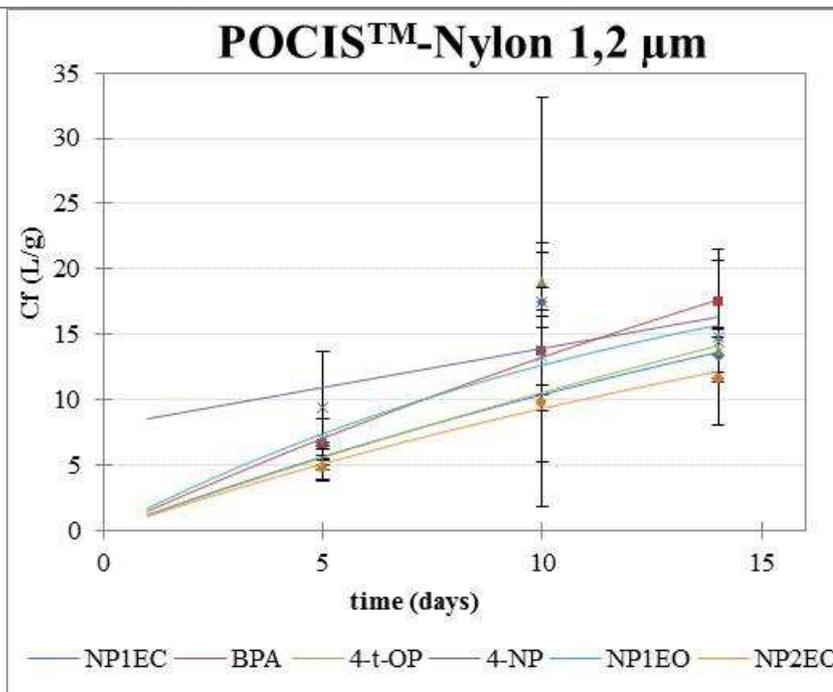


Figure 11 : Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent of POCIS™-like with Nylon membrane with 1.2 μm pore size

III.3.2.2 Sampling rates

The extrapolated sampling rates of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS™-nylon 1.2 μm are given in table 5. They are calculated on the linear accumulation during 10 days except for 4-NP which have a burst effect. The increase of porosity should be decrease the mass transfer of compounds. The majority of extrapolated sampling rates have increase compared to those obtained with POCIS™-Nylon 0.1 μm except for 4-NP and NP1EC which are lightly lower. Extrapolated sampling rates of POCIS™-Nylon 1.2 μm decrease when log K_{OW} are upper than 4.5 and increase when it is lower (Figure 12) contrary to POCIS™-Nylon 0.1 μm.

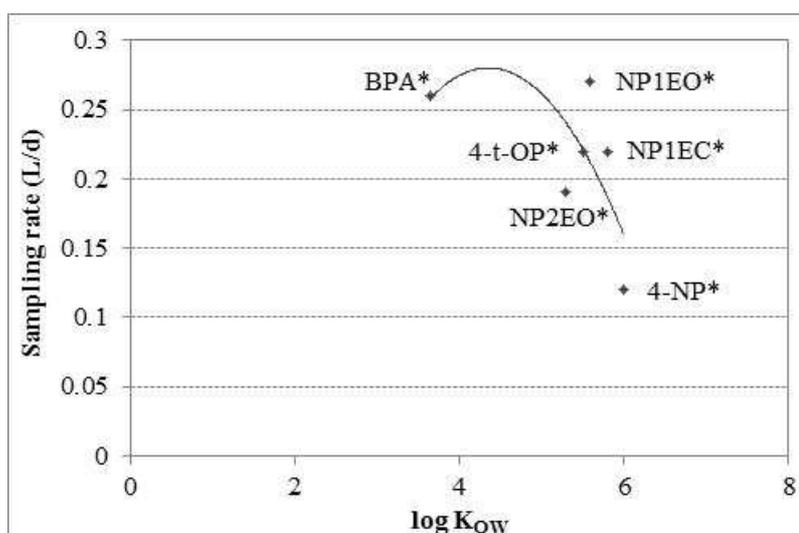


Figure 12 : Correlation between log K_{OW} extrapolated (*) sampling rates ($L.d^{-1}$) for APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS™-Nylon 1.2 μm

III.3.3 POCISTM-Nylon 10 µmIII.3.3.1 *Uptake kinetics*

The accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS-like with Nylon membranes with 10 µm pore size is studied in experiment 4. A triplicate of these POCIS-like were sampled at 5, 10 and 14 days. The uptake kinetic curves were given in figure 13 and kinetic data obtained from experiment 4 are given in table 5.

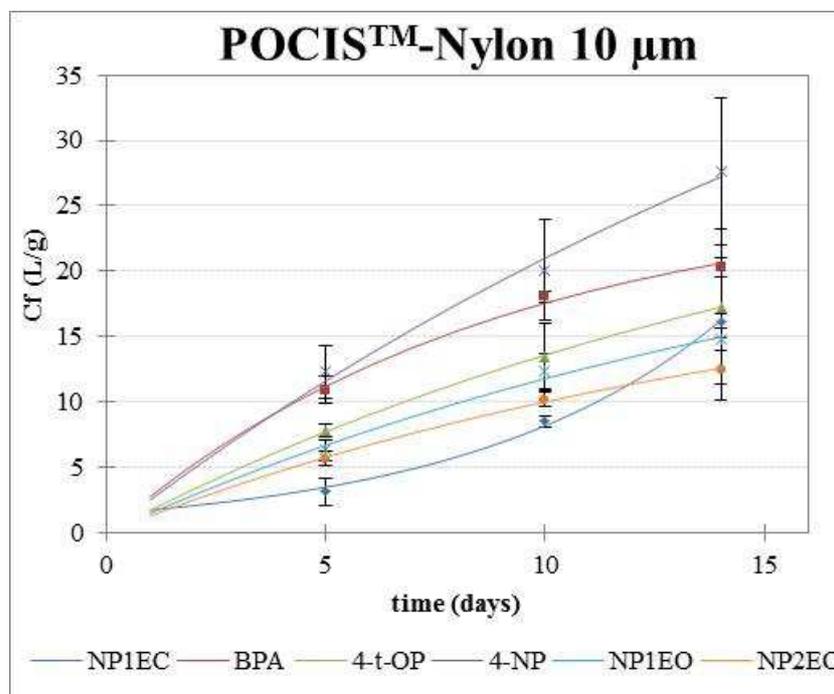


Figure 13 : Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent of POCISTM-like with Nylon membrane with 10 µm pore size

BPA, 4-t-OP, 4-NP, NP1EO and NP2EO have reached a pseudo equilibrium during the 14-day exposure. The correlation coefficients of the regression are of 0.90, 0.56, 0.77, 0.94 and 0.85; the relative standard deviations of the calculated Cf are 22, 47, 35, 14 and 22% respectively for BPA, 4-t-OP, 4-NP, NP1EO and NP2EO. A lag phase of 5.53 days is observed for NP1EC instead of linear trend or equilibrium. The correlation coefficient of the nonlinear regression is 0.99.

III.3.3.2 *Sampling rates*

The extrapolated sampling rates of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS-like with 10 µm nylon membranes are given in table 5. They are calculated on the linear accumulation. They are lightly higher than those with POCISTM-Nylon 1.2 µm. As POCISTM-Nylon 0.1 µm, sampling rates decrease when log K_{OW} increase until reached log K_{OW} value of 4.5 and then they increase (Figure 14). This behavior is the contrary of that of POCISTM-like with 1.2 µm nylon membranes.

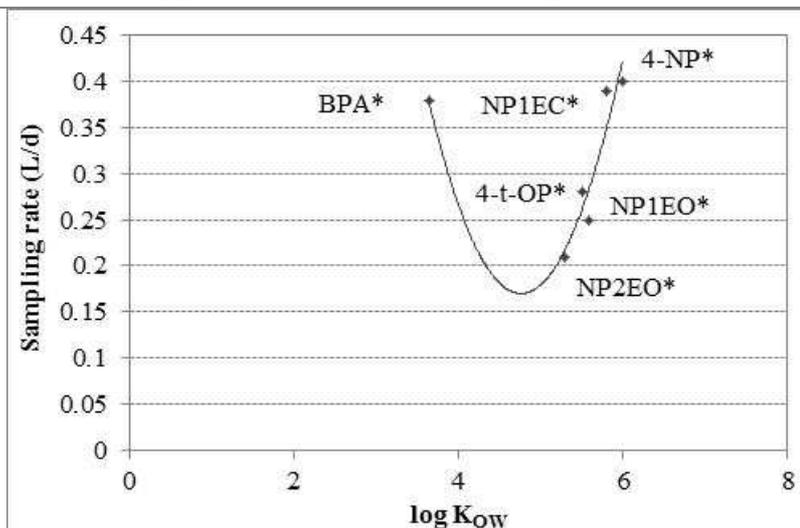


Figure 14 : Correlation between $\log K_{ow}$ extrapolated (*) sampling rates ($L \cdot d^{-1}$) for APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCISTM-Nylon 10 μm

III.3.4 POCISTM-Nylon 30 μm

III.3.4.1 Uptake Kinetics

The accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCIS-like with Nylon membranes with 30 μm pore size is studied in experiment 4. A triplicate of these POCIS-like were sampled at 5, 10 and 14 days. The uptake kinetic curves are given in figure 15. The accumulation of all compounds has reached equilibrium throughout 14-day exposure. Kinetic data obtained from experiment 4 are given in table 5.

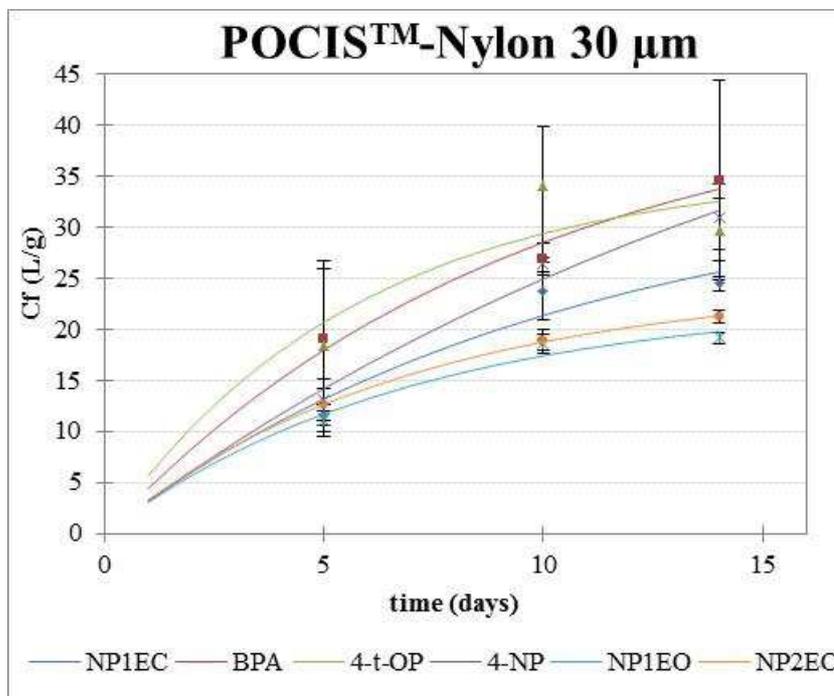


Figure 15 : Accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent of POCISTM-like with Nylon membrane with 30 μm pore size

The accumulation of NP1EC, BPA, 4-t-OP, 4-NP, NP1EO and NP2EO has a logarithmic trend during the 14-day exposure. It is linear during the first days of experiment and then pseudo equilibrium is reached. The correlation coefficients of the regression are

0.86, 0.53, 0.48, 0.93, 0.93 and 0.94; the relative standard deviations of the calculated Cf are 20, 39, 31, 40, 17 and 15% respectively for NP1EC, BPA, 4-t-OP, 4-NP, NP1EO and NP2EO.

III.3.4.2 Sampling rates

The extrapolated sampling rates of APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCISTM-like with 30 µm nylon membranes are given in table 5. They were higher than those obtained with others version of POCISTM-like. POCISTM-like with nylon 30 µm membranes have the same behavior than POCISTM-Nylon 0.1 µm and POCISTM-Nylon 10 µm: the evolution of sampling rates in function of log K_{OW} is inverted when the log K_{OW} value 4.5 is reached. Before this value sampling rate decrease and then increase (Figure 16).

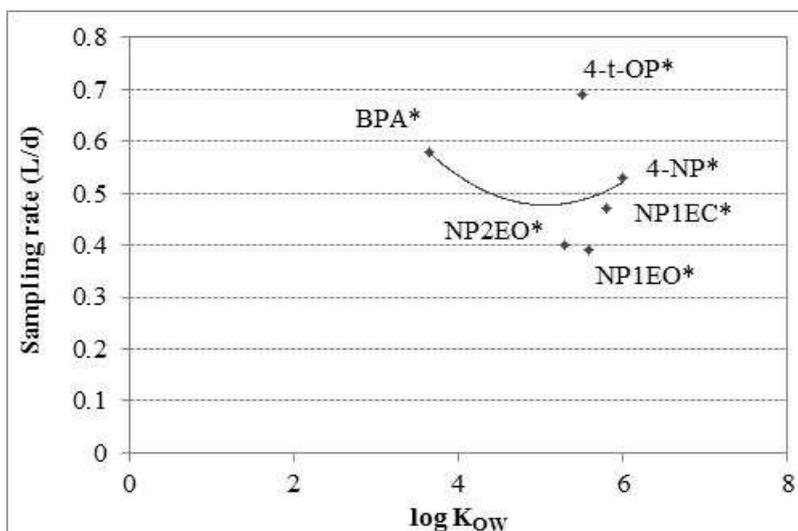


Figure 16 : Correlation between log K_{OW} extrapolated (*) sampling rates (L.d⁻¹) for APs, APEOs, NP1EC and BPA in POCISTM-Nylon 30 µm

III.3.5 Accumulation in Nylon membranes

APs, APEOs, NP1EC and BPA don't be sorpted in Nylon membranes. Whatever the nylon membrane used compounds studied were present less than 10% in membranes after 5, 10 or 14 days. The use of nylon membranes allows to overcome the lag phase for all the compounds but the integrative period is more short (5 or 10 days).

III.3.6 Influence of nylon membranes pore size

Pseudo equilibrium is reached for the majority of compounds when nylon membranes are used. The sorbent / water partition coefficient have been calculated and compared (Figure 17). The increase of nylon membrane porosity leads not to a better affinity towards APs, APEOs, NP1EC and BPA, but this allows decreasing the variability of accumulation between replicates. A high variability is observed for the calculation of several K_{SW}. Those of BPA on POCISTM-Nylon 1.2 µm are very variable due to a high variability between replicate and pseudo-equilibrium is reached and the nonlinear regression leads a more variable value. For the same reasons, K_{SW} of 4-t-OP in POCISTM-Nylon 0.1 and 1.2 µm is higher variable than in POCISTM-Nylon 10 µm due to variability between replicates only at 14 days. The great variability observed of K_{SW} for 4-NP and NP2EO for respectively POCISTM-Nylon 10 µm and POCISTM-Nylon 0.1 µm is explained by modeling the nonlinear regression on pseudo-equilibrium and leads a great uncertainty on the determination of K_{SW}. Another parameter could play a role in replicates variability with POCISTM-like which have nylon membranes

with 1.2 or 10 μm pore size: the structure of membrane. According to observations of scanning electron microscope, the structure of nylon membranes with 1.2 and 10 μm pore size consists of cavities with variable geometry (Table 2). This parameter could be influence the accumulation of compounds into the sorbent and they are not affected in the same way. The low variability between replicates with the POCISTM-nylon 30 μm could be explained by the regular weaving of fiber in the structure of membrane (Table 2); studied compounds are then accumulated in the same way.

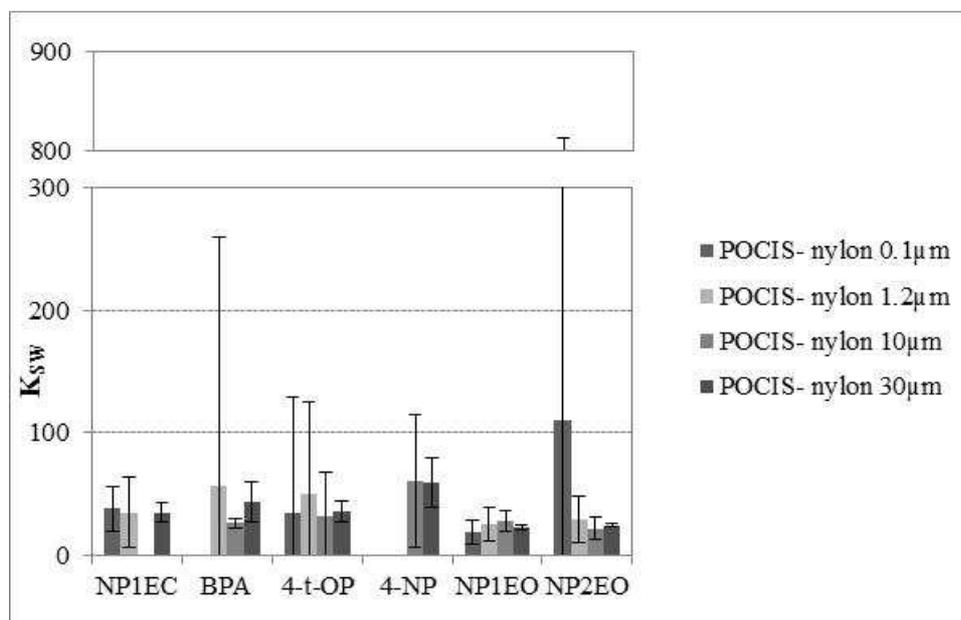


Figure 17 : Comparison of sorbent / water partition coefficient of APs, APEOS, NP1EC and BPA for POCISTM-like with nylon membranes

However the increase of porosity leads a better accumulation of APs, APEOs, NP1EC and BPA in sorbent due to the concentration factor which increase in proportion to the porosity and the mass transfer which increases. But with these high porosities, POCISTM-like could sampling APs, APEOs, NP1EC or BPA associated to particulate matters or colloids and then accumulated more compounds.

III.4 Comparison of tested POCISTM version

The standard POCISTM allows linearly accumulating NP1EC, BPA and 4-t-OP instead of a burst effect for NP1EC and 4-t-OP in POCISTM- PES 0.45 μm during 15 days exposure. However with these two versions of POCISTM a lag phase is observed for 4-NP and NP1EO. The use of nylon membranes leads to a better accumulation of these compounds and reached equilibrium or pseudo-equilibrium after 10 days. The POCIS with nylon 30 μm membranes show a better accumulation of compounds, their uptake rate constants are higher than those determined with others POCISTM versions. The sampling rates of 4-t-OP with standard POCISTM (0.27 L.d⁻¹) and with POCISTM- Nylon 30 μm (0.69 L.d⁻¹) are in same order of magnitude of those determined in SPMD (Harman and al., 2008a) showing their affinity and sensitivity for these compounds. However the sampling rate of 4-NP with POCISTM- Nylon 30 μm (0.53 L.d⁻¹) is lower than those of SPMD which is 1.34 L.d⁻¹ in drinking water (Harman and al., 2008b) and 7.4 L.d⁻¹ in seawater (Harman and al., 2008a).

IV. Conclusions

The flow through system ensures a constant supply of freshly contaminated water into the exposure tank and prevents water concentration variability. In standard POCISTM, NP1EC, 4-t-OP and BPA have a linear accumulation in the receiving phase throughout 15-day exposure which allows the sampler application for time-integrative sampling of these chemicals during field exposures. However, a nonlinear accumulation is observed for more hydrophobic compounds (4-NP, NP1EO and NP2EO) with a lag phase. These compounds are first accumulated in the PES membranes. The use of POCISTM-Nylon 30 µm allows eliminating the lag phase observed with standard POCISTM for 4-NP, NP1EO and NP2EO and have higher concentration factor in comparison to the standard POCISTM. The solution to sample studied compounds in integrative regime is the use of both version of POCISTM: standard and Nylon 30 µm versions. The first version allows sampling NP1EC, 4-t-OP and BPA during several weeks and the second one studying all compounds during several days. It would be interesting to validate these tools in mesocosm and then in environmental studies in future work.

Acknowledgements

The authors wish to thank the French national research agency ANR EMESTOX, The Aquitaine Region, the European Union (CPER A2E project), the Feder and Lyonnaise des Eaux for their financial support. Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund.

References

- Ahel, M., W. Giger, and C Schaffner (1994). « Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment- II Occurrence and biotransformation in rivers ». *Water Research* 28 (5): 1143-1152.
- Alvarez, D (1999). « Development of an integrative sampling device for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments ».
- Alvarez, D., J. Huckins, J. Petty, T. Jones-Lepp, F. Stuer-Lauridsen, D. Getting, J. Goddard, and A. Gravell (2007). « Tool for monitoring hydrophilic contaminants in water: polar organic chemical integrative sampler (POCIS) ». In *Passive sampling techniques in environmental monitoring*, 48:171-197. *Comprehensive Analytical Chemistry*. ELSEVIER.
- Alvarez, D., P.E. Stackelberg, J.D. Petty, J.N. Huckins, E.T. Furlong, S.D. Zaugg, and M.T. Meyer (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 (5): 610-622.
- Alvarez, D.A., J.D. Petty, J.N. Huckins, T.L. Jones-Lepp, D.T. Getting, J.P. Goddard, and S.E. Manahan (2004). « Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (7): 1640-1648.
- Arditsoglou, A., and Dimitra V. (2008). « Passive sampling of selected endocrine disrupting compounds using polar organic chemical integrative samplers ». *Environmental Pollution* 156 (2): 316-324.
- Bartelt-Hunt, S.L., D;D. Snow, T. Damon, J. Shockley, and Kyle Hoagland (2009). « The occurrence of illicit and therapeutic pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters in Nebraska ». *Environmental Pollution* 157 (3): 786-791.
- Brix, R., J. Lopez-Doval, M. Ricart, H. Guash, C. Orendt, A. Romani, S. Sabater, D. Barcelo, M Lopez de Alda, and I Munoz (2012). « Establishing potential links between the presence of alkylphenolic compounds and the benthic community in a European river basin ». *Environmental Science and Pollution Research* 19 (4): 934-945.
- Harman, C., K.E. Tollefsen, O. Boyum, K. Thomas, and M. Grung (2008a). « Uptake rates of alkylphenols PAHs and carbazoles in semipermeable membrane devices (SPMDs) and polar organic chemical integrative samplers (POCIS) ». *Chemosphere* 72 (10): 1510-1516.
- Harman, C., O. Boyum, K.E. Tollefsen, K. Thomas, and M. Grung (2008b). « Uptake of some selected aquatic pollutants in semipermeable membrane devices (SPMDs) and the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) ». *Journal of Environmental Monitoring* 10 (2): 239-247.
- Huckins, J., M. Tubergen, and G. Manuweera (1990). « Semipermeable membrane devices containing model lipid: A new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration potential ». *Chemosphere* 20 (5): 533-552.

- Kingston, J, R. Greenwood, G. Mills, M. Morrison, and L.B. Persson (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 (5): 487-495.
- Kohoutek, J., B. Marsalek, and L. Blaha (2010). « Evaluation of the novel passive sampler for cyanobacterial toxins microcystins under various conditions including field sampling ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397 (2): 823-828.
- Kolpin, D.W., E.T. Furlong, M.E. Thurman, S.D. Zaugg, L.B. Barber, and H.T. Buxton (2002). « Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance ». *Environmental Science and Technology* 36 (6): 1202-1211.
- Lardy-Fontan, S. (2008). « Les substances émergentes dans les écosystèmes aquatiques français. Une application aux alkylphénol-polyéthoxylés et aux substances pharmaceutiques ». Bordeaux 1.
- Li, H., P. Helm, G. Paterson, and C. Metcalfe (2011). « The effects of dissolved organic matter and pH on sampling rates for Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) ». *Chemosphere* 83 (3): 271-280.
- Li, Hongxia, Paul A. Helm, and Chris D. Metcalfe (2010). « Sampling in the Great Lakes for pharmaceuticals, personal care products, and endocrine-disrupting substances using passive Polar Organic Chemical Integrative Sampler ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (4): 751-762.
- MacLeod, S.L., E.L. McClure, and C.S. Wong (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 (12): 2517-2529.
- Miège, C., H. Budzinski, R. Jacquet, C. Soulier, T. Pelte, and M. Coquery (2012). « Polar organic chemical integrative sampler (POCIS): application for monitoring organic micropollutants in wastewater effluent and surface water ». *Journal of Environmental Monitoring* 14 (Issue 2): 626-635.
- Nyoni, H., L. Chimuka, B. Vrana, and E. Cukrowska (2011). « Membrane assisted passive sampler for triazine compounds in water bodies- Characterization of environmental conditions and field performance ». *Analytica Chimica Acta* 694 (1-2): 75-82.
- Shaw, M., G. Eaglesham, and J.F. Mueller (2009). « Uptake and release of polar compounds in SDB-RPS Empore™ disks; implications for their use as passive samplers ». *Chemosphere* 75 (1): 1-7.
- Tapie, N., M.H. Devier, C. Soulier, N. Creusot, K. Le Menach, S. Aït-Aïssa, B. Vrana, and H. Budzinski (2011). « Passive samplers for chemical substance monitoring and associated toxicity assessment in water ». *Water Science and Technology* 63 (10): 2418-2426.
- Thomatou, A, I. Zacharias, D. Hela, and I. Konstantinou (2011). « Passive sampling of selected pesticides in aquatic environment using polar organic chemical integrative samplers ». *Environmental Science and Pollution Research* 18 (7): 1222-1233.

- Vermeirssen, E., N. Bramaz, J. Hollender, H. Singer, and B. Escher (2009). « Passive sampling combined with ecotoxicological and chemical analysis of pharmaceuticals and biocides- evaluation of three Chemcatcher™ configurations ». *Water Research* 43 (4): 903-914.
- Vrana, B, G Mills, I Allan, E Dominiak, K Svensson, J Knutsson, G Morrison, and R Greenwood (2005). « Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water ». *Trends in Analytical Chemistry* 24 (10): 845-868.
- Vrana, B., G. Mills, E. Dominiak, and R. Greenwood (2006). « Calibration of the chemcatcher passive sampler for the monitoring of priority organic pollutants in water ». *Environmental Pollution* 142 (2): 333-343.
- Vrana, B., G. Mills, R. Greenwood, J. Knutsson, K. Svensson, and G. Morrison (2005). « Performance optimisation of a passive sampler for monitoring hydrophobic organic pollutants in water ». *Journal of Environmental Monitoring* 7 (6): 612-620.
- Zhang, Y.Z., X.F. Song, A. Kondoh, J. Xia, and C-Y Tang (2011). « Behavior, mass inventories and modelling evaluation of xenobiotic endocrine-disrupting chemicals along an urban receiving wastewater river in Henan Province, China ». *Water Research* 45 (1): 292-302.

Synthèse sur le développement de nouvelles techniques d'extraction / échantillonnage

Ce chapitre synthétise les résultats obtenus au cours de ces travaux de thèse développés ou non dans les articles précédents.

I. Développement SPME-GC/MS pour l'analyse des alkylphénols

Le développement et l'optimisation de cette méthode d'analyse reposent en partie sur des travaux existants (Braun et al. 2003; Diaz et al. 2002; Pan et Tsai 2008; Yang et al. 2006) et sont détaillés dans le Tableau 30.

L'extraction par SPME a été optimisée pour le 4-NP et le 4-t-OP. Elle est effectuée en espace de tête (headspace). La quantification est réalisée par étalonnage interne par l'emploi du 4-t-OP d₂, étalon interne du 4-t-OP, et du p-n-NP C13, étalon du 4-NP. Le signal du 4-NP détecté dans le blanc fibre est soustrait à celui des échantillons. Différents paramètres ont été testés en fonction des méthodes décrites dans la littérature comme la température et le temps d'extraction, la vitesse d'agitation, la température et le temps de désorption ou encore la salinité des échantillons. Les tests ont été effectués en triplicats avec 10 mL d'eau Vittel® supplémentés en 4-NP et 4-t-OP à une concentration de 1µg.L⁻¹ dans un flacon SPME à vis de 20 mL.

I.1 Choix de la nature de la fibre d'extraction

Trois natures de fibre ont été testées : le polyacrylate (PA), le polyméthylsiloxane (PDMS) et un mélange de PDMS et de divinylbenzène (DVB). Ces fibres diffèrent de par leur polarité et leur propriété de sorption. Les fibres en PA et PDMS sont des polymères absorbants et essentiellement utilisés pour échantillonner les composés polaires (comme des phénols). Ils permettent aussi d'être linéaire sur une large gamme de concentration (Braun et al. 2003). Le polymère le plus sensible pour le 4-NP et le 4-t-OP s'avère être le PA 85 µm suivie du PDMS 100 µm puis du PDMS-DVB 65 µm.

I.2 Paramètres d'extraction

Trois paramètres clés ont été optimisés : la température et le temps d'extraction ainsi que l'agitation. La température est le paramètre le plus influant sur les extractions des alkylphénols contrairement à la vitesse d'agitation qui n'a pas d'effet significatif (Figure 62). Les écarts types entre répliques sont faibles inférieurs à 20% sauf pour le temps d'extraction du 4-NP.

L'extraction des alkylphénols se fait pendant 80 minutes à 70°C et à 600 tour par minute.

I.3 Blancs fibres et blancs eau

Le 4-t-OP n'est pas détecté ni dans les blancs fibres ni dans les blancs eau ; le 4-NP y est quant à lui présent (Figure 63).

Les blancs fibre sont extraits pendant une minute. Si ce temps est augmenté à 80 minutes, temps optimum pour l'extraction d'un échantillon, le signal du 4-NP est multiplié par deux. Ce signal est plus fort lorsque le blanc fibre succède à un conditionnement de la fibre (Figure 63a).

Chapitre 4 : Développement des échantillonneurs passifs –Synthèse

Tableau 30 : Comparaison des paramètres de méthodes analytiques par SPME pour l'analyse des alkylphénols

Composés ciblés	Extraction							Dérivation			Désorption/Extraction		LOD	Gamme de linéarité	Biblio
	Type	Fibre	Temps d'extraction	Température d'extraction	Agitation	Concentration en NaCl	pH	Dérivant	Temps de dérivation	Température dérivation	Temps de désorption	Température d'extraction			
4-t-OP, 4-NP, t-NP	Extraction en espace de tête, dérivation sur fibre	85µm PA	30 min	65°C	800 RPM	50 g.L ⁻¹	-	MTBSTFA 1% TBDMCS	10 min	45°C	3 min	280°C	1.58-3.85µg.L ⁻¹	0.005-1.04µg.L ⁻¹	(Pan et Tsai 2008)
OP, t-NP, DES, DEHA, E1, E2, T, PREG	Extraction en immersion, dérivation sur fibre	85µm PA	90 min	45°C	Agitateur magnétique	100 g.L ⁻¹	5	BSTFA	60 min	25°C	5 min	-	NP : 0.141µg.L ⁻¹ OP : 0.013µg.L ⁻¹	NP : 1-100µg.L ⁻¹ OP : 0.01-100µg.L ⁻¹	(Yang et al. 2006)
t-NP, BPA	Extraction en immersion	85µm PA	60 min	30°C	500 RPM	105 g.L ⁻¹	2	-	-	-	3 min	280°C	t-NP : 0.27-153µg.L ⁻¹ BPA : 0.34-195µg.L ⁻¹		(Braun et al. 2003)
t-NP, NP1EO, NP2EO	Extraction en immersion	DVB-CAR-PDMS	60 min	50°C	700 RPM	-	-	-	-	-	5 min	250°C	t-NP : 0.03µg.L ⁻¹ NP1EO : 0.09µg.L ⁻¹ NP2EO : 0.15µg.L ⁻¹	t-NP : 0.11-2µg.L ⁻¹ NP1EO : 0.3-2.5µg.L ⁻¹	(Diaz et al. 2002)

4-NP : 4-nonylphénol ; t-NP : nonylphénol (mélange technique) ; OP : octylphénol ; DES : diéthylstilbestrol ; DEHA : déhydroisoandrosterone ; E1 : Estrone ; E2 : 17-β-estradiol ; T : testostérone ; PREG : pregnenolone ; NaCl : Chlorure de sodium ; PA : polyacrylate ; DVB : divinylbenzène ; CAR : carboxène ; PDMS : diméthylsiloxane ; RPM : tour par minute (Revolution Per Minute) ; MTBSTFA 1% TBDMCS : N-tert-butyl-diméthylsilyl-N-méthyltrifluoroacétamide avec 1% de tert-butyl-diméthylchlorosilane ; BSTFA : N,O-bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide.

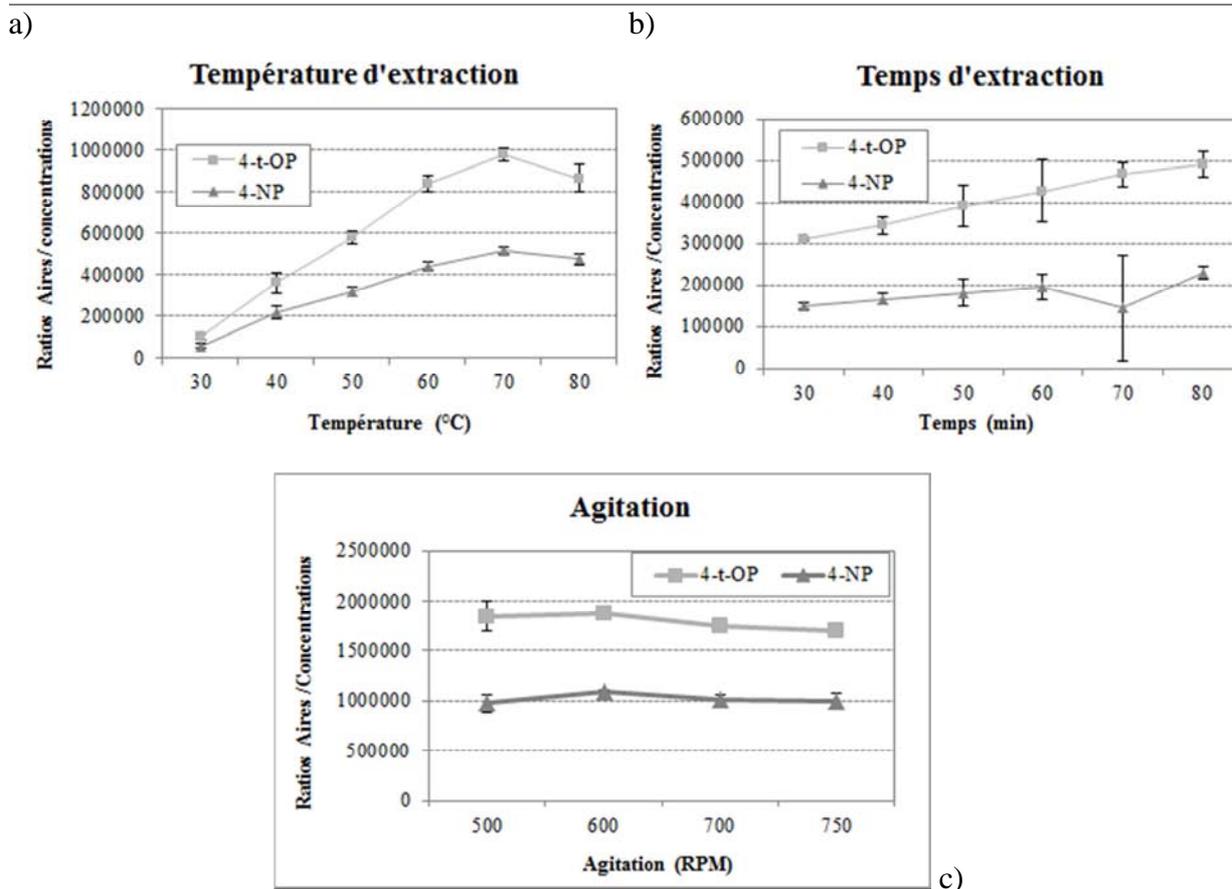
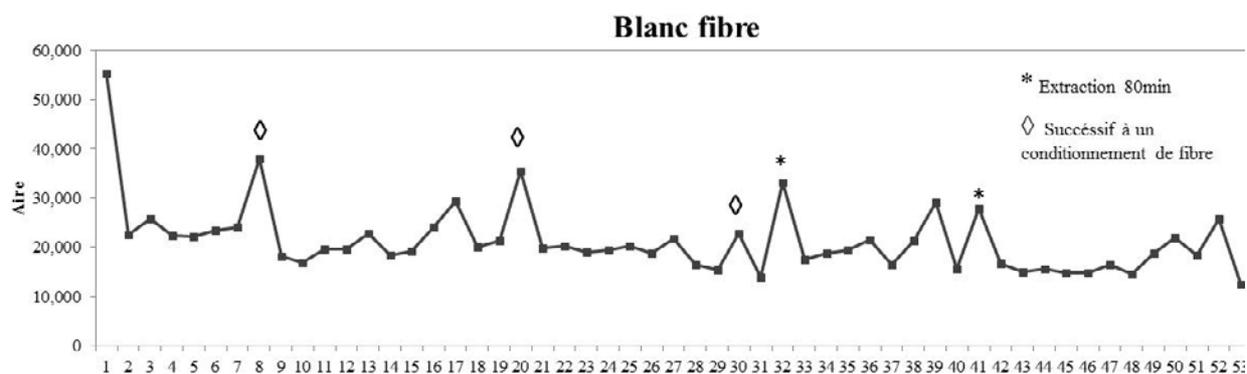


Figure 62 : Optimisation des paramètres d'extraction en SPME pour le 4-NP et 4-t-OP. a) Température d'extraction, b) Temps d'extraction, c) Agitation

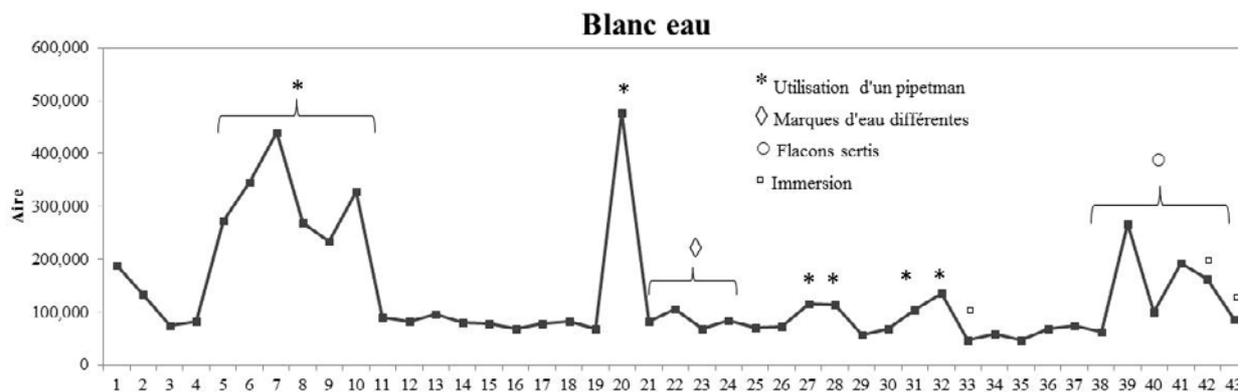
Plusieurs paramètres ont été testés afin de diminuer au maximum le signal du 4-NP dans les blancs eau. Lors des développements, ces blancs ont été préparés avec 10 mL d'eau Vittel® dans des flacons de 20 mL en verre à vis. L'emploi d'un pipetman, lors du transfert de l'eau vers les flacons, ainsi que de flacon SPME à sertir engendre une augmentation du signal du 4-NP d'un facteur 2 à 4 (Figure 63b). La provenance des eaux (Vittel®, MilliQ, Volvic®, etc.) ou encore une immersion de la fibre dans l'eau ne semble pas avoir d'effet notable sur une quelconque augmentation ou diminution du signal du 4-NP (Figure 63b).

1.4 Taux de quantification

Les coefficients de réponse pour chaque composé sont calculés à partir d'un premier dopage (eau Vittel® supplémentée en 4-NP et 4-t-OP et leur étalon interne). Ils sont compris entre 1,3 et 6,4 pour le 4-NP et 0,6 et 1,1 pour le 4-t-OP. L'injection d'un second dopage permet de déterminer le taux de quantification pour les deux composés. Ils sont en moyenne de 97 et 101% pour le 4-NP et le 4-t-OP et la déviation standard relative ne dépasse pas 20% (Figure 64).



a)



b)

Figure 63 : Suivi des blancs en 4-NP lors d'analyses en SPME-GC-MS. a) Blancs fibre, b) Blancs eau

I.5 Limites de détection et de quantification

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) du 4-t-OP sont plus faibles que celles du 4-NP car il n'est pas présent dans le blanc fibre. La LOD du 4-t-OP est de 0,5 ng.L⁻¹ et la LOQ est estimée à 2 ng.L⁻¹. La LOD du 4-NP est de 1 ng.L⁻¹, et la LOQ est de 10 ng.L⁻¹ en prenant un facteur de discrimination de 10 entre le signal détecté dans l'échantillon et celui du blanc fibre.

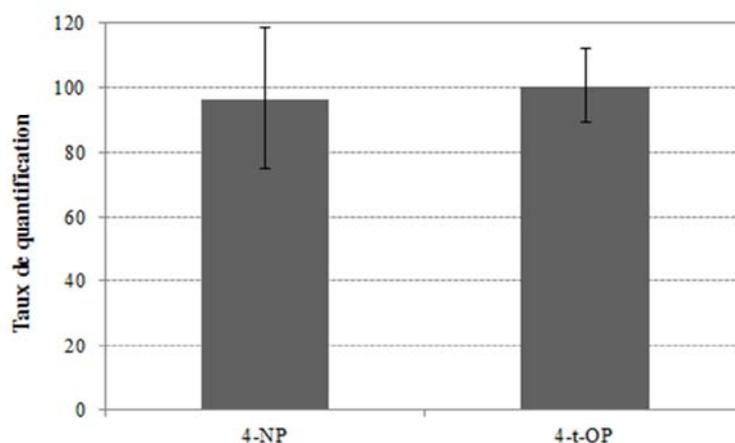


Figure 64 : Taux de quantification du 4-NP et 4-t-OP en SPME-GC-MS (n=17)

I.6 Comparaison entre SPE et SPME

Pour valider cette technique d'extraction, la SPME a été comparée à la SPE usuelle (Figure 65). De l'eau Vittel® supplémentée en composés a été extraite en SPE et SPME (n=6). La concentration nominale est comprise entre 1,5 et 2 µg.L⁻¹ pour chaque composé.

Les rendements d'extraction moyens sont identiques pour le 4-NP entre la SPE et la SPME ; celui du 4-t-OP par SPME est légèrement plus faible. Les écarts types de ces rendements d'extraction sont cependant plus faibles par SPME que par SPE, notamment pour le 4-t-OP.

L'utilisation de la SPME permet entre autre une faible utilisation d'échantillon (10 mL), aucun emploi de solvant et de filtration.

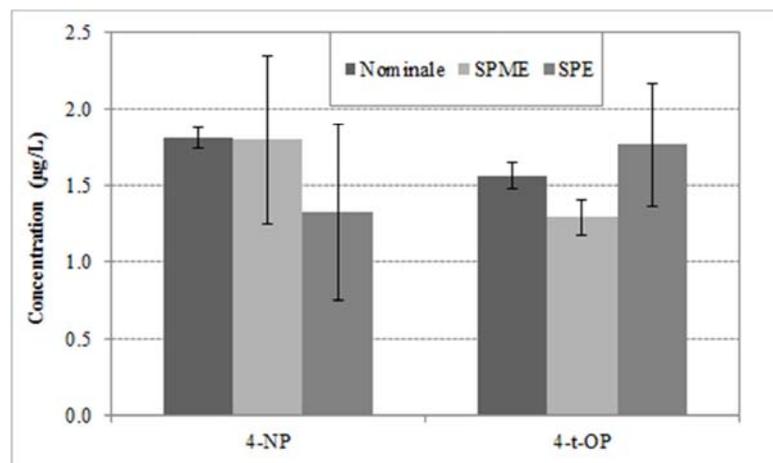


Figure 65 : Comparaison des techniques d'extraction (SPME et SPE) pour les 4-NP et 4-t-OP

II. Développement de l'échantillonnage passif pour les alkylphénols, leurs dérivés, le bisphénol A et les composés pharmaceutiques

Suite à l'adoption de la DCE (2000/60/CE), la surveillance des milieux et des rejets s'est accrue dans le but d'atteindre le bon état écologique et chimique des milieux aquatiques d'ici 2015 vis-à-vis des substances classées « prioritaires dangereuses », à éliminer progressivement des systèmes aquatiques et des substances classées « prioritaires » à réduire progressivement dans ces milieux.

Les techniques conventionnelles de prélèvement sont lourdes à mettre en œuvre et ne permettent pas d'avoir une vision spatio-temporelle correcte de la contamination. Elles permettent de voir l'état de contamination d'un milieu à un instant donné. De ce fait, des échantillonneurs passifs sont utilisés depuis quelques années et certains sont bien connus comme les « Semi-Permeable Membrane Devices » (SPMD) et les « Diffuse Gradient in Thin film » (DGT). D'autres nécessitent encore des développements en laboratoire comme les « Polar Organic Chemical Integrative Samplers » (POCISTM) ou encore les membranes polymériques. Ces échantillonneurs permettent de concentrer les composés présents dans la phase dissoute sur la durée d'exposition et échantillonnent une gamme de composé donnée.

Les POCISTM sont particulièrement adaptés à l'échantillonnage de composés organiques ayant un log K_{ow} inférieur à 3 (Alvarez et al. 2004) comme par exemple les pesticides ou encore les composés pharmaceutiques. Au-delà de ces composés, d'autres légèrement plus hydrophobes (log K_{ow} < 6), tels que les alkylphénols ou le bisphénol A, ont été échantillonnés par ces outils (Arditsoglou et Voutsas 2008; Harman et al. 2008a; Harman et al. 2008b; Li et al. 2010a). De ce fait, les POCISTM ont été employés pour l'échantillonnage des alkylphénols et leurs dérivés, le bisphénol A et les composés pharmaceutiques.

Dans un premier temps, l'accumulation de ces composés dans les POCISTM a été étudiée en laboratoire et a permis de déterminer les paramètres cinétiques propres à chaque

analyte. Ces outils ont ensuite été optimisés afin d'améliorer l'accumulation des composés les plus hydrophobes. Ces échantillonneurs ont été par la suite validés en mésocosmes et sur le terrain. Les résultats obtenus lors de ces développements sont synthétisés dans ce paragraphe. Une grande partie de ces travaux s'est portée sur le développement des POCISTM et POCISTM-like (POCISTM adaptés) vis-à-vis des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA.

II.1 Détermination des cinétiques d'accumulation dans les POCISTM standards en laboratoire

II.1.1 Contamination par dopage journalier

Une étude cinétique a été conduite en laboratoire dans un aquarium contaminé par dopage journalier prédictif. Le but de cette expérimentation était de déterminer les cinétiques d'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés, du bisphénol A et des composés pharmaceutiques dans les POCISTM standards.

La contamination du système d'exposition en composés cibles s'est effectuée en statique, aucun changement d'eau n'a eu lieu ; seul un dopage prédictif journalier a été effectué et estimé en fonction des pertes potentielles des composés. Les POCISTM étaient disposés sur deux carrousels permettant de simuler deux vitesses (0,21 et 0,46 m.s⁻¹). Le système d'exposition est schématisé dans la partie matériel et méthodes (Figure 37).

Les concentrations des composés cibles dans l'eau d'exposition sont fluctuantes, notamment sur les derniers jours d'exposition (Figure 66). Les déviations relatives standards de 14 composés (diazépam, alprazolam, bromazépam, nordazépam, fluoxétine, amitriptyline, imipramine, doxépine, paracétamol, caféine, théophylline, ibuprofène, BPA et NP1EC) sont inférieures à 30%. Le 4-NP est un des composés ayant une variation de concentration conséquente (60%).

Les constantes cinétiques obtenues pour les deux vitesses étudiées sont sensiblement les mêmes. Elles ne diffèrent pas à plus de 20% sauf pour la terbutaline, le salbutamol, le paracétamol, la théophylline, l'aspirine, le diclofénac, le NP1EO et le NP2EO. Ces composés ne présentent pas d'accumulation linéaire dans les POCISTM. Seuls les résultats obtenus pour 0,46 m.s⁻¹ sont discutés par la suite.

Les paramètres cinétiques régissant l'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés éthoxylés, du bisphénol A et des composés pharmaceutiques dans les POCISTM standards ont pu être déterminés lors de cette calibration en laboratoire et sont donnés dans la publication 4, Tableau 3.

Dix-sept composés sur 27 ont une accumulation linéaire dans les POCISTM standards sur 14 jours d'exposition. Leur constante de vitesse d'absorption (k_u) a pu être déterminée par régression linéaire. En effet, ce paramètre est le coefficient de la droite lorsque le facteur de concentration (Cf) est tracé en fonction du temps. Le facteur de concentration est le rapport entre la concentration dans la phase OASIS HLB® et celle dans l'eau. Le taux d'échantillonnage a ensuite été calculé pour ces 17 composés en considérant la masse de phase égale à 0,2 g.

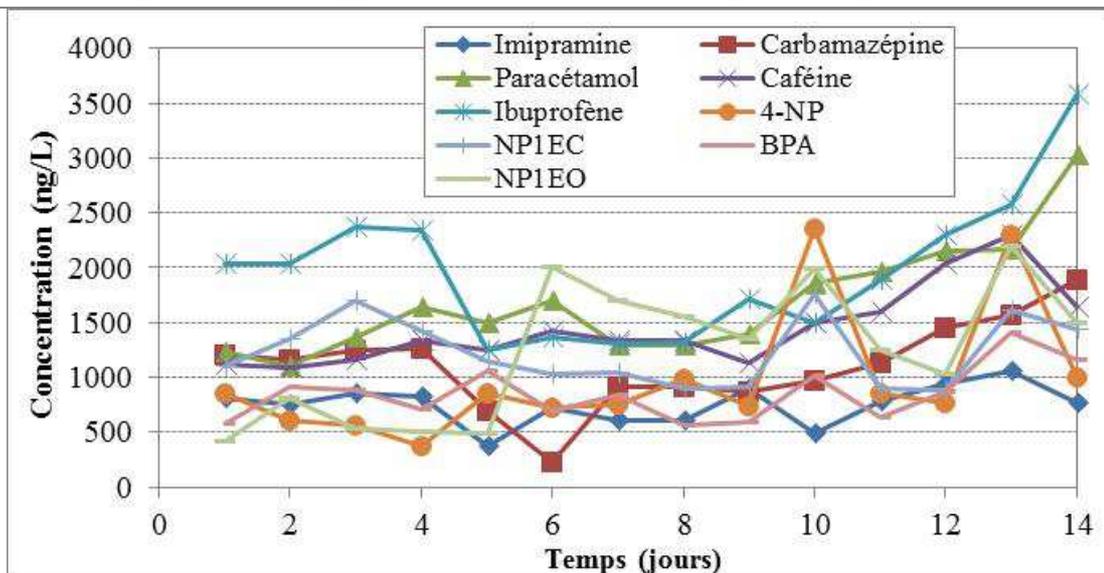


Figure 66 : Variation des concentrations en alkylphénols et leurs dérivés, en BPA et en composés pharmaceutiques lors de l'exposition en dopage journalier

Le salbutamol, le paracétamol, la terbutaline, la caféine, la théophylline et l'aspirine ont une accumulation curvilinéaire. L'équilibre ou le pseudo-équilibre est atteint au bout de 14 jours d'exposition. Les cinétiques d'accumulation du salbutamol et du paracétamol n'ont pas pu être modélisées car un pseudo-équilibre est atteint dès 5 jours d'exposition. Ces 6 composés ont une caractéristique commune qui est leur caractère hydrophile avec un $\log K_{OW}$ compris entre -0,39 et 1,13. Ces composés montrent une faible affinité pour la phase adsorbante. De plus, l'aspirine, la caféine et le paracétamol sont connus pour être facilement dégradés (Joss et al. 2005). Ils peuvent être accumulés et ceux déjà absorbés sont dégradés simultanément, ce qui entrainerait un équilibre dans la phase.

Le coefficient de partage phase / eau (K_{SW}) ainsi que la constante de vitesse de désorption (k_e) ont pu être déterminés par régression non linéaire de la courbe $C_f=f(t)$. De plus, les constantes de vitesse ont pu être déterminées car à l'équilibre la relation suivante peut être considérée : $K_{SW}=k_u/k_e$. Ils sont donnés dans la publication 4, Tableau 3. En considérant seulement la période d'accumulation linéaire, les taux d'échantillonnage ont pu être extrapolés et les constantes de vitesse d'absorption propres à cette période déterminés (Tableau 31).

Tableau 31 : Paramètres cinétiques extrapolés des composés ayant une accumulation curvilinéaire dans les POCISTM lors de l'exposition en dopage journalier

Composés	Equation du modèle	R ²	k_u (L.g ⁻¹ .j ⁻¹)	R_s (L.j ⁻¹)
Terbutaline	$C_f=0,77t$	0,83	0,77	0,15
Caféine	$C_f=1,16t$	0,88	1,16	0,23
Théophylline	$C_f=0,11t$	0,47	0,11	0,02
Aspirine	$C_f=0,006t$	0,36	0,006	0,001

Les autres composés sont quant à eux accumulés avec un temps de latence (BPA, 4-NP, NP1EO et NP2EO). Les paramètres cinétiques d'accumulation ne peuvent être réellement déterminés avec ce type d'accumulation. Cependant par extrapolation des données, la constante de vitesse d'absorption peut être déterminée en raisonnant seulement sur la partie

d'accumulation linéaire qui succède le temps de latence. Les taux d'échantillonnage « extrapolés » de ces composés peuvent donc être calculés (Tableau 32).

Tableau 32 : Paramètres cinétiques extrapolés des composés ayant une accumulation linéaire successive à un temps de latence dans les POCISTM lors de l'exposition en dopage journalier

Composés	Equation du modèle	R ²	k _u (L.g ⁻¹ .j ⁻¹)	Rs (L.j ⁻¹)
BPA	Cf=-0,09+0,09t	0,83	0,09	0,019
4-NP	Cf=-0,006+0,14t	0,60	0,14	0,027
NP1EO	Cf=-0,21+0,07t	0,43	0,07	0,014
NP2EO	Cf=-0,58+0,08t	0,47	0,08	0,017

Au bout de trois jours d'exposition, les alkylphénols, leurs dérivés et le BPA sont associés à la membrane en PES à plus de 80% sauf pour le NP1EC (33%). Cette tendance va en diminuant au cours du temps (publication 4, Figure 6). Au bout de 14 jours d'exposition, les membranes contiennent 7% de NP1EC, 73% de 4-NP, 30% de 4-t-OP, 85% de BPA et de NP1EO et 90% de NP2EO. Cette observation laisse apparaître que la sorption de ces composés, notamment celle du 4-NP, BPA, NP1EO et NP2EO, se fait en deux étapes : une sorption sur les membranes en PES puis dans la phase réceptrice. Ce temps de latence observé correspond au temps nécessaire pour que les composés soient accumulés linéairement dans la phase réceptrice. L'hydrophilie de la membrane en PES peut jouer un rôle sur le transfert de masse des composés hydrophobes du milieu vers la phase réceptrice. Ces composés ont une absorption biphasique dans la membrane: ils doivent diffuser à travers les pores de la membrane vers la phase réceptrice et de l'eau dans la membrane avant d'être adsorbés sur la phase (Alvarez et al. 2007; Harman et al. 2008a).

II.1.2 Contamination par flux continu

Une seconde étude cinétique a été conduite en laboratoire dans un aquarium contaminé par flux continu. Le but de cette expérimentation était de déterminer les cinétiques d'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du bisphénol A dans les POCISTM standards.

Un système de contamination par flux continu adapté par rapport à celui développé par Vrana et al. (2006a) a été utilisé pour la calibration en laboratoire (Figure 39). Les POCISTM standards sont statiques et l'agitation du système est réalisée par des pâles rotatives.

Ce principe permet d'obtenir des concentrations stables en composés comparé à la contamination par dopage journalier (Figure 67). La concentration ciblée était de 10 µg.L⁻¹. Le NP1EC a une concentration moyenne de 13 ± 2 µg.L⁻¹, les autres composés ont des concentrations inférieures à celle fixée. Elles sont comprises entre 2 et 6 µg.L⁻¹.

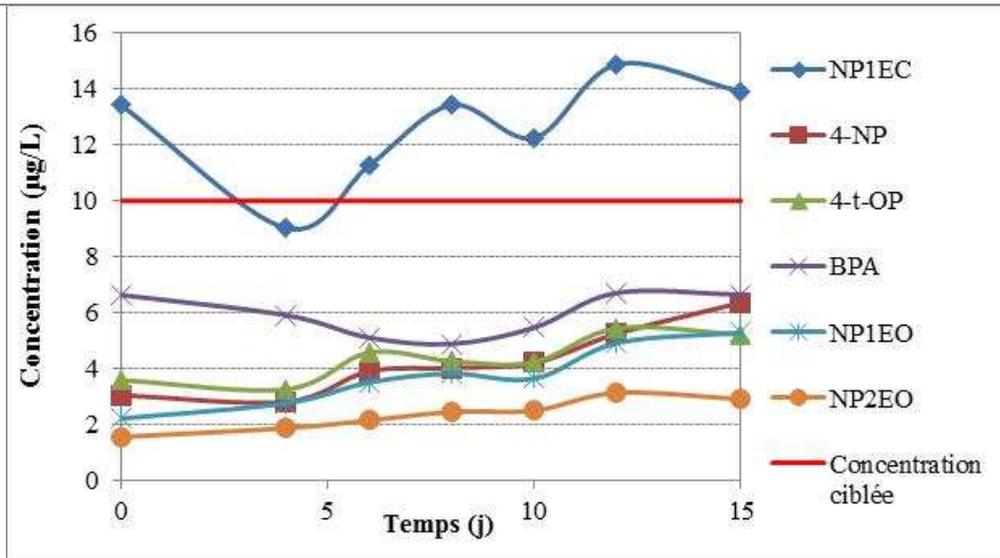


Figure 67 : Suivi de la concentration en alkylphénols et leurs dérivés dans le système d'exposition contaminé par flux continu au cours des 15 jours d'exposition

Deux types d'accumulation sont observés au cours des 15 jours d'exposition : une linéaire et une avec un temps de latence (Tableau 33). Le NP1EC, le BPA et le 4-t-OP sont accumulés linéairement dans les POCISTM standards. Leur constante d'absorption (k_u) a pu être déterminée par régression linéaire et le taux d'échantillonnage calculé. Ces paramètres cinétiques sont donnés dans le Tableau 33. Le R_s du NP1EC est $0,24 \text{ L.j}^{-1}$, celui du BPA est $0,35 \text{ L.j}^{-1}$ et celui du 4-t-OP est $0,27 \text{ L.j}^{-1}$. Le 4-NP, le NP1EO et le NP2EO sont accumulés linéairement après un temps de latence de quelques jours (Tableau 33). En tenant uniquement compte des données modélisant la partie linéaire, leur constante d'absorption et taux d'échantillonnage ont pu être extrapolés et sont donnés entre parenthèse dans le Tableau 33.

Tableau 33 : Cinétique d'accumulation dans les POCISTM standards et paramètres cinétiques des alkylphénols, leurs dérivés et du BPA lors de la calibration par contamination à flux continu. Les données entre parenthèse sont extrapolées en considérant seulement la partie linéaire.

	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Régime	linéaire			temps de latence		
Modélisation						
Equation du modèle	$C_f=1.20t$	$C_f=1.75t$	$C_f=1.33t$	$C_f=0.33 \exp^{0.20t}$	$C_f=0.78 \exp^{0.18t}$	$C_f=0.39 \exp^{0.22t}$
R^2	0,92	0,97	0,89	0,94	0,96	0,98
$k_u \text{ (L.j}^{-1}.\text{g}^{-1}\text{)}$	1,20	1,75	1,33	(0,79)	(1,23)	(1,27)
$R_s \text{ (L.j}^{-1}\text{)}$	0,24	0,35	0,27	(0,16)	(0,25)	(0,25)
$\tau_0 \text{ (jours)}$				6,22	5,62	6,47

Les 4-NP, NP1EO et NP2EO sont associés à la membrane en PES à plus de 60% en 5 jours et à 50% au bout de 15 jours (Publication 5, Figure 2a). Les NP1EC, BPA et 4-t-OP sont quant-eux peu associés à la membrane (< 20% après 5 jours). Leur accumulation dans la phase réceptrice devient linéaire lorsque celle dans la membrane atteint l'équilibre (Publication 5, Figure 2b). Le temps de latence est relié au transfert de masse et est défini comme le temps nécessaire pour que les composés traversent la membrane (Vrana et al. 2001).

II.1.3 Comparaison des cinétiques d'accumulation dans les POCISTM standards

Lors de la première calibration (contamination par dopage journalier), les POCISTM étaient positionnés sur un carrousel permettant l'agitation du système. Ils étaient donc en mouvement rotatif et l'eau s'écoulait parallèlement à la surface des POCISTM, la vitesse d'agitation est considérée comme nulle à leur surface. Ce paramètre a une influence sur l'accumulation des composés (Mac Leod et al. 2007; Li et al. 2010b). En effet, l'épaisseur de la couche limite présente à la surface des échantillonneurs diminue lorsque la vitesse augmente. Dans ce cas, la diffusion des composés à travers la couche limite est facilitée. Lors de la seconde calibration (contamination en flux continu), des pâles rotatives ont permis d'agiter le milieu et les POCISTM étaient immobiles. Ces deux calibrations ont donc permis de mettre en évidence l'effet de l'agitation sur l'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du bisphénol A.

L'accumulation des NP1EC et 4-t-OP est linéaire au cours des deux calibrations. Le taux d'échantillonnage du NP1EC ne varie pas avec l'augmentation de la vitesse d'agitation. En effet, il est de 0,30 L.j⁻¹ lors de la calibration par dopage journalier et de 0,24 L.j⁻¹ par flux continu (Tableau 34). Ce composé est un acide qui se trouve ionisé en milieu naturel (pH compris entre 6 et 8). Dans ces conditions le NP1EC est hydrophile et l'épaisseur de la couche limite a peu d'importance sur sa diffusion. Le taux d'échantillonnage du 4-t-OP augmente lorsque la vitesse d'agitation augmente (Tableau 34), ce qui montre l'influence de la couche limite sur la diffusion de ce composé. Ils sont 0,096 et 0,27 L.j⁻¹ sans et avec agitation respectivement. Ces valeurs ne sont pas en accord avec celles trouvées dans la littérature (Tableau 34). En effet Arditoglou and Voutsas (2008) et Harman et al. (2008a) ont déterminé un Rs de 0,12 et 0,06 L.j⁻¹ respectivement. Seulement les conditions dans lesquelles sont faites les calibrations sont différentes (température, nature de l'eau, surface d'échantillonnage des POCISTM).

Le temps de latence observé dans l'accumulation du BPA dans les POCISTM standards disparaît où est diminué lorsque la vitesse d'agitation augmente. Les taux d'échantillonnage associés diffèrent d'un facteur 18, le plus élevé correspond à une calibration avec agitation (Tableau 34). Ils sont de 0,019 et 0,35 L.j⁻¹. Plusieurs taux d'échantillonnage du BPA sont disponibles dans la littérature : 0,12 L.j⁻¹ (Arditoglou et Voutsas 2008), 0,74, 0,84 et 0,48 L.j⁻¹ dans des conditions de température et d'agitation différentes (Li et al. 2010b) et 0,63 L.j⁻¹ (Li et al. 2011). Ces valeurs sont variables en fonction des conditions de calibration comme la température, le pH, l'agitation, la nature de l'eau.

L'augmentation de la vitesse d'agitation permet de diminuer de la même manière le temps de latence observé pour les 4-NP, NP1EO et NP2EO et leur taux d'échantillonnage extrapolé est plus élevé. Ils sont de 0,027, 0,014 et 0,017 L.j⁻¹ respectivement sans agitation et de 0,16, 0,25 et 0,25 L.j⁻¹ respectivement avec agitation. Le taux d'échantillonnage du 4-NP

déterminé par Arditoglou et Voutsas (2008) est du même ordre de grandeur que celui obtenu avec agitation dans cette étude (Tableau 34). Cependant ceux déterminés par Li et al. (2010b) sont plus élevés. Aucune étude n'a observé de temps de latence dans l'accumulation de 4-NP, NP1EO et NP2EO.

Tableau 34 : Comparaison des taux d'échantillonnage ($L \cdot j^{-1}$) des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA des deux calibrations avec la littérature

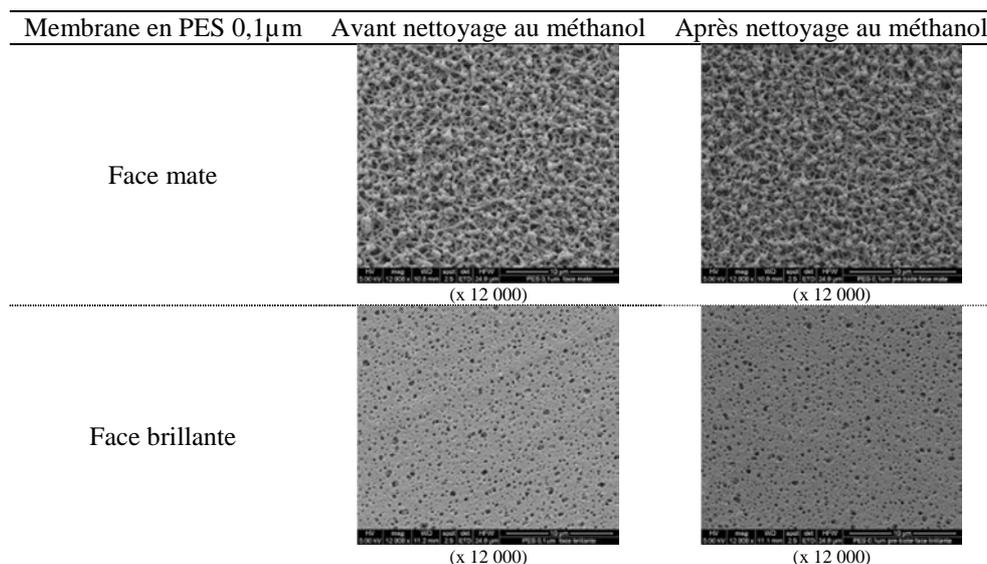
Composés	Conditions	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Dopage journalier	POCIS TM de 45,8cm ² et 200mg de phase 20±2°C Obscurité Eau du robinet Sans agitation	0,30	(0,019)	0,096	(0,027)	(0,014)	(0,017)
Flux continu	POCIS TM de 45,8cm ² et 200mg de phase 20±2°C Obscurité Eau du robinet Avec agitation	0,24	0,35	0,27	(0,16)	(0,25)	(0,25)
Arditoglou et al. (2008)	POCIS TM de 45,8cm ² et 200mg de phase 23,5±0,5°C Eau ultrapure Avec agitation	-	0,12	0,12	0,12	0,09	0,12
Harman et al. (2008a)	POCIS TM de 18cm ² et 100mg de phase 10±1°C Eau de mer filtrée Avec agitation			0,06			
Li et al. (2010a)	POCIS TM de 45,8cm ² et 200mg de phase Eau distillée	15°C Avec agitation	0,74		1,65		
		25°C Avec agitation	0,84		2,46		
		25°C Sans agitation	0,48		0,92		
Li et al. (2011)	POCIS TM de 41cm ² et 200mg de phase 25°C Obscurité Sans agitation		0,63				

Il existe une disparité dans les valeurs de taux d'échantillonnage déterminés dans différentes études. Ces différences sont dues aux conditions d'exposition employées lors des calibrations des outils en laboratoire ou *in situ*. En effet, différents paramètres jouent un rôle sur le transfert de masse des composés du milieu vers la phase réceptrice des échantillonneurs. La température (Togola et Budzinski 2007; Li et al. 2010a), la salinité (Togola et Budzinski 2007), la vitesse d'agitation (Mac Leod et al. 2007; Li et al. 2010b), le pH et la présence de matière organique (Li et al. 2011) ou encore le biofouling (Harman et al. 2009a). Tous les composés étudiés ne sont pas affectés de la même manière par ces paramètres, leurs propriétés physico-chimiques peuvent parfois expliquer ces différences.

Une attention particulière a été apportée aux membranes en PES de 0,1µm de porosité. Celles-ci présentent deux faces visuellement différentes en termes de structure : une face mate

et une brillante. L'utilisation d'un microscope électronique à balayage (MEB) a permis de confirmer ces observations. Les membranes ont été observées avant et après leur nettoyage au méthanol (Tableau 35). Les deux types de faces ne sont pas affectés par le lavage au méthanol. Les faces mates ont une structure granuleuse ne permettant pas de mesurer une porosité au MEB. Les faces brillantes sont lisses, la porosité mesurée au MEB est de $345,9 \pm 195,8$ nm sur la membrane avant nettoyage et $300,6 \pm 142,5$ nm après nettoyage. L'orientation des faces de ces membranes ainsi que la variabilité de porosité peut avoir une importance sur l'accumulation des composés en diminuant ou augmentant leur transfert de masse. L'influence de ces paramètres pourrait s'ajouter à celle de la température, et autres, sur l'accumulation des composés dans les POCISTM standards.

Tableau 35 : Observations des membranes en PES de 0,1µm de porosité au microscope électronique à balayage (QUANTA 2000, FEI Hillsboro, Oregon, USA)



Excepté pour les études menées par Mazzella et al. (2007) et Togola et Budzinski (2007), le méthanol est utilisé en tant que solvant pour récupérer la phase réceptrice présente sur les membranes. De par son fort pouvoir éluant et extractant, les composés contenus dans la phase et les membranes peuvent être désorbés. Pour confirmer cette hypothèse, une expérimentation a été réalisée en laboratoire. Un triplicat de POCISTM standards a été prélevé au bout de 5, 10 et 15 jours d'exposition. La phase de deux POCISTM sur trois a été récupérée avec du méthanol et celle du troisième avec de l'eau. Les paramètres cinétiques d'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du bisphénol A sont plus faibles lorsque le méthanol est utilisé pour la récupération de la phase OASIS HLB® (Tableau 36). Le taux d'échantillonnage du NP1EC est 34 fois plus faible lorsque la phase est récupérée avec du méthanol. Ce composé est présent sous sa forme ionique et est donc entraîné par le méthanol, ceci diminuant la quantité de ce composé restante dans la phase.

Tableau 36 : Comparaison des paramètres cinétiques d'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et le bisphénol A lorsque l'eau ou le méthanol est utilisé pour la récupération de la phase OASIS HLB®

Composés	Solvant utilisé	Régime	Equation du modèle	R ²	k _u (L.j ⁻¹ .g ⁻¹)	R _s (L.j ⁻¹)
NP1EC	méthanol	linéaire	Cf=0,04t	0,98	0,04	0,007
	eau	linéaire	Cf=1,20t	0,92	1,20	0,24
BPA	méthanol	linéaire	Cf=0,23t	0,73	0,23	0,05
	eau	linéaire	Cf=1,75t	0,97	1,75	0,35
4-t-OP	méthanol	linéaire	Cf=0,24t	0,75	0,24	0,05
	eau	linéaire	Cf=1,33t	0,89	1,33	0,27
4-NP	méthanol	temps de latence	Cf=0,11exp ^{0,20t}	0,90	(0,29)	(0,06)
	eau	temps de latence	Cf=0,33exp ^{0,20t}	0,94	(0,79)	(0,16)
NP1EO	méthanol	temps de latence	Cf=0,06exp ^{0,23t}	0,93	(0,26)	(0,05)
	eau	temps de latence	Cf=0,78exp ^{0,18t}	0,96	(1,23)	(0,25)
NP2EO	méthanol	temps de latence	Cf=0,06exp ^{0,23t}	0,94	(0,27)	(0,05)
	eau	temps de latence	Cf=0,39exp ^{0,22t}	0,98	(1,27)	(0,25)

II.1.4 Influence des cages de protection

Lors du déploiement sur le terrain, les POCISTM peuvent être disposés sur leur support (holders) tels quels ou dans des cages protectrices. Il existe 2 types de cages protectrices (Figure 68) : les petites contenant 3 POCISTM (1 holder) et les grandes contenant 6 POCISTM (2 holders). Contrairement à ce qu'il se passe sur le terrain, les POCISTM ne sont pas exposés dans leur cage de protection au cours des calibrations en laboratoire. Il est apparu judicieux de tester l'influence que peuvent avoir les cages sur les Rs car théoriquement celles-ci devraient amortir l'effet des débits sur l'échantillonneur ; de ce fait leur utilisation devrait réduire le transport des composés vers la membrane et donc diminuer les taux d'échantillonnage (Vrana et al. 2006a).



Photos de Environmental Sampling Technologies

Figure 68 : Cages en acier inoxydable utilisées pour l'exposition en milieu aquatique des POCISTM (Photos disponible sur le site internet d'Environmental Sampling Technologies)

Les différences observées entre les taux d'échantillonnage ne sont pas significatives car se trouvent dans les incertitudes analytiques (Figure 69). La présence de cage protectrice n'influence significativement pas l'accumulation des composés pharmaceutiques dans les POCISTM.

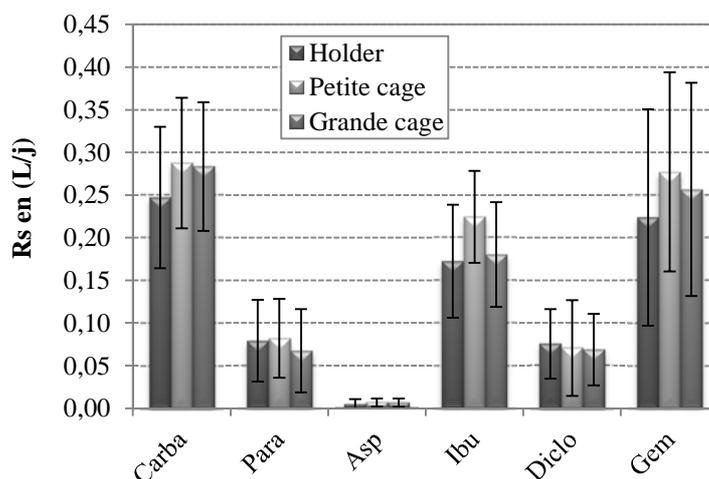


Figure 69.: Influence de la présence de cages protectrices sur les taux d'échantillonnage des composés pharmaceutiques (n=3)

II.2 Validation des POCISTM standards en milieu naturel

Afin de valider l'utilisation de ces outils, des POCISTM standards ont été exposés dans le milieu naturel et dans une STEP pour évaluer leur capacité à échantillonner les composés ciblés et à permettre le calcul des concentrations moyennes sur la durée d'exposition. Les alkylphénols, leurs dérivés, le bisphénol A et les composés pharmaceutiques ont été échantillonnés par prélèvements ponctuels et passifs sur 14 jours dans le milieu naturel et 7 jours dans la station d'épuration. Le site d'Eysines, et plus particulièrement, la STEP de Cantinolle et la Jalles ont été choisis de par sa proximité avec le laboratoire et sa faible complexité. Les procédés secondaires par boues activées sont utilisés comme traitement des eaux brutes dans cette station d'épuration qui a 100 000 équivalents habitants de capacité.

Les concentrations moyennes dans l'eau obtenues par échantillonnage passif sont en adéquation avec celles déterminées par prélèvements ponctuels en amont et aval de la station d'épuration de Cantinolle (Publication 4, Figure 8). Il y a cependant une grande variabilité des concentrations dans l'eau, obtenues avec l'échantillonnage ponctuel, qui reste moins importante au bout de 14 jours. Cette variabilité peut être expliquée par les précipitations ayant eu lieu au cours de l'exposition et qui ont entraîné une dilution des composés et donc une diminution des concentrations dans l'eau à ces périodes. L'emploi des POCISTM permet d'intégrer les variations de concentrations des composés dans l'eau.

Les paramètres environnementaux du milieu sont proches de ceux imposés en laboratoire car les taux d'échantillonnage obtenus permettent une bonne estimation des concentrations du milieu. Un autre point positif peut être attribué à l'échantillonnage passif, il permet de mettre en évidence la présence de gemfibrozil en aval de la station d'épuration au bout de 7 jours (Publication 4, Figure 8b). Les prélèvements ponctuels ne permettent pas de le détecter. Ces outils ont donc la capacité de concentrer les composés et de détecter des composés présents à des concentrations inférieures aux limites de détection analytique associées aux prélèvements ponctuels (Alvarez et al. 2005).

Les concentrations moyennes obtenues par prélèvement ponctuel du naproxène, du diclofénac et du kétoprofène sont plus élevées que celles obtenues par échantillonnage passif tant en amont qu'en aval de la STEP. La sous-estimation des concentrations dans le milieu naturel a été observée dans plusieurs études (Alvarez et al. 2004; MacLeod et al. 2007; Zhang et al. 2008). Ce phénomène indique que le taux d'échantillonnage *in situ* est plus faible que celui déterminé en laboratoire lors de calibrations. Le transfert de masse de ces trois composés

du milieu vers la phase réceptrice des POCISTM semblent être plus affecté par les paramètres environnementaux. Les taux d'échantillonnage utilisés pour calculer la concentration moyenne des composés dans l'eau sont issus d'une calibration en laboratoire au cours de laquelle la température, l'agitation, la présence de matières organiques ou encore de biofouling sont différents de ceux du milieu. La présence de biofouling sur la surface des membranes pourraient expliquer cette sous-estimation des concentrations. En effet ce paramètre peut ralentir la diffusion du composé à travers les membranes et donc augmenter la résistance au transfert de masse (Mills et al. 2007). Cependant les résultats d'une étude menée par Harman et son équipe (2009a) concernant l'impact du biofouling sur l'accumulation des composés sont contraires à l'hypothèse du transfert de masse.

Les concentrations déterminées par échantillonnage passif et ponctuel dans l'effluent de la station d'épuration sont du même ordre de grandeur pour la carbamazépine et ne le sont pas pour le 4-t-OP et le NP1EC (Publication 4, Figure 9). Pour ces trois composés, la variabilité des concentrations est plus faible lorsqu'elles sont déterminées par échantillonnage passif. Leur concentration est sous-estimée par l'échantillonnage passif ce qui peut être attribué aux taux d'échantillonnage déterminés en laboratoire dans des conditions différentes de celles du milieu. La présence de biofouling ou de matières organiques pourraient en partie expliquer ces résultats (Mills et al. 2007). Comme dans la Jalles, les POCISTM détectent le naproxène, le diclofénac et le kétoprofène alors qu'une suppression de signal est observée lors de l'analyse des échantillons ponctuels (Publication 4, Figure 9). Ces outils permettent en effet de s'affranchir des effets matriciels observés lors de l'analyse des prélèvements ponctuels. Les POCISTM jouent le rôle de filtre avec le diamètre des pores des membranes en PES de 0,1 µm. La phase dissoute est filtrée avant extraction sur des filtres de 0,7 µm de porosité. De ce fait, moins de matière en suspension ou de colloïdes franchissent les membranes en PES par rapport à la filtration de la phase dissoute.

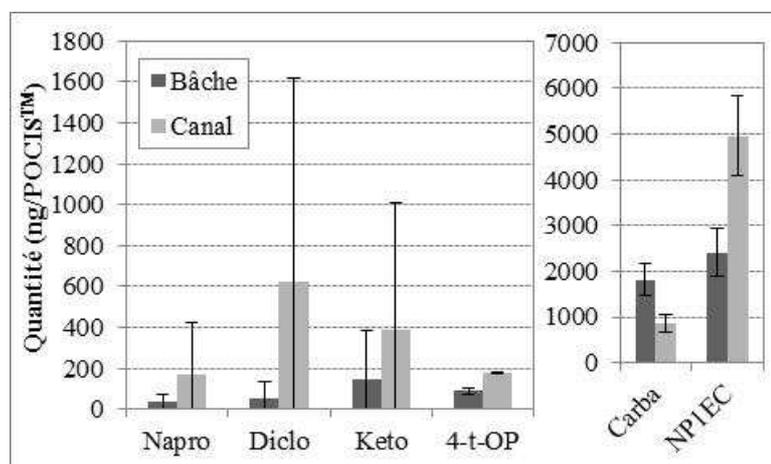


Figure 70 : Accumulation des composés ciblés dans les POCISTM standards dans l'effluent de la station d'épuration de Cantinolle. Effet du débit sur l'accumulation des composés

L'effet du débit sur l'accumulation des composés dans les POCISTM a pu être testé *in situ*. Les POCISTM ont été exposés pendant 7 jours dans l'effluent de la STEP : un triplicat a été exposé dans le canal ayant un débit assez fort et un autre dans une bâche avec un débit très faible voire nul. La Figure 70 met en évidence que la quantité de composé accumulée dans les POCISTM est plus importante lorsque le débit est plus fort. Il a été montré dans différentes études que le débit ou la vitesse d'agitation avait une influence sur l'accumulation des composés dans les POCISTM (Mac Leod et al. 2007; Li et al. 2010b). L'augmentation du débit

permet une diminution de la couche limite présente à la surface des membranes ainsi que de la résistance au transfert de masse (Mills et al. 2007).

II.3 Détermination des cinétiques d'accumulation dans les POCISTM-like en laboratoire par contamination en flux continu

II.3.1 Caractéristiques des membranes étudiées

Lors des calibrations en laboratoire des POCISTM standards, il a été montré que les composés les plus hydrophobes, tels que les 4-NP, NP1EO et NP2EO sont accumulés avec un temps de latence. Le frein mis en évidence à un comportement linéaire est la présence des membranes en PES sur lesquelles sont absorbés ces composés avant de pouvoir diffuser vers la phase et d'y être adsorbés. Dans le but de développer un outil capable d'échantillonner linéairement les composés les plus hydrophobes tels que les 4-NP, NP1EO et NP2EO les POCISTM standards ont été adaptés en changeant les membranes. Ces nouveaux outils sont appelés POCISTM-like. Différentes natures de membranes ont été testées et leurs caractéristiques sont décrites dans la publication 5 (Tableau 2).

II.3.2 Membranes PES 0,45µm

L'augmentation de porosité doit permettre de diminuer la résistance au transfert de masse en diminuant les contacts entre le polymère lui-même et les composés. C'est pourquoi l'utilisation des membranes en PES de porosité plus grande a été choisie dans le but d'accumuler linéairement les composés les plus hydrophobes (4-NP, NP1EO et NP2EO).

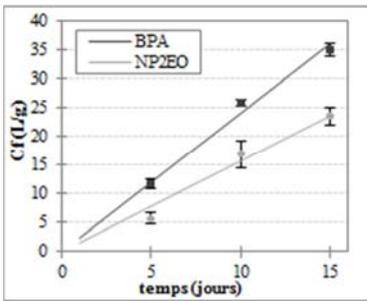
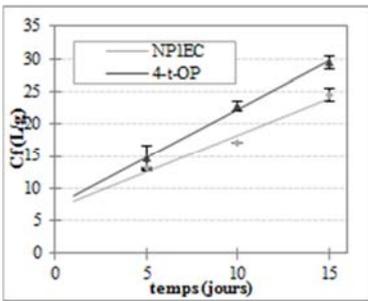
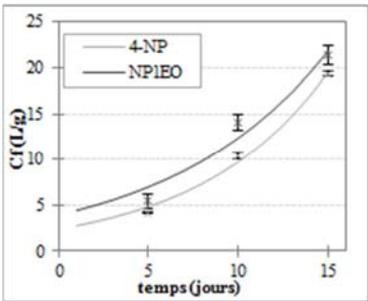
Le facteur d'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA est meilleur dans les POCISTM avec des membranes en PES de 0,45 µm par rapport à des celles de 0,1 µm. Les cinétiques d'accumulation de ces composés et les paramètres cinétiques correspondant sont donnés dans le Tableau 37.

Le bisphénol A et le NP2EO ont une accumulation linéaire dans les POCISTM- PES 0,45 µm au cours des 15 jours d'exposition (Tableau 37). L'augmentation de la porosité des membranes permet d'accumuler linéairement le NP2EO. En effet, il a été observé un temps de latence dans l'accumulation de ce composé dans les POCISTM standards. La résistance au transfert de masse du NP2EO du milieu vers la phase réceptrice est moindre dans les POCISTM- PES 0,45 µm par rapport aux standards.

Le NP1EC et le 4-t-OP ont une accumulation linéaire dans les POCISTM standards et présentent un comportement de « burst effect » dans les POCISTM-PES 0,45 µm. Celui-ci est caractérisé par une accumulation rapide des composés dans la phase réceptrice dès le début de l'exposition (Tableau 37) résultant de la solvatisation de la membrane (Alvarez 1999). L'augmentation de la porosité diminue la résistance au transfert de masse de ces composés lors du premier mouillage de la membrane, et permet la rapide diffusion des composés à travers les pores et le polymère de la membrane.

Le 4-NP et le NP1EO présentent le même comportement que dans les POCISTM standards : un temps de latence (Tableau 37). L'augmentation de la porosité des membranes ne permet pas d'accumuler de façon linéaire ces deux composés, mais le temps de latence est diminué par rapport à celui observé dans les POCISTM standards. Il est de 4,23 et 1,42 jours dans les POCISTM-PES 0,45 µm contre 6,22 et 3,65 jours dans les POCISTM standards pour le 4-NP et le NP1EO respectivement.

Tableau 37 : Cinétique d'accumulation dans les POCISTM-PES 0,45µm et paramètres cinétiques des alkylphénols, leurs dérivés et du BPA lors de la calibration par contamination à flux continu. Les données entre parenthèse sont extrapolées en considérant seulement la partie linéaire.

	BPA	NP2EO	NP1EC	4-t-OP	4-NP	NP1EO
Régime	linéaire		« burst effect »		temps de latence	
Modélisation						
Equation du modèle	$Cf=2,40t$	$Cf=1,57t$	$Cf=6,84+1,14t$	$Cf=7,33+1,49t$	$Cf=2,40\exp^{0,14t}$	$Cf=3,94\exp^{0,11t}$
R ²	0,98	0,93	0,96	0,95	0,99	0,94
k _a (L.j ⁻¹ .g ⁻¹)	2,40	1,57	(1,14)	(1,49)	(1,80)	(1,59)
Rs (L.j ⁻¹)	0,48	0,31	(0,23)	(0,30)	(0,36)	(0,32)
τ ₀ (jours)					4,23	1,42

L'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du bisphénol A semble être meilleure dans les POCISTM-PES 0,45 µm que dans les standards. En effet l'augmentation de la porosité permet d'accumuler linéairement le NP2EO et de diminuer le temps de latence observé pour les 4-NP et NP1EO. De plus les paramètres cinétiques sont meilleurs dans les POCISTM-PES 0,45 µm. Cependant l'accumulation d'une plus grande quantité de composé peut aussi provenir de la fraction échantillonnée par ces POCISTM-like comparée à celle des POCISTM standards. Effectivement, il est possible d'échantillonner plus de colloïdes et de petites particules avec des membranes ayant une porosité de 0,45 µm et de ce fait plus de composés pouvant être adsorbés sur ces derniers. Il serait aussi intéressant d'observer au MEB les membranes en PES 0,45 µm afin de comparer leur structure et porosité à celle des PES 0,1 µm.

II.3.3 Membranes en LDPE

Les composés hydrophobes sont généralement échantillonnés par les «Semi Permeable Membrane Devices » (SPMD) développés par Huckins et al. (1990). Ces échantillonneurs sont constitués d'une membrane en LDPE contenant 1 mL de trioléine. Les membranes en LDPE sont non poreuses mais le mouvement thermique des polymères permet la formation de cavités dont le diamètre maximal est 10 Å (Huckins et al. 1990). Ces outils ont permis d'accumuler le 4-t-OP et le 4-NP (Harman et al. 2008a; Harman et al. 2008b). Il est donc apparu intéressant de remplacer les membranes en PES, limitant l'accumulation linéaire des composés hydrophobes, par des membranes en LDPE. Ces outils sont nommés POCISTM-PE.

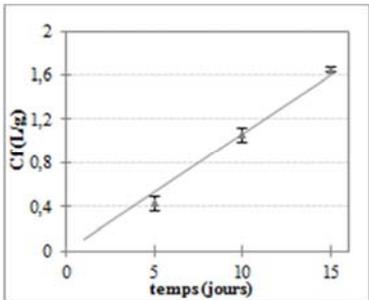
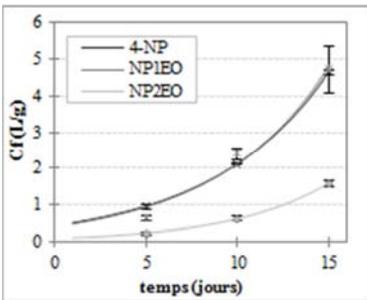
Les cinétiques d'accumulation et les constantes associées sont données dans le Tableau 38. Le 4-t-OP conserve une accumulation linéaire avec ces outils, mais le facteur de concentration est 12 fois inférieur à celui obtenu avec les POCISTM standards.

Un temps de latence est observé dans l'accumulation des 4-NP, NP1EO et NP2EO dans les POCISTM-PE ; il est respectivement de 5,75, 3,65 et 6,68 jours. Les facteurs de

concentrations obtenus au bout de 15 jours d'exposition sont légèrement plus faibles que ceux dans les POCISTM standards.

Tableau 38 : Cinétique d'accumulation dans les POCISTM-PE et paramètres cinétiques des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA lors de la calibration par contamination à flux continu. Les données entre parenthèse sont extrapolées en considérant seulement la partie linéaire.

	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Régime	linéaire	temps de latence		

Modélisation				
	Equation du modèle	$Cf=0,11t$	$Cf=0,44\exp^{0,16t}$	$Cf=0,42\exp^{0,16t}$
R ²	0,99	0,99	0,95	0,99
k _u (L.j ⁻¹ .g ⁻¹)	0,11	(0,50)	(0,41)	(0,19)
Rs (L.j ⁻¹)	0,02	(0,10)	(0,08)	(0,04)
τ ₀ (jours)		5,75	3,65	6,68

Les NP1EC et BPA n'ont pas été accumulés dans les POCISTM-PE. Le facteur de concentration pour ces deux composés est compris entre 0,001 et 0,004 L.g⁻¹. Le BPA et le NP1EC, présent sous sa forme ionique, sont les composés les plus hydrophiles. Le caractère hydrophobe des membranes en LDPE rend difficile leur perméation. Ces membranes sont en effet très sélectives aux propriétés physico-chimiques des composés (Alvarez 1999). Ces deux composés sont absorbés à plus de 50% dans les membranes en LDPE au bout de 5 jours (Publication 5, Figure 8). Au bout de 15 jours le NP1EC est présent à hauteur de 40% dans la membrane et le BPA à plus de 80%. Les autres composés sont quant à eux présents à moins de 10% dans les membranes en LDPE (Publication 5, Figure 8).

II.3.4 Membranes en nylon

Les membranes en nylon ont été sélectionnées de par leur faible pouvoir absorbant dans le but de s'affranchir du temps de latence observés lors de l'utilisation de POCISTM avec des membranes en PES. Dans un premier temps, l'objectif était d'étudier le comportement des alkylphénols, de leurs dérivés et du bisphénol A en changeant seulement la nature de la membrane des POCISTM standards. De ce fait des POCISTM-like avec des membranes en nylon de 0,1 µm de porosité ont été étudiées. Trois autres porosités ont été considérées de par leur disponibilité au laboratoire : 1,2, 10 et 30 µm.

Les courbes d'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du bisphénol A sont données dans la Figure 71 et les paramètres cinétiques associés sont dans le Tableau 39.

L'accumulation du NP1EC atteint un pseudo-équilibre au bout de 15 jours d'exposition dans les POCISTM-like avec des membranes en nylon de 0,1, 1,2 et 30 µm de porosité (Figure 71a). Ce comportement indique que le composé est accumulé linéairement dans la phase réceptrice au cours des premiers jours d'exposition jusqu'à atteindre un pseudo-

équilibre entre le milieu et la phase. Le coefficient de partage phase / eau (K_{SW}) peut être calculé ainsi que les constantes de vitesse d'absorption (k_u) et de désorption (k_e). Les coefficients de partage phase / eau sont du même ordre de grandeur lorsque les membranes en nylon de porosité 0, 1, 1,2 et 30 μm sont utilisées (Tableau 39) ; leur déviation standard relative est de 50, 81 et 23% respectivement. La variabilité de l'estimation du K_{SW} du NP1EC est plus faible pour les POCISTM-Nylon 30 μm . En effet d'après les observations au MEB (Publication 5, Tableau 2), ces membranes sont celles présentant le moins de variabilité dans leur porosité. Les membranes en nylon 0,1 μm sont altérées par le lavage au méthanol et entraîne un espacement entre les fibres plus grand et variable. Et celles de 1,2 μm présentent des alvéoles de géométrie variable. Cette fluctuation de la taille et de la géométrie des pores peut engendrer une variation de l'échantillonnage entre répliques ce qui implique d'avoir un écart type plus important pour les constantes cinétiques déterminées par la suite. Les constantes de vitesse d'absorption du NP1EC augmentent avec la porosité. La quantité de NP1EC accumulée est donc plus grande mais peut être également due à la fraction échantillonnée. En effet, plus la porosité croît, plus la quantité de colloïdes et de matières organiques accumulées dans la phase sera importante.

Le NP1EC a une accumulation avec un temps de latence dans les POCISTM-Nylon 10 μm (Figure 71). Ce comportement ne peut être clairement expliqué car il n'a pas été obtenu avec les membranes de même nature et de porosité inférieure ou supérieure. Des études plus poussées sur la nature de la membrane pourraient peut-être permettre de comprendre ces résultats.

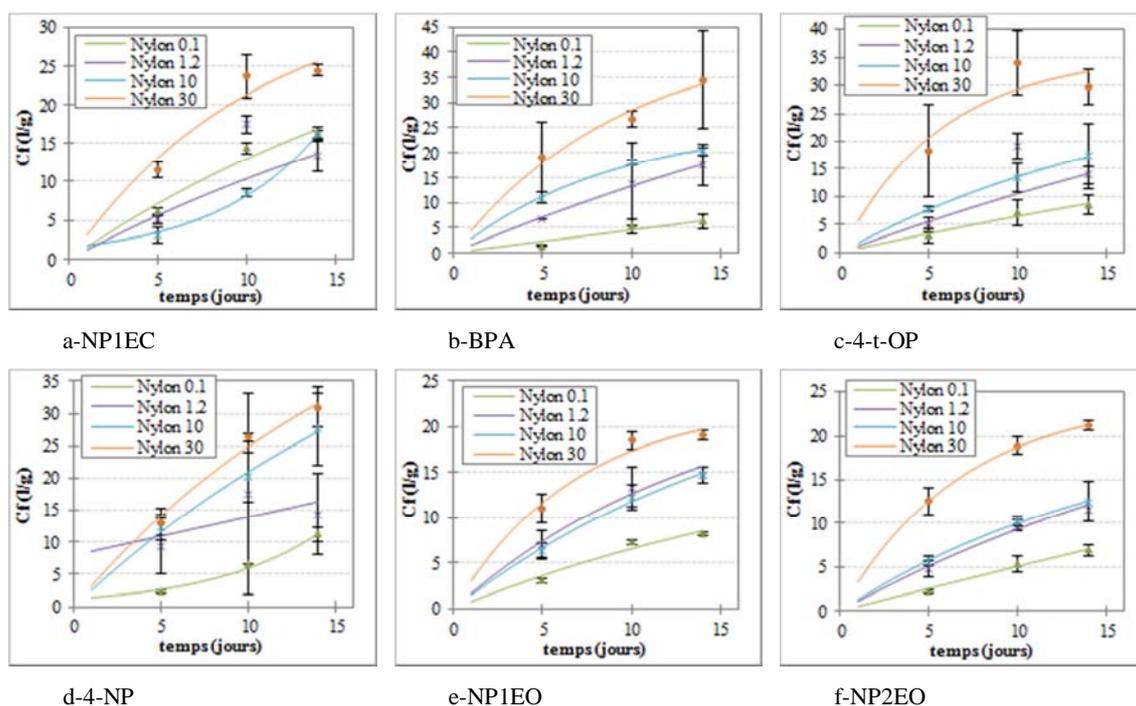


Figure 71 : Cinétiques d'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et du bisphénol A dans les POCISTM-nylon

Le BPA est accumulé de façon linéaire dans les POCISTM-Nylon 0,1 μm comme dans les POCISTM avec des membranes en PES de 0,1 et 0,45 μm (Figure 71). Cependant la constante de vitesse d'accumulation ($0,45 \text{ L}\cdot\text{j}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) et le taux d'échantillonnage ($0,09 \text{ L}\cdot\text{j}^{-1}$) sont plus faibles que ceux déterminés avec les POCISTM-PES 0,1 et 0,45 μm qui sont respectivement de $1,75$ et $2,40 \text{ L}\cdot\text{j}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ pour le k_u et $0,35$ et $0,48 \text{ L}\cdot\text{j}^{-1}$ pour le R_s . Lorsque la porosité des membranes est augmentée, l'accumulation du BPA atteint un pseudo équilibre

(Figure 71b). Il est important de noter une grande variabilité sur l'échantillonnage du BPA avec des POCISTM-like ayant des membranes en nylon de 1,2 et 30 μm (Figure 71b). Le coefficient de partage phase / eau est plus faible pour les POCISTM-Nylon 10 μm par rapport aux porosités 1,2 et 30 μm (Tableau 39) ; leur RSD est inférieur à 40% sauf pour les POCISTM-Nylon 1,2 μm (361%). L'importante variabilité du facteur de concentration avec les POCISTM-Nylon 1,2 μm ne permet pas d'expliquer celle sur l'estimation du K_{SW} même si la variabilité de la géométrie des pores est prise en compte et l'incertitude dans la détermination de ce paramètre. Plus la porosité des membranes en nylon augmente, plus les constantes de vitesse d'absorption du BPA croissent. Cette constatation est identique à celle faite pour le NP1EC et peut être expliquée par la même hypothèse.

Dans les quatre types de POCISTM-Nylon, le 4-t-OP atteint un pseudo équilibre au bout de 14 jours (Figure 71c). La variabilité entre répliquas augmente avec la porosité. Les coefficients de partage phase / eau sont du même ordre de grandeur et la variabilité sur leur estimation décroît lorsque la porosité augmente. Elle est de 273, 151, 111 et 22% pour les membranes de 0,1, 1,2, 10 et 30 μm respectivement. Comme pour les autres composés, il est observé une augmentation des constantes de vitesse d'accumulation et des taux d'échantillonnage lorsque la porosité croît (Tableau 39). Cette amélioration de l'accumulation peut être attribuée à la fraction échantillonnée qui est variable en fonction de la porosité des membranes.

Un temps de latence est observé dans l'accumulation du 4-NP dans les POCISTM-Nylon 0,1 μm (Figure 71d). Celui-ci est de 2,83 jours et est inférieur à ceux identifiés avec les POCISTM-PES et PE. Les capacités d'accumulation des POCISTM-Nylon 0,1 μm sont proches de celles des POCISTM standards (Tableau 39). L'augmentation de la porosité des membranes entraîne une accumulation rapide des composés dans la phase réceptrice caractérisée par un « burst effect » pour les POCISTM-Nylon 1,2 μm (Figure 71d). Ce comportement n'est pas observé avec les porosités plus grandes (10 et 30 μm), où, dans ce cas, l'accumulation du 4-NP atteint un pseudo-équilibre au bout de 14 jours d'exposition (Figure 71d). Les constantes de vitesse d'absorption et les taux d'échantillonnage augmentent avec la porosité (Tableau 39). Il est difficile d'expliquer les raisons pour lesquelles le « burst effect » n'est pas observé avec les membranes en nylon de 10 et 30 μm par rapport aux 1,2 μm . Une étude plus approfondie sur la nature réelle des membranes et les interactions possibles entre celles-ci et le 4-NP pourrait aider à la compréhension de ces comportements.

Chapitre 4 : Développement des échantillonneurs passifs –Synthèse

Tableau 39 : Paramètres cinétiques des alkylphénols, leurs dérivés et du BPA dans les POCIS™-Nylon lors de la calibration par contamination à flux continu. Les données entre parenthèse sont extrapolées en considérant seulement la partie linéaire.

Accumulation dans les POCIS™-Nylon 0,1µm						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Régime	équilibre	linéaire	équilibre	temps de latence	équilibre	équilibre
Equation du modèle	$Cf=37,69 (1-\exp^{-0,04t})$	$Cf=0,45t$	$Cf=34,51 (1-\exp^{-0,02t})$	$Cf=1,21 \exp^{0,16t}$	$Cf=19,25 (1-\exp^{-0,04t})$	$Cf=110,61 (1-\exp^{-0,005t})$
R ²	0,94	0,77	0,71	0,98	0,94	0,92
ku (L.j ⁻¹ .g ⁻¹)	1,58	0,45	0,72	(0,99)	0,81	0,55
Rs (L.j ⁻¹)	(0,28)	0,09	(0,13)	(0,20)	(0,14)	(0,10)
K _{SW} (L.g ⁻¹)	37,69		34,51		19,25	110,61
k _c (j ⁻¹)	0,04		0,02		0,04	0,004
τ ₀ (jours)				2,83		
Accumulation dans les POCIS™-Nylon 1,2µm						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Régime	équilibre	équilibre	équilibre	« burst effect »	équilibre	équilibre
Equation du modèle	$Cf=35,00 (1-\exp^{-0,04t})$	$Cf=56,26 (1-\exp^{-0,03t})$	$Cf=49,91 (1-\exp^{-0,02t})$	$Cf=7,96+0,60t$	$Cf=25,26 (1-\exp^{-0,07t})$	$Cf=29,13 (1-\exp^{-0,04t})$
R ²	0,89	0,45	0,85	0,06	0,81	0,94
ku (L.j ⁻¹ .g ⁻¹)	1,23	1,52	1,20	(0,60)	1,77	1,14
Rs (L.j ⁻¹)	(0,22)	(0,26)	(0,22)	(0,12)	(0,27)	(0,19)
K _{SW} (L.g ⁻¹)	35,00	56,26	49,91		25,26	29,13
k _c (j ⁻¹)	0,04	0,03	0,02		0,07	0,04
Accumulation dans les POCIS™-Nylon 10µm						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Régime	temps de latence	équilibre	équilibre	équilibre	équilibre	équilibre
Equation du modèle	$Cf=1,48 \exp^{0,17t}$	$Cf=25,94 (1-\exp^{-0,11t})$	$Cf=32,11 (1-\exp^{-0,06t})$	$Cf=60,77 (1-\exp^{-0,04t})$	$Cf=27,94 (1-\exp^{-0,05t})$	$Cf=21,73 (1-\exp^{-0,06t})$
R ²	0,99	0,90	0,56	0,77	0,94	0,85
ku (L.j ⁻¹ .g ⁻¹)	(1,91)	2,93	1,77	2,55	1,54	1,35
Rs (L.j ⁻¹)	(0,39)	(0,38)	(0,28)	(0,40)	(0,25)	(0,21)
K _{SW} (L.g ⁻¹)		25,94	32,11	60,77	27,94	21,73
k _c (j ⁻¹)		0,11	0,06	0,04	0,05	0,06
τ ₀ (jours)	5,53					
Accumulation dans les POCIS™-Nylon 30µm						
	NP1EC	BPA	4-t-OP	4-NP	NP1EO	NP2EO
Régime	équilibre	équilibre	équilibre	équilibre	équilibre	équilibre
Equation du modèle	$Cf=34,86 (1-\exp^{-0,09t})$	$Cf=43,55 (1-\exp^{-0,11t})$	$Cf=35,66 (1-\exp^{-0,17t})$	$Cf=58,74 (1-\exp^{-0,06t})$	$Cf=22,81 (1-\exp^{-0,14t})$	$Cf=24,53 (1-\exp^{-0,14t})$
R ²	0,86	0,53	0,48	0,93	0,93	0,94
ku (L.j ⁻¹ .g ⁻¹)	3,31	4,62	6,17	3,23	3,28	3,57
Rs (L.j ⁻¹)	(0,47)	(0,58)	(0,69)	(0,53)	(0,39)	(0,40)
K _{SW} (L.g ⁻¹)	34,86	43,55	35,66	58,74	22,81	24,53
k _c (j ⁻¹)	0,09	0,11	0,17	0,06	0,14	0,14

II.4 Comparaison entre les POCISTM standards et les POCISTM-like pour l'échantillonnage des alkylphénols, de leurs dérivés éthoxylés et du bisphénol A.

Les POCISTM standards permettent d'accumuler linéairement le NP1EC, le BPA et le 4-t-OP alors qu'un « burst effect » est observé pour le NP1EC et le 4-t-OP avec les POCISTM-PES 0,45 µm. Un temps de latence est observé dans l'accumulation des 4-NP, NP1EO et NP2EO des POCISTM-PES. L'utilisation de membranes en nylon permet de s'affranchir de ce comportement principalement avec une porosité supérieure à 0,1 µm. Les POCISTM-Nylon 30 µm montrent une meilleure pré-concentration des alkylphénols et de leurs dérivés par rapport aux autres POCISTM-like. Les taux d'échantillonnage déterminés pour les POCISTM standards (0,27 L.j⁻¹) et les POCISTM-Nylon 30 µm (0,69 L.j⁻¹) pour le 4-t-OP sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus avec les SPMD (Harman, Tollefsen, Boyum, et al. 2008). Celui du 4-NP dans les POCISTM-Nylon 30 µm (0,53 L.j⁻¹) est inférieur à ceux déterminés dans les SPMD qui sont de 1,34 L.j⁻¹ dans l'eau potable (Harman, Boyum, Tollefsen, et al. 2008) et 7,40 L.j⁻¹ dans l'eau de mer (Harman, Tollefsen, Boyum, et al. 2008).

D'après les résultats obtenus lors des développements des POCISTM-like, la solution proposée pour échantillonner et pré-concentrer de manière intégrative les alkylphénols, leurs dérivés et le BPA est d'utiliser simultanément :

- Les POCISTM standards sont les versions commerciales et permettent de pré-concentrer le NP1EC, le 4-t-OP et le BPA linéairement au cours du temps. Ces échantillonneurs doivent être préférentiellement utilisés sur de longues périodes (plusieurs semaines).
- Les POCISTM-Nylon 30 µm ont montré leur intérêt quant à leur fort potentiel à échantillonner linéairement tous les composés étudiés sans présenter une accumulation avec un temps de latence. Cependant, cet outil nécessite une exposition moins longue que celle des POCISTM standards.
- Les POCISTM-Nylon 0,1 µm peuvent aussi être employés pour l'échantillonnage des alkylphénols, de leurs dérivés et du BPA. Ces outils sont moins sensibles que les POCISTM standards mais permettent de s'affranchir du temps de latence pour les NP1EO et NP2EO. Le temps d'immersion pour ce type de POCISTM-like peut être identique à celui des POCISTM-standards.

III. Validation des POCIS standards et POCIS-like en mésocosmes

Les POCIS standards, POCIS-Nylon 0,1 µm et 30 µm développés en laboratoire ont été exposés dans des mésocosmes afin de valider leur capacité à échantillonner le 4-NP et le 4-t-OP. Ces échantillonneurs ont été placés dans les canaux des rivières pilotes à Lacq et exposés à des concentrations égales au tiers de la NQE et à la NQE. Ces valeurs sont respectivement de 100 et 300 ng.L⁻¹ pour le 4-NP et de 3 et 10 ng.L⁻¹ pour le 4-t-OP. Différents scénarii ont été testés afin d'évaluer la capacité des POCISTM et POCISTM-like à intégrer de légères variabilités ou des pics de pollution.

III.1 Injection préliminaire

Avant d'exposer les échantillonneurs dans les canaux, il a été vérifié que le tiers de la NQE pouvait être atteint dans les canaux et que les concentrations étaient homogènes en tous points. En effet, ces composés sont injectés au début de chaque canal et les échantillonneurs

sont positionnés entre 15 et 35 mètres après le niveau d'injection. Le 4-NP et le 4-t-OP ont été injectés pendant 24 heures et des prélèvements d'eau ont eu lieu à 15, 25 et 35 mètres du niveau d'injection au bout de 1, 5 et 24 heures.

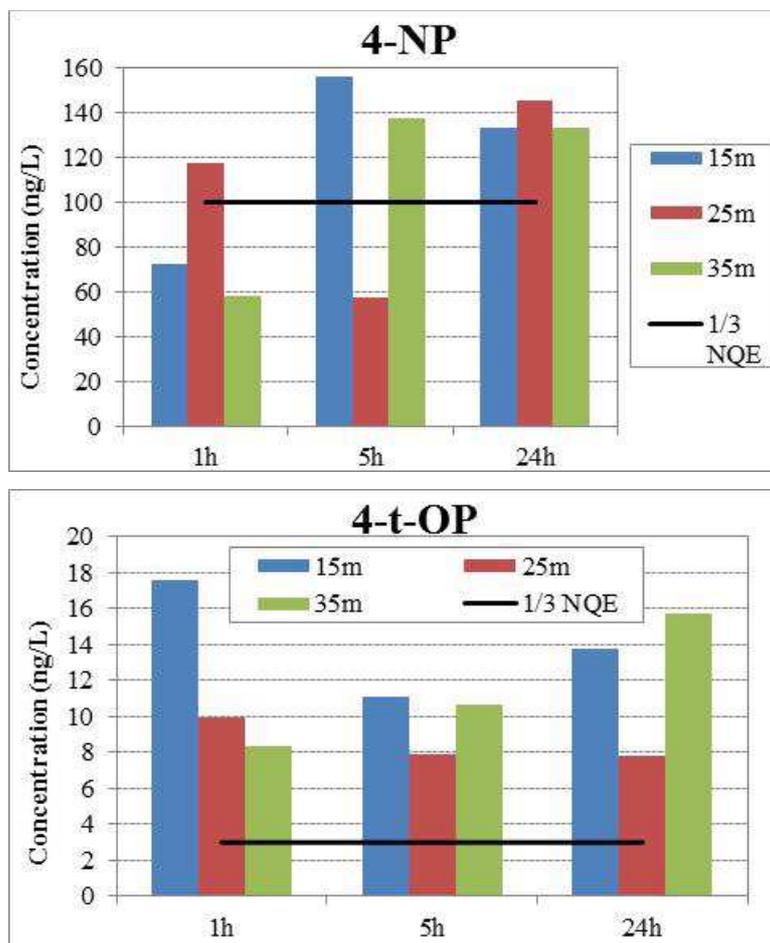


Figure 72 : Concentrations (ng.L^{-1}) en 4-NP et 4-t-OP dans les canaux des rivières pilotes lors des injections préliminaires : variations spatiale et temporelle.

La variabilité au bout d'une et cinq heures entre les concentrations mesurées à 15, 25 et 35 mètres du niveau d'injection est respectivement de 45 et 37% pour le 4-NP (Figure 72-a). Elles sont respectivement de 41 et 18% pour le 4-t-OP (Figure 72-b). Au bout de 24 heures, les concentrations obtenues diffèrent de 5% pour le 4-NP et de 33% pour le 4-t-OP. Ces résultats montrent que les concentrations deviennent stables dans le canal qu'au bout de quelques heures (> 5 heures) (Figure 72). Les concentrations obtenues sont proches de celles visées et plus particulièrement pour le 4-NP. En effet, le 4-t-OP est mesuré à hauteur de quelques ng.L^{-1} en amont de l'injection (4 ng.L^{-1} en moyenne). De ce fait, la concentration fixée de 3 ng.L^{-1} n'est pas obtenue, la concentration moyenne du 4-t-OP mesurée dans le canal est de 8 ng.L^{-1} .

III.2 Campagne continue

Cette campagne avait pour but d'estimer la capacité des POCISTM et POCISTM-like à échantillonner les 4-NP et 4-t-OP. Ces composés ont été injectés dans deux canaux. Dans le canal 14, les concentrations visées étaient les NQE soit 300 et 10 ng.L^{-1} et dans le canal 13, elles étaient de 100 et 3 ng.L^{-1} pour le 4-NP et le 4-t-OP respectivement.

III.2.1 Concentration dans les canaux

Les concentrations du 4-NP sont relativement stables dans les canaux 13 et 14 au cours des 21 jours d'exposition (Figure 73). La variabilité des concentrations est de 12% dans le canal 13 et de 27% dans le canal 14 pour le 4-NP. Dans le canal 13, les concentrations du 4-NP sont comprises entre 91 et 126 ng.L⁻¹ avec une valeur moyenne de 104 ng.L⁻¹ et la concentration visée était de 100 ng.L⁻¹. Celles dans le canal 14 sont comprises entre 168 et 333 ng.L⁻¹ avec une moyenne de 206 ng.L⁻¹ pour une concentration ciblée de 300 ng.L⁻¹. En ce qui concerne les concentrations du 4-t-OP, celles dans le canal 13 sont comprises entre 4 et 7 ng.L⁻¹ avec une moyenne de 5 ± 1 ng.L⁻¹ et entre 11 et 39 ng.L⁻¹ avec une moyenne de 18 ± 11 ng.L⁻¹ dans le canal 14. De manière générale, les concentrations mesurées correspondent aux valeurs théoriques souhaitées pour les deux composés (Figure 73).

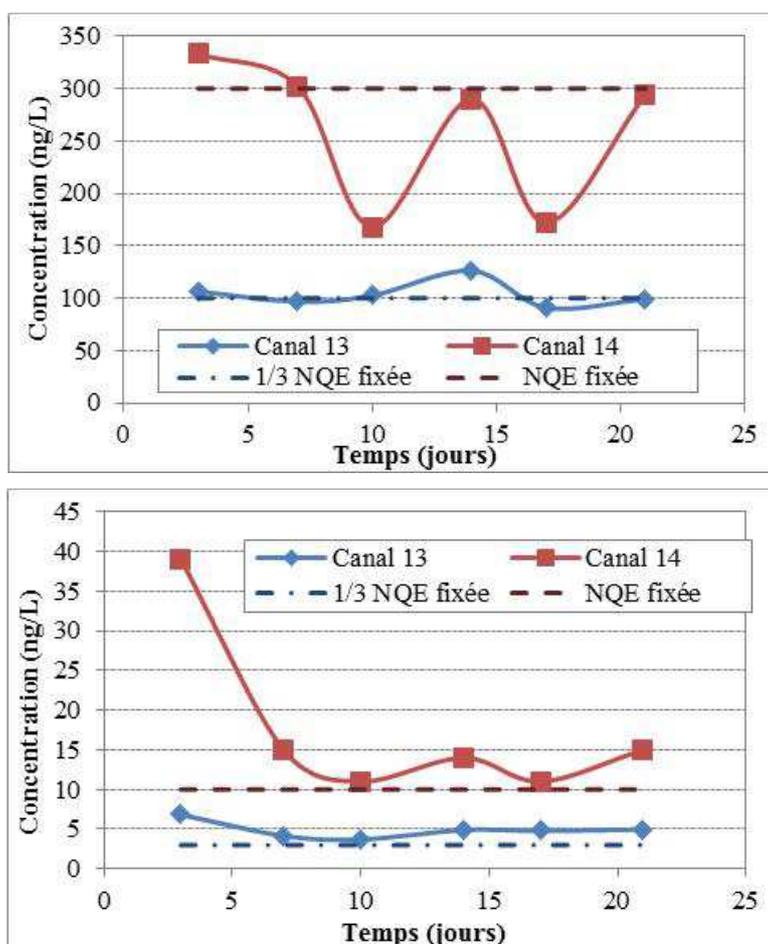


Figure 73 : Evolution des concentrations (ng.L⁻¹) en 4-NP et 4-t-OP dans les canaux 13 et 14 lors de la campagne continue.

III.2.2 Accumulation dans les POCISTM

Les cinétiques d'accumulation du 4-NP dans les POCISTM standards et les POCISTM-Nylon 0,1 μ m et 30 μ m sont illustrées dans la Figure 74. L'accumulation du 4-NP atteint l'équilibre dans les POCISTM standards et les POCISTM-Nylon 0,1 μ m au bout d'une dizaine de jours et au bout de quelques jours dans les POCISTM-Nylon 30 μ m (Figure 74). Un temps de latence est observé dans l'accumulation du 4-NP dans les POCISTM standards comme dans les calibrations en laboratoire. Il est soit supprimé soit diminué (inférieur à 5 jours) et non visible sur ces résultats pour les POCISTM-Nylon 0,1 μ m. Comme observé lors des calibrations, les quantités accumulées sont plus fortes dans l'ordre suivant : POCISTM

standard < POCISTM-Nylon 0,1 μm < POCISTM-Nylon 30 μm (Figure 74). Il est observé une diminution dans les quantités accumulées dans les POCISTM standards au bout de 21 jours. Ce phénomène est lié à l'atteinte de l'équilibre. Lorsque l'équilibre est atteint entre la phase et l'eau, les composés sont désorbés ou adsorbés dans la phase afin de maintenir cet équilibre si les concentrations dans le milieu fluctuent. Plus l'accumulation des composés est élevée plus ce phénomène est important.

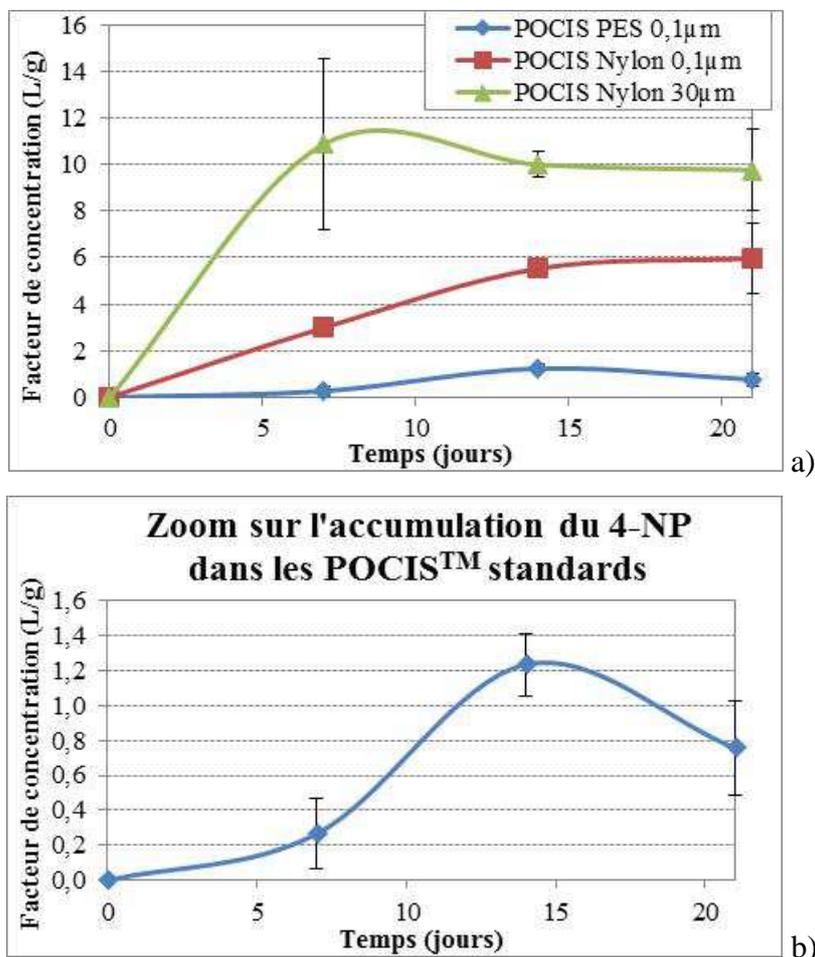


Figure 74 : Accumulation du 4-NP dans les POCISTM lors de la campagne continue a) POCISTM standards et POCISTM-Nylon 0,1 et 30 μm . b) zoom dans les POCISTM standards. Les barres d'erreur représentent l'écart à la moyenne.

III.2.3 Estimation des concentrations dans l'eau avec les POCISTM standards et like

Les concentrations en 4-NP dans le canal 14 ont été estimées à partir des quantités accumulées dans les POCISTM-standards et Nylon (0,1 et 30 μm) et en utilisant les constantes de vitesse d'absorption (k_u) obtenues lors des calibrations en laboratoire. Ces concentrations ont été comparées à la moyenne de celles obtenues par l'échantillonnage ponctuel (Figure 75). Les concentrations moyennes obtenues par l'échantillonnage passif sont plus faibles que celle par prélèvement ponctuel au bout de 7, 14 et 21 jours (Figure 75). Au bout de 7 jours, la concentration moyenne dans l'eau est obtenue par deux prélèvements ponctuels (à 3 et 5 jours) et ne représente pas la concentration moyenne réelle. Cette moyenne ne tient pas compte de la baisse de concentration après 5 jours (Figure 73) et est donc surestimée par rapport à la concentration moyenne réelle. Les concentrations moyennes obtenues par les POCISTM-like (Nylon 30 et 0,1 μm) sembleraient être proches de la concentration moyenne réelle. La concentration moyenne obtenue par les POCISTM standards est quant à elle sous-

estimée de par la présence du temps de latence dans l'accumulation du 4-NP qui est approximativement de 5 jours (Figure 74). Les concentrations estimées par les POCISTM-Nylon 30 μm sont plus élevées que celle obtenues par les Nylon 0,1 μm . Cette observation coïncide avec la porosité des membranes. En effet les POCISTM-Nylon 30 μm n'échantillonnent pas la même fraction que les Nylon 0,1 μm . Les concentrations estimées par l'échantillonnage passif ont diminué au bout de 21 jours car d'une part, l'accumulation du 4-NP a atteint l'équilibre entre le milieu et la phase réceptrice (Figure 74) et d'autre part les concentrations dans l'eau ont diminué entre 14 et 17 jours.

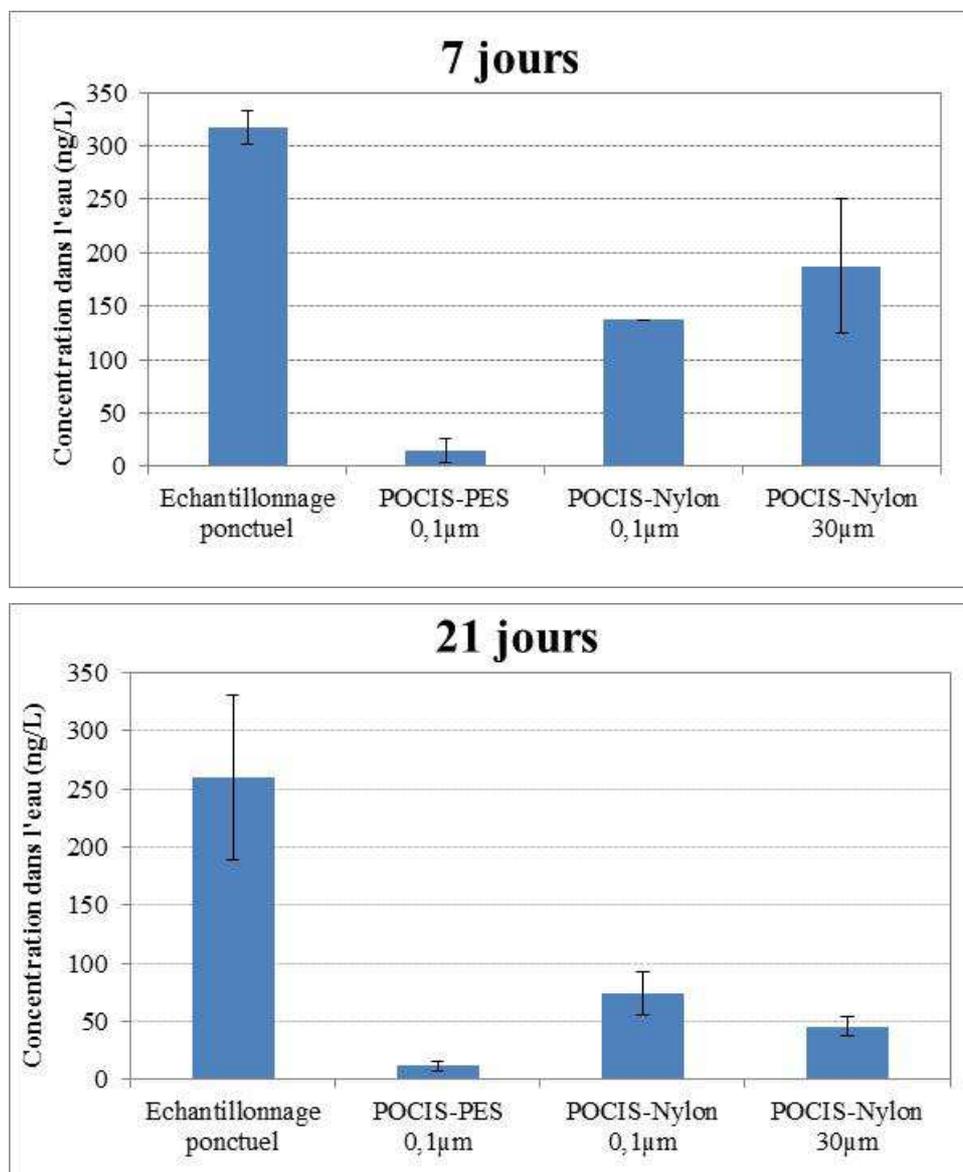


Figure 75 : Compararaison des concentrations dans l'eau estimée par les POCISTM standards, nylon 0,1 et 30 μm ($n = 2$) et par prélèvements ponctuels ($n = 2$ à T7 et $n = 6$ à T21) au bout de 7 et 21 jours. Les barres d'erreur représentent l'écart à la moyenne lorsque $n = 2$.

III.3 Campagne discontinue

Cette campagne a été initiée dans le but d'étudier la capacité des POCISTM standards et des POCISTM-Nylon 0,1 et 30 μm à intégrer des variations de concentrations. Trois cycles d'injection se sont succédés sur 21 jours. Un cycle correspond à 3 jours d'injection suivi de 3 jours de non injection. La quantité totale de composé injecté dans le canal 13 est identique à

celle injectée dans le canal 13 lors de la campagne continue, il en est de même pour le canal 14.

III.3.1 Concentration dans les canaux

L'évolution des concentrations du 4-NP et du 4-t-OP dans la phase dissoute est en accord avec les cycles d'injection et de non injection lors de la campagne discontinue (Figure 76). En ce qui concerne le 4-NP, les concentrations obtenues au cours des périodes d'injection sont en moyenne de $213 \pm 40 \text{ ng.L}^{-1}$ et $566 \pm 83 \text{ ng.L}^{-1}$ dans les canaux 13 et 14 respectivement. Celles-ci sont proches des concentrations fixées qui étaient de 235 ng.L^{-1} dans le canal 13 et de 700 ng.L^{-1} dans le canal 14 (Figure 76). Lors des périodes de non injection, le 4-NP a été quantifié dans le bruit de fond à des concentrations comprises entre 32 et 110 ng.L^{-1} . Les concentrations du 4-t-OP sont en moyenne de $8 \pm 2 \text{ ng.L}^{-1}$ dans le canal 13 et de $14 \pm 4 \text{ ng.L}^{-1}$ dans le canal 14. Les concentrations mesurées dans le canal 14 correspondent à celles visées au cours des périodes d'injection qui étaient de 20 ng.L^{-1} . Dans le canal 13, les périodes d'injection ne sont pas significativement différentes du bruit de fond. En effet, les valeurs des concentrations du 4-t-OP mesurées dans le bruit de fond sont comprises entre 2 et 12 ng.L^{-1} .

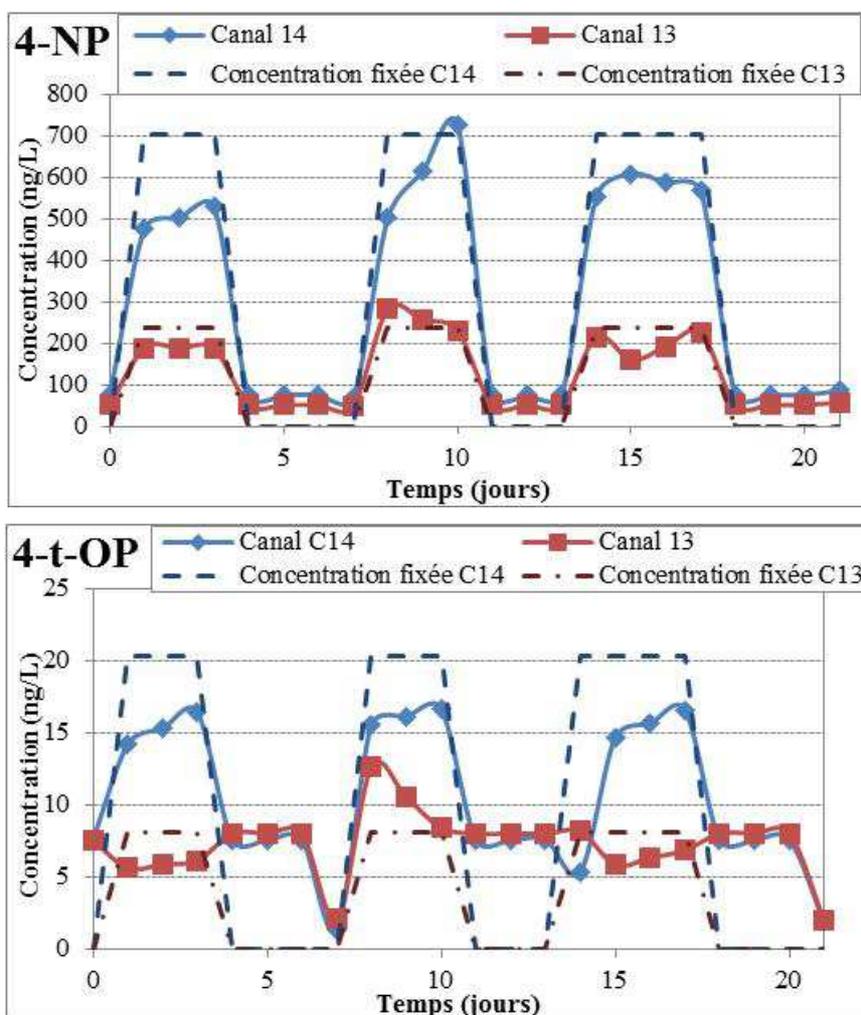


Figure 76 : Evolution des concentrations (ng.L^{-1}) dans les canaux 13 et 14 lors de la campagne discontinue.

III.3.2 Accumulation dans les POCISTM

Les cinétiques d'accumulation du 4-NP dans les POCISTM standards et les POCISTM-Nylon 0,1 et $30 \mu\text{m}$ sont illustrées sur la Figure 77. Seul le dernier cycle d'injection a été

étudié, le premier duplicata de POCISTM a été prélevé avant le dernier cycle d'injection, le second après et le troisième à la fin de la campagne. Pour les trois sortes de POCISTM étudiées, l'équilibre est atteint au bout de quelques jours. En effet après 14 jours, les composés adsorbés dans la phase des POCISTM désorbent. L'équilibre se fait entre les composés présents dans l'eau et dans la phase. Les concentrations du 4-NP dans la phase dissoute augmentent à partir de 14 jours et diminuent à partir de 17 jours. Cependant le 4-NP désorbe de la phase entre 14 et 21 jours (Figure 77a). Il se peut qu'il y est un léger décalage entre le moment où les concentrations dans l'eau augmentent et celui où les composés sont accumulés dans la phase afin d'atteindre l'équilibre. La succession d'une augmentation et d'une diminution des concentrations dans l'eau peut être plus rapide que le décalage d'accumulation et de ce fait le pic de pollution n'est pas clairement visible. Dans le cas de POCISTM standards, le 4-NP désorbe de la phase entre 14 et 17 jours et est accumulé après 17 jours. Ce phénomène met en évidence qu'il y a un décalage entre l'augmentation de la concentration dans la phase dissoute et l'accumulation dans la phase qui peut être due aux propriétés de la membrane (Figure 77). Lors des calibrations en laboratoire, il a été montré que les membranes en PES freinent le transfert de masse du 4-NP. Comme observé lors des calibrations et de la campagne continue, les quantités accumulées sont plus fortes dans l'ordre suivant : POCISTM standard < POCISTM-Nylon 0,1 μ m < POCISTM-Nylon 30 μ m (Figure 77).

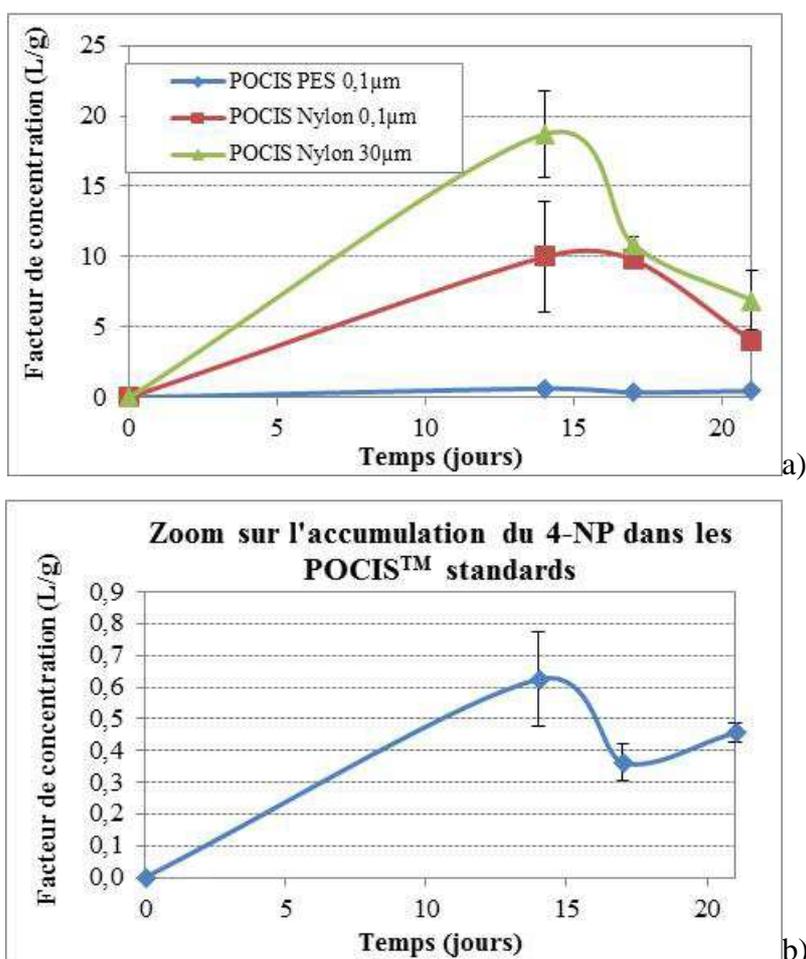


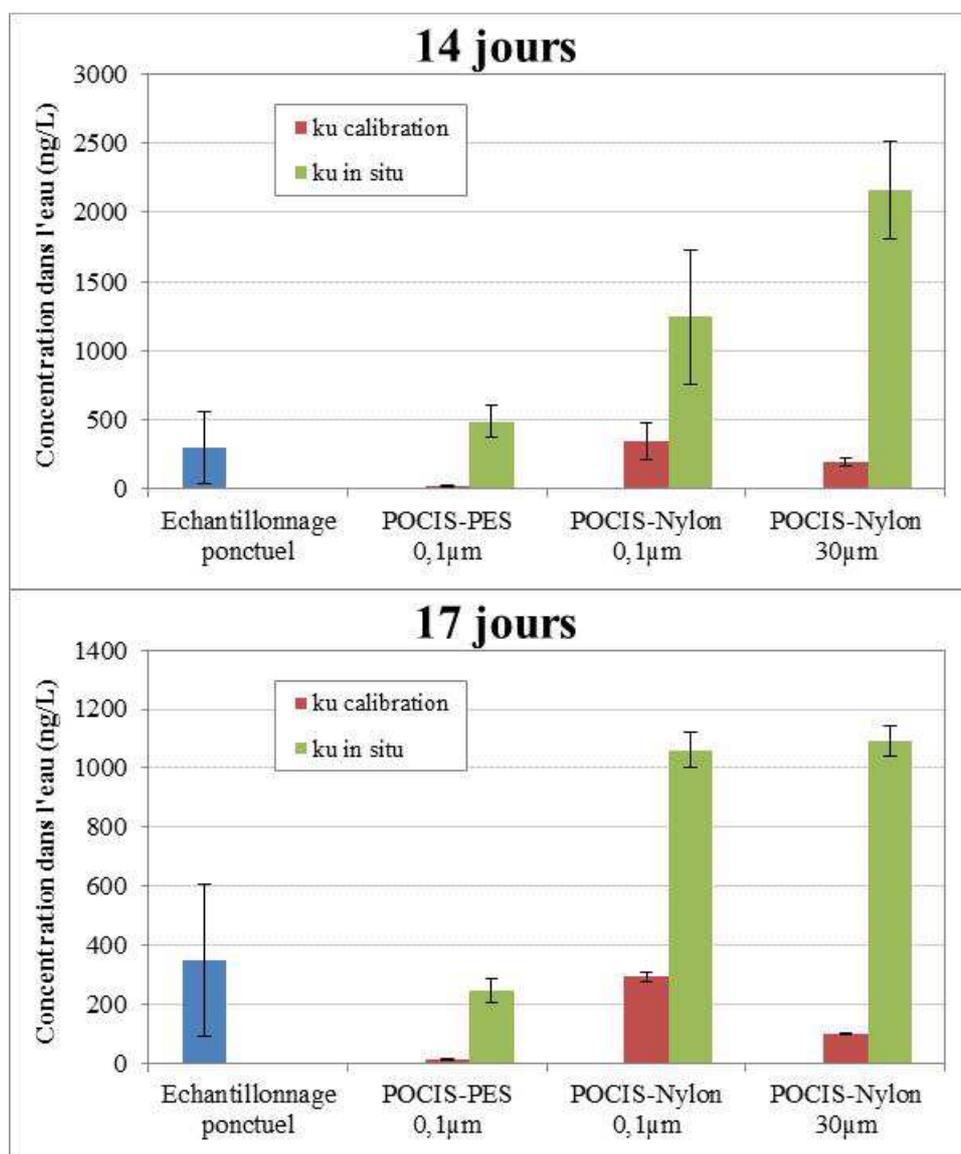
Figure 77 : Accumulation du 4-NP dans les POCISTM lors de la campagne discontinue a) POCISTM standards et POCISTM-Nylon 0,1 et 30 μ m. b) zoom dans les POCISTM standards. Les barres d'erreur représentent l'écart à la moyenne.

III.3.3 Estimation des concentrations dans l'eau avec les POCISTM standards et like

Les concentrations en 4-NP dans le canal 14 ont été estimées à partir des quantités accumulées dans les POCISTM-standards et Nylon (0,1 et 30 μm) et en utilisant les constantes de vitesse d'absorption obtenues lors des calibrations en laboratoire (k_u calibration) et lors de l'exposition continue dans les mésocosmes (k_u in situ). Ces concentrations ont été comparées à la moyenne de celles obtenues par l'échantillonnage ponctuel (Figure 78).

De manière générale les concentrations dans l'eau estimées par l'échantillonnage passif sont plus élevées lorsque la constante de vitesse k_u in situ est utilisée (Figure 78). Les concentrations estimées par les POCISTM-Nylon 30 μm sont toujours plus élevées que celles des POCISTM-Nylon 0,1 μm standards. Cette observation a été faite lors de l'exposition continue et est liée à la fraction échantillonnée qui est différente car la porosité des membranes est 300 fois supérieure.

A 14 et 17 jours, les concentrations estimées par l'échantillonnage passif utilisant les constantes k_u in situ sont surestimées par rapport à la moyenne des concentrations par prélèvement ponctuel. Et celles utilisant les constantes k_u calibration sont sous-estimées. Cependant au bout de 21 jours les concentrations moyennes estimées par l'échantillonnage ponctuel et l'échantillonnage passif utilisant les constantes k_u in situ sont proches.



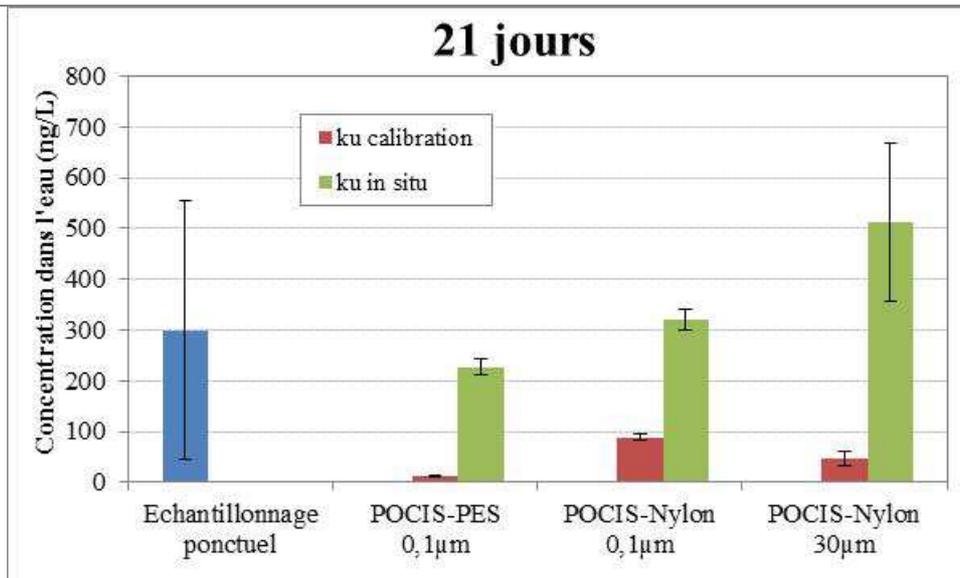


Figure 78 : Compararaison des concentrations dans l'eau estimée par les POCISTM standards, nylon 0,1 et 30µm (n = 2) et par prélèvements ponctuels (n = 6 à T14, n = 8 à T17 et n = 9 à T21) au bout de 14, 17 et 21 jours. Les barres d'erreur représentent l'écart à la moyenne lorsque n = 2.

Conclusions et perspectives

Les principaux objectifs de ces travaux de thèse étaient d'une part d'étudier la présence, le comportement et le devenir des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques dans les effluents et d'autre part de développer l'échantillonnage passif pour ces composés de la phase dissoute. L'analyse des alkylphénols et leurs éthoxylés représente un axe fort dans ces travaux.

Des méthodologies analytiques ont été appliquées pour les alkylphénols, leurs dérivés et les composés pharmaceutiques tant dans les phases aqueuses que solides (phase particulaire et boues issues de STEP). Au cours de ces travaux, l'échantillonnage, l'extraction et l'analyse des alkylphénols et de leurs dérivés ont été menés avec soin et améliorés avec notamment l'introduction de nouveaux étalons internes. Ces composés sont présents dans notre environnement quotidien (peintures, matières plastiques, crèmes hydratantes, détergents, etc.) et rendent l'analyse de ces composés à l'état de traces difficile. De ce fait une attention particulière a été portée sur la teneur des blancs de manipulation et d'injection, la linéarité des composés et sur les conditions particulières de manipulation. De par la sensibilité extrême de ces composés à une contamination ou encore aux performances des systèmes analytiques, les contrôles qualité ont été approfondis. Ces contrôles qualitatifs (séparation chromatographique) et quantitatifs (injections de solutions standards à différentes concentrations permettant de renseigner l'aire, le rapport signal / bruit et la sensibilité) ont été adaptés en fonction des problèmes rencontrés au fur et à mesure des analyses et ont permis d'améliorer la quantification de ces composés. Pour s'affranchir des limites liées à l'extraction et à l'analyse en chromatographie liquide, la SPME a été développée pour le 4-NP et le 4-t-OP et à l'heure actuelle cette méthode montre des résultats comparables à ceux obtenus en LC-MS/MS dans toutes sortes de matrices liquides. Les méthodes analytiques employées sont fiables et robustes et ont permis de quantifier ces composés à des concentrations faibles (ng.L^{-1}) dans des matrices complexes et variées.

Au cours de ces travaux il a été mis en évidence que les effluents domestiques et industriels sont des sources importantes d'introduction des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques dans les systèmes aquatiques. Ces composés sont présents dans plus de 80% des échantillons d'eaux usées brutes et les apports en entrée de STEP sont très variables et discriminants dans le cas des composés pharmaceutiques. Les résultats obtenus permettent d'enrichir les données disponibles dans la littérature tant sur les concentrations mais aussi sur les rendements d'élimination associés et ils sont propres à un procédé épuratoire donné. L'apport potentiel en composés présents dans la phase particulaire est pris en compte dans le calcul des rendements. Les principaux procédés d'épuration employés sur le territoire français ont été étudiés ce qui permet de comparer leur efficacité.

Les alkylphénols et leurs dérivés sont détectés dans la majorité des échantillons à des concentrations allant de quelques ng.L^{-1} jusqu'à atteindre plusieurs dizaines de $\mu\text{g.L}^{-1}$. L'analyse de la phase particulaire est primordiale notamment pour les alkylphénols et leurs dérivés qui y sont retrouvés à environ 50%. Cette partition entraîne une adsorption non négligeable de ces composés dans les boues par l'abattement des MES qui est croissant au fur et à mesure des traitements appliqués. Lors des traitements secondaires, traitant le carbone et l'azote comme paramètres majeurs, tous les composés sont éliminés à hauteur de 80% sauf le NP1EC, les traitements à cultures libres ou fixées ayant une efficacité d'élimination équivalente. Ce composé est formé lors des phénomènes de biodégradation se produisant dans les STEP en conditions aérobies. Le bioréacteur à membrane, procédé secondaire, permet un

meilleur abattement de ces composés par rapport aux boues activées. Seuls les traitements tertiaires avancés comme l'osmose inverse entraînent un abattement significatif de ce composé. La présence des alkylphénols et de leurs dérivés dans la phase dissoute est nettement diminuée au cours des traitements dans les STEP, cependant ils sont détectés en grande quantité dans les boues, entre 2 et 14 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de masse sèche.

Les composés pharmaceutiques sont aussi quant à eux détectés dans la majorité des échantillons à des concentrations moyennes plus faibles ; ces concentrations s'étendent de quelques $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ à plusieurs centaines de $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour le paracétamol et l'aspirine. Les composés les plus souvent détectés avec des concentrations élevées sont ceux non soumis à prescriptions médicales (paracétamol, aspirine, ibuprofène, etc.) ; ils ont cependant un meilleur rendement d'élimination que les autres composés. Lors des traitements secondaires la majorité des composés pharmaceutiques est éliminée à 70%. Les procédés de bioréacteur à membranes présentent la meilleure efficacité d'élimination vis-à-vis de ces composés par rapport aux autres procédés secondaires sauf pour la carbamazépine. Ce composé est stable au cours des traitements et seuls les procédés tertiaires avancés notamment l'osmose inverse permettent son élimination. Les composés pharmaceutiques sont détectés dans les boues à de faibles concentrations (centaine de $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ de masse sèche). Cette présence peut être due à trois types d'interactions : à des interactions hydrophobes entre les groupements aliphatiques et aromatiques d'un composé et les fractions lipidiques des boues (amitriptyline, fluoxétine), des interactions électrostatiques entre les composés polaires et la matière organique (aspirine, paracétamol, caféine, kétoprofène et ibuprofène), ou par des interactions électrostatiques entre les composés pharmaceutiques et les alkylphénols et leurs dérivés, composés amphiphiles, adsorbés sur les boues (interactions hydrophobes).

Les traitements tertiaires conventionnels ne permettent pas une amélioration significative de l'élimination des composés. Cependant, les traitements tertiaires avancés semblent être performants quant à l'élimination des composés récalcitrants et à l'abaissement des concentrations des autres. Cependant ces installations restent marginales et leur utilisation doit être étudiée. En effet, le recyclage ou le traitement des membranes, utilisés lors de l'osmose inverse, et du charbon actif doivent être considérés. Et l'ozonation, peut dans certains cas former des sous-produits plus toxiques que le composé parent. La connaissance de ces paramètres doit être approfondie.

Dans le but de s'affranchir des techniques conventionnelles de prélèvement, l'échantillonnage passif a été développé pour les alkylphénols, leurs dérivés et les composés pharmaceutiques. Les versions « pharmaceutiques » des POCISTM standards ont été développées en laboratoire et validées *in situ*. La première partie des travaux consistait à étudier le régime d'accumulation des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques dans cette version de POCISTM standard. L'accumulation de 17 composés est linéaire sur 15 jours, leur constante d'absorption et leur taux d'échantillonnage ont pu être déterminés. 6 composés ont atteint un pseudo-équilibre, ce qui permet de montrer que ces composés ont une faible affinité pour la phase réceptrice. Leur coefficient de partage phase / eau ainsi que les constantes de vitesse d'absorption et de désorption ont pu être déterminés. De façon générale les résultats obtenus au cours des calibrations des POCISTM standards sont semblables à ceux trouvés dans la littérature et très variables pour les alkylphénols. Certains composés comme le 4-NP, le NP1EO et le NP2EO ont une accumulation linéaire dans la phase après un temps de latence de quelques jours durant lequel les composés diffusent à travers la

membrane en PES. Ce phénomène met en évidence une mauvaise affinité de ces composés pour ce type de membrane. Malgré le temps de latence et l'atteinte de l'équilibre, les valeurs des constantes de vitesse d'absorption et des taux d'échantillonnage ont été extrapolées en prenant compte uniquement des données concernant la partie linéaire. Les POCISTM standards ont ensuite été validés *in situ*, dans le milieu naturel (Jalles d'Eysines) et dans un effluent de station d'épuration (STEP de Cantinolle). Ces outils y ont montrés leur caractère intégrateur et leur intérêt. Ils ont permis de s'affranchir de l'effet matriciel et de détecter des composés à des concentrations inférieures aux limites de quantification associées aux prélèvements ponctuels. Certains taux d'échantillonnage obtenus au cours des calibrations en laboratoire issues de cette étude ainsi que celles disponibles dans la littérature diffèrent dues aux conditions d'exposition des outils lors des calibrations. Deux paramètres potentiels pouvant jouer un rôle sur ces différences de taux d'échantillonnage ont été mis en évidence : le solvant servant à récupérer la phase réceptrice et l'orientation des membranes en PES. En effet, il a été montré au cours de cette étude que l'utilisation de méthanol en tant que solvant de récupération entraîne une élution des composés et ainsi une diminution des paramètres cinétiques. De plus, les membranes en PES de 0,1µm de porosité présentent deux types de surface (une face mate et une face brillante) et la porosité mesurée est en moyenne de 300 nm avec une grande variabilité. Il apparaît important d'arriver à une standardisation des systèmes d'exposition et des protocoles d'extraction afin de mener à bien les calibrations en laboratoire.

Afin de palier le temps de latence observé pour le 4-NP, le NP1EO et le NP2EO, les POCISTM-like ont été développés. L'utilisation de membranes en nylon permet d'éliminer ce phénomène de temps de latence et d'améliorer la quantité de composés accumulées. Les capacités d'accumulation des POCISTM-Nylon 0,1 µm sont supérieures à celles des POCISTM standards. Seul le 4-NP est accumulé avec un temps de latence avec ces POCISTM-Nylon 0,1µm. L'utilisation de POCISTM-Nylon 30 µm permet d'obtenir une accumulation linéaire pour tous les alkylphénols et leurs dérivés sur 10 jours d'exposition. Cependant la fraction échantillonnée par ces POCISTM-like n'est pas la même que pour les autres types d'outils. En effet, la porosité de la membrane est 300 fois supérieure que celle des POCISTM standards et Nylon 0,1 µm. Les POCISTM-Nylon 0,1 et 30 µm montrent un pouvoir intégrateur pour tous les alkylphénols et leurs dérivés contrairement aux POCISTM standards. L'utilisation des POCISTM-Nylon 0,1 µm à la place des standards permet d'améliorer la quantité accumulée dans les POCISTM et donc de diminuer les limites de quantification. L'exposition de ces échantillonneurs dans des mésocosmes à des concentrations continues et variables en 4-NP ont montré que l'équilibre était atteint rapidement dans la phase. Lorsque les concentrations dans la phase dissoute diminuent, les composés semblent désorber de la phase due à leur constantes cinétiques d'échange élevées.

Ces travaux ont permis de documenter la présence et le devenir des composés pharmaceutiques ainsi que des alkylphénols et de leurs dérivés au sein des stations d'épuration. Effectivement plusieurs procédés épuratoires ont été étudiés (traitements primaires, secondaires à cultures libres, secondaires à cultures fixées, tertiaires d'affinage et avancés) dans des conditions similaires et leur comparaison apporte de nombreuses informations tant sur l'efficacité d'élimination que sur le comportement de certains composés. Il serait cependant intéressant de se pencher sur différents points :

- ✓ Les potentielles formations de métabolites au cours des traitements notamment pour les composés pharmaceutiques et pour les précurseurs des alkylphénols à chaînes

éthoxylées plus longues. Ces informations permettraient de mieux comprendre l'impact des traitements épuratoires sur la formation des métabolites qui parfois pourraient être plus toxiques que les précurseurs.

✓ L'identification des paramètres optimums qui influence les efficacités d'élimination des micropolluants lors des traitements secondaires à boues activées tel que la température ou encore le temps de séjour hydraulique.

✓ La contamination des sols par l'épandage des boues issues de STEP. Certaines études commencent à mettre en évidence la présence de composés pharmaceutiques ainsi que d'autres composés provenant de produits de soin corporel dans les sols. Leur présence dans les boues épandues dans les champs agricoles sont transférées dans les sols. Plusieurs scénarii sont possibles et devraient être étudiés : ces substances peuvent être lixiviées dans les sols jusqu'à atteindre une nappe phréatique, elles peuvent aussi être transférées jusque dans les systèmes aquatiques par lessivage des sols et/ou transférées du sol vers les plantes.

Concernant les échantillonneurs passifs, différentes études complémentaires pourraient être conduites :

✓ L'effet de l'orientation des membranes en PES 0,1 μm des POCISTM standards sur l'accumulation des composés devrait être approfondi. Il en est de même pour l'évaluation de leur réelle porosité et de la variabilité associée.

✓ Il est important d'identifier la fraction échantillonnée par les POCISTM-Nylon 30 μm . En effet, l'augmentation de la porosité peut entraîner un échantillonnage de la matière organique ou de colloïdes sur lesquels sont adsorbés des composés ciblés.

✓ Les développements des POCISTM-like doivent être poursuivis dans le but d'étendre leur domaine d'application : les membranes où la phase peuvent être changés.

✓ L'approche des PRC devrait être appliquée aux POCISTM standards et POCISTM-like dans le but de s'affranchir des paramètres environnementaux ayant un effet sur l'accumulation des composés. Ceci permettrait de permettre d'obtenir un taux d'échantillonnage *in situ* d'améliorer leur aspect quantitatif.

Références Bibliographiques

- Ahel, M., et W. Giger. 1993a. « Aqueous solubility of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates ». *Chemosphere* 26 (8): 1461-1470.
- Ahel, M., et W. Giger. 1993b. « Partitioning of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates between water and organic solvents ». *Chemosphere* 26 (8): 1471-1478.
- Ahel, M., F.E. Scully, J. Hoigné, et W. Giger. 1994a. « Photochemical degradation of nonylphenol and nonylphenol polyethoxylates in natural waters ». *Chemosphere* 28 (7): 1361-1368.
- Ahel, M., W. Giger, et M. Koch. 1994b. « Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment- I Occurrence and biotransformation in sewage treatment ». *Water Research* 28 (5): 1131-1142.
- Ahel, M., W. Giger, et C. Schaffner. 1994c. « Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment- II Occurrence and biotransformation in rivers ». *Water Research* 28 (5): 1143-1152.
- Allan, I, K. Booiij, A. Paschke, B. Vrana, G. Mills, et R. Greenwood. 2010. « Short-term exposure testing of six different passive samplers for the monitoring of hydrophobic contaminants in water ». *Journal of Environmental Monitoring* 12 (3): 696-703.
- Allan, I.J., B. Vrana, R. Greenwood, G.A. Mills, B. Roig, et C. Gonzalez. 2006. « A “Toolbox” for biological and chemical monitoring requirements for the European Union’s Water Framework Directive ». *Talanta* 69 (2 SPEC. ISS.): 302-322.
- Allan, I.J., G.A. Mills, B. Vrana, J. Knutsson, A. Holmberg, N. Guigues, S. Laschi, A.M. Fouillac, and R. Greenwood. 2006. « Strategic monitoring for the European Water Framework Directive ». *Trends in Analytical Chemistry* 25 (7): 704-715.
- Allan, I, K. Booiij, A. Paschke, B. Vrana, G. Mills, et R. Greenwood. 2009. « Field performance of seven passive sampling devices for monitoring of hydrophobic substances ». *Environmental Science and Technology* 43 (14): 5383-5390.
- Alvarez, D. 1999. « Development of an integrative sampling device for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments ». Thèse de doctorat, Université de Missouri-Columbie, Columbie, Etats Unis.
- Alvarez, D., J.D. Petty, J.N. Huckins, T.L. Jones-Lepp, D.T. Getting, J.P. Goddard, and S.E. Manahan. 2004. « Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (7): 1640-1648.
- Alvarez, D., P.E. Stackelberg, J.D. Petty, J.N. Huckins, E.T. Furlong, S.D. Zaugg, et M.T. Meyer. 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 (5): 610-622.
- Amiridou, D., et D. Voutsas. 2011. « Alkylphenols and phthalates in bottled waters ». *Journal of Hazardous Materials* 185 (1): 281-286.
- Andreozzi, R., R. Marotta, et N. Paxeus. 2003. « Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment ». *Chemosphere* 50 (10): 1319-1330.

- Andreozzi, R., R. Marotta, G. Pinto, et A. Pollio. 2002. « Carbamazepine in water: persistence in the environment, ozonation treatment and preliminary assessment on algal toxicity ». *Water Research* 36 (11): 2869-2877.
- Arditsoglou, A., and D. Voutsas (2008). « Passive sampling of selected endocrine disrupting compounds using polar organic chemical integrative samplers ». *Environmental Pollution* 156 (2): 316-324.
- Arias, A.H., C.V. Spetter, R.H. Freije, et J.E. Marcovecchio. 2009. « Polycyclic aromatic hydrocarbons in water, mussels (*Brachidontes* sp., *Tagelus* sp.) and fish (*Odontesthes* sp.) from Bahia Blanca Estuary, Argentina ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 85 (1): 67-81.
- Arukwe, A., A. Goksoyr, R. Thibaut, et J.P. Cravedi. 2000. « Metabolism and organ distribution of nonylphenol in Atlantic salmon (*Salmo salar*) ». *Marine Environmental Research* 50 (1-5): 141-145.
- Barbieri, Y., W.A. Massad, D.J. Diaz, J. Sanz, F. Amat-Guerri, et N.A. Garcia. 2008. « Photodegradation of bisphenol A and related compounds under natural-like conditions in the presence of riboflavin: kinetics, mechanism and photoproducts ». *Chemosphere* 73 (4): 564-571.
- Bartelt-Hunt, S., D. Snow, T. Damon-Powell, D. Brown, G. Prasai, M. Schwarz, et A. Kolok. 2011. « Quantitative evaluation of laboratory uptake rates for pesticides, pharmaceuticals, and steroid hormones using POCIS ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 30 (6): 1412-1420.
- Bartelt-Hunt, S.L., D;D. Snow, T. Damon, J. Shockley, et Kyle Hoagland. 2009. « The occurrence of illicit and therapeutic pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters in Nebraska ». *Environmental Pollution* 157 (3): 786-791.
- Bell, M., D. Davis, et T. Fletcher. 2004. « A retrospective assessment of mortality from the London smog episode of 1952: The role of influenza and Pollution ». *Environmental Health Perspectives* 112 (1): 6-8.
- Bernhard, M., J. Müller, et T. Knepper. 2006. « Biodegradation of persistent polar pollutants in wastewater: Comparison of an optimised lab-scale membrane bioreactor and activated sludge treatment ». *Water Research* 40 (18): 3419-3428.
- Besse, J.P., et J. Garric. 2008. « Human pharmaceuticals in surface waters- Implementation of a prioritization methodology and application to the french situation ». *Toxicology Letters* 176 (2): 104-123.
- Black, J., T. Hart, et P. Black. 1982. « A novel Integrative Technique for Locating and Monitoring Polynuclear Aromatic Hydrocarbon Discharges to the Aquatic Environment ». *Environmental Science and Technology* 16: 247-250.
- Booij, K., F. Smedes, et E. van Weerlee. 2002. « Spiking of performance reference compounds in low density polyethylene and silicone passive water samplers ». *Chemosphere* 46 (8): 1157-1161.
- Boreen, A.L., W.A. Arnold, et K. McNeill. 2003. « Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environments: A review ». *Aquatic Sciences* 65 (4): 320-341.

- Braun, P., M. Moeder, St. Schrader, P. Popp, P. Kusch, et W. Engewald. 2003. « Trace analysis of technical nonylphenol, bisphenol A and 17-ethinylestradiol in wastewater using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A* 988 (1): 41-51.
- Brix, R., C. Postigo, S. Gonzalez, M. Villagrasa, A. Navarro, M. Kuster, M. Lopez de Alda, et D. Barcelo 2010. « Analysis and occurrence of alkylphenolic compounds and estrogens in a European river basin and an evaluation of their importance as priority pollutants ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396 (3): 1301-1309.
- Brix, R., J. Lopez-Doval, M. Ricart, H. Guash, C. Orendt, A. Romani, S. Sabater, D. Barcelo, M Lopez de Alda, et I Munoz. 2012. « Establishing potential links between the presence of alkylphenolic compounds and the benthic community in a European river basin ». *Environmental Science and Pollution Research* 19 (4): 934-945.
- Buser, H.R., T. Poiger, et M.D. Muller. 1999. « Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater ». *Environmental Science and Technology* 33 (15): 2529-2535.
- Cailleaud, K., H. Budzinski, S. Lardy, S. Augagneur, S. Barka, S. Souissi, et J. Forget-Leray. 2011. « Uptake and elimination, and effect of estrogen-like contaminants in estuarine copepods: an experimental study ». *Environmental Science and Pollution Research* 18 (2): 226-236.
- Cailleaud, K., J. Forget-Leray, S. Souissi, S. Lardy, S Augagneur, et H. Budzinski. 2007. « Seasonal variation of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species *Eurytemora affinis* (Colanoïd, copepod). Part 2: Alkylphenol-polyethoxylates. » *Chemosphere* 70 (2): 281-287.
- Calisto, V., et V. Esteves. 2009. « Psychiatric pharmaceuticals in the environment ». *Chemosphere* 77 (10): 1257-1274.
- Calisto, V., M. Domingues, et V. Esteves. 2011. « Photodegradation of psychiatric pharmaceuticals in aquatic environments- Kinetics and photodegradation products ». *Water Research* 45 (18): 6097-6106.
- Cao, Z., Y. Wang, Y. Ma, Z. Xu, G. Shi, Y. Zhuang, et T. Zhu. 2005. « Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in reclaimed water and surface water of Tianjin, China ». *Journal of Hazardous Materials A* 122 (1-2): 51-59.
- Capdeville, M.J., et H. Budzinski 2011. « Trace-level analysis of organic contaminants in drinking waters and groundwaters ». *Trends in Analytical Chemistry* 30 (4): 586-606.
- Carballa, M., F. Omil, J.M. Lema, M. Llompert, C. Garcia-Jares, I. Rodriguez, M. Gomez, et T. Ternes. 2004. « Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant ». *Water Research* 38 (12): 2918-2926.
- Cases, V., V. Alonso, V. Argandona, M. Rodriguez, et D. Prats. 2011. « Endocrine disrupting compounds: A comparison of removal between conventional activated sludge and membrane bioreactor ». *Desalination* 272 (1-3): 240-245.

- Castiglioni, S., R. Bagnati, R. Fanelli, F. Pomati, D. Calamari, et E. Zuccato. 2006. «Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy ». *Environmental Science and Technology* 40 (1): 357-363.
- Cespedes, R., S. Lacorte, A. Ginebreda, et D. Barcelo. 2008. « Occurrence and fate of alkylphenols and alkylphenol atoxylates in sewage treatment plants and impact on receiving waters along the Ter River (Catalonia, NE Spain) ». *Environmental Pollution* 153 (2): 384-392.
- Champeau, Olivier. 2005. « Biomarqueurs d'effets chez F. Fluminea: du développement en laboratoire à l'application en mésocosme ». Thèse de doctorat, Université Bordeaux 1.
- Choubert J.M., Martin-Ruel S., Coquery M. (2009). « Prélèvement et échantillonnage des substances prioritaires et émergentes dans les eaux usées: Les prescriptions techniques du projet de recherche AMPERES ». *Techniques Sciences et Méthodes*, 4, 88-101.
- Choubert, J.M., S. Martin-Ruel, M. Esperanza, H. Budzinski, C. Miège, C. Lagarrigue, et M. Coquery. 2011a. « Limiting the emissions of micro-pollutants: what efficiency can we expect from wastewater treatment plants? » *Water Science and Technology* 63 (1): 57-65.
- Choubert, J.M., S. Martin-Ruel, H. Budzinski, C. Miège, M. Esperanza, C. Soulier, C. Lagarrigue, et M. Coquery. 2011b. « Evaluer les rendements des stations d'épuration- Apports méthodologiques et résultats pour les micropolluants en filières conventionnelles avancées ». *Techniques Sciences et méthodes* 1/2: 44-57.
- Cidu, R., F. Frau, et S. Da Pelo. 2011. « Drainage at abandoned mine sites: natural attenuation of contaminants in different seasons ». *Mine water Environment* 30 (2): 113-126.
- Clara, M., B. Strenn, E. Martinez, N. Kreuzinger, et H. Kroiss. 2005. « Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants ». *Water Research* 39 (19): 4797-4807.
- Contardo-Jara, V., C. Lorenz, S. Pflugmacher, G. Nützmann, W. Kloas, et C. Wiegand. 2011. « Exposure to human pharmaceuticals Carbamazepine, Ibuprofen and Bezafibrate causes molecular effects in *Dreissena polymorpha* ». *Aquatic toxicology* 105 (3-4): 428-437.
- Coquery, M., M. Pomies, S. Martin-Ruel, H. Budzinski, C. Miège, M. Esperanza, C. Soulier, et J.M. Choubert. 2011. « Mesurer les micropolluants dans les eaux usées brutes et traitées- Protocoles et résultats pour l'analyse des concentrations et des flux ». *Techniques Sciences et méthodes* 1/2: 25-43.
- Corvini, P.F.X., A. Schäffer, et D. Schlosser. 2006. « Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols- our evolving view ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 72 (2): 223-243.
- Cox, R. 2003. « The use of passive sampling to monitor forest exposure to O₃, NO₂ and SO₂: a review and some case studies ». *Environmental Pollution* 126 (3): 301-311.
- Czajka C. P. et Londry K. L. 2006. « Anaerobic biotransformation of estrogens ». *Science of the Total Environment* 367 (2-3), 932-941.

- Daughton, C., et T. Ternes. 1999. « Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agent of subtle change? » *Environmental Health Perspectives* 107 (S6): 907-938.
- Deblonde, T., C. Cossu-Leguille, et P. Hartemann. 2011. « Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature ». *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 214 (6): 442-448.
- Detroyer A., Heyden Y. V., Carda-Broch S., Garcia-Alvarez-Coque M. C. et Massart D. L. 2001. « Quantitative structure-retention and retention-activity relationships of beta-blocking agents by micellar liquid chromatography ». *Journal of Chromatography A*, 912 (2), 211-221.
- Devier, M.H., P. Mazellier, S. Aït-Aïssa, et H. Budzinski. 2011. « New challenges in environmental analytical chemistry: Identification of toxic compounds in complex mixtures ». *Comptes Rendus Chimie* 14 (7-8): 766-779.
- Diaz, A., F. Ventura, et M.T. Galceran. 2002. « Development of a solid-phase microextraction method for the determination of short-ethoxy-chain nonylphenols and their brominated analogs in raw and treated water ». *Journal of Chromatography A* 963 (1-2): 159-167.
- Dolar, D., T. Zokic, K. Kosutic, D. Asperger, et D.M. Pavlovic. 2012. « RO/NF membrane treatment of veterinary pharmaceutical wastewater: comparison of results obtained on a laboratory and a pilot scale ». *Environmental Science and Pollution Research* 19 (4): 1033-1042.
- Doong, R., S. Lee, C. Lee, Y. Sun, et S. Wu. 2010. « Characterization and composition of heavy metals and persistent organic pollutants in water and estuarine sediments from Gao-ping River, Taiwan ». *Marine Pollution Bulletin* 57: 846-857.
- Dupuis, A., V. Migeot, A. Cariot, M. Albouy-Llaty, B. Legube, et S. Rabouan. 2012. « Quantification of bisphenol A, 353-nonylphenol and their chlorinated derivatives in drinking water treatments plants ». *Environmental Science and Pollution Research* in press: 1-13.
- Enick, O.V., and M.M. Moore (2007). « Assessing the assessments: Pharmaceuticals in the environment ». *Environmental Impact Assessment Review* 27 (8): 707-729.
- Fatta-Kassinos, D., E. Hapeshi, A. Achilleos, S. Meric, M. Gros, M. Petrovic, et D. Barcelo. 2011. « Existence of Pharmaceutical compounds in tertiary treated urban wastewater that is utilized for reuse applications ». *Water Resources Management* 25 (4): 1183-1193.
- Fent K., Weston A. A. et Caminada D. 2006. « Ecotoxicology of human pharmaceuticals ». *Aquatic Toxicology* 78 (2), 207-207.
- Ferguson, P., C. Iden, et B. Brownawell. 2001. « Distribution and fate of neutral alkylphenol ethoxylate metabolites in a sewage impacted urban estuary ». *Environmental Science and Technology* 35 (12): 2428-2435.
- Flippin, J.L., D. Huggett, et C.M. Foran. 2007. « Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes* ». *Aquatic toxicology* 81 (1): 73-78.

- Focazio, M.J., D.W. Kolpin, K.K. Barnes, E.T. Furlong, M.T. Meyer, S.D. Zaugg, L.B. Barber, et M.E. Thurman. 2008. « A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States- II) Untreated drinking water sources ». *Science of the Total Environment* 402: 201-216.
- Fram, M., et K. Belitz. 2011. « Occurrence and concentrations of pharmaceutical compounds in groundwater used for public drinking-water supply in California ». *Science of the Total Environment* 409 (18): 3409-3417.
- Gabet-Giraud V., Miège C., Herbreteau B., Hernandez-Raquet G., Coquery M. 2010. « Development and validation of an analytical method by LC-MSMS for the quantification of estrogens in sewage sludge ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396, 1841-1851.
- Gabet-Giraud, V., C. Miège, J.M. Choubert, S. Martin-Ruel, et M. Coquery. 2010. « Occurrence and removal of estrogens and beta blockers by various processes in wastewater treatments plants ». *Science of the Total Environment* 408 (19): 4257-4269.
- Gagnon, C., A. Lajeunesse, P; Cejka, F. Gagné, et R. Hausler. 2008. « Degradation of selected acidic and neutral pharmaceutical products in a primary treated wastewater by disinfection processes ». *Ozone: Science and Engineering* 30 (5): 387-392.
- Gartiser, S., C. Hafner, K. Kronenberger-Schäfer, O. Happel, C. Trautwein, et K. Kümmerer. 2012. « Approach for detecting mutagenicity of biodegraded and ozonated pharmaceuticals, metabolites and transformation products from drinking water perspective ». *Environmental Science and Pollution Research* 19 (8): 3597-3609.
- Gassara, F., S. Brar, R.D. Tyagi, et J.R. Valéro. 2011. « Biological degradation of bisphenol A in waste water ». *Environmental Review* 19 (1): 32-54.
- Giger, W., P.H. Brunner, et C Schaffner. 1984. « 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants ». *Science* 225 (4662): 623-625.
- Göbel A, McArdell C.S, Suter M, Giger W. (2004). Trace determination of macrolide and sulphonamide antimicrobials, a human sulphonamide metabolite and trimethoprim in wastewater using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 76, 4756-4764
- Gonzalez, S., M. Petrovic, et D. Barcelo. 2007. « Removal of a broad range of surfactants from municipal wastewater- Comparison between membrane bioreactor and conventional activated sludge treatment ». *Chemosphere* 67 (2): 335-343.
- Gorecki, T., et J. Namiesnik (2002). « Passive sampling ». *Trends in Analytical Chemistry* 21 (4): 276-291.
- Gourlay, C., C. Miège, A. Noir, C. Ravelet, J. Garric, et J.M. Mouchel. 2005. « How accurately do semi-permeable membrane devices measure the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*? » *Chemosphere* 61: 1734-1739.
- Grover, D., J. Balaam, S. Pacitto, J. Readman, S. White, et J. Zhou. 2011. « Endocrine disrupting activities in sewage effluent and river water determined by chemical analysis

- and in vitro assay in the context of granular activated carbon upgrade ». *Chemosphere* 84 (10): 1512-1520.
- Hai, F.I., K. Tessmer, L.N. Nguyen, J. Kang, W.E. Price, et L.D. Nghiem. 2011. « Removal of micropollutants by membrane bioreactor under temperature variation ». *Journal of Membrane Science* 383 (1-2): 144-151.
- Harman, C., O. Boyum, K. Thomas, et M. Grung. 2009a. « Small but different effect of fouling on the uptake rates of Semi Permeable Membrane Devices and Polar Organic Chemical Integrative Samplers ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 28 (11): 2324-2332.
- Harman, C., K. Thomas, K.E. Tollefsen, S. Meier, O. Boyum, et M. Grung 2009b. « Monitoring the freely dissolved concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and alkylphenols (AP) around Norwegian oil platform by holistic passive sampling ». *Marine Pollution Bulletin* 58 (11): 1671-1679.
- Harman, C., K.E. Tollefsen, O. Boyum, K. Thomas, and M. Grung. 2008a. « Uptake rates of alkylphenols PAHs and carbazoles in semipermeable membrane devices (SPMDs) and polar organic chemical integrative samplers (POCIS) ». *Chemosphere* 72 (10): 1510-1516.
- Harman, C., O. Boyum, K.E. Tollefsen, K. Thomas, et M. Grung. 2008b. « Uptake of some selected aquatic pollutants in semipermeable membrane devices (SPMDs) and the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) ». *Journal of Environmental Monitoring* 10 (2): 239-247.
- Heringa, M., et J. Hermens. 2003. « Measurement of free concentrations using negligible depletion-solid phase microextraction (nd-SPME) ». *Trends in Analytical Chemistry* 22 (10): 575-587.
- Hernando M. D., Gomez M. J., Aguera A. et Fernandez-Alba A. R. 2007. «LC-MS analysis of basic pharmaceuticals (beta-blockers and anti-ulcer agents) in wastewater and surface water». *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 26 (6), 581-594.
- Hoeger, B., B. Köllner, D. Dietrich, et B. Hitzfeld. 2005. « Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta f. fario*) ». *Aquatic toxicology* 75 (1): 53-64.
- Huang, Y.Q., C.K.C. Wong, J.S. Zheng, H. Bouwman, R. Barra, B. Wahlström, L. Neretin, et M.H. Wong. 2012. « Bisphenol A (BPA) in china: A review of sources, environmental levels, and potential human health impacts ». *Environment International* 42 (1): 91-99.
- Huckins, J., J. Petty, C. Orazio, J. Lebo, R. Clark, V. Gibson, W. Gala, et K. Echols. 1999. «Determination of uptake kinetics (sampling rates) by lipid-containing Semipermeable Membrane Devices (SPMDs) for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in water». *Environmental science & Technology* 33: 3918-3923.
- Huckins, J., M. Tubergen, and G. Manuweera. 1990. « Semipermeable membrane devices containing model lipid: A new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration potential ». *Chemosphere* 20 (5): 533-552.

- Huckins, J.N., J.D. Petty, J. Lebo, F.V. Almeida, K. Booij, D. Alvarez, W.L. Cranor, R.C. Clark, et B.B. Mogensen. 2002. « Development of the Permeability/Performance Reference Compound Approach for in situ calibration of semipermeable membrane devices ». *Environmental Science and Technology* 36 (1): 85-91.
- Huckins, N., G. Manuweera, J. Petty, D. Mackay, et J. Lebo. 1993. « Lipid-containing Semipermeable Membrane Devices for monitoring organic contaminants in water ». *Environmental Science and Technology* 27 (12): 2489-2496.
- Isidori, M., M. Lavorgna, A. Nardelli, A. Parrella, L. Previtera, et M. Rubino. 2005. « Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products ». *Science of the Total Environment* 348 (1-3): 93-101.
- Isobe, T., H. Nishiyama, A. Nakashima, et H. Takada. 2001. « Distribution and behaviour of nonylphenol, octylphenol, and nonylphenol monoethoxylate in Tokio metropolitan area: their association with aquatic particles and sedimentary distributions ». *Environmental Science and Technology* 35 (6): 1041-1049.
- Jacquet, R., C. Miège, P. Bados, S. Schiavone, et M. Coquery. 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 (2): 279-288.
- Janex-Habibi M. L., Huyard A., Esperanza M. et Bruchet A. 2009 «Reduction of endocrine disruptor emissions in the environment: The benefit of wastewater treatment». *Water Research*, 43 (6), 1565-1576.
- Jelic, A., F. Fatone, S. Di Fabio, M. Petrovic, F. Cecchi, et D. Barcelo. 2012. « Tracing pharmaceuticals in a municipal plant for integrated wastewater and organic solid waste treatment ». *Science of the Total Environment* 433: 352-361.
- Jelic, A., M. Gros, A. Ginebreda, R. Cespedes-Sanchez, F. Ventura, M. Petrovic, et D. Barcelo. 2011. « Occurrence, partition, and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment ». *Water Research* 45 (3): 1165-1176.
- Jobling, S., D. Sheahan, J.A. Osborne, P. Matthiessen, et J.P. Sumpter. 1996. « Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 15 (2): 194-202.
- Jones-Lepp, T.L., D. Alvarez, J.D. Petty, et J.N. Huckins. 2004. « Polar Organic Chemical Integrative Sampling and Liquid Chromatography- Electrospray/ Ion-Trap Mass Spectrometry for Assessing Selected Prescription and Illicit Drugs in Treated Sewage Effluents ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47 (4): 427-439.
- Joss, A., E. Keller, A.C. Alder, A. Göbel, C.S. McArdell, T. Ternes, et H. Siegrist. 2005. «Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment ». *Water Research* 39 (14): 3139-3152.
- Kameda, Y., K. Kimura, et M. Miyazaki. 2011. « Occurrence and profiles of organic sun-blocking agents in surface waters and sediments in Japanese rivers and lakes ». *Environmental Pollution* 159 (6): 1570-1576.

- Kang, J.H., et F. Kondo. 2002. « Effects of bacterial counts and temperature on the biodegradation of bisphenol A in river water ». *Chemosphere* 49 (5): 493-498.
- Kang, J.H., et F. Kondo. 2005. « Bisphenol A degradation in seawater is different from that in river water ». *Chemosphere* 60 (9): 1288-1292.
- Kimura, K., H. Hara, et Y. Watanabe. 2005. « Removal of pharmaceutical compounds by submerged membrane bioreactors (MBRs) ». *Desalination* 178 (1-3): 135-140.
- Kingston, J, R. Greenwood, G. Mills, M. Morrison, et L.B. Persson. 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 (5): 487-495.
- Kleywegt, S., V. Pileggi, P. Yang, C. Hao, X. Zhao, C. Rocks, S. Thach, P. Cheung, et B. Whitehead. 2011. « Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished drinking water in Ontario, Canada- Occurrence and treatment efficiency ». *Science of the Total Environment* 409 (8): 1481-1488.
- Kohoutek, J., B. Marsalek, et L. Blaha. 2010. « Evaluation of the novel passive sampler for cyanobacterial toxins microcystins under various conditions including field sampling ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397 (2): 823-828.
- Kolok, A., D. Snow, S. Kohno, M. Sellin, et L. Guillette. 2007. « Occurrence and biological effect of exogenous steroids in the Elkhorn river, Nebraska, USA ». *Science of the Total Environment* 388 (1-3): 104-115.
- Kolpin, D.W., E.T. Furlong, M.E. Thurman, S.D. Zaugg, L.B. Barber, et H.T. Buxton. 2002. « Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance ». *Environmental Science and Technology* 36 (6): 1202-1211.
- Komarova, T., M. Bartkow, S. Rutishauser, S. Carter, et J. Mueller. 2009. « Evaluation and in situ assessment of photodegradation of polyaromatic hydrocarbons in semipermeable membrane devices deployed in ocean water ». *Environmental Pollution* 157 (3): 731-736.
- Lajeunesse, A., S.A. Smyth, K. Barclay, S. Sauvé, et C. Gagnon. 2012. « Distribution of antidepressant residues in wastewater and biosolids following different treatment processes by municipal wastewater treatment plants in Canada ». *Water Research* 46 (17): 5600-5612.
- Lara-Martin, P., A. Gomez-Parra, et E. Gonzalez-Mazo. 2008. « Reactivity and fate of synthetic surfactants in aquatic environments ». *Trends in Analytical Chemistry* 27 (8): 684-695.
- Lardy-Fontan, S. 2008. « Les substances émergentes dans les écosystèmes aquatiques français. Une application aux alkylphénol-polyéthoxylés et aux substances pharmaceutiques ». Thèse de doctorat, Université Bordeaux 1.
- Li, Hongxia, Paul A. Helm, et Chris D. Metcalfe. 2010a. « Sampling in the Great Lakes for pharmaceuticals, personal care products, and endocrine-disrupting substances using

- passive Polar Organic Chemical Integrative Sampler ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (4): 751-762.
- Li, H., E. Vermeirssen, P. Helm, et C. Metcalfe. 2010b. « Controlled field evaluation of water flow rate effects on sampling polar organic compounds using Polar Organic Chemical Integrative Samplers ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (11): 2461-2469.
- Li, H., P. Helm, G. Paterson, et C. Metcalfe. 2011. « The effects of dissolved organic matter and pH on sampling rates for Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) ». *Chemosphere* 83 (3): 271-280.
- Liu, J., R. Wang, B. Huang, C. Lin, Y. Wang, et X. Pan. 2011. « Distribution and bioaccumulation of steroidal and phenolic endocrine disrupting chemicals in wild fish species from Dianchi Lake, China ». *Environmental Pollution* 159 (10): 2815-2822.
- Lobos, J., T. Leib, et T. Su. 1992. « Biodegradation of bisphenol-A and other bisphenols by a gram-negative aerobic bacterium ». *Applied and Environmental Microbiology* 58 (6): 1823-1831.
- Loos, R., B.M. Gawlik, G. Locoro, E. Rimaviciute, S. Contini, and G. Bidoglio. 2009. « EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters ». *Environmental Pollution* 157 (2): 561-568.
- Loos, R., G. Locoro, et S. Contini. 2010. « Occurrence of polar organic contaminants in the dissolved water phase of the Danube River and its major tributaries using SPE-LC-MS2 analysis ». *Water Research* 44 (7): 2325-2335.
- MacLeod, S.L., E.L. McClure, et C.S. Wong. 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 (12): 2517-2529.
- Martinez Bueno, M.J., M.D. Hernando, A. Agüera, et A.R. Fernandez-Alba. 2009. « Application of passive sampling devices for screening of micro-pollutants in marine aquaculture using LC-MS/MS ». *Talanta* 77 (4): 1518-1529.
- Martin-Ruel, S., J.M. Choubert, P. Ginestet et M. Coquery. 2008. « Semi-quantitative analysis of a specific database on priority and emerging substances in wastewater and sludge ». *Water Science and Technology* 57: 1935-1944.
- Martin-Ruel, S., J.M. Choubert, M. Esperanza, C. Miège, P.N. Madrigal, H. Budzinski, K. Le Menach, V. Lazarova, et M. Coquery. 2011. « On-site evaluation of the removal of 100 micro-pollutants through advanced treatments for reuse applications ». *Water Science and Technology* 63 (11): 2486-2497.
- Martin-Ruel, S., M. Esperanza, J.M. Choubert, I. Valor, H. Budzinski, et M. Coquery. 2010. « On-site evaluation of the efficiency of conventional and advanced secondary processes for the removal of 60 organic micropollutants ». *Water Science and Technology* 62 (12): 2970-2978.
- Matthiessen, P., D. Arnold, A.C. Johnson, T.J. Pepper, T.G. Pottinger, et K.G.T. Pulman. 2006. « Contamination of headwater streams in the United Kingdom by oestrogenic hormones from livestock farms ». *Science of the Total Environment* 367 (2-3): 616-630.

- Mayer, P., J. Tolls, J. Hermens, et D. Mackay. 2003. « Equilibrium sampling devices ». *Environmental science and Technology* 37 (9): 184A-191A.
- Mazzella, N., J.F. Dubernet, et F. Delmas. 2007. « Determination of kinetic and equilibrium regimes in the operation of polar organic chemical integrative samplers Application to the passive sampling of the polar herbicides in aquatic environments ». *Journal of Chromatography A* 1154 (1-2): 42-51.
- Mazzella, N., S. Lissalde, S. Moreira, F. Delmas, P. Mazellier, et J. Huckins. 2010. «Evaluation of the use of performance reference compounds in an Oasis-HLB adsorbent based passive sampler for improving water concentration estimates of polar herbicides in freshwater». *Environmental Science and Technology* 44 (5): 1713-1719.
- Mazzella, N., T. Debenest, et F. Delmas. 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 (4): 545-550.
- McAdam, E., J. Bagnall, A. Soares, Y. Koh, T. Chiu, M. Scrimshaw, J. Lester, et E. Cartmell. 2011. « Fate of alkylphenolic compounds during activated sludge treatment: impact of loading and organic composition ». *Environmental Science and Technology* 45 (1): 248-254.
- Metcalf, C., P. Beddows, G. Bouchot, T. Metcalfe, H. Li, et H. Lavieren. 2011. «Contaminants in the coastal karst aquifer system along the Caribbean coast of the Yucatan Peninsula, Mexico ». *Environmental Pollution* 159 (4): 991-997.
- Miège C., Bados P., Brosse C., et Coquery M. 2009b. « Method validation for the analysis of estrogens (including conjugated compounds) in various aqueous matrices». *Trends in Analytical Chemistry*, 28 (2), 237-244.
- Miege C., Choubert J. M., Ribeiro L., Eusebe M. et Coquery M. 2009a. «Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants - Conception of a database and first results». *Environmental Pollution*, 157 (5), 1721-1726.
- Miège, C., H. Budzinski, R. Jacquet, C. Soulier, T. Pelte, and M. Coquery (2012). « Polar organic chemical integrative sampler (POCIS): application for monitoring organic micropollutants in wastewater effluent and surface water ». *Journal of Environmental Monitoring* 14 (Issue 2): 626-635.
- Miège, C., H. Budzinski, R. Jacquet, C. Soulier, T. Pelte, et M. Coquery. 2011. «L'échantillonnage intégratif par POCIS- Application pour la surveillance des micropolluants organiques dans les eaux résiduaires traitées et les eaux de surface ». *Techniques Sciences et méthodes* (1/2): 80-93.
- Mills, G.A., B. Vrana, I.J. Allan, D. Alvarez, J.N. Huckins, et R. Greenwood. 2007. « Trends in monitoring pharmaceuticals and personal-care products in the aquatic environment by use of passive sampling devices ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (4): 1153-1157.
- Mimeault, C., A.J. Woodhouse, X.S. Miao, C.D. Metcalfe, T.W. Moon, et V.L. Trudeau. 2005. « The human lipid regulator, Gemfibrozil bioconcentrates and reduces testosterone in the Goldfish, *Carassius auratus* ». *Aquatic toxicology* 73 (1): 44-54.

- Morin, N., C. Miège, J. Randon, et M. Coquery. 2012. « Chemical calibration, performance, validation and applications of polar organic chemical integrative sampler (POCIS) in aquatic environments ». *Trends in Analytical Chemistry* 36: 144-175.
- Mueller, J., M. Mortimer, J. O'Brien, T. Komarova, et S. Carter. 2011. « A cleaner river: long term use of semipermeable membrane devices demonstrate that concentrations of selected organochlorines and PAHs in the Brisbane River estuary, Queensland have reduced substantially over the past decade ». *Marine Pollution Bulletin* 63 (5-12): 73-76.
- Munaron, D., N. Tapie, H. Budzinski, B. Andral, et J.L. Gonzalez (2012). «Pharmaceuticals, alkylphenols and pesticides in Mediterranean coastal waters: Results from a pilot survey using passive samplers». *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 114: 82-92.
- Murray, K., S. Thomas, et A. Bodour. 2010. « Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment ». *Environmental Pollution* 158 (12): 3462-3471.
- Nadaka, N., T. Tanishima, H. Shinohara, K. Kiri, et H. Takada. 2006. « Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment ». *Water Reserach* 40 (17): 3297-3303.
- Namiesnik, J., B. Zabiegala, A. Kot-Wasik, M. Partyka, et A. Wasik (2005). « Passive sampling and/or extraction techniques in environmental analysis: a review ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381 (2): 279-301.
- Navarro, A., R. Tauler, S. Lacorte, et D. Barcelo. 2010. « Occurrence and transport of pesticides and alkylphenols in water samples along the Elbro River Bassin ». *Journal of Hydrology* 383 (1-2): 18-29.
- Nieto, A., F. Borrull, E. Pocurull, et R.M. Marcé. 2010. « Occurrence of pharmaceuticals and hormones in sewage sludge ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (7): 1484-1489.
- Nyoni, H., L. Chimuka, B. Vrana, et E. Cukrowska. 2011. « Membrane assisted passive sampler for triazine compounds in water bodies- Characterization of environmental conditions and field performance ». *Analytica Chimica Acta* 694 (1-2): 75-82.
- O'Brien, D., M. Bartkow, et J. Mueller. 2011. « Determination of deployment specific chemical uptake rates for SDB-RPD Empore disk using a passive flow monitor (PFM) ». *Chemosphere* 83 (9): 1290-1295.
- Oehlmann, J., U. Schulte-Oehlmann, W. Kloas, O. Jagnytsch, I. Lutz, K.O. Kusk, L. Wollenberger, et al. 2009. « A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife ». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 364 (1526). *Biological Sciences*: 2047-2062.
- Ort, C., M. Lawrence, J. Reungoat, G. Eaglesham, S. Carter, et J. Keller. 2010. « Determining the fraction of pharmaceutical residues in wastewater originating from a hospital ». *Water Research* 44 (2): 605-615.
- Ouyang, G., et J. Pawliszyn. 2007. « Configurations and calibration methods for passive sampling techniques ». *Journal of Chromatography A* 1168 (1-2): 226-235.

- Packer, J.L., J.J. Werner, D.E. Latch, K. McNeill, et W.A. Arnold. 2003. « Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, Diclofenac, Clofibrac Acid, and Ibuprofen ». *Aquatic Sciences* 65 (4): 342-351.
- Pal, A., K. Gin, A. Lin, et M. Reinhard. 2010. « Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects ». *Science of the Total Environment* 408 (24): 6062-6069.
- Pan, Y.P., et S.W Tsai. 2008. « Solid phase microextraction procedure for the determination of alkylphenols in water by on-fiber derivatization with N-tert-butyl-dimethylsilyl-N-methyltrifluoroacetamide ». *Analytica Chimica Acta* 624 (2): 247-252.
- Parrott, J.L., et B.R. Blunt. 2005. « Life-Cycle exposure of fathead minnows (*Pimephales promelas*) to an ethinylestradiol concentration below 1ng/L reduces egg fertilization success and demasculinizes males ». *Environmental Toxicology* 20 (2): 131-141.
- Pesce, S., S. Morin, S. Lissalde, B. Montuelle, et N. Mazzella. 2011. « Combining polar organic integrative samplers (POCIS) with toxicity testing to evaluate pesticide mixture effects on natural phototrophic biofilms ». *Environmental Pollution* 159 (3): 735-741.
- Petty, J., C. Orazio, J. Huckins, R. Gale, J. Lebo, J. Meadows, K. Echols, et W Cranor. 2000. « Considerations involved with the use of semipermeable membrane devices for monitoring environmental contaminants ». *Journal of Chromatography A* 879: 83-95.
- Petty, J.D., J.N. Huckins, D. Alvarez, W.G. Brumbaugh, W.L. Cranor, R.W. Gale, A.C. Rastall, et al. 2004. « A holistic passive integrative sampling approach for assessing the presence and potential impacts of waterborne environmental contaminants ». *Chemosphere* 54 (6): 695-705.
- Pickford, K.A., R.E. Thomas-Jonesoe, B. Wheals, C.R. Tyler, et J.P. Sumpter. 2003. « Route of exposure affects the oestrogenic response of fish to 4-tert-nonylphenol ». *Aquatic toxicology* 65 (3): 267-279.
- Planello, R., J.L. Martinez-Guitarte, et G. Morcillo. 2008. « The endocrine disruptor bisphenol A increases the expression of HSP70 and ecdysone receptors genes in the aquatic larvae of *Chironomus riparius* ». *Chemosphere* 71 (10): 1870-1876.
- Polkowska, Z., K. Cichala-Kamrowska, M. Ruman, K. Koziol, W.E. Krawczyk, et J. Namiesnik. 2011. « Organic pollution in surface waters from the Fuglebekken Basin in Svalbard, Norwegian Arctic ». *Sensors* 11 (9): 8910-8929.
- Rabouan, S., A. Dupuis, A. Cariot, M. Albouy-Llaty, B. Legube, et V. Migeot. 2012. « Analytical chemistry and metrological issues related to nonylphenols in environmental health ». *Trends in Analytical Chemistry* 37: 112-123.
- Rasmussen, J.J., A. Baattrup-Pedersen, P. Wiberg-Larsen, U.S. McKnight, et B. Kronvang. 2011. « Buffer strip width and agricultural pesticide contamination in Danish lowland streams: Implications for stream and riparian management ». *Ecological Engineering* 37 (12): 1990-1997.
- Redshaw, C.H., M.P. Cooke, H.M. Talbot, S. McGrath, et S.J. Rowland. 2008. « Low biodegradability of fluoxetine HCL, diazepam and their human metabolites in sewage sludge-amended soil ». *Journal of Soils and Sediments* 8 (4): 217-230.

- Renner, R. 1997. « European Bans on surfactant trigger transatlantic debate ». *Environmental Science and Technology* 31 (7): 316-320.
- Reungoat, J., M. Macova, B. Escher, S. Carswell, J. Mueller, et J. Keller. 2010. « Removal of micropollutants and reduction of biological activity in a full scale reclamation plant using ozonation and activated carbon filtration ». *Water Research* 44 (2): 625-637.
- Riva, C., C. Porte, A. Binelli, et A. Provini. 2010. « Evaluation of 4-nonylphenol in vivo exposure in *Dreissena polymorpha*: Bioaccumulation, steroid levels and oxidative stress ». *Comparative Biochemistry and Physiology- C Toxicology and Pharmacology* 152 (2): 175-181.
- Rujiralai, T., I.D. Bull, N. Llewellyn, and R.P. Evershed. 2011. « In situ polar organic chemical integrative sampling (POCIS) of steroidal estrogens in sewage treatment works discharge and river water ». *Journal of Environmental Monitoring* 13: 1427-2434.
- Santos, L., A.N. Araujo, A. Fachini, et A. Pena. 2010. « Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment ». *Journal of Hazardous Materials* 175 (1-3): 45-95.
- Schmitt-Jansen, M., P. Bartels, N. Adler, et R. Altenburger. 2007. « Phytotoxicity assessment of diclofenac and its phototransformation products ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (4): 1389-1396.
- Schwaiger, J., H. Ferling, U. Mallow, H. Wintermayr, et R.D. Negele. 2004. « Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part 1: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout ». *Aquatic toxicology* 68 (2): 141-150.
- Schwarzenbach, R.P., B. Escher, K. Fenner, T.B. Hofstetter, A.C. Johnson, U. Von Gunten, et B. Wehrli. 2006. « The challenge of micropollutants in aquatic systems ». *Science* 313 (5790): 1072-1077.
- Schwarzenbach, R.P., T. Egli, T.B. Hofstetter, U. Von Gunten, et B. Wehrli. 2010. « Global Water Pollution and Human Health ». *Annual Review of Environment and Resources* 35: 109-136.
- Seethapathy, S., T. Gorecki, et X. Li. 2008. « Passive sampling in environmental analysis ». *Journal of Chromatography A* 1184 (1-2): 234-253.
- Servos, M.R. 1999. « Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates ». *Water Quality Research* 34 (1): 123-177.
- Shaw, M., G. Eaglesham, et J.F. Mueller. 2009. « Uptake and release of polar compounds in SDB-RPS Empore™ disks; implications for their use as passive samplers ». *Chemosphere* 75 (1): 1-7.
- Sipma, J., B. Osuna, N. Collado, H. Monclus, G. Ferrero, J. Comas, et I. Rodriguez-Roda. 2010. « Comparison of removal of pharmaceuticals in MBR and activated sludge systems ». *Desalination* 250 (2): 653-659.

- Soares, A., B. Guieysse, B. Jefferson, E. Cartmell, et J.N. Lester. 2008. « Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters ». *Environment International* 34 (7): 1033-1049.
- Södergren, A. 1987. « Solvent-Filled Dialysis Membranes simulate uptake of pollutants by aquatic organisms ». *Environmental Science and Technology* 21 (9): 855-859.
- Soulier, C., V. Gabet-Giraud, S. Lardy-Fontan, K. Le Menach, P. Pardon, M. Esperanza, C. Miège, et al. 2011. « Zoom sur les substances pharmaceutiques: présence, partition, devenir en station d'épuration ». *Techniques Sciences et méthodes* (1/2): 63-76.
- Staples, C., P. Dorn, G. Klecka, S. O'Block, et L. Harris. 1998. « A review of the environmental fate, effects, and exposures of Bisphenol A ». *Chemosphere* 36 (10): 2149-2173.
- Tanghe, T., G. Devriese, et W. Verstraete. 1998. « Nonylphenol degradation in lab scale activated sludge units is temperature dependant ». *Water Research* 32 (10): 2889-2896.
- Tapie, N., M.H. Devier, C. Soulier, N. Creusot, K. Le Menach, S. Aït-Aïssa, B. Vrana, et H. Budzinski. 2011. « Passive samplers for chemical substance monitoring and associated toxicity assessment in water ». *Water Science and Technology* 63 (10): 2418-2426.
- Teerlink, J., A.S. Hering, C.P. Higgins, et J.E. Drewes. 2012. « Variability of trace organic chemical concentrations in raw wastewater at three distinct sewershed scales ». *Water Research* 46 (10): 3261-3271.
- Ternes T. A., Kreckel P. et Mueller J. 1999. «Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - II. Aerobic batch experiments with activated sludge». *Science of the Total Environment*, 225 (1-2), 91-99.
- Ternes, T.A. 1998. « Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers ». *Water Research* 32 (11): 3245-3260.
- Terzic, S., I. Senta, M. Ahel, M. Gros, M. Petrovic, D. Barcelo, J. Müller, et al. 2008. «Occurrence and fate of emerging wastewater contaminants in Western Balkan Region». *Science of the Total Environment* 399 (1-3): 66-77.
- Thomatou, A, I. Zacharias, D. Hela, et I. Konstantinou (2011). « Passive sampling of selected pesticides in aquatic environment using polar organic chemical integrative samplers ». *Environmental Science and Pollution Research* 18 (7): 1222-1233.
- Togola, A. (2006). « Presence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques ». Thèse de doctorat, Université Bordeaux 1.
- Togola, A., et Budzinski 2008. « Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples ». *Journal of Chromatography A* 1177 (1): 150-158.
- Togola, A., et H. Budzinski. 2007. « Development of Polar Organic Chemical Integrative Samplers for Analysis of Pharmaceuticals in Aquatic Systems ». *Analytical Chemistry* 79 (17): 6734-6741.
- Triebkorn, R., H. Casper, A. Heyd, R. Eikemper, H.R. Köhler, et J. Schwaiger. 2004. «Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part II. Cytological

- effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ». *Aquatic toxicology* 68 (2): 151-166.
- Van der Ven, K., D. Keil, L.N. Moens, P. Van Hummelen, P. Van Remortel, M. Maras, et W. De Coen. 2006. « Effects of the antidepressant mianserin in zebrafish: molecular markers of endocrine disruption ». *Chemosphere* 65 (10): 1836-1845.
- Vercaene-Eairmal, M., B. Lauga, S. Saint Laurent, N. Mazzella, S. Boutry, M. Simon, S. Karama, F. Delmas, et R. Duran. 2010. « Diuron biotransformation and its effects on biofilm bacterial community structure ». *Chemosphere* 81 (7): 837-843.
- Verlicchi, P., M. Al Aukidy, et E. Zambello. 2012. « Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment- A review ». *Science of the Total Environment* 430: 109-118.
- Vermeirssen, E., J. Hollender, N. Bramaz, J. Van der Voet, et B. Escher. 2010. « Linking toxicity in algal and bacterial assays with chemical analysis in passive samplers deployed in 21 treated sewage effluents ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (11): 2575-2582.
- Vermeirssen, E., N. Bramaz, J. Hollender, H. Singer, et B. Escher. 2009. « Passive sampling combined with ecotoxicological and chemical analysis of pharmaceuticals and biocides- evaluation of three Chemcatcher™ configurations ». *Water Research* 43 (4): 903-914.
- Vermeirssen, L.M., O. Korner, R. Schönenberger, M.J.F. Suter, et P. Burkhardt-Holm. 2005. « Characterization of Environmental Estrogens in River Water Using a Three Pronged Approach: Active and Passive Water Sampling and the Analysis of Accumulated Estrogens in the Bile of Caged Fish ». *Environmental Science and Technology* 39 (21): 8191-8198.
- Vieno, N., H. Härkki, T. Tuhkanen, et L. Kronberg. 2007. « Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in pilot-scale drinking water treatment plant ». *Environmental Science and Technology* 41 (14): 5077-5084.
- Vieno, N., T. Tuhkanen, et L. Kronberg. 2005. « Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from sewage treatment plant and in the recipient water ». *Environmental Science and Technology* 39 (21): 8220-8226.
- Vrana, B., G. Mills, I. Allan, E. Dominiak, K. Svensson, J. Knutsson, G. Morrison, et R. Greenwood. 2005a. « Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water ». *Trends in Analytical Chemistry* 24 (10): 845-868.
- Vrana, B., H. Paschke, A. Paschke, P. Popp, et G. Schuurmann. 2005.b « Performance of Semipermeable Membrane Devices for sampling of organic contaminants in groundwater ». *Journal of Environmental Monitoring* 7 (5): 500-508.
- Vrana, B., G. Mills, R. Greenwood, J. Knutsson, K. Svensson, et G. Morrison 2005c. «Performance optimisation of a passive sampler for monitoring hydrophobic organic pollutants in water ». *Journal of Environmental Monitoring* 7 (6): 612-620.
- Vrana, B., G. Mills, E. Dominiak, et R. Greenwood. 2006a. « Calibration of the chemcatcher passive sampler for the monitoring of priority organic pollutants in water ». *Environmental Pollution* 142 (2): 333-343.

- Vrana, B., A. Paschke, et P. Popp. 2006b. « Calibration and field performance of membrane enclosed sorptive coating for integrative passive sampling of persistent organic pollutants in water ». *Environmental Pollution* 144 (1): 296-307.
- Vrana, B., G. Mills, M. Kotterman, P. Leonards, K. Booij, et R. Greenwood. 2007. «Modelling and field application of the Chemcatcher passive sampler calibration data for the monitoring of hydrophobic organic pollutants in water ». *Environmental Pollution* 145 (3): 895-904.
- Vrana, B., P. Popp, A. Paschke, et G. Schuurmann. 2001. « Membrane-Enclosed Sorptive Coating. An integrative passive sampler for monitoring organic contaminants in water». *Analytical Chemistry* 73 (21): 5191-5200.
- Vroblesky, D., et W. Hyde. 1997. « Diffusion samplers as an inexpensive approach to monitoring VOCs to groundwater ». *Ground Water Monitoring & Remediation* 17 (3): 177-184.
- Vulliet, E., C. Cren-Olivé, et M.F. Grenier-Loustalot. 2011a. « Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters ». *Environmental Chemistry Letters* 9 (1): 103-114.
- Vulliet, E., et C. Cren-Olivé. 2011b. « Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption ». *Environmental Pollution* 159 (10): 2929-2934.
- Wang, T., J.S. Khim, C. Chen, J.E. Naile, Y. Lu, K. Kannan, J. Park, et al. 2012. « Perfluorinated compounds in surface waters from Northern China: Comparison to level of industrialization ». *Environment International* 42 (1): 37-46.
- White, R., S. Jobling, S.A. Hoare, J.P. Sumpter, et M.G. Parker. 1994. « Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic ». *Endocrinology* 135 (1): 175-182.
- Wu, Y.L., X.H. Wang, Y.Y. Li, et S.H. Hong. 2011. « Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in seawater from the Western Taiwan Strait, China ». *Marine Pollution Bulletin* 63 (5-12): 459-463.
- Yang, L., T. Luan, et C. Lan. 2006. « Solid-phase microextraction with on-fiber silylation for simultaneous determinations of endocrine disrupting chemicals and steroid hormones by gas chromatography-mass spectrometry ». *Journal of Chromatography A* 1104 (1-2): 23-32.
- Ying, G.G., B. Williams, et R. Kookana. 2002. « Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates - a review ». *Environment International* 28 (3): 215-226.
- Yoon, Y., J. Ryu, J. Oh, B.G. Choi, et S.A. Snyder. 2010. « Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea) ». *Science of the Total Environment* 408 (3): 636-643.
- Zhang, Y.Z., X.F. Song, A. Kondoh, J. Xia, et C-Y Tang. 2011. « Behavior, mass inventories and modelling evaluation of xenobiotic endocrine-disrupting chemicals along an urban receiving wastewater river in Henan Province, China ». *Water Research* 45 (1): 292-302.

Zhang, Zulin, Andrew Hibberd, et John L. Zhou. 2008. « Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling ». *Analytica Chimica Acta* 607 (1): 37-44.

Zou, S., W. Xu, R. Zhang, J. Tang, Y. Chen, et G. Zhang. 2011. « Occurrence and distribution of antibiotics in coastal water of the Bohai Bay, China: Impacts of river discharge and aquaculture activities ». *Environmental Pollution* 159 (10): 2913-2920.

Rapports et livres

AFSSAPS. 2003. « Analyse des ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux en France 1991-2001 ». Troisième édition.

AFSSAPS. 2011. « Analyse des ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux en France- 1999-2009 ». Rapport d'expertise.

Alvarez, D., J. Huckins, J. Petty, T. Jones-Lepp, F. Stuer-Lauridsen, D. Getting, J. Goddard, et A. Gravel. 2007. « Tool for monitoring hydrophilic contaminants in water: polar organic chemical integrative sampler (POCIS) ». In *Passive sampling techniques in environmental monitoring*, 48:171-197. *Comprehensive Analytical Chemistry*. ELSEVIER.

Besse J. P. et Garric J. (2007). Médicaments à usage humain : risques d'exposition et effets sur les milieux récepteurs, Rapport Phase 1, Proposition d'une liste de médicaments à usage humain à surveiller dans les eaux de surfaces continentales. Lyon, Cemagref.

Bliefert, C., et R. Perraud. 2001. *Chimie de l'environnement (air, eau, sols, déchets)*. Vol. 1ere édition. CHIMIE. De Boeck.

Burgot, G., et F. Pellerin. 2003. « Microextraction en phase solide (SPME) ». *Techniques de l'ingénieur, traité analyses et caractérisation*.

Canler, J.P., J.M. Perret, et J.M. Choubert. 2007. « Le traitement du carbone et de l'azote pour des stations d'épuration de type boue activée confrontées à des fortes variations de charge et à des basses températures ». FNDAE.

EPA. 2010. Nonylphenol (NP) and Nonylphenol Ethoxylates (NPEs): Action Plan.

European commission. 2002. European Union Risk Assessment Report: 4-nonylphenol (branched) and nonylphenol.

European commission. 2003a. European Risk Assessment Report- 4,4-isopropylidenediphenol (Bisphenol-A). Rapport final.

European Commission. 2003b. « Technical Guidance Document- Part II ».

Furlong, E.T., S.L. Werner, B.D. Anderson, et J.D. Cahill. 2008. « Determination of human-health pharmaceuticals in filtered water by chemically modified styrene-divinylbenzene resin-based solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography/mass spectrometry ». In *Laboratory Analysis*. U.S. Geological Survey. Vol. Section B. *Techniques and Methods Book 5*.

- Greenwood, R., G. Mills, et B. Vrana (2007). Passive sampling techniques in environmental monitoring. Vol. 48. Comprehensive Analytical Chemistry. ELSEVIER.
- INERIS et ONEMA. 2009. Les substances émergentes dans l'environnement- Note de synthèse sur l'état de l'art concernant les produits pharmaceutiques, les cosmétiques et les produits d'hygiène corporelle. Rapport d'étude.
- INERIS. 2005a. Etude de l'analyse des Alkylphénols. INERIS.
- INERIS. 2005b. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France- Nonylphénols et éthoxylates. INERIS.
- INERIS. 2006. Etat des lieux de la contamination des milieux aquatiques par les substances dangereuses. Rapport d'étude. INERIS.
- INERIS. 2008. Bilan de l'action nationale de recherche et de réduction des rejets de substances dangereuses dans l'eau par les installations classées et autres installations. Rapport d'étude. INERIS.
- INERIS. 2010. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France- Bisphénol A. INERIS.
- International Water Management Institute. 2007. Water for food, Water for life: A Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture. Earthscan.
- Pouzol, T. 2010. « Stratégies d'échantillonnage- Optimisation des stratégies d'échantillonnage des eaux résiduaires industrielles et urbaines ». Agence de l'Eau R.M.C. & INSA Lyon.
- Strub, M.P. 2009. N° CAS du nonylphénol et de l'octylphénol. DRC-09-102844-15164D.
- WHO. 2011. Guidelines for ATC classification and DDD assignment 2011.
- World Water Assessment Programme. 2009. The United Nations World Water Development Report 3: Water in a Changing World. Paris: UNESCO, and London: Earthscan.

Présentations

- Belles, A., N. Tapie, et H. Budzinski. 2011. « Suivi de la contamination en pesticides du Bassin d'Arcachon ». (CA) mai, GFP, Orléan, France.
- Vassas, C., C. Vella, et F. Sabatier. 2008. « Méthode et avancées des travaux sur l'étude du transit sédimentaire pour des régimes hydrologiques variés à l'embouchure du Grand Rhône, France ». In Proceedings of the international pluridisciplinary conference, 1-9. Lille, France.

Textes de lois

- COM, 2011. Proposition de directive du Parlement européen et du Conseil modifiant 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. Référence : COM-2011-876. 38 pages.

- Décret 2005-378, 2005. Décret relatif au programme national d'action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses. Paru dans le Journal Officiel n°95 du 23 avril 2005.
- Directive 75/442/CEE, 1975. Directive du Conseil relative aux déchets. Paru dans le Journal Officiel n°L194 du 25 juillet 1975.
- Directive 76/464/CEE, 1976. Directive du Conseil du 04 mai 1976 concernant la pollution causée par certaines substances dangereuses déversées dans le milieu aquatique de la Communauté. Paru dans le Journal Officiel n° L129 du 18 mai 1986.
- Directive 82/176/CEE, 1982. Directive du Conseil du 22 mars 1982 concernant les valeurs limites et les objectifs de qualité pour les rejets de mercure du secteur de l'électrolyse des chlorures alcalins. Paru dans le Journal Officiel n° L081 du 22 mars 1982.
- Directive 83/513/CEE, 1983. Directive du Conseil du 26 septembre 1983 concernant les valeurs limites et les objectifs de qualité pour les rejets de cadmium. Paru dans le Journal Officiel n° L291 du 24 octobre 1983.
- Directive 84/156/CEE, 1984. Directive du Conseil du 8 mars 1984 concernant les valeurs limites et les objectifs de qualité pour les rejets de mercure des secteurs autres que celui de l'électrolyse des chlorures alcalins. Paru dans le Journal Officiel n° L074 du 17 mars 1984.
- Directive 84/491/CEE, 1984. Directive du Conseil du 9 octobre 1984 concernant les valeurs limites et les objectifs de qualité pour les rejets d'hexachlorocyclohexane. Paru dans le Journal Officiel n° L274 du 17 octobre 1984.
- Directive 86/280/CEE, 1986. Directive du Conseil du 12 juin 1986 concernant les valeurs limites et les objectifs de qualité pour les rejets de certaines substances dangereuses relevant de la liste I de l'annexe de la directive 76/464/CEE. Paru dans le Journal Officiel n° L181 du 4 juillet 1986.
- Directive 2000/60/CE, 2000. Directive du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau, Journal officiel no L327 du 22/12/2000, 1-73.
- Directive 2003/53/CE, 2003. Directive du Parlement européen et du Conseil du 18 juin 2003 portant vingt-sixième modification de la directive 76/769/CEE du Conseil concernant la limitation de la mise sur le marché et de l'emploi de certaines substances et préparations dangereuses (nonylphénol, éthoxylate de nonylphénol et ciment). Paru dans le Journal Officiel n° L178/24 du 17 juillet 2003.
- Directive 2006/11/CE, 2006. Directive du Parlement européen et du Conseil du 15 février 2006 concernant la pollution causée par certaines substances dangereuses déversées dans le milieu aquatique de la Communauté. Paru dans le Journal Officiel n° L64/52 du 4 mars 2006.
- Directive 2008/105/CE, 2008. Directive 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. Paru dans le Journal Officiel n° L348/84 du 24 décembre 2008.

Liste des Annexes

Annexe 1 : Sources de contamination : composition des effluents par composé

Annexe 2 : Classification ATC (Anatomique, Thérapeutique, Chimique) (WHO 2011)

Annexe 3 : Liste des composés pharmaceutiques prioritaires (Besse et Garric 2007)

Annexe 4 : Conditions contrôlées des expérimentations en laboratoire

Annexe 5 : Mesures physico-chimiques lors des campagnes de prélèvements aux rivières artificielles

Annexe 6 : Mesures physico-chimiques et suivi météorologique lors de la campagne de prélèvements dans la Jalle d'Eysines

Annexe 7 : Conditions d'analyse en LC/MS pour les AP, APEO et BPA

Annexe 8 : Conditions d'analyse en LC/MS/MS pour les AP, APEO et BPA

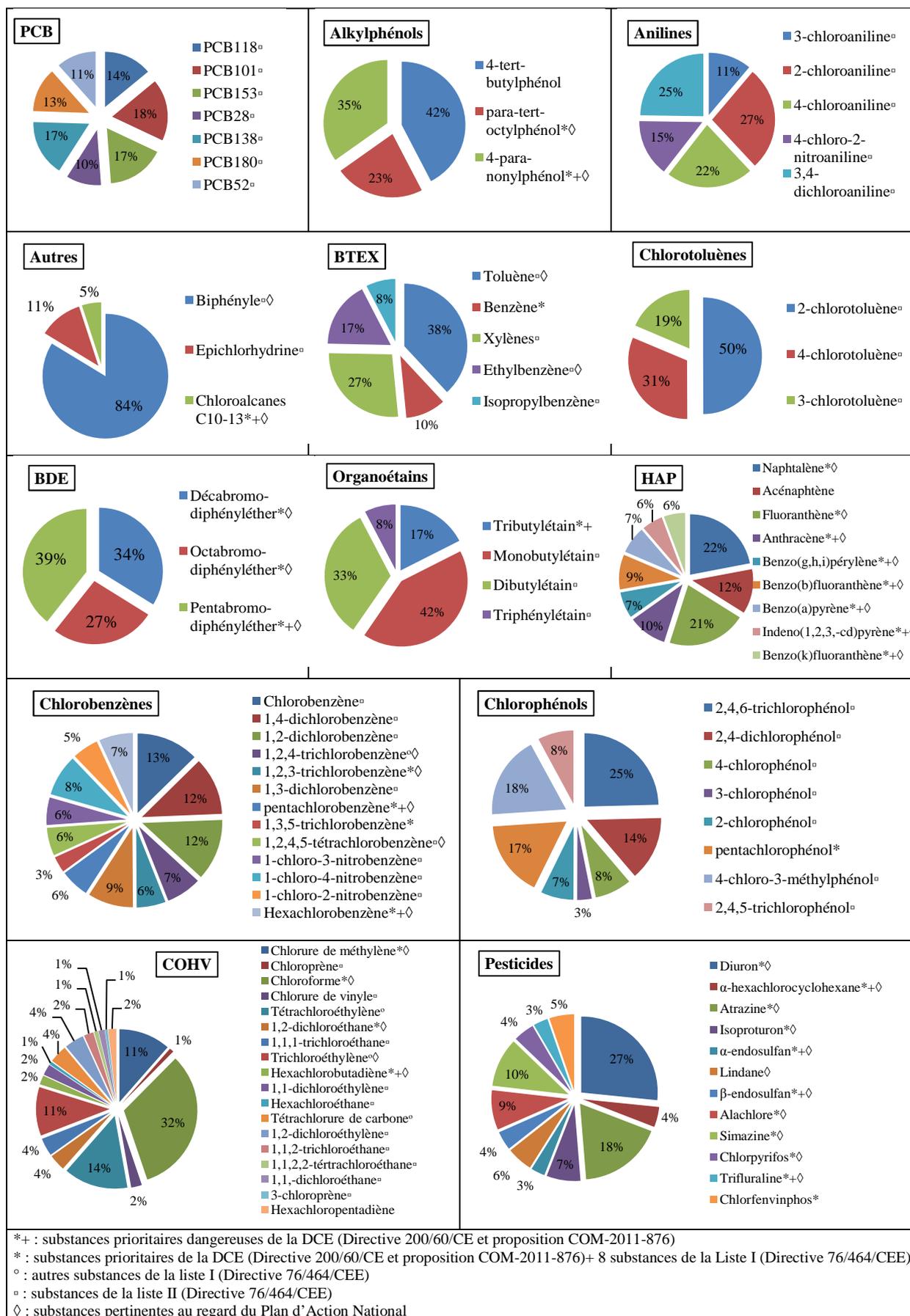
Annexe 9 : Conditions d'extraction et d'analyse en SPME-GC-MS pour les alkylphénols

Annexe 10 : Conditions d'analyse en LC/MS/MS pour les composés pharmaceutiques



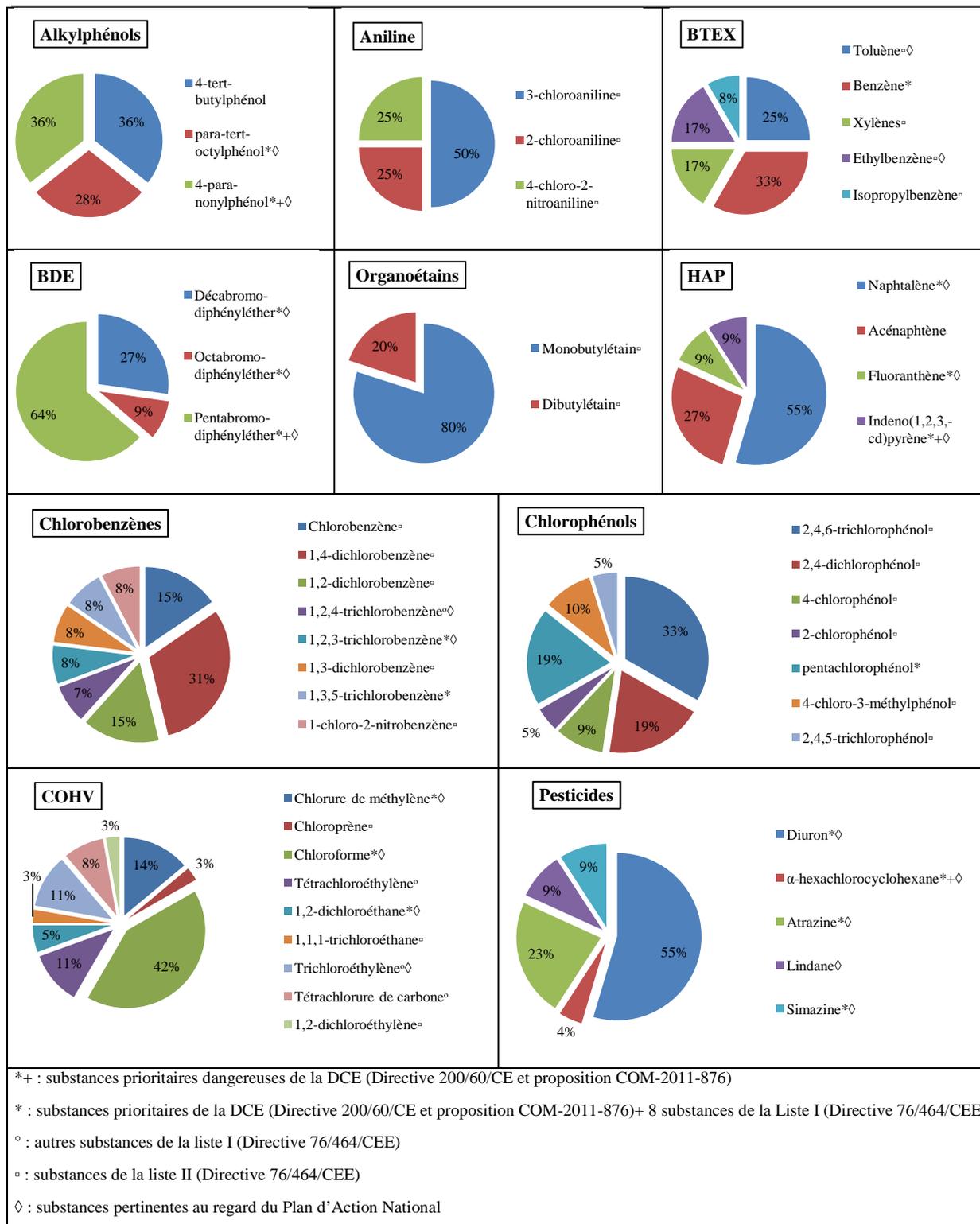
Annexe 1 ; Sources de contamination ;
composition des effluents par composé

➤ Effluents industriels



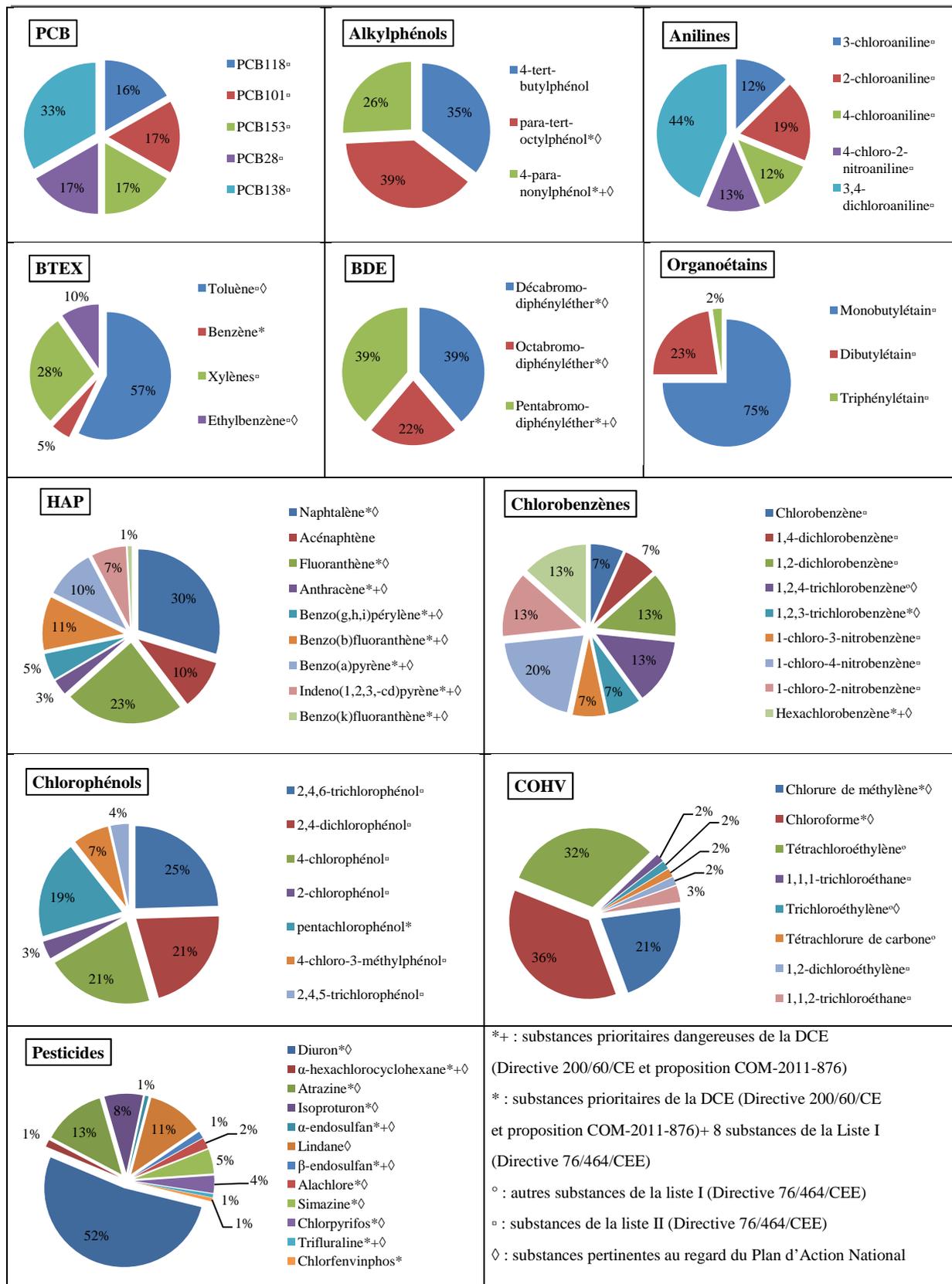
➤ Effluents de STEP industrielles et mixtes relevant de la nomenclature des installations classées

Annexe 1



➤ Effluents de STEP urbaines mixtes et non mixtes relevant de la loi sur l'eau

Annexe 1



Annexe 2 : Classification ATC
(Anatomique, Thérapeutique,
Chimique) (WHO 2011)

Annexe 2

Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
A : Appareil digestif et métabolisme	A01 : Préparations stomatologiques	A01A : Préparations stomatologiques
		A02A : Antiacides
	A02 : médicaments pour les troubles de l'acidité	A02B : Médicaments pour les ulcères peptiques et les pathologies gastro-œsophagiennes
		A02X : Autres médicaments pour les troubles de l'acidité
		A03A : Médicaments pour les troubles fonctionnels intestinaux
		A03B : Belladone et dérivés
	A03 : Médicaments pour les troubles fonctionnels gastro-intestinaux	A03C : Antispasmodiques associés à des psycholeptiques
		A03D : Antispasmodiques associés à des analgésiques
		A03E : Antispasmodiques et anticholinergiques associés à d'autres médicaments
		A03F : Stimulateurs de la motricité digestive
	A04 : Antiémétiques et anti nauséux	A04A : Antiémétiques et anti nauséux
		A05A : Traitements biliaires
A05 : Médicaments hépatobiliaires	A05B : Traitements hépatiques par lipotropes	
	A05C : Association de médicaments biliaires et de lipotropes	
A06 : Laxatifs	A06A : Laxatifs	
	A07A : Anti infectieux intestinaux	
	A07B : Adsorbants intestinaux	
	A07C : Electrolytes et hydrates de carbone	
A07 : Anti diarrhéique, antiinflammatoire intestinal/ agent antiinfectieux	A07D : Inhibiteurs de la motricité digestive	
	A07E : Antiinflammatoires intestinaux	
	A07F : Micro-organismes anti diarrhéiques	
	A07X : Autres anti diarrhéiques	
A08 : Médicaments contre l'obésité à l'exclusion des produits diététiques	A08A : Médicaments contre l'obésité à l'exclusion des produits diététiques	
A09 : Préparations digestives, y compris les enzymes	A09A : Préparations digestives, y compris les enzymes	
	A10A : Insuline et analogues	
A10 : Médicaments contre le diabète	A10B : Antidiabétiques à l'exclusion de l'insuline	
	A10X : Autres médicaments utilisés contre le diabète	
	A11A : Multivitamines en association	
	A11B : Multivitamines seules	
	A11C : vitamines A et D y compris l'association des deux	
A11 : Vitamines	A11D : Vitamine B1 seule et en association avec les vitamines B6 et b12	
	A11E : Vitamine B complexée et en associations	
	A11G : Acide ascorbique (Vitamine C) seule et en association	
	A11H : Autres préparations à base de vitamines seules	
	A11J : Autres préparations à base de vitamines en association	
A12 : Suppléments en minéraux	A12A : Calcium	
	A12B : Potassium	

Annexe 2

	A12C : Autres minéraux	
A13 : Toniques	A13A : Toniques	
A14 : Agents anabolisants à usage systémique	A14A : Stéroïdes anabolisants A14B : Autres agents anabolisants	
A15 : Stimulants de l'appétit		
A16 : Autres médicaments liés au tube digestif et au métabolisme	A16A : Autres médicaments liés au tube digestif et au métabolisme	
B : Sang et organes hématopoïétiques	B01 : Agents antithrombotiques	B01A : Agents antithrombotiques
	B02 : Antihémorragiques	B02A : Antifibrinolytiques
		B02B : Vitamines K et autres hémostatiques
		B03A : Préparation à base de fer
	B03 : Antianémiques	B03B : Vitamines B12 et acide folique
		B03X : Autres préparations antianémiques
	B05 : Dérivés du sang et perfusion diverses	B05A : Sang et produits apparentés
		B05B : Solutions i.v.
		B05C : Solutions d'irrigation
		B05D : Dialyse péritonéale
B05X : Additifs aux solutions i.v. B05Z : Hémodialyse et hémofiltration		
C : Système cardiovasculaire	C01A : Glycosides cardiotoniques	
	C01B : Anti- arythmiques de classes I et III	
	C01 : Traitement cardiaque	C01C : Stimulants cardiaques à l'exclusion des glycosides cardiotoniques
		C01D : Vasodilatateurs coronariens
		C01E : Autres médicaments cardiaques
		C02A : Agents anti adrénergiques agissant sur le système nerveux central
	C02 : Antihypertenseurs	C02B : Agents anti adrénergiques bloquant les ganglions
		C02C : Agents anti adrénergiques agissant en périphérie
		C02D : Agents agissants sur les muscles lisses des artères
		C02K : Autres antihypertenseurs
C02L : Association d'antihypertenseurs et diurétiques		
C02N : Association d'antihypertenseur du groupe ATC C02		
C03 : Diurétiques	C03A : Bas plafond diurétiques, thiazides	
	C03B : Bas plafond diurétiques à l'exception des thiazides	
	C03C : Haut plafond diurétiques	
	C03D : Agents accumulateur de potassium	
	C03E : Diurétiques associés aux agents accumulateur de potassium C03X : Autres diurétiques	
C04 : Vasodilatateurs périphériques	C04A : Vasodilatateurs périphériques	
C05 : Vasoprotecteurs	C05A : Agents pour le traitement des hémorroïdes et des fissures	

Annexe 2

	anales à usage topique	
	C05B : Traitement contre les varices	
	C05C : Capillaire agents stabilisants	
	C07A : β -bloquants	
	C07B : β -bloquants et diurétiques thiazidiques	
C07 : β -bloquants	C07C : β -bloquants et autres diurétiques	
	C07D : β -bloquants, diurétiques thiazidiques et autres diurétiques	
	C07E : β -bloquants et agents vasodilatateurs	
	C07F : β -bloquants et autres antihypertenseurs	
	C08C : Inhibiteurs calciques sélectifs avec des effets essentiellement vasculaires	
C08 : Inhibiteurs calciques	C08D : Inhibiteurs calciques sélectifs avec des effets directs cardiaques	
	C08E : Inhibiteurs calciques non sélectifs	
	C08G : Bloqueurs des canaux calciques et diurétiques	
	C09A : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensinogène	
C09 : Agents agissant sur le système rénine-angiotensine	C09B : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensinogène, en combinaison	
	C09C : Antagonistes de l'angiotensine II	
	C09D : Antagonistes de l'angiotensine II, en combinaison	
	C09X : Autres agents agissant sur le système rénine-angiotensine	
C10 : Hypolipémiant	C10A : Hypolipémiant	
	C10B : Hypolipémiant, en combinaison	
D01 : Antimycotiques à usage dermatologique	D01A : Antimycotiques topiques	
	D01B : Antimycotiques systémiques	
D02 : Emollients et protecteurs	D02A : Emollients et protecteurs	
	D02B : Protecteurs contre le rayonnement U.V.	
D03 : Traitements des plaies et des ulcères	D03A : Cicatrisants	
	D03B : Enzymes	
D04 : Antiprurigineux, y compris les antihistaminiques, anesthésiants, etc.	D04A : Antiprurigineux, y compris les antihistaminiques, anesthésiants, etc.	
D05 : Traitement du psoriasis	D05A : Psoriasis, médicaments topiques	
	D05B : Psoriasis, médicaments systémiques	
D06 : Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques à usage dermatologique	D06A : Antibiotiques topiques	
	D06B : Médicaments chimiothérapeutiques topiques	
	D06C : Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques en association	
D07 : Corticostéroïdes et préparations dermatologiques	D07A : Corticostéroïdes	
	D07B : Corticostéroïdes associé à des antispetiques	
	D07C : Corticostéroïdes associés à des antibiotiques	
	D07X : Corticostéroïdes associés	
D08 : Antiseptiques et désinfectants	D08A : Antiseptiques et désinfectants	

Annexe 2

	D09 : Pansements médicaux	D09A : Pansements médicaux	
	D10 : Préparation anti acnéiques	D10A : Préparation anti-acné à usage topique D10B : Préparation anti-acné à usage systémique	
	D11 : Autres préparations dermatologiques	D11A : Autres préparations dermatologiques	
G : Médicaments du système génito-urinaire et hormones sexuelles	G01 : Anti infectieux et antiseptiques gynécologiques	G01A : Antiinfectieux et antiseptiques à l'exclusion de l'association avec des corticostéroïdes G01B : Antiinfectieux et antiseptiques associés à des corticostéroïdes	
	G02 : Autres produits gynécologiques	G02A : Ocytociques G02B : Contraceptifs à usage topique G02C : Autres produits gynécologiques	
		G03A : Contraception hormonale à usage systémique G03B : Androgènes G03C : Estrogènes G03D : Progestatifs	
	G03 : Hormones sexuelles et modulateurs du système génital	G03E : Association d'androgènes et d'hormones sexuelles féminines G03F : Association de progestatifs et d'estrogènes G03G : Gonadotrophines et autres stimulants ovariens G03H : Anti-androgènes G03X : autres hormones sexuelles et modulateurs du système génital	
		G04B : Autres produits urologiques incluant les antispasmodiques G04C : Médicaments utilisés dans l'hypertrophie bénigne de la prostate	
	G04 : Urologie		
		H01A : Hormones du lobe antérieur de l'hypophyse et analogues H01B : Hormones du lobe postérieur de l'hypophyse H01C : Hormones hypothalamiques	
	H : Hormones systémiques à l'exclusion des hormones sexuelles et de l'insuline	H02 : Corticostéroïdes à usage systémique	H02A : Corticostéroïdes à usage systémique seuls H02B : Corticostéroïdes à usage systémique en association H02C : Préparation anti-adrénaline
		H03 : Traitement de la thyroïde	H03A : Préparations thyroïdiennes H03B : Antithyroïdiens H03C : Préparations iodées pour la thyroïde
		H04 : Hormones pancréatiques	H04A : Hormones glyco-génolytiques
H05 : Homéostasie du calcium		H05A : Hormones parathyroïdiennes et analogues H05B : Agents anti-parathyroïdiens	
		J01A : Tétracyclines J01B : Phénicolés J01C : Antibiotiques de type bêta-lactames et pénicillines	
J : Antiinfectieux	J01 : Antibactériens à usage systémique	J01D : Autres antibiotiques de type bêta-lactames J01E : Sulfamidés et triméthoprine J01F : Macrolides, lincosamides et streptogramines J01G : Antibactériens aminosides	

Annexe 2

	J01M : Antibactériens quinolones
	J01R : Association d'antibactériens
	J01X : Autres entibactériens
J02 : Antimycotiques à usage systémique	J02A : Antimycotiques à usage systémique
J04 : Antimycobactériens	J04A : Antituberculeux J04B : Médicaments contre la lèpre
J05 : Antiviraux à usage systémique	J05A : Antiviraux
J06 : Sérum immunisants et immunoglobulines	J06A : Sérums immunisants J06B : Immunoglobulines
J07 : Vaccins	J07A : Vaccins bactériens J07B : Vaccins viraux J07C : Vaccins bactériens et viraux combinés J07X : autres vaccins
L : Agents antinéoplasiques et immunomodulateurs	L01 : Antinéoplasiques
	L02 : Traitements endocriniens
	L03 : Immunostimulants
	L04 : Immunosuppresseurs
	L01A : Agents alkylants
	L01B : Antimétabolites
	L01C : Alcaloïdes et autres substances naturelles
	L01D : Antibiotiques cytotoxiques et substances aopparentées
L01X : Autres antinéoplasiques	
L02A : Hormones et substances apparentées	
L02B : Antagonistes hormonaux et substances apparentées	
L03A : Immunostimulants	
L04A : Immunosuppresseurs	
M : système musculo-squelettique	M01 : Produits anti-inflammatoires et antirhumatismaux
	M02 : Produits topiques contre les douleurs musculaires et articulaires
	M03 : Myorelaxants
	M04 : Médicaments antigoutteux
	M05 : Médicaments pour le traitement des maladies osseuses
	M09 : Autres médicaments en cas de troubles du système musculo-squelettique
	M01A : Produits anti-inflammatoires et antirhumatismaux non stéroïdiens
	M01B : Agents anti-inflammatoires et antirhumatismaux en association
M01C : Antirhumatismaux spécifiques	
M02A : Produits topiques contre les douleurs musculaires et articulaires	
M03A : Myorelaxants à action périphérique	
M03B : Myorelaxants à action centrale	
M03C : Myorelaxants à action directe	
M04A : Médicaments antigoutteux	
M05A : Médicaments pour le traitement des maladies osseuses	
M09A : Autres médicaments en cas de troubles du système musculo-squelettique	
N : Système nerveux	N01 : Anesthésiques
	N02 : Analgésiques
	N01A : Anesthésiques généraux
	N01B : Anesthésiques locaux
N02A : Opioïdes	
N02B : Autres analgésiques et antipyrétiques	

Annexe 2

		N02C : Médicaments antimigraineux
	N03 : Antiépileptiques	N03A : Antiépileptiques
	N04 : antiparkinsoniens	N04A : Agents anticholinergiques N04B : Agents dopaminergiques
	N05 : Psycholeptiques	N05A : Antipsychotiques N05B : Anxiolytiques N05C : Hypnotiques et sédatifs
	N06 : Psychoanaleptiques	N06A : Antidépresseurs N06B : Psychostimulants, utilisés en cas de troubles d'hyperactivités et de manque d'attention et nootropiques N06C : Association de psycholeptiques et psychoanaleptiques N06D : Médicaments anti-démence
	N07 : Autres médicaments du système nerveux	N07A : Parasympathomimétiques N07B : Médicaments utilisés dans les troubles d'addiction N07C : Préparations anti vertiges N07X : autres médicaments du système nerveux
P : Produits antiparasitaires, insecticides et répellents	P01 : Anti protozoaires	P01A : Médicaments contre les amibes et autres protozoaires P01B : Antipaludéens P01C : Médicaments contre la leishmaniose et la trypanosomiase
	P02 : Anthelminthiques	P02B : Médicaments contre les trématodes P02C : Médicaments contre les nématodes P02D : Anticestodaux
	P03 : Ectoparasitocides incluant les scabicides, insecticides et répellents	P03A : Ectoparasitocides incluant les scabicides P03B : Insecticides et répellents
R : Système respiratoire	R01 : Préparations nasales	R01A : Décongestionnants et autres préparations nasales à usages topiques R01B : Décongestionnants nasaux à usages systémiques
	R02 : Médicaments pour la gorge	R02A : Préparations pour la gorge
	R03 : Médicaments pour les maladies obstructives des voies respiratoires	R03A : Adrénériques, inhalants R03B : Autres médicaments pour les maladies obstructives des voies respiratoires, inhalants R03C : Adrénériques pour usages systémiques R03D : Autres médicaments pour les maladies obstructives des voies respiratoires à usages systémiques
	R05 : Médicaments contre la toux et le rhume	R05C : Expectorants excluant les associations avec les antitussifs R05D : Antitussifs excluant les associations avec les expectorants R05F : Antitussifs et expectorants en association R05X : Autres association anti rhume
	R06 : Antihistaminiques systémiques	R06A : Antihistaminiques systémiques
	R07 : Autres médicaments pour le système respiratoire	R07A : Autres médicaments pour le système respiratoire
S : Organes sensoriels	S01 : Ophtalmologie	S01A : Antiinfectieux S01B : Antiinflammatoires

Annexe 2

	S01C : Association d'antiinfectieux et antiinflammatoires S01E : Agents anti glaucomeux et myotiques S01F : Mydriatiques et cycloplégiques S01G : Décongestionnants et antiallergiques S01H : Anesthésiants locaux S01J : Agents de diagnostic S01K : Adjuvants en chirurgie ophtalmique S01X : Autres produits ophtalmologiques
S02 : Otologie	S02A : Antiinfectieux S02B : Corticostéroïdes S02C : Association d'antiinfectieux et corticostéroïdes S02D : Autres produits otologiques
S03 : Préparations ophtalmologiques et otologiques	S03A : antiinfectieux S03B : Corticostéroïdes S03C : Association d'antiinfectieux et corticostéroïdes S03D : Autres produits ophtalmologiques et otologiques
V01 : Allergènes	V01A : Allergènes
V03 : Tous les autres produits thérapeutiques	V03A : Tous les autres produits thérapeutiques
V04 : Agents de diagnostic	V04B : Tests urinaires V04C : Autres agents de diagnostic
V06 : Nutriments généraux	V06A : Traitement contre l'obésité V06B : Suppléments de protéines V06C : Préparations pour nourrissons V06D : Autres nutriments
V07 : Autres produits non thérapeutiques	V07A : Autres produits non thérapeutiques
V08 : Produits de contraste	V08A : Produits de contraste iodés pour les rayons X V08B : Produits de contraste non iodés pour les rayons X V08C : Produits de contraste pour imagerie par résonance magnétique (IRM) V08D : Produits de contraste pour échographie
V09 : Agents radio pharmaceutiques à usages de diagnostic	V09A : Système nerveux central V09B : Squelette V09C : Système rénal V09D : Systèmes hépatiques et réticulo-endothélial V09E : Système respiratoire V09F : Thyroïde V09G : Système cardiovasculaire V09H : Détection d'inflammation et infection V09I : Détection de tumeur V09X : Autres produits radio pharmaceutiques de diagnostic
V10 : Agents radio pharmaceutiques à usages	V10A : agents antiinflammatoires V10B : Palliation de la douleur

V : Divers

Annexe 2

thérapeutiques

V10X : Autres produits radio pharmaceutiques

V20 : Pansements
chirurgicaux

Annexe 3 : Liste des composés
pharmaceutiques prioritaires (Besse et
Garric 2007)

Annexe 3

Nom du composé	Classe chimique ou usage thérapeutique
Anticancéreux	
Hydroxycarbamide	-
Fluorouracile	Antimétabolite
Imatinib	Inhibiteur des protéines kinases
Cyclophosphamide	Agent alkylant
Ifosfamide	Agent alkylant
Etoposide	Alcaloïde végétal
Médicaments hormonaux et anti-hormonaux	
Ethinylestradiol	Estrogène synthétique
Progesterone	Progestatif naturel
Dydrogesterone	Progestatif synthétique
Chlormadinone	
Nomegestrel	
Drospirénone	
Norethistérone	
Levonorgestrel	
Tamoxifène	Anticancéreux (anti-estrogène)
Autres médicaments	
Acide valproïque	Anticonvulsivant
Allopurinol	Antigoutteux
Amiodarone	Antiarythmique
Amoxicilline	ATB pénicilline
Amphotéricine B	Antifongique
Aténolol	ATH Beta-bloquant
Bézafibrate	Fibrate
Buflomédil	Anti-ischémique
Carbamazépine	Anticonvulsivant
Ceftriaxone	ATB céphalosporine
Ciprofloxacine	ATB fluoroquinolone
Clarithromycine	ATB macrolide
Cyamémazine	Neuroleptique
Diclofénac	AINS arylcarboxylique
Diosmétine	Flavonoïde
Doxycycline	ATB cycline
Erythromycine	ATB macrolide
Fluoxétine	Antidépresseur IRS
Fosfomycine	ATB phosphonique
Furosémide	Diurétique
Gemfibrozil	Fibrate
Hydrochlorothiazine	Diurétique
Ibuprofène	AINS arylcarboxylique
Kétoprofène	AINS arylcarboxylique
Iosartan (valsartan)	ATH sartan
Metformine	Antidiabétique
Métronidazole	Antiparasitaire
Naftidrofuryl	Anti-ischémique
Naproxène	AINS arylcarboxylique
Ofloxacine	ATB Fluoroquinolone
Oxazépan	Benzodiazépine
Paracétamol	Analgésique
Pravastatine	Statine
Prednisolone	Glucocorticoïde
Pristinamycine	ATB
Propranolol	ATH Beta-bloquant
Ranitidine	Anti-ulcéreux
Sertraline	Antidépresseur IRS
sotalol	ATH Beta-bloquant
Sulfaméthoxazole	ATB sulfamide
Tramadol	Analgésique
Triméthoprime	ATB benzyl-pyrimidine
Métabolites	
Acide salicylique	
Acide fénofibrique	

Annexe 3

Périndoprilate	
Déméthyltramadol	
Hydroxy-ibuprofène	
Carboxy-ibuprofène	
Acétylsulfaméthoxazole	
14-hydroxy-clarithromycine	
Norfluoxétine	
Desméthylvenlafaxine	
Hydroxy-métronidazole	
Dérivé β -hydroxy-acide de la simvastatine	
2-hydroxy-atorvastatine	
4-hydroxy-atorvastatine	

ATB : antibiotique ; ATH : anti-hypertenseur ; AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien

Annexe 4 : Conditions contrôlées des
expérimentations en laboratoire

Expérimentation carrousel

Date	Prélèvement	Solution POCIS 1 (mL)	Solution POCIS 2 (mL)	Température Eau (°C)
03/03/2008	T0-1	7	7	20,6
04/03/2008	T0	2	4	20,6
05/03/2008	T1	2	4	18,6
06/03/2008	T2	3	3	18,3
07/03/2008	T3	2	3	19,3
08/03/2008	T4	1	2	20,4
09/03/2008	T5	2	2	19,9
10/03/2008	T6	1	2	19,7
11/03/2008	T7	1	1	19,9
12/03/2008	T8	1	2	21,1
13/03/2008	T9	1	1	22,1
14/03/2008	T10	1	1	22,5
15/03/2008	T11	1	1	22,2
16/03/2008	T12	1	1	22,3
17/03/2008	T13	1	1	22,3
18/03/2008	T14	-	-	21

Expérimentation 1

Date	Prélèvement	Débit eau (L.h ⁻¹)	Débit solution de contamination (μL.min ⁻¹)
01/12/2009	T0-2	0,548	139
02/12/2009	T0-1	0,525	131
03/12/2009	T0	0,493	120
04/12/2009	T1	0,521	134
05/12/2009	T2	0,500	130
06/12/2009	T3	0,517	128
07/12/2009	T4	0,494	125
08/12/2009	T5	0,493	119
09/12/2009	T6	0,428	128
10/12/2009	T7	0,489	133
11/12/2009	T8	0,462	139
12/12/2009	T9	0,445	139
13/12/2009	T10	0,429	135
14/12/2009	T11	0,438	133
15/12/2009	T12	0,454	134
16/12/2009	T13	0,458	131
17/12/2009	T14	0,450	131
18/12/2009	T15	0,452	132

Expérimentation 2

Date	Prélèvement	Bac 1 : 27 litres		Bac 2 : 54 litres	
		Débit eau (L.h ⁻¹)	Débit solution de contamination (μL.min ⁻¹)	Débit eau (L.h ⁻¹)	Débit solution de contamination (μL.min ⁻¹)
26/09/2010	T0-1	0,580	125	1,122	119
27/09/2010	T0	0,559	94	1,075	104
28/09/2010	T1	0,557	121	1,049	89
29/09/2010	T2	0,546	45	1,040	12
30/09/2010	T3	0,542	4	1,021	10
01/10/2010	T4	0,535	101	1,022	107
02/10/2010	T5	0,441	Pb pompe	0,989	Pb pompe
03/10/2010	T6	0,515	122	0,994	56
04/10/2010	T7	0,521	103	0,999	112
05/10/2010	T8	0,514	91	0,972	119
06/10/2010	T9	0,504	58	0,961	118
07/10/2010	T10	0,508	95	0,983	87
08/10/2010	T11	0,496	109	0,946	126
09/10/2010	T12	0,502	89	0,962	108
10/10/2010	T13	0,504	102	0,964	79
11/10/2010	T14	0,499	109	0,945	117

Expérimentation 3

Date	Prélèvement	Débit eau (L.h ⁻¹)	Débit solution de contamination (μL.min ⁻¹)
16/02/2011	T0-1	1,592	87
17/02/2011	T0	1,494	91
18/02/2011	T1	1,460	92
19/02/2011	T2	1,438	96
20/02/2011	T3	1,347	79
21/02/2011	T4	1,357	Pb pompe
22/02/2011	T5	1,318	83
23/02/2011	T6	1,315	119
24/02/2011	T7	1,295	178
25/02/2011	T8	1,291	110
26/02/2011	T9	1,409	126
27/02/2011	T10	1,287	100
28/02/2011	T11	1,223	107
01/03/2011	T12	1,259	115
02/03/2011	T13	1,240	117

Expérimentation 4

Annexe 4

Date	Prélèvement	Bac 1		Bac 2	
		Débit eau (L.h ⁻¹)	Débit solution de contamination (μL.min ⁻¹)	Débit eau (L.h ⁻¹)	Débit solution de contamination (μL.min ⁻¹)
25/05/2011	T0-2	1,961	66	1,283	113
26/05/2011	T0-1	1,882	99	1,234	109
27/05/2011	T0	1,795	111	1,590	111
28/05/2011	T1	1,570	90	1,520	105
29/05/2011	T2	1,539	116	1,487	102
30/05/2011	T3	1,479	119	1,490	104
31/05/2011	T4	1,496	110	1,485	104
01/06/2011	T5	1,470	116	1,450	103
02/06/2011	T6	1,430	Pb pompe	1,420	98
03/06/2011	T7	1,414	103	1,414	99
04/06/2011	T8	1,395	95	1,395	96
05/06/2011	T9	1,410	107	1,399	97
06/06/2011	T10	1,395	85	1,418	90
07/06/2011	T11	1,383	106	1,394	89
08/06/2011	T12	1,375	108	1,405	78
09/06/2011	T13	1,357	42	1,376	56
10/06/2011	T14	1,302	76	1,322	90

Annexe 5 : Mesures physico-chimiques
lors des campagnes de prélèvements aux
rivières artificielles

Annexe 5

Campagne continue: Canal 13, 1/3 NQE						
Date	Oxygène dissous (mg.L ⁻¹)	Conductivité (µS.cm ⁻¹)	pH	Température (°C)	Débit (m ³ .h ⁻¹)	MES (mg.L ⁻¹)
08/03/2011	11,692	284,760	8,185	9,457	200,564	1,604
09/03/2011	11,523	278,287	8,180	10,113	199,648	3,241
10/03/2011	11,431	280,314	8,168	10,515	200,819	9,268
11/03/2011	11,185	273,848	8,117	10,410	201,299	17,132
12/03/2011	10,790	267,978	8,052	10,648	200,737	23,645
13/03/2011	10,798	262,389	8,042	10,331	201,764	25,765
14/03/2011	10,626	266,668	8,018	10,377	200,911	27,541
15/03/2011	10,287	262,348	7,965	10,856	201,403	29,399
16/03/2011	9,972	250,680	7,847	10,812	201,881	54,669
17/03/2011	9,504	240,397	7,748	11,106	199,618	281,855
18/03/2011	10,077	252,471	7,795	10,928	200,701	254,641
19/03/2011	10,091	250,952	7,869	10,649	199,642	29,508
20/03/2011	10,005	263,313	7,846	10,938	200,263	0
21/03/2011	10,077	270,727	7,889	11,127	198,858	0
22/03/2011	10,289	272,713	7,960	10,525	199,929	35,217
23/03/2011	10,450	275,451	7,934	10,135	199,734	38,925
24/03/2011	11,021	270,652	8,164	10,556	197,966	44,996
25/03/2011	11,159	267,358	8,274	11,592	198,432	60,790
26/03/2011	10,900	265,566	8,241	12,026	199,698	80,096
27/03/2011	10,430	254,882	8,179	12,011	201,915	116,956
28/03/2011	10,520	251,430	8,133	11,159	200,224	115,384
29/03/2011	11,027	244,609	8,212	10,574	200,407	135,445

Remarques :

- 17 et 18 mars : Gave en crue
- 22 mars : Observation de développement de biofilm en sortie de vanne de cisaillement, sur les échantillonneurs et sur les sondes physico-chimiques

Annexe 5

Campagne continue: Canal 14, NQE						
Date	Oxygène dissous (mg.L ⁻¹)	Conductivité (µS.cm ⁻¹)	pH	Température (°C)	Débit (m ³ .h ⁻¹)	MES (mg.L ⁻¹)
08/03/2011	11,614	285,296	8,137	9,623	200,564	1,604
09/03/2011	11,421	279,260	8,133	10,254	199,648	3,241
10/03/2011	11,203	282,290	8,100	10,657	200,819	9,268
11/03/2011	10,695	276,106	7,990	10,565	201,299	17,132
12/03/2011	9,733	272,236	7,868	10,804	200,737	23,645
13/03/2011	9,256	267,347	7,782	10,503	201,764	25,765
14/03/2011	8,712	272,725	7,672	10,554	200,911	27,541
15/03/2011	7,838	269,385	7,552	11,027	201,403	29,399
16/03/2011	5,908	258,894	7,450	11,018	201,881	54,669
17/03/2011	3,950	250,070	7,401	11,287	199,618	281,855
18/03/2011	4,137	273,363	7,498	11,084	200,701	254,641
19/03/2011	4,016	271,509	7,453	10,804	199,642	29,508
20/03/2011	3,794	275,519	7,359	11,083	200,263	-374,171
21/03/2011	2,013	281,132	7,414	11,268	198,858	-156,490
22/03/2011	3,354	283,529	7,538	10,668	199,929	35,217
23/03/2011	4,266	285,251	7,578	10,282	199,734	38,925
24/03/2011	8,488	277,959	7,948	10,676	197,966	44,996
25/03/2011	10,957	274,295	8,183	11,712	198,432	60,790
26/03/2011	10,529	272,699	8,103	12,151	199,698	80,096
27/03/2011	9,089	261,442	7,951	12,140	201,915	116,956
28/03/2011	8,671	256,289	7,966	11,326	200,224	115,384
29/03/2011	9,312	248,070	8,067	10,754	200,407	135,445

Annexe 5

Campagne discontinue: Canal 13, 1/3 NQE						
Date	Oxygène dissous (mg.L ⁻¹)	Conductivité (µS.cm ⁻¹)	pH	Température (°C)	Débit (m ³ .h ⁻¹)	MES (mg.L ⁻¹)
05/04/2011	11,643	187,285	7,993	10,528	204,206	228,291
06/04/2011	11,109	193,246	7,925	12,286	203,042	221,259
07/04/2011	10,581	195,346	7,851	13,374	205,149	212,299
08/04/2011	10,041	194,114	7,876	13,917	204,560	212,763
09/04/2011	10,633	190,889	7,996	13,855	204,419	242,952
10/04/2011	10,750	189,567	7,886	13,191	204,983	515,669
11/04/2011	11,248	190,286	7,983	11,719	203,345	285,001
12/04/2011	11,309	201,897	7,924	11,653	204,988	123,594
13/04/2011	4,690	206,034	7,868	12,019	204,398	135,399
14/04/2011	10,910	204,791	7,815	12,328	200,175	140,272
15/04/2011	10,814	205,809	7,835	12,373	191,574	158,832
16/04/2011	11,199	207,516	7,905	12,298	194,747	185,395
17/04/2011	11,066	208,165	7,946	12,910	195,506	224,596
18/04/2011	10,899	206,525	7,949	13,511	190,523	264,252
19/04/2011	10,908	206,743	7,887	13,894	188,638	166,763
20/04/2011	10,134	207,370	7,656	13,789	188,207	174,334
21/04/2011	9,809	208,900	7,637	13,951	188,431	183,044
22/04/2011	9,577	211,338	7,443	13,464	188,245	200,212
23/04/2011	10,530	211,986	7,428	12,414	188,384	212,067
24/04/2011	10,966	213,486	7,578	12,680	186,824	218,381
25/04/2011	10,542	219,140	7,644	13,336	188,001	242,095
26/04/2011	10,179	228,485	7,531	13,934	186,356	314,037
Campagne discontinue: Canal 14, NQE						
Date	Oxygène dissous (mg.L ⁻¹)	Conductivité (µS.cm ⁻¹)	pH	Température (°C)	Débit (m ³ .h ⁻¹)	MES (mg.L ⁻¹)
05/04/2011	10,700	190,636	7,883	10,704	204,206	228,291
06/04/2011	6,362	197,306	7,897	12,430	203,042	221,259
07/04/2011	10,212	200,237	7,811	13,514	205,149	212,299
08/04/2011	9,581	200,139	7,720	14,064	204,560	212,763
09/04/2011	10,501	196,784	7,906	14,032	204,419	242,952
10/04/2011	10,636	196,048	7,857	13,381	204,983	515,669
11/04/2011	11,139	196,750	7,926	11,928	203,345	285,001
12/04/2011	10,173	205,600	7,899	11,865	204,988	123,594
13/04/2011	8,811	208,730	7,886	12,191	204,398	135,399
14/04/2011	10,545	207,005	7,936	12,507	200,175	140,272
15/04/2011	10,435	207,230	7,923	12,538	191,574	158,832
16/04/2011	11,013	209,350	8,052	12,447	194,747	185,395
17/04/2011	10,871	210,901	8,065	13,059	195,506	224,596
18/04/2011	10,682	208,465	8,080	13,653	190,523	264,252
19/04/2011	10,163	208,728	7,928	14,077	188,638	166,763
20/04/2011	8,981	211,097	7,551	13,948	188,207	174,334
21/04/2011	7,439	212,990	7,425	14,143	188,431	183,044
22/04/2011	6,623	216,410	7,370	13,643	188,245	200,212
23/04/2011	9,345	215,187	7,430	12,582	188,384	212,067
24/04/2011	10,091	218,308	7,672	12,866	186,824	218,381
25/04/2011	8,731	223,259	7,631	13,532	188,001	242,095
26/04/2011	8,323	230,650	7,558	14,138	186,356	314,037
Campagne accidentelle: Canal 14						

Annexe 5

Date	Oxygène dissous (mg.L ⁻¹)	Conductivité (µS.cm ⁻¹)	pH	Température (°C)	Débit (m ³ .h ⁻¹)	MES (mg.L ⁻¹)
06/05/2011		208,189	8,191	14,772	188,978	276,315
07/05/2011		206,394	8,039	13,898	189,564	289,739
08/05/2011		185,446	8,026	14,191	189,471	302,406
09/05/2011		173,020	7,987	14,722	188,859	362,351
10/05/2011		180,782	7,989	15,653	189,447	225,505
11/05/2011		185,146	7,921	16,099	189,951	316,970
12/05/2011		200,353	7,730	15,540	189,428	398,737
13/05/2011		198,872	8,056	14,918	189,179	409,128
14/05/2011		199,019	7,833	13,967	188,517	371,160
15/05/2011		198,845	8,037	12,816	188,170	370,997
16/05/2011	Problème	204,926	8,167	14,082	188,679	263,823
17/05/2011	sondes	206,218	8,125	15,384	189,663	271,625
18/05/2011		208,914	7,920	16,049	189,175	263,721
19/05/2011		210,287	7,791	15,834	188,319	243,572
20/05/2011		213,621	7,866	15,705	189,397	-
21/05/2011		219,780	7,958	16,020	189,614	-
22/05/2011		218,999	7,851	15,769	189,741	-
23/05/2011		217,354	8,092	15,989	188,276	-
24/05/2011		212,603	7,917	16,322	189,254	243,156
25/05/2011		211,622	8,082	16,762	189,549	258,156
26/05/2011		208,459	7,757	16,549	188,879	285,935
27/05/2011		207,936	8,006	14,742	186,727	313,961

Annexe 6 : Mesures physico-chimiques
et suivi météorologique lors de la
campagne de prélèvements dans la
Jalles d'Eysines

Annexe 6

Nom du prélèvement	Amont T ₀	Aval T ₀	Effluent T ₀	Nom du prélèvement	Amont T ₂	Aval T ₂	Effluent T ₂
Date	19/03/2008			Date	21/03/2008		
Conditions climatiques	Froid, sec, ensoleillé/ 11°C			Conditions climatiques	Froid, sec, ensoleillé/ 10°C		
Quantité prélevée (L)	7-7,5		2	Quantité prélevée (L)	5		2,5-3
COD (mL)	20-30 (Dosage H. Etcheber, DGO, Bordeaux)			COD (mL)	20-30 (Dosage H. Etcheber, DGO, Bordeaux)		
Température de l'eau (°C)	9,7	10,4	Pas de mesures	Température de l'eau (°C)	9,6	9,7	7,4
pH	7,98	7,76	7,58	pH	7,15	6,4	6,86
Salinité (‰)	0	0	Pas de mesures	Salinité (‰)	0	0	0,3
Conductivité (µS.cm⁻¹)	Pas de mesures			Conductivité (µS.cm⁻¹)	277	274	1088
Nom du prélèvement	Amont T ₇	Aval T ₇	Effluent T ₇	Nom du prélèvement	Amont T ₉	Aval T ₉	Effluent T ₉
Date	26/03/2008			Date	28/03/2008		
Conditions climatiques	Averses, découvert PM/ 11°C			Conditions climatiques	Bruine, nuageux/ 16°C		
Quantité prélevée (L)	05-juin		03-avr	Quantité prélevée (L)	5		4
COD (mL)	20-30 (Dosage H. Etcheber, DGO, Bordeaux)			COD (mL)	20-30 (Dosage H. Etcheber, DGO, Bordeaux)		
Température de l'eau (°C)	10,8	10,9	7,4	Température de l'eau (°C)	14,6	17,9	12,4
pH	6,97	6,7	7,47	pH	7,2	7,21	7,15
Salinité (‰)	0	0	0,2	Salinité (‰)	0	0	0,2
Conductivité (µS.cm⁻¹)	242	169	957	Conductivité (µS.cm⁻¹)	221	241	845
Nom du prélèvement	Amont T ₁₂	Aval T ₁₂	Effluent T ₁₂	Nom du prélèvement	Amont T ₁₄	Aval T ₁₄	Effluent T ₁₄
Date	31/03/2008			Date	02/04/2008		
Conditions climatiques	Nuageux, pluie, éclaircies/ 13°C			Conditions climatiques	Bruines matinales/ 17°C		
Quantité prélevée (L)	5		3,5	Quantité prélevée (L)	6-7,5		03-avr
COD (mL)	20-30 (Dosage H. Etcheber, DGO, Bordeaux)			COD (mL)	20-30 (Dosage H. Etcheber, DGO, Bordeaux)		
Température de l'eau (°C)	18,6	17,4	12,5	Température de l'eau (°C)	12,1	12,1	7,9
pH	7,2	7,34	7,25	pH	6,84	6,94	6,74
Salinité (‰)	0	0	0,3	Salinité (‰)	0	0	0,3
Conductivité (µS.cm⁻¹)	Pas de mesures	255	997	Conductivité (µS.cm⁻¹)	241	201	1030

Annexe 7 : Conditions d'analyse en
LC/MS pour les AP, AP80 et BPA

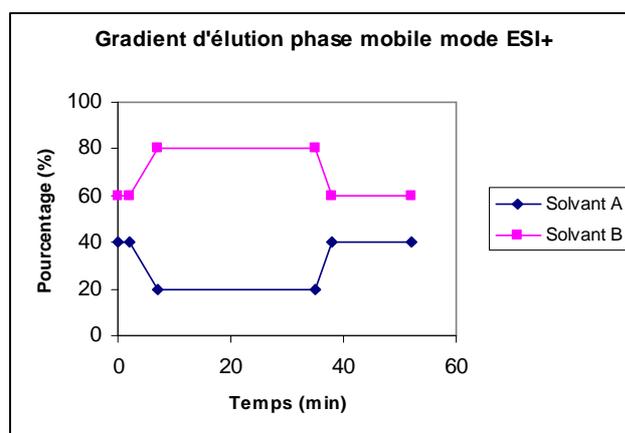
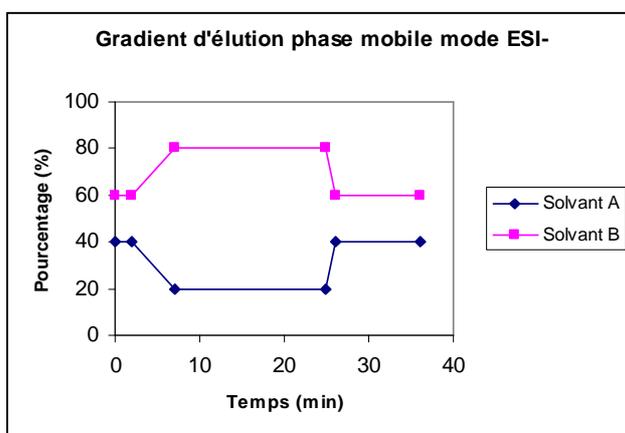
✓ Conditions d'analyse en chromatographie en phase liquide haute performance

- Colonne: C 18 (KROMAZIL 100, Interchim) 3 μ m, 150 x 2 mm ID thermostatée à 20°C
- Volume d'injection: 5 μ L
- Débit: 0,150 mL.min⁻¹
- Phase mobile:



Solvant A: Eau milliQ/Méthanol (3/1 ; v/v)/Acétate d'ammonium (5mmol.L⁻¹)

Solvant B: Méthanol



✓ Conditions d'analyse en spectrométrie de masse ESI-MS

Paramètres de sources		
	Mode d'ionisation négatif (ESI-)	Mode d'ionisation positif (ESI+)
Débit du gaz séchant, azote (L.min ⁻¹)		10
Température du gaz séchant (°C)		350
Température de source (°C)		120
Température du quadropole (°C)		150
Pression de nébulisation (psi)	15	30
Tension du capillaire (kV)	3,5	4
Extractor (V)	2	3

- Première méthode de quantification (3 étalons internes)

ESI-

Annexe 7

Composés	Adduits détectés	m/z	Etalons internes associés	Adduits détectés	m/z
NP1EC	[M-H] ⁻	277			
4-NP	[M-H] ⁻	219	p-n-NP	[M-H] ⁻	219
4-t-OP	[M-H] ⁻	205			
BPA	[M-H] ⁻	227	BPA d16	[M-H] ⁻	241
ESI+					
Composés	Adduits détectés	m/z	Etalons internes associés	Adduits détectés	m/z
NP1EO	[M+NH ₄] ⁺	282			
NP2EO	[M+Na] ⁺	331	p-n-NP1EO	[M+NH ₄] ⁺	282

- Seconde méthode de quantification (introduction de nouveaux étalons internes)

ESI-					
Composés	Adduits détectés	m/z	Etalons internes associés	Adduits détectés	m/z
NP1EC	[M-H] ⁻	277	NP1EC d2	[M-H] ⁻	279
			p-n-NP	[M-H] ⁻	219
4-NP	[M-H] ⁻	219	4-NP d8	[M-H] ⁻	227
			p-n-NP C13	[M-H] ⁻	225
4-t-OP	[M-H] ⁻	205	4-t-OP d2	[M-H] ⁻	207
BPA	[M-H] ⁻	227	BPA d16	[M-H] ⁻	241
ESI+					
Composés	Adduits détectés	m/z	Etalons internes associés	Adduits détectés	m/z
NP1EO	[M+NH ₄] ⁺	282			
NP2EO	[M+Na] ⁺	331	NP1EO d2	[M+NH ₄] ⁺	284

Annexe 8 : Conditions d'analyse en
LC/MS/MS pour les AP, AP80 et
BPA

✓ Conditions d'analyse en chromatographie en phase liquide ultra performante

- Colonne: Acquity UPLC BEH C18 100*2.1 mm, 1,7 μm thermostatée à 30°C
- Volume d'injection: 5 μL
- Débit: 0,6 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$
- Phase mobile:

Weak Needle Wash: mélange Eau milliQ/methanol (60/40;v/v)

Seal Wash: Eau milliQ

- ESI-

Solvant A1: Eau milliQ et 0,5 mM d'acétate d'ammonium

Solvant B1: Méthanol

Strong solvent: Isopropanol

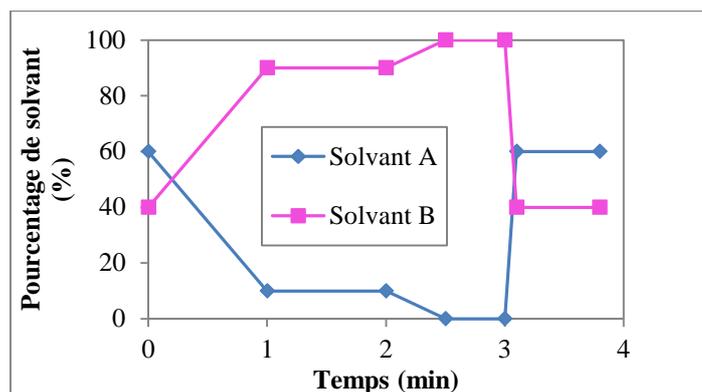
- ESI+

Solvant A1: Eau milliQ et 2,5 mM d'acétate d'ammonium

Solvant B1: Méthanol

Strong solvent: Méthanol

Gradient d'élution dans les deux modes d'ionisation



✓ Conditions d'analyse en spectrométrie de masse ESI-MS-MS

Paramètres de sources		
	Mode d'ionisation négatif (ESI-)	Mode d'ionisation positif (ESI+)
Température de source (°C)	120	
Température du gaz de désolvatation (°C)	450	
Tension de cône (V)	25	18
Tension du capillaire (kV)	3	3
Fragmentor (V)	70	40

- Première méthode de quantification (3 étalons internes)

Annexe 8

ESI-									
Composés	Type de transition	Transitions	Tension du cône (V)	Energie de collision (eV)	Etalons internes associés	Transition	Tension du cône (V)	Energie de collision (eV)	Rapport TQ/TC (variabilité acceptée)
NP1EC	Q	277,2> 219,2	15	20					8,3 (±30%)
	C	277,2> 133	15	42					
4-NP	Q	219,1> 132,9	30	30	p-n-NP	219,2> 106,2	45	20	9,9 (±30%)
	C	219,1> 146,9	30	30					
4-t-OP	Q	205> 132,9	20	25					26,2 (±30%)
	C	205> 116,9	20	55					
BPA	Q	227> 212,1	40	22	BPA d16	241,2> 223,2	40	20	1,8 (±30%)
	C	227> 132,9	40	25					

ESI+									
Composés	Type de transition	Transitions	Tension du cône (V)	Energie de collision (eV)	Etalons internes associés	Transition	Tension du cône (V)	Energie de collision (eV)	Rapport TQ/TC (variabilité acceptée)
NP1EO	Q	282,3> 127,1	20	8					1,6 (±30%)
	C	282,3> 71	20	13	p-n-NP1EO	282,3> 265,3	20	10	
NP2EO	Q	326,3> 183,1	18	12					
	C	326,3> 121	18	22					

- Seconde méthode de quantification (introduction de nouveaux étalons internes)

ESI-													
Composés	Type de transition	Transitions	Tension du cône (V)	Energie de collision (eV)	Etalons internes associés	Transition	Tension du cône (V)	Energie de collision (eV)	Rapport TQ/TC (variabilité acceptée)				
NP1EC	Q	277,2> 219,2	15	20	NP1EC d2	279,2> 219,1	20	20	8,3 (±30%)				
	C	277,2> 133	15	42									
4-NP	Q	219,1> 132,9	30	30	p-n-NP 4-NP d8	219,2> 106,2 227> 111,9	45	20	9,9 (±30%)				
	C	219,1> 146,9	30	30						p-n-NP C13	225,1> 111,9	40	22
	Q	205> 132,9	20	25									
C	205> 116,9	20	55					26,2 (±30%)					
BPA	Q	227> 212,1	40	22	BPA d16	241,2> 223,2	40	20	1,8 (±30%)				
	C	227> 132,9	40	25									

ESI+									
Composés	Type de transition	Transitions	Tension du cône (V)	Energie de collision (eV)	Etalons internes associés	Transition	Tension du cône (V)	Energie de collision (eV)	Rapport TQ/TC (variabilité acceptée)
NP1EO	Q	282,3> 127,1	20	8					1,6 (±30%)
	C	282,3> 71	20	13	NP1EO d2	284,2> 126,9	15	8	
NP2EO	Q	326,3> 183,1	18	12					
	C	326,3> 121	18	22					

Annexe 9 : Conditions d'extraction et
d'analyse en SPME-GC-MS pour les
alkylphénols

✓ Paramètres d'extraction en SPME

Appareil : GERSTEL MPS 2XL

Volume d'échantillon : 10 mL dans flacon SPME de 20 mL, extraction en Headspace

Fibre : Polyacrylate de 85 µm

	Blanc et échantillons
Température d'incubation (°C)	70
Temps d'incubation (minutes)	3
Vitesse d'agitation (RPM)	600
Temps d'extraction (minutes)	80
Temps de désorption (minutes)	15
Profondeur de pénétration flacon (mm)	30

✓ Paramètres d'analyse en chromatographies en phase gazeuse

- Injecteur: pulsed splitless (25 psi, 1,5 min)
- Volume d'injection: 1 µL
- Gaz vecteur: Hélium
- Débit gaz: 1,2 mL/min (constant)
- Température injecteur: 270°C
- Colonne: HP-5ms (5% phenyl Methyl Siloxane)
 - Longueur: 30 m
 - Diamètre: 250 µm
 - Phase stationnaire: 0,25 µm
- Four: Température initiale 50°C pendant 1min
 - Rampe de 10°C/min jusqu'à atteindre 320°C pendant 5 min

✓ Paramètres d'analyse en spectrométrie de masse

- Ionisation: électronique
- Energie : 70 eV
- Mode : SIM
- Température de la source d'ionisation : 230°C
- Température du quadripôle : 150°C

Composés	Type d'ions	Ions	Etalons internes associés	Type d'ions	Ions	Rapport TQ/TC (variabilité acceptée)
4-NP	Q	135	p-n-NP C13	Q	113	
	C	121		C	226	
4-t-OP	Q	135	4-t-OP d2	Q	137	
	C	107		C	109	

Annexe 10 : Conditions d'analyse en
LC/MS/MS pour les composés
pharmaceutiques

✓ Conditions d'analyse en chromatographie en phase liquide

- Colonne: Zorbax SB C18 50x2,1 mm ; 1,8 μm thermostatée à 30°C
- Volume d'injection: 5 μL
- Débit: 0,6 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$
- Phase mobile:

Solvant de rinçage: mélange Acétonitrile/Eau milliQ (75/25;v/v)

- ESI-

Solvant A: Eau milliQ

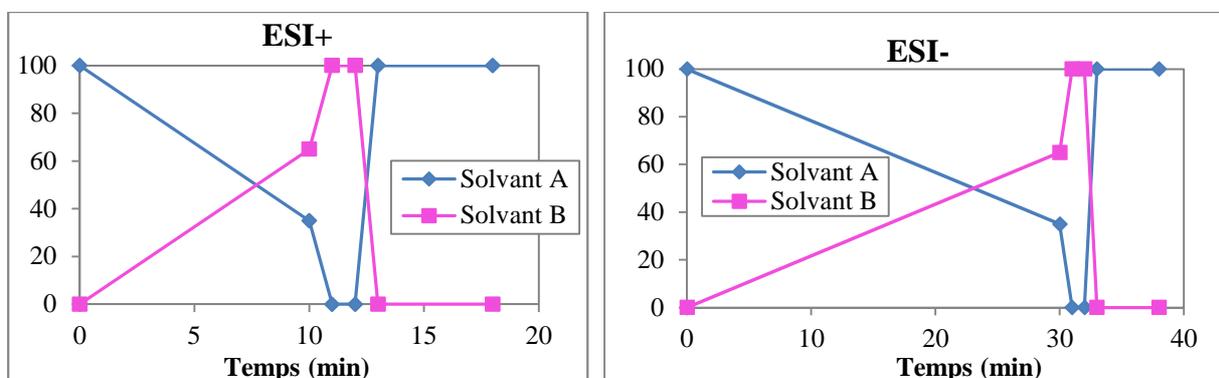
Solvant B: Acétonitrile

- ESI+

Solvant A: Eau milliQ et 0,1% d'acide formique

Solvant B: Acétonitrile 0,1% d'acide formique

Gradient d'élution dans les deux modes d'ionisation



✓ Conditions d'analyse en spectrométrie de masse ESI-MS-MS

Paramètres de sources	
	Mode d'ionisation négatif (ESI-) Mode d'ionisation positif (ESI+)
Température du gaz (°C)	300
Débit du gaz ($\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)	11
Pression de nébulisation (psi)	30
Tension du capillaire (kV)	3

ESI-								
Composés	Type de transition	Transitions	Energie de fragmentation	Energie de collision	Etalons internes	Transition	Energie de fragmentation	Energie de collision

Annexe 10

		(V)	(V)	associés	(V)	(V)						
DICLO	Q	294,1> 249,9	90	6	DICLO d4	298,1> 253,9	90	6				
	C	294,1> 214	80	18								
KETO	Q	253,2> 209	60	1	KETO d3	256,2> 212	60	1				
GEM	Q	249,2> 120,8	90	12	GEM d6	255,4> 120,8	90	12				
	C	249,2>126,8	70	4								
NAPROX	Q	229,1> 169,9	60	10	NAPROX d3	232,1> 172,9	60	12				
	C	229,1> 184,9	70	1								
IBU	Q	205,2> 160,9	80	1	IBU d3	208,2> 163,9	70	1				
ASP	Q	136,8> 92,6	80	14								
	C	136,8> 64,9	90	30								
ESI+												
Composés	Type de transition	Transitions	Energie de fragmentation (V)	Energie de collision (eV)	Etalons internes associés	Transition	Energie de fragmentation (V)	Energie de collision (eV)				
DIAZ	Q	285> 154	120	28	DIAZ d5	290< 154	120	30				
	C	285> 256,7	120	22								
APZ	Q	309> 281	120	26								
	C	309> 205	130	42								
BRZ	Q	316,1> 182	120	34								
	C	316,1> 209	130	28								
CARBA	Q	237> 194	130	20								
	C	237> 192	120	20								
CLENBU	Q	277> 203	110	16								
	C	277> 259	110	12								
TERBU	Q	226> 152	100	14								
	C	226> 125	110	24								
THEO	Q	181> 124	110	18								
	C	181> 96	120	26								
NDZ	Q	271> 140	130	27					NDZ d5	276> 140	120	30
	C	271> 164,7	130	30								
AMI	Q	278> 91	110	24					AMI d6	284,3> 233	120	20
	C	278> 232,4	130	20								
IMI	Q	281> 86	120	20								
	C	281> 57,6	110	30								
DOX	Q	280> 107	120	24								
	C	280> 84,1	130	24								
FLUOX	Q	310,1> 43,8	100	22								
	C	310,1> 148	110	8								
PARA	Q	152> 110	100	16	PARA d4	156> 114	100	18				
	C	152> 93	110	26								
SALBU	Q	240> 148	100	18	SALBU d3	243< 151	100	18				
	C	240> 166	110	15								
CAF	Q	195> 138	130	18	CAF C13	196< 139	130	20				
	C	195> 41,7	130	30								